

«Liquid biopsy» – auf der Jagd nach Mutationen im Blut

PD Dr. med. Kirsten D. Mertz^a, PD Dr. med. Spasenija Savic^b, Prof. Dr. med. Joachim Diebold^c, Prof. Dr. med. Lukas Bubendorf^b

^a Institut für Pathologie Liestal, Kantonsspital Baselland, Liestal; ^b Institut für Medizinische Genetik und Pathologie, Universitätsspital Basel, Basel;

^c Pathologie, Luzerner Kantonsspital, Luzern

Die Analyse von Tumor-DNA aus Blutproben erlaubt es Ärzten auf nichtinvasive Art, einer Krebserkrankung ihre molekularen Besonderheiten zu entlocken. Die sogenannte Flüssigbiopsie oder «liquid biopsy» bereichert das Repertoire des Pathologen und eröffnet vielversprechende neue Möglichkeiten.

Hintergrund

Mit der sogenannten Flüssigbiopsie («liquid biopsy») haben Ärzte ein neues Instrument zur Hand, um das molekulare Profil von Krebserkrankungen einfacher und schneller zu entschlüsseln. Das Grundprinzip ist bereits seit Jahrzehnten bekannt: Im Blut zirkulieren zellfreie informationstragende Nukleinsäuren («cell free DNA» [cfDNA], aber auch RNA), die aus abgestorbenen Körperzellen stammen. Bei Tumorerkrankungen kommen zusätzlich noch intakte Tumorzellen («circulating tumor cells» [CTC]) und daraus stammende Nukleinsäuren hinzu. Durch die Verfügbarkeit neuer hochsensitiver DNA-Analysetechniken («next generation sequencing», digitale PCR) ist es möglich geworden, Nukleinsäuren und zirkulierende Tumorzellen im Blut systematisch zu analysieren. Die Analyse von cfDNA hat bereits Eingang in die diagnostische Routine gefunden.

Nichtinvasive Tumor-DNA-Analyse in Echtzeit

Pathologen beurteilen im Rahmen ihrer Diagnostik maligne Tumoren histologisch oder zytologisch und, im Rahmen der personalisierten Medizin, mit molekularbiologischen Methoden. Dabei können sie unter anderem den histologischen Tumortyp bestimmen und nach chirurgischer Resektion die Tumorgrosse, die Invasionsstiefe oder den Abstand des Tumors zum Resektionsrand messen. Beim Lungenkarzinom kann beispielsweise anhand von kleinen Biopsien oder Zytologien festgestellt werden, ob es sich um ein kleinzelliges Karzinom, ein Adenokarzinom oder ein

Plattenepithelkarzinom handelt. Diese Einteilung durch den Pathologen hat Folgen für Therapie und Prognose des Patienten und erfordert zwingend eine klassische gewebs- oder zellbasierte Diagnostik. Diese setzt allerdings eine Intervention zur Gewinnung von Tumormaterial voraus. Im fortgeschrittenen metastasierten Stadium kommt hinzu, dass aufgrund der Heterogenität von Tumoren die molekularpathologische Analyse einer Lokalisation möglicherweise nicht repräsentativ für den Gesamttumor ist.

Seit neuestem bieten Pathologien in der Schweiz ergänzend zur gewebsbasierten molekularpathologischen Diagnostik eine blutbasierte molekularpathologische Analytik von Nukleinsäuren – die sogenannte «liquid biopsy» oder cfDNA-Analyse – als eine weitere Komponente der personalisierten Krebsmedizin an [1]. Bei Krebserkrankungen dient die «liquid biopsy» momentan in erster Linie zum Nachweis von Resistenzmutationen bei klinischen oder radiologischen Hinweisen auf eine Tumorprogression unter zielgerichteter Behandlung. Im Falle von Lungenkarzinompatienten, die unter Behandlung mit «epidermal growth factor receptor» (EGFR)-Tyrosinkinasehemmern eine sekundäre Tumorprogression entwickeln, ist der Nachweis der p.T790M-Resistenzmutation Voraussetzung für eine weitere Behandlung mit einem Medikament, das sich gegen diese neue Mutation richtet. Es ist absehbar, dass die «liquid biopsy» in naher Zukunft auch dazu verwendet werden wird, die Tumorklast nichtinvasiv und in Echtzeit zu messen und Resistenzen gegen zielgerichtete Therapien frühzeitig zu erkennen. Erste Daten weisen darauf hin, dass der Nachweis von wenig oder gar keiner cfDNA im Blutplasma darauf hindeutet, dass die Krankheit unter



Kirsten D. Mertz

Kontrolle ist. Tauchen hingegen plötzlich wieder Nucleinsäuren im Blut auf, spricht dies für eine Tumorprogression, die in der «liquid biopsy» teilweise sogar schon vor dem Auftreten klinischer Anzeichen zu beobachten ist. Flüssigbiopsien könnten künftig aber auch auf die Früherkennung von Tumoren und die primäre Diagnose von onkologischen Treibermutationen aus dem Blut oder aus anderen Körperflüssigkeiten (z.B. Urin) ausgeweitet werden [1]. Bei der Flüssigbiopsie geht es nicht darum, klassische Gewebebiopsien zu ersetzen. Diese haben nach wie vor einen wichtigen Stellenwert. Vielmehr ergänzt die «liquid biopsy» das klassische Armamentarium der Pathologie, indem genetische Veränderungen viel schneller und nichtinvasiv nachgewiesen werden können und so die Therapie des Onkologen zeitnah angepasst werden kann [2]. Mit etablierten Verfahren der Bildgebung hingegen ist eine Tumorprogression erst nach vielen Monaten sichtbar und dann ist es meist zu spät für eine Umstellung der Therapie. Die «liquid biopsy» erlaubt also eine Verlaufsdiagnostik in Echtzeit. Im Gegensatz dazu ist die Biopsie oder die Zytologie nur eine Momentaufnahme [3].

Eine Schwäche des Verfahrens ist allerdings die noch unverstandene enorme Variabilität der Konzentrationen von Tumor-DNA zwischen unterschiedlichen Tumorentitäten und Tumorstadien. Nicht bei allen malignen Tumorerkrankungen ist cfDNA gleichermassen im Blut nachweisbar. Während sich bei fast allen fortgeschrittenen kolorektalen, Lungen- und Ovarialkarzinomen cfDNA im Blut findet, ist dies bei Prostatakarzinomen, Nierenzellkarzinomen und Gehirntumoren deutlich seltener der Fall. Wenig verstanden sind auch die Herkunft der cfDNA, ihre Stabilität und Halbwertszeit [4].

Die relativ einfache Verfügbarkeit von Blutproben und die Automatisierbarkeit der molekularen Analyseverfahren machen die Flüssigbiopsie zu einem attraktiven Ansatz mit grossem Potential für die Zukunft. Allerdings sind die Mengen an cfDNA, die sich aus Plasma oder Serum gewinnen lassen, sehr gering, so dass hochsensitive Analysemethoden und Anreicherungs- respektive Amplifikationsstrategien erforderlich sind. Die für die Flüssigbiopsien notwendigen hochsensitiven Technologien sind anfällig für Störungen und bislang kaum standardisiert, so dass momentan ein qualitätsgesicherter Einsatz in der Routinediagnostik in spezialisierten Zentren erfolgen sollte.

Im Wettstreit um die blutbasierte Diagnostik drängen zunehmend kommerzielle Anbieter auf den Markt. Diese Entwicklung ist kritisch zu bewerten, da die Interpretation einer Flüssigbiopsie sinnvollerweise die Korrelation mit bekannten Treibermutationen aus der molekularpathologischen Gewebediagnostik und mit dem histologischen Bild voraussetzt. Die Pathologie ist

daher prädestiniert, die blutbasierte molekularpathologische Analytik ergänzend anzubieten, weil sie verschiedene diagnostische Ansätze integrieren kann [5].

Diskussion

Das Potential der «liquid biopsy» liegt insbesondere im nichtinvasiven frühzeitigen Nachweis von Resistenzmutationen gegen zielgerichtete Therapien und zukünftig möglicherweise auch im Monitoring der Tumormast. Die Erfahrung der Pathologien mit «liquid biopsies» wird in den kommenden Jahren mit zunehmendem Einsatz in der molekularpathologischen Routinediagnostik rasant wachsen. Die «liquid biopsy» erscheint aus heutiger Sicht sensitiv genug, um genetische Veränderungen in Tumoren in Echtzeit nachzuweisen. Das Spektrum an weiteren diagnostischen Möglichkeiten ist noch längst nicht ausgereizt. Flüssigbiopsien könnten sich etwa auch zur Früherkennung von Krebs-erkrankungen eignen, so dass langfristig aufwendige, belastende und teure Screening-Methoden wie Mammografie oder Kolonoskopie durch die blutbasierte Früherkennung ersetzt werden könnten.

Es ist sinnvoll, dass die Analyse von cfDNA und die integrierte Beurteilung aller Befunde unter Einbezug sämtlicher histologischer, zytologischer und molekulargenetischer Befunde in den Händen der Pathologie liegt und bleibt. Um die langfristige Qualitätssicherung der molekularpathologischen Diagnostik inklusive «liquid biopsy» in der Schweiz zu gewährleisten, sind nicht nur prospektive klinische Studien mit grossen Fallzahlen, ein direkter Bezug zur gewebsbasierten molekularpathologischen Diagnostik und differenzierte Untersuchungen mit dem Ziel der Standardisierung notwendig, sondern vor allem auch die Ausbildung entsprechend qualifizierter Molekularpathologen und Molekularbiologen.

Disclosure statement

LB hat Honorare aus Advisory Boards von AstraZeneca und Roche deklariert. Die anderen Autoren haben keine finanziellen oder persönlichen Verbindungen im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

Literatur

- 1 Wan JC, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:223–38.
- 2 Ilie M, Hofman P. Pros: Can tissue biopsy be replaced by liquid biopsy? *Transl Lung Cancer Res*. 2016;5:420–3.
- 3 Hofman P, Popper HH. Pathologists and liquid biopsies: to be or not to be? *Virchows Arch*. 2016;469:601–9.
- 4 Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10:472–84.
- 5 Dahl E, Jung A, Fassunke J, et al. Chances and risks of blood-based molecular pathological analysis of circulating tumor cells (CTC) and cell-free DNA (cfDNA) in personalized cancer therapy: positional paper from the study group on liquid biopsy of the working group for molecular pathology in the German Society of Pathology (DGP). *Pathologe*. 2015;36:92–7.

Korrespondenz:
PD Dr. med. Kirsten D. Mertz
Institut für Pathologie Liestal
Kantonsspital Baselland
Mühlemattstrasse 11
CH-4410 Liestal
kirsten.mertz[at]ksbl.ch