



Christoph Röcken

Institut für Pathologie, Christian-Albrechts-Universität, Kiel, Deutschland

„Companion diagnostics“

Ein neues Erfordernis klinischer Forschung in der Onkologie?

Die Entwicklung und Zulassung zielgerichteter Medikamente hat in den vergangenen Jahren zu großen Erfolgen bei der Behandlung von Krebs geführt. Diese Medikamente richten sich u. a. gegen Komponenten krebsrelevanter Signalwege, die aufgrund eines immer tieferen Verständnisses der molekularen Grundlagen von Krebs einen reichhaltigen Fundus bieten. Die Wahl der „konventionellen“ Chemotherapie hängt von der histologischen Diagnose sowie der Kenntnis der Primärlokalisierung und des Tumorstadiums ab. Die zielgerichteten Medikamente benötigen zusätzlich einen gewebe- oder tumorzellbasierten prädiktiven Biomarker-Test („companion diagnostics“). Sie kommen meistens im palliativen Setting zum Einsatz und führen zu einer Verlängerung des progressionsfreien, tumorspezifischen und/oder Gesamtüberlebens für eine immer größer werdende Zahl an Tumorentitäten. Der Vorteil der zielgerichteten onkologischen Therapien besteht darin, dass Therapien und ggf. therapieassoziierte Nebenwirkungen bei Patienten, die nachweislich nicht von einer zielgerichteten Therapie profitieren, vermieden werden.

Trotz einer großen Zahl klinischer Studien, die teilweise auch prädiktive Biomarker untersuchen, ist der Anteil der infrage kommenden Tumoren noch begrenzt, was im Übrigen auch für die bis-

lang etablierte Zahl validierter prädiktiver Biomarker gilt. Dies führt zu der Frage, welchen Beitrag Pathologen bei der Planung und Durchführung klinischer Studien liefern können, um zielgerichtete Therapien einer breiteren Anwendung zuführen zu können und was bei der Entwicklung von „companion diagnostics“ berücksichtigt werden muss, um deren zukünftigen Nutzen sicherzustellen [11].

Beitrag der Pathologie zu klinischen Studien

Pathologen liefern schon jetzt einen Beitrag zu klinischen Studien, indem sie laufende klinische Studien unterstützen, an präklinischen Untersuchungen teilnehmen und Studienergebnisse, insbesondere solche zu „companion diagnostics“, in die mittelbare Krankenversorgung und Routinediagnostik translateren [15]. Laufende klinische Studien können von Pathologen durch studienbegleitende gewebebasierte Diagnostik und die Bereitstellung einer studienassoziierten prädiktiven Diagnostik unterstützt werden. In der präklinischen Phase können Pathologen bei der Suche nach geeigneten Biomarkern und Biomarker-Tests für eine klinische Studie helfen, um neue, klinisch relevante Biomarker zu identifizieren und vorab an gut charakterisierten Gewebe- und Fallsammlungen zu validieren. Die Translation von Studienergebnissen in die mittelbare Krankenversorgung beinhaltet das Roll-out neuer Biomarker-Tests in der Fläche, die durch Qualitätssicherungsmaßnahmen begleitet wird und Bedside-to-Bench-Forschung anstößt, die die Anwendung der neuen gewebebasierten Biomarker-Tests weiter

optimiert und an unabhängigen Patientenkohorten verifiziert. Ein gutes Beispiel hierfür ist die HER2-Diagnostik beim Magen- und Mammakarzinom, die trotz des langjährigen Einsatzes von Trastuzumab in der Krankenversorgung immer noch von Studien begleitet wird mit dem Ziel, die Qualitätssicherung auf konstant hohem Niveau in der Fläche sicherzustellen.

Unterstützung laufender klinischer Studien

Die International Agency for Research on Cancer (IARC) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) veröffentlicht aktuell die 4. Auflage der mehrbändigen Klassifikation der Tumoren. Die Therapieentscheidungen basieren auf einer standardisierten histologischen Diagnose. Die IARC liefert dafür ein international konsentiertes Rahmenwerk. Klinische Studien wären ohne die standardisierte Klassifikation von Tumoren undurchführbar. Diese berücksichtigt neben der Tumormorphologie molekulare Tumorcharakteristika und das „natürliche“ Verhalten der diversen Tumorentitäten. Die IARC-Klassifikation der Tumoren wird kontinuierlich überarbeitet, wobei neue molekulare Erkenntnisse, klinische Beobachtungen und Therapiefortschritte einfließen.

Die TNM-Klassifikation der Union internationale contre le cancer (UICC) liefert eine solide Basis für das Staging von Tumoren [18]. Sie ist unverändert das wichtigste Instrument, um Therapieentscheidungen zu treffen. Die TNM-Klassifikation wurde bislang von keinem anderen prognostischen (klinisch-serologischen, immunhistochemischen, mo-

Autor



Prof. Dr. med. C. Röcken
 Christian-Albrechts-Universität, Kiel

lekularen) Biomarker übertroffen. Sie ist die Grundlage vieler klinischer Studien, z. B. zur Patientenselektion, und dient den Krebsregistern, um das Patientenüberleben zwischen verschiedenen Patientenkohorten, zwischen verschiedenen Ländern, in verschiedenen Zeiträumen und verschiedenen Studien miteinander zu vergleichen. Auch die TNM-Klassifikation wird kontinuierlich überarbeitet und liegt aktuell in der 7. Auflage vor.

» Diagnosestandards bilden das Fundament einer evidenzbasierten Medizin

Pathologen liefern durch die Anwendung der IARC- und TNM-Klassifikation einen wichtigen Beitrag zur Rekrutierung von Studienpatienten. Internationale Diagnosestandards führen zu einer Harmonisierung und bilden das Fundament einer evidenzbasierten Medizin. Sie haben nachhaltige Auswirkungen auf die Qualität klinischer Studien und es gibt Forderungen, Standards auch zum Einsatz von Biomarker-Tests für zielgerichtete Therapien zu etablieren [11].

Präklinische Untersuchungen

Die gewebebasierte Untersuchung prognostischer und prädiktiver Biomarker ist aus dem klinischen Alltag nicht mehr wegzudenken und nimmt eine stetig wachsende Rolle ein. Prognosemarker

können bei der Entscheidung helfen, ob ein Patient mehr, weniger oder gar keine (adjuvante) Chemotherapie benötigt. Prädiktive Biomarker helfen, das geeignete Medikament für den individuellen Tumor eines Patienten auszuwählen, und bilden die Grundlage der Präzisionsmedizin [5]. Daher schließen klinische Studien in immer größerem Maße die Suche nach gewebebasierten Biomarkern ein, um gleichzeitig mit der Studie „companion diagnostics“ anzubieten. Dies erfordert nicht nur diagnostische Kompetenz, sondern auch eine besondere Erfahrung in der qualitätsgesicherten Etablierung und Validierung von Biomarkern. Hier erlangen die Bewertung präanalytischer Einflussgrößen, das Risiko von Stichprobenfehlern, die Wahl von geeigneten Untersuchungsverfahren und Evaluationsmethoden eine herausragende Bedeutung.

Präanalytische Variablen

Präanalytische Variablen können einen maßgeblichen Einfluss auf die Ergebnisse von Biomarker-Tests haben. Die Kontroverse um die HER2-Testung in Kanada ist hierfür ein Beispiel [9]. 1998 wurde Trastuzumab für die Behandlung des HER2-positiven Mammakarzinoms zugelassen, wenn der Tumor entweder das HER2/neu-Protein überexprimiert und/oder eine Amplifikation des *HER2*-Gens aufweist. Im Jahre 2007 wurden Empfehlungen für die HER2-Testung

beim Mammakarzinom veröffentlicht [23]. Dessen ungeachtet offenbarten Qualitätssicherungsprogramme große Abweichungen, die zu einem Teil auf präanalytische Variablen der Gewebeparbeitung (insbesondere die Fixationsdauer) zurückgeführt wurden. In der Folge kam es zu einer Revision der Empfehlungen [22]. Trotz großer Bemühungen um die Standardisierung diagnostischer Kriterien der Tumorklassifikation und des Tumorstaging (s. oben) sind die Bestrebungen um die Standardisierung präanalytischer Variablen begrenzt. Gerade Multicenterstudien weisen oft keine Detailinformationen zu präanalytischen Variablen wie Fixationsart und -zeit aus. Seit mehreren Jahren liegen Empfehlungen vor, wie Studien den studienbegleitenden Einsatz von Biomarkern in den Veröffentlichungen darlegen sollten [3, 13].

Vollautomatisierte Immunfärbeautomaten und zertifizierte Testkits haben die gewebebasierten Untersuchungsverfahren verbessert, sind aber in der Studienphase oft noch gar nicht verfügbar und können ihre volle Stärke ohne harmonisierte präanalytische Variablen nicht entwickeln. Die Fixation mit Formalin und die Einbettung von Gewebeproben in Paraffin sind immer noch die am häufigsten genutzten Verfahren der Gewebepreparation. Auch wenn die Formalinfixation die DNA-Qualität des Gewebes beeinträchtigt, ist sie doch weiterhin zu empfehlen. Formalin ist weltweit das

Hier steht eine Anzeige.

meistgenutzte Fixativ. Es ermöglicht retrospektive Kohortenstudien, insbesondere bei seltenen Krebsentitäten, und Studien auch an historischen, chemotherapenaiven Patientenpopulationen.

Stichprobenfehler

Jedem Biomarker-Test muss eine solide histologische Klassifikation des Tumors vorausgehen. Dies gilt auch für die im Rahmen einer Studie entnommene Gewebeprobe. Wenn DNA aus dem Gewebe extrahiert werden soll, enthält sie oft ein Gemisch aus neoplastischen und nichtneoplastischen Zellen. Der jeweilige prozentuale Anteil variiert. Deshalb empfiehlt es sich, solche Studien zusammen mit Pathologen durchzuführen, die den Tumorzellgehalt bestimmen [21]. Ansonsten besteht das Risiko, dass nichtrepräsentative Gewebeprobe und sogar nichtneoplastische Gewebe untersucht werden und damit zu verfälschten Untersuchungsbefunden führen [6].

Die Tumorerheterogenität stellt eine weitere große Herausforderung der „companion diagnostics“ und der Präzisionsmedizin dar. Die Sequenzierung zahlreicher Gewebeprobe eines klarzelligen Nierenzellkarzinoms und seiner Metastasen offenbarte die genetische Vielfalt und Komplexität einer metastasierten Tumorerkrankung [7, 8]. Der Primärtumor und die Metastasen wiesen genetisch distinkte Subklone auf. Krebs ist eine hochgradig dynamische und genetisch komplexe Krankheit [24]. Der Mutationsprozess läuft kontinuierlich ab und beginnt bereits bei den Vorstufen. Es entsteht ein „polyklonaler“ Tumor mit einem gemeinsamen „Stamm“ und zahlreichen Verästelungen, die Ausdruck der genetischen Diversifizierung mit Ausbildung unterschiedlicher Subklone ist [10, 19]. Auch wenn die genetische Vielfalt noch nicht für alle Tumorentitäten gezeigt worden ist, muss man doch die Möglichkeit stets voraussetzen und bei der Planung, Durchführung und Interpretation klinischer Studien berücksichtigen. Im Sinne eines Baumstamm-Ast-Modells finden sich grundlegende tumorinitiierende Mutationen in allen Tumorsubklonen und damit im Stamm. Heterogen auftretende somatische Mu-

tationen liegen in begrenzter Zahl in einem oder einzelnen Subklonen vor und repräsentieren die verschiedenen Hierarchiestufen der Verästelungen (Subklone; [19]). Während eine zielgerichtete Therapie gegen genetische Alterationen des Stamms den größten Therapieerfolg haben sollte, da sie in allen Tumorzellen vorliegt, kommen handlungsrelevante Therapieziele („actionable targets“) möglicherweise nur in Subklonen vor. Die klonale Heterogenität stellt uns vor besondere Herausforderungen bezüglich der Probennahme (Stichprobenfehler) und der Therapie (Entwicklung von Resistenz). Die Behandlung und Eradikation eines Subklons kann einen Wachstumsvorteil für einen kompetitiven therapieresistenten Subklon darstellen und zum Therapieversagen führen. Das ist vermutlich einer der Gründe, warum zielgerichtete Therapien oft nur lebensverlängernde Wirkungen zeigen und keine Heilung [19].

» Tumorerheterogenität birgt das Risiko des Stichprobenfehlers

Genetische Heterogenität ist eine intrinsische Eigenschaft von Tumoren und birgt das Risiko des Stichprobenfehlers. Dies konnten wir in eigenen Studien zum HER2-Status beim Magenkarzinom zeigen [20]. Die Amplifikation von Rezeptortyrosinkinase-Genen findet sich bevorzugt bei genetisch instabilen Magenkarzinomen [4]. Die genetische Instabilität begünstigt Tumorerheterogenität. Der Vergleich von Gewebe-Microarrays (als Surrogat für eine Gewebebiopsie) mit dem korrespondierenden Großflächenschnitt offenbarte das Risiko eines falsch-positiven bzw. falsch-negativen Testergebnisses, *HER2*-amplifizierte und *HER2*-nichtamplifizierte Areale lagen nebeneinander im selben Tumor vor [20]. Dies hat in der Konsequenz inzwischen zu einer Expertenempfehlung geführt: Anzustreben sind 5 tumortragende Biopsieproben aus verschiedenen Tumorearealen. Eine Rebiopsie ist zu fordern, wenn die Anzahl der Gewebeprobe für eine verlässliche *HER2*-Testung nicht ausreicht und/oder wenn der Fall nicht eindeutig ist, z. B.

FORUM 2016 · 31:406–411
DOI 10.1007/s12312-016-0127-4
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

C. Röcken

„Companion diagnostics“. Ein neues Erfordernis klinischer Forschung in der Onkologie?

Zusammenfassung

Unser Verständnis für die molekularen Grundlagen von Krebs hat sich in den vergangenen Jahren umfassend vertieft. Dies ging mit der Entwicklung neuartiger zielgerichteter Medikamente einher, die zunehmende Erfolge bei der Behandlung von Krebs erreichen können. Zahlreiche klinische Studien prüfen den Nutzen der neuen Medikamente und gleichzeitig den Wert von gewebebasierten Biomarkern, die im Sinne von „companion diagnostics“ eine Aussage über das Therapieansprechen liefern sollen. Dieser Beitrag fasst die Rolle der Pathologie bei klinischen Studien sowie bei der Entwicklung und Etablierung der „companion diagnostics“ zusammen.

Schlüsselwörter

Klinische Studien · Zielgerichtete Therapie · Diagnostische Tests · Biomarker · Klinische Pathologie

Companion diagnostics. A new requirement for clinical research in oncology?

Abstract

Our understanding of cancer genetics and cancer biology has exponentially increased in recent years. This was associated with the development and approval of novel cancer-targeted drugs, with which precision medicine could be achieved. A large number of clinical trials are testing the efficacy of novel treatment regimens and the simultaneous assessment of the capacity of tissue-based biomarkers to predict therapy response in individual patients, i. e. companion diagnostics. This article summarizes the role played by pathology in clinical trials and the pitfalls and requirements for the development and establishment of companion diagnostics.

Keywords

Clinical trials · Targeted therapy · Companion diagnostics · Biomarkers · Surgical pathology

IHC2+, nicht auswertbares oder grenzwertiges ISH-Ergebnis [1]. Die z. T. genetische bedingte heterogene Expression/Verteilung prädiktiver Biomarker innerhalb des selben Tumors wird in klinischen Studien oft nur mangelhaft oder gar nicht überprüft. Häufig offenbaren erst die im Nachgang der Zulassung eines Medikaments und der Empfehlung einer „companion diagnostics“ durchgeführten Nachfolgestudien das Problem der intraindividuellen Tumorerheterogenität. Wünschenswert wäre, wenn das Vorliegen der heterogenen Verteilung eines prädiktiven Biomarkers bereits vor der Implementierung einer klinischen Studie überprüft wird. Studien zu neuen zielgerichteten Medikamenten werden häufig an Patientenkollektiven im palliativen Setting durchgeführt. Hier stehen oft nur Biopsieproben für die Etablierung einer „companion diagnostics“ zur Verfügung. Die Notwendigkeit der Vorabtestung von Tumorerheterogenität ist zu fordern.

Geeignete Untersuchungsverfahren und Evaluationsmethoden

Eine weitere Bedeutung hat die Wahl von geeigneten Untersuchungsverfahren und Evaluationsmethoden. Die Ergebnisse immunhistochemischer Reaktionen hängen von der Wahl des Antikörpers, dem Färbeprotokoll und dem Auswerteschema ab. Die aktuell laufende Diskussion um den immunhistologischen Nachweis von PD-1 und PD-L1 ist hierfür ein gutes Beispiel, aber nicht neu, weil sie in ähnlicher Weise bereits bei HER2 stattgefunden hat [17]. Der Gebrauch unterschiedlicher Antikörper und Auswerteschemata an unterschiedlich zusammengesetzten Patientenkollektiven generiert zwangsläufig eine enorme Variabilität der Studienergebnisse. Diese erschwert die Bestimmung der „wahren“ Prävalenz und Signifikanz eines Biomarkers und die Validierung einer „companion diagnostics“. Oft gelingt dies erst in umfangreichen Nachfolgestudien. Am Beispiel des Magenkarzinoms haben unsere eigenen Literaturrecherchen eine Streubreite der HER2-Positivität, MET-Positivität und Mikrosatelliteninstabili-

tät (MSI) von 5–29 % für HER2 [20], 4–85 % für MET [14] und 0–45 % für MSI vorgefunden [12]. Die gleichen Beobachtungen wurden für HER2 beim Brustkrebs gemacht: In Australien sank die HER2-Positivitätsrate im Laufe von 4 Jahren von 23,8 % im Jahre 2006 auf 14,6 % im Jahre 2010 [2]. Damit ist nicht nur die Standardisierung der Untersuchungsverfahren relevant, sondern auch die des Auswerteschemas. Am besten entwickelt sind die Algorithmen und deren regelmäßige Ergebniskontrolle z. B. durch Ringversuche und Benchmarking für HER2. Allerdings sind für eine Vielzahl handlungsrelevanter Therapieziele bislang solche Standards weder entwickelt noch durch entsprechende Qualitätssicherungsmaßnahmen begleitet worden.

Die KRAS- (für den Einsatz von Cetuximab) und die HER2-Testung (für den Einsatz von Trastuzumab) haben uns aber noch weitere wichtige Hinweise geliefert. Auswerteschemata (z. B. für den HER2/neu-Proteinstatus) lassen sich nicht ungeprüft von einer Tumorentität (Mamma) auf eine andere (Magen) übertragen und Mutationen von Molekülen einzelner Signalwege (KRAS-Genotyp bei Magen- und Kolonkarzinom) können nicht isoliert betrachtet werden. Sie bedürfen einer tumorspezifischen Kontextbetrachtung. Der „ground state“ (die Summe aller zell- und gewebespezifischen genetischen und epigenetischen DNA-Signaturen) einer neoplastisch transformierten Epithelzelle beeinflusst den Effekt einer potenziell therapierlevanten Mutation [24]. Eine somatische Mutation kann in einem Tumor eine sog. Treibermutation und in einem anderen Tumor eine sog. Passenger-Mutation darstellen [24]. Die Entwicklung von molekular basierten „companion diagnostics“ setzt ein Verständnis der genetischen Vielfalt maligner Tumoren und deren potenzielle Bedeutung für die einzelne Tumorentität voraus.

Implementierung von Studienergebnissen

Die Pathologie kann die Translation neuartiger „companion diagnostics“ begleiten und unterstützen. Hier gilt eine besondere Aufmerksamkeit der

Begleitung der Umsetzung in die flächendeckende Versorgung durch Qualitätssicherungsmaßnahmen spätestens zu dem Zeitpunkt, an dem die Europäische Arzneimittelbehörde die Zulassung ausgesprochen und an den Einsatz einer „companion diagnostics“ geknüpft hat.

Fazit

Unser wachsendes Verständnis über die molekularen Grundlagen von Krebs hat zur Entwicklungen zahlreicher neuer Medikamente geführt. Diese greifen gezielt in komplexe tumorzellbiologische Prozesse ein und erfordern häufig eine Vorabtestung im Sinne einer „companion diagnostics“. Der Erfolg zukünftiger klinischer Studien wird u. a. davon abhängen, ob und mit welcher Sorgfalt die Studien von der Entwicklung einer gewebebasierten „companion diagnostics“ begleitet werden (s. hierzu die Stellungnahme und Empfehlungen der US Food and Drug Administration [16]). Behindert werden solche Studien oft durch mangelnde Akzeptanz in Fachjournalen, die die Veröffentlichung potenziell studienrelevanter Vorabstudien zu Biomarkern mit dem Argument ablehnen, der Wert des Biomarkers wäre aufgrund der fehlenden klinischen Relevanz (klinische Studie bislang nicht durchgeführt/ veröffentlicht) noch nicht gezeigt worden. Hier muss ein Umdenken erfolgen, da nur eine sinnvolle Kopplung von klinischen Studien mit Biomarker-Studien auch imstande ist, das mit der Präzisionsmedizin einhergehende Versprechen einer verbesserten Therapie einzulösen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. C. Röcken
Institut für Pathologie, Christian-Albrechts-Universität
Arnold-Heller-Str. 3, Haus 14, 24105 Kiel, Deutschland
christoph.roecken@uksh.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. C. Röcken gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine vom Autor durchgeführten Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

1. Baretton G, Dietel M, Gaiser T, Kirchner T, Kreipe HH, Quaas A, Rocken C, Ruschoff J, Tannapfel A, Lordick F, Al-Batran S, Hofheinz R, Lorenzen S, Moehler M, Thuss-Patience P (2016) HER2-Testung beim Magenkarzinom – Ergebnisse eines deutschen Expertentreffens. *Pathologie* 37(4):361–366. doi:10.1007/s00292-016-0179-3
2. Bilous M, Morey AL, Armes JE, Bell R, Button PH, Cummings MC, Fox SB, Francis GD, Waite B, McCue G, Raymond WA, Robbins PD, Farshid G (2012) Assessing HER2 amplification in breast cancer: Findings from the Australian in situ Hybridization Program. *Breast Cancer Res Treat* 134(2):617–624. doi:10.1007/s10549-012-2093-6
3. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Lijmer JG, Moher D, Rennie D, de Vet HC (2003) Toward complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy. The STARD initiative. *Am J Clin Pathol* 119(1):18–22. doi:10.1309/8exccm6yr1thubaf
4. Cancer Genome Atlas Research Network (2014) Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 513:202–209. doi:10.1038/nature13480
5. Collins FS, Varmus H (2015) A new initiative on precision medicine. *New Engl J Med* 372(9):793–795. doi:10.1056/nejmp1500523
6. Dubbink HJ, Deans ZC, Tops BB, van Kemenade FJ, Koljenovic S, van Krieken HJ, Blokx WA, Dinjens WN, Groenen PJ (2014) Next generation diagnostic molecular pathology: Critical appraisal of quality assurance in Europe. *Mol Oncol* 8(4):830–839. doi:10.1016/j.molonc.2014.03.004
7. Gerlinger M, Horswell S, Larkin J, Rowan AJ, Salm MP, Varela I, Fisher R, McGranahan N, Matthews N, Santos CR, Martinez P, Phillimore B, Begum S, Rabinowitz A, Spencer-Dene B, Gulati S, Bates PA, Stamp G, Pickering L, Gore M, Nicol DL, Hazell S, Futreal PA, Stewart A, Swanton C (2014) Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat Genet* 46(3):225–233. doi:10.1038/ng.2891
8. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, 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) Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *New Engl J Med* 366(10):883–892. doi:10.1056/nejmoa1113205
9. Gregory DM, Parfrey PS (2010) The breast cancer hormone receptor retesting controversy in Newfoundland and Labrador, Canada: lessons for the health system. *Healthc Manage Forum* 23(3):114–118. doi:10.1016/j.hcmf.2010.07.001
10. Humphries A, Cereser B, Gay LJ, Miller DS, Das B, Gutteridge A, Elia G, Nye E, Jeffery R, Poulosom R, Novelli MR, Rodriguez-Justo M, McDonald SA, Wright NA, Graham TA (2013) Lineage tracing reveals multipotent stem cells maintain human adenomas and the pattern of clonal expansion in tumor evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 110(27):E2490–E2499. doi:10.1073/pnas.1220353110
11. Lyman GH, Moses HL (2016) Biomarker tests for molecularly targeted therapies – the key to unlocking precision medicine. *New Engl J Med* 375(1):4–6. doi:10.1056/nejmp1604033
12. Mathiak M, Warneke VS, Behrens HM, Haag J, Böger C, Krüger S, Röcken C (2015) Clinico-pathological characteristics of microsatellite instable gastric carcinomas revisited. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. doi:10.1097/PAI.0000000000000264
13. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM (2005) Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies. *J Clin Oncol* 23(36):9067–9072
14. Metzger ML, Behrens HM, Böger C, Haag J, Krüger S, Röcken C (2016) MET in gastric cancer – discarding a 10% cutoff rule. *Histopathology* 68(2):241–253. doi:10.1111/his.12745
15. Röcken C, Höfler H, Hummel M, Meyermann R, Zietz C, Schirmacher P (2014) Participation in and support of clinical studies and other scientific investigations – statement of the German Society for Pathology. *Pathol Res Pract* 210(11):705–712. doi:10.1016/j.prp.2014.09.001
16. Roscoe DM, Hu YF, Philip R (2015) Companion diagnostics: A regulatory perspective from the last 5 years of molecular companion diagnostic approvals. *Expert Rev Mol Diagn* 15(7):869–880. doi:10.1586/14737159.2015.1045490
17. Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, Johrens K, Kirchner T, Reu S, Ruschoff J, Schildhaus HU, Schirmacher P, Tiemann M, Warth A, Weichert W, Fischer RN, Wolf J, Buettner R (2016) Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol* (PMID: 27389313) doi:10.1038/modpathol.2016.117
18. Sobin LH, Gospodarowicz M, Wittekind C (2009) *TNM Classification of Malignant Tumours*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK
19. Swanton C (2012) Intratumor heterogeneity: Evolution through space and time. *Cancer Res* 72(19):4875–4882. doi:10.1158/0008-5472.can-12-2217
20. Warneke VS, Behrens HM, Böger C, Becker T, Lordick F, Ebert MP, Röcken C (2013) Her2/neu testing in gastric cancer: Evaluating the risk of sampling errors. *Ann Oncol* 24(3):725–733. doi:10.1093/annonc/mds528
21. Weichert W, Schewe C, Lehmann A, Sers C, Denkert C, Budczies J, Stenzinger A, Joos H, Landt O, Heiser V, Röcken C, Dietel M (2010) KRAS genotyping of paraffin-embedded colorectal cancer tissue in routine diagnostics: Comparison of methods and impact of histology. *J Mol Diagn* 12(1):35–42. doi:10.2353/jmoldx.2010.090079
22. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF, American Society of Clinical, College of American Pathologists (2013) Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 31(31):3997–4013. doi:10.1200/JCO.2013.50.9984
23. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van d V, Wheeler TM, Hayes DF (2007) American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 25(1):118–145. doi:10.1200/jco.2006.09.2775
24. Yates LR, Campbell PJ (2012) Evolution of the cancer genome. *Nat Rev Genet* 13(11):795–806. doi:10.1038/nrg3317