

FORTBILDUNG

Neue Möglichkeiten und Herausforderungen

Personalisierte Krebsmedizin und die Zukunft der Pathologie

Das Ziel der personalisierten Krebsmedizin ist das Verständnis der spezifischen Eigenschaften, die einer bestimmten Erkrankung eines Einzelnen zugrunde liegen und eine entsprechende Anpassung der Behandlung an die molekularen Eigenschaften des Tumors.

✚ L'objectif de la médecine du cancer personnalisée est de comprendre les caractéristiques spécifiques qui font la base d'une maladie particulière d'un individu et un ajustement correspondant du traitement aux caractéristiques moléculaires de la tumeur.

Hintergrund

Früher definierten Pathologen die Subtypen von Krebs basierend auf ihrem anatomischen Ursprung, ihrem klinischen Verhalten und ihrer mikroskopischen Morphologie. Der Therapie wurde die morphologische Klassifizierung, der Umfang seiner Ausdehnung bezogen auf das Stadium sowie proteinbasierte Tests wie die Immunohistochemie zugrunde gelegt. Obwohl die Immunohistochemie immer noch der am häufigsten verwendete Ansatz für die Subtypisierung von Krebs über die Morphologie hinaus ist, haben die letzten 10 Jahre eine Revolution beim Verständnis der molekularen Pathologie von Krebs gebracht (2) (Abb. 1). Die Komplexität von Krebserkrankungen ist enorm, vor allem aufgrund der sich ständig entwickelnden Technologien zur Charakterisierung von Krebs und zur Ableitung seiner molekularen Eigenschaften, die für die onkologische Praxis zunehmend an Bedeutung gewinnen. Molekulare Technologien wie die Identifikation der charakteristischen Translokationen bei Leukämieerkrankungen und Lymphomen sowie die Kategorisierung von Tumortypen basierend auf der Erstellung von Expressionsprofilen hat unser Verständnis bestimmter Krebserkrankungen in den letzten Jahren verändert (3,4). Bei soliden Tumoren führte die Identi-



Prof. Dr. med. Peter J. Wild
Zürich

fikation der ERBB2-Amplifikation bei Brustkrebs und Krebs des gastro-ösophagealen Übergangs zur Entwicklung von Anti-HER2-Therapeutika, wie z.B. Trastuzumab oder Lapatinib, die speziell dieses Protein hemmen (5,6). Weitere Beispiele hierfür sind auch KIT- und PDGFRA-Mutationen bei gastrointestinalen Stromatumoren (7), Tyrosinkinase-Mutationen des EGFR-Gens bei Lungenkrebs (8,9), Mutationen des BRAF-Gens bei Melanomen und kolorektalen Karzinomen (10) oder die EML4-ALK-Genumlagerung bei Lungenkrebs (11); die sämtlich ein Potenzial dafür aufweisen, Tumoren äusserst empfänglich für spezifische Hemmer zu machen. Auch können bestimmte Biomarker ein Indikator dafür sein, wenn Patienten auf eine bestimmte Therapie nicht ansprechen, z.B. KRAS-Mutationen, die das Ansprechen von kolorektalen Karzinomen auf eine Anti-EGFR-Therapie mit Cetuximab oder Panitumumab verhindern (12,13). In den letzten Jahren haben Pathologen wesentlich zum umfassenden Verständnis dieser molekularen Veränderungen bei bestimmten Tumortypen beigetragen (14). Bei vielen dieser Beispiele hat sich die normale klinische Praxis dadurch grundlegend geändert. Dennoch trägt die Mehrheit der Patienten mit Tumoren diese speziellen Genveränderungen nicht in sich und spricht daher nicht auf eine solche Behandlung an. Der Prozentsatz von Patienten, der auf diese neuen Arzneimittel anspricht, liegt häufig unter 30%. Daher muss die Profilerstellung bei diesen Krebserkrankungen zukünftig

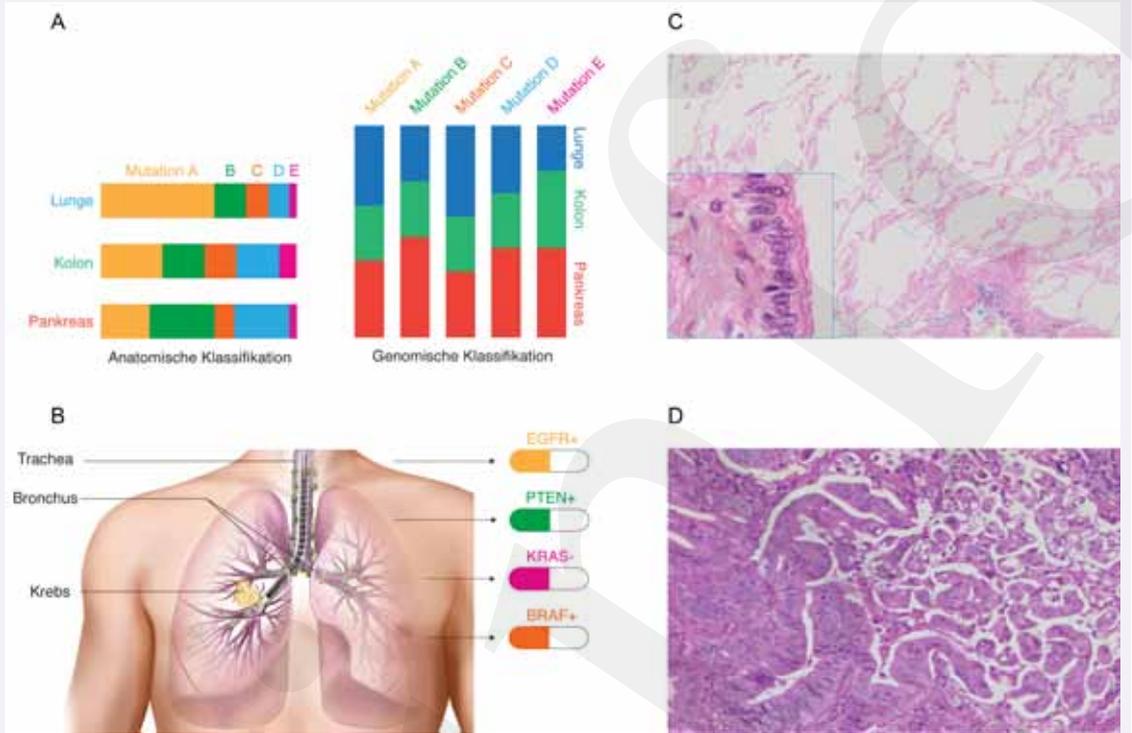
ABB. 1 Anatomische und genetische Krankheitsklassifikation

A: Schematische Darstellung der Umwandlung einer anatomischen Krankheitsklassifikation in eine genetische Krankheitsklassifikation.

B: Schematische Darstellung der personalisierten Therapieplanung basierend auf genetischen Analysen von Tumorgewebe (Bildquelle: <http://www.stfranciscare.org/saintfranciscoctors/cancercenter/nci/CancerSummary.aspx?id=CDR62947.xml>).

C: Histologisch regelrechtes Lungenparenchym mit Anschnitt eines Bronchiolus im unteren Bildanteil. Vergrössertes Areal mit regelrechter Bronchialschleimhaut.

D: Histologie eines Adenokarzinoms der Lunge.



die Identifizierung weiterer molekularer Anomalien einschliessen, die dann bessere Therapiemöglichkeiten erschliessen. Dies sollte den Schwerpunkt intensiver Forschungsprojekte in der Pathologie bilden und wird langfristig zu einer Umwandlung der gängigen anatomischen Krankheitsklassifikation in eine genetische bzw. molekulare Krankheitsklassifikation führen (Abb. 1).

Das Ziel der personalisierten Krebsmedizin ist das Verständnis der spezifischen Eigenschaften, die einer bestimmten Erkrankung eines Einzelnen zugrunde liegen und eine entsprechende Anpassung der Behandlung an die molekularen Eigenschaften des Tumors. „Das richtige Arzneimittel, die richtige Dosis für den richtigen Patienten zur richtigen Zeit“ ist das Ziel der personalisierten Medizin (2). Der personalisierte Ansatz muss sich jedoch zwei grossen Problemen stellen: Der komplexen Biologie und der komplexen finanziellen Situation [14, 15].

Die europäische Arzneimittelagentur hat bereits zahlreiche Arzneimittel für die Krebsbehandlung zugelassen, die so konzipiert sind, dass sie auf eine spezielle molekulare Zielstelle wirken. Daran sind häufig mehrere Signalwege mit komplexen Interaktionen untereinander beteiligt, die zum Grossteil nicht vollständig bekannt sind (15). Veränderungen verschiedener Gene, die nicht das prognostizierte Behandlungsziel sind, können ebenfalls das Ansprechen eines Patienten auf eine gezielte Therapie massgeblich beeinflussen. Ein Beispiel hierfür ist die Inhibition des mTOR-Signalwegs, die zu einer erhöhten mitogen-aktivierten Proteinkinase-Aktivität führt (16). Daher stellt das komplexe Netz molekularer Veränderungen, von Signalwegen, des Zellkontexts und des Ansprechens auf ein bestimmtes Therapieschema eine Herausforderung für zukünftige Ansätze in der personalisierten Medizin dar.

Die finanzielle Dimension beruht auf der Tatsache, dass die meisten gezielt wirkenden Arzneimittel ausgesprochen teuer sind. Daher

sind die Gesundheitssysteme und die Versicherungsunternehmen mit grossen Problemen konfrontiert, die sich aus den steigenden Ausgaben im Gesundheitswesen ergeben. Der Einsatz gezielt wirkender Arzneimittel muss von prädiktiven molekularen Diagnosetests begleitet werden, um hierfür geeignete Patienten auszumachen. Die Gesundheitssysteme vieler Länder verfügen jedoch nicht über entsprechende Vorrichtungen, um für diese Tests aufzukommen. Diese begleitenden „Ein-Gen-Tests“ stellen das Arbeitsgebiet der molekularen Pathologie dar. Molekulare Pathologen verfügen über die Erfahrung und das Wissen bezüglich vieler Genmutationen, die von molekularen Tests erkannt werden. Sie haben Qualitätsstandards für die Testabläufe und entsprechende Weiterbildungsprogramme entwickelt.

Die Entwicklung hin zu einer personalisierten Genommedizin ist derzeit eng mit der Entwicklung neuer Hochdurchsatz-Genomtechnologien verbunden. Diese Tests gehen über die traditionelle personalisierte Medizin hinaus und ermöglichen dabei die Einführung einer einheitlichen personalisierten Genommedizin. Vor allem Pathologen sollten bei der Anwendung und Etablierung solcher neuer Technologien an vorderster Front stehen (17). Ein Verständnis für moderne Technologien, die ein DNA-, RNA-, Protein- oder Metaboliten-Profil erstellen, wird für Pathologen von wesentlicher Bedeutung sein, auch damit eine personalisierte Medizin Wirklichkeit werden kann (17).

Sequenzierung der nächsten Generation („Next-Generation Sequencing“) – Bedrohung oder Chance?

Die Entschlüsselung des menschlichen Genoms wurde vor mehr als 10 Jahren abgeschlossen. Verbesserungen bei den Sequenzierungstechnologien führten zum „1000-Dollar-Genom“, das heute Realität ist. Zurzeit werden diese neuen Technologien bereits in der Forschung weit verbreitet eingesetzt, sie haben jedoch das Potenzial dazu, die medizinische Praxis zu revolutionieren. Die Technologie

der Sequenzierung der nächsten Generation („Next-Generation-Sequencing“ – NGS) kann zu grundlegenden Veränderungen in der medizinischen Versorgung führen, bei der Pathologen das notwendige Wissen zur Interpretation genomischer Information im Kontext der entsprechenden Krankheit beisteuern könnten. Pathologen haben jedoch kein angestammtes Recht auf diese Technologie (17). Daher kann das NGS die traditionelle Rolle der Pathologen in Frage stellen. Andere medizinische Disziplinen und Privatunternehmen haben inzwischen ihr Interesse an diesen Technologien bekundet, sogar als klinische Diagnostiktests (18). Derartige Beweggründe veranlassen Pathologen dazu, ihr Wissen auf diesem sich rasch entwickelnden Gebiet der personalisierten Medizin unter Beweis zu stellen. Ein Gebiet, auf dem ein überaus grosser Bedarf besteht, ist im Bereich der Organisation und Koordination von Weiterbildungsprogrammen in der Genommedizin während der Facharztausbildung in Pathologie. Pathologen sollten die Gelegenheit nutzen, bei der Übertragung dieser neuen Technologien die Führungsrolle zu übernehmen und ihre Bedeutung als normale Diagnostiktests zu demonstrieren.

Die Pathologen müssen darüber hinaus zeigen, dass genom-basierte Tests kosteneffektiv sind, entsprechend vorstattengehen und die evidenzbasierte Präzisionsdiagnostik optimieren können (19,20). Die Berufsgruppe der Pathologen kann keinen Besitzanspruch auf diese neuen technologischen Errungenschaften im Bereich der Genomsequenzierung erheben, sollte jedoch ihre Kompetenz auf diesem Gebiet deutlich hervorheben. Klinische Gentests werden auch von vielen anderen Spezialgebieten durchgeführt, wie beispielsweise der klinischen Genetik, der Onkologie, der klinischen Chemie, der Mikrobiologie und der Pharmakologie. Mit der NGS-Technik sind auch private, nicht krankenhausbasierte Unternehmen in das Gentest-Geschäft eingestiegen und könnten die Pathologie an dieser Stelle überholen. Beispiele hierfür sind OncotypeDX mit ihrem Brustkrebstest zur Bestimmung der Expression von 21 Genen (21) oder neue Startup-Unternehmen wie Foundation Medicine, die NGS-Ansätze für Genomanalysen bei Krebspatienten für die personalisierte Medizin anbieten. Wenn zukünftig NGS-Analysen zu Preisen durchgeführt werden können, welche die derzeitigen Gebühren für Einzelgentests wesentlich unterbieten, werden auch viele andere Einrichtungen ausserhalb der Pathologie solche klinischen Tests anbieten. Möglicherweise werden die aktuellen „Ein-Gen-Tests“ durch NGS-basierte Tests ersetzt, die leistungsfähiger und kosteneffizienter sind. Daher ist es unabdingbar, dass Pathologen hier die Führung übernehmen und zeigen, welche Tests am leistungsstärksten und am kosteneffizientesten sind (19,20, 22). Nur wenn gut aufgebaute klinische Studien den prädiktiven Wert von NGS-basierten Tests überzeugend nachweisen können, werden diese Tests zur molekularen Tumorprofilierung anerkannt und in die Diagnose und die Behandlung von Krebs aufgenommen werden. Personalisierte Diagnostiktechnologien werden ein Hilfsmittel bei der Stratifikation von Patienten mit bestimmten molekularen Veränderungen für klinische Studien sein. In der Vergangenheit hat sich gezeigt, dass Pathologen einen wesentlichen Beitrag zu klinischen Studien leisten können, z.B. bei EORTC-Studien mit Patienten mit kolorektalen Karzinomen (23). Diese gut aufgebauten Studien ermöglichten es, die Bedeutung von KRAS-Mutationen bei Darmkrebs zu erkennen. In Zukunft wird das Design einer klinischen Studie auf einem Genotyp basieren, auf den abgezielt werden kann, anstatt auf die morphologische Klassi-

fizierung. Die Auswahl der Patienten auf der Basis der Mutationen, die ihr Krebs aufweist, wird eine Herausforderung werden, könnte jedoch ein Weg sein, auf Krebstypen mit bestimmten Mutationen mit geringerer Häufigkeit abzielen. Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) können beispielsweise aktivierende Mutationen im EGFR-Gen, aber auch in KRAS, BRAF oder Translokationen mit ALK aufweisen.

Das Verständnis spezifischer molekularer Signalwege kann auch bei der Interpretation von Daten klinischer Studien helfen und unser Verständnis für die biologischen Prozesse bei Ansprechen auf oder Resistenz gegenüber Therapien verbessern. Gut aufgebaute klinische Studien in Verbindung mit neuen Genomtechnologien erfordern es, dass das Wissen und die Erfahrung des Pathologen einbezogen wird, der daher bereits zu einem frühen Zeitpunkt in die Konzeption der klinischen Studie eingebunden werden muss (24).

Vor allem aber muss, wenn Genomtests von Tumoren in Betracht gezogen werden, der Test mit Proben von Nukleinsäure aus Tumorzellen durchgeführt werden. Ganz sicher können bei soliden Tumoren nur Pathologen diese Bestimmung vornehmen. Eine Genomanalyse ohne eine Beurteilung durch einen Pathologen birgt das Risiko in sich, bedeutungslose Ergebnisse zu erzeugen.

Pathologie heute – Stärken und Schwächen

Die personalisierte Genommedizin ist ein Problem, dem sich die gesamte Medizin stellen muss, um diese neue Domäne in die medizinische Praxis zu integrieren (17). Die Pathologie als Disziplin könnte und sollte bei der personalisierten Genommedizin die Federführung übernehmen, indem sie sich mit anderen medizinischen Disziplinen zusammenschliesst. Verschiedene Disziplinen wie die Genetik, die klinische Chemie, die Mikrobiologie, die Immunologie und die Bioinformatik sind in der molekularen Diagnostik aktiv. Diese Fachleute sollten mit den Pathologen eng zusammenarbeiten. Zurzeit sind Pathologen wichtige Mitglieder sämtlicher Tumorboards, bei denen Entscheidungen über die Behandlung einzelner Patienten getroffen werden. Pathologen sind in der Lage, mit konventioneller Histopathologie in Verbindung mit Immunhistochemie einen "Diagnosealgorithmus" zu erstellen (25). Diese grundlegende Beurteilung kann dann durch krankheitsspezifische „Ein-Gen-Tests“ und ggf. durch NGS-basierte Analysen ergänzt werden. Daher haben Pathologen eine zentrale Rolle bei der Berücksichtigung und Einbindung von Ergebnissen aus Genomanalysen in gewebebasierte morphologische Beurteilungen inne, damit ein Behandlungsplan für und mit dem behandelnden Onkologen erstellt werden kann.

Datenflut und Datenschutz

Der Datenschutz ist ein Anliegen vieler Patienten, die ihr Einverständnis zur Behandlung erklären müssen. Die Patientendaten müssen unbedingt geschützt werden, beispielsweise vor Diskriminierung (Fragestellungen, die zur Krankenversicherung und der Beschäftigung in Bezug stehen). Tests auf BRCA1- und BRCA2-Gene (die an familiären Brust- und Eierstockkrebsyndromen beteiligt sind) waren frühe Beispiele für den Beitrag, den Eigenschaften der Keimbahn zur Krankheitsprognose leisten. Eine Aufklärung der Öffentlichkeit bezüglich der möglichen Vorteile einer personalisierten Krebsmedizin und auf den Einzelnen abgestimmter Behandlungen ist für eine weitreichende Akzeptanz von Bedeutung. Wenn neue Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation in der

klinischen Medizin Einzug halten und zum Standard werden, sind zum Schutz des Patienten Programme zur Aufklärung der Öffentlichkeit über die ethischen, gesetzlichen und sozialen Implikationen erforderlich (26). Die Hersteller der NGS-Geräte bieten häufig an, die komplexe Auswertung der grossen Datenmengen mittels „cloud computing“ zu übernehmen. Vor allem wegen der Datensicherheit sollte darauf aber verzichtet werden. Denn selbst anonymisierte Gen-Daten auf Forschungsdatenbanken können ohne grossen Aufwand konkreten Personen zugeordnet werden (27,28). Neben der bioinformatischen Expertise stellt die Ausstattung der pathologischen Institute mit ausreichend Datenspeicherkapazität und Rechnerleistung für die NGS-basierte Genanalyse eine der grössten Herausforderungen dar, der sich die Spitäler in den nächsten Jahren stellen müssen.

Prof. Dr. med. Peter J. Wild
Dr. sc. Qing Zhong
Prof. Dr. sc. nat. Dieter Zimmermann
Markus Rechsteiner, PhD
Christine Fritz, PhD
Dr. rer. nat. Nadejda Valtcheva
Prof. Dr. med. Holger Moch

Institut für Klinische Pathologie, Universitätsspital Zürich
 Schmelzbergstrasse 12, 8091 Zürich
 peter.wild@usz.ch

Take-Home Message

- ◆ Pathologen sollten ihre bisherige Rolle zum Vorteil des Patienten ändern, weg vom „nur in das Mikroskop schauen“ hin zu „einer Einbindung der Ergebnisse sowohl der Histologie als auch der molekularen Diagnose“
- ◆ Pathologen müssen lernen, den klinischen Entscheidungsfindungsprozess zu leiten, indem sie histologische Diagnosen und molekulare Messungen koordinieren
- ◆ Pathologen müssen sich darauf vorbereiten, ihre neue Rolle besser zu verstehen, ihr Profil zu erweitern und neue Verantwortungsbereiche zu übernehmen
- ◆ Ohne weitere Bemühungen in diesem Bereich riskiert die Pathologie als Disziplin, ihre Schlüsselrolle in der molekularen Gewebediagnose zu verlieren

Message à retenir

- ◆ Les pathologues doivent changer leur rôle actuel au profit des patients, loin de „regarder dans le microscope“ vers „une intégration des résultats de l’histologie et du diagnostic moléculaire“
- ◆ Les pathologues doivent apprendre à guider le processus de prise de décision clinique en coordonnant les diagnostics histologiques et les mesures moléculaires
- ◆ Les pathologues doivent se préparer à mieux comprendre leur nouveau rôle pour accroître leur visibilité et assumer de nouvelles responsabilités
- ◆ Sans efforts supplémentaires dans ce domaine, la pathologie comme une discipline risque de perdre son rôle clé dans le diagnostic moléculaire des tissus

Literatur:

1. Moch H, Blank PR, Dietel M, Elmberger G, Kerr KM, Palacios J, et al. Personalized cancer medicine and the future of pathology. *Virchows Arch.* 2012;460:3-8.
2. Stricker T, Catenacci DV, Seiwert TY. Molecular profiling of cancer—the future of personalized cancer medicine: a primer on cancer biology and the tools necessary to bring molecular testing to the clinic. *Semin Oncol.* 2011;38:173-85.
3. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406:747-52.
4. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000;403:503-11.
5. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2006;355:2733-43.
6. Hortobagyi GN. Trastuzumab in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:1734-6.
7. Rubin BP, Heinrich MC, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet.* 2007;369:1731-41.
8. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2004;350:2129-39.
9. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010;362:2380-8.
10. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363:809-19.
11. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature.* 2007;448:561-6.
12. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:1626-34.
13. Jimeno A, Messersmith WA, Hirsch FR, Franklin WA, Eckhardt SG. KRAS mutations and sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in colorectal cancer: practical application of patient selection. *J Clin Oncol.* 2009;27:1130-6.
14. Gabrielson E, Berg K, Anbazhagan R. Functional genomics, gene arrays, and the future of pathology. *Mod Pathol.* 2001;14:1294-9.
15. Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science.* 2008;321:1801-6.
16. Carracedo A, Ma L, Teruya-Feldstein J, Rojo F, Salmena L, Alimonti A, et al. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feedback loop in human cancer. *J Clin Invest.* 2008;118:3065-74.
17. Tonellato PJ, Crawford JM, Boguski MS, Saffitz JE. A national agenda for the future of pathology in personalized medicine: report of the proceedings of a meeting at the Banbury Conference Center on genome-era pathology, precision diagnostics, and preemptive care: a stakeholder summit. *Am J Clin Pathol.* 2011;135:668-72.
18. Salzberg SL, Pertea M. Do-it-yourself genetic testing. *Genome Biol.* 2010;11:404.
19. Blank PR, Moch H, Szucs TD, Schwenkglens M. KRAS and BRAF mutation analysis in metastatic colorectal cancer: a cost-effectiveness analysis from a Swiss perspective. *Clin Cancer Res.* 2011;17:6338-46.
20. Blank PR, Schwenkglens M, Moch H, Szucs TD. Human epidermal growth factor receptor 2 expression in early breast cancer patients: a Swiss cost-effectiveness analysis of different predictive assay strategies. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;124:497-507.
21. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2004;351:2817-26.
22. Blank PR, Dedes KJ, Szucs TD. Cost effectiveness of cytotoxic and targeted therapy for metastatic breast cancer: a critical and systematic review. *Pharmacoeconomics.* 2010;28:629-47.
23. Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol.* 2010;28:466-74.
24. The Association for Molecular Pathology's approach to supporting a global agenda to embrace personalized genomic medicine. *J Mol Diagn.* 2011;13:249-51.
25. Dietel M, Sers C. Personalized medicine and development of targeted therapies: The upcoming challenge for diagnostic molecular pathology. A review. *Virchows Arch.* 2006;448:744-55.
26. MacConaill LE, Van Hummelen P, Meyerson M, Hahn WC. Clinical implementation of comprehensive strategies to characterize cancer genomes: opportunities and challenges. *Cancer Discov.* 2011;1:297-311.
27. Gymrek M, McGuire AL, Golan D, Halperin E, Erlich Y. Identifying personal genomes by surname inference. *Science.* 2013;339:321-4.
28. Marx V. Genomics in the clouds. *Nat Methods.* 2013;10:941-5.