Genexpressionsanalysen beim frühen Mammakarzinom – quo vadis?

Gene Expression Analyses in Early Breast Carcinoma — Quo Vadis?

Autoren
Katrin Almstedt[1], Carsten Denkert[2], Marcus Schmidt[1]

Institut
1 Abteilung für Konservative und Molekulare Gynäkologische Onkologie, Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit, Universitätsmedizin Mainz
2 Institut für Pathologie Charité, Campus Charité Mitte, Universitätsmedizin Berlin

Schlüsselwörter
Genexpression, Mammakarzinom, intrinsische Subtypen, Prognose, Evidenz

Key words
gene expression, breast carcinoma, intrinsic subtypes, prognosis, evidence

Bibliografie
DOI https://doi.org/10.1055/s-0043-122833
Senologie 2017; 14: 209–213
© Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart · New York
ISSN 1611-6453

Korrespondenzadresse
Univ.-Prof. Dr. Marcus Schmidt
Abteilung für Konservative und Molekulare Gynäkologische Onkologie
Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit
Universitätsmedizin Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz
Tel.: ++ 49/61 31/17 32 91
Fax: ++ 49/61 31/17 56 73
Marcus.schmidt@unimedizin-mainz.de

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Festlegung der adjuvanten Therapie beim Mammakarzinom ist eine möglichst genaue Einschätzung des Risikos für einen Rückfall von entscheidender Bedeutung. In diesem Zusammenhang sind die Genexpression und damit auch Genexpressionssignaturen als Prognosefaktoren in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. Für den praktischen Einsatz ist es wichtig, dass Genexpressionssignaturen an formalinfixiertem, paraffineingebettetem Tumorgewebe durchgeführt werden können. Um eine ungenaue Risikoklassifikation und damit eine mögliche Unter- oder Übertherapie der Patientinnen zu vermeiden, müssen sorgfältige analytische und klinische Validierungen und ein hoher Level of Evidence (LoE) gefordert werden. Von den kommerziell erhältlichen Genexpressionssignaturen werden derzeit MammaPrint® und Oncotype DX® mit prospektiven Studienergebnissen als LoE IA sowie Endopredict® und Prosigna® als LoE IB von der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) eingestuft. Ebenso votierten die Panelmitglieder der diesjährigen St. Gallen Konsensuskonferenz mehrheitlich für den möglichen Einsatz von Oncotype DX®, MammaPrint®, Prosigna®, EndoPredict® und Breast Cancer Index®. Diese Multigentests können bei ausgewählten hormonrezeptorpositiven und HER2-negativen Patientinnen eingesetzt werden, wenn alle anderen Kriterien keine Therapieentscheidung zulassen.

ABSTRACT

In order to establish whether adjuvant therapy should be administered in patients with breast carcinoma, it is decisive to have as precise as possible an assessment of the risk of recurrence. In this context, gene expression — and thus gene expression signatures as well — have become a focus of attention as prognostic factors. For practical application, it is important to be able to analyze gene expression signatures in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue. Careful analytic and clinical validations and a high level of evidence (LoE) are required in order to avoid imprecise risk classification and thus potential overtreatment or undertreatment of the patients. Among the commercially available gene expression signatures, the Working Group on Gynecological Oncology (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, AGO) currently grades MammaPrint® and Oncotype DX® as having LoE IA, with prospective study results; and Endopredict® and Prosigna® as having LoE IB. The panel members at this year's St. Gallen consensus conference also voted by a majority in favor of the possible usage of Oncotype DX®, MammaPrint®, Prosigna®, EndoPredict®, and Breast Cancer Index®. These multigene tests can be used in selected patients with hormone receptor–positive and HER2-negative findings if none of the other criteria allow a treatment decision to be made.

Einleitung

Patientinnen mit einem Mammakarzinom können von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren [1]. Diese Chemotherapie kann allerdings zu unerwünschten Nebenwirkungen führen, die über die akuten Toxizitäten (z. B. Alopezie, Übelkeit, Erbrechen) hinaus potenziell langfristig lebensqualitätseinschränkend (z. B. Amenorrhoe, Fatigue, sensorische Polyneuropathie, „Chemobrain") oder sogar lebensbedrohlich (z. B. Herzinsuffizienz, sekundäre Leukämien) sein können [2]. Aufgrund dieses Dilemmas ist eine möglichst genaue Abschätzung des Rückfallrisikos von großer Bedeutung. Grundpfeiler der Risikoeinschätzung sind die klassischen klinisch-pathologischen Prognosefaktoren (Tumorgröße, Nodalstatus, histologischer Differenzierungsgrad, Östrogenrezeptor [ER], Progesteronrezeptor [PR], HER2-Status und Ki-67 als Marker für die Proliferation). Eine wichtige Rolle spielen in diesem Kontext zunehmend auch Untersuchungen der Genexpression. Die Abschätzung des mutmaßlichen Rückfallrisikos ist von wesentlicher Bedeutung, da Patientinnen mit einem geringen absoluten Risiko nur einen geringen absoluten Nutzen von einer adjuvanten Chemotherapie haben [1]. Aus diesem Grund ist es entscheidend, dass Genexpressionsanalysen beim Mammakarzinom nach klaren Evidenzkriterien beurteilt werden [3]. Der lange Weg der Genexpressionsanalysen von Tausenden Genen beim Mammakarzinom wurde von Perou und Mitarbeitern im Jahre 2000 begonnen. Mittels Dann-Mikroarrays konnte die molekulare Heterogenität der Mammakarzinome gezeigt und mit der Beschreibung sogenannter intrinsischer Subtypen eine neue Nomenklatur beim Mammakarzinom definiert werden [4].

Evidenzeinteilung bei Prognosefaktoren

Zwar wird nach wie vor eine A-priori-Untersuchung in einer prospektiven randomisierten Studien als Goldstandard angesehen; unter Berücksichtigung der Tatsache, dass solche Studien zur Evaluation von Prognosefaktoren wie der Genexpression allerdings sehr aufwendig sind, wurden „prospektiv-retrospektive" Ansätze unter Verwendung von archiviertem Material aus prospektiven Studien beschrieben [3].

Kommerziell erhältliche Genexpressionstests beim Mammakarzinom – prospektiv-retrospektive Evidenz

Prosigna® (PAM50)

Aus der ursprünglichen intrinsischen Genliste wurden 50 Gene (PAM50) mittels quantitativer Real-Time-Polymerasekettenreaktion (qRT-PCR) in Paraffingewebe untersucht [5]. Diese Gensignatur wurde für den kommerziell erhältlichen Genexpressionstest Prosigna® (Nanostring Technologies, USA) auf 46 Gene reduziert und bislang in mehreren Studien „prospektiv-retrospektiv" validiert [6]. Grundsätzlich bestätigen diese Untersuchungen, dass hormonrezeptorpositive luminale Mammakarzinome in zwei Gruppen mit deutlich unterschiedlicher Prognose eingeteilt werden können. Von ihnen haben die Luminal-A-Karzinome eine bessere Prognose als die schneller proliferierenden Luminal-B-Karzinome. Ein grundlegendes Problem speziell bei hormonrezeptorpositiven Mammakarzinomen ist das Auftreten von späten Metastasen mehr als 5 Jahre nach Operation. Bei der prospektiv-retrospektiven Untersuchung der ABCSG-8-Studie konnten Filipits et al. zeigen, dass durch Verwendung von PAM50 eine Niedrigrisikogruppe mit einem Risiko von 2,4 % nach 5 Jahren endokriner Therapie definiert werden konnte [7].

MammaTyper®

Die Unterscheidung zwischen Luminal-A- und Luminal-B-differenzierten Mammakarzinomen, die auch in der aktuellen St. Gallen Klassifikation ihren Niederschlag findet, wird maßgeblich von der mittels Ki-67 gemessenen Proliferationsrate bestimmt. Die Bestimmung von Ki-67-mRNA mittels qRT-PCR ist Gegenstand aktueller Untersuchungen. So konnten Wirtz et al. in einer Analyse der FinHER-Studie zeigen, dass die mRNA-Bestimmung im Gegensatz zur immunhistochemischen Bestimmung von Ki-67 einen unabhängigen Zusammenhang mit dem fernmetastasenfreien Überleben hatte (HR 0,51; 95 %-KI 0,29 – 0,89, p = 0,019) [8]. Die Konkordanz für Ki-67-mRNA verglichen mit Ki-67-Immunhistochemie war mit 75 % (Kappa 0,45) nur mäßig. Die Autoren schlussfolgerten, dass die mRNA-Bestimmung leichter standardisierbar ist als eine immunhistochemische Bestimmung mit bekannter Variabilität der immunhistochemischen Bestimmung von Ki-67 zwischen unterschiedlichen Laboratorien. In einer aktuellen internationalen multizentrischen und prospektiven Studie des Genexpressionstests MammaTyper® (BioNTech Diagnostics GmbH, Deutschland) wurde die Reproduzierbarkeit zwischen 10 Molekularpathologien untersucht [9]. Die Analysen zeigten eine exzellente Reproduzierbarkeit mit Kappa-Werten zwischen 0,9 und 1,0. MammaTyper® hat daher das Potenzial, die dezentrale Bestimmung an FFPE-Gewebeproben der etablierten Biomarker (ER, PR, HER2 und KI-67) und molekularen Subtypen beim Mammakarzinom zu verbessern.

Oncotype DX®

Ein am Paraffinmaterial durchgeführter, kommerziell erhältlicher Genexpressionsassay ist Oncotype DX® (Genomic Health, USA), der bei Patientinnen mit einem hormonrezeptorpositiven, HER2-negativen frühen Mammakarzinom (N0 – 1) zum Einsatz kommen kann. Dabei wird mittels qRT-PCR die Expression von 21 Genen gemessen und ein Risikoscore, Recurrence Score (RS 0 – 100), berechnet [10]. Mit dem Test konnte eine Niedrigrisikogruppe definiert werden (RS < 18), die unter endokriner Therapie allein ein geringes Risiko für das Auftreten von Fernmetastasen hat. In weiteren Untersuchungen wurde gezeigt, dass Patientinnen mit niedrigem Risiko nur einen geringen zusätzlichen Nutzen durch eine adjuvante Chemotherapie haben [11, 12]. Bezogen auf das Auftreten später Metastasen ist die Datenlage widersprüchlich. In einer Analyse von 665 ER+-nodalnegativen Patientinnen aus der TransATAC-Studie konnte kein signifikanter Effekt von Oncotype DX® auf die Vorhersage später Metastasen mehr als 5 Jahre nach erfolgter Operation nachgewiesen werden [13]. Dagegen konnte ein prognostischer Einfluss von Oncotype DX® für späte Fernme-

tastasen in Abhängigkeit von der Genexpression des Östrogenrezeptors (ESR1) gezeigt werden [14].

EndoPredict®

Der Test EndoPredict® (EP) (Sividon Diagnostics GmbH, Vertrieb Myriad) kann mittels qRT-PCR an Paraffinmaterial dezentral durchgeführt werden. Im Ringversuch zeigte sich eine korrekte Einstufung der Präparate in die Hoch- bzw. Niedrigrisikogruppe [15]. Bei Patientinnen aus den Studien 6 und 8 der Austrian Breast Cancer Study Group (ABCSG) ermöglichte der EP-Test in Kombination mit Tumorgröße und Nodalstatus (EPclin) bei postmenopausalen ER-positiven/HER2-negativen und rein endokrin behandelten Patientinnen die Abgrenzung einer Niedrigrisikogruppe mit einem 10-Jahres-Fernmetastasenrisiko von 4 %. EPclin kann die Hoch- bzw. Intermediärrisikogruppen von gängigen klinisch-pathologischen Risikoklassifikationen zu 58 – 61 % als Niedrigrisikogruppe mit einem 10-Jahres-Metastasenrisiko von 5 % klassifizieren [16] und ist auch für das Auftreten von späten Metastasen nach 5 Jahren endokriner Therapie prognostisch aussagekräftig [17]. In der GEICAM/9906-Studie zeigte sich erwartungsgemäß eine unabhängige prognostische Relevanz auch bei prämenopausalen Patientinnen [18].

Vergleich zwischen unterschiedlichen Multigentests

Im Rahmen der prospektiven OPTIMA-Prelim-Studie wurde sowohl die Risikoklassifikation als auch die Einteilung der molekularen Subtypen zwischen unterschiedlichen kommerziell erhältlichen Genexpressionstests (Oncotype DX®, Prosigna®, MammaPrint®, Blueprint®, MammaTyper®) miteinander verglichen [19]. Bei einem substanziellen Prozentsatz war sowohl die Risikoeinteilung (60,6 %) als auch die Klassifikation der molekularen Subtypen (40,7 %) diskordant zwischen den untersuchten Tests.

Von klinischer Bedeutung ist der Vergleich der prognostischen Aussagekraft zwischen unterschiedlichen Genexpressionstests. Ein direkter Vergleich zweier Genexpressionssignaturen wurde im Rahmen der TransATAC-Studie bei ER+/HER2- endokrin behandelten Patientinnen durchgeführt [8]. Bei diesen Patientinnen lagen bereits die Ergebnisse des Oncotype DX®-Tests zum Recurrence Score vor. Mittels mRNA-Analyse wurde der EP-Test und durch Hinzunahme von Tumorgröße und Nodalstatus EPclin bestimmt. Der prognostische Effekt wurde mittels Likelihood Ratio χ^2 (LR-χ^2) und Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalysen für frühe (0 – 5 Jahre) und späte (5 – 10 Jahre) Metastasen sowohl für nodalnegative als auch für nodalpositive Patientinnen evaluiert. EP und EPclin zeigten vor allem bei nodalpositiven Tumoren und späten Metastasen eine größere prognostische Aussagekraft als der Recurrence Score. Mittels EPclin wurden 58,8 % der Patientinnen als low-risk (HR 5,99) klassifiziert, der RS zeigte bei 61,7 % ein niedriges Risiko an (HR 2,73). Diese Ergebnisse zeigen, dass es wichtig ist, neben Genexpressionsanalysen auch klinisch-pathologische Faktoren wie Tumorgröße und Nodalstatus zu berücksichtigen.

Kommerziell erhältliche Multigentests beim Mammakarzinom – prospektive Evidenz

In einer Untersuchung bei hormonrezeptorpositiven und HER2-negativen Patientinnen in der prospektiv-randomisierten PlanB-Studie konnten Gluz und Mitarbeiter zeigen, dass Patientinnen mit einem niedrigen Recurrence Score ≤ 11 mit rein endokriner Therapie auch ohne adjuvante Chemotherapie ein exzellentes erkrankungsfreies 3-Jahres-Überleben von 98 % hatten [20]. Die Autoren unterstrichen zum einen, dass Patientinnen mit einem niedrigen RS eine sehr gute Prognose unter rein endokriner Therapie hatten, und zum anderen, dass die substanzielle Diskordanz zwischen traditionellen pathologischen Parametern und dem RS eine weitere Standardisierung erforderlich macht und dass gut standardisierte und validierte Genexpressionstests in der Therapiewahl berücksichtigt werden sollten. In einer weiteren aktuellen Auswertung der PlanB-Studie untersuchten Nitz et al. neben dem Recurrence Score noch klinisch-pathologische Prognosefaktoren wie Nodalstatus, Grading, Tumorgröße, Ki-67, PR und IHC4 [21]. Die prognostische Bedeutung des RS war besonders bei Tumoren mit einem mittleren Ki-67 (> 10 %, < 40 %) ausgeprägt. Die Autoren schlossen daraus, dass Oncotype DX® beim frühen Mammakarzinom N0 – 1 zu Therapieentscheidungen herangezogen werden kann und dass Ki-67 das Potenzial hat, die Selektion der Patientinnen für eine genomische Testung zu unterstützen.

Das sehr gute Überleben von Patientinnen mit hormonrezeptorpositiven, HER2-negativen Tumoren mit einem niedrigen RS (< 11) unter rein endokriner Therapie wurde im Rahmen der prospektiv-randomisierten TAYLORx-Studie gezeigt [22]. Die 1626 (15,9 %) Patientinnen, die als low-risk mit einem RS < 11 eingestuft worden waren, hatten ein erkrankungsfreies 5-Jahres-Überleben von 93,8 % und ein Gesamtüberleben von 98 % unter rein endokriner Therapie. Daher sahen es die Autoren durch ihre Untersuchung als bestätigt an, dass Patientinnen mit einem niedrigen RS eine adjuvante Chemotherapie erspart werden kann.

In einer weiteren prospektiven Studie (MINDACT) wurde bei Patientinnen mit frühem Mammakarzinom (nodalnegativ oder 1 – 3 befallene Lymphknoten) die 70-Gen-Signatur (MammaPrint®) mit klinisch-pathologischen Kriterien (AdjuvantOnline®) verglichen [23]. Patientinnen mit diskordanter Risikoeinstufung wurden randomisiert, ob die genomische (G) oder die klinisch-pathologische (C) Risikoabschätzung zur Therapieentscheidung verwendet werden sollte. 32 % hatten diskordante Ergebnisse zwischen G und C und wurden dementsprechend randomisiert. C-high-risk/G-low-risk-Patientinnen hatten ein metastasenfreies Überleben von 94,7 %, wenn sie zur genomischen Risikoeinteilung randomisiert wurden und dementsprechend keine Chemotherapie erhielten. Die Chemotherapie erhaltende Vergleichskohorte zeigte ein um lediglich 1,5 % verbessertes metastasenfreies Überleben. Diese prospektiven Ergebnisse zeigen, dass die Gensignatur insgesamt zu einer substanziellen Reduktion von adjuvanter Chemotherapie führen kann.

Evidenzbasierte Beurteilungen der Genexpression als prognostischer Faktor beim frühen Mammakarzinom

Von der American Society of Clinical Oncology (ASCO) wurde im vergangenen Jahr eine Leitlinie für den Einsatz von Biomarkern für adjuvante Therapieentscheidungen bei Patientinnen mit frühem Mammakarzinom publiziert [24]. Bei der Literatursuche wurden systematische Übersichtsarbeiten, Metaanalysen und randomisierte Studien herangezogen. Zur Erstellung dieser Leitlinie wurden 50 Studien aus den Jahren 2006 – 2014 verwendet. Eine randomisiert-prospektive und 18 prospektiv-retrospektive Studien hatten den klinischen Nutzen einzelner Biomarker für die Entscheidung zu einer adjuvanten Therapie evaluiert. Zusätzlich zu ER, PR und HER2 wurde eine ausreichende Evidenz für einen klinischen Nutzen der oben erwähnten Multigentests Oncotype DX®, EndoPredict® und Prosigna® (PAM50) bei nodalnegativen Patientinnen bestätigt. Nach Vorliegen der Studienergebnisse der prospektiven MINDACT-Studie veröffentlichte die ASCO dieses Jahr eine aktuelle Stellungnahme zum Einsatz des MammaPrint®-Gensignaturassays und bestätigt ebenso den klinischen Nutzen für das 70-Gen-Signaturprofil bei nodalnegativen Patientinnen mit hohem klinischem Risiko [25].

Von der European Group on Tumor Markers (EGTM) wurden kürzlich evidenzbasierte Leitlinien zur Verwendung von Biomarkern beim Mammakarzinom publiziert [26]. Speziell bei ER +HER2-nodalnegativen Mammakarzinomen wurden zur Prognosebestimmung Signaturen der Genexpression wie Oncotype DX®, MammaPrint®, EndoPredict®, Breast Cancer Index® (BCI) und Prosigna® (PAM50) aufgeführt. Oncotype DX®, MammaPrint®, EndoPredict® und Prosigna® können gemäß dieser Übersichtsarbeit auch bei 1 – 3 befallenen axillären Lymphknoten verwendet werden. Neben der Bedingung, dass die verwendeten Tests analytisch und klinisch validiert sein sollten, wurde die Wichtigkeit von externen Qualitätssicherungsprogrammen sowie von regelmäßigen Audits und Akkreditierungen unterstrichen.

Konträr ist allerdings der Abschlussbericht des IQWiG [27]. Von insgesamt 8 für diesen Abschlussbericht herangezogenen und oben beschriebenen Studien wurden lediglich zwei berücksichtigt [18, 23]. Im Abschlussbericht wurde das Arbeitsergebnis folgendermaßen eingeordnet: „Im vorliegenden Bericht konnten lediglich Ergebnisse von 2 der 8 eingeschlossenen Studien für den vorliegenden Bericht herangezogen werden. Die Ergebnisse der verbleibenden 6 Studien wurden aufgrund des hohen Anteils nicht berücksichtigter Daten nicht für die Bewertung verwendet. Für die Beantwortung der Fragestellung war die Datenlage auf Basis der 8 eingeschlossenen Studien insgesamt nicht ausreichend.“ Die substanziellen Unterschiede in der Bewertung der Evidenz verglichen mit den Leitlinien sowohl der ASCO als auch der EGTM ergeben sich aus den vom IQWiG verwendeten restriktiveren Einschlusskriterien für die Berücksichtigung von Studien.

Auch wenn die vom IQWiG im vorliegenden Abschlussbericht zusammengestellten formalen Argumente gegen Multigentests zu respektieren sind, muss aus ärztlicher Sicht gefragt werden, ob derzeit grundsätzlich bessere Instrumente als Analysen der Genexpression mittels Multigentests für die Abschätzung des Risikos der Patientin zur Verfügung stehen.

Wie in den oben genannten Prognosestudien publiziert, haben die unterschiedlichen Genexpressionssignaturen durchgehend eine unabhängige und vielfach auch überlegene prognostische Bedeutung im Vergleich zu den klassischen klinisch-pathologischen Prognosefaktoren. Auch wenn man sich der Limitationen der Multigentests bewusst sein sollte, gibt die Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) folgende Empfehlung: Wenn bei Frauen mit einem ER/PR-positiven, HER2-negativen, invasiven Mammakarzinom die konventionellen Prognoseparameter keine eindeutige Entscheidung für oder gegen eine adjuvante Chemotherapie erlauben, kann ein methodisch standardisierter und klinisch validierter Multigentest für die Entscheidung herangezogen werden. Dieser Auffassung ist ebenso die Mehrheit des diesjährigen internationalen St. Gallen Expertenpanels, so dass in ihrer aktuellen Empfehlung der Einsatz von Multigenassays wie Oncotype DX®, MammaPrint®, Prosigna®, EndoPredict® und Breast Cancer Index® (BCI) unter den genannten Voraussetzungen befürwortet wird. Der generelle Einsatz von Gensignaturen für das Kollektiv nodalpositiver Tumoren wird von den Panelmitgliedern weiterhin nicht empfohlen, die Durchführung eines Tests könne jedoch die prognostische Aussage auch in dieser Gruppe verbessern. Aufgrund fehlender prospektiver Daten votiert die Mehrheit der Mitglieder gegen die Verwendung von Multigenassay-Ergebnissen als Entscheidungsgrundlage für eine erweiterte endokrine Therapie [28].

Genexpression – quo vadis?

Die Risikoabschätzung spielt beim Mammakarzinom eine zentrale Rolle. Durch eine immer besser werdende molekulare Charakterisierung wird es in der Zukunft möglich sein, das Risiko einer individuellen Patientin besser abzuschätzen und die medikamentöse Therapie risikoadaptiert einzusetzen. Von den erwähnten kommerziell erhältlichen Gensignaturen werden derzeit Endopredict®, MammaPrint®, Oncotype DX® und Prosigna® von der AGO mit + bewertet, sofern alle anderen Kriterien keine Therapieentscheidung zulassen. Das Expertenpanel der diesjährigen internationalen St. Gallen Konferenz votiert unter diesen Voraussetzungen mehrheitlich für den Einsatz von Oncotype DX®, MammaPrint®, Prosigna®, EndoPredict® und Breast Cancer Index®. Der seit dem Jahr 2000 beschrittene Weg, die Genexpression als Prognosefaktor heranzuziehen, findet somit immer stärkeren Einsatz in der Routinediagnostik bei selektierten Patientinnen.

Interessenkonflikt

Univ.-Prof. Dr. Marcus Schmidt war als Referent für Astra Zeneca, Celgene, Eisai, Myriad, Novartis, Pfizer, Pierre-Fabre, Roche, Sividon tätig und hat von diesen Firmen auch Beraterhonorar erhalten.

Literatur

[1] Peto R, Davies C, Godwin J et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100000 women in 123 randomised trials. Lancet (London, England) 2012; 379: 432 – 444

[2] Tao JJ, Visvanathan K, Wolff AC. Long term side effects of adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. Breast (Edinburgh, Scotland) 2015; 24 (Suppl. 2): S149 – S153

[3] Simon RM, Paik S, Hayes DF. Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers. Journal of the National Cancer Institute 2009; 101 (21): 1446 – 1452

[4] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000; 406: 747 – 752

[5] Parker JS, Mullins M, Cheang MCU et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2009; 27 (8): 1160 – 1167

[6] Martin M, Prat A, Rodriguez-Lescure A et al. PAM50 proliferation score as a predictor of weekly paclitaxel benefit in breast cancer. Breast cancer research and treatment 2013; 138 (2): 457 – 466

[7] Filipits M, Nielsen TO, Rudas M et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research 2014; 20 (5): 1298 – 1305

[8] Buus R, Sestak I, Kronenwett R et al. Comparison of EndoPredict and EPclin With Oncotype DX Recurrence Score for Prediction of Risk of Distant Recurrence After Endocrine Therapy. Journal of the National Cancer Institute 2016; 108 (11): djw149

[9] Varga Z, Lebeau A, Bu H et al. An international reproducibility study validating quantitative determination of ERBB2, ESR1, PGR, and MKI67 mRNA in breast cancer using MammaTyper(R). Breast cancer research: BCR 2017; 19 (1): 55

[10] Paik S, Shak S, Tang G et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. The New England journal of medicine 2004; 351 (27): 2817 – 2826

[11] Paik S, Tang G, Shak S et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2006; 24 (23): 3726 – 3734

[12] Albain KS, Barlow WE, Shak S et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. The Lancet. Oncology 2010; 11 (1): 55 – 65

[13] Sgroi DC, Sestak I, Cuzick J et al. Prediction of late distant recurrence in patients with oestrogen-receptor-positive breast cancer: a prospective comparison of the breast-cancer index (BCI) assay, 21-gene recurrence score, and IHC4 in the TransATAC study population. The Lancet. Oncology 2013; 14 (11): 1067 – 1076

[14] Wolmark N, Mamounas EP, Baehner FL et al. Prognostic Impact of the Combination of Recurrence Score and Quantitative Estrogen Receptor Expression (ESR1) on Predicting Late Distant Recurrence Risk in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer After 5 Years of Tamoxifen: Results From NRG Oncology/National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-28 and B-14. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2016; 34 (20): 2350 – 2358

[15] Denkert C, Kronenwett R, Schlake W et al. Decentral gene expression analysis for ER+/Her2- breast cancer: results of a proficiency testing program for the EndoPredict assay. Virchows Archiv: an international journal of pathology 2012; 460 (3): 251 – 259

[16] Dubsky P, Filipits M, Jakesz R et al. EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer. Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO 2013; 24 (3): 640 – 647

[17] Dubsky P, Brase JC, Jakesz R et al. The EndoPredict score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER2- breast cancer patients. British journal of cancer 2013; 109 (12): 2959 – 2964

[18] Martin M, Brase JC, Calvo L et al. Clinical validation of the EndoPredict test in node-positive, chemotherapy-treated ER+/HER2- breast cancer patients: results from the GEICAM 9906 trial. Breast cancer research: BCR 2014; 16 (2): R38

[19] Bartlett JMS, Bayani J, Marshall A et al. Comparing Breast Cancer Multiparameter Tests in the OPTIMA Prelim Trial: No Test Is More Equal Than the Others. Journal of the National Cancer Institute 2016; 108 (9): djw050

[20] Gluz O, Nitz UA, Christgen M et al. West German Study Group Phase III PlanB Trial: First Prospective Outcome Data for the 21-Gene Recurrence Score Assay and Concordance of Prognostic Markers by Central and Local Pathology Assessment. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2016; 34: 2341 – 2349

[21] Nitz U, Gluz O, Christgen M et al. Reducing chemotherapy use in clinically high-risk, genomically low-risk pN0 and pN1 early breast cancer patients: five-year data from the prospective, randomised phase 3 West German Study Group (WSG) PlanB trial. Breast cancer research and treatment 2017; 165: 573 – 583

[22] Sparano JA, Gray RJ, Makower DF et al. Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. The New England journal of medicine 2015; 373: 2005 – 2014

[23] Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. The New England journal of medicine 2016; 375 (8): 717 – 729

[24] Harris LN, Ismaila N, McShane LM et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2016; 34 (10): 1134 – 1150

[25] Krop I, Ismaila N, Andre F et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2017; 35: 2838 – 2847

[26] Duffy MJ, Harbeck N, Nap M et al. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). European journal of cancer (Oxford, England: 1990) 2017; 75: 284 – 298

[27] Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG). Biomarkerbasierte Tests zur Entscheidung für oder gegen eine adjuvante systemische Chemotherapie beim primären Mammakarzinom, 2016. https://www.iqwig.de/download/D14-01_Abschlussbericht_Biomarker-bei-Mammakarzinom.pdf

[28] Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology/ESMO 2017; 28: 1700 – 1712