Morphologische und molekulare Pathologie des Lungenkarzinoms

Das Lungenkarzinom ist die dritthäufigste Krebserkrankung bei Männern und Frauen in Deutschland, steht jedoch in der Mortalität jeweils an erster Stelle. Es gehört zu einer der Krebsarten, die eine bessere Prognose des weiblichen Geschlechts aufweisen mit 5-Jahres-Überlebensraten von 18% bzw. 15% [9, 23].

Eine Vielzahl von Untersuchungen der letzten Jahre hat zu einer Neubewertung der molekularen und morphologischen Veränderungen geführt, die im Folgenden kurz dargestellt werden sollen.

Morphologie, Ploidie und chromosomale Veränderungen

Kleinzellige und nichtkleinzellige Karzinome unterscheiden sich nicht nur in der Zellgröße, sondern auch in der Größe ihrer Zellkerne. Diese wiederum hat eine Entsprechung im Chromosomen-

und DNA-Gehalt. Insgesamt kann man beim Lungenkarzinom wie auch weiteren Krebsarten eine bimodale Verteilung der Chromosomenzahlen beobachten mit je einem Gipfel im diploiden und triploiden Bereich (**Abb. 1**). Nichtkleinzellige Karzinome weisen häufig einen nahe-triploiden DNA-Gehalt auf, während dieser beim kleinzelligen Karzinom im hypodiploiden Bereich liegt [8, 17].

Große Zellkerne und Mitosen sind dabei Hinweiszeichen auf einen hyperdiploiden Tumor, der Nachweis tripolarer Mitosen ein morphologischer Indikator für einen nahe-triploiden Chromosomensatz (**Abb. 2 a, b**).

Die biologische Relevanz der Triploidie ist bisher noch unzureichend untersucht. Es gibt Hinweise darauf, dass sie mit einem aggressiveren Verhalten und einer schlechteren Prognose bei Karzinomen vergesellschaftet ist [23]. Auch ist die

Beurteilung des Ploidieniveaus und des Ausmaßes der Aneuploidie anhand von morphologischen Kriterien mit einer erheblichen Unschärfe belastet. Insofern können der Nachweis der oben genannten morphologischen Charakteristika zusammen mit einer starken Variabilität der Kerngrößen und Mitosen zwar als Indizien, jedoch nicht als Beweis für ein aggressives Verhalten und damit ein hochmalignes, „High-grade-Karzinom“ gewertet werden [17].

Lungenkarzinome sind durch charakteristische chromosomale Imbalancen charakterisiert, die sich durch die komparative genomische Hybridisierung (CGH) nachweisen lassen. Die Aberrationsmuster unterscheiden sich zwischen den einzelnen Typen und sind bereits in einem früheren Beitrag zu den DGP-Verhandlungsbänden wie auch in der aktuellen WHO-Klassifikation beschrieben worden [18, 27]. Insbesondere das kleinzellige Karzinom zeigt Veränderungen, die in 80–100% der Fälle zu beobachten sind und vorrangig Deletionen auf den Chromosomenarmen 3p, 4q, 5q, 10q, 13q und 17p betreffen [18, 19, 27]. Die Unterschiede im Ploidieniveau zwischen kleinzelligen und nichtkleinzelligen Karzinomen sind in diesem Zusammenhang bedeutsam.

Da kleinzellige Karzinome in der Regel hypodiploid sind und zudem wenig kontaminierendes Normalgewebe aufweisen, stellen sich die Veränderungen in der CGH-Analyse besonders deutlich dar. Bei dieser Technik werden relative Unterschiede in der Fluoreszenzsignalintensität (Ratiowerte zwischen Tumor-

Abb. 1 ▲ Anzahl der Chromosomen von Lungenkarzinomen auf Basis der Daten der Mitelman-Datenbank für chromosomale Aberrationen in Tumoren. Es zeigt sich eine bimodale Verteilung mit einem Häufigkeitsgipfel im diploiden und einem im triploiden Bereich

Tab. 1 IASLC/ATS/ERS-Klassifikation des Adenokarzinoms der Lunge in Resektaten^a

Präinvasive Läsionen
Atypische adenomatöse Hyperplasie (AAH)
Adenocarcinoma in situ/AIS (ehemaliges „reines“ bronchioloalveoläres Karzinom)
- nichtmuzinös
- muzinös
- gemischt nichtmuzinös/muzinös
Minimal-invasives Adenokarzinom (MIA)
- Prädominant lepidisches (früher bronchioloalveoläres) Adenokarzinom, mit ≤ 5 mm Invasion
- nichtmuzinös
- muzinös
- gemischt nichtmuzinös/muzinös
Invasives Adenokarzinom
- lepidisch prädominant (früher: nichtmuzinöses bronchioloalveoläres Wachstumsmuster, mit >5 mm Invasion)
- azinär prädominant
- papillär prädominant
- mikropapillär prädominant
- solid prädominant
Varianten des invasiven Adenokarzinoms
Muzinöses Adenokarzinom (früher: muzinöses bronchioloalveoläres Karzinom)
Kolloidales Adenokarzinom
Fetales Adenokarzinom (niedrig und hoch maligne)
Enterisches Adenokarzinom

^a Bitte auch die Angaben in der Originalpublikation beachten [28].

und Normalgewebe) detektiert, die anhand vorgegebener Schwellenwerte (z. B. 0,75 und 1,25) als DNA-Verluste oder -Gewinne definiert werden. Bei nur zwei oder weniger Kopien pro Chromosom ist der Nachweis eines Gewinns (Verhältnis 3:2=1,5) oder entsprechend eines Verlusts sehr viel einfacher möglich als bei einem triploiden Tumor (Verhältnis 4:3=1,33) oder einem mit noch höheren Ploidieniveau. Dies ist mit ein Grund für die Tatsache, dass die Häufigkeit der chromosomalen Imbalancen bei nichtkleinzelligen Karzinomen nicht diejenige der kleinzelligen Karzinome erreicht. Insgesamt liegen die Prozentsätze jedoch oberhalb derjenigen, die für spezielle Genmutationen wie *EGFR* und *KRAS* beschrieben wurden [13, 22, 28].

Zusammenfassung · Abstract

Pathologe 2010 · [Suppl 2] 31:204–210 DOI 10.1007/s00292-010-1371-5
© Springer-Verlag 2010

I. Petersen

Morphologische und molekulare Pathologie des Lungenkarzinoms

Zusammenfassung

Das Lungenkarzinom ist die häufigste Krebstodesursache in Deutschland. Es ist durch eine erhebliche morphologische Komplexität gekennzeichnet, die klinischerseits über viele Jahre auf die Unterteilung in kleinzellige (SCLC) und nichtkleinzellige (NSCLC) Karzinome reduziert wurde. Befördert durch die Möglichkeiten einer differenzierteren Tumorthherapie erlebt die Klassifikation des Lungenkarzinoms eine Neubewertung, deren wesentliche Entwicklungen im vorliegenden Artikel erläutert werden. SCLC und NSCLC unterscheiden sich nicht nur in Genexpression und genetischen Veränderungen, sondern auch dem Ploidieniveau: SCLC sind typischerweise hypodiploid, NSCLC häufig hyperdiplo-

id/nahe-triploid. Die immunhistologische Zusatzuntersuchung ist mittlerweile Standard und verwendet vor allem die Marker p63, TTF-1, CK5/6, CK7, CD56/NCAM, Synaptophysin, Chromogranin, Ki-67. Eine neue interdisziplinäre Klassifikation des Adenokarzinoms unterscheidet präinvasive, minimal-invasive und invasive Läsionen. Sie verleiht den prädominanten histologischen Wachstumsmustern neues Gewicht und gibt Hinweise auf molekulargenetischen Alterationen wie z. B. *EGFR*-Mutationen.

Schlüsselwörter

Lungenkrebs · Klassifikation · Aneuploidie · *EGFR* · *KRAS*

Morphological and molecular pathology of lung cancer

Abstract

Lung carcinoma is the most frequent cause of cancer death in Germany. It is characterized by a considerable morphological complexity that has been reduced by clinicians to the distinction between small cell (SCLC) and non-small cell carcinoma (NSCLC). Underpinned by the possibilities of more differentiated tumor therapy, the classification of lung cancer has undergone a re-evaluation, some essential developments of which are summarized in this article. SCLC and NSCLC do not only differ in gene expression and genetic alterations but also in the ploidy level: SCLC is typically hypodiploid, NSCLC often hyperdiploid/near-triploid. Immunohistochemical

analysis is meanwhile standard and includes in particular the markers p63, TTF-1, CK5/6, CK7, CD56/NCAM, synaptophysin, chromogranin and Ki67. A new interdisciplinary classification of adenocarcinoma differentiates between preinvasive, minimally invasive and invasive lesions. Lending new weight to the predominantly histological growth patterns it includes information on molecular genetic alterations such as *EGFR* mutations.

Keywords

Lung cancer · Classification · Aneuploidy · *EGFR* gene · *KRAS* gene

Abb. 2 ▲ DNA-Histogramme eines typischen hypodiploiden kleinzelligen Karzinoms (a) und eines nahe-triploiden nichtkleinzelligen Karzinoms (b). Der Nachweis von triploiden Mitosen ist mit einem triploiden Gipfel in der DNA-Verteilung assoziiert

Für die chromosomale Stabilität spielt der *CHK2-BRCA1*-Signalweg eine wichtige Rolle. Er hat Tumorsuppressoreigenschaften und scheint beim Lungenkarzinom häufig beeinträchtigt zu sein [25].

Lange Zeit hat man angenommen, dass charakteristische chromosomale Translokationen, die bei bestimmten Weichgewebstumoren und hämatopoetischen Neoplasien so häufig sind, dass sie die Entität quasi definieren, beim Lungenkarzinom nicht vorkommen [24]. Durch den Nachweis der *EML4-ALK*-Translokation, die mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) und „Reverse-Transkriptase-Polymerase-Ketten-Reaktion“ (RT-PCR) nachgewiesen werden kann, musste diese Ansicht revidiert werden. Die Veränderung ist insgesamt sehr selten und betrifft etwa 3% aller nichtkleinzelligen Lungenkarzinome. Sie kommt vor allem in azinären und soliden Adenokarzinomen mit siegelringzelliger Differenzierung und negativem *EGFR*-Mutationsstatus vor [16, 21].

In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, dass das siegelringzellige und das klarzellige Adenokarzinom als eigene Entitäten aus der neuen interdisziplinären Klassifikation der Adenokarzinome (■ **Tab. 1**) der Lunge gestrichen wurden, da man der Meinung war, dass klarzellige zytologische Veränderungen auch bei anderen nichtkleinzelligen Karzinomen zu beobachten sind und sich daraus keine eigene Differenzierungsrichtung und Entität ableiten ließen [28]. Nichtsdestoweniger wird empfohlen, diese morphologischen Charakteristika im Befund zu vermerken (■ **Tab. 2**). Dies ist insbesondere in Anbetracht der potenziellen Assoziation mit der *EML4-ALK*-Translo-

kation geboten, zumal sich aus dem Nachweis der Translokation die Möglichkeit einer erfolgreichen zielgerichteten Tumorthherapie ergibt [28].

Globale Genexpression und epigenetische Marker

Über genomweite Genexpressionsprofile konnten die morphologisch definierten Entitäten des Lungenkarzinoms rekapituliert und verfeinert werden [28]. Sie haben darüber hinaus zu einer Subtypisierung des Adenokarzinoms geführt [3, 4, 12, 13]. Im Rahmen der Cluster-Analysen wurden nicht nur Tumorsubgruppen, sondern auch Genklassen und einzelne Gene identifiziert, die für die jeweiligen Tumorguppen besonders charakteristisch sind. Einzelne dieser Gene werden mittlerweile als Biomarker in der Tumorklassifikation eingesetzt. Auch konnte eine prognostische Relevanz der Gensignaturen nachgewiesen werden [4]. Die genomweite Genexpression beim Lungenkarzinom ist jedoch weiterhin ein Instrument der Forschung, sie wird lediglich im Rahmen von Studien eingesetzt und hat für die Routinediagnostik ähnlich wie die CGH zurzeit keine Relevanz.

Nichtsdestoweniger ist der Pathologe aufgefordert, eine genauere Subtypisierung des Lungenkarzinoms anhand von morphologischen und molekularen Markern durchzuführen. Die lange in der Klinik und auch in der Pathologie gebräuchliche Einteilung in kleinzellige und nichtkleinzellige Karzinome ist nicht mehr ausreichend, da sich aus dem Subtyp mittlerweile unterschiedliche Behandlungsstrategien ableiten.

Die Immunhistologie ist dabei das entscheidende Werkzeug in der Alltagsdiagnostik.

In der in diesem Jahr publizierten S3-Leitlinie des Lungenkarzinoms wird dabei je nach Fragestellung der Einsatz einer ganzen Reihe von Markern empfohlen [7]:

- Kleinzelliges Karzinom und neuroendokrine Tumoren: Chromogranin, Synaptophysin, NCAM+, Ki-67, Keratin, EMA, TTF-1.
- Plattenepithelkarzinom: CK5/6 und/oder p63 und/oder hochmolekulare Zytokeratine, TTF-1 (als Negativmarker).
- Adenokarzinom der Lunge: TTF-1, CK7 sowie CK20, CDX2 und Thyroglobulin als Negativmarker.

Damit ist mittlerweile akzeptiert, dass für die Subtypisierung des Lungenkarzinoms eine molekulare Zusatzuntersuchung notwendig ist. Die alleinige Klassifikation anhand der Morphologie sollte nur noch bei wirklich eindeutigen Fällen (Verhornung und/oder Interzellularbrücken beim Plattenepithelkarzinom, typische Wuchsbilder oder intrazytoplasmatische Schleimansammlung beim Adenokarzinom) erfolgen. Denn es hat sich im Rahmen der Nachuntersuchung *EGFR*-mutierter nichtkleinzelliger Karzinome gezeigt, dass Einzelfälle, die anhand der HE-Morphologie ursprünglich als Plattenepithelkarzinom eingestuft wurden, in Wirklichkeit Adenokarzinome waren bzw. zumindest eine adenoide Mischdifferenzierung aufwiesen (■ **Abb. 3**).

Die Wertigkeit und Gewichtung der obigen Antigene bedürfen jedoch z. T. noch einer Evaluation. Dabei zeichnet sich ab, dass den Transkriptionsfaktoren (TTF-1, p63) eine gewisse Vorrangstellung gegenüber den Zytokeratinen (CK5/6, CK7) in der Unterscheidung zwischen einem Plattenepithelkarzinom (p63+, CK5/6+) und einem Adenokarzinom (TTF-1+, CK7+) einzuräumen ist.

Für das nicht-neuroendokrine großzellige Karzinom (Non-LCNEC) existieren zurzeit keine verlässlichen positiven Marker. Jedoch konnte gezeigt werden, dass es in diesem Tumortyp zu einem Verlust der E-Cadherin-Expression kommt, was als Hinweis auf eine epithelial-mesen-

Abb. 3 ► Histomorphologie und *EGFR*-Sequenzanalyse des Tumors einer 70-jährigen Frau. Er war anhand der HE-Morphologie zunächst als wenig differenziertes Plattenepithelkarzinom eingestuft worden. Die Reevaluation nach positivem *EGFR*-Mutationsnachweis mittels bidirektionaler Sequenzierung (Exon 21, Thymidin wird ersetzt durch Guanin entsprechend eines Austauschs der Aminosäure Leucin durch Arginin, so genannte L858R-Mutation) zeigte herdförmig eine glanduläre Differenzierung sowie mikrofokal PAS-positive, Diastase-resistente intrazytoplasmatische Schleimansammlungen. Es lag somit ein Adenokarzinom vor, wie es typischerweise bei positiver *EGFR*-Mutation der Fall ist

chymale Transition (EMT) gewertet werden kann [2, 4]. Interessanterweise ist aus eigener Erfahrung das großzellige Karzinom der Tumortyp, in dem relativ häufig das Intermediärfilament Vimentin exprimiert wird, was das Vorliegen einer EMT stützen würde. Der Nachweis einer Vimentin-Expression sollte insofern keinesfalls als ein verlässlicher Marker für das Nichtvorhandensein eines Lungenkarzinoms gewertet werden.

Letztlich ist zu berücksichtigen, dass es sich bei all diesen Antigenen um epigenetische Marker handelt, die in ihrer Expression einer gewissen Variabilität unterworfen sind.

Linienpezifische Onkogene und „oncogene addiction“

Ähnlich wie p63 beim Plattenepithelkarzinom und TTF-1 beim Adenokarzinom spielt der Transkriptionsfaktor ASH1 beim kleinzelligen Lungenkarzinom eine entscheidende Rolle [14], er wird jedoch zurzeit nicht in der Routinediagnostik eingesetzt.

Es handelt es sich bei TTF-1 und ASH1 nicht nur um Transkriptionsfaktoren, die für die Differenzierungsrichtung der entsprechenden Lungenzellen verantwortlich sind (terminale respiratorische Einheit/TRU bei TTF-1 bzw. neuroendokrine Zellen bei ASH1), sondern auch um so genannte linienpezifische Onkogene [10, 14, 26, 30].

Das Konzept der linienpezifischen Onkogene ist relativ neu und wurde erstmals beim Melanom in Bezug auf den Mikroophthalmie-Transkriptionsfaktor (MITF) aufgestellt. Es besagt, dass die jeweiligen Gene zumindest in einer Subpopulation der Tumoren in der jeweiligen Tumorentität tumorfördernde Effekte ausüben [5].

TTF-1 ist beispielsweise in einer Subgruppe der Adenokarzinome amplifiziert und überexprimiert. Inhibitiert man in entsprechenden Zelllinien die *TTF-1*-Expression mittels inhibierender RNA (siRNA), kommt es zur Wachstumshemmung [10, 26, 30]. Die Situation bei *TTF-1* ist insgesamt komplex und noch nicht vollständig verstanden. Denn andererseits wird *TTF-1* von einem Teil der Adenokar-

Tab. 2 IASLC/ATS/ERS-Klassifikation für kleine Biopsien und Zytologien (Vorschlag)^a

2004 WHO-Klassifikation	Kleine Biopsien/Zytologien: IASLC/ATS/ERS
Adenokarzinom (ADC) gemischter Subtyp - azinär - papillär - solid	<i>Morphologisches ADC-Wachstumsmuster vorhanden:</i> ADC, beschreibe die jeweiligen Wachstumsmuster
Keine 2004 WHO-Entsprechung – die meisten Tumoren werden soliden ADC entsprechen	<i>Morphologische Wachstumsmuster nicht vorhanden (unterstützt durch Spezialfärbungen):</i> NSCLC, präferenziell ADC
Bronchioloalveoläres Karzinom (nichtmucinös)	Adenokarzinom mit lepidischem Wachstumsmuster (falls rein, Hinweis hinzufügen: Ein invasives Wachstum kann nicht ausge- schlossen werden)
Bronchioloalveoläres Karzinom (mucinös)	Mucinöses ADC (Wachstumsmuster beschreiben)
- fetal	ADC mit fetalem Wachstumsmuster
- mucinös (kolloid)	ADC mit kolloidalem Wachstumsmuster
- Siegelring	ADC mit (Wachstumsmuster beschreiben) und Siegelringmerk- malen
- Klarzell	ADC mit (Wachstumsmuster beschreiben) und klarzelligen Merkmalen
Plattenepithelkarzinom (SCC) - papillär - klarzellig - kleinzellig - basaloid	<i>Morphologische SCC-Muster klar vorhanden:</i> Plattenepithelkar- zinom
Keine 2004 WHO-Entsprechung	<i>Morphologische SCC-Muster nicht vorhanden (unterstützt durch Spezialfärbungen):</i> NSCLC, präferenziell Plattenepithelkarzinom
Kleinzelliges Karzinom	Kleinzelliges Karzinom
Großzelliges Karzinom	NSCLC, „not otherwise specified“ (NOS)
Großzelliges neuroendokrines Karzinom (LCNEC)	NSCLC mit neuroendokriner (NE-) Morphologie (positiven NE- Markern), wahrscheinlich LCNEC
Großzelliges Karzinom mit NE- Morphologie (LCNEM)	NSCLC mit NE-Morphologie (negativen NE-Markern) → Kom- mentar: NSCLC, bei dem ein LCNEC vermutet wird, aber die Fär- bungen eine NE-Differenzierung nicht bestätigen konnten
Adenosquamoses Karzinom (ADC-SCC)	<i>Morphologische ADC- und SCC-Muster vorhanden:</i> NSCLC-NOS mit Kommentar, dass glanduläre und plattenepitheliale Komponen- ten vorhanden sind
Keine 2004 WHO-Entsprechung	<i>Morphologische SCC- oder ADC-Merkmale, aber Färbemuster widersprüchlich (TTF-1 + p63 positiv) bzw. suggestiv, dass das an- dere Wachstumsmuster auch vorhanden ist:</i> NSCLC-NOS mit Kom- mentar, dass es Hinweise auf ADC und SCC in der Immunhisto- chemie gibt, so dass es sich um ein ADC-SCC handeln könnte
Sarkomatoides Karzinom	Wenig differenziertes NSCLC mit Spindel- und/oder riesenzel- ligem Karzinom (es sollte vermerkt werden, wenn ein ADC oder SCC vorhanden ist)

^a Bitte auch die Angaben in der Originalpublikation beachten [28].

zinome nicht (mehr?) exprimiert, dieser Expressionsverlust ist offensichtlich mit einer schlechten Prognose assoziiert [1], was zusammen mit dem Kontext eines Differenzierungsgens eher auf eine Funktion als Tumorsuppressor hindeuten würde. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Adenokarzinomen mit fehlender *TTF-1*-Expression um solche, die nicht vom terminalen respiratorischen Epithel (TRU) ausgehen und damit von vornherein ne-

gativ für diesen Marker sind [26]. Auch ist die Bedeutung und biologische Relevanz der *TTF-1*-Expression beim kleinzelligen Karzinom bisher nicht geklärt.

Ein zweites wichtiges Prinzip in der Tumorbiologie der Lungenkarzinome ist das der „oncogene addiction“, d. h. der Sucht/Abhängigkeit eines Tumors von der Wirkung eines Onkogens. Schaltet man es aus, kommt es zum Stillstand des Wachstums oder sogar zu einer Tumoregres-

sion. Es wurde im Zusammenhang mit den aktivierenden *EGFR*-Mutationen beschrieben [6]. Der Erfolg der zielgerichteten Therapie mit entsprechenden Antagonisten bei nichtkleinzelligen Karzinomen mit Ansprechraten, die deutlich über derjenigen der konventionellen Chemotherapie liegen, ist vermutlich darauf zurückzuführen [6, 28].

Molekulargenetische Marker

EGFR-Mutationen bei nichtkleinzelligen Lungenkarzinomen wurden erstmals im Jahr 2004 beschrieben und als mögliche Ursache eines Ansprechens der Patienten auf eine Therapie mit den entsprechenden kleinstmolekularen Antagonisten erkannt. Bei den mutierten Karzinomen handelt es sich ganz überwiegend um Adenokarzinome. Sie kommen bei Asiaten in bis zu 40% der Fälle insbesondere bei Frauen und Nichtrauchern vor [6, 28]. In Deutschland sind sie vermutlich deutlich seltener und betreffen maximal 15% der nichtkleinzelligen Karzinome [15]. Der Nachweis einer aktivierenden *EGFR*-Mutation ist die Voraussetzung für die Erstlinientherapie mit dem *EGFR*-Inhibitor Gefitinib.

KRAS-Mutationen wurden als eine der ersten Onkogenalterationen beim Lungenkarzinom erstmals 1987 beschrieben [11]. Bei nichtkleinzelligen Karzinomen kommen sie in 10–15% vor, am häufigsten beim Adenokarzinom mit 20–30% [28]. Mittlerweile hat der Nachweis dieser Mutation diagnostische Relevanz, da er mit einer primären Resistenz gegenüber einer Therapie mit kleinstmolekularen *EGFR*-Antagonisten vergesellschaftet ist.

Weitere, seltenere Alterationen im *EGFR*-*KRAS*-Signalweg sind Mutationen im *BRAF*- und *ERBB2*- (*HER2*-) Onkogen. Diese Mutationen sind jeweils gegenseitig exklusiv, d. h. es ist lediglich eines dieser vier Onkogene mutiert, was auch tumorbiologisch Sinn macht, da eine Mutation ausreicht, um den Signalweg zu aktivieren. Des Weiteren wurden Punktmutationen im *PIK3CA* beschrieben, die zusammen mit anderen Alterationen des *EGFR*-*KRAS*-Signalwegs vorkommen können [11].

Amplifikationen werden insbesondere im Bereich der *MYC*-Gene beobachtet. Während *C-MYC*-Amplifikationen so-

wohl bei NSCLC und SCLC vorkommen, scheinen *N-MYC* präferenziell bzw. *L-MYC* exklusiv nur das kleinzellige Karzinom zu betreffen [8]. *MYC* führt indirekt zu einer Aktivierung von Zellzyklusgenen, die im Rahmen einer *CycD1*-Amplifikation auch direkt erfolgen kann [22].

Weitere Amplifikationen wurden beschrieben für *EGFR*, *FGFR* und *TTF-1*. Es gibt Hinweise, dass auch in diesen Fällen das Prinzip der „oncogene addiction“ Gültigkeit hat, sodass der Nachweis dieser Alterationen als prädiktiver Marker in der zielgerichteten Therapie zukünftig diagnostisch relevant werden könnte. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass *MET*-Amplifikationen zu einer erworbenen Resistenz gegenüber EGFR-Tyrosinkinaseinhibitoren führen kann [28].

Die Inaktivierung von Tumorsuppressorgen spielt für die Tumorbilogie der Lungenkarzinome vermutlich eine ebenso wichtige Rolle wie die Aktivierung von Onkogenen, zumindest weist die Häufigkeit der chromosomalen Deletionen in diese Richtung. So ist die 13q-Deletion beim kleinzelligen Karzinom in der Regel mit einer Inaktivierung des Retinoblastomgens vergesellschaftet, sie führt ebenfalls zu einer Aktivierung des Zellzyklus. Das Tumorsuppressorgen *p53* ist beim Lungenkarzinom in etwa 50% der Fälle mutiert. Das *PTEN*-Gen ist ein weiteres Tumorsuppressorgen, das in den *PTEN/AKT/mTOR*-Signalweg eingebunden ist [22].

Dem Mutationsnachweis in Tumorsuppressorgen kommt derzeit noch keine wesentliche diagnostische Relevanz zu, wenn man einmal davon absieht, dass die entsprechenden Genmutationen als Klonalitätsmarker bei Mehrfachkarzinomen genutzt werden können. Dies ist beispielsweise hilfreich, wenn man mittels *p53*-Mutationsanalyse Metastasen einem Primärtumor zuordnen möchte [20]. Der Nachweis von humanen Papilloma-Viren (HPV) samt Typisierung bzw. deren Ausschluss kann ebenfalls bei der Beantwortung der Frage genutzt werden, ob es sich bei einem Plattenepithelkarzinom der Lunge um einen Primarius oder eine Metastase handelt [29].

Neue interdisziplinäre Klassifikation des Adenokarzinoms

Die umfangreichen genomischen Analysen zur Charakterisierung des Lungenkrebses sowie der Nachweis von Genmutationen und molekularen Veränderungen haben in den letzten Jahren zu einer neuen Qualität im Verständnis der Krankheitsmechanismen und der Therapie des Lungenkarzinoms geführt [3, 13]. Insbesondere wurden diese Befunde mit bekannten und neueren radiologischen, histomorphologischen und klinischen Erkenntnissen korreliert. Darauf basierend haben sich die „International Agency for the Study on Lung Cancer“ (IASLC) und die „American Thoracic Society“ (ATS) das Ziel gesetzt, eine neue interdisziplinäre Klassifikation des Adenokarzinoms der Lunge zu entwickeln, die in den letzten beiden Jahren unter Mitwirkung der „European Respiratory Society“ (ERS) entstand [28].

Sie ist in **Tab. 1** dargestellt. Kernpunkte der Klassifikation sind einerseits die Unterscheidung von präinvasiven, minimal-invasiven und invasiven Karzinomen und andererseits die Neubewertung der histologischen Wachstumsmuster.

Die präinvasiven Läsionen (atypische adenomatöse Hyperplasie, Adenocarcinoma in situ/AIS) wie auch das minimal-invasive Adenokarzinom (MIA) haben eine exzellente Prognose. Das Adenocarcinoma in situ entspricht dem ehemaligen reinen bronchioloalveolären Karzinom, welches kein invasives Wachstum aufweist. Der Begriff des bronchioloalveolären Karzinoms hatte in der alten WHO-Klassifikation zur Verwirrung geführt, da er sowohl mit einer definierten Tumorentität (s. oben) als auch dem charakteristischen Wachstumsmuster assoziiert wurde. In der neuen Klassifikation wurde er deshalb fallen gelassen und durch die Begriffe „Adenocarcinoma in situ“ bzw. „lepidisches Tumorstadium“ ersetzt.

Das minimal-invasive Karzinom ist durch einen invasiven Anteil definiert, der unter 5 mm liegt. Es ist in der Regel weniger als 2 cm groß und kann ein charakteristisches Bild in der Computertomographie aufweisen (so genannte „ground glass opacity“/GGO, mit zentraler Konso-

lidierung). Letztlich verlangt die endgültige Diagnose eines minimal-invasiven Adenokarzinoms die vollständige Aufarbeitung des Tumorsektates.

Bei den invasiven Adenokarzinomen werden die Tumoren jetzt nach dem prädominanten Wachstumsmuster klassifiziert, wobei das mikropapilläre Adenokarzinom als eigener Subtyp hinzugekommen ist. Es wird empfohlen, die im Tumor vorhandenen Wachstumsmuster zu dokumentieren und zu quantifizieren und sich letztlich auf den prädominanten Wachstumstyp festzulegen. Dadurch entfällt zukünftig der gemischte Subtyp. Auch diese Unterscheidung hat prognostische Relevanz. Das prädominant lepidische Adenokarzinom hat die beste Prognose entsprechend einem G1-Karzinom, gefolgt von dem prädominant papillären und azinären Subtyp (G2), während das prädominant mikropapilläre und solide Adenokarzinom als G3-Tumoren zu bewerten sind und das schlechteste Überleben aufweisen.

Das Wachstumsmuster kann verlässlich nur durch die histologische Analyse der Tumorsektate beurteilt werden. Die Mehrzahl der Lungenkarzinome wird jedoch an kleinen Biopsien oder zytologischen Proben diagnostiziert. Die Klassifikation geht erstmals auf diese Problematik ein und gibt Empfehlungen zur Terminologie (**Tab. 2**) wie auch der Verwendung des limitierten Materials. Vereinfacht lässt sich sagen, dass anhand einer Biopsie und/oder Zytologie nicht mehr nur eine Unterscheidung zwischen einem kleinzelligen und nichtkleinzelligen Karzinom erfolgen sollte, sondern möglichst auch eine Festlegung auf ein Adenokarzinom oder Plattenepithelkarzinom. Ist das auch unter Einsatz molekularer Marker nicht möglich, ist die Verwendung der Diagnose eines nicht näher spezifizierbaren nichtkleinzelligen Karzinoms (NSCLC-NOS) weiter zulässig.

Die Klassifikation definiert nicht nur histomorphologische Subtypen mit distinkter Prognose, sondern gibt auch Hinweise auf mögliche Korrelationen zwischen morphologischen Wachstumstypen, genetischen Defekten und einer zielgerichteten Therapie. Auf diese kann hier im Detail nicht eingegangen werden,

insgesamt ist die Lektüre der Originalarbeit zu empfehlen [28].

Fazit für die Praxis

Die Pathologie des Lungenkarzinoms erfährt zurzeit eine Neubewertung, die zu einer neuen interdisziplinären Klassifikation des Adenokarzinoms geführt hat. Für die Praxis ergeben sich folgende Hinweise:

- Das kleinzellige und nichtkleinzellige Karzinom unterscheiden sich in Genexpression, genetischem Aberrationsmuster und Ploidieniveau: SCLC sind typischerweise hypodiploid, NSCLC häufig hyperdiploid bzw. nahe-triploid. Der Nachweis tripolarer Mitosen ist mit einer Triploidie assoziiert.
- Die Subtypisierung verlangt in der Regel Zusatzfärbungen wie PAS-D, p63, TTF-1, CK5/6, CK7, CD56/NCAM, Synaptophysin, Chromogranin, Ki-67.
- Molekulargenetische oder zytogenetische Untersuchungen ergänzen als prädiagnostische Marker für die zielgerichtete Therapie die konventionelle Diagnostik (*EGFR*, *KRAS*, *EML4-ALK*).
- Die neue interdisziplinäre Klassifikation des Adenokarzinoms unterscheidet präinvasive, minimal-invasive und invasive Läsionen und berücksichtigt den prädominanten histologischen Wachstumstyp.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. I. Petersen

Institut für Pathologie,
Universitätsklinikum Jena
Ziegelmühlenweg 1,
07743 Jena
iver.petersen@med.uni-jena.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist auf folgende Beziehungen hin: Er hat als Vortragender bei Fortbildungsveranstaltungen und Expertentreffen Honorare der Firmen Lilly, Roche, AstraZeneca, Novartis und Menarini angenommen. Darüber hinaus war er beratend für die Firmen Lilly und Böhrling Ingelheim tätig.

Literatur

1. Barlesi F, Pinot D, LeGoffic A et al (2005) Positive thyroid transcription factor 1 strongly correlates with survival of patients with adenocarcinoma of the lung. *Br J Cancer* 93:450–452
2. Barr S, Thomson S, Buck E et al (2008) Bypassing cellular EGF receptor dependence through epithelial-to-mesenchymal-like transitions. *Clin Exp Metastasis* 23:685–693
3. Director's Challenge Consortium for the Molecular Classification of Lung Adenocarcinoma, Shedden K, Taylor JM et al (2008) Gene expression-based survival prediction in lung adenocarcinoma: a multi-site, blinded validation study. *Nat Med* 14:822–827
4. Garber ME, Troyanskaya OG, Schluens K et al (2001) Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:13784–13789
5. Garraway LA, Sellers WR (2006) Lineage dependency and lineage-survival oncogenes in human cancer. *Nat Rev Cancer* 6:593–602
6. Gazdar AF (2009) Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 28:524–531
7. Goeckenjan G, Sitter H, Thomas M et al (2010) Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. Interdisziplinäre S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Krebsgesellschaft. *Pneumologie* 64 (Suppl 2):e1–e164
8. Junker K, Petersen I (2008) Kleinzelliges Lungenkarzinom: Pathologie und Molekularpathologie. *Onkologie* 14:762–773
9. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland (GEKID) e.V. (Hrsg) (2010) Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends, 7. überarb. Aufl. Berlin. <http://www.gekid.de>
10. Kwei KA, Kim YH, Girard L et al (2008) Genomic profiling identifies TTF1 as a lineage-specific oncogene amplified in lung cancer. *Oncogene* 27:3635–3640
11. Ladanyi M, Pao W (2008) Lung adenocarcinoma: guiding EGFR-targeted therapy and beyond. *Mod Pathol* 21:516–522
12. Meyerson M, Franklin WA, Kelley MJ (2004) Molecular classification and molecular genetics of human lung cancers. *Semin Oncol* 31 (Suppl 1):4–19
13. Motoi N, Szoke J, Riely GJ et al (2008) Lung adenocarcinoma: modification of the 2004 WHO mixed subtype to include the major histologic subtype suggests correlations between papillary and micropapillary adenocarcinoma subtypes, EGFR mutations and gene expression analysis. *Am J Surg Pathol* 32:810–827
14. Osada H, Tomida S, Yatabe Y et al (2008) Roles of achaete-scute homologue 1 in DKK1 and E-cadherin repression and neuroendocrine differentiation in lung cancer. *Cancer Res* 68:1647–1655
15. Penzel R, Sers C, Chen Y et al (2010) EGFR mutation detection in NSCLC – assessment of diagnostic application and recommendations of the german panel for mutation testing in NSCLC. (Manuskript eingereicht)
16. Perner S, Wagner PL, Demicheli F et al (2008) EML4-ALK fusion lung cancer: a rare acquired event. *Neoplasia* 10:298–302
17. Petersen I, Kotb WF, Friedrich KH et al (2009) Core classification of lung cancer: correlating nuclear size and mitoses with ploidy and clinicopathological parameters. *Lung Cancer* 65:312–318
18. Petersen I (1999) Rudolf-Virchow Preis 1999. Genetik von Karzinomen des Respirationstraktes: Korrelation Genotyp – Phänotyp. *Verh Dtsch Ges Pathol* 83:195–204
19. Petersen I, Langreck H, Wolf G et al (1997) Small-cell lung cancer is characterized by a high incidence of deletions on chromosomes 3p, 4q, 5q, 10q, 13q and 17p. *Br J Cancer* 75:79–86
20. Reichel MB, Ohgaki H, Petersen I, Kleihues P (1994) p53 mutations in primary human lung tumors and their metastases. *Mol Carcinog* 9:105–109
21. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S et al (2009) Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the Western population. *Clin Cancer Res* 15:5216–5223
22. Sato M, Shames DS, Gazdar AF, Minna JD (2007) A translational view of the molecular pathogenesis of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2:327–343
23. Schulze S, Petersen I (2010) Gender and ploidy in cancer survival. *Cell Oncol* (in press)
24. Speicher MR, Petersen S, Uhrig S et al (2000) Analysis of chromosomal alterations in non-small cell lung cancer by multiplex-FISH, comparative genomic hybridization, and multicolor bar coding. *Lab Invest* 80:1031–1041
25. Stolz A, Ertch N, Kienitz A et al (2010) The CHK2–BRCA1 tumour suppressor pathway ensures chromosomal stability in human somatic cells. *Nat Cell Biol* 12:492–499
26. Tanaka H, Yanagisawa K, Shinjo K et al (2007) Lineage-specific dependency of lung adenocarcinomas on the lung development regulator TTF-1. *Cancer Res* 67:6007–6011
27. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermeling K, Harris CC (Hrsg) (2004) Tumours of the lung, pleura, thymus and heart – Pathology and genetics. IARC, Lyon
28. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M et al (2010) IASLC/ATS/ERS international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* (im Druck)
29. Weichert W, Schewe C, Denkert C et al (2009) Molecular HPV typing as a diagnostic tool to discriminate primary from metastatic squamous cell carcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol* 33:513–520
30. Weir BA, Woo MS, Getz G et al (2007) Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma. *Nature* 450:893–898