



Studienlage zu microRNA-371a-3p (M371)

als Biomarker für die Früherkennung und Verlaufskontrolle von Hodenkrebs



Offenlegung

Ein Teil der zentralen Publikationen zu miR-371a-3p stammt von Autoren, die als Mitgründer, Gesellschafter, Berater oder Mitarbeitende mit der mir|detect GmbH verbunden sind. Diese Interessenkonflikte werden in den jeweiligen Publikationen offengelegt und sollten bei der Bewertung der Evidenz berücksichtigt werden. Gleichzeitig wurden die wesentlichen diagnostischen Eigenschaften von miR-371a-3p inzwischen durch zahlreiche unabhängige Arbeitsgruppen in Europa, Nordamerika und Australien bestätigt, sodass die Gesamtevidenz nicht ausschließlich auf herstellernahen Untersuchungen beruht.

Die DHS ist weder Entwickler noch Hersteller des M371-Tests, sondern tritt als unabhängiges medizinisches Labor auf. Die vorliegende Studienübersicht wurde nach eigenständiger Literaturrecherche erstellt und soll die verfügbare Evidenz möglichst ausgewogen und transparent darstellen.



Vorwort

Mittlerweile ist seit über 15 Jahren bekannt, dass Keimzelltumoren des Hodens spezifische microRNA-Muster in die Blutbahn abgeben, die biologisch und klinisch detektierbar sind. Der M371-Test (mir|detect GmbH, Bremerhaven) ist als IVDR-zertifiziertes In-vitro-Diagnostikum und in Europa zugelassen. Dabei handelt es sich um einen serologischen Test, der mittels qPCR die Serumkonzentration von miR-371a-3p, normiert auf den endogenen Kontrollmarker miR-30b-5p detektiert. Das Ergebnis wird als Relative Quantität (RQ) ausgegeben.

Der M371-Test kann die Sensitivität bestehender Diagnosepfade erhöhen, insbesondere bei Patienten ohne Erhöhung der klassischen Serumtumormarker AFP, β -HCG und LDH. Darüber hinaus liefert der Biomarker zusätzliche Informationen zur Tumormasse, ermöglicht eine schnelle Beurteilung des Therapieansprechens und kann in der Nachsorge zur frühzeitigen Erkennung von Rezidiven beitragen. Damit ergänzt er die bestehende Diagnostik in mehreren klinisch relevanten Situationen entlang des gesamten Krankheitsverlaufs.

Der M371-Test ist in Deutschland derzeit eine individuelle Gesundheitsleistung (IGeL) und wird in der Regel nicht von den gesetzlichen Krankenkassen erstattet. Ob und in welchem Umfang die Bestimmung von miR-371a-3p künftig in strukturierte Nachsorgeprogramme, klinische Leitlinien oder die Regelversorgung aufgenommen wird, müssen laufende prospektive Studien sowie gesundheitsökonomische Analysen zeigen.

Die hier präsentierte Studienlage stützt sich auf mehrere komplementäre Evidenzebenen, darunter biologische Plausibilitätsstudien, klinische Validierungsstudien, eine große prospektive multizentrische Zulassungsstudie, systematische Übersichtsarbeiten, prospektive Nachsorgestudien sowie Real-World-Daten. In Fachkreisen wurden wiederholt Fragen zur Standardisierung der miRNA-Analytik diskutiert, ein Aspekt, der für uns als Labor besonders relevant ist. Aus diesem Grund sind wir auf das Thema Methodenstandardisierung besonders eingegangen. Die Verfügbarkeit eines CE-IVD-zertifizierten M371-Assays hat jedoch wesentlich dazu beigetragen, präanalytische und analytische Prozesse zu vereinheitlichen und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu verbessern. Gleichzeitig zeigen aktuelle Studien, dass einzelne Aspekte der Befundinterpretation, insbesondere die optimale Auswertung grenzwertiger Ergebnisse und die Definition klinischer Grenzwerte, weiterhin Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen sind.

Die bislang veröffentlichte Literatur belegen eine hohe diagnostische Leistungsfähigkeit von miR-371a-3p. Aufgrund der konsistent hohen Sensitivität und Spezifität wird miR-371a-3p von zahlreichen Experten als der derzeit vielversprechendste serologische Biomarker für testikuläre Keimzelltumoren angesehen und als potenzieller zukünftiger Referenzmarker diskutiert.

Die DHS – Diagnostic HealthCare Solutions GmbH hat den M371-Test wissenschaftlich evaluiert und als akkreditiertes, medizinisches Labor in Deutschland etabliert. Die Laboranalyse steht ab sofort allen Patienten und zuweisenden Ärzten zur Verfügung. Blutabnahmen können sowohl in unserer Einrichtung durch unser Fachpersonal in Berlin, als auch Bundesweit in niedergelassenen Arztpraxen unter strikter Einhaltung der präanalytischen Anforderungen erfolgen. Alle Analysen werden ISO15189-konform durchgeführt. Die Akkreditierung des M371-Tests ist für 2027 vorgesehen.

Ziel dieser Studienübersicht ist es, Ärztinnen und Ärzten einen kompakten und wissenschaftlich fundierten Überblick über die aktuelle Evidenz zu miR-371a-3p als Biomarker für testikuläre Keimzelltumoren zu geben. Die inzwischen umfangreiche Literatur wurde hierfür zusammengeführt, kritisch ausgewertet und hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz eingeordnet. Dadurch soll ein schneller Zugang zu den wichtigsten Studien, Erkenntnissen und offenen Fragestellungen ermöglicht werden, ohne dass die Primärliteratur zunächst vollständig aufgearbeitet werden muss.



Abkürzungen

AFP	Alpha-Fetoprotein
AUC	Fläche unter der ROC-Kurve (Area under the curve)
bHCG	Beta-humanes Choriongonadotropin
CI	Konfidenzintervall
CS	Klinisches Stadium (Clinical Stage)
GCT	Keimzelltumor des Hodens (Germ Cell Tumour)
GCNIS	Keimzellneoplasie in situ (Germ Cell Neoplasia In Situ)
IGCCCCG	International Germ Cell Cancer Collaborative Group
LDH	Laktatdehydrogenase
LVI	Lymphovaskuläre Invasion
M371	microRNA-371a-3p
miRNA	MicroRNA (kleines nicht-kodierendes RNA-Molekül)
NPV	Negativer prädiktiver Wert
NS	Nichtseminom (Nonseminoma)
NTM	Nicht-testikulärer Malignom (Non-testicular malignancy)
PPV	Positiver prädiktiver Wert
qPCR	Quantitative Real-Time Polymerase Kettenreaktion
ROC	Receiver Operating Characteristic
RPLND	Retroperitoneale Lymphknotendisektion
RQ	Relative Quantität (Messwert des M371-Tests)
SE	Seminom
STM	Serologischer Tumormarker (Serum Tumour Marker)
ULN	Oberer Normalwert (Upper Limit of Normal)

Mögliche Positionierung des M371 Test auf einem Blick:

Auf Basis der publizierten Evidenz erscheint M371 als leistungsstarke Ergänzung in folgenden klinischen Szenarien:

Klinisches Setting	Potenzielle Bedeutung
Primärdiagnostik	Unterstützung bei unklaren Hodenraumforderungen, insbesondere bei marker-negativen Seminomen und Nichtseminomen.
Differenzialdiagnostik	Abgrenzung von Keimzelltumoren gegenüber benignen Hodenläsionen und anderen testikulären Tumorentitäten.
Präoperative Risikoeinschätzung	Ergänzende Information vor Orchiektomie bei sonographisch suspekten Befunden.
Klinisches Staging	Korrelation mit Tumorlast, Tumorgöße und klinischem Stadium; Unterstützung der Risikostratifizierung bei CS-I-Patienten.
Vorhersage okkultter Metastasierung	Hinweise auf subklinische Metastasen bei klinisch lokalisiert erscheinender Erkrankung.
Therapiemonitoring	Rasche Verlaufsbeurteilung unter Chemotherapie durch die kurze Halbwertszeit des Biomarkers.
Frühe Beurteilung des Therapieansprechens	Potenziell frühzeitige Identifikation von Patienten mit unzureichendem Ansprechen auf die Therapie.
Nachsorge Active Surveillance	Früherkennung von Rezidiven mit deutlich höherer Sensitivität als AFP, β -HCG und LDH.
Rezidivdiagnostik	Unterstützung bei Verdacht auf ein Tumorrezidiv, insbesondere bei marker-negativen Patienten.
Postoperative Verlaufskontrolle	Beurteilung des Markerabfalls nach Orchiektomie und möglicher Hinweis auf verbliebene Tumoraktivität.
Postchemotherapeutische Residualmassen	Differenzierung zwischen vitalem Keimzelltumor und Fibrose / Nekrose; Wichtige Einschränkung: Teratome werden nicht erkannt.
Entscheidung zur RPLND	Potenzielle Unterstützung bei der Auswahl von Patienten für eine postchemotherapeutische retroperitoneale Lymphknotendissektion.
Lymphknotenbeurteilung	Ergänzende Bewertung retroperitonealer Lymphknotenbefunde im Staging.
Reduktion bildgebender Diagnostik	Potenzial zur Verringerung der Anzahl von CT-Untersuchungen in der Nachsorge, insbesondere bei jungen Patienten.
Präzisionsmedizinische Therapiekonzepte	Potenzieller Biomarker zur Individualisierung von Nachsorge- und Therapiestrategien.
Klinische Studien und Biomarker-gesteuerte Therapieentscheidungen	Einsatz als Surrogatmarker in laufenden prospektiven Interventionsstudien (z. B. SWOG, CLIMATE, AGCT1531).
Kombinierte Biomarkerstrategien	Kombination mit RASSF1A-Methylierung oder weiteren Biomarkern zur Verbesserung der Teratomdetektion.
Gesundheitsökonomische Optimierung	Potenzial zur Reduktion von Nachsorgekosten durch gezielteren Einsatz bildgebender Verfahren.



Kurzübersicht als chronologische Evidenztabelle

Evidenzebene	Erstautor, Jahr	Studiendesign	Stichprobe	Kernaussage
Biologische Plausibilität	Voorhoeve et al., 2006	Grundlagenstudie	Zelllinien & Gewebeproben	Erstnachweis: miR-371-373-Cluster hochexprimiert in adulten Keimzelltumoren; mögliche onkogene Funktion über Hemmung von LATS2.
Proof-of-Concept	Syring et al., 2015	Diagnostische Validierungsstudie	n = 49 GCT, Kontrollen	Erstnachweis zirkulierender miR-371a-3p im Serum; Sensitivität 84,7 %, Spezifität 99 %, AUC 0,929. Überlegenheit gegenüber AFP, bHCG, LDH.
Epigenetischer Kontext	Harb-De la Rosa et al., 2017	Review-Artikel	Literaturübersicht	Biologische Einordnung: miR-371a-3p als zentraler epigenetischer Biomarker bei GCT. Epigenetische Veränderungen (DNA-Methylierung, Histonmodifikation, miRNA-Regulation) als Grundlage für diagnostische und therapeutische Ansätze.
Klinische Validierung	Dieckmann et al., 2017	Prospektive Pilotstudie	n = 111 GCT, Kontrollen	Sensitivität 90 %, Spezifität 86–94 %; AUC 0,943. Halbwertszeit im Serum < 24 h. Enge Korrelation mit Tumolvolumen und klinischem Stadium.
Klinische Einordnung	Leão et al., 2019	Review	Literaturübersicht	miRNA-371a-3p als vielversprechendster Biomarker: höchste Sensitivität und Spezifität unter allen bekannten Biomarkern. Klinische Relevanz für Diagnose, Staging, Therapiemonitoring und Nachsorge.
Multizentrische Validierung	Dieckmann et al., 2019	Prospektive multizentrische Studie	n = 616 GCT, 258 Kontrollen	Sensitivität 90,1 %, Spezifität 94,1 %; PPV 97,2 %; AUC 0,966. Überlegenheit gegenüber kombiniertem klassischem Markerpanel. Korrelation mit Tumorgroße, Stadium und IGCCCG-Risikogruppen.
Spezifität: Nicht-Keimzelltumoren	Belge et al., 2020/2021	Vergleichsstudie	n = 99 Nicht-GCT, 20 GCT, 37 Kontrollen	M371 nicht erhöht bei benignen Hodentumoren (Leydig-, Sertoli-Zell-Tumoren) und malignen Lymphomen. AUC 0,991 zur Diskrimination GCT vs. alle anderen. Falsch-positiv-Rate < 5 %.
Systematischer Review	Leão et al., 2021	Systematischer Review (PRISMA)	31 Publikationen	AUC > 0,90; Sensitivität 89–96 %; Spezifität > 90 % für Seminom und Nichtseminom. Alle 7 Lange-Winfield-Kriterien für ideale Tumormarker erfüllt. Empfehlung zur klinischen Implementierung.
Teratom-Diskriminierung	Nappi et al., 2021	Prospektive multizentrische Studie	n = 100 GCT	M371 allein nicht geeignet für Teratomnachweis. Kombierter Einsatz miR375 + miR371: AUC 0,95 (Discovery-Kohorte). miR371 als Marker aktiver Malignität; miR375 als Teratommarker –



				kombinierter Ansatz vielversprechend.
Staging & Risikofaktoren CS I	Dieckmann et al., 2022	Prospektive multizentrische Studie	n = 153 CS1-NS	Präoperative M371-Werte signifikant assoziiert mit lymphovaskulärer Invasion (LVI), Tumorgroße, embryonalem Karzinomanteil. Präoperativer AUC für LVI-Vorhersage: 0,732.
Subgruppenanalyse: Histologie & Alter	Dieckmann et al., 2023	Retrospektive Analyse	n = 641 Hodentumoren	M371 übertrifft AFP, bHCG und LDH in allen Histologiesubtypen. Expressionsraten: 82,7 % (Seminom), 93,6 % (Nichtseminom). Positive Korrelation mit jüngerem Patiententalter und fortgeschrittenem Stadium.
Real-Life-Performance	Pycha/Trenti et al., 2023	Prospektive Real-Life-Studie	n = 44 Patienten, 96 Tests	Unter Alltagsbedingungen: Sensitivität 73,7–86,4 %; für Seminom 85 % (vs. AFP 5 %). Bestätigung der Überlegenheit gegenüber klassischen Markern auch unter realen Bedingungen.
Rezidivdetektion (Follow-up)	Belge et al., 2024 (DRKS-Studie)	Prospektive multizentrische Studie	n = 258 CS1-GCT	Sensitivität 100 %, Spezifität 96,3 %; PPV 83 %, NPV 100 % für Rezidivdetektion. AUC 0,991. Alle 39 Rezidive erkannt. Deutliche Überlegenheit gegenüber klassischen Markern (bHCG: 35,5 %; AFP: 25,0 %).
Spezifität: Andere Malignome	Belge et al., 2025	Prospektive Vergleichsstudie	n = 137 NTM, 20 GCT, 20 Kontrollen	Falsch-positiv-Rate 5,84 % bei anderen Malignomen (vergleichbar mit gesunden Kontrollen). Auffällig: erhöhte M371-Expression bei 3/5 multiplen Myelomen (chromosomale Erklärung: 19q13-Lokalisation).
S1STeM 371 Studie zur Beurteilung von M371 bzgl. STMs	Nazzani et al 2025	Prospektive Studie	N = 32 mit STM zw. 5 – 20 mm	M371 kann GCTs bei Patienten mit GCT voraussagen. [1]
Real-Word Prospektiver Vergleich zu konventionellen Ansätzen	Palermo et al 2025	Prospektive Vergleichsstudie	n = 75 GCT, 19 Kontrollen	Der M371 Test zeigte eine exzellente Leistung im Vergleich (Sen. 90,9%, Spez. 89,3%).
M371 bei Lymphknoten Entfernung	Dieckmann et al., 2026	Retrospektive Analyse	n = 57, 20 mit SE bei LND, 16 mi VN, und 8 pN0 und 13 mit TE	Eine Erhöhung der M371 Level stellen einen prädiktiven Marker für Lymphknoten Metastasierungen in 100% der Fälle mit primären NS und in 92% der SE-Fälle dar.
M371 bereit für die klinische Routine	Heidenreich, Dieckmann et al, 2026	Prospektive multizentrische Studie - Zwischenauswertung	n = 109 von 250 (67 GCT, 42 Kontrollen).	Keine Falsch-positiven Ergebnisse im Plasma im Vergleich zu Serum, vereinfachte präanalytische Anforderungen und Logistik für eine dezentralisierte Messung.



Einleitung zur miR-371a-3p

Die microRNA-371a-3p ist ein kleines, nicht-kodierendes RNA-Molekül (~22 Nukleotide), das zum miR-371-373-Cluster auf Chromosom 19q13 gehört. Dieser Cluster ist charakteristisch für embryonale Stammzellen und wird von Keimzelltumoren spezifisch exprimiert und in die Blutbahn sezerniert. Die biologische Grundlage ist die entwicklungsbiologische Ähnlichkeit zwischen embryonalen Stammzellen und GCT-Zellen. Die wissenschaftliche Grundlage des M371-Tests reicht bis ins Jahr 2006 zurück. Voorhoeve et al. haben erstmals den miR-371-373-Cluster auf Chromosomregion 19q13 als überexprimiert in adulten Keimzelltumoren des Hodens identifiziert [2]. Die Studie zeigte, dass miR-372 und miR-373 als potenzielle Onkogene über die Hemmung des Tumorsuppressors LATS2 wirken und gilt heute als Grundlage der gesamten miRNA-Biomarker-Forschung bei Keimzelltumoren.

Eine frühe biologische Validierung des Biomarkers erfolgte durch Spiekermann et al. (2015) [3]. Die Autoren untersuchten die Herkunft und Verteilung von miR-371a-3p in verschiedenen Körperflüssigkeiten von Patienten mit testikulären Keimzelltumoren. Dabei zeigte sich, dass die Konzentration von miR-371a-3p im testikulären Venenblut von Patienten mit Keimzelltumoren im Median 27,3-fach höher war als im peripheren Blut. Bei Kontrollpatienten ohne Keimzelltumor betrug dieser Unterschied lediglich das 3,4-Fache. Diese Befunde liefern einen direkten Hinweis darauf, dass der Tumor selbst die Hauptquelle der zirkulierenden miR-371a-3p ist. Darüber hinaus fanden die Autoren keine relevante Erhöhung von miR-371a-3p bei Patienten mit anderen urologischen und nicht-urologischen Malignomen, darunter Prostata-, Nieren- und Harnblasenkarzinome. Dies stellte einen frühen Hinweis auf die hohe Tumorspezifität des Biomarkers dar.

Bei Patienten mit testikulärer intraepithelialer Neoplasie (GCNIS/TIN) wurden lediglich geringfügig erhöhte Werte gemessen, was auf eine deutlich geringere Freisetzung des Biomarkers in präinvasiven Stadien hindeutet. Zusätzlich konnte miR-371a-3p in weiteren Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden, darunter Seminalplasma sowie Pleuraerguss eines Patienten mit metastasierter Erkrankung, während im Urin keine relevante Expression festgestellt wurde. Diese Ergebnisse belegen die prinzipielle Nachweisbarkeit des Biomarkers in verschiedenen biologischen Kompartimenten.

Besonders klinisch bedeutsam war die Beobachtung, dass die Serumspiegel bei fünf Patienten mit klinischem Stadium I bereits innerhalb von 24 Stunden nach Orchiektomie auf weniger als 5 % des Ausgangswertes abfielen. Dieser Befund lieferte einen frühen Hinweis auf die kurze Halbwertszeit von miR-371a-3p und wurde später durch die detaillierten Halbwertszeit-Untersuchungen von Radtke et al. (2018) bestätigt.

Eine wichtige Voraussetzung für die klinische Anwendbarkeit eines Tumormarkers ist seine rasche Elimination nach Entfernung der Tumorquelle. Radtke et al. (2018) untersuchten hierzu die Kinetik von miR-371a-3p bei 24 Patienten mit Keimzelltumoren im klinischen Stadium I nach Orchiektomie [4]. Die Serumspiegel fielen innerhalb von 24 Stunden auf 2,62 %, nach 48 Stunden auf 1,27 % und nach 72 Stunden auf lediglich 0,47 % des präoperativen Ausgangswerts ab. Anhand engmaschiger Messungen bei drei Patienten wurde eine Serumhalbwertszeit von 3,67 bis 7,01 Stunden berechnet. Damit weist miR-371a-3p eine deutlich kürzere Halbwertszeit auf als die etablierten Tumormarker AFP (5–7 Tage) oder β -HCG (ca. 36 Stunden). Die Geschwindigkeit des Markerabfalls korrelierte signifikant mit der Tumorgroße, während kein Zusammenhang mit Histologie (Seminom vs. Nichtseminom) oder Patientenalter nachgewiesen wurde. Die Autoren bewerten die sehr kurze Halbwertszeit als einen wesentlichen Vorteil des Biomarkers, da Veränderungen der Tumoraktivität zeitnah im Serum abgebildet werden und somit eine schnelle Beurteilung des Therapieansprechens ermöglicht wird.

Leão et al. 2018 untersuchte, ob zirkulierende microRNAs als Biomarker zur Vorhersage der Histologie von Residualtumoren nach Chemotherapie bei nicht-seminomatösen Keimzelltumoren eingesetzt werden können [5]. Bei 82 Patienten, die nach Orchiektomie und Chemotherapie eine retroperitoneale Lymphknotendisektion (RPLND) erhielten, zeigte insbesondere miR-371a-3p eine hohe Aussagekraft für den Nachweis verbliebener vitaler Keimzelltumoren. Während klassische Serumentumormarker nach Chemotherapie keine zuverlässige Aussage mehr erlaubten, blieben die miR-371a-3p-Spiegel bei Patienten mit vitalem Residualtumor erhöht. Die höchste diagnostische Genauigkeit wurde für miR-371a-3p erreicht (AUC 0,874). In einem Modell zur Operationsentscheidung identifizierte der Biomarker alle Patienten mit vitalem Residualtumor mit einer Sensitivität von 100 %. Die Autoren sehen darin einen vielversprechenden Ansatz zur besseren Risikostratifizierung vor einer postchemotherapeutischen RPLND, betonen jedoch die Notwendigkeit weiterer prospektiver Validierungsstudien.

In einer frühen Validierungsstudie analysierten Syring et al. (2015) verschiedene Mitglieder des miR-371–373-Clusters als potenzielle Serum-Biomarker für testikuläre Keimzelltumoren [6]. Dabei zeigte miR-371a-3p die höchste diagnostische Genauigkeit mit einer Sensitivität von 84,7 %, einer Spezifität von 99 % und einem AUC von 0,929 und übertraf damit AFP, bHCG und LDH deutlich. Diese Publikation legte den Grundstein für alle nachfolgenden klinischen Studien.

In einer nachfolgenden prospektiven deutschen Studie an 111 GCT-Patienten bestätigten Dieckmann und Kollegen eine Sensitivität von ~90 % und eine Spezifität von 86–94 % [7]. Den vorläufigen Höhepunkt der klinischen Validierung stellt die bislang größte prospektive Multicenter-Studie von Dieckmann et al 2019. dar, in der 616 GCT-Patienten aus mehreren europäischen Zentren und 258 gesunde Kontrollen analysiert wurden [8]. Die Studie dokumentierte eine Gesamtsensitivität von 90,1% bei einer Spezifität von 94,1 %, einen PPV von 97,2 % sowie einen NPV von 82,7 %. Der AUC betrug 0,966 für alle GCT, 0,958 für das klinische Stadium I und 0,998 für die Stadien II und III. Für das Seminom wurde eine Sensitivität von 89,8 % erreicht, gegenüber 3% für AFP und 28 % für bHCG, was einem deutlichen Unterschied entspricht. M371 fiel nach Orchiektomie in 91,77 % der CS1-Fälle auf Normalwerte ab und zeigte eine signifikante Überlegenheit gegenüber AFP, bHCG, LDH und deren Kombination in allen untersuchten Subgruppen. Der in dieser Studie etablierte Referenzwert eines RQ-Wertes von 5 als oberer Normalwert ist seitdem internationaler Standard.

Tabelle 1: Diagnostische Leistungsfähigkeit des M371-Tests in der Primärdiagnostik testikulärer Keimzelltumoren (Cutoff RQ $\geq$ 5, Youden-Index-basiert)

Gruppe vs. Kontrollen (n = 258)	n	Sensitivität % (95 %-CI)	Spezifität % (95 %-CI)	AUC (95 %-CI)
Gesamtkohorte GCT	522	91,8 (89,1–94,0)	96,1 (93,0–98,1)	0,970 (0,958–0,981)
Seminom	323	89,8 (85,9–92,8)	96,1 (93,0–98,1)	0,964 (0,949–0,979)
Nichtseminom	199	95,0 (91,0–97,6)	96,1 (93,0–98,1)	0,978 (0,962–0,994)
CS I	371	88,9 (85,3–92,0)	96,1 (93,0–98,1)	0,958 (0,942–0,974)
CS II/III	151	98,7 (95,3–99,8)	96,1 (93,0–98,1)	0,998 (0,995–1,000)
Rezidive	46	82,6 (68,6–92,2)	96,1 (93,0–98,1)	0,921 (0,862–0,981)

PPV: 97,2 % (92,9–99,2); **NPV:** 82,7 % (74,0–89,4). Berechnet an einer Teilkohorte von n = 155 GCT und n = 90 Kontrollen aus vier Zentren mit vergleichbarer Versorgungsstruktur nicht an der Gesamtkohorte (s. Appendix der Originalarbeit).



Klinische Einordnung von M371 und narrative Übersicht

Eine wichtige Einordnung der aktuellen Evidenz liefert der Übersichtsartikel von Lobo et al. (2023) [9], der den Stand der molekularen Biomarkerforschung bei testikulären Keimzelltumoren (TGCT) und Sex-Cord-Stromatumoren zusammenfasst. Die Autoren bewerten miR-371a-3p als den derzeit klinisch vielversprechendsten Liquid-Biopsy-Biomarker für TGCTs. In zahlreichen Studien wurden Sensitivitäts- und Spezifitätswerte von über 90 % erreicht, wodurch die diagnostische Leistungsfähigkeit die der klassischen Serumtumormarker AFP, β -HCG und LDH deutlich übertrifft. Gleichzeitig wird die fehlende Detektion reifer Teratome als wichtigste Limitation des Biomarkers hervorgehoben. Zur Überwindung dieser Einschränkung werden kombinierte Biomarkeransätze diskutiert, insbesondere die Ergänzung von miR-371a-3p durch den Nachweis hypermethylierter RASSF1A mittels digital droplet PCR (ddPCR), wodurch auch Teratomanteile erfasst werden könnten.

Für die klinische Implementierung betonen die Autoren jedoch, dass weiterhin eine Harmonisierung präanalytischer, analytischer und postanalytischer Prozesse erforderlich ist. Offene Fragen betreffen unter anderem die Wahl des optimalen Probenmaterials (Serum versus Plasma), den Umgang mit Hämolyseeffekten, die geeignete Quantifizierungsmethode (RT-qPCR versus ddPCR) sowie die Standardisierung von Normalisierungs- und Auswertungsstrategien. Die Autoren sehen hierin eine wesentliche Voraussetzung für eine breite klinische Anwendung und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen verschiedenen Laboren.

Darüber hinaus verweisen Lobo et al. 2023 auf laufende prospektive klinische Studien zur Implementierung von miR-371a-3p in die Routinediagnostik sowie auf gesundheitsökonomische Analysen, die bei Einsatz des Biomarkers in der Nachsorge eine Reduktion der bildgebenden Kontrollen und damit potenzielle Kosteneinsparungen von bis zu 44 % prognostizieren. Insgesamt unterstreicht die Arbeit, dass die klinische Relevanz von miR-371a-3p inzwischen gut belegt ist, während die weitere Standardisierung der Methodik und Befundinterpretation weiterhin einen zentralen Entwicklungsschwerpunkt darstellt.

Eine umfassende Übersicht über den aktuellen Stand der Biomarkerforschung bei testikulären Keimzelltumoren liefert auch der Review-Artikel von Leão, Ahmad und Hamilton von der Universitätsklinik Toronto [10]. Die Autoren analysieren systematisch alle verfügbaren und in der Entwicklung befindlichen Biomarkerkandidaten, von den klassischen Serummarkern AFP, bHCG und LDH über experimentelle Proteinmarker wie die Plazentare Alkalische Phosphatase (PLAP) und die Neuronen-spezifische Enolase (NSE) bis hin zu modernen Liquid-Biopsy-Ansätzen wie zirkulierender Tumor-DNA (ctDNA), zirkulierenden Tumorzellen (CTCs) und microRNAs.

Dabei arbeiten die Autoren die fundamentalen Limitationen der klassischen Marker klar heraus: AFP und bHCG sind bei rund 40 % aller GCT nicht erhöht, bei reinen Seminomen sogar nur in etwa 30 % der Fälle. Hinzu kommt ihre mangelnde Spezifität, da beide Marker auch bei einer Vielzahl anderer Erkrankungen und physiologischer Zustände erhöht sein können. AFP ist bei hepatozellulären Karzinomen, Leberzirrhose und Virushepatitis erhöht, bHCG bei Hypogonadismus, Blasenkarzinom und Trophoblasttumoren. LDH wird aufgrund seiner ausgeprägten Unspezifität von den Autoren als klinisch nur bedingt verwertbar eingestuft. Experimentelle Proteinmarker wie PLAP zeigten zwar in einigen Studien eine bessere Sensitivität für Seminome, werden jedoch durch falsch-positive Erhöhungen bei Rauchern erheblich eingeschränkt.



Vergleich M371 vs. klassische Tumormarker

Der bekannteste klassische Marker für Keimzelltumoren ist die Kombination AFP/bHCG. Die Leistungsdaten der bislang größten prospektiven multizentrischen Studie von Dieckmann et al. 2019 [8] erlauben einen Vergleich der klassischen Serummarker mit dem M371 Test.

Tabelle 2. Vergleich von M371 gegenüber den klassischen Serummarkern.

Marker	AFP	bHCG	LDH	AFP + bHCG (kombiniert)	M371
Sensitivität (SE)	3 %	28 %	31 %	26 %	89,8 %
Sensitivität (NS)	60 %	53 %	38 %	58 %	95,0 %
Spezifität	~99 %	~97 %	~70 %	~97 %	94,0 %

Hintergründe zu den klassischen Serummarker

AFP (Alpha-Fetoprotein) ist ein onkofetales Protein, das während der Schwangerschaft überwiegend im Dottersack, im Gastrointestinaltrakt und in der Leber gebildet wird. Aus diesem Grund ist AFP bei reinen Seminomen und trophoblastischen Tumoren nicht erhöht, kann jedoch bei den meisten Dottersacktumoren und einigen Embryonalzellkarzinomen erhöht sein. Darüber hinaus können auch Lebererkrankungen, hereditäre Faktoren sowie ein erhöhter Alkoholkonsum, insbesondere bei sogenannten Wochenendtrinkern, zu einer AFP-Erhöhung führen, ohne dass ein Keimzelltumor vorliegt. Die Serumhalbwertszeit von AFP beträgt 5 bis 7 Tage.

bHCG (Beta-Humanes Choriongonadotropin) wird physiologischerweise vom Synzytiotrophoblasten der Plazenta während der Schwangerschaft produziert. Bei Chorionkarzinomen ist der β -HCG-Spiegel stets erhöht, während er bei etwa 50 % der Embryonalzellkarzinome und bei rund einem Drittel der Seminome erhöht sein kann. Wie AFP ist auch β -HCG nicht tumorspezifisch: Es kann ebenfalls bei anderen Malignomen erhöht sein sowie bei Personen mit chronischem Marihuanakonsum. Die Serumhalbwertszeit von β -HCG beträgt 18 bis 36 Stunden und ist damit deutlich kürzer als die von AFP, aber wesentlich länger als die von M371 mit unter 24 Stunden.

LDH (Laktatdehydrogenase) ist ein zelluläres Enzym mit mehreren Subtypen, dass bei jeder Form von Zellyse ansteigt und damit nicht nur bei malignen Erkrankungen, sondern auch bei Myokardinfarkt sowie bei Leber- und Nierenerkrankungen. Aus diesem Grund gilt LDH als sehr unspezifischer Marker mit begrenztem diagnostischem Wert für die Primärdiagnose von Keimzelltumoren. Einen gewissen prognostischen Stellenwert besitzt LDH lediglich bei stark erhöhten Werten, etwa im Rahmen einer fortgeschrittenen metastasierten Erkrankung. Die Serumhalbwertszeit von LDH beträgt etwa 24 Stunden.

Aufgrund ihrer insgesamt geringen Sensitivität, von etwa 60 % bei Nichtseminomen und lediglich 20 % bei Seminomen, ist der klinische Nutzen dieser klassischen Tumormarker erheblich eingeschränkt. In markernegativen Fällen bleibt die Bildgebung das einzige diagnostische Instrument, was die Notwendigkeit neuer, leistungsfähigerer Tumormarker unterstreicht. Dadurch können Diagnose und Therapieentscheidung präziser und individualisierter gestaltet werden.

Den weitaus vielversprechendsten Fortschritt identifizieren Leão und Kollegen im Bereich der zirkulierenden microRNAs, allen voran miR-371a-3p [11]. Sie fassen die bis dahin vorliegenden Studiendaten zusammen und kommen zu dem Schluss, dass miR-371a-3p unter allen untersuchten Biomarker Kandidaten mit einer Sensitivität von 88,7–90 %, einer Spezifität 86–93,4 % und einer AUC von 0,945 die höchste diagnostische Genauigkeit aufweist.

Besonders hervorgehoben wird, dass miR-371a-3p im Gegensatz zu AFP und bHCG, sowohl für Seminome als auch für Nichtseminome gleichermaßen sensitiv ist und damit erstmals einen universellen GCT-Marker darstellt. Die klinischen Anwendungsfelder, für die der Review den größten Nutzen von M371 erwartet, umfassen vier Bereiche:

Tabelle 3. Die vier wesentlichen, klinischen Anwendungsfelder

Nr.	Bereich	Bedeutung
1	Primärdiagnose	Primärdiagnose, insbesondere bei kleinen oder klassisch Marker-negativen Tumoren.
2	Staging und Risikostratifizierung	wo ein erhöhter M371-Wert trotz negativer klassischer Marker auf okkulte Metastasen hinweisen könnte und damit die Entscheidung zwischen Active Surveillance und adjuvanter Therapie beeinflussen kann.
3	Therapiemonitoring	da M371-Spiegel eng mit dem Ansprechen auf Chemotherapie korrelieren und aufgrund der kurzen Halbwertszeit von unter 24 Stunden rasche Verlaufsbeurteilungen ermöglichen
4	Entscheidungsfindung bei postchemotherapeutischen Residualmassen	Erhöhte M371-Spiegel vor einer RPLND korrelierten mit dem Vorliegen von vitalem Tumorgewebe, was eine gezieltere Indikationsstellung für den chirurgischen Eingriff ermöglichen könnte.

Als wichtigste verbleibende Limitation benennen die Autoren die Unfähigkeit von miR-371a-3p, reife Teratome zu detektieren, da diese, als differenzierteste GCT-Entität, den Marker nicht exprimieren. Für dieses diagnostische Defizit sehen sie weiteren Forschungsbedarf, etwa durch kombinierte miRNA-Panels. Abschließend fordern Leão und Kollegen prospektive multizentrische Studien mit standardisierten Messmethoden als nächsten notwendigen Schritt.

In einer 2025 publizierten Folgearbeit wurde die Frage der Testspezifität erstmals auch auf nicht-testikuläre Malignome anderer Organsysteme ausgeweitet [12]. In dieser prospektiven Studie wurden M371-Serumspiegel bei 137 Patienten mit 12 verschiedenen Tumorentitäten gemessen. Darunter waren Prostata-, Blasen- und Nierenzellkarzinome, Non-Hodgkin-Lymphome, Hodgkin-Lymphome und Melanome die mit 20 GCT-Patienten sowie 20 tumorfreien Männern verglichen wurden. Die Falsch-positiv-Rate über alle nicht-testikulären Malignome lag bei lediglich 5,84 % (95 % CI: 2,55–11,18 %) und war damit praktisch identisch mit der Hintergrundrate gesunder Männer aus früheren Studien. Die Gesamtspezifität von M371 für Keimzelltumoren betrug 94,9 % (95 % CI: 90,21–97,77 %).

Ein überraschendes und bislang unerklärtes Einzelphänomen stellte die Beobachtung dar, dass 3 von 5 Patienten mit multiplem Myelom (60 %) erhöhte M371-Spiegel zeigten, in einem Fall sogar höher als bei GCT-Patienten. Die Autoren diskutieren als mögliche biologische Erklärung chromosomale Rearrangements auf 19q13, einer Region, in der der miR-371-3-Cluster lokalisiert ist und die im multiplen Myelom bekannte Bruchpunktregion darstellt. Diese Beobachtung bedarf weiterer Untersuchung.



Der ideale urologische Tumormarker

Leão und Kollegen kamen in ihrem systemischen Review zu der Aussage, dass die miR-371a-3p der ideale Biomarker sein könnte, da er im Wesentlichen alle 7 Anforderungen erfüllt [11]:

Exkurs: Die **sieben Lange-Winfield-Kriterien** wurden 1987 von Lange und Winfield im Fachjournal Cancer (60:464–472) publiziert und definieren die **Anforderungen an einen idealen urologischen Tumormarker**. Sie lauten:

- 1. Tumorspezifische Produktion:** Der Marker wird ausschließlich oder überwiegend vom Tumor selbst produziert und nicht von gesundem Gewebe oder anderen Erkrankungen.
- 2. Sekretion in Körperflüssigkeiten:** Der Marker wird in messbare Körperflüssigkeiten (Blut, Urin, Liquor etc.) sezerniert und ist dort zuverlässig nachweisbar.
- 3. Reproduzierbare Messbarkeit:** Der Marker lässt sich mit standardisierten, validierten Labormethoden reproduzierbar und präzise quantifizieren.
- 4. Korrelation mit der Tumormasse:** Die Konzentration des Markers im Blut korreliert mit dem Ausmaß der Tumorerkrankung. Es gilt: je mehr Tumor, desto höher der Markerwert.
- 5. Nachweisbarkeit in frühen Stadien:** Der Marker ist bereits in frühen, potenziell kurativen Krankheitsstadien detektierbar und nicht erst bei fortgeschrittenem Befund.
- 6. Korrelation mit dem Therapieansprechen:** Sinkende Markerwerte spiegeln ein Ansprechen auf die Therapie wider; persistierend erhöhte oder wieder ansteigende Werte signalisieren Therapieversagen oder Rezidiv.
- 7. Kurze Halbwertszeit:** Der Marker wird nach Tumorentfernung oder erfolgreicher Therapie rasch aus dem Blut eliminiert, sodass zeitnahe Verlaufsbeurteilungen möglich sind.

Kriterium 1: M371 wird nahezu ausschließlich von Keimzelltumoren des Hodens exprimiert. Belge et al. (2021) zeigten, dass Leydig-Zell-Tumoren, Sertoli-Zell-Tumoren und maligne Lymphome eine Median-Expression von RQ = 0,00 aufweisen, identisch mit gesunden Kontrollpersonen [13]. Belge et al. (2025) bestätigten eine Falsch-positiv-Rate von nur 5,84 % bei 12 verschiedenen anderen Malignomen. Die einzige nennenswerte Ausnahme, multiples Myelom, ist biologisch durch chromosomale Rearrangements auf 19q13 erklärbar und klinisch gut abgrenzbar [12].

Kriterium 2. M371 ist zuverlässig im Serum, Plasma, Hodenvenblut, Hydrozelenflüssigkeit, Seminalplasma, Liquor und Pleuraerguss nachweisbar. Die Nachweisbarkeit in multiplen Körperflüssigkeiten wurde in mehreren unabhängigen Studien dokumentiert [11].

Kriterium 3. Der M371-Test (mir|detect GmbH) ist als IVDR-zertifiziertes Diagnostikum zugelassen. Pycha und Trenti et al. (2023) demonstrierten eine Ergebnis-Übereinstimmung von 92,9 % auf einer alternativen qPCR-Plattform [14]. Die Methode, RNA-Isolation, Reverse Transkription, qPCR mit miR-30b-5p als endogenem Kontrollmarker, $\Delta\Delta C_t$ -Auswertung, ist international standardisiert und in zahlreichen Laboren repliziert worden [7, 8, 15].

Kriterium 4: Mehrere Studien belegen eine enge Korrelation von M371-Serumspiegeln mit Primärtumorgröße und klinischem Stadium. Dieckmann et al. (2023) zeigten eine M371-Positivisierungsrate von 100 % in metastasierten Stadien (>CS1), verglichen mit 83,1 % in CS1 [16]. Die präoperativen M371-Spiegel korrelieren signifikant mit Tumorgröße ($p=0,001$) und lymphovaskulärer Invasion [17].

Kriterium 5: Mit einer Sensitivität von 88,9 % in CS1, bei AUC 0,958, ist M371 auch in lokalisierter Erkrankung zuverlässig nachweisbar [8]. Selbst Seminome unter 2 cm Durchmesser zeigen in 77



% der Fälle erhöhte M371-Spiegel. Dies ist gegenüber AFP (3 % bei Seminom) und bHCG (28 % bei Seminom) eine dramatische Verbesserung der Früherkennbarkeit.

Kriterium 6: M371-Spiegel sinken nach erfolgreicher Orchiektomie in 91,77 % der CS1-Fälle auf Normalwerte [8]. In der DRKS-Studie wurden alle 39 Rezidive durch erhöhte M371-Spiegel erkannt, bei einer Sensitivität von 100 % und einem NPV von 100 % [18]. Während der Chemotherapie spiegeln sinkende M371-Werte das Therapieansprechen wider; ein Wiederanstieg signalisiert Rezidiv oder Therapieversagen.

Kriterium 7: Mit einer Serumhalbwertszeit von unter 24 Stunden, in CS1 konkret 3,67–7,01 Stunden (Radtke et al 2018) [4], ist M371 der schnellst-normalisierende GCT-Marker überhaupt. AFP benötigt mit einer Halbwertszeit von 5–7 Tagen oft Wochen zur Normalisierung nach Resektion. Diese Eigenschaft macht M371 besonders wertvoll für die engmaschige Verlaufskontrolle.

Wichtige Einschränkung:

Teratome exprimieren den Biomarker miR-371a-3p nicht. Das schränkt die universelle Anwendbarkeit in Kriterium 1 und 5 partiell ein, ist aber keine Falsifikation der Kriterien, sondern eine bekannte biologische Eigenheit dieser ausdifferenzierten Tumorentität.

Teratomdiskriminierung: Potenzial und Grenzen von miR-375

Eine der bedeutendsten diagnostischen Lücken des M371-Tests ist die fehlende Nachweisbarkeit reifer Teratome, mit erheblicher klinischer Konsequenz: Nach Platin-basierter Chemotherapie bei metastasiertem Nichtseminom enthalten retroperitoneale Residualmassen in 40–50 % der Fälle reifes Teratom, das auf Chemotherapie nicht anspricht, chirurgisch reseziert werden muss und ein Risiko für maligne Transformation trägt [19]. Da miR-371a-3p in differenziertem Teratomgewebe nicht exprimiert wird, zeigt der M371-Test in diesem spezifischen Setting **erwartungsgemäß nicht das richtige Ergebnis an.**

Als möglicher Ergänzungsmarker für die Teratomdetektion wird **miR-375** diskutiert. Nappi und Kollegen untersuchten in einer prospektiven multizentrischen Studie mit 100 GCT-Patienten, darunter 41 mit pathologisch bestätigtem Teratom erstmals den kombinierten Einsatz beider Marker [20]. In der Discovery-Kohorte erreichte miR-375 allein einen AUC von 0,93, mit einer engen Korrelation zwischen Plasmaexpression und Teratomgröße ($r=0,80$; $p < 0,0001$). Die **Kombination aus miR-371 und miR-375 erzielte einen AUC von 0,95**, wobei der diagnostische Algorithmus biologisch schlüssig ist. Ein positives miR-371a-3p-Signal zeigt aktives malignes Keimzellgewebe an, während miR-371a-3p negativ bei gleichzeitig erhöhtem miR-375 auf Teratom ohne begleitende aktive Malignität hindeutet. In der unabhängigen Validierungskohorte derselben Studie fiel der AUC auf 0,77 ab.

Weitere Gruppen konnten den Nutzen von miR-375-3p für den Teratomnachweis im Serum **nicht bestätigen** und kamen zu dem Schluss, dass miR-375 allein kein zuverlässiger Biomarker für Teratome ist [21, 22]. Auch die jüngste Kombination aus miR-371, miR-375 und CT-Radiomics zeigte zwar im Trainingsset vielversprechende Ergebnisse (AUC 0,96), fiel jedoch im Testdatensatz auf 0,83 ab [23].

Fazit: Ein zuverlässiger, klinisch validierter Teratommarker existiert bis heute nicht.

Der M371 Test von mir | detect

Abb. 1. Das M371 Testkit



Der M371-Test (mir | detect GmbH, Bremerhaven) ist als IVDR-zertifiziertes In-vitro-Diagnostikum in Europa zugelassen. Er misst mittels qPCR die Serumkonzentration von miR-371a-3p, normiert auf den endogenen Kontrollmarker miR-30b-5p. Das Ergebnis wird als Relative Quantität (RQ) ausgegeben. Nach vollständiger Entfernung des Tumors normalisieren sich die miR-371a-3p Spiegel, was eine präzise Therapiekontrolle ermöglicht. Interpretation der M371-Testergebnisse erfolgt in Abhängigkeit des klinischen Szenarios.

Tabelle 4. Einordnung der RQ-Werte laut Hersteller

Primärdiagnose (Erkennung von Primärtumoren)		
RQ < 5	Negativ	geringe Tumorwahrscheinlichkeit
5 ≤ RQ < 10	Grenzwertig	Wiederholung nach einigen Wochen
RQ ≥ 10	Positiv	hohe Tumorwahrscheinlichkeit
Nachsorge (Erkennung von Rezidiven)		
RQ < 15	Negativ	geringe Rezidiv-Wahrscheinlichkeit
RQ ≥ 15	Positiv	hohe Rezidiv-Wahrscheinlichkeit

Kritik an der Methodenstandardisierung

Trotz der insgesamt sehr überzeugenden klinischen Daten wird die Einführung des M371-Tests in die Routineversorgung weiterhin von Diskussionen zur Methodenstandardisierung begleitet. Im Mittelpunkt stehen dabei die Auswertung der qPCR-Daten, die Wahl geeigneter Grenzwerte sowie die Frage, in welchem Umfang die Normalisierung auf Referenz-microRNAs die Vergleichbarkeit der Ergebnisse beeinflusst.

Eine wichtige Ergänzung zu dieser Diskussion liefert die prospektive Schweizer Multicenter-Studie von Fankhauser et al. (2024) [24]. Die Autoren untersuchten 34 Patienten mit klinischem Stadium I unter Active Surveillance und verglichen erstmals systematisch zwei Auswertungsstrategien desselben CE-zertifizierten M371-Assays: die direkte Auswertung der Raw-Cq-Werte (auch Ct-Werte genannt) und die Berechnung normalisierter RQ-Werte unter Verwendung der Referenz-microRNA miR-30b-5p.

Beide Methoden erkannten alle zehn aufgetretenen Rezidive korrekt und erreichten damit eine Sensitivität von 100 %. Unterschiede zeigten sich jedoch bei der Anzahl falsch-positiver Befunde. Während die Cq-basierte Auswertung lediglich einen falsch-positiven Befund erzeugte, traten bei der RQ-basierten Auswertung häufiger vorübergehende positive Ergebnisse auf, die sich bei nachfolgenden Kontrollmessungen wieder



normalisierten. Gleichzeitig erkannte die RQ-basierte Auswertung in einem Fall ein Rezidiv sechs Monate früher als die direkte Cq-Auswertung. Die Studie verdeutlicht damit den grundlegenden Zielkonflikt zwischen möglichst früher Tumorerkennung und einer möglichst niedrigen Falsch-Positiv-Rate.

Die Autoren schlagen daher für beide Auswertungsmethoden einen diagnostischen Graubereich vor (RQ 10–15 bzw. Cq 28–35) und empfehlen, grenzwertige Ergebnisse durch Kontrollmessungen abzusichern, bevor weiterführende diagnostische Maßnahmen eingeleitet werden.

Die Arbeit von Lafin et al. (2023) liefert eine methodische Erklärung für diese Beobachtungen [25]. Die Autoren analysierten die Ursachen grenzwertiger und falsch-positiver Befunde und definierten erstmals einen Indeterminate-Bereich von Cq 28–35. Dieser Bereich wurde aus der Verteilung negativer Kontrollproben abgeleitet und kennzeichnet Ergebnisse, die nicht eindeutig als positiv oder negativ eingestuft werden können. Bemerkenswert war die Beobachtung, dass etwa 25 % der negativen Kontrollproben sporadisch Messwerte innerhalb dieses Bereichs aufwiesen. Die Autoren führen dies auf stochastische Effekte bei sehr niedrigen Zielkonzentrationen zurück. Zur Reduktion von Fehlklassifikationen empfehlen sie bei Cq-Werten zwischen 28 und 35 zunächst eine technische Wiederholung derselben Probe ab dem Schritt der Reverse Transkription (auch cDNA Synthese genannt). Dadurch konnte die rechnerische Fehlklassifikationsrate von etwa 25 % auf rund 6 % reduziert werden.

Wichtig ist die Unterscheidung zwischen einer technischen Wiederholung derselben Probe und einer klinischen Kontrollmessung mit erneuter Blutentnahme. Während die technische Wiederholung laborbedingte Zufallseffekte adressiert, dient die erneute Blutentnahme der Abklärung biologischer Unsicherheiten.

Darüber hinaus hinterfragten Lafin et al. den Nutzen der Normalisierung auf Referenz-microRNAs [25]. Während die Raw-Cq-Werte zwischen mehreren Laboren eine hohe Übereinstimmung zeigten, führten die verwendeten Referenzmarker (miR-30b-5p und cel-miR-39-3p) zu zusätzlicher Variabilität. Die Autoren kommen daher zu dem Schluss, dass Normalisierungsschritte die Vergleichbarkeit zwischen Laboren unter Umständen verschlechtern können, ohne einen klaren diagnostischen Vorteil zu bieten. Die miR-30b-5p hat sich in den meisten aktuellen Studienprotokollen – ob mit dem kommerziellen M371-Test oder eigenen Labor-Assays – als gebräuchlichster Normalisierungsmarker etabliert.

Sequeira et al. (2022) untersuchten den Nachweis von miR-371a-3p mittels digital droplet PCR (ddPCR) [26]. Im Gegensatz zur RT-qPCR ermöglicht die ddPCR eine absolute Quantifizierung des Biomarkers ohne Normalisierung auf Referenz-microRNAs. Dadurch könnten einige der aktuell diskutierten Standardisierungsprobleme künftig reduziert werden. In der Validierungskohorte erreichte die ddPCR-basierte Bestimmung eine Sensitivität von 93,6 % und eine Spezifität von 100 %. Besonders bemerkenswert war, dass elf Keimzelltumoren, die mit AFP, β -HCG und LDH negativ waren, durch den miR-371a-3p-Nachweis korrekt erkannt wurden.

Die Autoren sehen in der ddPCR einen vielversprechenden Ansatz zur weiteren Standardisierung der M371-Analytik. Derzeit handelt es sich jedoch um eine Forschungsplattform. Ein kommerziell verfügbarer CE-IVD- bzw. IVDR-zertifizierter Test für

miR-371a-3p ist nach aktuellem Kenntnisstand ausschließlich der M371-Test der Firma mir|detect GmbH.

Schlussfolgerung zur Methodenstandardisierung aus der Sicht der DHS:

Die aktuelle Evidenz zeigt, dass die klinische Leistungsfähigkeit von miR-371a-3p sehr hoch ist, die optimale Auswertung und Interpretation grenzwertiger Befunde jedoch weiterhin Gegenstand wissenschaftlich-klinischer Untersuchungen ist. Auf Grundlage der verfügbaren Daten wird die DHS künftig sowohl die RQ-Werte als auch die Cq/ C_T-Werte im Befund ausweisen.

Bei grenzwertigen Ergebnissen erfolgt zusätzlich eine technische Wiederholung der Analyse ab dem Schritt der cDNA-Synthese, ohne dass für den Patienten dadurch Mehrkosten entstehen. Basierend auf den Daten von Lafin et al. 2023 kann dieses Vorgehen die rechnerische Fehlklassifikationsrate deutlich reduzieren.

Ergibt auch die Wiederholungsmessung einen Befund im Intermediärbereich, empfehlen wir eine zeitnahe Kontrollmessung mittels erneuter Blutentnahme, bevor weiterführende diagnostische Maßnahmen eingeleitet werden. Dieser Ansatz berücksichtigt die bekannten methodischen Besonderheiten der miRNA-Analytik und soll eine möglichst sichere und differenzierte Befundinterpretation unterstützen.

Tabelle 5. Einordnung der Testergebnisse korrigiert nach Lafin 2023 und Fankhauser 2024

Primärdiagnose (Erkennung von Primärtumoren)		
RQ < 5	Negativ	geringe Tumorwahrscheinlichkeit
5 ≤ RQ < 10	Grenzwertig	Wiederholung nach einigen Wochen
RQ ≥ 10	Positiv	hohe Tumorwahrscheinlichkeit
Nachsorge (Erkennung von Rezidiven)		
RQ < 10 oder C _T ≥ 36	Negativ	geringe Rezidiv-Wahrscheinlichkeit
10 ≤ RQ < 15 oder (C _T 28-35)	Grenzwertig	Kontrollmessung und kurzfristige Wieder-einbestellung des Patienten (neue Blutentnahme)
RQ ≥ 15 oder (C _T < 28)	Positiv	hohe Rezidiv-Wahrscheinlichkeit

Sollte ein nach Lafin und Fankhauser grenzwertiger RQ bzw. Cq/C_T-Wert im Rahmen der Nachsorge erfolgen, wird die Analyse ab dem Schritt der cDNA Synthese im Labor automatisch wiederholt.

Die Diskussion zur Methodenstandardisierung beschränkt sich nicht auf die Berechnung normalisierter RQ-Werte. Bereits die Bestimmung des zugrunde liegenden Cq-/C_T-Wertes kann von der verwendeten Auswertungssoftware und dem gewählten Analysealgorithmus beeinflusst werden. Während einige Plattformen, wie beispielsweise Roche-Systeme, den Quantifizierungszyklus automatisiert mittels Second-Derivative-Analyse bestimmen, verwenden andere Systeme thresholdbasierte Verfahren mit einem gewissen Spielraum bei der Festlegung des Schwellenwerts. Da die Berechnung des RQ-Wertes auf exponentiellen Transformationen der Ct-Differenzen basiert, können bereits geringe Änderungen des Cq-/C_T-Wertes im Grenzbereich zu deutlich unterschiedlichen RQ-Werten führen. Dies unterstreicht die Bedeutung standardisierter Analyseprotokolle und einer vorsichtigen Interpretation grenzwertiger Befunde.



Aktuelle klinische Studien

Während die diagnostische Leistungsfähigkeit von miR-371a-3p inzwischen durch zahlreiche Publikationen belegt ist, untersuchen aktuelle prospektive Interventions- und Versorgungsstudien, ob der Biomarker künftig auch konkrete Therapie- und Nachsorgeentscheidungen beeinflussen kann. Die Ergebnisse dieser Studien werden voraussichtlich maßgeblich über die zukünftige Rolle des M371-Tests in Leitlinien und klinischer Routine entscheiden.

SWOG S1823 (NCT04435756). Titel: A Study of miRNA 371 in Patients with Germ Cell Tumors - Abgeschlossen

Eine US-amerikanische Phase-III-Studie der SWOG Cancer Research Network (Southwest Oncology Group), die speziell darauf ausgelegt ist, den klinischen Nutzen von miR-371a-3p in der Steuerung der Behandlungsentscheidung bei CS I Nichtseminomen zu untersuchen. Konkret soll geprüft werden, ob ein negativer M371-Test nach Orchiektomie eine sichere Active Surveillance auch bei Hochrisikopatienten mit lymphovaskulärer Invasion rechtfertigt.

Auf dem ASCO Annual Meeting 2026 präsentierte Lucia Nappi (University of British Columbia) die Ergebnisse der prospektiven SWOG S1823 / GCC.1-Studie. Dabei handelt es sich um die bislang methodisch stärkste Untersuchung zum klinischen Nutzen von miR-371a-3p in der Surveillance von Frühstadium-GCT-Patienten. Die Daten wurden noch nicht publiziert.

Die Studie dokumentierte eine Gesamtrezidivrate von 14,63 % bei einem medianen Zeitpunkt bis zum Rezidiv von 5,8 Monaten nach Orchiektomie, wobei Hochrisikopatienten mit einer kumulativen Rezidivrate von 34,7 % nach 24 Monaten deutlich häufiger rückfällig wurden als Niedrigrisikopatienten (12 %). Für die Rezidivdetektion erzielte miR-371a-3p eine Spezifität von 94 % und einen negativen prädiktiven Wert (NPV) von 90 %, klinisch belastbare Werte, die bestätigen, dass ein negativer Test ein Rezidiv mit hoher Sicherheit ausschließt.

Die Sensitivität erwies sich als stark stadienabhängig und stieg mit zunehmendem Tumervolumen von 39 % im Stadium IIA über 57 % im Stadium IIB auf 69 % im Stadium IIC/III an. Dieser Befund bestätigt die bereits bekannte Assoziation von miR-371a-3p mit der Tumormasse erneut. Dass zwei Drittel aller Rezidive erst im Stadium IIB oder höher durch CT und klassische Serummarker diagnostiziert wurden, erklärt zudem, warum die Gesamtsensitivität für frühe, kleinvolumige Rezidive limitiert bleibt.

Der klinisch bedeutsamste und zugleich neuartigste Befund der Studie betrifft den postoperativen miR-371a-3p-Status als prädiktiven Marker für das rezidivfreie Überleben. Patienten mit einem positiven miR371-Befund nach Orchiektomie (n=47) zeigten ein drastisch schlechteres rezidivfreies Überleben im Vergleich zu Patienten mit negativem Befund (n=177), mit einer Hazard Ratio von 9,9 ($p < 0,001$), einem außerordentlich starken prädiktiven Signal.

Dieser Befund steht in einem gewissen Spannungsverhältnis zu früheren Studien, die postoperative M371-Werte als nicht prädiktiv für spätere Rezidive eingestuft hatten und bedarf weiterer prospektiver Bestätigung. Sollte er sich als robust erweisen, hätte er weitreichende klinische Konsequenzen. Patienten mit positivem postoperativem miR371-Status könnten gezielt intensiver überwacht oder frühzeitig adjuvant behandelt werden, während Patienten mit negativem Befund sicher im Active-Surveillance-Programm verbleiben könnten. Das wäre eine echte Grundlage für präzisionsmedizinische, individualisierte Therapieentscheidungen bei Hodenkrebs. Die Autoren selbst betonen, dass der klinische Nutzen von miR-371a-3p im Detail noch weiter definiert werden muss (Nappi L et al., SWOG S1823 / GCC.1-Studie, ASCO Annual Meeting 2026).



AGCT1531 (NCT03067181) – Studie läuft noch

Hierbei handelt es sich um eine laufende prospektive Phase-III-Studie der Children's Oncology Group (COG), die seit August 2017 an 466 Zentren in sieben Ländern aktiv rekrutiert. Sie ist die einzige Studie weltweit, die pädiatrische, adoleszente und adulte GCT-Patienten gemeinsam über alle Altersgruppen, Geschlechter, Lokalisationen und Histologien hinweg einschließt. Die Studie verfolgt zwei parallele Ziele:

Erstens evaluiert sie Active Surveillance bei Niedrigrisiko-Patienten mit CS I-Tumoren, zweitens vergleicht sie bei Standardrisiko-Patienten randomisiert eine Cisplatin- versus eine Carboplatin-basierte Chemotherapie. In beiden Armen werden serielle Serumproben für longitudinale miR-371a-3p-Messungen gesammelt, mit dem Ziel, den Biomarker prospektiv für Diagnose, Rezidivdetektion, Prognostizierung und die Vorhersage von vitalem Tumorgewebe nach Chemotherapie zu validieren. Die Daten aus AGCT1531 sind für gemeinsame Analysen mit den Parallelstudien SWOG S1823, ANZUP1906 (CLIMATE) und ANZUP P3BEP vorgesehen. Ergebnisse sind noch nicht publiziert.

ANZUP1906 (CLIMATE) - Rekrutierung abgeschlossen

Die CLIMATE-Studie (ACTRN12622000247774) wird von der Australian and New Zealand Urogenital and Prostate Cancer Trials Group (ANZUP) in Zusammenarbeit mit dem WEHI und dem Peter MacCallum Cancer Centre durchgeführt. Sie untersucht prospektiv den klinischen Nutzen von miR-371a-3p als Marker minimaler Resterkrankung (MRD) bei 200 Patienten mit CS1-Keimzelltumoren aus 12 Zentren in Australien und Neuseeland. Blutproben werden innerhalb von sechs Wochen nach Orchiektomie entnommen (Median 29 Tage postoperativ) und anschließend alle drei Monate für zwei Jahre gesammelt.

Die auf dem ASCO Genitourinary Cancers Symposium 2026 von Associate Professor Ben Tran (Peter MacCallum Cancer Centre, Melbourne) präsentierten Interimsergebnisse zeigen, dass ein positiver postoperativer Plasma-miR-371-Befund ein starker unabhängiger Prädiktor für ein späteres Rezidiv ist. Patienten mit positivem Befund wiesen ein mehr als zehnfach erhöhtes Rezidivrisiko auf (Hazard Ratio 10,3; $p < 0,001$).

Das rezidivfreie 2-Jahres-Überleben betrug lediglich 32 % bei miR-371-positiven Patienten gegenüber 89 % bei negativen Patienten. Für den Plasma-Assay wurden ein PPV von 62 % und ein NPV von 91 % ermittelt. Plasma erwies sich dabei als signifikant überlegen gegenüber Serum (AUC 0,77 vs. 0,69; $p = 0,04$), sodass alle weiteren Analysen auf Plasmabasis erfolgten.

Besonders klinisch bedeutsam ist, dass miR-371 die etablierten Risikostratifizierungsmodelle in beiden Histologien klar übertraf: Beim reinen Seminom erreichte miR-371 einen AUC von 0,86, verglichen mit 0,63 für den Boormans-Risiko-Score ($p = 0,022$) und 0,60 für Tumorgöße über 40 mm ($p = 0,013$). Beim Nichtseminom betrug der AUC 0,72 – überlegen gegenüber 0,58 für lymphovaskuläre Invasion ($p = 0,035$) und 0,53 für den Embryonalkarzinomanteil ($p < 0,001$).

Von den 40 aufgetretenen Rezidiven hatten 14 Patienten einen initial negativen miR-371-Befund – überwiegend Nichtseminome mit spätem Rückfall (medianer Zeitpunkt 6,9 Monate). Nur 2 Patienten waren auch zum Zeitpunkt des Rezidivs negativ: einer mit pathologisch bestätigtem reinem Teratom und einer mit isoliertem nodalen Befall ohne klare Metastasierung.

Samuel Funt (Memorial Sloan Kettering Cancer Center) bezeichnete miR-371a-3p als „vielversprechendsten Biomarker bisher“ und betonte, dass die Ergebnisse den zeitnahen Start von Interventionsstudien rechtfertigen. Selbst, während eine routinemäßige klinische Implementierung aufgrund offener Fragen zur Assay-Standardisierung, zum optimalen Interventionszeitpunkt und zur natürlichen Krankheitsgeschichte miR-371-positiver Patienten noch verfrüht sei [Tran B et al., ANZUP1906 CLIMATE, ASCO GU 2026, Abstract 596].



P3BEP (ANZUP 1302 - NCT02582697)

P3BEP (ANZUP 1302, NCT02582697) ist eine internationale, randomisierte, offene Phase-III-Studie der Australian and New Zealand Urogenital and Prostate Cancer Trials Group (ANZUP), geführt in Zusammenarbeit mit der Cambridge Clinical Trials Unit (UK) und der Children's Oncology Group (USA). Die Studie vergleicht 1:1 eine akzelerierte BEP-Chemotherapie (2-wöchentlicher Zyklus, q2w) mit der Standard-BEP-Chemotherapie (3-wöchentlicher Zyklus, q3w) als Erstlinienbehandlung bei Patienten mit intermediärem und schlechtem Risiko bei metastasierten Keimzelltumoren.

Eingeschlossen werden Männer und Frauen im Alter von 11 bis 45 Jahren mit GCT des Hodens, Ovars, Retroperitoneums oder Mediastinums, die Studie ist damit die erste internationale randomisierte Chemotherapiestudie bei GCT, die beide Geschlechter und pädiatrische Patienten einschließt. Das primäre Studienziel für Stage 1 (n=150) war die Ansprechrate; für Stage 2 (n=500) ist der primäre Endpunkt das progressionsfreie Überleben nach 2 Jahren (PFS2y).

Stand August 2023 waren bereits 274 Patienten aus 23 australisch-neuseeländischen, 17 britischen und 150 US-amerikanischen Zentren rekrutiert. Die erste geplante Interimsanalyse für Sicherheit (n=76) zeigte keine Sicherheitsbedenken, und das Data Safety Monitoring Committee empfahl die Fortführung der Studie gemäß Protokoll.

Der Bezug zu M371 liegt im Rahmen der translationalen Substudie: Tumorgewebe- und Blutproben werden bei allen einwilligenden Patienten zu Baseline gesammelt, einschließlich serieller miRNA-Messungen. Damit wird das Ziel verfolgt, Zusammenhänge zwischen Biomarkern und klinischen Endpunkten zu untersuchen.

P3BEP ergänzt damit die Studien SWOG S1823, ANZUP1906 (CLIMATE) und AGCT1531 als Teil des internationalen Studienprogramms zur prospektiven Validierung von miR-371a-3p. Dabei fokussiert sie jedoch auf das fortgeschrittene metastasierte Setting mit schlechtem und intermediärem Risiko und adressiert damit ein klinisches Szenario, das die anderen Studien nicht abdecken [Mak B et al., ASCO GU 2024, TPS524; Lawrence NJ et al., BMC Cancer 2018; NCT02582697].

Fazit und Schlussfolgerungen

Die internationale Studienlage zu miR-371a-3p ist konsistent: Über mehr als 15 Jahre hinweg haben prospektive multizentrische Studien, systematische Reviews und Real-Life-Daten übereinstimmend gezeigt, dass M371 den klassischen Serummarkern AFP, bHCG und LDH in nahezu allen klinischen Szenarien, Primärdiagnose, Staging, Therapiemonitoring und Rezidivdetektion, deutlich überlegen ist.

Mit der IVDR-Zertifizierung seit April 2024, der FDA Breakthrough Device Designation im März 2025 sowie den jüngsten Kongressdaten von SWOG S1823 (ASCO 2026) und CLIMATE (ASCO GU 2026) hat miR-371a.3p einen Reifegrad erreicht, der ihn klar vom experimentellen Biomarker zum klinisch anwendbaren Diagnostikum unterscheidet.

Durch die Kombination aus hoher Sensitivität, universeller Einsetzbarkeit (Seminom, Nichtseminom), kurzer Halbwertszeit, guter Patientenakzeptanz und breiter Evidenzbasis könnte M371 künftig als Leitmarker im gesamten Management von Hodentumoren, von der Erstdiagnose bis zur Langzeitnachsorge, implementiert werden.

Obwohl die Evidenzbasis bereits recht umfangreich ist, werden für eine breite Leitlinienintegration weitere prospektive Studien und gesundheitsökonomische Analysen erwartet. Die Ergebnisse laufender prospektive Studien müssen abgewartet, Daten publiziert und Leitlinienkommissionen Empfehlungen formulieren, ein Prozess, der in der Onkologie erfahrungsgemäß Jahre in Anspruch nimmt.

Bis dahin kann der M371 Test als Selbstzahlerleistung über die DHS angefordert werden. Wir bieten den M371-Test als Labordienstleistung einschließlich ärztlichem-validiertem Befund und GoÄ-basierter Rechnung allen Patienten und urologischen Praxen an. Wir weisen in unseren Befunden die RQ-Werte und Cq/C_T-Werte aus und führen bei Fällen in der Nachsorge mit grenzwertigen Ergebnissen kostenlos Nachmessungen durch.

Referenzen

1. Nazzani, S., et al., *Clinical evaluation of the role of miRNA 371 in small testicular masses. Results of the "S1STeM 371" Trial*. Eur J Cancer, 2025. **223**: p. 115494.
2. Voorhoeve, P.M., et al., *A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors*. Cell, 2006. **124**(6): p. 1169–81.
3. Spiekermann, M., et al., *MicroRNA miR-371a-3p in serum of patients with germ cell tumours: evaluations for establishing a serum biomarker*. Andrology, 2015. **3**(1): p. 78–84.
4. Radtke, A., et al., *The Novel Biomarker of Germ Cell Tumours, Micro-RNA-371a-3p, Has a Very Rapid Decay in Patients with Clinical Stage 1*. Urol Int, 2018. **100**(4): p. 470–475.
5. Leao, R., et al., *Serum miRNA Predicts Viable Disease after Chemotherapy in Patients with Testicular Nonseminoma Germ Cell Tumor*. J Urol, 2018. **200**(1): p. 126–135.
6. Syring, I., et al., *Circulating serum miRNA (miR-367-3p, miR-371a-3p, miR-372-3p and miR-373-3p) as biomarkers in patients with testicular germ cell cancer*. J Urol, 2015. **193**(1): p. 331–7.
7. Dieckmann, K.P., et al., *Serum Levels of MicroRNA miR-371a-3p: A Sensitive and Specific New Biomarker for Germ Cell Tumours*. Eur Urol, 2017. **71**(2): p. 213–220.
8. Dieckmann, K.P., et al., *Serum Levels of MicroRNA-371a-3p (M371 Test) as a New Biomarker of Testicular Germ Cell Tumors: Results of a Prospective Multicentric Study*. J Clin Oncol, 2019. **37**(16): p. 1412–1423.
9. Lobo, J., A.M. Acosta, and G.J. Netto, *Molecular Biomarkers With Potential Clinical Application in Testicular Cancer*. Mod Pathol, 2023. **36**(10): p. 100307.
10. Leao, R., A.E. Ahmad, and R.J. Hamilton, *Testicular Cancer Biomarkers: A Role for Precision Medicine in Testicular Cancer*. Clin Genitourin Cancer, 2019. **17**(1): p. e176–e183.
11. Leao, R., et al., *Circulating MicroRNAs, the Next-Generation Serum Biomarkers in Testicular Germ Cell Tumours: A Systematic Review*. Eur Urol, 2021. **80**(4): p. 456–466.
12. Belge, G., et al., *Biomarker microRNA-371a-3p - expression in malignancies other than germ-cell tumours*. J Cancer Res Clin Oncol, 2025. **151**(2): p. 58.
13. Belge, G., et al., *Serum levels of microRNA-371a-3p are not elevated in testicular tumours of non-germ cell origin*. J Cancer Res Clin Oncol, 2021. **147**(2): p. 435–443.
14. Pycha, S., et al., *Evaluation of the M371-Test Under Real-life Conditions for Diagnosis and Follow Up of Testicular Germ Cell Tumors*. Anticancer Res, 2023. **43**(4): p. 1649–1653.
15. Ye, F., et al., *Analytical Validation and Performance Characteristics of Molecular Serum Biomarkers, miR-371a-3p and miR-372-3p, for Male Germ Cell Tumors, in a Clinical Laboratory Setting*. J Mol Diagn, 2022. **24**(8): p. 867–877.
16. Dieckmann, K.P., et al., *Testicular neoplasms: the interrelationships of serum levels of microRNA-371a-3p (M371) and classical tumor markers with histology, clinical staging, and age—a statistical analysis*. J Cancer Res Clin Oncol, 2023. **149**(10): p. 7079–7090.
17. Dieckmann, K.-P., et al., *Testicular Neoplasms: Primary Tumour Size Is Closely Interrelated with Histology, Clinical Staging, and Tumour Marker Expression Rates—A Comprehensive Statistical Analysis*. Cancers, 2022. **14**(21): p. 5447.
18. Belge, G., et al., *Detection of Recurrence through microRNA-371a-3p Serum Levels in a Follow-up of Stage I Testicular Germ Cell Tumors in the DRKS-00019223 Study*. Clin Cancer Res, 2024. **30**(2): p. 404–412.
19. Dieckmann, K.-P. and G. Belge, *Hodentumor – welche Vorteile bringt der neue Tumormarker microRNA-371a-3p (M371-Test)*. Aktuelle Urol, 2024. **55**(06): p. 510–519.
20. Nappi, L., et al., *Integrated Expression of Circulating miR375 and miR371 to Identify Teratoma and Active Germ Cell Malignancy Components in Malignant Germ Cell Tumors*. Eur Urol, 2021. **79**(1): p. 16–19.
21. Belge, G., et al., *Serum Level of microRNA-375-3p Is Not a Reliable Biomarker of Teratoma*. In Vivo, 2020. **34**(1): p. 163–168.
22. Lafin, J.T., et al., *Serum Small RNA Sequencing and miR-375 Assay Do Not Identify the Presence of Pure Teratoma at Postchemotherapy Retroperitoneal Lymph Node Dissection*. Eur Urol Open Sci, 2021. **26**: p. 83–87.
23. Ozgun, G., et al., *Machine Learning Model Integrating Computed Tomography Image-Derived Radiomics and Circulating miRNAs to Predict Residual Teratoma in Metastatic Nonseminoma Testicular Cancer*. JCO Clin Cancer Inform, 2025. **9**: p. e2500105.
24. Fankhauser, C.D., et al., *Cut-offs for relapse detection in men with stage I testicular germ cell tumors during active surveillance within a prospective multicentre cohort study using either raw or housekeeper normalized miR-371a-3p serum levels*. Urol Oncol, 2024. **42**(12): p. 455 e9–455 e13.
25. Lafin, J.T., et al., *Refining the serum miR-371a-3p test for viable germ cell tumor detection*. Sci Rep, 2023. **13**(1): p. 10558.
26. Sequeira, J.P., et al., *DigiMir Test: Establishing a Novel Pipeline for MiR-371a Quantification Using Droplet Digital PCR in Liquid Biopsies From Testicular Germ Cell Tumor Patients*. Front Oncol, 2022. **12**: p. 876732.