

# Von disseminierten Tumorzellen zur ctDNA – Liquid Biopsies im Mammakarzinom und die Erkenntnisse der letzten 20 Jahre

## From disseminated tumor cells to ctDNA – liquid biopsies in breast cancer and the findings of the last 20 years

### Autorinnen/Autoren

Kerstin Pfister, Sophia Huesmann, Angelina Fink, Henning Schäffler, Sabine Heublein, Brigitte Rack, Wolfgang Janni

### Institute

Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe,  
Universitätsklinikum Ulm, Ulm, Deutschland

### Schlüsselwörter

Nachsorge, Liquid Biopsy, Minimale Resterkrankung

### Keywords

Surveillance, Liquid Biopsies, Minimal Residual Disease

### Bibliografie

Senologie 2024; 21: 197–203

DOI 10.1055/a-2256-4147

ISSN 1611-6453

© 2024, Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,  
70469 Stuttgart, Germany

### Korrespondenzadresse

Dr. med. Kerstin Pfister

Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe,  
Universitätsklinikum Ulm,

Prittwitzstraße 43, 89075 Ulm, Deutschland

kerstin.pfister@uniklinik-ulm.de

### ZUSAMMENFASSUNG

Liquid Biopsies, blutbasierte Biomarker, haben einen immer größer werdenden Stellenwert in der Überwachung und Therapiesteuerung onkologischer Erkrankungen erreicht. Beim

frühen Mammakarzinom gehen dem bildgebend nachgewiesenen Lokal- oder Fernrezidiv oft monate- bis jahrelang Tumoresiduen voraus (minimale Resterkrankung, MRD), welche durch die immer sensitiver werdenden Methoden nachgewiesen werden können. Den aktuell größten klinischen Stellenwert haben zirkulierende Tumorzellen und freie Tumor-DNA. Eine bessere Überwachung im Sinne einer intensivierten Nachsorge kann ein neues Therapiefenster zwischen der frühen Brustkrebserkrankung und der metastasierten Situation eröffnen. Durch eine post-adjuvante Therapie kann so die Prognose der Patient\*innen potenziell deutlich verbessert werden.

### ABSTRACT

Liquid biopsies, blood-based biomarkers, are becoming increasingly important in the monitoring and treatment management of oncological diseases. In early breast cancer, local or distant recurrence is often preceded by minimal residual disease (MRD) by months or years, which can be detected using increasingly sensitive methods. At present, the greatest clinical significance lies in circulating tumor cells and cell-free tumor DNA. Better monitoring in the sense of intensified surveillance can open up a new therapy window between early breast cancer and the metastasized situation. Through post-adjuvant therapeutic strategies, the prognosis of patients can potentially be improved.

## Was sind Liquid Biopsies?

Liquid Biopsies sind auf Körperflüssigkeiten basierende Biomarker. Während beispielsweise in der Urologie der Urin eine wichtige Trägersubstanz ist, so hat im Mammakarzinom (breast cancer, BC) das Blut den höchsten Stellenwert. Durch die gute Zugänglichkeit der Liquid Biopsies sind Liquid-Biopsy-basierte Biomarker prädestiniert für verschiedene Fragestellungen. Diese können grundsätzlich in eine prädiktive und eine prognostische Aussagekraft unterteilt werden.

**Prädiktive Biomarker** lassen ein Ansprechen oder Nichtansprechen auf eine gewisse Therapie erwarten. Aktuelle Paradebeispiele, welche auch zu einer Liquid-Biopsy-basierten Prädiktor-

Testung im Rahmen der Zulassung geführt haben, sind die ESR1-Testung beim metastasierten, hormonrezeptorpositiven, HER2-negativen Mammakarzinom sowie das Ansprechen auf Elacestrant [1].

**Prognostische Biomarker** helfen, den weiteren Krankheitsverlauf abzuschätzen und daraus resultierend die weitere Therapie zu planen. Als gut etablierter prognostischer liquider Biomarker beim metastasierten Mammakarzinom gelten zirkulierende Tumorzellen (circulating tumor cells, CTC) [2].

In den letzten 20 Jahren hat sich das Verständnis von Liquid Biopsies als Biomarker enorm weiterentwickelt. Die prädiktive und insbesondere prognostische Bedeutung der einzelnen zellulären und azellulären Bestandteile wird im Folgenden dargelegt.

## Disseminierte Tumorzellen

Die ersten Erkenntnisse zu disseminierten Tumorzellen (DTC) sind bereits über 20 Jahre alt. DTC sind als Mikrometastasen des Knochenmarks definiert, welche in frühen Stadien des Mammakarzinoms mittels Knochenmarksaspiration (typischerweise am Beckenkamm) nachweisbar sind. Das Aspirat wird anschließend per Cytospin aufgearbeitet und von erfahrenen Pathologen auf das Vorliegen von Krebszellen untersucht [3].

Der Nachweis von mindestens einer DTC ist bei bis zu 30–40% der Brustkrebspatientinnen in Stadium I–III, also einer frühen Brustkrebserkrankung ohne bildgebende Fernmetastasierung, der Fall [4, 5, 6, 7]. Sie wurden öfter nachgewiesen bei höherem Tumorstadium, einschließlich Lymphknotenbefall, schlechter Differenzierung und hormonrezeptornegativer Brustkrebserkrankung [3, 4].

Während lediglich eine Studie keine prognostische Bedeutung in der multivariaten Analyse zeigen konnte [6], sprachen die folgenden Studien und Meta-Analysen den DTCs eine prognostische Stellung beim frühen Mammakarzinom zu [3, 4, 5, 7, 8]. In der größten gepoolten Analyse zeigte sich bei Vorliegen von DTCs in den ersten 5 Jahren Follow-up eine Hazard-Ratio für brustkrebsassoziierte Todesfälle von 1,93 (1,58–2,36;  $p < 0,001$ ) und in den Follow-up-Jahren 6–10 eine Hazard-Ratio von 1,63 (1,07–2,47;  $p = 0,02$ ) [4].

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Hypothese aufgestellt, dass DTCs das Vorhandensein minimaler Residualerkrankungen (minimal residual diseases, MRD) widerspiegeln und möglicherweise die Vorläufer nachfolgender metastatischer Erkrankungen sind [9]. Zwei Hypothesen postulieren den prognostischen Wert des DTC-Nachweises:

- Das Knochenmark kann als Tumorzell-Reservoir der metastatischen Aussaat, auch nach Entfernung des Primärs, dienen und
- der Nachweis von Tumorzellen im Knochenmark ist ein direkter Nachweis des Fortschreitens der metastatischen Kaskade, also des Überdauerns von Brustkrebszellen, auch in dem Mikromilieu anderer Organe [9].

Während der Brustkrebs hier eine Vorreiterstellung eingenommen hatte, so mehrten sich in den letzten Jahren auch die Erkenntnisse in anderen epithelialen Neoplasien wie Lunge, Prostata und Gastrointestinal-Trakt. Die Translation in die klinische Praxis war trotz der guten Datenlage weniger erfolgreich. Dies ist zum einen der Invasivität des Eingriffes zuzuschreiben und zum anderen der Validität anderer prognostischer Biomarker wie der pathologischen Komplettremission (pCR) nach neoadjuvanter Chemotherapie. Nichtsdestotrotz ist die Asservierung und Analyse von Knochenmarksaspiraten weiterhin von hoher prognostischer Güte und wird im Rahmen von Studie weiterhin durchgeführt.

## Zirkulierende Tumorzellen

Die logische Weiterentwicklung der Untersuchungen an DTC ist die Asservierung und Analyse von zirkulierenden Tumorzellen (CTC) im Blut. Eine Vorreiterrolle haben hier Cristofanilli et al. eingenommen, die im Jahr 2004 die prognostische Rolle zirkulieren-

der Tumorzellen im metastasierten Mammakarzinom zeigen konnten [10]. Die hier evaluierte semi-automatische Nachweismethode mittels des CellSearch-Systems von Menarini Silicon Biosystems basiert auf der Positivselektion von EpCam-positiven und der Negativselektion von CD45-negativen mononukleären Zellen und wurde von der FDA (Food and Drug Administration) zugelassen.

Zirkulierende Tumorzellen werden aus dem primären Tumor und/oder den metastatischen Foci in den Blutkreislauf freigesetzt und sind hierbei einem starken Selektionsdruck exponiert [11, 12]. Die Verweildauer im Blutkreislauf ist kurz (Halbwertszeit: 1–2,4 Stunden [13]). Durch Komplexbildung mit aktivierten Thrombozyten und Makrophagen entstehen stabilere Heteroaggregate (auch Cluster), welche somit auch ein höheres karzinogenes Potenzial haben [14, 15]. Darüber hinaus ist die Disseminierung der CTC oft abhängig von Chemokinen wie CXCR4, CCR4, CCR7 und CCR9, die die Tumorzellen durch das Gefäßsystem lenken [11, 16].

Im frühen Mammakarzinom nehmen auch im internationalen Vergleich die SUCCESS-Studien einen hohen Stellenwert ein. Im Zuge dieser Studien wurde das Vorhandensein von CTC im peripheren Blut sowohl vor als auch nach der adjuvanten Chemotherapie untersucht. Es stellte sich heraus, dass das Vorhandensein von CTC zu beiden Zeitpunkten eine prognostische Relevanz hatte: Das Vorliegen von CTC (mind. 1/30ml Vollblut, verglichen mit 0 CTC) vor der adjuvanten Chemotherapie führte zu einer Einschränkung sowohl des krankheitsfreien Überlebens (Hazard-Ratio [HR] = 2,11; 95%-Konfidenzintervall [KI] = 1,49–2,99;  $p < 0,0001$ ) als auch des Gesamtüberlebens (HR = 2,18; 95%-KI = 1,32–3,59;  $p = 0,002$ ) [17]. Die Prognose verschlechterte sich weiter, wenn über 5 CTC nach einer adjuvanten Chemotherapie nachgewiesen wurden (HR krankheitsfreies Überleben, verglichen mit 0–4 CTC: 4,51, 95%-KI 2,59–7,86) [17].

Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2018 untersuchte die prognostische Bedeutung der CTC im neoadjuvanten Therapieregime: Es wurde erneut die große prognostische Bedeutung in Bezug auf das Gesamt- und krankheitsspezifische Überleben herausgearbeitet, interessanterweise zeigte sich aber keine Signifikanz in Bezug auf die pathologische Komplettremission [18].

Der grundsätzliche Nachweis von CTC ist, über alle frühen Tumorstadien (cT1–cT4d) und den Rezeptorstatus gemittelt, mit ca. 12,5% relativ gering [18]. Je höher das Tumorstadium, der Lymphknotenbefall und das Grading sind, desto wahrscheinlicher ist der Nachweis von CTC [18].

## Zirkulierende Tumor-DNA

Während CTC aufgrund ihrer Größe und der Aktivität des Immunsystems nur selten im Blut zu finden sind, kommt zirkulierende, freie Tumor-DNA (cell free tumor DNA, ctDNA) um ein Vielfaches häufiger vor. Während die Entdeckung freier DNA im Blut bereits 1948 gemacht wurde [19], so mehrten sich um die Jahrtausendwende die Erkenntnisse zu dem Stellenwert freier tumorassoziierter DNA bei Krebserkrankungen. Diese macht nur einen kleinen Teil der gesamten freien DNA aus (<1%, [20]), und die Hypothesen, wie diese in den Blutkreislauf gelangen, beruhen auf 3 Mechanismen: a.) Sekretion, b.) Apoptose und c.) Nekrose. Aufgrund der Länge

der ctDNA-Fragmente von 180–200 Basenpaaren kann der Apoptose der Haupt-Stellenwert in der Produktion der ctDNA zugerechnet werden [21]. Durch die immer sensitiver werdenden Methoden, insbesondere der digitalen Real-Time-PCR (PCR: Polymerase Chain Reaction), können immer kleinere Mengen an ctDNA nachgewiesen werden.

Grundsätzlich unterscheidet man 2 Detektionsmethoden: Den tumorinformierten und den tumoragnostischen Ansatz. Für die Anwendung eines Tumor-informed-Tests muss zunächst der individuelle Tumor eines Patienten anhand einer Gewebeprobe mittels Whole-Genome-Sequencing (WGS) oder Whole-Exome-Sequencing (WES) analysiert werden. Nach Entwicklung der individualisierten Primerpaare (ca. 50) wird das Blut auf diese somatischen Mutationen hin untersucht. Beispiele sind der Signatera-Test von Natera oder der RaDaR-Test von Invitae. Die andere Möglichkeit ist ein tumoragnostischer Ansatz: Hier wird (ohne vorherige Gewebeprobe) das Blut des Patienten mittels eines bestimmten organspezifischen Genpanels auf die bei diesem Tumortyp üblicherweise vorkommenden Mutationen untersucht (wie beim „Guardant Reveal“ von Guardant Health).

Die Sensitivität und Spezifität der ctDNA-Testung bei einer frühen Brustkrebserkrankung wurden in mehreren Studien untersucht:

In einer multizentrischen Studie wurden 49 Patientinnen mit frühem Mammakarzinom und einem hohen Rückfallrisiko mittels regelmäßiger ctDNA-Analysen im tumorinformierten Ansatz auf das Vorhandensein minimaler Resterkrankung (MRD) untersucht [22]. Von den 18 Patientinnen, bei denen ein Rezidiv auftrat, wurde bei 16 ctDNA nachgewiesen, bevor das Rezidiv klinisch oder radiologisch erkennbar war (Sensitivität 89%). Das molekulare Rezidiv wurde bis zu 2 Jahre vor der klinischen Manifestation nachgewiesen, wobei die durchschnittliche Vorlaufzeit (sogenannte Lead Time) 8,9 Monate betrug. Bei keiner der Patientinnen, die keinen Rückfall erlitten, wurde zu irgendeinem Zeitpunkt ctDNA nachgewiesen (Spezifität 100%). Die beiden nicht durch ctDNA entdeckten Rückfälle traten bei einer Patientin mit einem Lokalrezidiv und einer Patientin auf, deren Chemotherapie erst 13 Tage vor der Messung abgeschlossen war.

Eine 2. prospektive Studie schloss 83 Patientinnen mit hormonrezeptorpositivem Mammakarzinom und einem hohen Rezidivrisiko im späten Nachsorge-Zeitraum (im Median 8 Jahre nach der Diagnose) und ohne klinischen Nachweis eines Rückfalls ein [31]. Im Median 12,4 Monate vor dem Auftreten von Fernmetastasen konnte eine ctDNA-Positivität nachgewiesen (bei 8 von 83 Patientinnen). Bei allen Patientinnen, die Fernmetastasen entwickelten, wurde zuvor ctDNA nachgewiesen (Sensitivität für die Entwicklung von Fernmetastasen: 100%). In beiden Studien wurde ein tumorinformierter Ansatz gewählt.

Während beide Tests (tumorinformiert und -agnostisch) ihre Vor- und Nachteile bezüglich der Verfügbarkeit von Tumorgewebe, logistischem Aufwand und hinsichtlich des Kostenfaktors haben, so hat eine kürzlich erschienene Metaanalyse eine numerische Überlegenheit in der Sensitivität von tumorinformierten Tests zeigen können [23], ohne dass zum aktuellen Zeitpunkt große, direkt vergleichende Studien vorliegen. Der Vorteil des Wissens um eine eventuell therapieentscheidende Mutation in einem tumoragnostischen

Ansatz (wie eine ESR1-Mutation oder eine PIK3CA-Mutation) ist nicht von der Hand zu weisen.

## Liquid Biopsies im frühen Mammakarzinom: der aktuelle Stand

Trotz der großen Erkenntnisgewinns in den letzten 2 Jahrzehnten haben Liquid Biopsies im frühen Mammakarzinom aktuell einen untergeordneten Stellenwert. Während im metastasierten Setting mit der SOLAR1-Studie [24] zunächst die prädiktive (tumor- oder Liquid-biopsy-basierte Testung auf eine pathogene PIK3CA-Mutation Einzug in die klinische Routine finden konnte, so wurden die Onkolog\*innen der Nation mit der exklusiven Liquid-biopsy-basierten Indikation von Elacestrant zur klinischen Anwendung der Liquid Biopsies final motiviert.

Von der aktuellen AGO-Stellungnahme werden Untersuchungen auf ctDNA im frühen Mammakarzinom mit einem „+/-“ zu ihrer prognostischen Aussagekraft eingeordnet – bezogen auf das krankheitsfreie, progressionsfreie und distante krankheitsfreie Überleben sowie bezogen auf das Gesamtüberleben. Auch im metastasierten Setting kann der Einsatz erfolgen, um die Prognose der Patient\*innen abschätzen zu können (Empfehlung der AGO „+/-“) [2].

Zirkulierende Tumorzellen betreffend empfiehlt die aktuelle AGO-Kommission kein Screening auf CTC bei asymptomatischen Patientinnen („-“), erkennt die Daten zu deren Wert als Prognosefaktor des eBC mit „+/-“ aber an [2]. CTC als Prognosefaktoren im mBC bei Symptomstellung und nach 3 Wochen erhalten ein „+“ [2].

In der aktuell praktizierten Nachsorge nach früher Brustkrebserkrankung haben beide Untersuchungen aber keinen Stellenwert. Trotz der Antiquiertheit der Daten zu einer intensivierten Nachsorge, welche keinen signifikanten Benefit im Gesamtüberleben zeigen konnten, zielen wir mit den Nachsorgeuntersuchungen auf die Erkennung heilbarer Lokalrezidive oder kontralateraler Zweitumoren. Die Evidenz hierfür liefern 2 große Studien aus den 1980er- und 1990er-Jahren: In ihrer prospektiven Studie randomisierten Rosselli Del Turco et al. 1243 Patient\*innen in eine klassische und eine intensivierete Nachsorgegruppe. Beide Gruppen unterzogen sich regelmäßig einer Anamnese, körperlichen Untersuchung und Mammografie. Die intensiv betreute Gruppe erhielt zusätzlich regelmäßige Röntgen-Thorax-Untersuchungen und Skelettszintigrafien. Das krankheitsfreie Überleben nach 5 Jahren betrug aufgrund einer möglicherweise früheren Diagnose von Metastasen 64,8% in der intensivierten Nachsorgegruppe und 72,0% in der Kontrollgruppe. Beim Gesamtüberleben nach 5 Jahren zeigte sich kein signifikanter Unterschied: mit 18,6% (bei der intensivierten Nachsorge) vs. 19,5% (in der Kontrollgruppe) [25].

Ähnliche Ergebnisse lieferte die GIVIO-Studie, in der 1320 Patientinnen ebenfalls in intensivierete und konservative Nachsorgegruppen eingeteilt wurden. In der intensiv betreuten Gruppe wurde die Standarddiagnostik um Laborwerte (alkalische Phosphatase und  $\gamma$ -GT), Röntgen-Thorax, Leberultraschall und Skelettszintigrafie erweitert. Es gab keinen Unterschied im Gesamtüberleben mit 132 Todesfällen (20%) in der intensiv betreuten Gruppe und 122 Todesfällen (18%) in der Kontrollgruppe. In der Interventionsgruppe war jedoch

aufgrund der zusätzlichen, fest implementierten Diagnostik die Detektionsrate von asymptomatischen Metastasen mit 31 % (intensiv betreut) gegenüber 21 % (Kontrollgruppe) höher [26]. Eine kürzlich erschienene Cochrane-Analyse kommt zu einem ähnlichen Ergebnis [27].

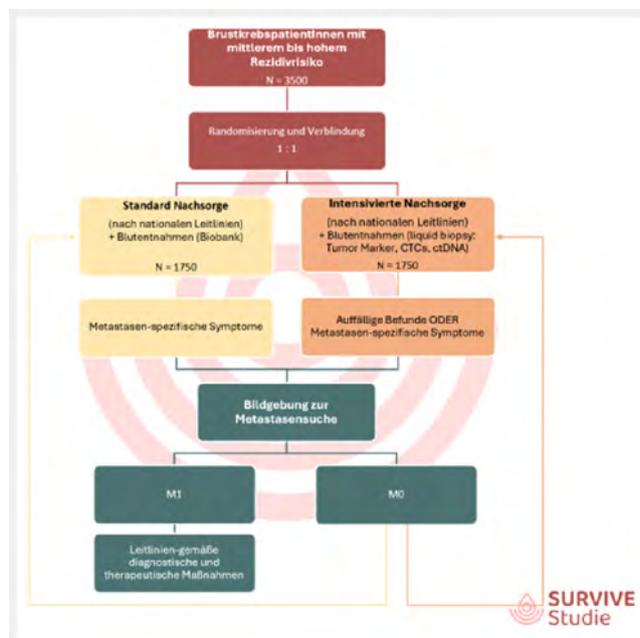
Auf dieser Grundlage beruhen die Empfehlungen der heutigen Leitlinienprogramme [2, 28]: Bei asymptomatischen Patient\*innen wird kein Screening auf ein distantes Rezidiv der Brustkrebs-erkrankung mittels apparativer oder laborchemischer Diagnostik empfohlen. Aber nicht nur im Bereich der Therapieoptionen hat sich mit den personalisierten und zielgerichteten Therapieoptionen viel verändert, auch im Bereich der Diagnostik ist längst eine neue Ära angebrochen, die dringend auch in der Brustkrebsnach-sorge abgebildet werden sollte.

## Die SURVIVE-Studie

Die logische Weiterentwicklung der aktuellen Evidenz zur Translation in die tatsächliche klinische Praxis ist eine große, multizentrische randomisierte Studie, die den Benefit einer Liquid-Biopsy-basierten Nachsorge, bezogen auf das Gesamtüberleben, zeigen soll. Ebenjene Studie wurde durch die „Nationale Dekade gegen Krebs“ des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) möglich: Die SURVIVE-Studie soll mit dem Einschluss von 3500 Patientinnen mit primärem Mammakarzinom von mittlerem bis hohem Risiko die intensivierete, Liquid-biopsy-basierte Nachsorge mit der aktuellen Nachsorge vergleichen. In dem Intensivierten-Nachsorge-Arm wird auf CTCs und ctDNA (in einem tumorinformierten Ansatz) sowie auf die Tumormarker CA27.29, CA125 und CEA untersucht. Die Testung erfolgt in den ersten 3 Studienjahren alle 3 Monate und in den Jahren 4 und 5 alle 6 Monate. Nach der 5-jährigen Intervention schließt sich ein 5-jähriges Follow-up an. Die im Kontrollarm zum Zwecke der Verblindung entnommenen Blutproben werden einer Biobank zugeführt, was weiterführende, retrospektive Analysen ermöglicht (► Abb. 1).

Im Falle eines auffälligen Liquid-Biopsy-Befunds wird der/die Patient\*in benachrichtigt, was zu einer Entblindung führt, und es wird eine diagnostische Bildgebung durchgeführt (CT Thorax/Abdomen und Skelettszintigrafie). Zusätzlich erhalten alle Studienteilnehmende mit metastasenspezifischen Symptomen als Teil der regulären Nachsorge jederzeit eine diagnostische Bildgebung. Die Studie wird von 2 Fragebögen mit Fokus auf Lebensqualität und Angst vor einem eventuellen Rückfall begleitet (EORTC QLQ C30 und PA-F12).

Zwei ko-primäre Endpunkte werden untersucht: Erstens soll validiert werden, ob die Integration der Liquid Biopsy zur Früherkennung einer minimalen Resterkrankung tatsächlich das Gesamtüberleben der Patient\*innen verbessert. Zweitens soll untersucht werden, ob und in welchem Ausmaß eine Gesamtvorlaufzeit (sogenannte „Overall Lead Time“) im Sinne einer früheren Detektion einer Metastasierung in der Liquid-Biopsy-basierten Nachsorge generiert werden kann. Eine Vielzahl sekundärer Endpunkte umfasst verschiedene Überlebensendpunkte, Parameter zur Sensitivität und Spezifität der Liquid Biopsy sowie die Lebensqualität.



► **Abb. 1** Studienschema der SURVIVE-Studie. Eingeschlossen werden 3500 Patient\*innen mit mittlerem bis hohem Rezidivrisiko, welches charakterisiert wird durch **a** eine Indikation zur Chemotherapie, **b** Lymphknotenbefall ( $> pN1m1$ ), **c** einen großen Primärtumor ( $> 50$  mm) oder ein hohes Grading (G3). Die Primärbehandlung (Chemotherapie, Operation, eventuelle Strahlentherapie) muss zum Zeitpunkt des Einschlusses abgeschlossen sein. Es erfolgt dann eine 1:1-Randomisierung in die Standard-Nachsorge nach den aktuellen Leitlinien und die intensivierete Nachsorge, in welcher 3-monatlich (Jahr 1–3) und dann 6-monatlich (Jahr 4,5) auf ctDNA (tumorinformierter Ansatz) und Serum-Tumormarker (CEA, CA-125 und CA 27.9) gescreent wird. Ebenso erfolgt ein 1-maliges Screening auf zirkulierende Tumorzellen nach 12 Monaten Studienteilnahme. Zeigen sich auffällige Biomarker (oder hat der/die Patient\*in metastasenspezifische Symptome), so erfolgt eine Staging-Untersuchung. Wenn die Patientin in den bildgebenden Maßnahmen den Nachweis einer Metastasierung oder eines Lokalrezidivs bekommt, dann erfolgt die Therapie nach den aktuellen Leitlinien, und die Teilnahme an der SURVIVE-Studie wird beendet. Bleibt der bildgebende M0-Status bestehen, so werden die Biomarker-Untersuchungen fortgesetzt und die Patient\*in kann ggf. einer Therapie-Interventionsstudie zugeführt werden.

Der Studienstart war bereits 2022, und das Ende der Rekrutierung wird für Ende 2025 erwartet. Die insgesamt 3500 Patient\*innen werden in gut 100 Zentren deutschlandweit eingeschlossen. Es wird noch eine gewisse Zeit dauern, bis Ergebnisse dieser Studie zu erwarten sind.

## MRD und die Post-Adjuvant

Doch was tun mit den Patient\*innen, die ein molekulares Rezidiv haben, ohne dass sich in der initiierten Bildgebung ein Lokal- oder Fernrezidiv zeigt (sog. *wahres* molekulares Rezidiv, *true molecular relapse*)? Wie aufgezeigt, stellt der positive Nachweis von ctDNA eine individuelle Hochrisiko-Situation für das zeitnahe Auftreten eines Rezidivs bzw. einer Fernmetastasierung dar. Interventions-

studien im Sinne einer Post-Adjuvanz geben die Möglichkeit, diese neue Therapiesituation zu evaluieren und potenziell die Prognose von Patient\*innen mit eBC weiter zu verbessern.

Eine Studie, die eine post-adjuvante Therapie auf Grundlage eines Liquid-Biopsy-Befundes initiiert hat, ist die cTRAK-TN-Studie [29]: Hier wurden Patient\*innen mit frühem triple-negativem Brustkrebs eingeschlossen, welche einer ctDNA-basierten intensivierte Nachsorge zugeführt wurden (tumorinformativer Ansatz). Bei positivem ctDNA-Nachweis wurde ein Staging durchgeführt; hier zeigte sich bereits bei 71,9% der Patientinnen ein bildgebendes Rezidiv. Die verbliebenen 5 Patient\*innen erhielten eine Therapie mit Pembrolizumab.

Die ZEST-Studie untersucht als Phase-III-Studie die Effizienz einer Niraparib-Therapie vs. Placebo bei Patientinnen mit a.) triple-negativer Brustkrebserkrankung oder b.) Her2-negativer Brustkrebserkrankung (unabhängig vom Hormonrezeptor) mit somatischer BRCA-Mutation (des Tumors). Die Patientinnen konnten nach abgeschlossener Primärtherapie und mit positivem ctDNA-Nachweis eingeschlossen werden. Der Sponsor hat Einschluss und Randomisierung der Studie vorzeitig beendet – erste Ergebnisse der eingeschlossenen 40 Patient\*innen stehen noch aus [30].

In der post-adjuvanten Therapiesituation laufen aktuell weitere, folgende Interventionsstudien nach positivem ctDNA-Nachweis:

- a) LEADER-Studie (einarmig: Ribociclib + endokrine Therapie, USA), NCT03285412
- b) TRAK-ER-Studie (Palbociclib + Fulvestrant vs. endokrine Therapie (ET), UK und F), NCT04985266
- c) DARE-Studie (Palbociclib + ET vs. ET, USA), NCT04567420
- d) MiRaDoR-Studie (4-armige Studie: Giredestrant, ein SERD (selektiver, oraler Östrogen-Rezeptor-Modulator) vs. Giredestrant + Abemaciclib versus Giredestrant + Inavolisib (oraler PIK3CA-Inhibitor) vs. Kontrollgruppe, in Planung), NCT05708235

Auch für die SURVIVE-Patient\*innen, die ein wahres molekulares Rezidiv haben, schließen sich therapeutische Interventionsstudien an. Die Treat-ctDNA-Studie (NCT05512364), eine Studie der European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC), randomisiert als internationale Phase-III-Studie 220 Patient\*innen mit initial hormonrezeptorpositivem, Her2-negativem Mammakarzinom mit molekularem Rezidiv in einen Therapiearm mit Elacestrant (oraler selektiver Östrogen-Rezeptor-Modulator = SERD) vs. endokriner Therapie nach Standard. Der primäre Studienendpunkt ist das fernmetastasenfreie Überleben (Distant metastasis free survival, DMFS). Die SURVIVE-Studie dient als eine der Screening-Plattformen für die Treat-ctDNA-Studie, wobei die Patient\*innen Teil der SURVIVE-Studie bleiben werden.

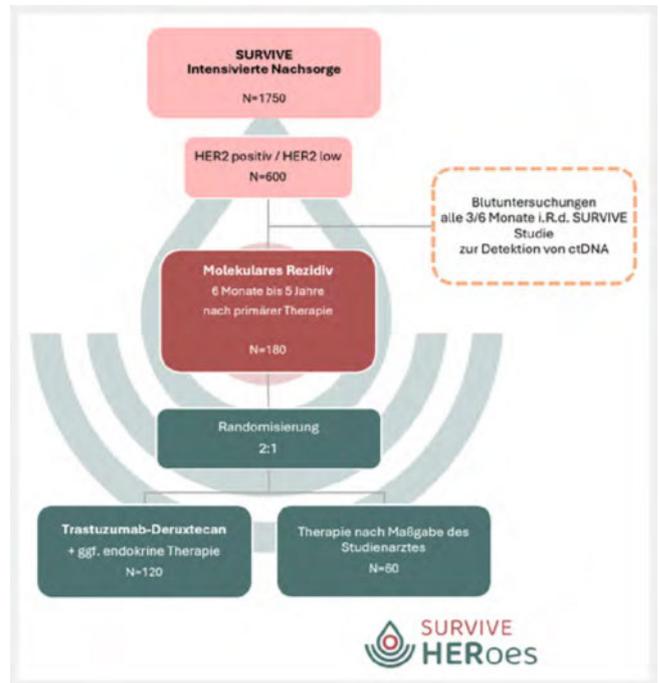
### Die SURVIVE-HERoes-Studie

Ein Investigator-initiated Trial (IIT) aus Ulm, welches ebenso die vulnerable Phase des molekularen Rezidivs anvisiert, ist die SURVIVE-HERoes-Studie. Hier werden SURVIVE-Patient\*innen mit molekularem Rezidiv (positiver ctDNA) und initial Her2-positivem oder Her2-low-Mammakarzinom (positiv definiert als IHC 3+ oder IHC 2+, FISH [Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung positiv]; low definiert als

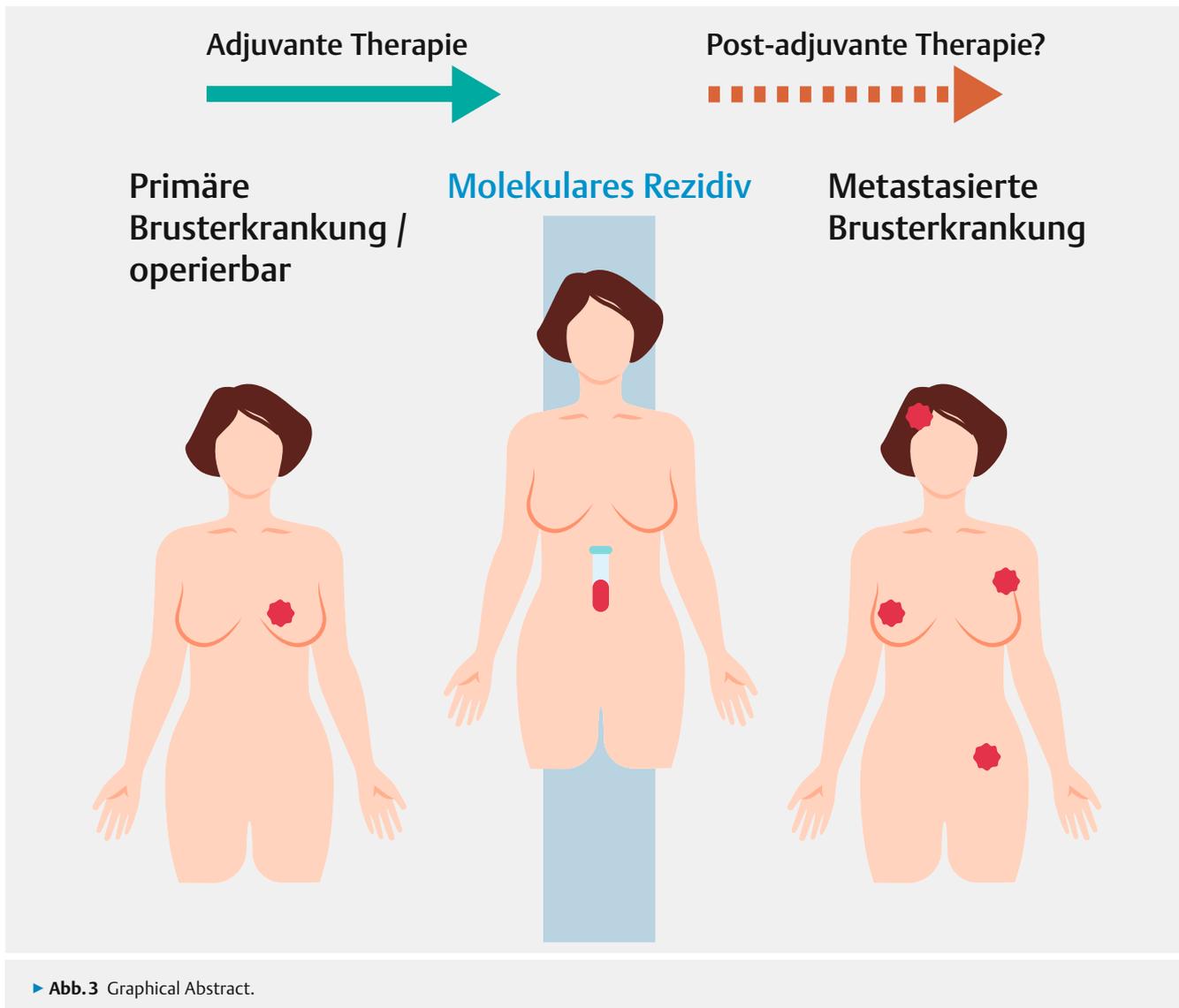
IHC 2+, FISH negativ bzw. IHC 1+) eingeschlossen. Nach dem Ausschluss bildgebender Metastasen erfolgt die 2:1-Randomisierung in eine Therapie mit dem Antikörper-Wirkstoffkonjugat (antibody drug conjugate, ADC) Trastuzumab-Deruxtecan (T-DXd) vs. Therapie nach Maßgabe des behandelnden Arztes (► Abb. 2).

Mit 180 Patient\*innen sollen der primäre Endpunkt, die ctDNA-Clearance 12 Monate nach Randomisierung, sowie die sekundären Endpunkte – Gesamtüberleben, distantes krankheitsfreies Überleben (DDFS), Lebensqualität sowie Sicherheit und Verträglichkeit von T-DXd – überprüft werden. Der Start wird für Ende 2024 anvisiert. Die klinische Phase-III-Studie wird von einem umfangreichen Biomarker-Programm begleitet, um der genaueren Erfassung dieser vulnerablen Phase Rechenschaft tragen zu können (► Abb. 3).

Zusammengefasst ist es wahrscheinlich, dass zukünftig nicht nur mehr Fokus auf eine personalisierte Therapie, sondern auch auf eine individualisierte Nachsorge gelegt wird. Patient\*innen mit zumindest mittlerem Rezidivrisiko könnten dann, sollte die SURVIVE-Studie positiv ausfallen, eine Liquid-Biopsy-basierte Nachsorge erhalten. Bei Nachweis einer minimalen Resterkrankeung bieten sich post-adjuvante Therapiekonzepte an. Ob dies die Prognose unserer Patient\*innen verbessern lässt, wird sich zeigen.



► **Abb. 2** Studienschema der SURVIVE-HERoes-Studie. Teilnehmende der SURVIVE-Studie, die ein wahres molekulares Rezidiv zeigen (positiver ctDNA-Nachweis und M0-Situation in der Staging-Untersuchung) können an der SURVIVE-HERoes-Studie teilnehmen, wenn ihr Primärtumor Her2-positiv oder Her2-low war. Es erfolgt die 2:1-Randomisierung in eine Therapie mit Trastuzumab-Deruxtecan + endokrine Therapie (bei HR+) über 12 Monate vs. Therapie nach Maßgabe des Studienarztes.



## Schlussfolgerungen

- Auch nach einer geheilten Brustkrebskrankung können minimale Krankheitsresiduen im Blut mit hoher Sensitivität und Spezifität nachgewiesen werden.
- Eine individualisierte, risikoadaptierte Nachsorge mittels Liquid Biopsies auf ebenjene minimale Krankheitsresiduen ermöglicht die frühere Therapie oder die Diagnose des molekularen Rezidivs.
- Erste Studien werden zeigen, ob dies zu einem verbesserten Gesamtüberleben führt und ob eine intensiverte Therapie während des molekularen Rezidivs (sog. post-adjuvante Therapie) eine Verbesserung der Prognose durch Vermeidung der evidenten distanten Metastasierung erwirken kann.
- Hier nehmen die SURVIVE- und die SURVIVE-HERoes-Studie eine internationale Vorreiterrolle ein.

## Interessenkonflikt

KP: Honoraria from Pfizer, Novartis and Gilead.

SH: none

AF: Honoraria from Roche, Clovis Oncology, GSK, Pfizer

HS: Travel Support by Daiichi Sankyo and Gilead, Honoraria by Novartis  
SH: research funding and honoraria from Clovis Oncology, Inc., GlaxoSmithKline, Novartis, Roche, AstraZeneca and Pfizer. Participation in advisory boards for Novartis, GlaxoSmithKline, and Merck Sharp & Dohme Corporation.

BR: Honoraria and research funding by AstraZeneca and Novartis

WJ: Honoraria and/or research funding by AstraZeneca, Cellgene, Chugai, DaiichiSankyo, Eisai, ExactScience, GSK, Janssen, Lilly, Menarini, MSD, Novartis, Sanofi-Aventis, Roche, Pfizer, Seagen, Gilead, Inivata, Guardant Health

## Literatur

- [1] Bidard FC et al. Elacestrant (oral selective estrogen receptor degrader) Versus Standard Endocrine Therapy for Estrogen Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer: Results From the Randomized Phase III EMERALD Trial. *J Clin Oncol* 2022; 40 (28): 3246–3256
- [2] AGO Kommission Mamma AGO-Leitlinien Mammakarzinom. 2024. Zugriff am 17.04.2024 unter [https://www.ago-online.de/fileadmin/ago-online/downloads/\\_leitlinien/kommission\\_mamma/2024/Einzeldateien/AGO\\_2024D\\_16\\_Nachsorge.pdf](https://www.ago-online.de/fileadmin/ago-online/downloads/_leitlinien/kommission_mamma/2024/Einzeldateien/AGO_2024D_16_Nachsorge.pdf).
- [3] Janni W et al. Persistence of disseminated tumor cells in the bone marrow of breast cancer patients predicts increased risk for relapse—a European pooled analysis. *Clin Cancer Res* 2011; 17 (9): 2967–2976. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2515
- [4] Braun S et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353 (8): 793–802. doi:10.1056/NEJMoa050434
- [5] Gebauer G et al. Epithelial cells in bone marrow of breast cancer patients at time of primary surgery: clinical outcome during long-term follow-up. *J Clin Oncol* 2001; 19 (16): 3669–3974
- [6] Mansi JL et al. Outcome of primary-breast-cancer patients with micro-metastases: a long-term follow-up study. *Lancet* 1999; 354 (9174): 197–202
- [7] Wiedswang G et al. Detection of isolated tumor cells in bone marrow is an independent prognostic factor in breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21 (18): 3469–3478. doi:10.1200/JCO.2003.02.009
- [8] Muller V et al. Clinical Relevance of Disseminated Tumor Cells in the Bone Marrow and Circulating Tumor Cells in the Blood of Breast Cancer Patients. *Breast Care (Basel)* 2009; 4 (5): 333–338. doi:10.1159/000235888
- [9] Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. *Nat Rev Cancer* 2008; 8 (5): 329–340. doi:10.1038/nrc2375
- [10] Cristofanilli M et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351 (8): 781–791. doi:10.1056/NEJMoa040766
- [11] Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as Liquid Biopsy. *Cancer Discov* 2016; 6 (5): 479–491. doi:10.1158/2159-8290.CD-15-1483
- [12] Kang Y, Pantel K. Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients. *Cancer Cell* 2013; 23 (5): 573–581. doi:10.1016/j.ccr.2013.04.017
- [13] Meng S et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res* 2004; 10 (24): 8152–8162
- [14] Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer* 2011; 11 (2): 123–134. doi:10.1038/nrc3004
- [15] Piñero R, Martínez-Pena I, López-López R. Relevance of CTC Clusters in Breast Cancer Metastasis. *Adv Exp Med Biol* 2020; 1220: 93–115. doi:10.1007/978-3-030-35805-1\_7
- [16] Bonecchi R et al. Chemokines and chemokine receptors: an overview. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2009; 14 (2): 540–551. doi:10.2741/3261
- [17] Rack B et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106 (5). doi:10.1093/jnci/dju066
- [18] Bidard FC et al. Circulating Tumor Cells in Breast Cancer Patients Treated by Neoadjuvant Chemotherapy: A Meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110 (6): 560–567. doi:10.1093/jnci/djy018
- [19] Mandel P, Metais P. Nuclear Acids In Human Blood Plasma. *C R Seances Soc Biol Fil* 1948; 142 (3/04): 241–243
- [20] Diehl F et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008; 14 (9): 985–990. doi:10.1038/nm.1789
- [21] Diaz LA Jr., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014; 32 (6): 579–586. doi:10.1200/JCO.2012.45.2011
- [22] Coombes RC et al. Personalized Detection of Circulating Tumor DNA Antedates Breast Cancer Metastatic Recurrence. *Clin Cancer Res* 2019; 25 (14): 4255–4263. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-3663
- [23] Nader-Marta G et al. Circulating tumor DNA for predicting recurrence in patients with operable breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *ESMO Open* 2024; 9 (3): 102390
- [24] André F et al. Alpelisib plus fulvestrant for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from SOLAR-1. *Ann Oncol* 2021; 32 (2): 208–217
- [25] Rosselli Del Turco M et al. Intensive diagnostic follow-up after treatment of primary breast cancer. A randomized trial. National Research Council Project on Breast Cancer follow-up. *JAMA* 1994; 271 (20): 1593–1597
- [26] Impact of follow-up testing on survival and health-related quality of life in breast cancer patients. A multicenter randomized controlled trial. The GIVIO Investigators. *JAMA* 1994; 271 (20): 1587–1592
- [27] Rojas MP et al. Follow-up strategies for women treated for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 25 (1): Cd001768. doi:10.1002/14651858.CD001768.pub2
- [28] Leitlinienprogramm Onkologie, (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF). S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Version 4.4, 2021, AWMF Registernummer: 032–045OL. 2021 [cited 2023 24.10.2023]. <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom/>
- [29] Turner NC et al. Results of the c-TRAK TN trial: a clinical trial utilising ctDNA mutation tracking to detect molecular residual disease and trigger intervention in patients with moderate- and high-risk early-stage triple-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2023; 34 (2): 200–211
- [30] ClinicalTrials.gov. Efficacy and Safety Comparison of Niraparib to Placebo in Participants With Human Epidermal Growth Factor 2 Negative (HER2-) Breast Cancer Susceptibility Gene Mutation (BRCAmut) or Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) With Molecular Disease (ZEST). 06.05.2024. doi:10.1089/ten.TEB.2023.0053
- [31] Lipsyc-Sharf M et al. Circulating Tumor DNA and Late Recurrence in High-Risk Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2022; 40 (22): 2408–2419