

Aus dem Institut für Pathologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss klinischer und histomorphologischer Parameter  
auf den Lymphknotenstatus beim nicht-kleinzelligen  
Lungenkarzinom

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Thilo Graumann  
aus Iserlohn

Datum der Promotion: 17.09.2021

# Inhaltsverzeichnis

<b>Tabellen- und Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>9</b>
<b>Abstrakt .....</b>	<b>10</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>12</b>
<b>1. Einleitung .....</b>	<b>14</b>
1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren .....	14
1.2 Einteilung der Lungentumoren .....	15
1.3 Ausbreitung und Metastasierung.....	15
1.4 TNM-Klassifikation .....	15
1.5 Stadieneinteilung und Therapieoptionen.....	16
1.6 Histomorphologie der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome .....	19
1.6.1 Adenokarzinome.....	19
1.6.2 Plattenepithelkarzinome .....	20
1.6.3 Histomorphologische Parameter .....	23
1.6.4 Differenzierungsgrad - „Grading“ .....	25
1.7 Zielsetzung und Fragestellungen .....	27
<b>2. Material und Methodik.....</b>	<b>29</b>
2.1 Patientenkohorte .....	29
2.2 Klinische Auswertung.....	29
2.3 Histomorphologische Auswertung.....	29
2.3.1 Prädominante Wachstumsmuster.....	30
2.3.2 Lymph- und Blutgefäßinvasion .....	30
2.3.3 Mitosenanzahl .....	30
2.3.4 Tumornekrosen .....	30
2.3.5 Tumor Budding.....	30
2.3.6 Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs).....	30
2.3.7 Zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC) .....	31
2.4 Statistische Analyse .....	31
2.4.1 Univariate Analyse.....	32
2.4.1.1 Klinische und histomorphologische Parameter .....	32
2.4.1.2 Berechnung des PLYNOM-Scores .....	33

2.4.1.3 Relatives Risiko .....	34
2.4.2 Multivariate Analyse .....	35
2.5. Repräsentative Beispiele .....	36
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>39</b>
3.1 Patientenkohorte .....	39
3.2 Univariate Analyse .....	39
3.2.1 Klinische Parameter .....	39
3.2.1.1 Tumorgröße .....	39
3.2.1.2 Patientengeschlecht.....	43
3.2.1.3 Patientenalter .....	44
3.2.2 Histomorphologische Parameter .....	46
3.2.2.1 Prädominante Wachstumsmuster .....	46
3.2.2.2 Lymphgefäßinvasion .....	48
3.2.2.3 Blutgefäßinvasion .....	50
3.2.2.4 Mitosenanzahl .....	52
3.2.2.5 Tumornekrosen.....	54
3.2.2.6 Tumor Budding .....	56
3.2.2.7 Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs) .....	57
3.2.2.7.1 Zentraler Tumorbereich (TILs-CT).....	57
3.2.2.7.2 Invasiver Tumorrandbereich (TILs-IM) .....	60
3.2.2.8 Zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC) .....	63
3.2.2.8.1 Zentraler Tumorbereich (CLCC-CT) .....	63
3.2.2.8.2 Invasiver Tumorrandbereich (CLCC-IM).....	65
3.2.3 PLYNOM-Score.....	67
3.2.4 Relatives Risiko .....	70
3.2.4.1 Gesamtkohorte .....	70
3.2.4.2 Untergruppe der Adenokarzinome .....	71
3.2.4.3 Untergruppe der Plattenepithelkarzinome .....	72
3.3 Multivariate Analyse .....	74
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>76</b>
4.1 Klinische Parameter .....	76
4.1.1 Tumorgröße.....	76
4.1.2 Patientengeschlecht und -alter .....	79

4.2 Histomorphologische Parameter .....	81
4.2.1 Prädominante Wachstumsmuster.....	81
4.2.2 Lymph- und Blutgefäßinvasion .....	85
4.2.3 Mitosenanzahl .....	87
4.2.4 Tumornekrosen .....	89
4.2.5 Tumor Budding.....	90
4.2.6 Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs) und zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC) .....	91
4.2.7 PLYNOM-Score.....	97
4.3 Schlussfolgerungen.....	98
<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>103</b>
<b>Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>113</b>
<b>Lebenslauf.....</b>	<b>114</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>117</b>

## Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

<b>Tabelle</b>		<b>Seite</b>
Tabelle 1	Die Einteilung bösartiger Lungentumoren anhand der achten Auflage der „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“, basierend auf IASLC/ UICC.	18
Tabelle 2	Die Stadieneinteilung der NSCLC gemäß IASLC/ UICC, basierend auf der achten Auflage der „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“.	19
Tabelle 3	Die histologischen Wachstumsmuster des invasiven Adenokarzinoms der Lunge.	22
Tabelle 4	Die histologischen Wachstumsmuster des invasiven Plattenepithelkarzinoms der Lunge.	23
Tabelle 5	Die Beurteilung der TILs anhand der Ausprägung ihres Infiltrats.	31
Tabelle 6	Die Berechnung des PLYNOM-Scores, maximale Punktzahl: 4 Punkte.	34
Tabelle 7	Korrelation zwischen der Tumorgroße und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	41
Tabelle 8	Korrelation zwischen dem Patientengeschlecht und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	43
Tabelle 9	Korrelation zwischen dem Patientenalter und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	45
Tabelle 10	Korrelation zwischen den prädominanten Wachstumsmustern der Adeno- und der Plattenepithelkarzinome und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	47
Tabelle 11	Korrelation zwischen der Lymphgefäßinvasion und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	49
Tabelle 12	Korrelation zwischen der Blutgefäßinvasion und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	51
Tabelle 13	Korrelation zwischen der Mitosenanzahl und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	53
Tabelle 14	Korrelation zwischen Tumornekrosen und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	55

Tabelle 15	Korrelation zwischen Tumor Budding und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	56
Tabelle 16	Korrelation zwischen TILs-CT und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	58
Tabelle 17	Korrelation zwischen TILs-IM und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	61
Tabelle 18	Korrelation zwischen CLCC-CT und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	64
Tabelle 19	Die Korrelation zwischen CLCC-IM und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	66
Tabelle 20	Korrelation zwischen dem PLYNOM-Score und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).	68
Tabelle 21	Relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) für die Gesamtkohorte der NSCLC.	71
Tabelle 22	Relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) für die Untergruppe der ADC.	72
Tabelle 23	Relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) für die Untergruppe der SCC.	73
Tabelle 24	Die Ergebnisse der multivariaten Analyse.	75

<b>Abbildung</b>		<b>Seite</b>
Abbildung 1	HE-Färbung; Maßeinheiten 1mm (A) und 100µm (B). Adenokarzinom; prädominant azinäres Wachstumsmuster; Mitosenanzahl: 3/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; kein Tumor Budding; TILs-CT intermediär (>30-60%); TILs-IM hoch (>60%); CLCC-CT-; CLCC-IM+. TNM: pT1b pN0 cM0; pL0; pV0; Stadium IA2; Tumorgöße: 15mm; Geschlecht: männlich; Patientenalter: 73 Jahre. PLYNOM-Score: 3 Punkte = Kategorie PLYNOM-III.	36
Abbildung 2	HE-Färbung; Maßeinheiten 500µm (A), 100µm (B) und 50µm (C). Adenokarzinom; prädominant azinäres Wachstumsmuster; Mitosenanzahl: 2/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; kein Tumor Budding; TILs-CT hoch (>60%); TILs-IM hoch (>60%); CLCC-CT+; CLCC-IM+. TNM: pT1c pN0 cM0; pL0; pV1; Stadium IA3; Tumorgöße: 30mm; Geschlecht: weiblich; Patientenalter: 68 Jahre. PLYNOM-Score: 4 Punkte = Kategorie PLYNOM-III.	37

Abbildung 3	HE-Färbung; Maßeinheit 200µm. Plattenepithelkarzinom mit prädominant nicht-verhornendem Wachstumsmuster; Mitosenanzahl 28/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; Tumor Budding (TB+); TILs-CT intermediär (>30%-60%); TILs-IM gering (10-30%); CLCC-CT-; CLCC-IM-. TNM: pT3 pN1 cM0; pL1; pV0; Stadium IIIA; Tumorgröße: 51mm; Geschlecht: weiblich; Patientenalter: 75 Jahre. PLYNOM-Score: 1 Punkt = Kategorie PLYNOM-II.	38
Abbildung 4	HE-Färbung; Maßeinheit 500µm. Plattenepithelkarzinom mit prädominant nicht-verhornendem Wachstumsmuster; Mitosenanzahl 12/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; kein Tumor Budding; TILs-CT intermediär (>30%-60%); TILs-IM hoch (>60%); CLCC-CT+; CLCC-IM+. TNM: pT2a pN0 cM0; pL0; pV0; Stadium IB; Tumorgröße: 25mm; Geschlecht: männlich; Patientenalter: 70 Jahre. PLYNOM-Score: 4 Punkte = Kategorie PLYNOM-III.	38
Abbildung 5	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Tumorgröße und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	42
Abbildung 6	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Patientengeschlecht und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	44
Abbildung 7	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Patientenalter und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	46
Abbildung 8	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen den prädominanten Wachstumsmustern der ADC (A) und der SCC (B) und dem Lymphknotenstatus.	48
Abbildung 9	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Lymphgefäßinvasion und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	50
Abbildung 10	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Blutgefäßinvasion und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	52
Abbildung 11	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Mitosenanzahl und Lymphknotenstatus für die gesamte	54

	NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	
Abbildung 12	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Tumornekrosen und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	55
Abbildung 13	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Tumor Budding und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	57
Abbildung 14	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen TILs-CT und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	59
Abbildung 15	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen TILs-IM und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	62
Abbildung 16	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen CLCC-CT und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	64
Abbildung 17	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen CLCC-IM und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	66
Abbildung 18	Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen PLYNOM-Score und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).	69



## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	English	Deutsch
ADC	adenocarcinoma	Adenokarzinom
ALK	anaplastic lymphoma kinase	anaplastische Lymphomkinase
CK	cytokeratin	Zytokeratin
CLCC	circular lymphocytic cell clusters	zirkuläre lymphozytäre Zellcluster
CT	central tumor	zentraler Tumorbereich
EGFR	epidermal growth factor receptor	Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor
G	grading	Differenzierungsgrad
HE	hematoxylin and eosin	Hämatoxylin-Eosin
HPF	high-power field	Hauptgesichtsfeld
HR	Hazard Ratio	Hazard Ratio
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer	„International Association for the Study of Lung Cancer“
IHC	immunohistochemistry	Immunhistochemie
IM	invasive margin	invasiver Tumorrandbereich
L	lymph vessel invasion	Lymphgefäßinvasion
LCNEC	large cell neuroendocrine carcinoma	großzelliges neuroendokrines Karzinom
LNM	lymphnodular metastasis	Lymphknotenmetastasierung
LPF	low-power field	Übersichtsvergrößerung
MIA	minimally invasive adenocarcinoma	minimal invasives Adenokarzinom
MZ	mitotic count	Mitosenanzahl
NSCLC	non-small-cell lung carcinoma	nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
OR	Odds Ratio	Chancenverhältnis
OS	overall survival	Gesamtüberleben
PD-L1	programmed death-ligand 1	„Programmed death-ligand 1“
PDW	predominant growth pattern	prädominantes Wachstumsmuster
PLYNOM	probability of lymphonodular metastasis	Wahrscheinlichkeit der Lymphknotenmetastasierung
POCT	postoperative chemotherapy	postoperative Chemotherapie
PORT	postoperative radiotherapy	postoperative Radiotherapie
RR	relative risk	relatives Risiko
$r_s$	Spearman's rank correlation coefficient	Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient
SCC	squamos cell carcinoma	Plattenepithelkarzinom
SCLC	small cell lung cancer	kleinzelliges Lungenkarzinom
STAS	spread through air spaces	Ausbreitung durch Luftwege
TB	tumor budding	Tumor Budding
TILs	tumor-infiltrating lymphocytes	Tumor-infiltrierende Lymphozyten
TN	tumor necrosis	Tumornekrosen
TTF1	Thyroid transcription factor-1	Thyroidaler Transkriptionsfaktor 1
UICC	Union for International Cancer Control	„Union for International Cancer Control“
V	blood vessel invasion	Blutgefäßinvasion
WHO	World Health Organization	Weltgesundheitsorganisation

## **Abstrakt**

### Einleitung:

Die Lymphknotenmetastasierung (LNM) ist einer der zuverlässigsten Prädiktoren der Patientenprognose beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC). Zum Einfluss klinischer und histomorphologischer Parameter auf den Nodalstatus liegt in der Literatur jedoch eine heterogene Datenlage vor. Viele Studien unterscheiden sich in Bezug auf die analysierten Kriterien und die methodische Herangehensweise, fokussierten sich auf Überlebenszeitanalysen oder untersuchten Patientenkohorten, die lediglich einzelne Erkrankungsstadien oder bestimmte Tumorentitäten beinhalteten.

### Material und Methoden:

Die vorliegende Arbeit umfasst eine Patientenkohorte mit NSCLC aller Erkrankungsstadien (I-IV) entsprechend der aktuellen achten „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“ und beinhaltet sowohl Adeno- (ADC), als auch Plattenepithelkarzinome (SCC). Neben den klinischen Parametern Tumorgröße, Patientengeschlecht und Patientenalter wurden anhand der konventionellen Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) folgende histomorphologische Parameter beurteilt: prädominantes Wachstumsmuster (PDW), Lymphgefäßinvasion (pL), Blutgefäßinvasion (pV), Mitosenanzahl (MZ), Tumornekrosen (TN), Tumor Budding (TB) und Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs). Zudem wurden zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC) beschrieben, die sich morphologisch in Form nodulärer oder folliculärer lymphozytärer Aggregate präsentieren können. TILs und CLCC wurden im zentralen Tumorbereich (CT) und im invasiven Tumorrandbereich (IM) erfasst. In diesem Zusammenhang wurde ein neues Klassifikationssystem, der PLYNOM-Score („probability of lymphonodular metastasis“), erarbeitet. Dieser enthält die lymphozytären Einzelparameter (TILs-CT, TILs-IM, CLCC-CT, CLCC-IM) und umfasst drei Kategorien (PLYNOM I-III) entsprechend der Ausprägung des lymphozytären Infiltrats. Die univariate Analyse beinhaltete eine Korrelation der untersuchten Parameter mit dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) sowie die Berechnung des relativen Risikos (RR) einer lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0). Zudem erfolgte eine multivariate Analyse mittels binärer logistischer Regression.

### Ergebnisse:

Lymph- (RR=28,318) und Blutgefäßinvasion (RR=1,995) sowie Tumorgröße (RR=1,851) und Mitosenanzahl (RR=1,711) korrelierten positiv mit der Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) bei NSCLC. Weder für das Patientengeschlecht, noch für PDW, TN oder TB konnte ein Einfluss auf den Nodalstatus nachgewiesen werden. Das Patientenalter (RR=0,699), die lymphozytären Einzelparameter und der PLYNOM-Score (RR=0,436 (PLYNOM-II/III vs. PLYNOM-I); RR=0,364 (PLYNOM-III vs. PLYNOM-I/II)) korrelierten negativ mit dem Nodalstatus. Die Lymphgefäßinvasion, die Mitosenanzahl und der PLYNOM-Score konnten als unabhängige Prädiktoren der Lymphknotenmetastasierung identifiziert werden.

### Schlussfolgerungen:

Es besteht ein Zusammenhang zwischen klinischen und histomorphologischen Parametern und dem Lymphknotenstatus bei NSCLC. Im Rahmen der Analyse konnte der PLYNOM-Score als neuer und unabhängiger Parameter der Lymphknotenmetastasierung identifiziert werden. Zur Evaluation einer routinemäßigen Anwendung in der pathologischen Diagnostik sollte er in zukünftigen Studien validiert und mit Überlebenszeitparametern korreliert werden.

## **Abstract**

### Introduction:

Lymphonodular metastasis (LNM) is one of the most reliable predictors of patient prognosis in non-small-cell lung cancer (NSCLC). However, data on the importance of clinical and histomorphological parameters for LNM remain heterogeneous. Many studies differ in reference to the analyzed parameters or the applied methodology, focused on patient survival or investigated patient cohorts, that comprised only single stages of disease or specific tumor entities.

### Materials and Methods:

The work at hand comprises a patient cohort with NSCLC in all stages of disease (I-IV) according to the current 8<sup>th</sup> "TNM classification of malignant tumours" and contains both adenocarcinoma (ADC) and squamous cell carcinoma (SCC). Besides the clinical parameters tumor size, patient sex and patient age, also the following histomorphological parameters were assessed by common hematoxylin and eosin (HE) staining: predominant growth pattern (PDW), lymph (pL) and blood vessel invasion (pV), mitotic count (MZ), tumor necrosis (TN), tumor budding (TB) and tumor-infiltrating lymphocytes (TILs). As a further parameter, circular lymphocytic cell clusters (CLCC) that represent lymphocytic aggregates in nodular or follicular shape, were described. TILs and CLCC were evaluated in the central tumor area (CT) and at the invasive margin (IM). Based on the analysis, a new scoring system, the PLYNOM-Score („probability of lymphonodular metastasis“), was proposed. It contains the single lymphocytic parameters (TILs-CT, TILs-IM, CLCC-CT, CLCC-IM) and comprises three categories (PLYNOM I-III) according to the intensity of the lymphocytic infiltrate. In univariate analysis all parameters were correlated with nodal status (pN0, pN1, pN>1) and the relative risk (RR) of LNM (pN+, pN0) was calculated. A multivariate analysis was performed by binary logistic regression.

### Results:

Lymph (RR=28,318) and blood vessel invasion (RR=1,995), tumor size (RR=1,851) and the mitotic count (RR=1,711) were positively associated with LNM in NSCLC. Patient sex, PDW, TN and TB had no influence on nodal status. Patient age (RR=0,699), the

single lymphocytic parameters and the PLYNOM-Score (RR=0,436 (PLYNOM-II/III vs. PLYNOM-I); RR=0,364 (PLYNOM-III vs. PLYNOM-I/II)) correlated negatively with LNM. Lymph vessel invasion, the mitotic count and the PLYNOM-Score were identified as independent predictors of nodal metastasis.

Conclusion:

Clinical and histomorphological parameters correlate with nodal status in NSCLC. The PLYNOM-Score is a new and independent predictor of LNM. To evaluate whether it could be implemented in pathological routine diagnostics it ought to be validated and correlated with survival parameters in future studies.

# 1. Einleitung

## 1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren

Im Jahr 2018 erkrankten gemäß der Weltgesundheitsorganisation (WHO) 2.093.876 Menschen an Lungenkrebs, was einem Anteil von 11,6% der neu gestellten Krebsdiagnosen weltweit entsprach [1, 2]. Bei den Frauen war es hierbei mit 725.352 Fällen (8,4%) hinter Brustkrebs (2.088.849 Fälle; 24,2%) und dem kolorektalen Karzinom (823.303 Fälle; 9,5%) die am dritthäufigsten diagnostizierte Krebsform [1]. Bei den Männern war es mit 1.368.524 Fällen (14,5%) sogar die am häufigsten diagnostizierte Krebsentität [1]. Die Mortalität war geschlechterübergreifend mit 1.761.007 Todesfällen die höchste aller dokumentierten Krebsarten weltweit [1, 2].

Entsprechend des aktuellen Berichts „Krebs in Deutschland für 2015/2016“ des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. erkrankten im Jahr 2016 in Deutschland 21.500 Frauen und 35.960 Männer an bösartigen Lungentumoren [3]. Dies entsprach bei den Frauen hinter Brust- (68.950 Fälle) und Darmkrebs (25.990 Fälle) der dritthäufigsten neu diagnostizierten Krebserkrankung [3]. Bei den Männern stellte es hinter Prostatakrebs (58.780 Fälle) die zweithäufigste neu gestellte Krebsdiagnose dar [3]. Die nicht-melanotischen Hautkrebsformen wurden in dieser Aufstellung nicht berücksichtigt, da sie trotz ihrer Häufigkeit u.a. nur einen geringen Anteil an der Krebssterblichkeit ausmachen [3]. Das mittlere Erkrankungsalter betrug 69 Lebensjahre bei den weiblichen und 70 Lebensjahre bei den männlichen Patienten [3]. Die relativen 5- und 10-Jahres-Überlebensraten waren 21% bzw. 16% bei den Frauen und 15% bzw. 11% bei den Männern [3]. Insgesamt verzeichnete die Statistik 16.481 weibliche und 29.324 männliche Patienten, die im Jahr 2016 an einem bösartigen Lungentumor verstorben sind [3].

Der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung von Lungenkrebs ist das aktive Rauchen [4-6]. Ferner ist eine Assoziation mit Passivrauchen beschrieben [4-6]. Die zeitliche Dauer und die Anzahl der gerauchten Zigaretten erhöhen hierbei das Erkrankungsrisiko [5, 6]. Wird das Rauchen im Verlauf aufgegeben sinkt dieses zwar wieder [5, 6], erreicht jedoch nicht mehr das Erkrankungsrisiko eines Nichtraucherers [6]. Allerdings gibt es ebenfalls Erkrankungsfälle bei Nichtrauchern [6]. Neben dem endogenen Risikofaktor der genetischen Prädisposition [4] gibt es weitere exogene Risikofaktoren wie z.B. die Exposition gegenüber ionisierenden Strahlen, Feinstaub, Dieselmotoremissionen,

Asbest, Quarzstäuben oder beruflichen Schadstoffen wie z.B. polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen [4, 5].

## **1.2 Einteilung der Lungentumoren**

Gemäß aktueller WHO-Klassifikation für Lungentumoren werden epitheliale, mesenchymale und lymphohistiozytäre Tumoren unterschieden, ferner solche ektopen Ursprungs und Metastasen [6, 7]. Als Lungenkarzinome werden bösartige epitheliale Tumoren bezeichnet, die primär in der Lunge entstanden sind [4, 6, 7]. Sie können anhand unterschiedlicher histologischer und immunhistochemischer Merkmale in verschiedene Untergruppen eingeteilt werden [6, 7]. Die häufigsten sind hierbei die nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome (NSCLC) und die neuroendokrinen Tumoren, welche die kleinzelligen Lungenkarzinome (SCLC), die typischen und atypischen Karzinoide sowie die großzelligen neuroendokrinen Karzinome (LCNEC) beinhalten [6, 7]. SCLC werden aktuell in etwa 15% der Tumorfälle diagnostiziert [5, 8] und weisen unbehandelt eine mittlere Überlebensrate von weniger als drei Monaten auf [5].

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den NSCLC, die einen Anteil von ca. 85% der Lungenkarzinome ausmachen [8] und neben einigen selteneren Varianten die beiden großen Untergruppen der Adenokarzinome (ADC) und der Plattenepithelkarzinome (SCC) beinhalten [6, 7].

## **1.3 Ausbreitung und Metastasierung**

Lymphogen breitet sich der Tumor in die lokoregionären Lymphknoten aus, hämatogen entstehen am häufigsten Metastasen in Gehirn, Knochen, Leber, Nebennieren und der Lunge [6]. Für Leber- und Knochenmetastasen wurde hierbei die schlechteste Prognose beschrieben [9, 10]. Zudem ist eine Ausbreitung entlang der pleuralen Oberfläche oder durch invasives Wachstum möglich [6]. Bei zusammenhängenden Strukturen bezeichnet man dies als „per continuitatem“ [11], bei Berührung benachbarter Strukturen als „per contiguitatem“ [12]. Zudem ist eine aerogene Verbreitung von Tumorzellen beschrieben, die als „spread through air spaces“ (STAS) bezeichnet wird [6, 13, 14].

## **1.4 TNM-Klassifikation**

Die TNM-Klassifikation beschreibt die Ausdehnung des Primärtumors (T) sowie etwaige Lymphknoten- (N) und Fernmetastasen (M) [15]. Die aktuelle Einteilung für Lungenkrebs wurde von der „International Association for the Study of Lung Cancer“

(IASLC) im Rahmen des „Lung Cancer Staging Projects“ erarbeitet [15-18] und von der "Union for International Cancer Control" (UICC) in der achten Edition der „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“ veröffentlicht [19] (vgl. Tabelle 1). Während die klinische Klassifikation (cTNM) prätherapeutisch erstellt wird, erfolgt die histopathologische Klassifikation (pTNM) anhand von Resektionspräparaten [6].

## 1.5 Stadieneinteilung und Therapieoptionen

Anhand der TNM-Klassifikation erfolgt eine prognostisch relevante Einteilung des Krankheitsbildes in vier Stadien, die jeweils mehrere Untergruppen beinhalten (vgl. Tabelle 2) [4, 5, 18-20]. Neben der Fernmetastasierung [17] ist der Lymphknotenstatus ein wichtiger Parameter um die Prognose der Patienten abzuschätzen und das Therapieregime auszuwählen [6, 15]. Im Stadium I ist die Operation das bevorzugte therapeutische Verfahren [4, 5, 21]. Auch im Stadium II ist ein operatives Vorgehen empfohlen und sollte durch eine adjuvante Chemotherapie ergänzt werden [4, 5, 21]. Das Stadium III ist sehr heterogen und weist eine komplexe Therapiestruktur auf. Im Wesentlichen wird zwischen operablen und inoperablen Erkrankungen unterschieden [21, 22]. Insbesondere bei operablen Erkrankungen sollte das Therapiekonzept durch ein multidisziplinäres Team ausgewählt werden [21, 22]. Mögliche Therapiekonzepte beinhalten die Chemotherapie, Strahlentherapie und Strahlenchemotherapie [4, 5, 21, 22] sowie die konsolidierende Immuntherapie [4]. Interessanterweise hängt der prognostische Effekt einer postoperativen Radiotherapie (PORT) nach durchgeführter postoperativer Chemotherapie (POCT) vom Lymphknotenstatus ab [23, 24]. Während für eine pN2-Situation ein positiver Effekt auf das mediane Überleben beschrieben wurde (keine PORT vs. PORT: 23,8 vs. 47,4 Monate [23] bzw. 40,7 vs. 45,2 Monate [24]), konnten *Douillard et al.* für eine pN1-Situation stattdessen einen negativen Einfluss nachweisen (93,6 vs. 46,6 Monate) [23]. Des Weiteren ist der Lymphknotenstatus bei bereits operierten Patienten, unabhängig davon ob eine komplette (R0) oder eine inkomplette (R1/2) Tumorresektion erfolgte, von prognostischer Relevanz [15]. *Asamura et al.* beschrieben die 5-Jahres-Überlebensraten für eine R0-Resektion mit 75% (N0), 50% (N1), 38% (N2) und 32% (N3) sowie für eine R1/2-Resektion mit 75% (N0), 49% (N1), 36% (N2) und 20% (N3) [15]. Im Stadium IV sind zunächst weiterführende immunhistochemische und molekularpathologische Untersuchungen indiziert [4, 5, 25]. Die Detektion etwaiger Treibermutationen (z.B. EGFR, ALK) kann dann eine zielgerichtete Therapie



ermöglichen [4, 5, 25]. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist zudem die immunhistochemische Bestimmung des „Programmed death-ligand 1“ (PD-L1) auf den Tumorzellen, um die Möglichkeit einer Immuntherapie zu evaluieren [4, 5, 25]. Auch im Stadium IV mit einer M1a-Situation ist der Lymphknotenstatus ein unabhängiger prognostischer Faktor [26]. *Dai C et al.* untersuchten 39.731 NSCLC (M1a) und konnten nachweisen, dass das beste Lungenkrebs-spezifische Überleben bei N0-Erkrankungen (N0 vs. N1,  $p < 0.001$ ) vorlag, gefolgt von N1- und N2-Erkrankungen (N1 vs. N2,  $p < 0.001$ ) [26]. Kein signifikanter Unterschied konnte hingegen für N2- im Vergleich zu N3-Erkrankungen nachgewiesen werden ( $p = 0,478$ ) [26].

**Tabelle 1.** Die Einteilung bösartiger Lungentumoren anhand der achten Auflage der „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“, basierend auf IASLC/ UICC [4, 5, 18-20].

<b>Primärtumor (T)</b>	<i>Tx</i>	Beurteilung des Primärtumors nicht möglich oder Tumornachweis durch maligne Zellen im Sputum oder in der Bronchiallavage ohne bildmorphologischen oder bronchoskopischen Nachweis
	<i>T0</i>	Kein Nachweis eines Primärtumors
	<i>Tis</i>	Carcinoma in situ
	<i>T1</i>	größter Tumordurchmesser ≤3cm, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, Hauptbronchus nicht beteiligt
	<i>T1a</i>	– minimal invasives Adenokarzinom (Adenokarzinom mit lepidischem ( <i>mi</i> ) Wachstumsmuster ≤3cm in der größten Ausdehnung mit einem invasiven bzw. soliden Anteil <5mm Durchmesser)
	<i>T1a</i>	– größter Tumordurchmesser ≤1cm
	<i>T1b</i>	– größter Tumordurchmesser >1cm und ≤2cm
	<i>T1c</i>	– größter Tumordurchmesser >2cm und ≤3cm
	<i>T2</i>	größter Durchmesser >3 und ≤5cm <u>oder</u> Infiltration des Hauptbronchus unabhängig vom Abstand von der Carina aber ohne direkte Invasion der Carina <u>oder</u> Infiltration der viszeralen Pleura <u>oder</u> tumorbedingte partielle Atelektase oder obstruktive Pneumonie, die bis in den Hilus reichen, Teile der Lunge oder die gesamte Lunge umfassen
	<i>T2a</i>	– größter Durchmesser >3cm, aber ≤4cm
<i>T2b</i>	– größter Durchmesser >4cm, aber ≤5cm	
<i>T3</i>	größter Durchmesser >5cm, aber ≤7cm <u>oder</u> Infiltration von Thoraxwand (inklusive parietale Pleura und Superior Sulcus), N. phrenicus oder parietales Perikard <u>oder</u> zusätzlicher Tumorknoten im selben Lungenlappen wie der Primärtumor	
<i>T4</i>	größter Durchmesser >7cm <u>oder</u> mit direkter Infiltration von Diaphragma, Mediastinum, Herz, großen Gefäßen, Trachea, N. laryngeus recurrens, Ösophagus, Wirbelkörper oder Carina <u>oder</u> zusätzlicher Tumorknoten in einem anderen ipsilateralen Lungenlappen	
<b>Lymphknoten (N)</b>	<i>Nx</i>	Beurteilung der regionalen Lymphknoten nicht möglich
	<i>N0</i>	Keine regionalen Lymphknotenmetastasen
	<i>N1</i>	Metastase(n) in ipsilateralen, peribronchialen und/oder ipsilateralen hilären Lymphknoten und/oder intrapulmonalen Lymphknoten oder direkte Invasion dieser Lymphknoten
	<i>N2</i>	Metastase(n) in ipsilateralen mediastinalen und/oder subcarinalen Lymphknoten
	<i>N3</i>	Metastase(n) in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen hilären, ipsi- oder kontralateral tief zervikalen, supraklavikulären Lymphknoten
<b>Fernmetastasen (M)</b>	<i>M0</i>	keine Fernmetastase(n)
	<i>M1</i>	Fernmetastase(n)
	<i>M1a</i>	– separate(r) Tumorknoten in einem kontralateralen Lungenlappen <u>oder</u> Pleura mit knotigem Befall <u>oder</u> maligner Pleuraerguss <u>oder</u> maligner Perikarderguss
	<i>M1b</i>	– eine solitäre Fernmetastase in einem solitären extrathorakalen Organ
<i>M1c</i>	– mehrere Fernmetastasen (>1) in einem oder mehreren Organen	

Abkürzungen: IASLC, „International Association for the Study of Lung Cancer“; UICC, „Union for International Cancer Control“.

**Tabelle 2.** Die Stadieneinteilung der NSCLC gemäß IASLC/ UICC, basierend auf der achten Auflage der „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“ [4, 5, 18-20].

Stadium			Primärtumor (T)	Lymphknoten (N)	Fernmetastasen (M)
<b>0</b>			Tis	N0	M0
<b>I</b>	IA	IA1	T1a(mi)	N0	M0
			T1a	N0	M0
		IA2	T1b	N0	M0
		IA3	T1c	N0	M0
	IB	T2a	N0	M0	
<b>II</b>	IIA		T2b	N0	M0
	IIB		T1a-c	N1	M0
			T2a-b	N1	M0
		T3	N0	M0	
<b>III</b>	IIIA		T1a-c	N2	M0
			T2a-b	N2	M0
			T3	N1	M0
			T4	N0	M0
			T4	N1	M0
	IIIB		T1a-c	N3	M0
			T2a-b	N3	M0
			T3	N2	M0
			T4	N2	M0
	IIIC		T3	N3	M0
			T4	N3	M0
	<b>IV</b>	IVA		jedes T	jedes N
			jedes T	jedes N	M1b
IVB			jedes T	jedes N	M1c

Abkürzungen: IASLC, „International Association for the Study of Lung Cancer“; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; UICC, „Union for International Cancer Control“.

## 1.6 Histomorphologie der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome

### 1.6.1 Adenokarzinome

Adenokarzinome stellen mit mehr als 40% den häufigsten histologischen Subtyp der Lungenkarzinome dar [27] und kommen vor allem in den peripheren Abschnitten der Lunge vor [6]. Sie sind die häufigste Untergruppe bei Nichtrauchern und sind histologisch durch die Produktion von Muzin, eine drüsige Differenzierung oder die immunhistochemische Expression pneumozytärer Marker (z.B. TTF1, Napsin A) charakterisiert [6]. Adenokarzinome umfassen im Wesentlichen fünf morphologische Wachstumsmuster: lepidisch, azinär, papillär, solide und mikropapillär [6, 7, 27]. Diese kommen innerhalb eines Tumors häufig in Kombination vor [6, 27] oder gehen ineinander über [6, 7] und werden semiquantitativ in 5%-Schritten abgeschätzt [6, 7,

27]. Auf diese Weise wird ein prädominantes Wachstumsmuster (PDW) ermittelt [6, 7, 27]. Der Einfluss der prädominanten Wachstumsmuster der Adenokarzinome auf die Patientenprognose [28-34] und den Lymphknotenstatus [28-31, 33, 35] ist Gegenstand aktueller Forschung. Für das solide PDW ist beispielsweise eine Assoziation zu einer schlechteren Prognose [29-32, 34] und zu Lymphknotenmetastasen beschrieben [30]. Auch für das mikropapilläre PDW konnte in mehreren Studien ein Zusammenhang zu einer schlechteren Prognose [28, 30-34] und zu einer lymphonodulären Metastasierung nachgewiesen werden [28-31, 33, 35]. Die Arbeitsgruppe um *von der Thüsen et al.* dokumentierte hingegen keine prognostische Bedeutung dieses Wachstumsmusters [29]. Bei einem lepidischen PDW konnten eine bessere Prognose [29, 31, 33] sowie seltener Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden [30, 31, 33]. Des Weiteren besteht ein Zusammenhang zwischen den prädominanten Wachstumsmustern und spezifischen Alterationen, die den Patienten personalisierte Therapieoptionen ermöglichen können [6, 28, 36]. Eine höhere Wahrscheinlichkeit für EGFR-Mutationen ist beispielsweise für papilläre [6, 36], mikropapilläre [6, 28] und lepidische [6] PDW beschrieben, während KRAS-Mutationen v.a. bei invasiv muzinösen ADC [6, 36] und soliden PDW [6] vorkommen können. ALK-Translokationen bestehen am häufigsten in Zusammenhang mit azinären [6, 36] und mikropapillären [36] PDW sowie bei Nachweis von Siegelringzellen [6]. Die histologischen Kriterien zur Bestimmung der einzelnen Wachstumsmuster der pulmonalen Adenokarzinome sind in Tabelle 3 tabellarisch zusammengefasst.

### **1.6.2 Plattenepithelkarzinome**

Plattenepithelkarzinome machen etwa 25-30% aller Lungenkarzinome aus [8] und sind häufig in den zentralen Atemwegen auf Höhe der Haupt- und Lappenbronchien lokalisiert [6]. Es besteht ein enger Zusammenhang zum Rauchen und häufig erfolgt eine Ausbreitung in benachbarte Strukturen durch ein invasives Wachstumsverhalten [6]. Histologisch leiten sie sich vom Epithelgewebe ab und sind durch eine Verhornung und/oder durch Interzellularbrücken charakterisiert, können jedoch auch morphologisch undifferenziert sein und dann lediglich mittels immunhistochemischer Marker einer plattenepithelialen Differenzierung zugeordnet werden (z.B. p40, p63, CK5, CK5/6) [6]. Neben den präinvasiven Läsionen (Plattenepithelkarzinom in situ) unterscheidet man die invasiven Karzinome anhand ihres Wachstumsmusters in verhornend, nicht-verhornend und basaloid [6, 7]. Wenn eine Keratinisierung [6, 7], Interzellularbrücken [6,

7] oder Hornperlen [6] histologisch nachgewiesen werden können, handelt es sich um ein verhornendes Plattenepithelkarzinom [6, 7]. Unabhängig vom Grad der Verhornung kann die Diagnose eines basaloiden Plattenepithelkarzinoms gestellt werden, wenn der basaloide Anteil des Tumors mehr als 50% beträgt [6, 7]. Beträgt dieser hingegen weniger als 50% kann beschreibend die Formulierung „mit basaloiden Komponenten“ verwendet werden [7]. Die Bedeutung der einzelnen Wachstumsmuster für Patientenprognose [37-42] und Lymphknotenstatus [37-43] wird insbesondere bei den Plattenepithelkarzinomen sehr heterogen diskutiert. Gemäß *Morot-Sibilot et al.* korrelierte das basaloide Wachstumsmuster beispielsweise mit einer schlechteren Prognose [41], jedoch beschrieb eine andere Arbeitsgruppe eine verkürzte Gesamtüberlebenszeit für verhornende (62,1 Monate) im Vergleich zu nicht-verhornenden (71,5 Monate) und basaloiden (68,8 Monate) Karzinomen [42]. Stattdessen konnten *Kadota et al.* keine prognostische Bedeutung der einzelnen Wachstumsmuster nachweisen [38]. Während *Weichert et al.* keinen signifikanten Einfluss der PDW auf den Lymphknotenstatus beschrieben [42], wurde ein möglicher Zusammenhang dieser Parameter in einem Großteil der Studien nicht untersucht [37-40]. Die histologischen Kriterien zur Erfassung der einzelnen Wachstumsmuster bei pulmonalen Plattenepithelkarzinomen sind in Tabelle 4 tabellarisch aufgeführt.

**Tabelle 3.** Die histologischen Wachstumsmuster des invasiven Adenokarzinoms der Lunge [6, 27] (Übersetzung, Formatierung und Zusammenfassung durch den Autor).

Wachstumsmuster	Histologische Beschreibung
lepidisch	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nicht-muzinöse Zellen (Typ-II Pneumozyten oder Clara-Zellen), die in der Regel farblos sind und entlang der Oberfläche der Alveolarwände wachsen</li> <li>• invasiver Anteil (nicht-lepidischer Subtyp, myofibroblastisches Stroma mit invasiven Tumorzellen, Gefäß- oder Pleurainvasion, Ausbreitung durch Lufträume (STAS)) beträgt mehr als 0,5cm oder Gesamtgröße beträgt &gt;3cm</li> <li>• invasiver Anteil in der Regel gut sichtbar bei kleinerer Vergrößerung und durch irreguläre Drüsen charakterisiert, die in ein desmoplastisches Stroma, Papillen, Mikropapillen und solide Anteile eingebettet sind</li> <li>• Abgrenzung zum minimal-invasiven Adenokarzinom (MIA) durch Gefäß- oder Pleurainfiltration, Nachweis von Tumornekrosen, eine invasive Komponente &gt;0,5cm (s.o.) und/oder STAS</li> </ul>
azinär	<ul style="list-style-type: none"> <li>• hauptsächlich aus neoplastischen Drüsen bestehend, die rund bis oval konfiguriert sind und ein zentrales Lumen aufweisen, das von Tumorzellen begrenzt ist</li> <li>• runde Tumorzellaggregate mit peripherer Kernpolarisation und zentralem Zytoplasma ohne eindeutiges Lumen können ebenfalls azinäre Strukturen bilden</li> <li>• Nachweis von Muzin in den neoplastischen Zellen und/oder Drüsenlumina möglich, kribriorme Anteile können vorhanden sein</li> <li>• verschieden konfigurierte glanduläre Strukturen wie kleine Tubuli, gewinkelte oder verzweigte Stränge und komplexe irreguläre Drüsen möglich</li> <li>• heterogenes Zytoplasma: vakuolisiert und hell oder basophil oder eosinophil</li> </ul>
papillär	<ul style="list-style-type: none"> <li>• hauptsächlich glanduläre Zellen, die einen fibrovaskulären Kern variabler Größe und Verästelung säumen</li> <li>• gelegentliches Vorkommen von Morula und Psammomkörpern</li> <li>• neoplastische Zellen kuboidal oder säulenförmig</li> <li>• zytomorphologisch variabel von hellen monomorphen Zellen bis hin zu hochgradig pleomorphen Zellen reichend</li> <li>• papilläre Strukturen in Tumorzellen oder Alveolarräumen für die Charakterisierung ausreichend; myofibroblastisches Stroma zur Diagnosestellung nicht notwendig</li> </ul>
mikropapillär	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumorzellen vorwiegend in papillären Büscheln vorkommend, die kleine Blütenformen und keine fibrovaskulären Kerne aufweisen</li> <li>• sowohl mit Kontakt zu den Alveolarwänden, als auch von diesen losgelöst vorkommend; möglicherweise ringförmige Drüsenstrukturen, die innerhalb der Alveolen schwimmen</li> <li>• Invasion der Tumorzellen in Gefäße und Stroma häufig</li> <li>• Vorkommen von Psammomkörpern möglich</li> <li>• Tumorzellen in der Regel klein und kuboidal mit variablen Kernatypien</li> </ul>
solide	<ul style="list-style-type: none"> <li>• polygonale Tumorzellen, die Zelllagen formen und kaum Ähnlichkeiten mit den übrigen Wachstumsmustern der Adenokarzinome aufweisen</li> <li>• hauptsächlich aus soliden Nestern bestehend, die teilweise entfernt an squamöse Zellen erinnern können</li> <li>• bei ausschließlich solidem Wachstumsmuster sollte intrazelluläres Muzin in ≥5 Tumorzellen in jedem von zwei Hauptgesichtsfeldern vorhanden und immunhistochemisch bestätigt sein</li> <li>• Zytoplasma hell, dunkel eosinophil oder basophil mit gewöhnlicherweise hochgradig pleomorphen Zellkernen</li> <li>• sichere Unterscheidung von Plattenepithelkarzinomen und großzelligen Karzinomen notwendig</li> </ul>

Abkürzungen: MIA, minimal-invasives Adenokarzinom; STAS, Ausbreitung durch Lufträume.

**Tabelle 4.** Die histologischen Wachstumsmuster des invasiven Plattenepithelkarzinoms der Lunge [6] (Übersetzung, Formatierung und Zusammenfassung durch den Autor).

Wachstumsmuster	Histologische Beschreibung
verhornend	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verhornung, Perlenformationen und/oder Interzellularbrücken in Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad deutlich (gute Differenzierung) oder schwach bzw. allenfalls fokal (schlechte Differenzierung) vorkommend</li> </ul>
nicht-verhornend	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Immunhistochemie zur Unterscheidung von großzelligen Karzinomen notwendig; diffuse Positivität für plattenepitheliale Marker (z.B. p40, p63, CK5 oder CK5/6) und Negativität für TTF1</li> <li>• Vorhandensein von intrazellulärem Muzin in einzelnen Zellen möglich</li> </ul>
basaloid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• solides, noduläres oder anastomotisch trabekuläres invasives Wachstumsmuster mit peripherer Bildung mehrerer palisadenartiger Zellschichten</li> <li>• Tumorzellen eher klein, monomorph, kuboidal oder fusiform mit mäßig hyperchromatischen Kernen, feingranulärem bis vesikulärem Chromatin und fehlenden oder allenfalls fokalen Nucleoli</li> <li>• wenig, jedoch deutlich erkennbares Zytoplasma; Hornperlen möglich; häufig Nachweis von Komedonekrosen; Rosetten in einem Drittel der Fälle; häufig hyalines oder mucoides Stroma</li> <li>• hohe Mitosenanzahl bzw. hoher Proliferationsindex (Ki-67)</li> <li>• wenn eindeutig verhornendes oder nicht-verhornendes Wachstumsmuster vorhanden, jedoch basaloider Anteil &gt;50% erfolgt Klassifikation als basaloides Plattenepithelkarzinom</li> </ul>

Abkürzungen: CK, Zytokeratin; TTF1, thyroider Transkriptionsfaktor-1.

### 1.6.3 Histomorphologische Parameter

Insgesamt existiert zwar eine Vielzahl unterschiedlicher Studien, die sich mit histomorphologischen Parametern der NSCLC beschäftigen, jedoch verbleibt die Datenlage uneinheitlich. Neben der Tumorgroße [16, 24, 30, 34, 44, 45], die essentieller Bestandteil der TNM-Klassifikation ist, wurde auch für Kriterien wie die Tumorzellinvasion in Blut- (pV) [34, 45-50] und Lymphgefäße (pL) [36, 38, 45-49, 51-54] eine prognostische Relevanz beschrieben. Diese werden in der pTNM-Klassifikation als zusätzliche Deskriptoren angegeben. In mehreren Studien wurde ein negativer Einfluss der Blutgefäßinvasion auf die Patientenprognose beschrieben [34, 45-50] und *Konaka et al.* dokumentierten einen Zusammenhang zum Lymphknotenstatus [55]. Bei Nachweis von pV lag zu 39,2% (18/46) eine Lymphknotenmetastasierung vor, während diese lediglich in 9,6% (12/125) der Fälle ohne pV bestand [55]. Ein Großteil der Studien hat einen Zusammenhang zwischen Blutgefäßinvasion und Lymphknotenstatus hingegen nicht untersucht [34, 45-50, 54, 56, 57]. In einigen Arbeiten konnte zudem keine prognostische Bedeutung des Parameters nachgewiesen werden [54, 56, 57].

Für die Lymphgefäßinvasion wurde von vielen Studien ein negativer Einfluss auf die

Patientenprognose beschrieben [36, 38, 45-49, 51-54]. Zudem zeigten *Konaka et al.*, dass Tumoren mit pL häufiger in die Lymphknoten metastasiert waren als Tumoren ohne pL (42,5% N+ vs. 9,9% N+;  $p=0,025$ ) [55]. Ähnliche Ergebnisse beschrieben auch *Seok et al.* (35,2% N+ vs. 6,9% N+;  $p<0,001$ ) [58]. In den Studien von *Inoue et al.* [51] und *Zhao et al.* [59] konnte hingegen kein Einfluss auf den Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. Zur heterogenen Datenlage trägt bei, dass ein Großteil der Publikationen die Bedeutung für den Lymphknotenstatus nicht untersucht hat [36, 38, 44-50, 52-54, 56, 57] und einige Arbeitsgruppen keine prognostische Relevanz von pL nachweisen konnten [44, 56, 57].

In der Literatur wurde für Adenokarzinome im Wesentlichen eine prognostische Bedeutung der Mitosenanzahl (MZ) beschrieben [29, 47, 49, 57, 60], während für Plattenepithelkarzinome eine heterogene Datenlage vorliegt [38, 44, 48, 57]. In zwei Studien von *Kadota et al.* bildete die Mitosenanzahl beispielsweise das Rezidivrisiko ab [47, 49]. War eine höhere MZ nachweisbar (0-1; 2-4;  $\geq 5$ , in 10 HPF), stieg die Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv zu erleiden [47, 49]. Auch bei *Poleri et al.* war eine höhere MZ ( $\leq 5$ ;  $> 5$ , in 10 HPF) mit einem größeren Rezidivrisiko (10%; 39,4%) [57] und bei *von der Thüsen et al.* (0-1; 2-4;  $\geq 5$ , in 10 HPF) mit einer geringeren Überlebenswahrscheinlichkeit (HR=1,36;  $p=0,008$ ) assoziiert [29]. Gegenteilig hierzu konnte in zwei anderen Studien keine prognostische Bedeutung der MZ nachgewiesen werden [38, 48]. Interessanterweise beschrieben *Gürel et al.* für Plattenepithelkarzinome eine schlechtere 5-Jahres-Überlebensrate (51,6%; 83,6%) in Zusammenhang mit einer niedrigeren MZ ( $\leq 20$ ;  $> 20$ , in 10 HPF) [44]. Keine der Studien untersuchte hingegen den Zusammenhang zwischen der Mitosenanzahl und dem Lymphknotenstatus [29, 38, 44, 47-49, 57, 60].

Ebenfalls diskordant sind die Untersuchungen zu Tumornekrosen (TN), da in der Literatur zwar ein negativer Einfluss auf die Patientenprognose beschrieben wurde [34, 44, 47, 49, 51, 57, 60, 61], dieser in anderen Arbeiten jedoch nicht nachgewiesen werden konnte [29, 38, 54]. *Inoue et al.* zeigten, dass TN mit dem Lymphknotenstatus assoziiert sind [51]. Karzinome mit TN wiesen zu 29% (5/17) Lymphknotenmetastasen auf, während diese lediglich bei 8% (6/80) der Fälle ohne TN nachweisbar waren [51]. Obwohl eine Studie von *Swinson et al.* TN als unabhängigen Prädiktor einer schlechten Prognose identifizierte, bestand keine signifikante Assoziation zum Lymphknotenstatus [61]. In einem Großteil der hier genannten Arbeiten wurde der Zusammenhang zwischen TN und Nodalstatus nicht untersucht [29, 34, 38, 44, 47, 49, 54, 57, 60].



Mehrere Studien untersuchten Tumor Budding (TB) anhand von Tumorresektaten und beschrieben einen Zusammenhang zu einer reduzierten Gesamtüberlebenszeit [38, 42, 45-48]. Keine prognostische Bedeutung konnte hingegen in der Studie von *Gürel et al.* nachgewiesen werden [44]. *Yamaguchi et al.* fanden heraus, dass bei 64% (23/36) der Karzinome mit Lymphknotenmetastasen (pN1/2) ein TB nachweisbar war, während bei einer pN0-Situation der Anteil an TB mit 38% (55/145) deutlich geringer war ( $p=0,005$ ) [46]. *Taira et al.* zeigten in ihrer Studie vergleichbare Ergebnisse (pN0: 25,2% (35/139) TB+; pN1/2: 61,5% (48/78) TB+) [45] und auch *Kadota et al.* beschrieben einen Zusammenhang zu Lymphknotenmetastasen [38, 48]. Andere Arbeiten konnten entweder keine Assoziation zum Nodalstatus nachweisen [42] oder untersuchten diesen Zusammenhang nicht [44, 47].

Die antigene Wirkung tumoröser Erkrankungen kann zu einer Immunantwort des Körpers führen, die in ihrem Ausmaß und ihrer Beschaffenheit prognostische und prädiktive Bedeutung für den Erkrankungsverlauf haben kann [62]. Innerhalb der Tumormikroumgebung sind Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs) als möglicher Biomarker in der Diskussion, um u.a. Patienten mit einer möglichst hohen Ansprechrate für Immuntherapien selektieren zu können [62]. Zudem ist die prognostische Relevanz der TILs Gegenstand aktueller Forschung und wurde von mehreren Arbeitsgruppen ausführlich untersucht [50, 52, 63-69]. Die Bedeutung für den Lymphknotenstatus wurde hingegen häufig nicht analysiert [52, 64-66]. Insbesondere in Bezug auf die methodische Herangehensweise bestehen zudem deutliche Unterschiede innerhalb der einzelnen Studien [50, 52, 63-69]. *Hendry et al.* haben einen Vorschlag zur standardisierten Erfassung von TILs erarbeitet, der u.a. auch auf NSCLC angewendet werden kann [62, 70]. Auf diese Weise werden die Vergleichbarkeit wissenschaftlicher Studien und die Etablierung der TIL-Erfassung in histologische Routineuntersuchungen verbessert [62]. Eine semiquantitative Abschätzung der TILs anhand der konventionellen Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) ermöglicht es, diese aufgrund der vergleichsweise geringen Kosten auch in wirtschaftlich schwächeren Regionen zu etablieren [62].

#### **1.6.4 Differenzierungsgrad - „Grading“**

Für resezierte Adenokarzinome gibt es ein Modell, das den Differenzierungsgrad anhand des prädominanten Wachstumsmusters (PDW) einteilt [6, 20, 71]. Hiernach sind prädominant lepidische Tumoren gut (G1), prädominant azinäre und papilläre

Tumoren mäßig (G2) sowie prädominant mikropapilläre und solide Tumoren schlecht (G3) differenziert [6, 20, 71]. *Warth et al.* beschrieben für das lepidische PDW das beste Gesamtüberleben (78,5 Monate), gefolgt vom azinären (67,3 Monate), soliden (58,1 Monate), papillären (48,9 Monate) und mikropapillären (44,9 Monate) PDW [33]. Die Berücksichtigung der zweit-, dritt-, viert- und fünfhäufigsten Wachstumsmuster konnte die Prognose nicht besser abschätzen, sodass eine Einteilung der Tumoren anhand der prädominanten Wachstumsmuster in drei Gruppen erfolgte (1: lepidisch, 2: azinär, 3: solide/papillär/mikropapillär) [33]. Diese bildeten das Gesamtüberleben (Gruppe 1: 78,5 Monate, Gruppe 2: 67,3 Monate, Gruppe 3: 57,2 Monate;  $p < 0,001$ ) differenziert ab und waren, ebenso wie die einzelnen prädominanten Wachstumsmuster, Stadium- und Therapie-unabhängige Prognosekriterien [33]. Interessanterweise ließen sich ebenfalls in Bezug auf den Nodalstatus signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen PDW feststellen (Anteil N+: lepidisch 7% (3/41), azinär 46% (96/207), papillär 43% (10/23), solide 51% (93/183), mikropapillär 76% (25/33)) [33]. Auch *Yoshizawa et al.* nutzten eine dreistufige Einteilung in gut (ADC in situ, MIA), mäßig (nicht-muzinös lepidische, azinäre, papilläre ADC) und schlecht differenzierte (solide, mikropapilläre, kolloidale, invasiv-muzinöse und gemischt muzinöse/nicht-muzinöse ADC) Tumoren [34]. Die krankheitsfreien 5-Jahres-Überlebensraten der drei Gruppen betragen entsprechend 100%, 83%-90% und 67%-76% [34]. Eine Assoziation zum Lymphknotenstatus wurde nicht untersucht, da die Studie nur Erkrankungen im Stadium I beinhaltete [34]. *Kadota et al.* kombinierten die Mitosenanzahl (0-1; 2-4;  $\geq 5$ , in 10 HPF) mit den histologischen Subtypen bzw. Wachstumsmustern zu einem gemeinsamen Differenzierungssystem („combined architectural/mitotic grading system“) [49]. Die Wahrscheinlichkeit innerhalb von fünf Jahren kein Rezidiv zu erleiden („recurrence-free probability“) lag in diesem Zusammenhang für gut differenzierte Tumoren bei 92%, für mäßig differenzierte Tumoren bei 78% und für schlecht differenzierte Tumoren bei 68% [49]. *Von der Thüsen et al.* beschrieben neben den prädominanten Wachstumsmustern einen nukleären Differenzierungsgrad, der den Zellkerndurchmesser mit der Mitosenanzahl kombiniert und berechneten hieraus zwei Risikogruppen [29]. Die Arbeitsgruppe fand heraus, dass dieses nukleäre Grading die Prognose der Patienten genauer abbildet als die Mitosenanzahl alleine [29]. Eine mögliche Assoziation zum Lymphknotenstatus wurde nicht untersucht [29].

Für pulmonale Plattenepithelkarzinome gibt es noch keine etablierten Differenzierungsgrade [6, 20]. Eine Studie von *Weichert et al.* schlägt diesbezüglich

einen Score vor, der Tumor Budding und Tumorzellnestgröße („tumor cell nest size“) kombiniert [42]. Dieser basiert auf einer dreistufigen Graduierung und korrelierte signifikant mit dem Gesamtüberleben (G1: 81,8±3,4 Monate; G2: 62,6±3,2 Monate; G3: 43±6,2 Monate), nicht jedoch mit dem Lymphknotenstatus [42]. Beide Parameter wurden zuvor auch von *Kadota et al.* als negative prognostische Faktoren beschrieben [38]. Zudem konnte ein signifikanter Zusammenhang zum Lymphknotenstatus nachgewiesen werden [38]. Bestand eine Einzelzellinvasion („single cell invasion“) im gesamten Tumorbereich bzw. im Tumorrandbereich, lagen die Wahrscheinlichkeiten von Lymphknotenmetastasen (N1/N2) bei 34% bzw. 37% [38]. Bestand keine Einzelzellinvasion, betrugen diese hingegen nur 24% bzw. 25% [38]. Auch maximales (in 1 HPF) und gesamtes (in 10 HPF) Tumor Budding korrelierten mit der Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen (N1/N2) [38]. Diese lagen bei Nachweis eines höheren TB mit 38% ( $\geq 10/1\text{HPF}$ ) und 37% ( $\geq 8/10\text{HPF}$ ) deutlich häufiger vor, als bei einem geringeren TB mit 26% ( $< 10/1\text{HPF}$ ) und 23% ( $< 8/10\text{HPF}$ ) [38]. Innerhalb der einzelnen Studien, die sich mit möglichen Differenzierungsgraden der NSCLC beschäftigten, zeigen sich unterschiedliche Ansatzpunkte, die eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschweren. Zudem existiert in der klinischen Routine keine Einteilung, die sowohl auf Adeno- als auch auf Plattenepithelkarzinome angewendet werden könnte.

## 1.7 Zielsetzung und Fragestellungen

Der Lymphknotenstatus hat eine wichtige prognostische und therapeutische Bedeutung für NSCLC. Der Einfluss histologischer Parameter auf die lymphonoduläre Metastasierung ist teils jedoch nur unzureichend untersucht oder durch heterogene Ergebnisse gekennzeichnet. Des Weiteren bestehen viele unterschiedliche Herangehensweisen und uneinheitliche Definitionen der untersuchten Kriterien, sodass es notwendig ist eine einheitliche Methodik zu etablieren. Dies ist auch vor dem Hintergrund der untersucherabhängigen Variabilität ein wichtiger Aspekt. Zudem sollte sich eine standardisierte Methodik an aktuellen Klassifikationssystemen wie der aktuellen „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“ orientieren, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Ferner ist eine kostengünstige und anwendungsbezogene Methodik notwendig, um diese in den klinischen Alltag implementieren und eine flächendeckende Umsetzung gewährleisten zu können. Die vorliegende Arbeit greift diese Thematik auf und beleuchtet, inwiefern klinische und

histomorphologische Parameter mit dem Lymphknotenstatus assoziiert sind. Aufgrund der dargestellten, heterogenen Datenlage in der Literatur wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine Patientenkohorte betrachtet, die alle Erkrankungsstadien (I-IV) und sowohl Adeno- als auch Plattenepithelkarzinome beinhaltet. Folgende Fragen werden hierbei thematisiert:

**A. Korrelieren folgende klinische Parameter mit dem Lymphknotenstatus?**

- I. Tumorgröße
- II. Patientengeschlecht
- III. Patientenalter

**B. Besteht eine Assoziation zwischen folgenden histomorphologischen Kriterien und dem Lymphknotenstatus?**

- I. Prädominante Wachstumsmuster
- II. Lymphgefäßinvasion
- III. Blutgefäßinvasion
- IV. Mitosenanzahl
- V. Tumornekrosen
- VI. Tumor Budding

**C. Besteht ein Zusammenhang zwischen Tumor-infiltrierenden Lymphozyten und dem Lymphknotenstatus?**

**D. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Morphologie des lymphozytären Infiltrats und dem Lymphknotenstatus?**

**E. Ist es möglich anhand eines Punktesystems, das auf klinischen und/oder histomorphologischen Parametern der konventionellen HE-Färbung basiert, die Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen abzubilden?**

**F. Gibt es innerhalb der analysierten klinischen und histomorphologischen Kriterien unabhängige Prädiktoren des Lymphknotenstatus?**

## **2. Material und Methodik**

### **2.1 Patientenkohorte**

Grundlage der vorliegenden Arbeit sind operativ entfernte Lungentumoren (Resektate), die im Zeitraum der Jahre 2000 bis 2014 am Institut für Pathologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin, dem Bioptischen Institut Gemeinschaftspraxis für Pathologie in Berlin und dem Johannes Wesling Klinikum in Minden diagnostiziert wurden. Hiervon wurden ausschließlich Karzinome berücksichtigt, von denen vollständige klinische und histopathologische Daten erhoben werden konnten und die nicht mit einer neoadjuvanten Chemo- oder Strahlentherapie behandelt wurden. Von den ursprünglich 400 Fällen mussten aus diesen Gründen 37 Fälle ausgeschlossen werden, sodass die Auswertung insgesamt 363 Fälle umfasste (258 Adenokarzinome, 105 Plattenepithelkarzinome). Anhand der pathologischen Befundberichte wurden jeweils der Primärtumor (pT1-4), der Lymphknotenstatus (pN0-3) und das Erkrankungsstadium (I-IV) erfasst. Diese wurden entsprechend der aktuellen achten „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“ bzw. nach IASLC/ UICC umformuliert [4, 5, 18-20].

### **2.2 Klinische Auswertung**

Die klinische Auswertung der Patientenkohorte umfasste die Parameter Tumorgroße (mm), Patientengeschlecht (männlich, weiblich) und Patientenalter (Jahre). Das Patientenalter berücksichtigt hierbei den Zeitpunkt der Erstdiagnose und die Tumorgroße wurde anhand des makroskopischen pathologischen Befundberichts erfasst. Bei Vorliegen mehrerer pulmonaler Tumoren wurde der größte berücksichtigt.

### **2.3 Histomorphologische Auswertung**

Die histomorphologische Beurteilung der NSCLC-Fälle erfolgte anhand der konventionellen HE-Färbung. Hierunter wurde je Tumor ein repräsentativer Schnitt ausgewählt. Insgesamt wurde die histologische Beurteilung jeweils zweimalig und unabhängig voneinander von zwei unterschiedlichen Untersuchern (Thilo Graumann, PD Dr. med. Maximilian von Laffert) durchgeführt. Hierzu wurde ein Olympus BX40 Mikroskop verwendet. Bei diskordanten Fällen wurde im Rahmen einer gemeinsamen Reevaluation eine Konsensentscheidung getroffen.

### **2.3.1 Prädominante Wachstumsmuster**

Die prädominanten Wachstumsmuster wurden entsprechend der aktuellen WHO-Klassifikation für Adeno- (lepidisch, azinär, papillär, solide, mikropapillär) und Plattenepithelkarzinome (verhornend, nicht-verhornend, basaloid) semiquantitativ (%) abgeschätzt [6].

### **2.3.2 Lymph- und Blutgefäßinvasion**

Lymph- (pL) und Blutgefäßinvasion (pV) wurden dichotom als mikroskopisch nicht vorhanden (pL0, pV0) oder vorhanden (pL1, pV+) erfasst. Da lediglich ein Fall (0,3% bzw. 1/363) eine makroskopische Blutgefäßinvasion (pV2) aufwies, wurde dieser in die Gruppe der mikroskopischen Blutgefäßinvasion (pV1) integriert und so die Kategorie pV+ definiert. Eine makroskopische Lymphgefäßinvasion bestand bei keinem der 363 analysierten Fälle.

### **2.3.3 Mitosenanzahl**

Die Mitosenanzahl wurde in zehn Hauptgesichtsfeldern („high-power fields“, HPF) des Präparats quantifiziert (Mitosenanzahl/10HPF). Die Beurteilung erfolgte hierbei mit einer vierhundertfachen Vergrößerung (Objektiv 40x) bei einer Sehfeldzahl von 25.

### **2.3.4 Tumornekrosen**

Tumornekrosen wurden innerhalb der gesamten Tumorfläche semiquantitativ (%) abgeschätzt. Hierzu wurde eine dreistufige Einteilung, entsprechend des jeweiligen Nekroseanteils, in die Kategorien gering (0-10% nekrotisch), intermediär (>10%-50% nekrotisch) und hoch (>50% nekrotisch) verwendet.

### **2.3.5 Tumor Budding**

Zur Beurteilung des Tumor Budding (TB) wurde die gebräuchliche Definition kleiner Tumorzellnester, die aus weniger als fünf Tumorzellen bestehen, verwendet [42, 47, 48]. Hierbei wurde dichotom zwischen dem Vorhandensein (TB+) und dem Fehlen (TB-) von Tumor Budding unterschieden.

### **2.3.6 Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs)**

Die Beurteilung der TILs orientierte sich zum Großteil an den Empfehlungen der „International Immunooncology Biomarker Working Group“ [62, 70]. TILs wurden semiquantitativ (%) anhand ihrer Ausprägung in vier Kategorien (sehr gering, gering, intermediär, hoch) eingeteilt und entsprechend ihrer Lokalisation für den zentralen

Tumorbereich („central tumor“, CT) und den invasiven Tumorrandbereich („invasive margin“, IM) beschrieben (vgl. Tabelle 5). Der invasive Tumorrandbereich beschreibt einen ein Millimeter breiten Bereich, in dessen Zentrum die Grenze zwischen den malignen Zellnestern und dem umgebenden Lungengewebe liegt [62]. Das restliche Tumorgewebe wird als zentraler Tumorbereich bezeichnet [62].

**Tabelle 5.** Die Beurteilung der TILs anhand der Ausprägung ihres Infiltrats.

Kategorien	Beschreibung der Morphologie des lymphozytären Infiltrats	semiquantitative Abschätzung, Vergrößerung 200x-400x
sehr gering	kein Infiltrat oder vereinzelte Zellen, nur sichtbar mit 400x Vergrößerung	<10%
gering	dezentes Infiltrat oder einige verteilte Zellen, sichtbar mit 100x bis 200x Vergrößerung	10-30%
intermediär	deutliches Infiltrat, gut sichtbar bei 20x bis 40x Vergrößerung	>30-60%
hoch	sehr ausgeprägtes Infiltrat, lymphozytärer Rasen, deutlich sichtbar bei 20x Vergrößerung	>60%

*Abkürzungen: TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten.*

### 2.3.7 Zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC)

Die morphologische Analyse umfasste noduläre und folliculäre Aggregate von wenigstens fünfzig Lymphozyten. Diese wurden als zirkuläre lymphozytäre Zellcluster („circular lymphocytic cell clusters“, CLCC) definiert. Hierzu musste die Definition der tertiären lymphoiden Strukturen [72] nicht erfüllt sein. Es erfolgte eine dichotome Einteilung in zwei Kategorien, die das Vorhandensein (CLCC+) bzw. die Abwesenheit (CLCC-) von CLCC beschreibt. Die histologische Beurteilung beinhaltete ebenfalls den zentralen Tumorbereich (CLCC-CT) und den invasiven Tumorrandbereich (CLCC-IM).

## 2.4 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit SPSS Statistics Version 26 (IBM Corporation, USA) durchgeführt. Die Tabellen und Abbildungen wurden mit Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA) erstellt. P-Werte <0,05 wurden als signifikant bewertet.

## 2.4.1 Univariate Analyse

### 2.4.1.1 Klinische und histomorphologische Parameter

Der Lymphknotenstatus wurde als ordinal skalierte Variable mit den Kategorien pN0, pN1 und pN>1 analysiert. Die metrischen Parameter Tumorgröße, Patientenalter und Mitosenanzahl wurden zunächst mittels des Jonckheere-Terpstra-Tests mit dem Lymphknotenstatus korreliert und im Anschluss gruppiert. Die Tumorgröße wurde basierend auf den Größendefinitionen der aktuellen achten TNM-Klassifikation in mehrere Gruppen eingeteilt ( $\leq 10\text{mm}$ ;  $>10\text{mm}$  und  $\leq 20\text{mm}$ ;  $>20\text{mm}$  und  $\leq 30\text{mm}$ ;  $>30\text{mm}$  und  $\leq 40\text{mm}$ ;  $>40\text{mm}$  und  $\leq 50\text{mm}$ ;  $>50\text{mm}$  und  $\leq 70\text{mm}$ ;  $>70\text{mm}$ ) [16]. Die Einteilung des Patientenalters und der Mitosenanzahl erfolgte dichotom anhand der Mittelwerte des gesamten Patientenkollektivs. Der Mittelwert des Patientenalters betrug 65,8 Jahre (Median: 68 Jahre, Intervall: 38-87 Jahre) und definierte die Gruppen der älteren ( $>65$  Jahre) und der jüngeren Patienten ( $\leq 65$  Jahre). Der Mittelwert der Mitosenanzahl lag bei 8,8/10HPF (Median: 6/10HPF, Intervall: 0-51/10HPF), sodass eine Mitosenanzahl über dem Mittelwert ( $\geq 10/10\text{HPF}$ ) als hoch und unter bzw. gleich dem Mittelwert ( $<10/10\text{HPF}$ ) als niedrig definiert wurde. Die Korrelation der so neu gruppierten Variablen mit dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) wurde mittels des Chi-Quadrat-Trendtests berechnet und als Zusammenhangsmaß wurde der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient ( $r_s$ ) verwendet.

Als kategoriale Variablen wurden das Patientengeschlecht (männlich, weiblich), die prädominanten Wachstumsmuster der ADC (lepidisch, azinär, papillär, solide, mikropapillär) und SCC (verhornend, nicht-verhornend, basaloid), die Lymph- (pL0, pL1) und Blutgefäßinvasion (pV0, pV+), Tumornekrosen (gering, intermediär, hoch), Tumor Budding (TB-, TB+), Tumor-infiltrierende Lymphozyten im zentralen Tumorbereich (TILs-CT; sehr gering, gering, intermediär, hoch) bzw. im invasiven Tumorrandbereich (TILs-IM; sehr gering, gering, intermediär, hoch) sowie zirkuläre lymphozytäre Zellcluster im zentralen Tumorbereich (CLCC-CT-, CLCC-CT+) bzw. im invasiven Tumorrandbereich (CLCC-IM-, CLCC-IM+) beurteilt. Die kategorialen Parameter wurden mit dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) mittels des Chi-Quadrat-Trendtests korreliert und als Zusammenhangsmaß wurde der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient ( $r_s$ ) berechnet.



Die statistische Analyse wurde sowohl für die Gesamtheit der NSCLC (n=363), als auch für die Untergruppen der Adeno- (n=258) und der Plattenepithelkarzinome (n=105) durchgeführt.

#### **2.4.1.2 Berechnung des PLYNOM-Scores**

Der PLYNOM-Score („probability of lymphonodular metastasis“) schätzt die Wahrscheinlichkeit einer lymphonodulären Metastasierung ab und basiert auf den lymphozytären Parametern, die in der univariaten Analyse der Gesamtkohorte (NSCLC) signifikant mit dem Nodalstatus korrelierten. Die vier Kategorien der TILs-CT und TILs-IM (sehr gering, gering, intermediär, hoch) wurden jeweils zu einer gering- (sehr gering, gering) und einer hochgradigen (intermediär, hoch) Kategorie zusammengefasst, sodass der PLYNOM-Score die dichotomen Parameter TILs-CT (0-1 Punkt), TILs-IM (0-1 Punkt), CLCC-CT (0-1 Punkt) und CLCC-IM (0-1 Punkt) beinhaltet. Die maximale Punktzahl des Scores beträgt vier Punkte (vgl. Tabelle 6). Der PLYNOM-Score (0-4 Punkte) wurde mit dem Nodalstatus (pN0, pN1, pN>1) mittels des Chi-Quadrat-Trendtests korreliert und als Zusammenhangsmaß wurde der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient berechnet. Anschließend wurden anhand der Wahrscheinlichkeit einer Lymphknotenmetastasierung drei Kategorien definiert: PLYNOM-I (0 Punkte), PLYNOM-II (1-2 Punkte) und PLYNOM-III (3-4 Punkte), wobei eine höhere Punktzahl bedeutet, dass ein ausgeprägteres lymphozytäres Infiltrat (TILs) vorliegt und/oder CLCC nachweisbar sind (vgl. Tabelle 6). Eine Korrelation dieser drei Kategorien mit dem Nodalstatus (pN0, pN1, pN>1) wurde ebenfalls mittels des Chi-Quadrat-Trendtests durchgeführt. Als Zusammenhangsmaß wurde der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient ( $r_s$ ) verwendet.

**Tabelle 6.** Die Berechnung des PLYNOM-Scores, maximale Punktzahl: 4 Punkte.

Parameter	Definition	Punkte	PLYNOM-Score	
			Punktzahl ( $\Sigma$ )	Kategorie
TILs-CT	geringgradig	0	0	PLYNOM-I
	hochgradig	1		
TILs-IM	geringgradig	0	1-2	PLYNOM-II
	hochgradig	1	3-4	PLYNOM-III
CLCC-CT	CLCC-CT -	0		
	CLCC-CT +	1		
CLCC-IM	CLCC-IM -	0		
	CLCC-IM +	1		

Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; IM, invasiver Tumorrandbereich; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“;  $\Sigma$ , Summe; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten.

### 2.4.1.3 Relatives Risiko

Zur Ermittlung des relativen Risikos (RR) einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) wurden Parameter, die im Rahmen der univariaten Analyse noch nicht in dichotomer Form vorlagen, entsprechend zusammengefasst. Die Tumorgöße (>37mm; ≤37mm) wurde hierzu anhand des Mittelwerts der Gesamtkohorte (NSCLC; Mittelwert: 37,3mm) eingeteilt. Ferner wurden Tumoren mit einem geringen (0-10%) bis intermediären (>10%-50%) Nekroseanteil in einer Kategorie beschrieben (>50%; ≤50%). TILs-CT und TILs-IM wurden in ihren dichotomen Kategorien (hoch-; geringgradig) beurteilt. Die Berechnung des relativen Risikos umfasste somit folgende Parameter in dichotomer Form: Tumorgöße (>37mm; ≤37mm), Geschlecht (männlich; weiblich), Patientenalter (>65 Jahre; ≤65 Jahre), Lymphgefäßinvasion (pL1; pL0), Blutgefäßinvasion (pV+; pV0), Mitosenanzahl (≥10/10HPF; <10/10HPF), Tumornekrosen (>50%; ≤50%), Tumor Budding (TB+, TB-), TILs-CT (hoch-; geringgradig), TILs-IM (hoch-; geringgradig), CLCC-CT (CLCC-CT+; CLCC-CT-) und CLCC-IM (CLCC-IM+; CLCC-IM-). Auch für den PLYNOM-Score wurde das relative Risiko einer Lymphknotenmetastasierung berechnet. Hierzu wurde sowohl eine Gruppierung der beiden höchsten (PLYNOM-II/III, 1-4 Punkte), als auch der beiden niedrigsten Kategorien (PLYNOM-I/II, 0-2 Punkte) vorgenommen und jeweils mit der verbleibenden Kategorie (PLYNOM-I, 0 Punkte bzw. PLYNOM-III, 3-4 Punkte) verglichen. Zunächst wurden alle Parameter mittels des exakten Tests nach Fischer mit dem Lymphknotenstatus (pN+, pN0) korreliert. Als Zusammenhangsmaß wurde der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient

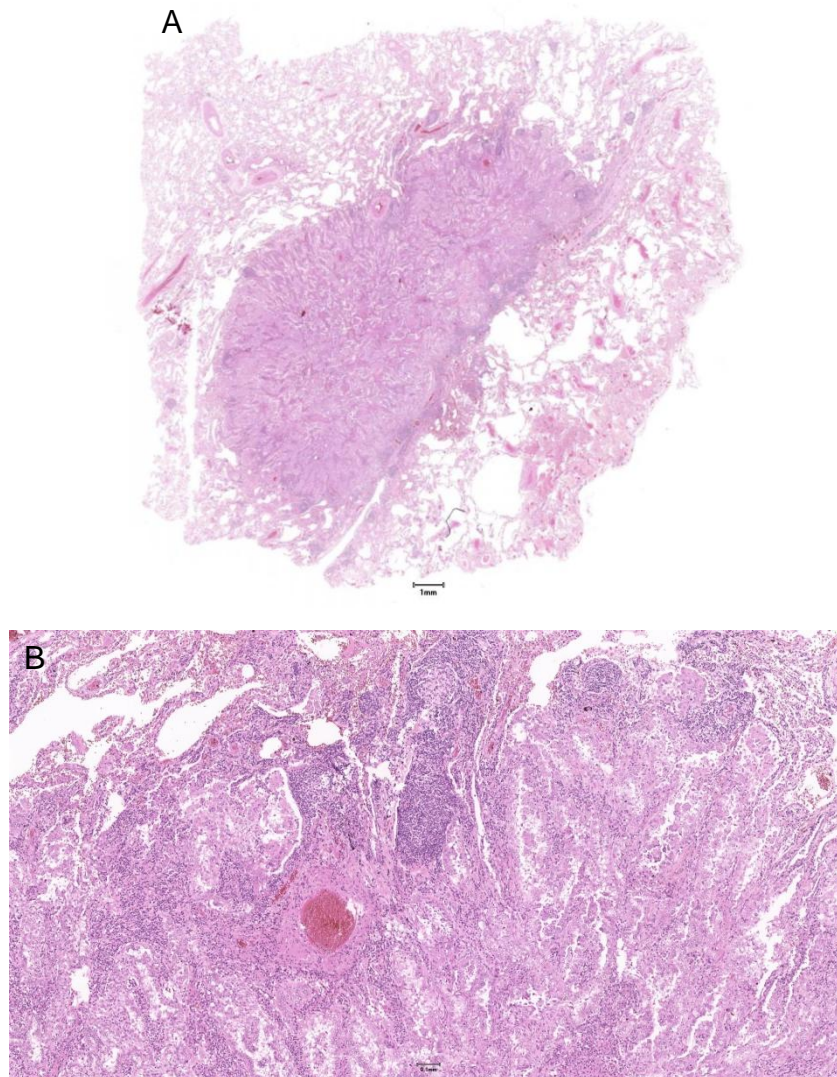
verwendet. Das relative Risiko für eine Lymphknotenmetastasierung wurde anhand der Kreuztabellen für jeden Parameter berechnet. Das Konfidenzintervall betrug 95%.

### **2.4.2 Multivariate Analyse**

Die Parameter, die in der univariaten Analyse signifikant mit dem Lymphknotenstatus korrelierten, wurden in die multivariate Analyse eingeschlossen. Die berechnete binäre logistische Regression beinhaltete den Nodalstatus (pN0, pN+) als abhängige Variable und sowohl dichotome (pL, pV, TILs-CT, TILs-IM, CLCC-CT, CLCC-IM), als auch metrische Variablen (Tumorgröße, Patientenalter, Mitosenanzahl) als unabhängige Variablen. Eine zweite binäre logistische Regression beinhaltete anstelle der einzelnen lymphozytären Parameter den PLYNOM-Score (0-4 Punkte). Zudem erfolgte in einer dritten binären logistischen Regression eine Gegenüberstellung der einzelnen Kategorien des PLYNOM-Scores (PLYNOM-II vs. PLYNOM-I; PLYNOM-III vs. PLYNOM-I).

## 2.5. Repräsentative Beispiele

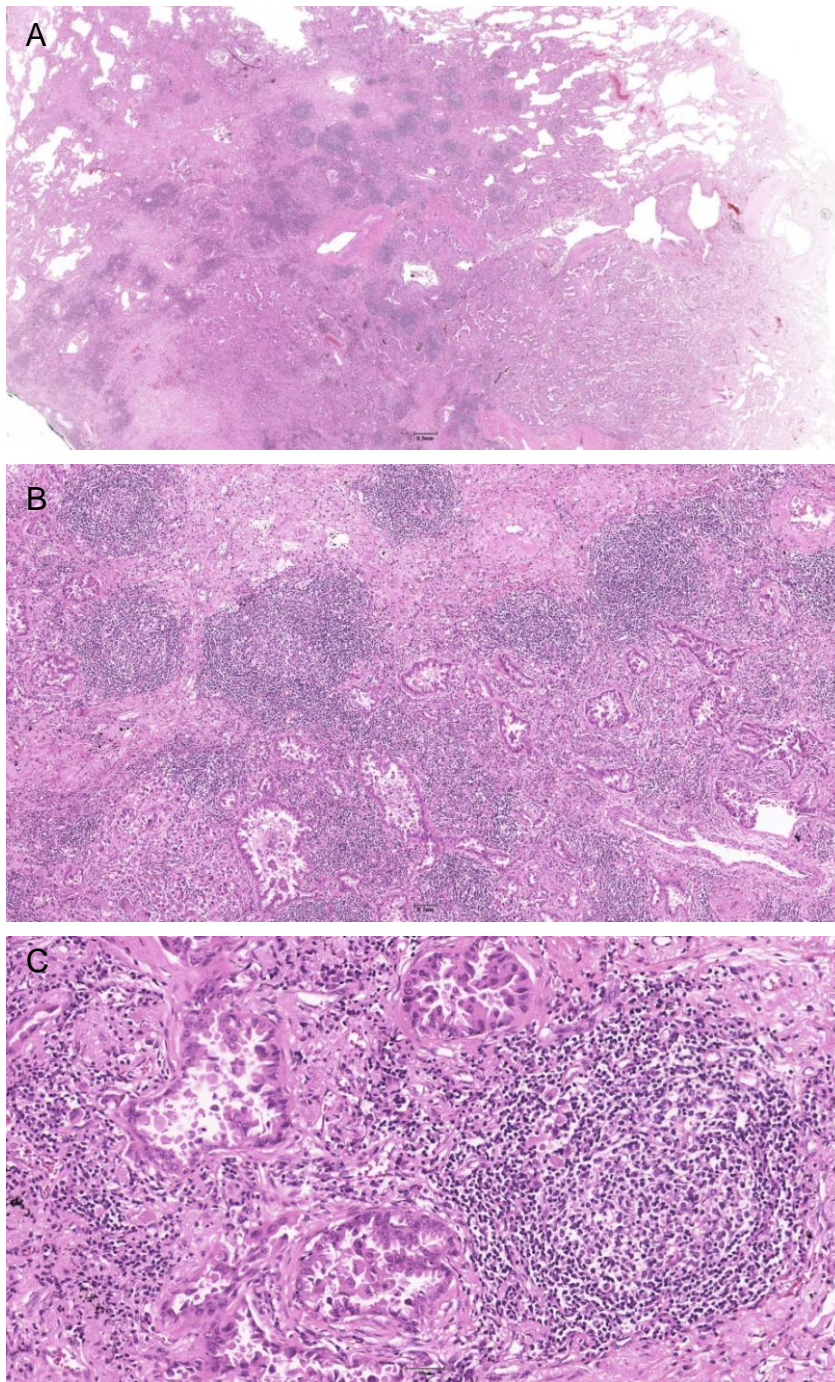
Die Abbildungen 1-4 enthalten repräsentative Beispiele der Fallauswertung.



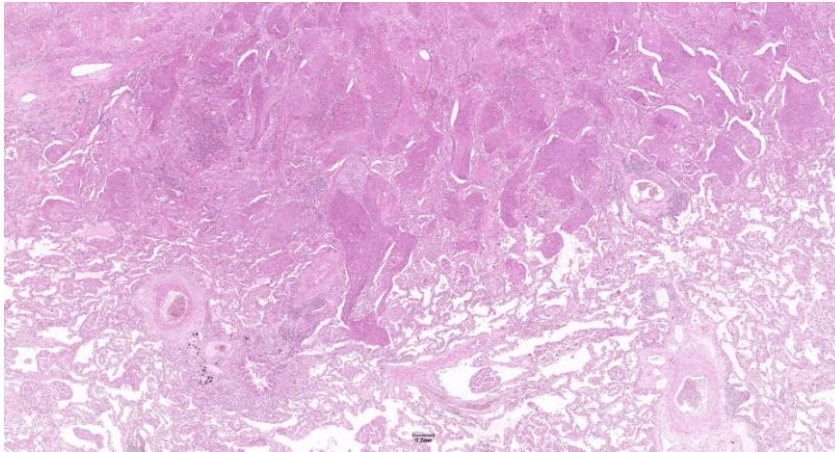
**Abbildung 1.** HE-Färbung; Maßeinheiten 1mm (A) und 100µm (B). Adenokarzinom; prädominant azinäres Wachstumsmuster; Mitosenanzahl: 3/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; kein Tumor Budding; TILs-CT intermediär (>30-60%); TILs-IM hoch (>60%); CLCC-CT-; CLCC-IM+. TNM: pT1b pN0 cM0; pL0; pV0; Stadium IA2; Tumorgröße: 15mm; Geschlecht: männlich; Patientenalter: 73 Jahre. PLYNOM-Score: 3 Punkte = Kategorie PLYNOM-III.

*Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, Hauptgesichtsfeld; IM, invasiver Tumorrandbereich; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten.*

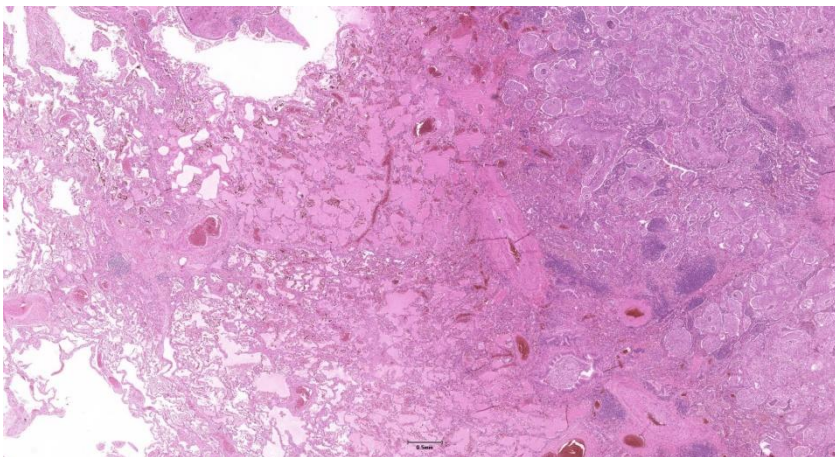




**Abbildung 2.** HE-Färbung; Maßeinheiten 500µm (A), 100µm (B) und 50µm (C). Adenokarzinom; prädominant azinäres Wachstumsmuster; Mitosenanzahl: 2/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; kein Tumor Budding; TILs-CT hoch (>60%); TILs-IM hoch (>60%); CLCC-CT+; CLCC-IM+. TNM: pT1c pN0 cM0; pL0; pV1; Stadium IA3; Tumorgröße: 30mm; Geschlecht: weiblich; Patientenalter: 68 Jahre. PLYNOM-Score: 4 Punkte = Kategorie PLYNOM-III.  
 Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, Hauptgesichtsfeld; IM, invasiver Tumorrandbereich; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten.



**Abbildung 3.** HE-Färbung; Maßeinheit 200µm. Plattenepithelkarzinom mit prädominant nicht-verhornendem Wachstumsmuster; Mitosenanzahl 28/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; Tumor Budding (TB+); TILs-CT intermediär (>30%-60%); TILs-IM gering (10-30%); CLCC-CT-; CLCC-IM-. TNM: pT3 pN1 cM0; pL1; pV0; Stadium IIIA; Tumorgröße: 51mm; Geschlecht: weiblich; Patientenalter: 75 Jahre. PLYNOM-Score: 1 Punkt = Kategorie PLYNOM-II.  
 Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, Hauptgesichtsfeld; IM, invasiver Tumorrandbereich; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; TB, Tumor Budding; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten.



**Abbildung 4.** HE-Färbung; Maßeinheit 500µm. Plattenepithelkarzinom mit prädominant nicht-verhornendem Wachstumsmuster; Mitosenanzahl 12/10HPF; Tumornekrosen: 0-10%; kein Tumor Budding; TILs-CT intermediär (>30%-60%); TILs-IM hoch (>60%); CLCC-CT+; CLCC-IM+. TNM: pT2a pN0 cM0; pL0; pV0; Stadium IB; Tumorgröße: 25mm; Geschlecht: männlich; Patientenalter: 70 Jahre. PLYNOM-Score: 4 Punkte = Kategorie PLYNOM-III.  
 Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, Hauptgesichtsfeld; IM, invasiver Tumorrandbereich; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten.



## 3. Ergebnisse

### 3.1 Patientenkohorte

Die Patientenkohorte umfasste 40,5% (147/363) pT1-Tumoren, die sich wie folgt auf die Untergruppen aufteilten: 4,1% (6/147) pT1a; 42,2% (62/147) pT1b und 53,7% (79/147) pT1c. Die pT2-Tumoren machten 32% (116/363) des Gesamtkollektivs aus und beinhalteten 71,6% (83/116) pT2a- und 28,4% (33/116) pT2b-Fälle. Zudem lagen zu 15,4% (56/363) pT3-Tumoren und zu 12,1% (44/363) pT4-Tumoren vor. Bei 70,5% (256/363) der NSCLC lagen keine Lymphknotenmetastasen (pN0) vor. Bei 16,3% (59/363) bestand eine pN1-Situation, bei 12,9% (47/363) eine pN2-Situation und bei einem Fall (0,3% bzw. 1/363) eine pN3-Situation.

Insgesamt befanden sich 45,7% (166/363) der Patienten im Stadium I. Hiervon waren 2,4% (4/166) IA1-Fälle, 30,7% (51/166) IA2-Fälle, 34,9% (58/166) IA3-Fälle und 31,9% (53/166) IB-Fälle. Des Weiteren befanden sich 27% (98/363) der NSCLC im Stadium II (22,4% (22/98) IIA-Fälle; 77,6% (76/98) IIB-Fälle) und 22,9% (83/363) im Stadium III (78,3% (65/83) IIIA-Fälle; 21,7% (18/83) IIIB-Fälle). Fernmetastasen lagen lediglich in 4,4% (16/363) der Fälle vor und entsprachen dem Erkrankungsstadium IV.

### 3.2 Univariate Analyse

#### 3.2.1 Klinische Parameter

##### 3.2.1.1 Tumorgröße

Als metrische Variable bestand für die Tumorgröße sowohl in der Gesamtkohorte ( $p < 0,001$ ) als auch für ADC ( $p = 0,021$ ) und SCC ( $p < 0,001$ ) eine signifikante Korrelation zum Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) im Jonckheere-Terpstra-Test. Nach der Zusammenfassung des Parameters zeigte sich weiterhin eine positive Korrelation zum Nodalstatus für NSCLC ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,185$ ) im Allgemeinen sowie für die Untergruppen der Adeno- ( $p = 0,022$ ;  $r_s = 0,127$ ) und der Plattenepithelkarzinome ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,380$ ). Der Mittelwert lag für NSCLC bei 37,3mm (Intervall: 2-170mm; Median: 30,0mm), für ADC bei 34,1mm (Intervall: 8-120mm; Median: 28,0mm) und für SCC bei 45,2mm (Intervall: 2-170mm; Median: 41,0mm). In der Gesamtkohorte der NSCLC zeigten sich bei Vorliegen von Lymphknotenmetastasen (pN0; pN1; pN>1) sowohl höhere mittlere Tumordurchmesser (34,0mm; 45,2mm; 45,0mm), als auch Medianwerte (28,0mm; 37,0mm; 41,5mm). Vergleichbare Ergebnisse wurden für die Untergruppen der ADC und SCC beobachtet (vgl. Tabelle 7). Die Gruppe der kleinsten Tumoren ( $\leq 10$ mm) wies

insgesamt zu 42,9% (3/7, NSCLC), 50% (2/4, ADC) und 33,3% (1/3, SCC) Lymphknotenmetastasen auf. In keiner dieser Gruppen lag ein pN>1-Status vor. Bei den größten Tumoren (>70mm) bestanden Lymphknotenmetastasen in 48,6% (18/37, NSCLC), 36,9% (7/19, ADC) und 61,1% (11/18, SCC) der Fälle. Der einzige pN3-Fall war ein Adenokarzinom mit einer Tumorgöße von 80mm.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 7 und Abbildung 5 zusammengefasst.

#### Zusammenfassung:

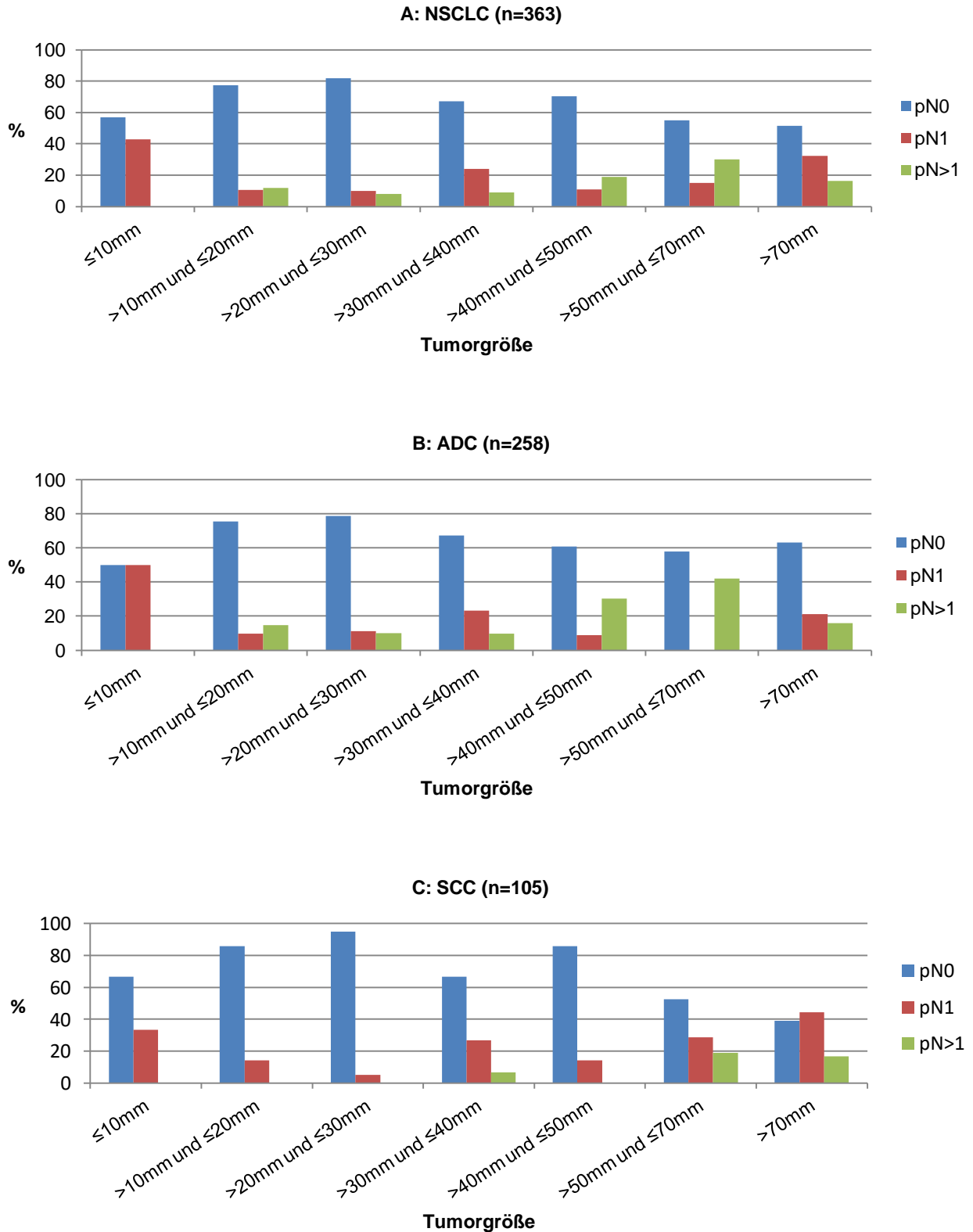
Für Adeno- und Plattenepithelkarzinome konnte ein positiver Zusammenhang zwischen dem Tumordurchmesser (mm) und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Bei den Plattenepithelkarzinomen lag eine deutlich höhere Effektstärke ( $r_s$ ) vor als bei den Adenokarzinomen.



**Tabelle 7.** Korrelation zwischen der Tumorgröße und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

Tumorgröße	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>	363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)		
≤10mm	7	4 (57,1)	3 (42,9)	0 (0)		
>10mm und ≤20mm	75	58 (77,3)	8 (10,7)	9 (12,0)		
>20mm und ≤30mm	100	82 (82,0)	10 (10,0)	8 (8,0)		
>30mm und ≤40mm	67	45 (67,2)	16 (23,9)	6 (9,0)	<b>&lt;0,001</b>	0,185
>40mm und ≤50mm	37	26 (70,3)	4 (10,8)	7 (18,9)		
>50mm und ≤70mm	40	22 (55,0)	6 (15,0)	12 (30,0)		
>70mm	37	19 (51,4)	12 (32,4)	6 (16,2)		
<i>Median</i>	<i>30,0</i>	<i>28,0</i>	<i>37,0</i>	<i>41,5</i>		
<i>Mittelwert</i>	<i>37,3</i>	<i>34,0</i>	<i>45,2</i>	<i>45,0</i>		
<i>Intervall</i>	<i>2-170</i>	<i>6-120</i>	<i>2-170</i>	<i>12-110</i>		
<b>ADC</b>	258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
≤10mm	4	2 (50,0)	2 (50,0)	0 (0)		
>10mm und ≤20mm	61	46 (75,4)	6 (9,8)	9 (14,8)		
>20mm und ≤30mm	80	63 (78,8)	9 (11,3)	8 (10,0)		
>30mm und ≤40mm	52	35 (67,3)	12 (23,1)	5 (9,6)	<b>0,022</b>	0,127
>40mm und ≤50mm	23	14 (60,9)	2 (8,7)	7 (30,4)		
>50mm und ≤70mm	19	11 (57,9)	0 (0)	8 (42,1)		
>70mm	19	12 (63,2)	4 (21,1)	3 (15,8)		
<i>Median</i>	<i>28,0</i>	<i>26,0</i>	<i>31,0</i>	<i>35,5</i>		
<i>Mittelwert</i>	<i>34,1</i>	<i>32,4</i>	<i>35,4</i>	<i>40,6</i>		
<i>Intervall</i>	<i>8-120</i>	<i>8-120</i>	<i>8-105</i>	<i>12-110</i>		
<b>SCC</b>	105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
≤10mm	3	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0)		
>10mm und ≤20mm	14	12 (85,7)	2 (14,3)	0 (0)		
>20mm und ≤30mm	20	19 (95,0)	1 (5,0)	0 (0)		
>30mm und ≤40mm	15	10 (66,7)	4 (26,7)	1 (6,7)	<b>&lt;0,001</b>	0,380
>40mm und ≤50mm	14	12 (85,7)	2 (14,3)	0 (0)		
>50mm und ≤70mm	21	11 (52,4)	6 (28,6)	4 (19,0)		
>70mm	18	7 (38,9)	8 (44,4)	3 (16,7)		
<i>Median</i>	<i>41,0</i>	<i>33,0</i>	<i>55,0</i>	<i>61,5</i>		
<i>Mittelwert</i>	<i>45,2</i>	<i>38,2</i>	<i>59,4</i>	<i>66,9</i>		
<i>Intervall</i>	<i>2-170</i>	<i>6-98</i>	<i>2-170</i>	<i>35-105</i>		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben. Die Mediane, Mittelwerte und Intervalle wurden in Kursivschrift dargestellt.



**Abbildung 5.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Tumorgröße und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.1.2 Patientengeschlecht

Insgesamt umfasste die Patientenkohorte 230 (63,4%) männliche und 133 (36,6%) weibliche Patienten. Das Geschlecht der Patienten hatte jedoch weder in der Gesamtkohorte ( $p=0,736$ ;  $r_s=0,014$ ), noch in einer der beiden Untergruppen (ADC:  $p=0,370$ ;  $r_s=0,054$  bzw. SCC:  $p=0,158$ ;  $r_s=-0,113$ ) einen Einfluss auf den Nodalstatus. Männliche Patienten wiesen insgesamt in 29,1% (67/230) und weibliche Patienten in 30,1% (40/133) der Fälle Lymphknotenmetastasen auf. Keine der Patientinnen mit einem Plattenepithelkarzinom wies einen pN>1-Status auf. Der einzige pN3-Fall betraf einen männlichen Patienten.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 8 und Abbildung 6 zusammengefasst.

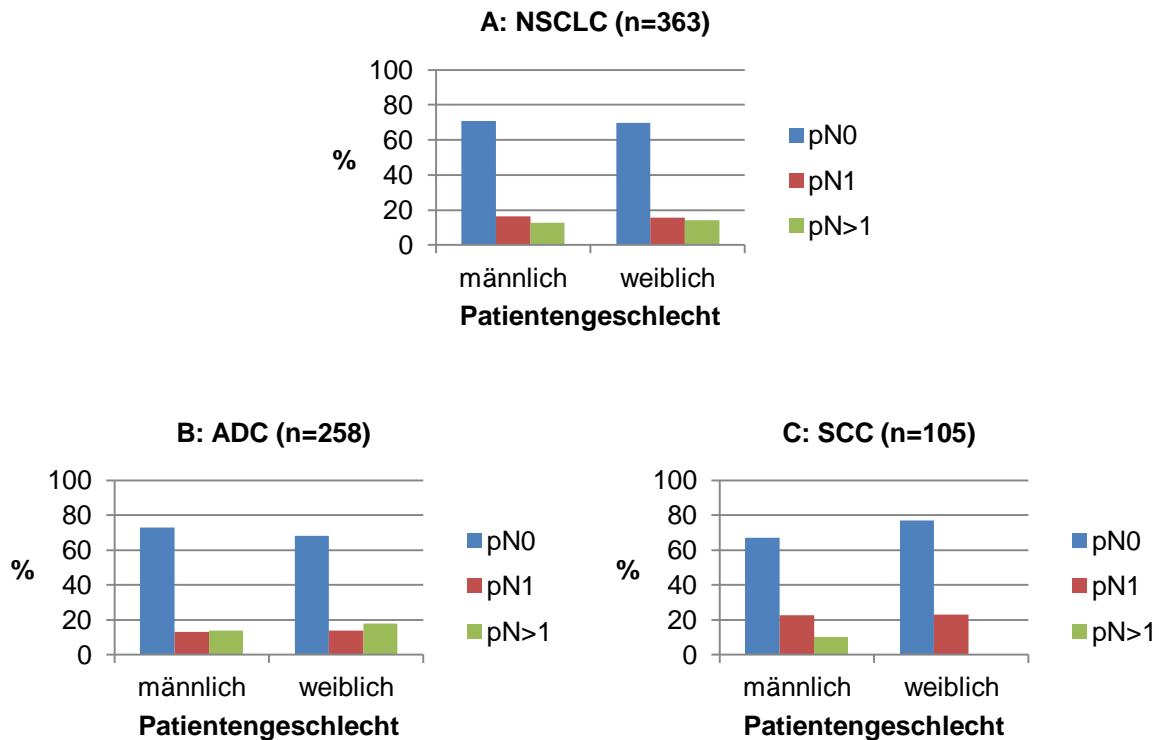
#### Zusammenfassung:

Ein Zusammenhang zwischen dem Patientengeschlecht (männlich, weiblich) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) konnte weder für Adeno-, noch für Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden.

**Tabelle 8.** Korrelation zwischen dem Patientengeschlecht und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	Geschlecht	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	$r_s$
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	0,736	0,014
	männlich	230	163 (70,9)	38 (16,5)	29 (12,6)		
	weiblich	133	93 (69,9)	21 (15,8)	19 (14,3)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	0,370	0,054
	männlich	151	110 (72,8)	20 (13,2)	21 (13,9)		
	weiblich	107	73 (68,2)	15 (14,0)	19 (17,8)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	0,158	-0,113
	männlich	79	53 (67,1)	18 (22,8)	8 (10,1)		
	weiblich	26	20 (76,9)	6 (23,1)	0 (0)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome.



**Abbildung 6.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Patientengeschlecht und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.1.3 Patientenalter

Das durchschnittliche Patientenalter bei Erstdiagnose betrug 65,8 Jahre (Median: 68,0 Jahre, Intervall: 38-87 Jahre). Das Durchschnittsalter bei den weiblichen Patienten lag bei 65,4 Jahren (Median: 67,0 Jahre, Intervall: 39-85 Jahre) und bei den männlichen Patienten bei 66,1 Jahren (Median: 68,0 Jahre, Intervall: 38-87 Jahre). In metrischer Form ließ sich für das Patientenalter sowohl in der Gesamtkohorte ( $p=0,004$ ), als auch bei ADC ( $p=0,042$ ) und SCC ( $p=0,035$ ) im Jonckheere-Terpstra-Test eine signifikante Korrelation zum Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachweisen. Nach der dichotomen Einteilung des Parameters korrelierte das Patientenalter nur in der Gesamtkohorte ( $p=0,030$ ;  $r_s=-0,117$ ) und der Untergruppe der Plattenepithelkarzinome ( $p=0,026$ ;  $r_s=-0,246$ ) signifikant mit dem Lymphknotenstatus. Bei den Adenokarzinomen konnte kein signifikanter Zusammenhang beobachtet werden ( $p=0,232$ ;  $r_s=-0,075$ ). In der Gesamtkohorte betrug der Altersmittelwert für pN0 66,8 Jahre (Median: 68,0 Jahre, Intervall: 38-85 Jahre), für pN1 64,5 Jahre (Median: 66,0 Jahre, Intervall: 43-81 Jahre) und für pN>1 62,6 Jahre (Median: 64,5 Jahre, Intervall: 39-87 Jahre). Bei Patienten  $\leq 65$

Jahren lagen Lymphknotenmetastasen in 35,8% (54/151, NSCLC), 32,5% (40/123, ADC) und 50% (14/28, SCC) der Fälle vor. Bei Patienten >65 Jahren waren es 25% (53/212, NSCLC), 25,9% (35/135, ADC) und 23,4% (18/77, SCC) der Fälle. Der Anteil an pN1- und pN>1-Fällen war bei Patienten ≤65 Jahren in allen analysierten Gruppen höher als bei Patienten >65 Jahren. Der einzige Patient mit einer pN3-Lymphknotenmetastasierung war bei Erstdiagnose 72 Jahre alt.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 9 und Abbildung 7 zusammengefasst.

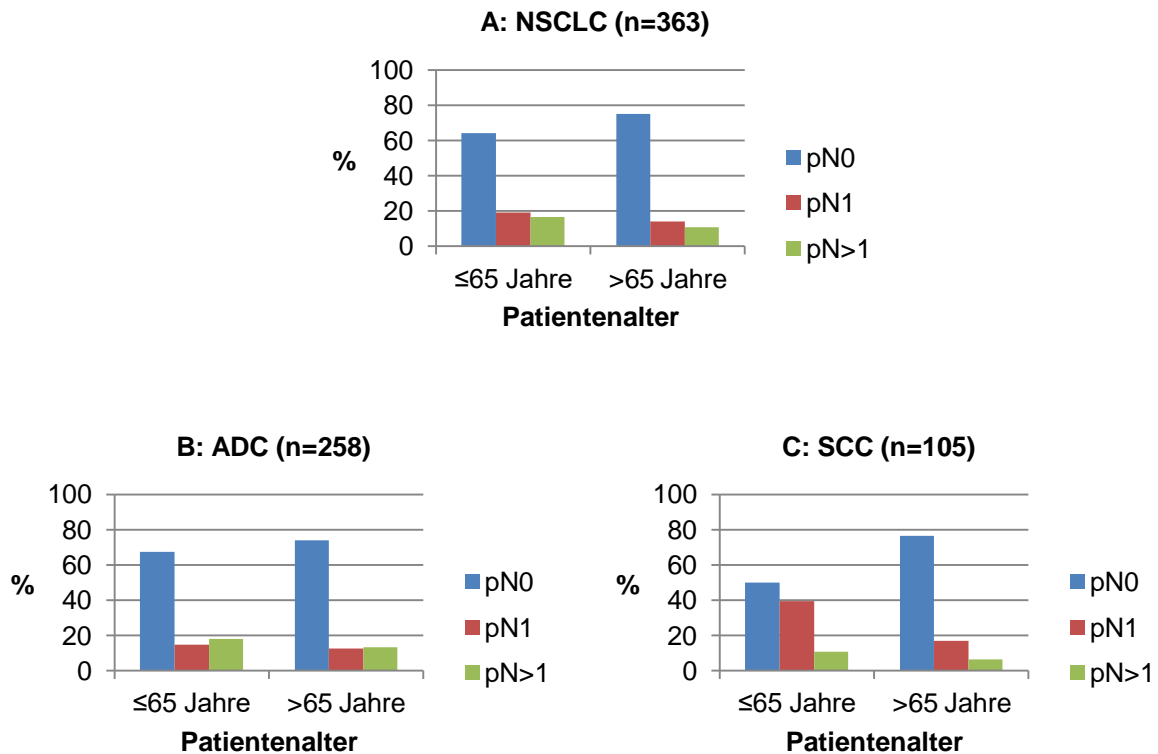
### Zusammenfassung:

Das Patientenalter korrelierte in metrischer Form sowohl bei den Adeno- als auch bei den Plattenepithelkarzinomen negativ mit dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1). Nach der dichotomen Einteilung (≤65 Jahre; >65 Jahre) ließ sich in der Gesamtkohorte der NSCLC und in der Untergruppe der Plattenepithelkarzinome weiterhin eine signifikante Assoziation zum Nodalstatus nachweisen.

**Tabelle 9.** Korrelation zwischen dem Patientenalter und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	Patientenalter	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	<b>0,030</b>	-0,117
	≤65 Jahre	151	97 (64,2)	29 (19,2)	25 (16,6)		
	>65 Jahre	212	159 (75,0)	30 (14,2)	23 (10,8)		
	<i>Median</i>	<i>68,0</i>	<i>68,0</i>	<i>66,0</i>	<i>64,5</i>		
	<i>Mittelwert</i>	<i>65,8</i>	<i>66,8</i>	<i>64,5</i>	<i>62,6</i>		
	<i>Intervall</i>	<i>38-87</i>	<i>38-85</i>	<i>43-81</i>	<i>39-87</i>		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	0,232	-0,075
	≤65 Jahre	123	83 (67,5)	18 (14,6)	22 (17,9)		
	>65 Jahre	135	100 (74,1)	17 (12,6)	18 (13,3)		
	<i>Median</i>	<i>66,5</i>	<i>67,0</i>	<i>65,0</i>	<i>63,0</i>		
	<i>Mittelwert</i>	<i>64,7</i>	<i>65,5</i>	<i>64,9</i>	<i>61,3</i>		
	<i>Intervall</i>	<i>38-85</i>	<i>38-85</i>	<i>47-77</i>	<i>39-84</i>		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	<b>0,026</b>	-0,246
	≤65 Jahre	28	14 (50,0)	11 (39,3)	3 (10,7)		
	>65 Jahre	77	59 (76,6)	13 (16,9)	5 (6,5)		
	<i>Median</i>	<i>70,0</i>	<i>72,0</i>	<i>66,5</i>	<i>71,5</i>		
	<i>Mittelwert</i>	<i>68,6</i>	<i>70,0</i>	<i>63,8</i>	<i>69,5</i>		
	<i>Intervall</i>	<i>43-87</i>	<i>49-84</i>	<i>43-81</i>	<i>55-87</i>		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben. Die Mediane, Mittelwerte und Intervalle wurden in Kursivschrift dargestellt.



**Abbildung 7.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Patientenalter und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.2 Histomorphologische Parameter

#### 3.2.2.1 Prädominante Wachstumsmuster

Das häufigste prädominante Wachstumsmuster (PDW) bei den Adenokarzinomen war das azinäre (45,3% (117/258)), gefolgt vom soliden (31,4% (81/258)), papillären (12,4% (32/258)), lepidischen (9,7% (25/258)) und mikropapillären (1,2% (3/258)). Zwei der drei prädominant mikropapillären Adenokarzinome wiesen Lymphknotenmetastasen (beide pN1) auf. Bei den Plattenepithelkarzinomen war das häufigste PDW das nicht-verhornende (60% (63/105)), gefolgt vom verhornenden (32,4% (34/105)) und basaloiden (7,6% (8/105)). In der Gruppe der prädominant basaloiden Plattenepithelkarzinome wies lediglich ein Fall (12,5% (1/8)) Lymphknotenmetastasen (pN1) auf. Weder bei den ADC, noch bei den SCC konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen den PDW und dem Nodalstatus identifiziert werden. Beim einzigen pN3-Fall handelte es sich um ein prädominant solides Adenokarzinom. Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 10 und Abbildung 8 zusammengefasst.

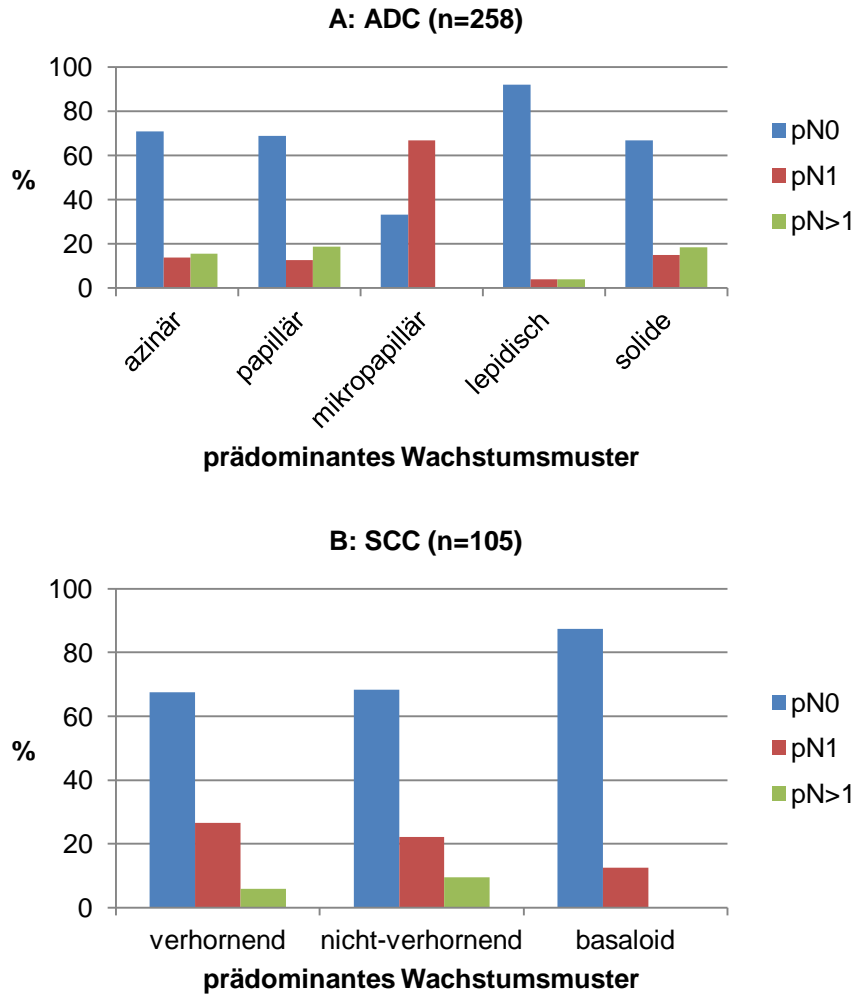
### Zusammenfassung:

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen den prädominanten Wachstumsmustern und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) konnte weder für Adeno-, noch für Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden.

**Tabelle 10.** Korrelation zwischen den prädominanten Wachstumsmustern der Adeno- und der Plattenepithelkarzinome und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

PDW	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>ADC</b>	258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
azinär	117	83 (70,9)	16 (13,7)	18 (15,4)		
papillär	32	22 (68,8)	4 (12,5)	6 (18,8)		
mikropapillär	3	1 (33,3)	2 (66,7)	0	0,918	0,019
lepidisch	25	23 (92,0)	1 (4,0)	1 (4,0)		
solide	81	54 (66,7)	12 (14,8)	15 (18,5)		
<b>SCC</b>	105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
verhornend	34	23 (67,6)	9 (26,5)	2 (5,9)		
nicht-verhornend	63	43 (68,3)	14 (22,2)	6 (9,5)	0,575	-0,057
basaloid	8	7 (87,5)	1 (12,5)	0		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; PDW, prädominante Wachstumsmuster; SCC, Plattenepithelkarzinome.



**Abbildung 8.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen den prädominanten Wachstumsmustern der ADC (A) und der SCC (B) und dem Lymphknotenstatus.  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.2.2 Lymphgefäßinvasion

Die Lymphgefäßinvasion korrelierte in der Gesamtkohorte ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,687$ ) und in den Untergruppen der Adeno- ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,657$ ) und der Plattenepithelkarzinome ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,770$ ) positiv mit dem Lymphknotenstatus. Insgesamt bestand bei 152 der 363 NSCLC-Fälle (41,9%) eine Lymphgefäßinvasion. Hiervon wiesen 67,1% (102/152) der Fälle eine Lymphknotenmetastasierung auf (pN1: 37,5% (57/152); pN>1: 29,6% (45/152)). Bei den 211 NSCLC, bei denen keine Lymphgefäßinvasion nachgewiesen werden konnte, lagen lediglich in 2,3% (5/211) der Fälle Lymphknotenmetastasen vor (pN1: 0,9% (2/211); pN>1: 1,4% (3/211)). Bei allen fünf Tumoren handelte es sich um Adenokarzinome. Unter den Adenokarzinomen ohne Lymphgefäßinvasion machten diese einen Anteil von 3,3% (5/150) aus (pN1: 1,3% (2/150); pN>1: 2,0% (3/150)). Bei



den Adenokarzinomen mit Lymphgefäßinvasion bestanden zu 64,9% (70/108) Lymphknotenmetastasen (pN1: 30,6% (33/108); pN>1: 34,3% (37/108)). Keines der Plattenepithelkarzinome ohne Lymphgefäßinvasion wies eine lymphonoduläre Metastasierung auf. Bei 41,9% (44/105) der Plattenepithelkarzinome bestand hingegen eine Lymphgefäßinvasion und es waren zu 72,7% (pN1: 54,5% (24/44); pN>1: 18,2% (8/44)) Lymphknotenmetastasen nachweisbar. Beim einzigen pN3-Fall lag eine pL1-Situation vor.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 11 und Abbildung 9 zusammengefasst.

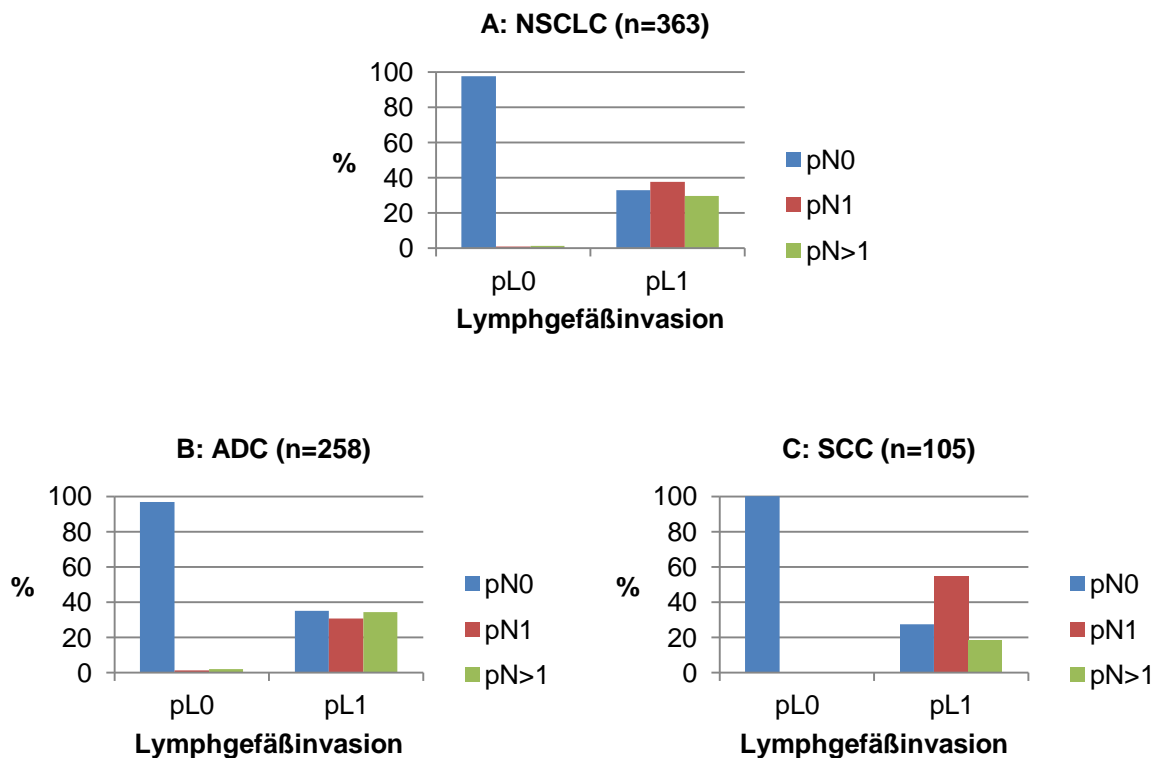
#### Zusammenfassung:

Sowohl für Adeno- als auch für Plattenepithelkarzinome konnte ein positiver Zusammenhang zwischen der Lymphgefäßinvasion (pL0, pL1) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Es handelte sich jeweils um einen Zusammenhang großer Effektstärke. Der Großteil der Karzinome ohne Lymphgefäßinvasion wies keine Lymphknotenmetastasen auf.

**Tabelle 11.** Korrelation zwischen der Lymphgefäßinvasion und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	pL	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)		
	pL0	211	206 (97,6)	2 (0,9)	3 (1,4)	<b>&lt;0,001</b>	0,687
	pL1	152	50 (32,9)	57 (37,5)	45 (29,6)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
	pL0	150	145 (96,7)	2 (1,3)	3 (2,0)	<b>&lt;0,001</b>	0,657
	pL1	108	38 (35,2)	33 (30,6)	37 (34,3)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
	pL0	61	61 (100)	0 (0)	0 (0)	<b>&lt;0,001</b>	0,770
	pL1	44	12 (27,3)	24 (54,5)	8 (18,2)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.



**Abbildung 9.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Lymphgefäßinvasion und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.2.3 Blutgefäßinvasion

Die Blutgefäßinvasion korrelierte in der Gesamtkohorte der NSCLC ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,235$ ) und in den Untergruppen der ADC ( $p < 0,001$ ;  $r_s = 0,245$ ) und SCC ( $p = 0,017$ ;  $r_s = 0,205$ ) positiv mit dem Lymphknotenstatus. Eine Blutgefäßinvasion lag insgesamt in 29,8% (108/363) der Fälle vor. Hiervon waren 45,3% (49/108) in die Lymphknoten metastasiert (pN1: 22,2% (24/108); pN>1: 23,1% (25/108)). Die 70,2% (255/363) der NSCLC ohne Blutgefäßinvasion wiesen lediglich zu 22,7% (58/255) Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 13,7% (35/255); pN>1: 9,0% (23/255)). Vergleichbare Ergebnisse lagen in den Untergruppen der ADC und SCC vor (vgl. Tabelle 12). Bei 31,4% (81/258) der Adenokarzinome konnte eine Blutgefäßinvasion nachgewiesen werden. Bei diesen Tumoren bestanden zu 45,7% (37/81) Lymphknotenmetastasen (pN1: 21% (17/81); pN>1: 24,7% (20/81)). Konnte keine Blutgefäßinvasion nachgewiesen werden, lagen Lymphknotenmetastasen in 21,5% (38/177) der Fälle vor (pN1: 10,2% (18/177); pN>1: 11,3% (20/177)). Bei den Plattenepithelkarzinomen mit Blutgefäßinvasion wiesen 44,4% (12/27) der Fälle Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 25,9% (7/27); pN>1: 18,5%

(5/27)). War keine Blutgefäßinvasion nachweisbar, bestanden diese in 25,6% (20/78) der Fälle (pN1: 21,8% (17/78); pN>1: 3,8% (3/78)). Beim einzigen pN3-Fall lag eine pV1-Situation vor.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 12 und Abbildung 10 zusammengefasst.

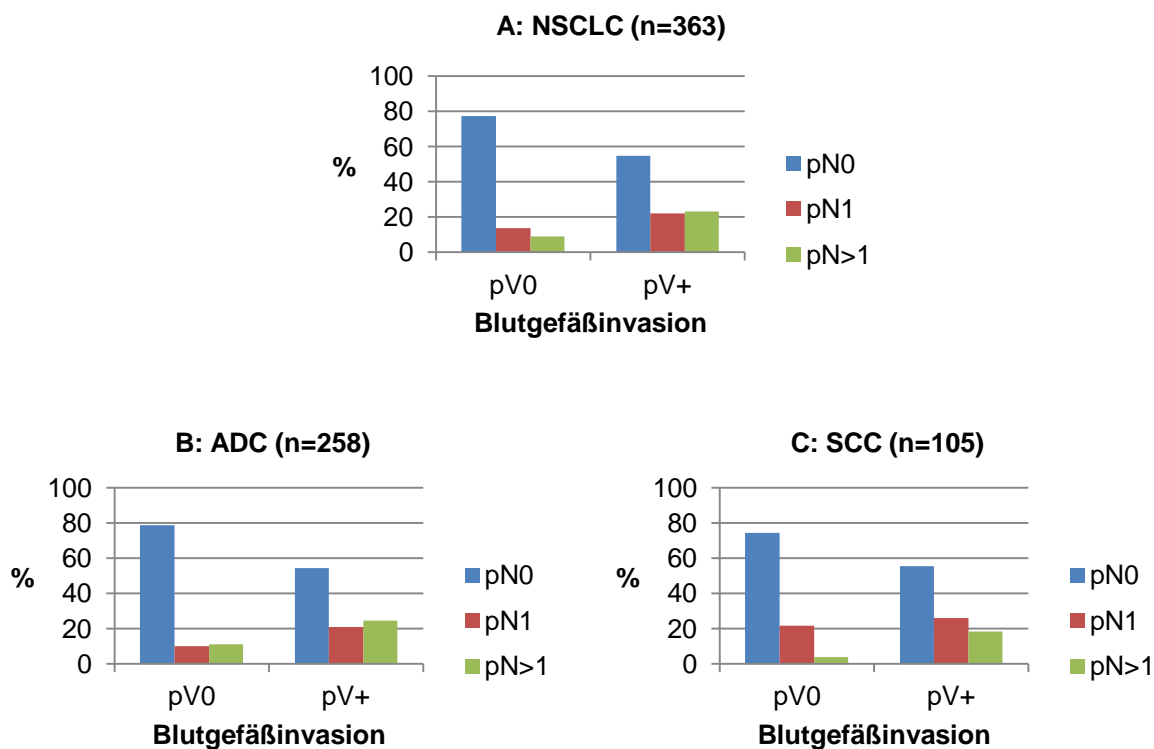
Zusammenfassung:

Für Adeno- und Plattenepithelkarzinome konnte nachgewiesen werden, dass die Blutgefäßinvasion (pV0, pV+) positiv mit der Lymphknotenmetastasierung (pN0, pN1, pN>1) korreliert.

**Tabelle 12.** Korrelation zwischen der Blutgefäßinvasion und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	pV	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)		
	pV0	255	197 (77,3)	35 (13,7)	23 (9,0)	<b>&lt;0,001</b>	0,235
	pV+	108	59 (54,6)	24 (22,2)	25 (23,1)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
	pV0	177	139 (78,5)	18 (10,2)	20 (11,3)	<b>&lt;0,001</b>	0,245
	pV+	81	44 (54,3)	17 (21,0)	20 (24,7)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
	pV0	78	58 (74,4)	17 (21,8)	3 (3,8)	<b>0,017</b>	0,205
	pV+	27	15 (55,6)	7 (25,9)	5 (18,5)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; pV, Blutgefäßinvasion; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.



**Abbildung 10.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Blutgefäßinvasion und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.2.4 Mitosenanzahl

Sowohl für die Gesamtkohorte der NSCLC ( $p=0,001$ ), als auch für ADC ( $p=0,001$ ) und SCC ( $p=0,003$ ) ließ sich im Jonckheere-Terpstra-Test ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Mitosenanzahl und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachweisen. Auch nach der dichotomen Einteilung bestand für NSCLC im Allgemeinen ( $p=0,005$ ;  $r_s=0,166$ ) und die Untergruppen (ADC:  $p=0,012$ ;  $r_s=0,154$  und SCC:  $p=0,003$ ;  $r_s=0,291$ ) eine positive Korrelation zum Nodalstatus. Insgesamt wiesen 32,2% (117/363) der NSCLC eine Mitosenanzahl  $\geq 10/10\text{HPF}$  auf. Bei diesen Tumoren lagen zu 41% (48/117) Lymphknotenmetastasen vor (pN1: 23,9% (28/117); pN>1: 17,1% (20/117)). Bei den 246 NSCLC mit einer Mitosenanzahl  $< 10/10\text{HPF}$  war der Anteil an lymphonodulär metastasierten Erkrankungen mit 24% (59/246) geringer (pN1: 12,6% (31/246); pN>1: 11,4% (28/246)). Auch bei den ADC (pN+: 25,9% (55/212) vs. 43,5% (20/46)) und SCC (pN+: 11,8% (4/34) vs. 39,5% (28/71)) lagen bei Tumoren mit einer höheren Mitosenanzahl ( $< 10/10\text{HPF}$  vs.  $\geq 10/10\text{HPF}$ ) prozentual häufiger Lymphknotenmetastasen vor. Kein SCC mit einer Mitosenanzahl  $< 10/10\text{HPF}$  wies eine

pN>1-Metastasierung auf. Insbesondere die Mittel- (pN0: 13,4/10HPF; pN1: 18,5/10HPF; pN>1: 19,1/10HPF) und Medianwerte (pN0: 12,0/10HPF; pN1: 17,5/10HPF; pN>1: 19,5/10HPF) der Plattenepithelkarzinome widerspiegeln den Zusammenhang zwischen einer größeren Mitosenanzahl und einem höheren Lymphknotenstatus. Zudem sind diese im Vergleich zu den Adenokarzinomen höher. Der einzige pN3-Fall wies eine Mitosenanzahl von 7/10HPF auf.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 13 und Abbildung 11 zusammengefasst.

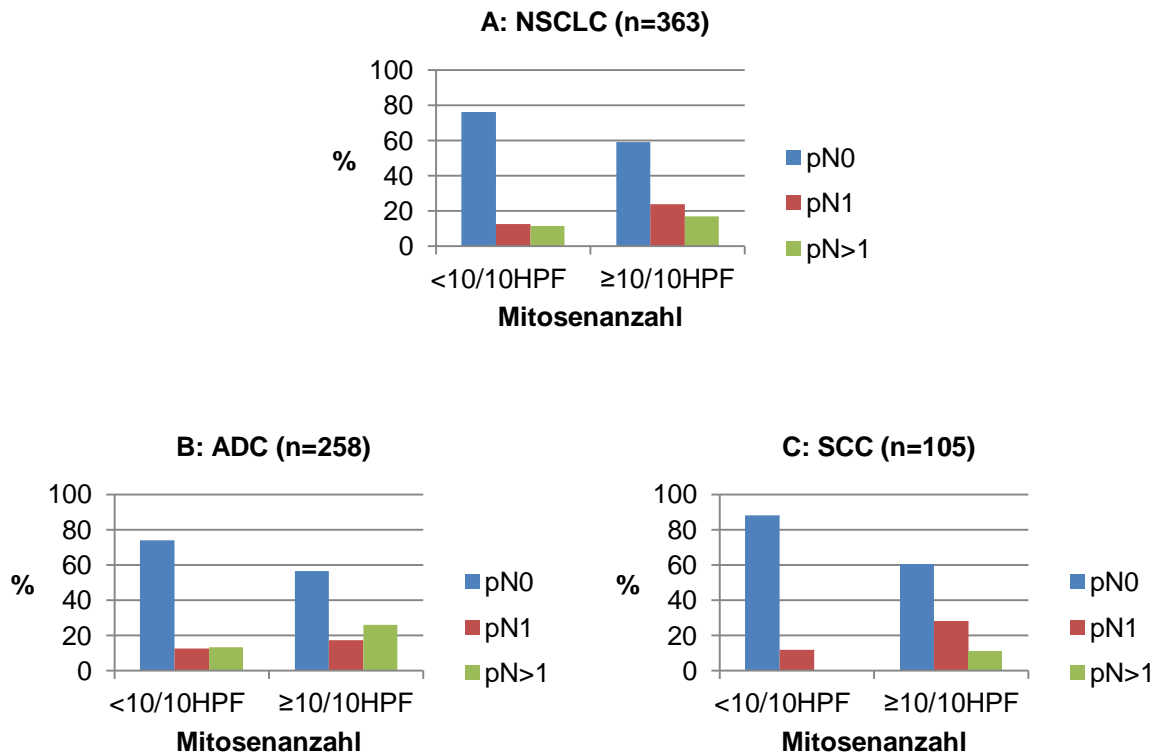
#### Zusammenfassung:

Ein positiver Zusammenhang zwischen der Mitosenanzahl (<10/10HPF, ≥10/10HPF) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) konnte sowohl für Adeno- als auch für Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden. Bei den Plattenepithelkarzinomen bestand eine höhere Effektstärke ( $r_s$ ) und es ließ sich eine höhere Mitosenanzahl (Median, Mittelwert) nachweisen.

**Tabelle 13.** Korrelation zwischen der Mitosenanzahl und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	Mitosen	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	$r_s$
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	<b>0,005</b>	0,166
	<10/10HPF	246	187 (76,0)	31 (12,6)	28 (11,4)		
	≥10/10HPF	117	69 (59,0)	28 (23,9)	20 (17,1)		
	<i>Median</i>	<i>6,0</i>	<i>4,5</i>	<i>8,0</i>	<i>7,0</i>		
	<i>Mittelwert</i>	<i>8,8</i>	<i>7,8</i>	<i>12,4</i>	<i>9,6</i>		
	<i>Intervall</i>	<i>0-51</i>	<i>0-40</i>	<i>1-51</i>	<i>0-36</i>		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	<b>0,012</b>	0,154
	<10/10HPF	212	157 (74,1)	27 (12,7)	28 (13,2)		
	≥10/10HPF	46	26 (56,5)	8 (17,4)	12 (26,1)		
	<i>Median</i>	<i>4,0</i>	<i>3,0</i>	<i>5,0</i>	<i>5,5</i>		
	<i>Mittelwert</i>	<i>6,3</i>	<i>5,6</i>	<i>8,1</i>	<i>7,7</i>		
	<i>Intervall</i>	<i>0-51</i>	<i>0-35</i>	<i>1-51</i>	<i>0-36</i>		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	<b>0,003</b>	0,291
	<10/10HPF	34	30 (88,2)	4 (11,8)	0 (0)		
	≥10/10HPF	71	43 (60,6)	20 (28,2)	8 (11,3)		
	<i>Median</i>	<i>13,0</i>	<i>12,0</i>	<i>17,5</i>	<i>19,5</i>		
	<i>Mittelwert</i>	<i>15,0</i>	<i>13,4</i>	<i>18,5</i>	<i>19,1</i>		
	<i>Intervall</i>	<i>1-43</i>	<i>1-40</i>	<i>2-43</i>	<i>10-36</i>		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben. Die Mediane, Mittelwerte und Intervalle wurden in Kursivschrift dargestellt.



**Abbildung 11.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Mitosenanzahl und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; HPF, Haupt Gesichtsfeld; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.2.5 Tumornekrosen

Für Tumornekrosen konnte weder bei NSCLC im Allgemeinen ( $p=0,783$ ;  $r_s=0,023$ ), noch bei Adeno- ( $p=0,590$ ;  $r_s=0,062$ ) oder Plattenepithelkarzinomen ( $p=0,734$ ;  $r_s=-0,012$ ) ein signifikanter Zusammenhang zum Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. Insgesamt wiesen bei den NSCLC 16,5% (60/363) einen hohen, 41,3% (150/363) einen intermediären und 42,1% (153/363) einen geringen Nekroseanteil auf. Der einzige pN3-Fall gehörte in die Gruppe mit einem intermediären Nekroseanteil (>10%-50%).

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 14 und Abbildung 12 zusammengefasst.

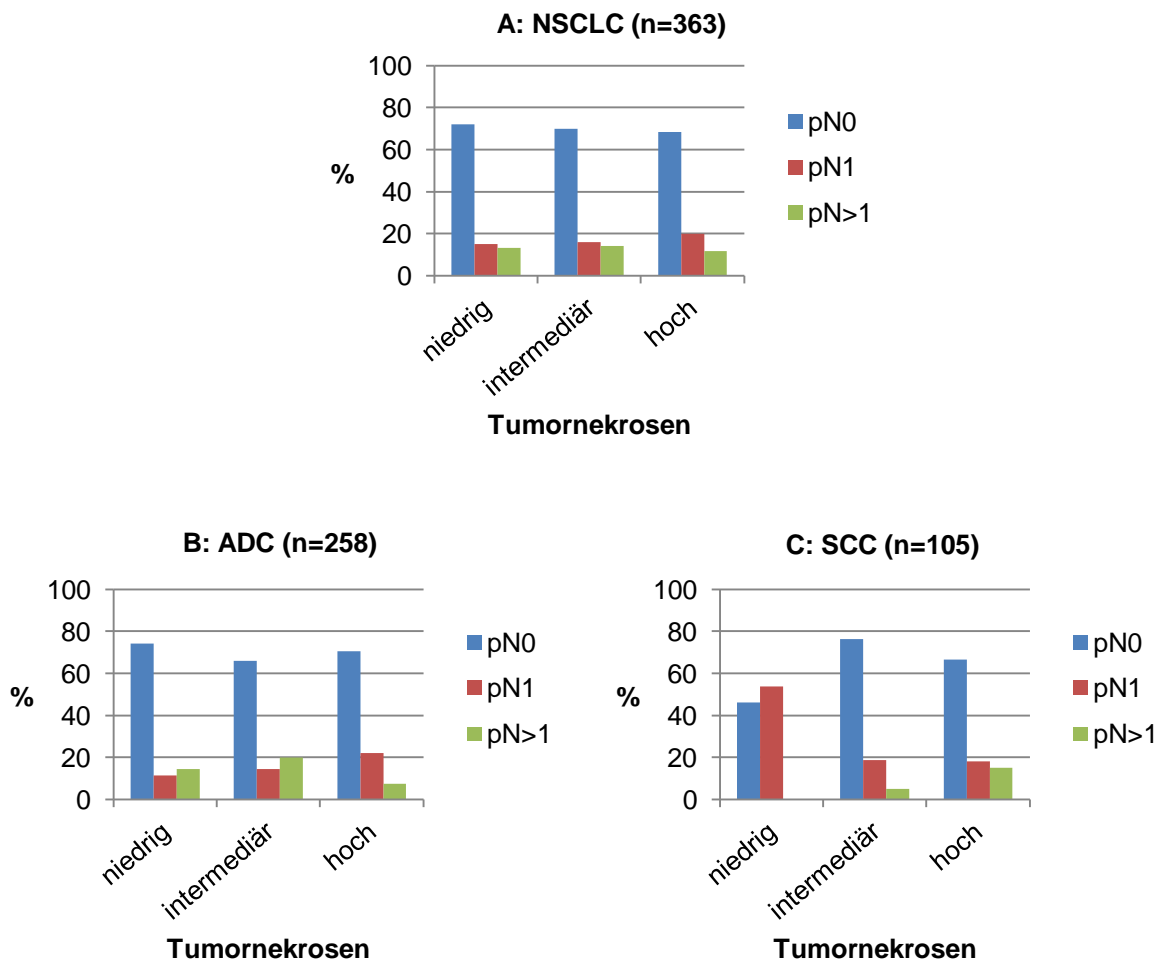
#### Zusammenfassung:

Weder für Adeno-, noch für Plattenepithelkarzinome konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumornekrosen (gering, intermediär, hoch) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden.

**Tabelle 14.** Korrelation zwischen Tumornekrosen und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

Tumornekrosen	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>	363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)		
niedrig	153	110 (71,9)	23 (15,0)	20 (13,1)	0,783	0,023
intermediär	150	105 (70,0)	24 (16,0)	21 (14,0)		
hoch	60	41 (68,3)	12 (20,0)	7 (11,7)		
<b>ADC</b>	258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
niedrig	140	104 (74,3)	16 (11,4)	20 (14,3)	0,590	0,062
intermediär	91	60 (65,9)	13 (14,3)	18 (19,8)		
hoch	27	19 (70,4)	6 (22,2)	2 (7,4)		
<b>SCC</b>	105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
niedrig	13	6 (46,2)	7 (53,8)	0 (0)	0,734	-0,012
intermediär	59	45 (76,3)	11 (18,6)	3 (5,1)		
hoch	33	22 (66,7)	6 (18,2)	5 (15,2)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; pV, Blutgefäßinvasion; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome.



**Abbildung 12.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Tumornekrosen und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.2.6 Tumor Budding

Tumor Budding korrelierte weder in der Gesamtkohorte ( $p=0,144$ ;  $r_s=0,079$ ), noch bei den Adeno- ( $p=0,126$ ;  $r_s=0,114$ ) oder den Plattenepithelkarzinomen ( $p=0,967$ ;  $r_s=-0,032$ ) signifikant mit dem Lymphknotenstatus. Insgesamt wiesen 21,2% (77/363) der Fälle ein Tumor Budding auf. Beim Großteil der Adeno- (76,4% (197/258)) und der Plattenepithelkarzinome (84,8% (89/105)) war hingegen kein Tumor Budding nachweisbar. Beim einzigen pN3-Fall konnte ebenfalls kein Tumor Budding nachgewiesen werden.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 15 und Abbildung 13 zusammengefasst.

#### Zusammenfassung:

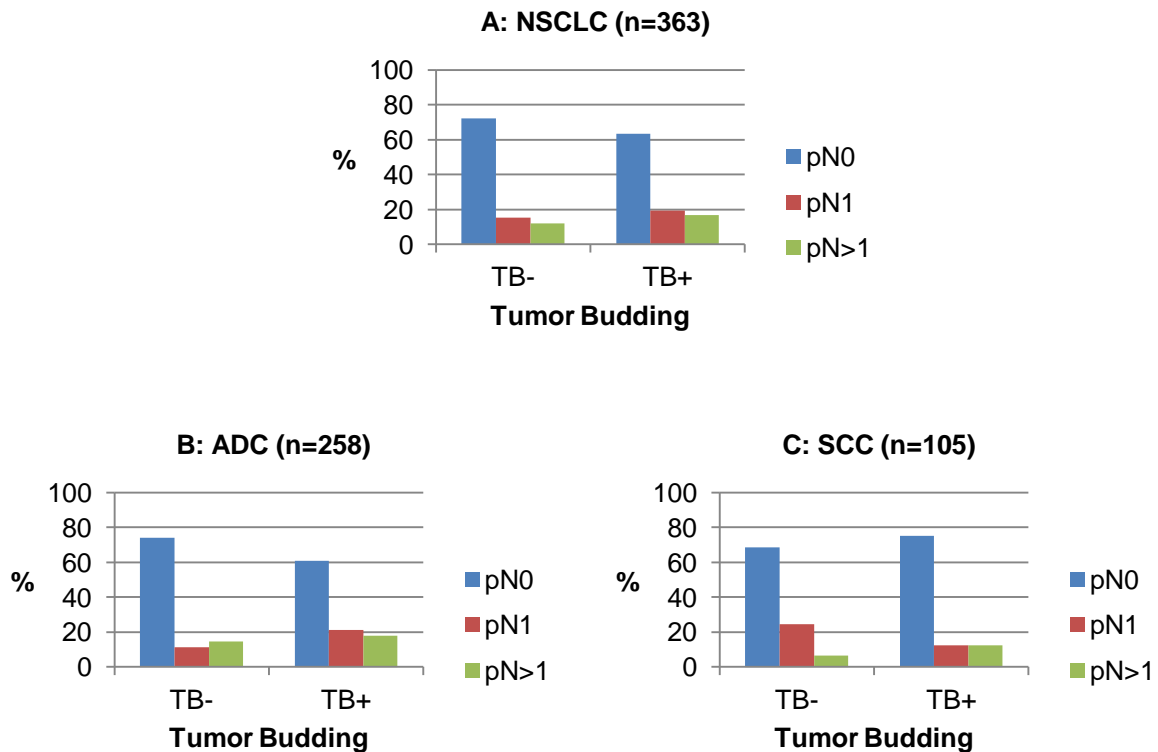
Weder bei den Adeno-, noch bei den Plattenepithelkarzinomen konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumor Budding (TB-, TB+) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden.

**Tabelle 15.** Korrelation zwischen Tumor Budding und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

Tumor Budding		Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	$r_s$
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	0,144	0,079
	TB-	286	207 (72,4)	44 (15,4)	35 (12,2)		
	TB+	77	49 (63,6)	15 (19,5)	13 (16,9)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	0,126	0,114
	TB-	197	146 (74,1)	22 (11,2)	29 (14,7)		
	TB+	61	37 (60,7)	13 (21,3)	11 (18,0)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	0,967	-0,032
	TB-	89	61 (68,5)	22 (24,7)	6 (6,7)		
	TB+	16	12 (75,0)	2 (12,5)	2 (12,5)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome; TB, Tumor Budding.





**Abbildung 13.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Tumor Budding und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome; TB, Tumor Budding.

### 3.2.2.7 Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs)

#### 3.2.2.7.1 Zentraler Tumorbereich (TILs-CT)

In der Gesamtkohorte der NSCLC ließ sich eine negative Korrelation zwischen TILs-CT und dem Lymphknotenstatus nachweisen ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,216$ ). Insgesamt lag im zentralen Tumorbereich zu 11,8% (43/363) ein sehr geringes, zu 30,9% (112/363) ein geringes, zu 52,9% (192/363) ein intermediäres und zu 4,4% (16/363) ein hohes lymphozytäres Infiltrat vor. In der Untergruppe mit einem sehr geringen Infiltrat wiesen 48,9% (21/43) eine lymphonoduläre Metastasierung auf (pN1: 23,3% (10/43); pN>1: 25,6% (11/43)). Bei einem hohen Infiltrat war diese lediglich bei 6,3% (1/16) der Fälle nachweisbar. In diesem einen Fall handelte es sich um ein Adenokarzinom und es lag eine pN>1-Situation vor. Auch bei den Adenokarzinomen bestand eine negative Korrelation zwischen TILs-CT und dem Nodalstatus ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,234$ ). Bei einem sehr geringen TILs-CT-Infiltrat bestand mit 46,4% (13/28) fast zur Hälfte eine lymphonoduläre Metastasierung (pN1: 14,3% (4/28); pN>1: 32,1% (9/28)). Bei den

Plattenepithelkarzinomen bestand ebenfalls ein negativer Zusammenhang zwischen TILs-CT und dem Nodalstatus ( $p=0,042$ ;  $r_s=-0,176$ ). SCC mit sehr geringem Infiltrat hatten mit 53,3% (8/15) in über der Hälfte der Fälle einen positiven Nodalstatus (pN1: 40,0% (6/15); pN>1: 13,3% (2/15)). Lediglich ein Plattenepithelkarzinom wies ein hohes lymphozytäres Infiltrat auf. Bei diesem waren keine Lymphknotenmetastasen nachweisbar. Beim einzigen pN3-Fall innerhalb der NSCLC wurde ein geringes TILs-CT-Infiltrat nachgewiesen.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 16 und Abbildung 14 zusammengefasst.

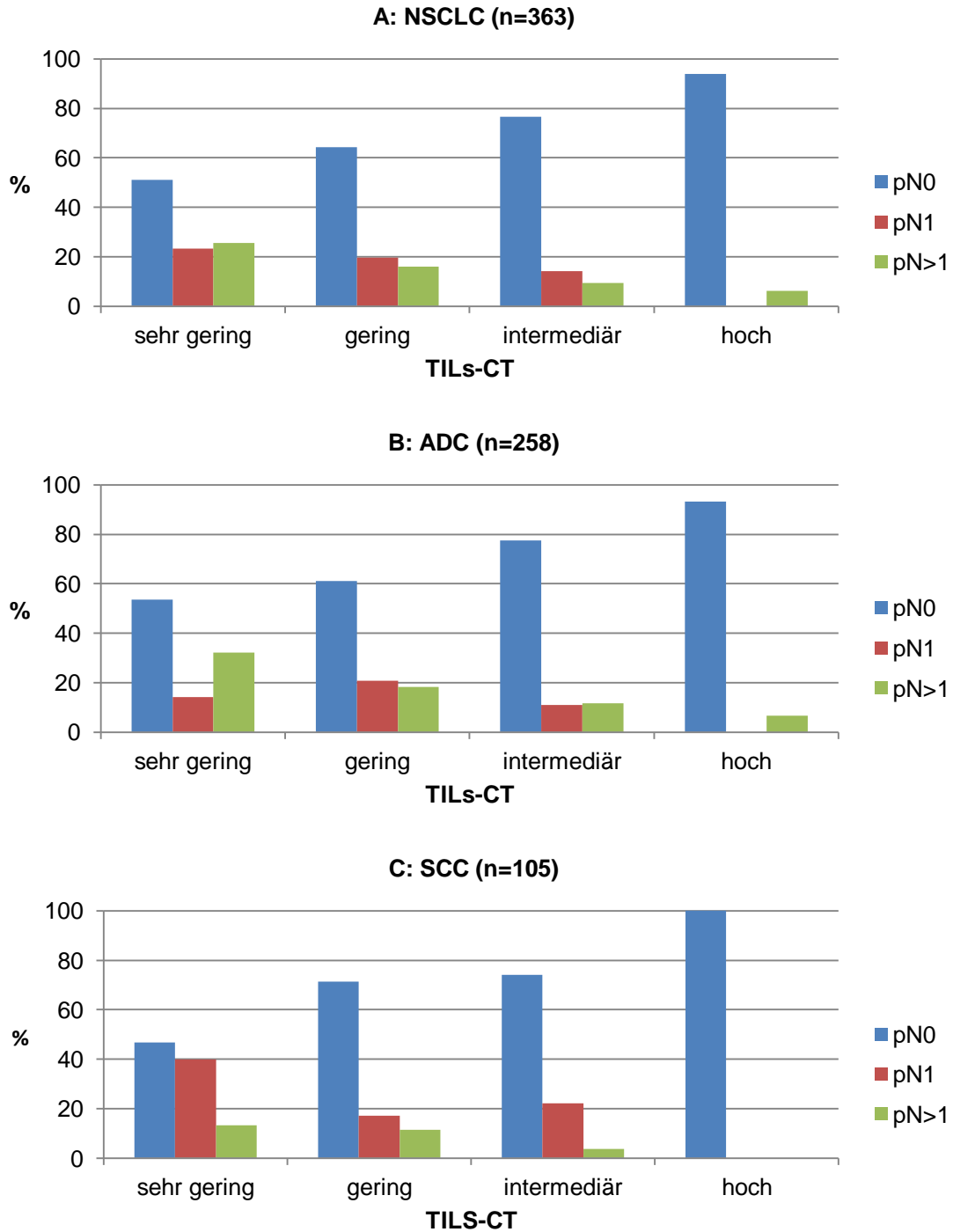
### Zusammenfassung:

Sowohl für Adeno- als auch für Plattenepithelkarzinome konnte ein negativer Zusammenhang zwischen TILs-CT (sehr gering, gering, intermediär, hoch) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden.

**Tabelle 16.** Korrelation zwischen TILs-CT und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

TILs-CT	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	$r_s$
<b>NSCLC</b>	363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)		
sehr gering	43	22 (51,2)	10 (23,3)	11 (25,6)	<b>&lt;0,001</b>	-0,216
gering	112	72 (64,3)	22 (19,6)	18 (16,1)		
intermediär	192	147 (76,6)	27 (14,1)	18 (9,4)		
hoch	16	15 (93,8)	0 (0)	1 (6,3)		
<b>ADC</b>	258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
sehr gering	28	15 (53,6)	4 (14,3)	9 (32,1)	<b>&lt;0,001</b>	-0,234
gering	77	47 (61,0)	16 (20,8)	14 (18,2)		
intermediär	138	107 (77,5)	15 (10,9)	16 (11,6)		
hoch	15	14 (93,3)	0 (0)	1 (6,7)		
<b>SCC</b>	105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
sehr gering	15	7 (46,7)	6 (40,0)	2 (13,3)	<b>0,042</b>	-0,176
gering	35	25 (71,4)	6 (17,1)	4 (11,4)		
intermediär	54	40 (74,1)	12 (22,2)	2 (3,7)		
hoch	1	1 (100)	0 (0)	0 (0)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome; TILs-CT, Tumor-infiltrierende Lymphozyten im zentralen Tumorbereich. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.



**Abbildung 14.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen TILs-CT und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome; TILs-CT, Tumor-infiltrierende Lymphozyten im zentralen Tumorbereich.

### 3.2.2.7.2 Invasiver Tumorrandbereich (TILs-IM)

TILs-IM waren in der univariaten Analyse der NSCLC signifikant mit einem niedrigeren Lymphknotenstatus assoziiert ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,325$ ). Insgesamt war zu 15,4% (56/363) ein sehr geringes, zu 26,4% (96/363) ein geringes, zu 52,6% (191/363) ein intermediäres und zu 5,5% (20/363) ein hohes lymphozytäres Infiltrat nachweisbar. Bei NSCLC mit einem sehr geringen Infiltrat wies die Hälfte (28/56) der Patienten Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 25% (14/56); pN>1: 25% (14/56)). Bei Tumoren mit einem hohen lymphozytärem Infiltrat konnten diese lediglich in 10% (2/20) der Fälle nachgewiesen werden. In beiden Fällen lag eine pN>1-Situation vor. Auch bei den Adenokarzinomen konnte ein negativer Zusammenhang zwischen TILs-IM und dem Nodalstatus nachgewiesen werden ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,302$ ). Tumoren mit einem sehr geringen TILs-IM-Infiltrat wiesen mit 52,7% (20/38) in über der Hälfte der Fälle Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 21,1% (8/38); pN>1: 31,6% (12/38)). Tumoren mit einem hohen Infiltrat zeigten mit 12,5% (2/16) einen deutlich geringeren Anteil an nodalpositiven Fällen. Es handelte sich hierbei um die beiden einzigen Tumoren mit einem hohen TILs-IM-Infiltrat und einer Lymphknotenmetastasierung (beide pN>1) innerhalb der Kohorte. Ebenfalls für Plattenepithelkarzinome bestand eine negative Korrelation zwischen TILs-IM und dem Nodalstatus ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,386$ ). Ein sehr geringes Infiltrat war zu 44,4% (8/18) mit einer lymphonodulären Metastasierung assoziiert (pN1: 33,3% (6/18); pN>1: 11,1% (2/18)). Ein hohes TILs-IM-Infiltrat war in 3,8% (4/105) der Fälle nachweisbar. Alle vier Fälle wiesen keine Lymphknotenmetastasen auf. Beim einzigen pN3-Fall lag ein geringes TILs-IM-Infiltrat vor.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 17 und Abbildung 15 zusammengefasst.

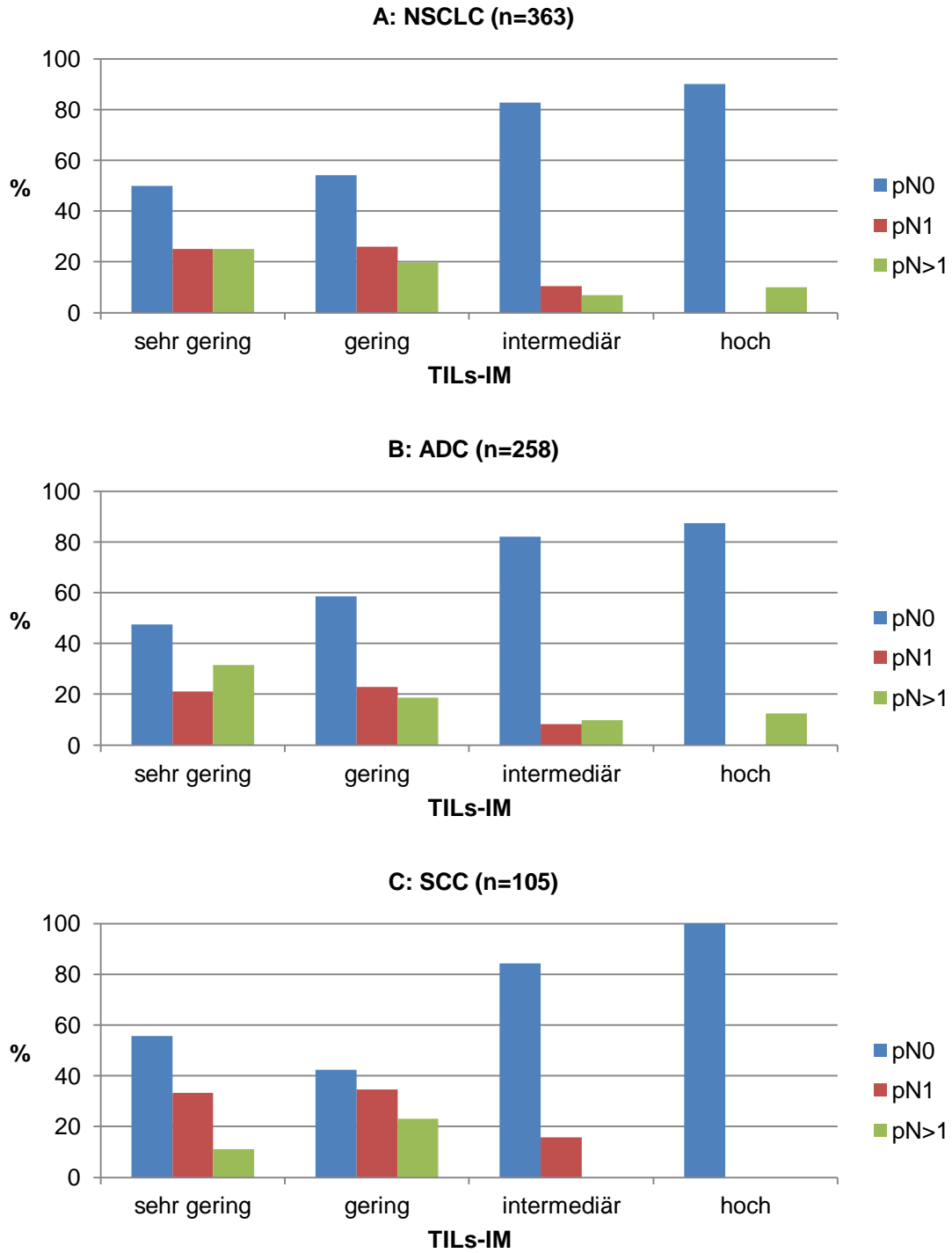
#### Zusammenfassung:

Sowohl für Adeno- als auch für Plattenepithelkarzinome konnte ein negativer Zusammenhang zwischen TILs-IM (sehr gering, gering, intermediär, hoch) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden.

**Tabelle 17.** Korrelation zwischen TILs-IM und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	TILs-IM	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	$r_s$
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	<b>&lt;0,001</b>	-0,325
	sehr gering	56	28 (50,0)	14 (25,0)	14 (25,0)		
	gering	96	52 (54,2)	25 (26,0)	19 (19,8)		
	intermediär	191	158 (82,7)	20 (10,5)	13 (6,8)		
	hoch	20	18 (90,0)	0 (0)	2 (10,0)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	<b>&lt;0,001</b>	-0,302
	sehr gering	38	18 (47,4)	8 (21,1)	12 (31,6)		
	gering	70	41 (58,6)	16 (22,9)	13 (18,6)		
	intermediär	134	110 (82,1)	11 (8,2)	13 (9,7)		
	hoch	16	14 (87,5)	0 (0)	2 (12,5)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	<b>&lt;0,001</b>	-0,386
	sehr gering	18	10 (55,6)	6 (33,3)	2 (11,1)		
	gering	26	11 (42,3)	9 (34,6)	6 (23,1)		
	intermediär	57	48 (84,2)	9 (15,8)	0 (0)		
	hoch	4	4 (100)	0 (0)	0 (0)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome; TILs-IM, Tumor-infiltrierende Lymphozyten im invasiven Tumorrandbereich. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.



**Abbildung 15.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen TILs-IM und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome; TILs-IM, Tumor-infiltrierende Lymphozyten im invasiven Tumorrandbereich.

### **3.2.2.8 Zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC)**

#### **3.2.2.8.1 Zentraler Tumorbereich (CLCC-CT)**

Für NSCLC konnte eine signifikante Assoziation zwischen CLCC-CT und dem Lymphknotenstatus ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,193$ ) nachgewiesen werden. Insgesamt waren CLCC-CT in 28,9% (105/363) der Fälle nachweisbar. Von diesen wiesen 16,2% (17/105) Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 11,4% (12/105); pN>1: 4,8% (5/105)). Bei NSCLC ohne CLCC-CT war der Anteil mit 34,9% (90/258) nodalpositiven Fällen höher (pN1: 18,2% (47/258); pN>1: 16,7% (43/258)). Bei den Adenokarzinomen war der Nachweis von CLCC-CT ebenfalls mit weniger Lymphknotenmetastasen assoziiert ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,218$ ). CLCC-CT konnten in 34,1% (88/258) der Fälle nachgewiesen werden. Innerhalb dieser Gruppe lagen zu 15,9% (14/88) Lymphknotenmetastasen vor (pN1: 10,2% (9/88); pN>1: 5,7% (5/88)). Bei Adenokarzinomen ohne CLCC war der Anteil nodalpositiver Fälle mit 35,9% (61/170) höher (pN1: 15,3% (26/170); pN>1: 20,6% (35/170)). Bei den Plattenepithelkarzinomen bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen CLCC-CT und dem Nodalstatus ( $p = 0,141$ ;  $r_s = -0,134$ ). Konnten CLCC-CT nachgewiesen werden (pN+: 17,6% (3/17)), lagen dennoch seltener Lymphknotenmetastasen vor als bei Tumoren ohne CLCC-CT (pN+: 33% (29/88)). Zudem wies keines der Plattenepithelkarzinome mit CLCC-CT einen pN>1-Status auf. Beim einzigen pN3-Fall waren keine CLCC-CT nachweisbar.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 18 und Abbildung 16 zusammengefasst.

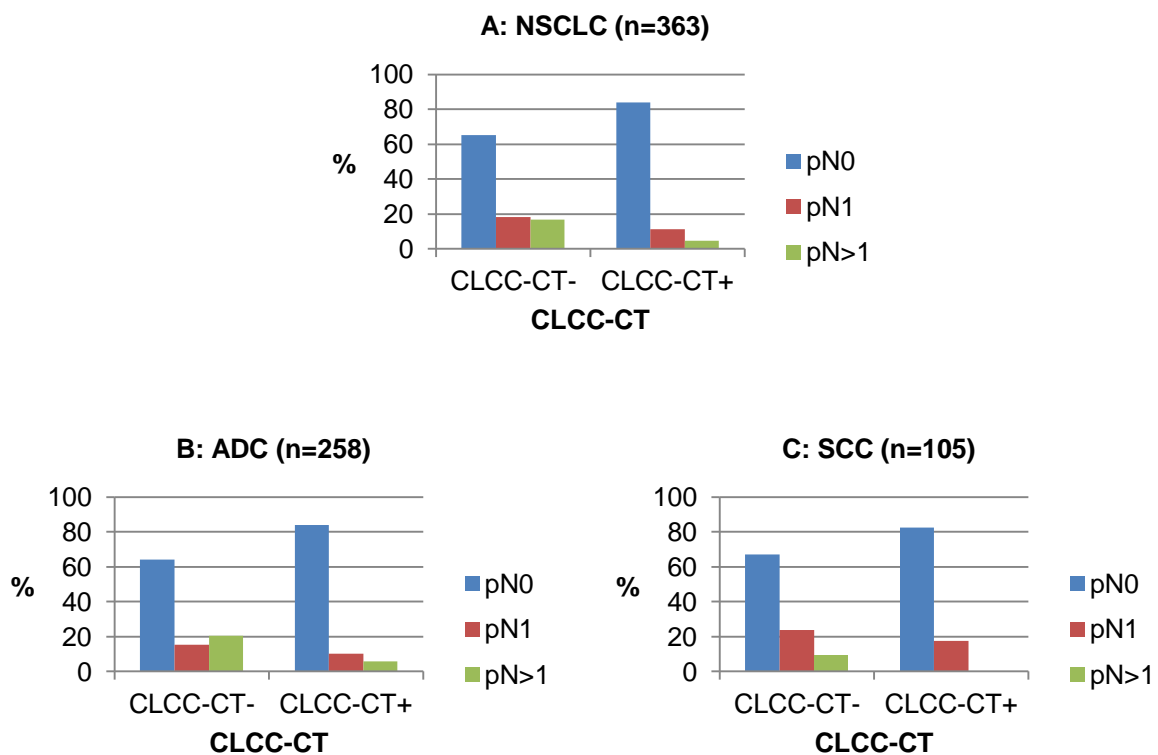
#### Zusammenfassung:

Für NSCLC im Allgemeinen und die Untergruppe der Adenokarzinome, nicht jedoch für die der Plattenepithelkarzinome, konnte ein negativer Zusammenhang zwischen CLCC-CT (CLCC-CT-, CLCC-CT+) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden.

**Tabelle 18.** Korrelation zwischen CLCC-CT und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	CLCC-CT	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	<b>&lt;0,001</b>	-0,193
	CLCC-CT-	258	168 (65,1)	47 (18,2)	43 (16,7)		
	CLCC-CT+	105	88 (83,8)	12 (11,4)	5 (4,8)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	<b>&lt;0,001</b>	-0,218
	CLCC-CT-	170	109 (64,1)	26 (15,3)	35 (20,6)		
	CLCC-CT+	88	74 (84,1)	9 (10,2)	5 (5,7)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	0,141	-0,134
	CLCC-CT-	88	59 (67,0)	21 (23,9)	8 (9,1)		
	CLCC-CT+	17	14 (82,4)	3 (17,6)	0 (0)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; CLCC-CT, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster im zentralen Tumorbereich; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.



**Abbildung 16.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen CLCC-CT und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; CLCC-CT, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster im zentralen Tumorbereich; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.



### 3.2.2.8.2 Invasiver Tumorrandbereich (CLCC-IM)

Für NSCLC konnte eine negative Korrelation zwischen CLCC-IM und dem Nodalstatus nachgewiesen werden ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,231$ ). CLCC-IM waren in 39,4% (143/363) der Fälle nachweisbar. Von diesen Tumoren wiesen 16,1% (23/143) Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 8,4% (12/143); pN>1: 7,7% (11/143)). Bei Abwesenheit von CLCC-IM bestand zu 38,2% (84/220) eine lymphonoduläre Metastasierung (pN1: 21,4% (47/220); pN>1: 16,8% (37/220)). Für Adenokarzinome konnte ebenfalls eine negative Assoziation zwischen CLCC-IM und der lymphonodulären Metastasierung nachgewiesen werden ( $p = 0,002$ ;  $r_s = -0,207$ ). Lediglich 17,6% (19/108) der Fälle mit CLCC-IM wiesen Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 7,4% (8/108); pN>1: 10,2% (11/108)). Konnten keine CLCC-IM nachgewiesen werden, bestand zu 37,3% (56/150) ein positiver Nodalstatus (pN1: 18% (27/150); pN>1: 19,3% (29/150)). Bei den Plattenepithelkarzinomen korrelierten CLCC-IM ebenfalls negativ mit dem Nodalstatus ( $p = 0,002$ ;  $r_s = -0,302$ ). Insgesamt konnten CLCC-IM in einem Drittel der Fälle nachgewiesen werden (35/105). Hierunter befanden sich zu 11,4% (4/35) Lymphknotenmetastasen (alle pN1). Die Gruppe ohne CLCC-IM beinhaltete zu 40% (28/70) Lymphknotenmetastasen (pN1: 28,6% (20/70); pN>1: 11,4% (8/70)). Beim einzigen pN3-Fall waren keine CLCC-IM nachweisbar.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 19 und Abbildung 17 zusammengefasst.

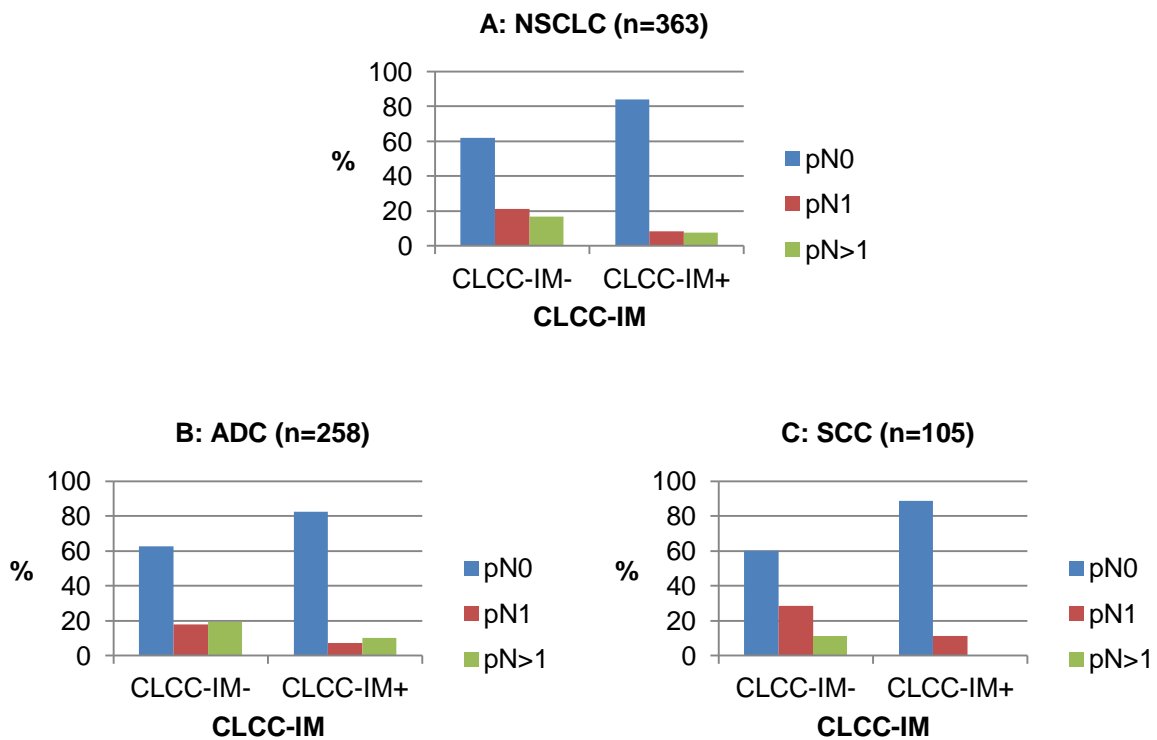
#### Zusammenfassung:

Für Adeno- und Plattenepithelkarzinome konnte ein negativer Zusammenhang zwischen CLCC-IM (CLCC-IM-, CLCC-IM+) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden.

**Tabelle 19.** Die Korrelation zwischen CLCC-IM und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	CLCC-IM	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	$r_s$
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)	<b>&lt;0,001</b>	-0,231
	CLCC-IM-	220	136 (61,8)	47 (21,4)	37 (16,8)		
	CLCC-IM+	143	120 (83,9)	12 (8,4)	11 (7,7)		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)	<b>0,002</b>	-0,207
	CLCC-IM-	150	94 (62,7)	27 (18,0)	29 (19,3)		
	CLCC-IM+	108	89 (82,4)	8 (7,4)	11 (10,2)		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)	<b>0,002</b>	-0,302
	CLCC-IM-	70	42 (60,0)	20 (28,6)	8 (11,4)		
	CLCC-IM+	35	31 (88,6)	4 (11,4)	0 (0)		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; CLCC-IM, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster im invasiven Tumorrandbereich; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.



**Abbildung 17.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen CLCC-IM und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; CLCC-IM, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster im invasiven Tumorrandbereich; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.3 PLYNOM-Score

Der PLYNOM-Score (0-4 Punkte), der die Ausprägung und Architektur des lymphozytären Infiltrats (TILs-IM, TILs-CT, CLCC-IM, CLCC-CT) umfasst, korrelierte im Jonckheere-Terpstra-Test sowohl in der Gesamtkohorte der NSCLC ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,302$ ), als auch in den Untergruppen der Adeno- ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,290$ ) und der Plattenepithelkarzinome ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,358$ ) signifikant mit dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1). Nach der Zusammenfassung des Scores in drei Gruppen (PLYNOM-I, PLYNOM-II, PLYNOM-III) bestand weiterhin eine signifikante Assoziation zum Nodalstatus. Sowohl in der Gesamtkohorte der NSCLC ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,306$ ), als auch in den Untergruppen der Adeno- ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,307$ ) und der Plattenepithelkarzinome ( $p = 0,001$ ;  $r_s = -0,313$ ) waren bei einem höheren PLYNOM-Score seltener Lymphknotenmetastasen nachweisbar (vgl. Tabelle 20). Auf die Kategorie PLYNOM-I (Score: 0 Punkte) entfielen insgesamt 106 Fälle, von denen 49,1% (52/106) Lymphknotenmetastasen aufwiesen (pN1: 25,5% (27/106); pN>1: 23,6% (25/106)). In der Kategorie PLYNOM-II (Score: 1-2 Punkte) bestanden zu 28,5% (38/133) Lymphknotenmetastasen (pN1: 16,5% (22/133); pN>1: 12,0% (16/133)) und in der Kategorie PLYNOM-III (Score: 3-4 Punkte) waren diese zu 13,7% (17/124) nachweisbar (pN1: 8,1% (10/124); pN>1: 5,6% (7/124)). Vergleichbare Ergebnisse konnten für die Gruppe der Adenokarzinome nachgewiesen werden. ADC in der Kategorie PLYNOM-I wiesen zu 48,7% (36/74) Lymphknotenmetastasen auf (pN1: 23,0% (17/74); pN>1: 25,7% (19/74)). In der Kategorie PLYNOM-II lagen diese mit 29,9% (26/87) seltener vor (pN1: 13,8% (12/87); pN>1: 16,1% (14/87)). In der Kategorie PLYNOM-III bestand in 13,4% (13/97) der Fälle ein positiver Nodalstatus (pN1: 6,2% (6/97); pN>1: 7,2% (7/97)). Auch bei den Plattenepithelkarzinomen lag mit 50% (16/32) der höchste Anteil an nodalpositiven Fällen in der Kategorie PLYNOM-I (pN1: 31,2% (10/32); pN>1: 18,8% (6/32)) vor. In der Kategorie PLYNOM-II lagen zu 26% (12/46) nodalpositive Fälle vor (pN1: 21,7% (10/46); pN>1: 4,3% (2/46)). Mit 14,8% (4/27) bestand der geringste Anteil an Lymphknotenmetastasen in der Kategorie PLYNOM-III. Bei allen vier Fällen lag ein pN1-Status vor. Keines der SCC in dieser Kategorie wies einen pN>1-Status auf. Bei Nachweis von Lymphknotenmetastasen (pN0, pN1, pN>1) lagen in der Gesamtkohorte der NSCLC geringere Mittel- (2,1; 1,2; 1,0) und Medianwerte (2,0; 1,0; 0) des PLYNOM-Scores vor. Vergleichbare Ergebnisse ließen sich für die Untergruppen der Adeno- und der Plattenepithelkarzinome dokumentieren, wobei sich die Kategorien pN1 und pN>1 bei den ADC diesbezüglich nicht unterschieden (vgl. Tabelle 20). In der Gruppe der

SCC mit einem Lymphknotenstatus pN>1 betrug das Intervall des PLYNOM-Scores [0-1]. In allen anderen Untergruppen waren mit einem Intervall [0-4] sowohl die minimale, als auch maximale Punktzahl des PLYNOM-Scores vorhanden. Beim einzigen pN3-Fall lag ein PLYNOM-Score von 0 Punkten (PLYNOM-I) vor.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 20 und Abbildung 18 zusammengefasst.

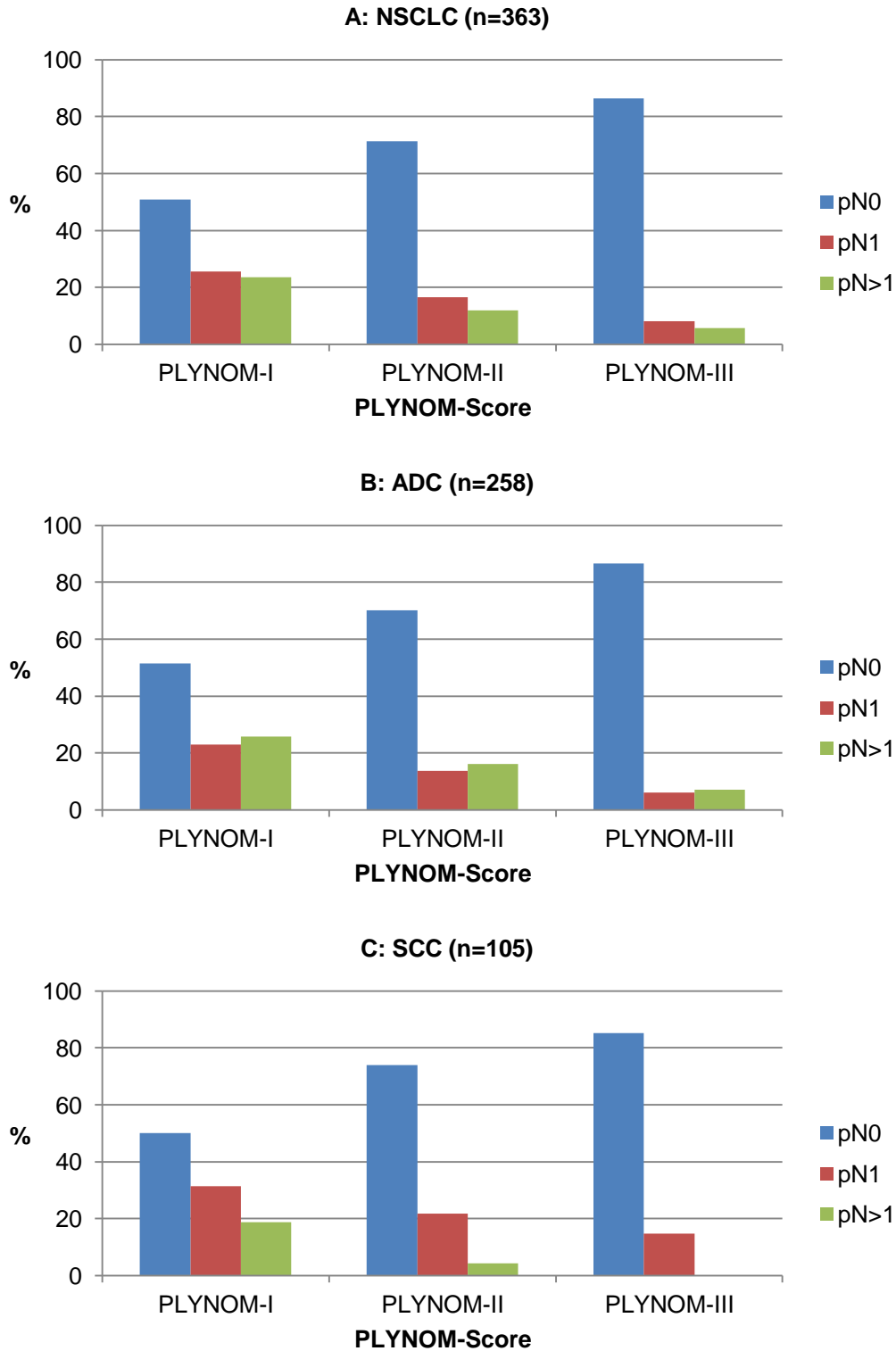
### Zusammenfassung:

Für Adeno- und Plattenepithelkarzinome bestand ein negativer Zusammenhang zwischen dem PLYNOM-Score (PLYNOM-I, -II, -III) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1). Bei einer höheren Score-Punktzahl waren Lymphknotenmetastasen somit weniger wahrscheinlich nachweisbar als bei einer niedrigeren Punktzahl.

**Tabelle 20.** Korrelation zwischen dem PLYNOM-Score und dem Lymphknotenstatus, Anzahl (%).

	PLYNOM-Score	Fallzahl	pN0	pN1	pN>1	p-Wert	r <sub>s</sub>
<b>NSCLC</b>		363	256 (70,5)	59 (16,3)	48 (13,2)		
	PLYNOM-I	106	54 (50,9)	27 (25,5)	25 (23,6)		
	PLYNOM-II	133	95 (71,4)	22 (16,5)	16 (12,0)	<b>&lt;0,001</b>	-0,306
	PLYNOM-III	124	107 (86,3)	10 (8,1)	7 (5,6)		
	<i>Median</i>	2,0	2,0	1,0	0		
	<i>Mittelwert</i>	1,8	2,1	1,2	1		
	<i>Intervall</i>	0-4	0-4	0-4	0-4		
<b>ADC</b>		258	183 (70,9)	35 (13,6)	40 (15,5)		
	PLYNOM-I	74	38 (51,4)	17 (23,0)	19 (25,7)		
	PLYNOM-II	87	61 (70,1)	12 (13,8)	14 (16,1)	<b>&lt;0,001</b>	-0,307
	PLYNOM-III	97	84 (86,6)	6 (6,2)	7 (7,2)		
	<i>Median</i>	2,0	2,0	1,0	1,0		
	<i>Mittelwert</i>	1,9	2,2	1,2	1,2		
	<i>Intervall</i>	0-4	0-4	0-4	0-4		
<b>SCC</b>		105	73 (69,5)	24 (22,9)	8 (7,6)		
	PLYNOM-I	32	16 (50,0)	10 (31,3)	6 (18,8)		
	PLYNOM-II	46	34 (73,9)	10 (21,7)	2 (4,3)	<b>0,001</b>	-0,313
	PLYNOM-III	27	23 (85,2)	4 (14,8)	0 (0)		
	<i>Median</i>	2,0	2,0	1,0	0		
	<i>Mittelwert</i>	1,6	1,9	1,2	0,3		
	<i>Intervall</i>	0-4	0-4	0-4	0-1		

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben. Die Mediane, Mittelwerte und Intervalle wurden in Kursivschrift dargestellt.



**Abbildung 18.** Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen PLYNOM-Score und Lymphknotenstatus für die gesamte NSCLC-Kohorte (A) sowie die Untergruppen der ADC (B) und SCC (C).  
 Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; SCC, Plattenepithelkarzinome.

### 3.2.4 Relatives Risiko

#### 3.2.4.1 Gesamtkohorte

Das höchste relative Risiko (RR) für eine Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) bestand bei Nachweis einer Lymphgefäßinvasion (pL1 vs. pL0; RR=28,318). Bei Nachweis einer Blutgefäßinvasion verdoppelte sich das relative Risiko nahezu (pV+ vs. pV0; RR=1,995) und auch für Tumoren >37mm ließ sich eine deutliche Risikoerhöhung nachweisen (>37mm vs. ≤37mm; RR=1,851). Konnte eine Mitosenanzahl von ≥10/10HPF nachgewiesen werden, so erhöhte sich das relative Risiko ebenfalls um mehr als die Hälfte (≥10/10HPF vs. <10/10HPF; RR=1,711). Neben Risikofaktoren ließen sich ebenfalls Parameter identifizieren, mit denen ein geringeres relatives Risiko für eine Lymphknotenmetastasierung einherging. Konnte ein hochgradiges TILs-IM-Infiltrat nachgewiesen werden, war das Risiko im Vergleich zu einem geringgradigen Infiltrat um fast zwei Drittel verringert (TILs-IM hoch- vs. geringgradig; RR=0,350). Für CLCC im invasiven Tumorrandbereich (CLCC-IM+ vs. CLCC-IM-; RR=0,421) und im zentralen Tumorbereich (CLCC-CT+ vs. CLCC-CT-; RR=0,464) ergab sich jeweils eine Risikoreduktion um mehr als die Hälfte. Auch bei Nachweis eines hochgradigen TILs-CT-Infiltrats zeigte sich eine Risikoreduktion (TILs-CT hoch- vs. geringgradig; RR=0,562). Zu den Parametern, die mit einer Verringerung des relativen Risikos einhergingen, gehörte neben dem Patientenalter (>65 Jahre vs. ≤65 Jahre; RR=0,699) ebenfalls der PLYNOM-Score. Im Vergleich zur Gruppe PLYNOM-I (Score-Punktzahl: 0) war das relative Risiko für eine Lymphknotenmetastasierung in der Gruppe PLYNOM-II/III (Score-Punktzahl: 1-4) um mehr als die Hälfte verringert (RR=0,436). In der Gruppe PLYNOM-III (Score-Punktzahl: 3-4) bestand im Vergleich zur Gruppe PLYNOM-I/II (Score-Punktzahl: 0-2) ein um nahezu zwei Drittel (RR=0,364) geringeres relatives Risiko. Für die Parameter Geschlecht, Tumornekrosen und Tumor Budding konnte im exakten Test nach Fischer kein signifikanter Zusammenhang zum Lymphknotenstatus (pN+, pN0) nachgewiesen werden.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 21 dargestellt.

**Tabelle 21.** Relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) für die Gesamtkohorte der NSCLC.

Parameter	Vergleichsgruppen	p-Wert	r <sub>s</sub>	RR	95%-KI
Tumorgröße (mm)	>37; ≤37	<b>&lt;0,001</b>	0,202	1,851	1,353 - 2,531
Geschlecht	männlich; weiblich	0,905	-0,010	0,969	0,698 - 1,345
Patientenalter (Jahre)	>65; ≤65	<b>0,035</b>	-0,116	0,699	0,510 - 0,959
Lymphgefäßinvasion	pL1; pL0	<b>&lt;0,001</b>	0,700	28,318	11,826 - 67,810
Blutgefäßinvasion	pV+; pV0	<b>&lt;0,001</b>	0,227	1,995	1,468 - 2,710
Mitosenanzahl (/10HPF)	≥10; <10	<b>0,001</b>	0,175	1,711	1,253 - 2,334
Tumornekrosen (%)	>50; ≤50	0,757	0,021	1,090	0,723 - 1,645
Tumor Budding	TB+; TB-	0,159	0,078	1,316	0,928 - 1,868
TILs-CT	hoch-; geringgradig	<b>&lt;0,001</b>	-0,187	0,562	0,408 - 0,775
TILs-IM	hoch-; geringgradig	<b>&lt;0,001</b>	-0,333	0,350	0,248 - 0,495
CLCC-CT	CLCC-CT+; CLCC-CT-	<b>&lt;0,001</b>	-0,186	0,464	0,291 - 0,740
CLCC-IM	CLCC-IM+; CLCC-IM-	<b>&lt;0,001</b>	-0,237	0,421	0,279 - 0,635
PLYNOM-Score	PLYNOM-II/III; PLYNOM-I	<b>&lt;0,001</b>	-0,276	0,436	0,322 - 0,591
	PLYNOM-III; PLYNOM-I/II	<b>&lt;0,001</b>	-0,249	0,364	0,227 - 0,583

Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, high-power fields; IM, invasiver Tumorrandbereich; KI, Konfidenzintervall; NSCLC, nicht-kleinzellige Lungenkarzinome; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; RR, relatives Risiko; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; TB, Tumor Budding; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.

### 3.2.4.2 Untergruppe der Adenokarzinome

Bei den Adenokarzinomen bestand das höchste relative Risiko für eine Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) bei Nachweis einer Lymphgefäßinvasion (pL1 vs. pL0; RR=19,444). Mehr als ein doppelt so hohes relatives Risiko ergab sich zudem bei Nachweis einer Blutgefäßinvasion (pV+ vs. pV0; RR=2,128). Konnte eine höhere Mitosenanzahl (≥10/10HPF vs. <10/10HPF) nachgewiesen werden, bestand ein um mehr als zwei Drittel (RR=1,676) höheres relatives Risiko und auch für größere Adenokarzinome (>37mm vs. ≤37mm) erhöhte sich dieses um mehr als die Hälfte (RR=1,596). Wurde ein hochgradiges TILs-IM-Infiltrat nachgewiesen, verringerte sich das relative Risiko um mehr als die Hälfte (TILs-IM hoch- vs. geringgradig; RR=0,382). Auch bei Nachweis eines hochgradigen TILs-CT-Infiltrats zeigte sich eine deutliche Risikoreduktion (TILs-CT hoch- vs. geringgradig; RR=0,511). Sowohl bei Nachweis von CLCC-IM (CLCC-IM+ vs. CLCC-IM-; RR=0,471) als auch CLCC-CT (CLCC-CT+ vs. CLCC-CT-; RR=0,443) verringerte sich das relative Risiko ebenfalls um mehr als die Hälfte. Die höchste relative Risikoreduktion ließ sich für die Gruppe PLYNOM-III (Score-

Punktzahl: 3-4) im Vergleich zur Gruppe PLYNOM-I/II (Score-Punktzahl: 0-2) nachweisen und betrug fast zwei Drittel (RR=0,348). Im Vergleich mit der Gruppe PLYNOM-I (Score-Punktzahl: 0) bestand für die Gruppe PLYNOM-II/III (Score-Punktzahl: 1-4) ein um mehr als die Hälfte verringertes relatives Risiko (RR=0,436). Für Geschlecht, Patientenalter, Tumornekrosen und Tumor Budding konnte bei den Adenokarzinomen im exakten Test nach Fischer keine signifikante Korrelation zum Lymphknotenstatus (pN+, pN0) nachgewiesen werden.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 22 dargestellt.

**Tabelle 22.** Relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) für die Untergruppe der ADC.

Parameter	Vergleichsgruppen	p-Wert	$r_s$	RR	95%-KI
Tumorgröße (mm)	>37; ≤37	<b>0,024</b>	0,148	1,596	1,096 - 2,326
Geschlecht	männlich; weiblich	0,487	-0,050	0,854	0,584 - 1,251
Patientenalter (Jahre)	>65; ≤65	0,273	-0,073	0,797	0,544 - 1,168
Lymphgefäßinvasion	pL1; pL0	<b>&lt;0,001</b>	0,668	19,444	8,123 - 46,548
Blutgefäßinvasion	pV+; pV0	<b>&lt;0,001</b>	0,247	2,128	1,472 - 3,076
Mitosenanzahl (/10HPF)	≥10; <10	<b>0,021</b>	0,148	1,676	1,123 - 2,501
Tumornekrosen (%)	>50; ≤50	1,000	0,004	1,022	0,552 - 1,890
Tumor Budding	TB+; TB-	0,053	0,126	1,520	1,028 - 2,247
TILs-CT	hoch-; geringgradig	<b>0,001</b>	-0,217	0,511	0,348 - 0,750
TILs-IM	hoch-; geringgradig	<b>&lt;0,001</b>	-0,305	0,382	0,255 - 0,573
CLCC-CT	CLCC-CT+; CLCC-CT-	<b>0,001</b>	-0,209	0,443	0,263 - 0,746
CLCC-IM	CLCC-IM+; CLCC-IM-	<b>0,001</b>	-0,214	0,471	0,298 - 0,745
PLYNOM-Score	PLYNOM-II/III; PLYNOM-I	<b>&lt;0,001</b>	-0,273	0,436	0,303 - 0,627
	PLYNOM-III; PLYNOM-I/II	<b>&lt;0,001</b>	-0,268	0,348	0,202 - 0,599

Abkürzungen: ADC, Adenokarzinome; CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, high-power fields; IM, invasiver Tumorrandbereich; KI, Konfidenzintervall; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; RR, relatives Risiko;  $r_s$ , Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; TB, Tumor Budding; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.

### 3.2.4.3 Untergruppe der Plattenepithelkarzinome

Das höchste relative Risiko für eine Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) bestand in der Untergruppe der Plattenepithelkarzinome bei Nachweis einer höheren Mitosenanzahl (≥10/10HPF vs. <10/10HPF; RR=3,352). Mehr als eine Verdreifachung des relativen Risikos konnte ebenfalls für größere Plattenepithelkarzinome (>37mm vs. ≤37mm; RR=3,125) nachgewiesen werden. Die höchste relative Risikoreduktion ergab sich bei Vorhandensein eines hochgradigen TILs-IM-Infiltrats (TILs-IM hoch- vs.



geringgradig; RR=0,282). Konnten CLCC-IM nachgewiesen werden, war das relative Risiko ebenfalls um mehr als zwei Drittel niedriger als in der Vergleichsgruppe (CLCC-IM+ vs. CLCC-IM-; RR=0,286). Für das Patientenalter (>65 Jahre vs. ≤65 Jahre; RR=0,468) und den PLYNOM-Score (PLYNOM-II/III vs. PLYNOM-I; RR=0,438) zeigte sich eine Risikoreduktion um mehr als die Hälfte in Bezug zur jeweiligen Vergleichsgruppe. Auch für die Gruppe PLYNOM-III ließ sich im Vergleich zur Gruppe PLYNOM-I/II eine Risikoreduktion um mehr als die Hälfte nachweisen (RR=0,413), jedoch war diese statistisch nicht signifikant (p=0,052). Für die Parameter Geschlecht, Blutgefäßinvasion, Tumornekrosen, Tumor Budding, TILs-CT und CLCC-CT konnte bei den Plattenepithelkarzinomen im exakten Test nach Fischer kein signifikanter Zusammenhang zum Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. Keines der Plattenepithelkarzinome ohne Lymphgefäßinvasion wies eine lymphonoduläre Metastasierung auf, sodass diesbezüglich anhand der vorliegenden Daten keine Berechnung des relativen Risikos erfolgen konnte.

Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 23 dargestellt.

**Tabelle 23.** Relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0) für die Untergruppe der SCC.

Parameter	Vergleichsgruppen	p-Wert	r <sub>s</sub>	RR	95%-KI
Tumorgröße (mm)	>37; ≤37	<b>0,001</b>	0,329	3,125	1,483 - 6,584
Geschlecht	männlich; weiblich	0,463	0,092	1,426	0,661 - 3,078
Patientenalter (Jahre)	>65; ≤65	<b>0,015</b>	-0,256	0,468	0,270 - 0,809
Lymphgefäßinvasion	pL1; pL0	<b>&lt;0,001</b>	0,780	NA	NA
Blutgefäßinvasion	pV+; pV0	0,090	0,179	1,733	0,984 - 3,054
Mitosenanzahl (/10HPF)	≥10; <10	<b>0,006</b>	0,281	3,352	1,278 - 8,795
Tumornekrosen (%)	>50; ≤50	0,656	0,042	1,143	0,626 - 2,087
Tumor Budding	TB+; TB-	0,771	-0,050	0,795	0,322 - 1,959
TILs-CT	hoch-; geringgradig	0,291	-0,114	0,707	0,394 - 1,268
TILs-IM	hoch-; geringgradig	<b>&lt;0,001</b>	-0,402	0,282	0,145 - 0,549
CLCC-CT	CLCC-CT+; CLCC-CT-	0,261	-0,122	0,535	0,184 - 1,560
CLCC-IM	CLCC-IM+; CLCC-IM-	<b>0,003</b>	-0,293	0,286	0,109 - 0,751
PLYNOM-Score	PLYNOM-II/III; PLYNOM-I	<b>0,006</b>	-0,281	0,438	0,252 - 0,763
	PLYNOM-III; PLYNOM-I/II	0,052	-0,200	0,413	0,159 - 1,069

Abkürzungen: CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; CT, zentraler Tumorbereich; HPF, high-power fields; IM, invasiver Tumorrandbereich; KI, Konfidenzintervall; NA, nicht auswertbar; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; RR, relatives Risiko; r<sub>s</sub>, Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient; SCC, Plattenepithelkarzinome; TB, Tumor Budding; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.

### 3.3 Multivariate Analyse

In der multivariaten Analyse aller Einzelparameter, die in der univariaten Analyse signifikant mit dem Lymphknotenstatus korrelierten, konnten nur die Lymphgefäßinvasion ( $p < 0,001$ ) und die Mitosenanzahl ( $p = 0,027$ ) als unabhängige Prädiktoren des Lymphknotenstatus (pN0, pN+) identifiziert werden (vgl. Tabelle 24A). Die Chance auf eine Lymphknotenmetastasierung war bei Vorliegen einer Lymphgefäßinvasion (pL1) mehr als 82-mal höher ( $OR = 82,335$ ) als bei deren Abwesenheit (pL0). Zudem erhöht sich mit zunehmender Mitosenanzahl die Chance auf eine lymphonoduläre Metastasierung ( $OR = 1,048$ ). Um herauszufinden, ob eine Kombination der Einzelparameter zusätzliche prädiktive Bedeutung für den Lymphknotenstatus hat, wurde in einer zweiten multivariaten Analyse der PLYNOM-Score anstelle der einzelnen Lymphozytenparameter (TILs-CT, TILs-IM, CLCC-CT, CLCC-IM) verwendet. Die so berechnete multivariate Analyse konnte zusätzlich zur Lymphgefäßinvasion ( $p < 0,001$ ) und der Mitosenanzahl ( $p = 0,045$ ) den PLYNOM-Score ( $p < 0,001$ ) als unabhängigen Prädiktor des Lymphknotenstatus bei NSCLC identifizieren (vgl. Tabelle 24B). Mit zunehmender Punktzahl im PLYNOM-Score sinkt die Chance auf eine Lymphknotenmetastasierung ( $OR = 0,614$ ). Der Vergleich der Kategorien PLYNOM-II und PLYNOM-I ( $OR = 0,410$ ;  $p = 0,035$ ) sowie PLYNOM-III und PLYNOM-I ( $OR = 0,139$ ;  $p < 0,001$ ) zeigt zudem, dass eine höhere Kategorie des PLYNOM-Scores mit einer geringeren Chance auf Lymphknotenmetastasen einhergeht (vgl. Tabelle 24C). Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 24 aufgeführt.

**Tabelle 24.** Die Ergebnisse der multivariaten Analyse.

**A.** Binäre logistische Regression.

Parameter	$\beta$	OR	p-Wert	95%-KI
Patientenalter	-0,027	0,973	0,141	0,939 - 1,009
Tumorgröße	0,001	1,001	0,893	0,986 - 1,016
pL1 vs. pL0	4,411	82,335	<b>&lt;0,001</b>	29,295 - 231,405
pV+ vs. pV0	0,189	1,209	0,602	0,593 - 2,465
CLCC-CT+ vs. CLCC-CT-	0,037	1,038	0,943	0,372 - 2,896
CLCC-IM+ vs. CLCC-IM-	-0,148	0,862	0,799	0,275 - 2,704
TILs-CT+ vs. TILs-CT-	-0,729	0,482	0,101	0,202 - 1,152
TILs-IM+ vs. TILs-IM-	-1,030	0,357	0,054	0,125 - 1,020
Mitosenanzahl	0,047	1,048	<b>0,027</b>	1,005 - 1,093

**B.** Binäre logistische Regression mit dem PLYNOM-Score (0-4 Punkte) anstelle der lymphozytären Einzelparameter.

Parameter	$\beta$	OR	p-Wert	95%-KI
Patientenalter	-0,025	0,975	0,164	0,941 - 1,010
Tumorgröße	0,002	1,002	0,836	0,987 - 1,016
pL1 vs. pL0	4,381	79,919	<b>&lt;0,001</b>	29,322 - 217,823
pV+ vs. pV0	0,174	1,190	0,627	0,591 - 2,394
PLYNOM-Score	-0,488	0,614	<b>&lt;0,001</b>	0,483 - 0,781
Mitosenanzahl	0,041	1,042	<b>0,045</b>	1,001 - 1,084

**C.** Binäre logistische Regression mit den Kategorien des PLYNOM-Scores (PLYNOM-I, -II, -III) anstelle der lymphozytären Einzelparameter.

Parameter	$\beta$	OR	p-Wert	95%-KI
Patientenalter	-0,028	0,972	0,128	0,938 - 1,008
Tumorgröße	0,002	1,002	0,769	0,988 - 1,017
pL1 vs. pL0	4,396	81,160	<b>&lt;0,001</b>	29,578 - 222,697
pV+ vs. pV0	0,222	1,248	0,537	0,618 - 2,524
PLYNOM-II vs. PLYNOM-I	-0,892	0,410	<b>0,035</b>	0,179 - 0,941
PLYNOM-III vs. PLYNOM-I	-1,975	0,139	<b>&lt;0,001</b>	0,055 - 0,349
Mitosenanzahl	0,041	1,042	<b>0,045</b>	1,001 - 1,085

Abkürzungen:  $\beta$ , Regressionskoeffizient; KI, Konfidenzintervall; CT, zentraler Tumorbereich; CLCC, zirkuläre lymphozytäre Zellcluster; IM, invasiver Tumorrandbereich; OR, Odds Ratio; pL, pathologische Lymphgefäßinvasion; PLYNOM, „probability of lymphonodular metastasis“; pV, pathologische Blutgefäßinvasion; TILs, Tumor-infiltrierende Lymphozyten. Anmerkungen: Signifikante p-Werte sind in Fettschrift hervorgehoben.

## 4. Diskussion

### 4.1 Klinische Parameter

#### 4.1.1 Tumorgröße

Die Tumorgröße ist ein wesentlicher Faktor der aktuellen achten Edition der „TNM-Klassifikation maligner Tumoren“ und spielt eine wichtige Rolle für die Beurteilung der Patientenprognose [16]. Die vorliegende Arbeit unterstreicht zudem deren Bedeutung für den Lymphknotenstatus. Es konnte nachgewiesen werden, dass mit zunehmender Tumorgröße häufiger Lymphknotenmetastasen (pN0, pN1, pN>1) nachweisbar waren. Das relative Risiko einer lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0) war bei größeren Tumoren (>37mm; ≤37mm) sowohl in der Gesamtkohorte als auch bei den Adenokarzinomen um mehr als die Hälfte erhöht. Bei den Plattenepithelkarzinomen bestand sogar ein mehr als dreimal so hohes relatives LNM-Risiko. Dies unterstreicht in Zusammenhang mit den ebenfalls höheren Mittel- und Medianwerten das aggressive Wachstumsverhalten der Plattenepithelkarzinome. Auch andere Studien betrachteten den Zusammenhang zum Nodalstatus [35, 43, 55, 58, 59, 73-76] und analysierten die Tumorgröße anhand der präoperativen Computertomographie [35, 55, 58, 73], der histopathologischen Aufarbeitung der Resektate [43, 74, 75] oder einer Kombination beider Methoden [59, 76]. In der retrospektiven Arbeit von *Cho et al.* (Kohorte: 770 NSCLC; ≤50mm) wurden Tumoren untersucht, die in der präoperativen Diagnostik keine Lymphknotenmetastasen (cN0) aufwiesen [73]. Dennoch konnten bei 19,4% der Fälle (149/770) histologisch Lymphknotenmetastasen (pN1: 11,3% (87/770); pN2: 8,1% (62/770)) diagnostiziert werden [73]. Die Tumorgröße in der präoperativen Bildgebung konnte als signifikanter Prädiktor eines N1- und N2-Status identifiziert werden [73]. Mit steigendem Tumordurchmesser (≤20mm; >20mm und ≤30mm; >30mm und ≤50mm) waren häufiger Lymphknotenmetastasen nachweisbar (9,3%; 21,8%; 31,8%) [73]. Die Autoren weisen in diesem Zusammenhang auf die große Bedeutung des präoperativen Lymphknotenstaging für die Prognose der Erkrankung und die Auswahl des Therapieverfahrens hin [73]. *Seok et al.* (Kohorte: 413 ADC; ≤30mm) zeigten, dass in der präoperativen Computertomographie sowohl die gesamte Tumorgröße inkl. Milchglasinfiltrat („total size“), als auch nur die solide Tumorgröße („solid size“) eine Relevanz für den Lymphknotenstatus haben [58]. Bei beiden Parametern waren bei steigender Tumorgröße häufiger Lymphknotenmetastasen nachweisbar, jedoch konnte

nur die solide TumorgroÙe als unabhängiger Prädiktor des Lymphknotenstatus identifiziert werden [58]. In Bezug auf die solide TumorgroÙe beschrieben die Autoren zudem, dass bei Tumoren  $\leq 5\text{mm}$  in keinem der Fälle und bei Tumoren  $\leq 10\text{mm}$  lediglich in einem Fall Lymphknotenmetastasen vorlagen, sodass eine Lymphadenektomie für Tumoren  $\leq 5\text{mm}$  verzichtbar erscheine [58]. *Wang et al.* (Kohorte: 292 NSCLC;  $\leq 30\text{mm}$ ) zeigten in ihrer Studie ebenfalls, dass die TumorgroÙe in der präoperativen Computertomographie ein unabhängiger Prädiktor des Nodalstatus ist (HR=2,80) [76]. Eine lymphonoduläre Metastasierung war trotz eines präoperativen cN0-Stagings (Stadium IA) in 9,6% (28/292) der Fälle nachweisbar und trat mit steigendem Tumordurchmesser häufiger auf [76]. Insbesondere bei Tumoren mit dominanter Milchglaskomponente ( $\geq 50\%$  der Tumorfläche) konnten jedoch keine Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden, sodass bei diesen ggf. eine Segmentresektion möglich sei [76]. Auch *Bao et al.* (Kohorte: 315 NSCLC;  $\leq 20\text{mm}$ ) identifizierten in ihrer retrospektiven Studie die TumorgroÙe in der präoperativen radiologischen Bildgebung als Prädiktor eines positiven Lymphknotenstatus (pN1, pN2) [35]. In keinem der Fälle waren präoperativ Lymphknotenmetastasen nachweisbar (cN0), jedoch lieÙen sich diese am Resektat in 16,2% (51/315) der Fälle nachweisen [35]. Dies unterstreicht die Bedeutung eines korrekten Lymphknotenstagings für die Auswahl des operativen Therapieverfahrens, insbesondere um die Möglichkeit einer Segmentresektion evaluieren zu können [35]. *Zhao et al.* (Kohorte: 284 NSCLC;  $\leq 40\text{mm}$ ) untersuchten retrospektiv Tumoren, die intraoperativ als Stadium I diagnostiziert wurden und konnten in der histologischen Aufarbeitung in 69 Fällen (24,3%) Lymphknotenmetastasen nachweisen [59]. In der multivariaten Analyse war die TumorgroÙe ( $\leq 26,5\text{mm}$ ;  $>26,5\text{mm}$ ), neben dem Differenzierungsgrad und der Bronchusinvasion, ein unabhängiger Prädiktor der Lymphknotenmetastasierung [59]. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde ein Modell ( $\hat{y}$ ) entwickelt, das zwischen Patienten mit vorhandenen und nicht vorhandenen Lymphknotenmetastasen unterscheiden soll [59]. Bei einem Modellwert  $\hat{y} \leq 0,43$  in Kombination mit einer TumorgroÙe  $\leq 20\text{mm}$  und einem intraoperativen Stadium I sei demnach eine Lymphknotendissektion verzichtbar [59]. Insgesamt erscheint diese Vorgehensweise jedoch zu komplex, um sie hinreichend in den klinischen Routinealltag integrieren zu können, da u.a. eine umfangreiche Berechnung zur Erfassung des Modellwerts  $\hat{y}$  notwendig ist und eine Anwendung des Modells lediglich bei Tumoren mit intraoperativem Stadium I möglich ist. *Zhang et al.* (Kohorte: 243 NSCLC;  $\leq 20\text{mm}$ )

konnten in ihrer multivariaten Analyse ebenfalls nachweisen, dass ein kleinerer Tumordurchmesser ( $\leq 10\text{mm}$ ) unabhängig mit einem negativen Nodalstatus korreliert [43]. Unter den 243 NSCLC (cN0) ließen sich histologisch in 29 Fällen (11,9%) Lymphknotenmetastasen (pN1: 5,3% (13/243); pN2: 6,6% (16/243)) nachweisen [43]. Die Tumorgöße wurde in dieser Studie anhand von Frischgewebe bestimmt, um eine Größenminderung des Tumors durch die Formalinfixierung zu vermeiden [43]. Ein solches Vorgehen ist von den Autoren zur intraoperativen Erfassung des Tumordurchmessers empfohlen [43]. Dies könne neben der Lage des Tumors und der unmittelbaren Bestimmung des histologischen Subtyps einen Beitrag dazu leisten, über die Notwendigkeit einer systematischen Lymphadenektomie zu entscheiden, sodass ggf. Operationskomplikationen vermieden werden können [43]. Da bei 3,8% (2/53) der Tumoren mit einem Durchmesser  $\leq 10\text{mm}$  Lymphknotenmetastasen (pN2) diagnostiziert wurden, sei die Tumorgöße als alleiniges Kriterium hierzu nicht ausreichend [43]. Ebenfalls *Konaka et al.* (Kohorte: 171 NSCLC;  $\leq 20\text{mm}$ ) haben sich auf kleinere NSCLC fokussiert, die klinisch als Stadium I klassifiziert wurden [55]. Bei 30 Fällen (17,5%) konnten histologisch dennoch Lymphknotenmetastasen (pN1: 5,8% (10/171); pN2: 11,7% (20/171)) nachgewiesen werden [55]. Interessanterweise wiesen alle Tumoren mit einer Größe  $\leq 10\text{mm}$  (11,1% (19/171)) einen negativen Nodalstatus auf, sodass eine mediastinale Lymphadenektomie für diese Untergruppe verzichtbar sei [55]. Mit der Frage einer routinemäßigen mediastinalen Lymphadenektomie bei Patienten mit kleinen peripheren Lungenkarzinomen beschäftigte sich auch die Arbeitsgruppe um *Watanabe et al.* (Kohorte: 225 NSCLC und SCLC;  $\leq 20\text{mm}$ ) und führte an, dass eine mediastinale Lymphadenektomie u.a. bei Plattenepithelkarzinomen  $\leq 20\text{mm}$  sowie bei Adenokarzinomen und SCLC  $\leq 10\text{mm}$  möglicherweise nicht durchgeführt werden müsse [75]. Ebenfalls *Fukui et al.* (Kohorte: 360 NSCLC;  $\leq 20\text{mm}$ ) zeigten, dass die Wahrscheinlichkeit von mediastinalen Lymphknotenmetastasen (pN2) mit steigendem Tumordurchmesser ( $\leq 10\text{mm}$ ; 11-15mm; 16-20mm) zunimmt (1,8% (1/55); 2,5% (3/120); 10,1% (17/168)) [74]. Interessanterweise wies keines der Plattenepithelkarzinome in den Studien von *Watanabe et al.* (n=20) [75] und *Fukui et al.* (n=21) [74] eine mediastinale Lymphknotenmetastasierung (pN2) auf.

In der Literatur zeigt sich die Bestrebung, anhand der Tumorgöße Tumoren zu identifizieren, bei denen keine Lymphknotenmetastasen vorliegen, um so das operative Therapieverfahren anpassen und ggf. auf eine Lymphadenektomie verzichten zu können. Gemäß der aktuellen S3-Leitlinie ist das chirurgische Standardverfahren für

NSCLC im Stadium I, Stadium II und Stadium IIIA (T3N1) jedoch die Lobektomie einschließlich einer systematischen Dissektion der ipsilateralen Lymphknoten [5]. Eine Pneumonektomie ist nur in seltenen Fällen notwendig und eine Manschettenresektion ist, im Falle eines ausreichenden Sicherheitsabstands, nicht nur bei funktionell eingeschränkten Patienten, aufgrund geringerer Komplikationen und Spätfolgen zu bevorzugen [5]. Um ein genaueres Staging zu ermöglichen und ggf. die Prognose zu verbessern, ist die systematische Lymphadenektomie fester Bestandteil aller Operationen mit kurativer Zielsetzung [5]. Limitierte Resektionen, wie z.B. die Keil- oder die anatomische Segmentresektion, sollten nur bei Patienten mit reduzierter kardiopulmonaler Reserve durchgeführt werden [5].

Insgesamt führen die verschiedenen Patientenkohorten (z.B.: NSCLC, ausschließlich ADC, NSCLC und SCLC), Messmethoden (Computertomographie, Histopathologie) und selektierten Tumorgrößen (z.B.  $\leq 20\text{mm}$ ,  $\leq 40\text{mm}$  etc.) innerhalb der einzelnen Studien zu einer eingeschränkten Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Die vorliegende Arbeit analysiert die Tumorgröße basierend auf den Größendefinitionen der achten TNM-Klassifikation und umfasst sowohl Adeno- als auch Plattenepithelkarzinome der Größen 2-170mm und bietet so einen umfassenden Blick auf einen Großteil der NSCLC. Eine pN1-Situation konnte gegensätzlich zu einigen anderen Publikationen sowohl für Adeno- als auch Plattenepithelkarzinome mit einer Tumorgröße  $\leq 10\text{mm}$  nachgewiesen werden, sodass die Tumorgröße allein kein verlässlicher Prädiktor zur Identifizierung von Karzinomen ohne Lymphknotenmetastasierung erscheint. Erwähnenswert ist jedoch, dass keines der ADC  $\leq 10\text{mm}$  und keines der SCC  $\leq 30\text{mm}$  einen pN2-Lymphknotenstatus aufwies. Bestrebungen, das Ausmaß der Lymphadenektomie an die Wahrscheinlichkeit einer Lymphknotenmetastasierung anzupassen, erscheinen zwar sinnvoll, auch um unnötige Operationskomplikationen zu vermeiden, jedoch ist es hierzu notwendig, Tumoren mit einem negativen Nodalstatus anhand klinischer und/oder histologischer Kriterien (z.B. intraoperativ am Frischgewebe) sicher zu identifizieren. Diese Aspekte sollten daher in zukünftigen Studien weitere Berücksichtigung finden.

#### **4.1.2 Patientengeschlecht und -alter**

Obwohl eine große Anzahl an Studien eine prognostische Bedeutung des Patientengeschlechts [16, 24, 30, 33, 34, 36, 38, 42, 46, 47, 49, 50, 56, 61, 68, 69, 77] und des Patientenalters [16, 24, 29, 30, 33, 36, 38, 39, 41, 42, 46, 50, 56, 69, 77]

beschreibt, ist der Einfluss auf den Lymphknotenstatus bisher nur unzureichend untersucht worden. Die Arbeitsgruppe um *Cho et al.* konnte das männliche Geschlecht in der univariaten Analyse als signifikanten Prädiktor einer pN1-Metastasierung, nicht jedoch einer pN2-Metastasierung, identifizieren [73]. In der vorliegenden Arbeit konnte hingegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Patientengeschlecht und dem Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. Dies ist konkordant zu den Ergebnissen einiger anderer Arbeitsgruppen [35, 59]. In Bezug auf den Lymphknotenstatus beschrieben *Zhao et al.* zwar unterschiedliche Altersmittelwerte (N0: 61,27 Jahre; N+: 59,28 Jahre), jedoch waren diese statistisch nicht signifikant [59]. Auch in einer anderen Studie wiesen jüngere Patienten (<59 Jahre; ≥59 Jahre) eine höhere Wahrscheinlichkeit für einen N1- und N2-Status auf, jedoch konnte ebenfalls keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden [35]. *Zhang et al.* fanden hingegen heraus, dass ein höheres Patientenalter bei Erstdiagnose (>59 Jahre) ein unabhängiger Prädiktor eines negativen Nodalstatus ist ( $p=0,034$ ) [43]. Zusätzlich zu dieser heterogenen Datenlage in Bezug auf den Lymphknotenstatus, existieren ebenfalls mehrere Studien, die weder für das Patientenalter [44, 47, 48, 53, 60, 68] noch das Patientengeschlecht [48, 53, 60] eine prognostische Bedeutung nachweisen konnten. Ein wichtiger Aspekt ist zudem, dass die Alterstrennwerte in den jeweiligen Studien sehr heterogen gewählt wurden. Während einige Arbeitsgruppen die Alterstrennwerte am Medianwert [41, 42, 53, 56, 60] oder an vorherigen Studien [77] orientierten, machte die Mehrzahl der Arbeitsgruppen keine Angaben zur Herkunft der entsprechenden Trennwerte [16, 33, 38, 39, 43, 44, 46-48, 50, 68, 69, 76]. Die verwendeten Alterstrennwerte in Jahren betragen ≤59 vs. >59 [43], <60 vs. ≥60 [16, 39], ≤60 vs. >60 [69, 76], <61 vs. ≥61 [56], ≤62 vs. >62 [33], ≤63 vs. >63 [41], <65 vs. ≥65 [50, 53], ≤65 vs. >65 [38, 47, 48] und <70 vs. ≥70 [44, 46, 77]. In diesem Zusammenhang fällt auf, dass vor allem der Einschluss des Trennwerts ( $\leq$  bzw.  $\geq$ ) zu einer heterogenen Methodik beiträgt. In den Studien von *Weichert et al.* [42] und *Duhig et al.* [60] wurden die Altersgruppen gänzlich ohne diesen eingeteilt (<Medianwert vs. >Medianwert). Andere Arbeitsgruppen analysierten das Patientenalter lediglich als kontinuierliche Variable [24, 29, 30, 36] und *Brambilla et al.* verwendeten für ihre Analyse sogar zwei verschiedene Trennwerte (<55 Jahre; 55-64 Jahre; >64 Jahre) [68]. Insgesamt sollte für zukünftige Studien ein einheitliches Vorgehen definiert werden, um die Heterogenität der Datenlage zu reduzieren und so die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu verbessern. In der vorliegenden Arbeit wurde als Alterstrennwert der Mittelwert der Gesamtkohorte



(65,8 Jahre) verwendet, der diese in die Gruppen der jüngeren ( $\leq 65$  Jahre) und der älteren ( $> 65$  Jahre) Patienten einteilt. Sowohl für die Gesamtkohorte als auch die Untergruppe der Plattenepithelkarzinome konnte so ein negativer Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und dem Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. Bei jüngeren Patienten waren somit häufiger Lymphknotenmetastasen nachweisbar als bei älteren Patienten. Auch bei den Adenokarzinomen bestand im Jonckheere-Terpstra-Test zunächst ein solcher Zusammenhang, jedoch zeigte sich dieser nicht mehr im Rahmen der dichotomen Gruppierung des Parameters ( $\leq 65$  Jahre;  $> 65$  Jahre). Dies weist auf die Schwierigkeit einer standardisierten Einteilung der Patienten in Altersklassen hin. Zusammenfassend sollten sowohl das Geschlecht als auch das Alter der Patienten aufgrund der heterogenen Datenlage in zukünftigen Studien weitere Berücksichtigung finden. Insbesondere das Patientenalter kann beispielsweise für die Auswahl des Therapieregimes relevant sein, um ein möglichst verträgliches und risikoarmes Behandlungskonzept auswählen zu können.

## **4.2 Histomorphologische Parameter**

### **4.2.1 Prädominante Wachstumsmuster**

In mehreren Studien wurde die Bedeutung der einzelnen Wachstumsmuster für die Patientenprognose und den Lymphknotenstatus untersucht. *Von der Thüsen et al.* konnten für das lepidische PDW eine bessere (HR=0,99; p=0,023) und für das solide PDW eine schlechtere Prognose (HR=1,01; p=0,03) nachweisen, wohingegen alle anderen PDW keine prognostische Relevanz besaßen [29]. Im Vergleich zu den übrigen Wachstumsmustern dokumentierten *Hung et al.* für solide und mikropapilläre PDW ein schlechteres Gesamtüberleben (HR=1,6; p=0,01) [30], *Yoshizawa et al.* die schlechtesten krankheitsfreien Überlebensraten nach fünf Jahren (solide: 70% bzw. mikropapillär: 67%) [34] und *Russell et al.* die schlechtesten 5-Jahres-Überlebensraten (solide mit Muzin: 39%; mikropapillär: 38%) [31]. Auch in einer Studie von *Warth et al.* bestanden deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Wachstumsmustern bezüglich des Gesamtüberlebens: lepidisch (78,5 Monate), azinär (67,3 Monate), solide (58,1 Monate), papillär (48,9 Monate) und mikropapillär (44,9 Monate) [33]. Obwohl in vielen Studien beschrieben wurde, dass prädominant solide [29-32, 34] und mikropapilläre [30-34] Adenokarzinome mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind, konnte bei diesen Wachstumsmustern eine adjuvante Chemotherapie einen

prognostischen Nutzen erzielen [20, 32]. Ein Review von *Cao et al.* weist auf eine schlechtere Prognose des mikropapillären PDW hin, jedoch ist dies nur für frühe Erkrankungsstadien beschrieben und wird bei fortgeschrittenen Erkrankungen stattdessen kontrovers diskutiert [28].

Für die vorliegende Arbeit ist insbesondere die Datenlage in Bezug auf den Lymphknotenstatus von Interesse. In der Literatur sind sowohl für mikropapilläre [28-31, 33, 35] als auch solide [30] PDW häufiger Lymphknotenmetastasen beschrieben, während diese beim prädominant lepidischen Wachstumsmuster seltener vorkommen [30, 31, 33]. Obwohl in der Studie von *von der Thüsen et al.* für das mikropapilläre Wachstumsmuster keine prognostische Bedeutung nachgewiesen werden konnte, lagen hier dennoch am häufigsten Lymphknotenmetastasen (N1+N2) vor (lepidisch: 11,1% (6/54); azinär 32,7% (35/107); papillär 30,8% (4/13); solide 37,5% (15/40); mikropapillär 66,7% (6/9)) [29]. Eine entsprechende Korrelation wurde in der Studie jedoch nicht berechnet, sodass keine Angaben zur statistischen Signifikanz dieser Verteilung gemacht werden können [29]. *Hung et al.* dokumentierten hingegen einen signifikanten Zusammenhang ( $p < 0,01$ ) zwischen den PDW und dem Lymphknotenstatus und beschrieben sowohl den N1-Status (lepidisch: 5,7% (2/35); azinär: 8,3% (16/193); papillär: 9% (14/155); solide: 14,1% (11/78); mikropapillär: 15,2% (17/112)) als auch den N2-Status (lepidisch: 5,7% (2/35); azinär: 14,5% (28/193); papillär: 11% (17/155); solide: 29,5% (23/78); mikropapillär: 26,8% (30/112)) [30]. Auch in einer Studie von *Russell et al.* lag beim mikropapillären PDW der höchste Anteil an N2-Metastasen vor (lepidisch: 0% (0/10); azinär: 11% (9/84); papillär: 4% (1/26); solide mit Muzin: 14% (7/49); mikropapillär: 43% (6/14)) [31]. Alle lepidischen Adenokarzinome wiesen in dieser Studie interessanterweise keine Lymphknotenmetastasen (N0) auf [31]. Die Arbeitsgruppe um *Warth et al.* konnte ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang zwischen den PDW und Lymphknotenmetastasen (N+) nachweisen (lepidisch 7% (3/41); azinär: 46% (96/207); papillär: 43% (10/23); solide: 51% (93/183); mikropapillär: 76% (25/33)) [33]. In einer Studie von *Bao et al.* wurde für mikropapilläre Adenokarzinome eine Assoziation zu N1- (33,3% (8/24)) und N2-Metastasen (41,7% (10/24)) beschrieben, jedoch wurden diese in Bezug zu Adenokarzinomen im Allgemeinen und zu Nicht-Adenokarzinomen gesetzt, ohne Angaben zu anderen Wachstumsmustern zu machen [35]. *Wang et al.* untersuchten das Vorkommen der einzelnen Wachstumsmuster bei Adenokarzinomen im Stadium IA ohne den Fokus auf die Prädominanz eines einzelnen Musters zu legen [76]. Der Nachweis lepidischer

Komponenten war mit einem negativen Nodalstatus (0% (0/42) N+) und der Nachweis mikropapillärer (42,9% (6/14) N+) und solider Komponenten (22,2% (8/36) N+) mit einem positiven Nodalstatus assoziiert [76]. Die Arbeitsgruppe um *Maeda et al.* analysierte das mikropapilläre Wachstumsmuster bei Adenokarzinomen zunächst anhand von drei Ausprägungsgraden (fokal: <5%; moderat: 5-30%; extensiv: >30%) [78]. Anschließend wurden einige der Tumoren mit mikropapillären Komponenten (n=10) mit Karzinomen ohne mikropapilläre Komponenten verglichen (n=39) und es konnte nicht nur eine Assoziation zu Lymphknotenmetastasen sondern auch zur Gefäßinvasion (Blut- oder Lymphgefäße) nachgewiesen werden [78]. Auch *Cao et al.* konnten in ihrem Review nachweisen, dass bei Vorliegen eines mikropapillären Wachstumsmusters häufiger Lymphknotenmetastasen bestehen [28].

In der hier vorliegenden Arbeit wurden ebenfalls die einzelnen Wachstumsmuster der Adenokarzinome in Bezug zum Lymphknotenstatus gesetzt, jedoch konnte kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden. Zwar lag der höchste Anteil an N1-Metastasen in der Gruppe der mikropapillären Adenokarzinome (66,7% (2/3)) vor, jedoch ist die entsprechende Fallzahl (n=3) sehr niedrig, sodass diesbezüglich nur eine sehr geringe Aussagekraft besteht.

Die Rolle der prädominanten Wachstumsmuster bei den Plattenepithelkarzinomen wird in der Literatur im Vergleich zu den Adenokarzinomen kontroverser diskutiert [37-43]. *Moro-Sibilot et al.* konnten für Karzinome mit basaloidem Wachstumsmuster im Vergleich zu nicht-basaloiden Karzinomen (jeweils Stadium I-II) u.a. eine schlechtere 5-Jahres-Überlebensrate (27% vs. 44%; p=0,01) nachweisen [41]. Erwähnt werden muss in diesem Zusammenhang jedoch, dass sich die Gruppe der basaloiden Karzinome in dieser Studie aus basaloiden großzelligen Karzinomen (n=46) und basaloiden Plattenepithelkarzinomen (n=44) zusammensetzt [41]. Die Arbeitsgruppe um *Brambilla et al.* berichtete zudem über eine geringe mediane Überlebensrate von 22 Monaten für basaloide Karzinome im Stadium I-II [37]. Die untersuchten Karzinome (n=38) bestanden dabei zur Hälfte aus Tumoren mit ausschließlich basaloidem Wachstumsmuster und zur Hälfte aus Tumoren mit prädominant basaloidem Wachstumsmuster (z.B. Adenokarzinome oder großzellige Karzinome) [37]. In einer ähnlichen Studie von *Moro et al.* wurde für basaloide Karzinome (Stadium I-II) eine deutlich schlechtere 5-Jahres-Überlebensrate im Vergleich zu schlecht differenzierten SCC nachgewiesen (15% vs. 47%; p=0,004) [40]. Der Anteil des basaloiden Wachstumsmusters am Gesamttumor betrug in beiden Studien jeweils mindestens 60%

[37, 40]. Interessanterweise beschrieben *Weichert et al.* im Gegensatz dazu eine geringere Gesamtüberlebenszeit ( $p=0,037$ ) für verhornende (62,1 Monate) im Vergleich zu basaloiden (68,8 Monate) und nicht-verhornenden (71,5 Monate) Plattenepithelkarzinomen [42]. *Kadota et al.* und *Kim et al.* konnten hingegen keinerlei signifikante prognostische Unterschiede zwischen den einzelnen Wachstumsmustern nachweisen [38, 39]. Der Einfluss auf den Lymphknotenstatus wurde, trotz der nachgewiesenen prognostischen Bedeutung der einzelnen Wachstumsmuster, in den meisten der Studien nicht untersucht [37-40]. *Moro-Sibilot et al.* beschrieben jedoch Lymphknotenmetastasen (N0; N1; N2) bei basaloiden Karzinomen (46,7% (42/90); 44,4% (40/90); 8,9% (8/90)) im Vergleich zu nicht-basaloiden Karzinomen (49,5% (658/1328); 33,4% (444/1328); 17% (226/1328);  $p=0,03$ ) und zu Plattenepithelkarzinomen (46% (407/884); 39,6% (350/884); 14,4% (127/884); p-Wert nicht signifikant) [41]. Eine Studie von *Zhang et al.* konnte die untersuchten histologischen Subgruppen (SCC, ADC in situ, MIA, ADC mit lepidischem PDW, invasiv muzinöses ADC) in der multivariaten Analyse als unabhängigen Prädiktor eines N0-Status identifizieren ( $p=0,008$ ) [43]. Zwar wies keines der 22 SCC eine lymphonoduläre Metastasierung auf, jedoch wurden insgesamt lediglich kleine, periphere Karzinome ( $\leq 20\text{mm}$ ) untersucht und es wurde innerhalb der SCC nicht zwischen (prädominanten) Wachstumsmustern unterschieden [43]. In einer Studie von *Weichert et al.* bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen den PDW der Plattenepithelkarzinome und dem Lymphknotenstatus [42].

Auch in der hier vorliegenden Arbeit konnte kein entsprechender Einfluss auf den Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. Erwähnenswert ist jedoch, dass lediglich 12,5% (1/8) der prädominant basaloiden SCC pN1-Metastasen aufwiesen und dass bei diesem Wachstumsmuster keine pN2-Metastasen vorlagen.

Dass in der vorliegenden Arbeit weder bei den Adeno- noch bei den Plattenepithelkarzinomen ein Zusammenhang zwischen den prädominanten Wachstumsmustern und dem Lymphknotenstatus nachweisbar war, könnte insbesondere an der teils eher geringen Fallzahl innerhalb der einzelnen Gruppen liegen. Nicht nur vor dem Hintergrund der heterogenen Datenlage, sondern auch zur Etablierung einheitlicher Differenzierungsgrade bei den Plattenepithelkarzinomen, sollten die einzelnen Wachstumsmuster in zukünftigen Studien weiterhin untersucht werden.

## 4.2.2 Lymph- und Blutgefäßinvasion

Obwohl in der Literatur eine prognostische Relevanz der Lymphgefäßinvasion von vielen Studien beschrieben wurde [36, 38, 45-49, 51-54], gibt es ebenfalls einige Arbeitsgruppen, die eine entsprechende Assoziation nicht nachweisen konnten [44, 56, 57]. Interessanterweise fanden *Poleri et al.* jedoch heraus, dass im Vergleich deutlich mehr Adeno- als Plattenepithelkarzinome eine Lymphangiainvasion aufwiesen ( $p=0,01$ ) [57]. *Funai et al.* identifizierten die Lymphgefäßinvasion als unabhängigen Prädiktor einer schlechteren Prognose bei Patienten mit einem Adenokarzinom im Stadium IA und leiteten hieraus ab, dass diese Patienten ggf. von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren könnten [53]. Interessanterweise konnten einige Studien keinen Einfluss der Lymphgefäßinvasion auf den Nodalstatus nachweisen [51, 59]. Die Arbeitsgruppe um *Konaka et al.* beschrieb jedoch, dass bei Vorliegen einer Lymphgefäßinvasion signifikant mehr Lymphknotenmetastasen bestanden (N1: 12,5% (5/40); N2: 30% (12/40)) als bei deren Abwesenheit (N1: 3,8% (5/131); N2: 6,1% (8/131)) [55]. Ebenfalls *Seok et al.* wiesen einen Zusammenhang zwischen der Lymphgefäßinvasion (pL+ vs. pL-) und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen (N+: 35,2% (58/165) vs. 6,9% (17/248)) nach [58]. Zudem konnte die Lymphgefäßinvasion als unabhängiger Prädiktor der Lymphknotenmetastasierung identifiziert werden [58].

Konkordant hierzu konnte in der vorliegenden Arbeit ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Lymphgefäßinvasion (pL0, pL1) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Des Weiteren bestand für NSCLC und ADC mit Lymphgefäßinvasion ein deutlich erhöhtes relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0). Keines der SCC ohne Lymphgefäßinvasion wies zudem einen positiven Nodalstatus auf. In der multivariaten Analyse konnte die Lymphgefäßinvasion als unabhängiger Prädiktor der Lymphknotenmetastasierung identifiziert werden. Bei deren Nachweis bestand für NSCLC eine um mehr als 82-fach erhöhte Chance auf eine lymphonoduläre Metastasierung. Da über die lymphogene Metastasierung eine Aussaat des Tumors in die Lymphknoten erfolgt [6], erscheint ein entsprechender Zusammenhang naheliegend. Aufgrund möglicher Unterschiede innerhalb der verschiedenen Erkrankungsstadien sowie innerhalb der Adeno- und der Plattenepithelkarzinome sollte dieser Parameter in zukünftigen Studien jedoch weiterhin berücksichtigt werden. Zudem wäre es denkbar, anhand einer bestehenden Lymphgefäßinvasion (pL+) Tumoren zu identifizieren, die zwar einen negativen Nodalstatus (N0) aufweisen, im Verlauf jedoch eine höhere Wahrscheinlichkeit für

Lymphknotenmetastasen haben.

Während eine prognostische Bedeutung der Blutgefäßinvasion einerseits beschrieben [34, 45-50], andererseits nicht nachgewiesen ist [54, 56, 57], wurde ein möglicher Einfluss auf den Nodalstatus in keiner der Studien untersucht [34, 45-50, 54, 56, 57]. *Von der Thüsen et al.* fassten Lymph- und Blutgefäßinvasion in ihrer Studie zum Parameter der Gefäßinvasion zusammen und evaluierten diesen getrennt für den intratumoralen und intraparenchymalen Bereich [29]. Im Lungenparenchym war eine Gefäßinvasion lediglich bei prädominant azinären (4,7% (5/107)), mikropapillären (11,1% (1/9)) und soliden (17,5% (7/40)) Karzinomen, nicht jedoch bei prädominant lepidischen oder papillären Tumoren nachweisbar [29]. Ebenfalls im intratumoralen Bereich ließ sich die Gefäßinvasion bei den einzelnen Wachstumsmustern in unterschiedlicher Häufigkeit nachweisen (lepidisch: 16,7% (9/54); papillär: 62% (8/13); mikropapillär: 66,7% (6/9); azinär: 72% (77/107); solide: 80% (32/40)) [29]. Eine prognostische Bedeutung konnte jedoch weder für die intratumorale ( $p=0,067$ ), noch für die intraparenchymale ( $p=0,70$ ) Gefäßinvasion nachgewiesen werden [29]. Dennoch fällt auf, dass insbesondere das besser differenzierte lepidische Wachstumsmuster den geringsten Anteil an intratumoraler Gefäßinvasion und keine intraparenchymale Gefäßinvasion aufwies [29]. Im Gegensatz hierzu wurden für das schlechter differenzierte solide Wachstumsmuster jeweils die größten Anteile dokumentiert [29]. Auch *Rakae et al.* untersuchten den Parameter der Gefäßinvasion, ohne Angaben zu einer möglichen Unterscheidung in Lymph- und Blutgefäße zu machen [50]. Dieser konnte zwar als unabhängiger prognostischer Prädiktor identifiziert werden, jedoch wurde der Einfluss auf den Lymphknotenstatus nicht untersucht [50]. Die Arbeitsgruppe um *Konaka et al.* analysierte die Gefäßinvasion für den intratumoralen und peritumoralen Bereich und unterschied morphologisch zwischen einer Lymph- und einer Blutgefäßinvasion [55]. Nicht nur für die Lymph- (s.o.), sondern auch die Blutgefäßinvasion konnte ein signifikanter Zusammenhang zum Nodalstatus nachgewiesen werden ( $p<0,003$ ) [55]. Bei Nachweis einer Blutgefäßinvasion lagen hiläre und mediastinale Lymphknotenmetastasen (N1: 10,9% (5/46); N2: 28,3% (13/46)) deutlich häufiger vor als bei Tumoren ohne Blutgefäßinvasion (N1: 4% (5/125); N2: 5,6% (7/125)) [55]. Die Autoren führen zudem an, dass innerhalb der Tumoren mit einer Größe  $\leq 10$ mm nur in einem der Fälle eine geringfügige Blut- und Lymphgefäßinvasion nachweisbar war [55]. Da alle diese Tumoren  $\leq 10$ mm keine Lymphknotenmetastasen aufwiesen, vermuten die Autoren einen direkten Zusammenhang zur fehlenden

Gefäßinvasion durch Tumorzellen [55].

Die vorliegende Arbeit konnte in der univariaten Analyse ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der Blutgefäßinvasion und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachweisen. Bei NSCLC im Allgemeinen und in der Untergruppe der Adenokarzinome bestand bei deren Nachweis zudem ein deutlich erhöhtes relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0). Da über die Blutgefäße vornehmlich eine Fernmetastasierung des Tumors in Organsysteme erfolgt [6], ist eine prognostische und therapeutische Relevanz dieses Parameters insgesamt nachvollziehbar. Ebenfalls ist zu diskutieren, ob bei Patienten ohne Lymphknoten- und Fernmetastasierung anhand der Blutgefäßinvasion ggf. eine Risikostratifizierung erfolgen kann, um Tumoren mit erhöhtem Metastasierungspotential zu identifizieren. Dieser Aspekt sollte insbesondere in Zusammenhang mit der Lymphgefäßinvasion in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

#### **4.2.3 Mitosenanzahl**

Während mehrere Arbeiten die prognostische Bedeutung der Mitosenanzahl bei pulmonalen Adeno- [29, 47, 49, 57, 60] und Plattenepithelkarzinomen [38, 44, 48, 57] analysierten, wurde deren Einfluss auf den Lymphknotenstatus in keiner der Studien untersucht [29, 38, 44, 47-49, 57, 60]. Die Arbeitsgruppe um *Poleri et al.* verglich Adenokarzinome (n=28) mit einer Gruppe (n=25) aus Plattenepithelkarzinomen (n=23) und großzelligen Karzinomen (n=2) [57]. Es konnte nachgewiesen werden, dass diese gemeinsame Gruppe eine deutlich höhere Mitosenanzahl ( $\leq 5/10\text{HPF}$ : 12% (3/25);  $> 5/10\text{HPF}$ : 88% (22/25)) aufwies als die Adenokarzinome ( $\leq 5/10\text{HPF}$ : 60,7% (17/28);  $> 5/10\text{HPF}$ : 39,3% (11/28)) [57]. Zudem konnte die Mitosenanzahl als unabhängiger prognostischer Faktor eines Rezidivs identifiziert werden [57]. Interessanterweise konnten *Kadota et al.* für Plattenepithelkarzinome keinen Zusammenhang zwischen Mitosenanzahl und Patientenprognose nachweisen [38, 48]. Zur diskordanten Datenlage trägt zudem bei, dass *Gürel et al.* für Plattenepithelkarzinome mit einer höheren Mitosenanzahl ( $> 20/10\text{HPF}$  vs.  $\leq 20/10\text{HPF}$ ) eine bessere 5-Jahres-Überlebensrate (83,6% vs. 51,6%;  $p=0,026$ ) beschrieben [44]. In der multivariaten Analyse war die Mitosenanzahl jedoch kein unabhängiger prognostischer Faktor [44]. Insbesondere vor dem Hintergrund der diskordanten Datenlage bei den Plattenepithelkarzinomen und in Anbetracht dessen, dass der Zusammenhang zwischen Mitosenanzahl und Lymphknotenstatus nicht hinreichend untersucht ist, sollte

dieser Parameter in zukünftigen Studien ausführlicher analysiert werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist zudem, dass die einzelnen Studien eine sehr heterogene Methodik mit unterschiedlichen Skalierungen verwendeten. Während *von der Thüsen et al.* [29] und *Kadota et al.* [47, 49] dieselbe Einteilung (0-1, 2-4,  $\geq 5$ ; in 10 HPF) benutzten, verwendeten *Poleri et al.* ( $\leq 5$ , 6-10,  $>10$ ; in 10 HPF) [57] und *Duhig et al.* (0-5, 5-10, 10-20,  $>20$ ; in 10 HPF - Zusammenfassung: 0-10,  $>10$ ; in 10 HPF) [60] andere Skalierungen. Interessanterweise wurden in zwei weiteren Studien von *Kadota et al.* ebenfalls unterschiedliche Trennwerte ( $<15$ ,  $\geq 15$ ; in 10 HPF) verwendet [38, 48]. In jeder der Publikationen von *Kadota et al.* wurden jedoch Hauptgesichtsfelder mit einer 400-fachen Vergrößerung und einem Sehfeld von 0,237mm<sup>2</sup> analysiert [38, 47-49]. Zunächst wurden so 50 HPF mit der höchsten mitotischen Aktivität beurteilt, um im Anschluss die durchschnittliche Mitosenanzahl innerhalb von 10 HPF (analysierter Bereich: 2,37mm<sup>2</sup>) zu berechnen [38, 47-49]. Eine andere Studie nutzte zwar dieselbe Herangehensweise, jedoch ebenfalls unterschiedliche Trennwerte ( $\leq 20$ ,  $>20$ ; in 10 HPF) [44]. *Duhig et al.* analysierten insgesamt 50 HPF und gaben anschließend die höchste Mitosenanzahl innerhalb von 10 HPF an [60]. Insgesamt erschwert diese unterschiedliche methodische Herangehensweise der einzelnen Studien die Vergleichbarkeit und die Interpretation der Ergebnisse deutlich. In zukünftigen Untersuchungen sollte daher eine einheitliche Methodik definiert und angewendet werden. Zudem wurde in keiner der Arbeiten die Bedeutung der Mitosenanzahl für den Lymphknotenstatus analysiert.

In der vorliegenden Arbeit konnte hingegen ein signifikanter Zusammenhang zwischen beiden Parametern nachgewiesen werden. In der univariaten Analyse ließen sich in Zusammenhang mit einer höheren Mitosenanzahl signifikant häufiger Lymphknotenmetastasen nachweisen. Interessanterweise bestanden bei den Plattenepithelkarzinomen nicht nur deutlich höhere Mittel- und Medianwerte, sondern es ließ sich in Zusammenhang mit einer Mitosenanzahl  $\geq 10/10\text{HPF}$  zudem auch mehr als eine Verdreifachung des relativen Risikos einer Lymphknotenmetastasierung nachweisen. Dies unterstreicht das aggressive Wachstumsverhalten der Plattenepithelkarzinome. Methodisch wurde ein dichotomes System ( $\geq 10/10\text{HPF}$ ;  $<10/10\text{HPF}$ ) verwendet, das schnell und praktikabel angewendet werden kann und so für zukünftige Studien mit geringem Aufwand reproduzierbar ist. Die multivariate Analyse identifizierte die Mitosenanzahl als unabhängigen Prädiktor der Lymphknotenmetastasierung bei NSCLC. Die Chance einer lymphonodulären



Metastasierung nimmt mit steigender Mitosenanzahl zu. Zu diskutieren bleibt insgesamt, ob die hier beschriebenen Ergebnisse darin begründet sind, dass aufgrund der erhöhten Zellteilung, bei nachweislich hoher Mitosenanzahl, das Metastasierungspotential durch ein schnelleres Tumorwachstum steigt. Dies ist insbesondere auch im Hinblick auf einen möglichen Zusammenhang zur Fernmetastasierung interessant und sollte in zukünftigen Forschungsprojekten berücksichtigt werden.

#### **4.2.4 Tumornekrosen**

Mehrere Studien beschrieben für Tumornekrosen einen negativen prognostischen Effekt bei Plattenepithelkarzinomen [44], Adenokarzinomen [34, 47, 49, 51, 60] oder NSCLC im Allgemeinen [57, 61]. Andere Arbeitsgruppen konnten hingegen keine prognostische Bedeutung dieses Parameters nachweisen [29, 38, 54]. *Inoue et al.* beschrieben zwar einen Zusammenhang zwischen Tumornekrosen und Lymphknotenmetastasen, jedoch basierte die entsprechende Studie auf einer eher kleinen Patientenkohorte (n=97) und umfasste ausschließlich Adenokarzinome mit einer Größe  $\leq 20$ mm [51]. Mikroskopische Tumornekrosen waren lediglich bei 18% (17/97) der Fälle nachweisbar (N0: 71% (12/17); N+: 29% (5/17)), wohingegen mit 82% (80/97) die Mehrzahl der Tumoren keine Tumornekrosen aufwies (N0: 92% (74/80); N+: 8% (6/80)) [51]. Während *Swinson et al.* in ihrer Studie keine signifikante Assoziation zum Lymphknotenstatus nachweisen konnten [61], wurde in einem Großteil der genannten Arbeiten ein möglicher Zusammenhang der beiden Parameter nicht untersucht [29, 34, 38, 44, 47, 49, 54, 57, 60]. Insgesamt wurde für die Beurteilung in den meisten Studien initial eine dichotome Einteilung gewählt, die zwischen dem bloßen Vorhandensein und der Abwesenheit (TN+; TN-) von Tumornekrosen unterscheidet [29, 34, 44, 47, 49, 51, 54, 60]. Einige Arbeitsgruppen schätzten hingegen zunächst den prozentualen Anteil der Tumornekrosen ab und verwendeten diesen als Grundlage der dichotomen Einteilung [38, 57, 61]. *Swinson et al.* erfassten hierzu zunächst vier verschiedene Ausprägungsgrade innerhalb von „low-power fields“ (LPF, 40x Vergrößerung), um anschließend anhand des Medianwerts zwei Gruppen zu definieren [61]. Auch *Poleri et al.* untersuchten zunächst vier verschiedene Kategorien (nicht vorhanden; <10%; 11-50%; >50%) und fassten diese anschließend dichotom zusammen (nicht vorhanden; vorhanden) [57], während *Kadota et al.* bereits initial zwischen zwei Kategorien unterschieden (TN-: <10%; TN+:  $\geq 10\%$ ) [38].

Insgesamt besteht in der Literatur somit auch bei diesem Parameter eine uneinheitliche Methodik, die in Zusammenhang mit heterogenen Patientenkohorten zu einer eingeschränkten Vergleichbarkeit der Ergebnisse führt. Der Einfluss auf den Lymphknotenstatus ist zudem nur unzureichend untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurden Tumornekrosen semiquantitativ als prozentualer Anteil an der Tumorfläche beurteilt und in drei Kategorien eingeteilt. Diese Methodik ist zwar gut auf zukünftige Studien übertragbar, jedoch konnte kein Zusammenhang zwischen Tumornekrosen und dem Lymphknotenstatus nachgewiesen werden.

#### **4.2.5 Tumor Budding**

In der Literatur konnte eine Assoziation zwischen Tumor Budding und dem Lymphknotenstatus sowohl für Adeno- [46] als auch für Plattenepithelkarzinome [38, 45, 48] nachgewiesen werden. Eine negative prognostische Relevanz des Parameters ist für Adeno- [46, 47] und Plattenepithelkarzinome [38, 42, 45, 48] ebenfalls dokumentiert. Dennoch ist die Datenlage nicht einheitlich, da *Weichert et al.* keinen Einfluss auf den Nodalstatus [42] und *Gürel et al.* keine prognostische Bedeutung des Parameters nachweisen konnten [44]. Zudem wurde ein möglicher Einfluss auf den Lymphknotenstatus in der Arbeit von *Gürel et al.* nicht untersucht [44] und die Studie von *Kadota et al.* umfasste lediglich Adenokarzinome im Stadium I (pN0) [47]. Insgesamt sind nicht nur die Patientenkollektive der einzelnen Studien heterogen, da beispielsweise nur zwei der Studien alle Erkrankungsstadien umfassten [42, 48], sondern es bestehen auch methodische Unterschiede. Zur Erfassung des Tumor Budding wurde sowohl dessen gesamte Anzahl innerhalb von zehn Hauptgesichtsfeldern [38, 42, 47, 48] als auch dessen maximale Anzahl innerhalb von nur einem Hauptgesichtsfeld beurteilt [38, 42, 44-48]. Letzteres wurde entweder innerhalb der zuvor analysierten zehn Hauptgesichtsfelder [38, 47, 48] oder innerhalb des gesamten Präparats [42, 44-46] ausgewählt. Ferner wurden insgesamt sehr unterschiedliche Skalierungen verwendet. Drei der Arbeitsgruppen nutzten jeweils vier Abstufungen (0, 1-4, 5-10, >10; in 1 HPF) sowie eine dichotome Einteilung (TB+, TB-) [44-46]. *Gürel et al.* definierten zusätzlich einen Budding-Index (niedrig: <5/HPF; hoch: ≥5/HPF) [44] und auch *Yamaguchi et al.* verwendeten ergänzend eine identische Einteilung (<5/HPF; ≥5/HPF) [46]. *Weichert et al.* erfassten stattdessen jeweils drei Kategorien für ein HPF (0, <5, ≥5; in 1 HPF) und zehn HPF (0, <15, ≥15; in 10 HPF) [42]. *Kadota et al.* verwendeten eine dichotome Einteilung für die maximale (<10, ≥10;

in 1 HPF) und die gesamte Anzahl an Tumor Budding (<8, ≥8; in 10 HPF) [38]. In zwei weiteren Studien von *Kadota et al.* wurde hingegen zunächst eine abweichende Einteilung verwendet (0, 1-4, 5-9, ≥10; in 1 HPF [47, 48] bzw. in 10 HPF [48]), die anschließend dichotom zusammengefasst wurde (<5, ≥5; in 1 HPF [47, 48] bzw. <10, ≥10; in 10 HPF [48]). Durch diese unterschiedliche methodische Herangehensweise sind die Vergleichbarkeit der Studien und die Interpretation der Ergebnisse deutlich eingeschränkt, sodass auch für diesen Parameter die Etablierung einer einheitlichen Methodik für zukünftige Untersuchungen notwendig erscheint.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine praktikable dichotome Beurteilung des Tumor Budding (TB+, TB-) vorgenommen. Ein Einfluss auf den Lymphknotenstatus konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Dies könnte u.a. darin begründet sein, dass beim Tumor Budding im Wesentlichen eine Ausbreitung der Tumorzellen innerhalb des Lungenparenchyms erfolgt. Ein Anschluss an den Systemkreislauf, wie beispielsweise bei der Blut- oder Lymphgefäßinvasion, besteht primär nicht.

#### **4.2.6 Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TILs) und zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC)**

Zwar wurde die prognostische Bedeutung Tumor-infiltrierender Lymphozyten von vielen Arbeitsgruppen untersucht [50, 52, 63-69], jedoch wurde der Zusammenhang zum Lymphknotenstatus in mehreren Studien nicht berücksichtigt [52, 64-66]. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die unterschiedliche methodische Herangehensweise. Während sich einige der Studien, wie auch die vorliegende Arbeit, auf die konventionelle Histomorphologie anhand der HE-Färbung [50, 52, 64, 68, 69] fokussierten, beschäftigten sich andere Arbeitsgruppen zusätzlich mit der Immunhistochemie der involvierten Immunzellen [63, 65-67]. Des Weiteren gibt es große Unterschiede bezüglich der Patientenkohorten und der Definitionen der jeweiligen lymphozytären Infiltrate. *Ruffini et al.* (Kohorte: 1290 Lungentumoren, Stadium I-IIIa) untersuchten TILs beispielsweise retrospektiv anhand einer dichotomen Klassifikation (TIL-, TIL+) [63]. TILs waren hierbei als intraepitheliale Lymphozyten mit Positivität für CD8 definiert [63]. Bei 1,6% (21/1290) der Tumoren wurde im Rahmen der Studie zusätzlich eine ausführlichere immunhistochemische Subgruppenanalyse durchgeführt [63]. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen TILs (TIL-, TIL+) und dem Lymphknotenstatus (N0, N1, N2) bestand nicht [63]. Zudem konnte ein positiver prognostischer Effekt der TILs lediglich für Plattenepithelkarzinome nachgewiesen werden ( $p=0,03$ ) [63]. Die

Autoren diskutieren im Rahmen ihrer Ergebnisse nicht nur, dass TILs einen Beitrag zur Eindämmung der Tumorprogression leisten können, sondern auch, dass dies zukünftig eine Relevanz für die Auswahl immuntherapeutischer Strategien haben könnte [63]. In einer Studie von *Schalper et al.* (zwei Kohorten: 202 NSCLC und 350 NSCLC; Stadium I-IV) wurden TILs semiquantitativ (HE-Färbung) in vier Stufen kategorisiert (0, virtuelles Fehlen; 1+, geringe Anzahl (<30%); 2+, moderate Anzahl (30%-60%); 3+, deutlich erhöhte Anzahl (>60%)) und anschließend zu einer dichotomen Variable (0 bis 2+, geringe TIL-Anzahl; 3+, hohe TIL-Anzahl) zusammengefasst [66]. Für Subgruppenanalysen wurde zudem eine quantitative Immunfluoreszenzmessung (QIF) mittels einer automatisierten quantitativen Analyse (AQUA) durchgeführt [66]. Zwar konnten für einige Subgruppen positive prognostische Effekte beobachtet werden, jedoch wurde eine mögliche Assoziation zum Lymphknotenstatus trotz der insgesamt großen Patientenzahl (n=552) und des Vorliegens aller Erkrankungsstadien (I-IV) nicht untersucht [66]. Die Autoren weisen in ihrer Studie auf die Nachteile einer konventionellen semiquantitativen Analyse der TILs hin, da diese subjektiv und nur eingeschränkt reproduzierbar sei sowie keine simultane Subgruppenanalyse der Zelltypen ermögliche [66]. Zusätzlich werden in diesem Zusammenhang das Fehlen standardisierter Trennwerte und Definitionen der TIL-Infiltrate als limitierende Faktoren angeführt [66]. Dennoch sei eine semiquantitative Analyse aufgrund ihrer einfachen Durchführbarkeit und der geringen Kosten weithin verbreitet [66]. Auch *Johnson et al.* (Kohorte: 710 Lungentumoren) analysierten das Ausmaß der Immunzellinfiltration bzw. chronischen Entzündung zunächst anhand der konventionellen Morphologie (HE-Färbung) und teilten dieses semiquantitativ in drei Stufen ein (nicht vorhanden/geringgradig; moderat; hochgradig) [65]. Des Weiteren wurde eine immunhistochemische Beurteilung eines Teils der Tumoren (n=95) durchgeführt [65]. In diesem Rahmen wurde einerseits ein Bildanalyse-System (Leica Q500 MC) verwendet, um die Gesamtdichte der Immunzellfärbung zu evaluieren, andererseits unterschieden die Autoren semiquantitativ zwischen peritumoralen Immunzellinfiltraten angrenzend an das Stroma und intratumoralen Immunzellinfiltraten zwischen den Tumorzellen [65]. Interessanterweise konnte weder konventionell morphologisch (HE-Färbung), noch mittels des Bildanalyse-Systems (IHC) eine prognostische Bedeutung der Immunzellinfiltration nachgewiesen werden [65]. Diese konnte lediglich im Rahmen der semiquantitativen, immunhistochemischen Beurteilung der einzelnen Subgruppen der Immunzellen identifiziert werden [65]. Des Weiteren ist erwähnenswert, dass der

Zusammenhang zwischen TILs und dem Lymphknotenstatus weder von *Schalper et al.*, noch von *Johnson et al.* untersucht wurde. [65, 66]. Die Arbeitsgruppe um *Brambilla et al.* analysierte die lymphozytäre Tumorerinfiltration („tumor lymphocytic infiltration“) bei NSCLC im Stadium I-III initial anhand von vier Kategorien („minimal“, „mild“, „moderate“, „intense“) und fasste diese im Anschluss zu den Kategorien „non-intense“ („minimal“+„mild“+„moderate“) und „intense“ zusammen [68]. Die höchste Kategorie wurde hierbei als ein kräftiges intralobuläres und/oder perilobuläres lymphozytäres Infiltrat definiert, das in seiner Dichte einem Lymphknoten mit vorhandener Metastasierung entspricht [68]. Sowohl im „Discovery Set“ (n=783) als auch im „Validation Set“ (n=763) konnte nachgewiesen werden, dass ein lymphozytäres Infiltrat im Ausprägungsgrad „intense“ signifikant mit einer besseren Prognose korreliert, jedoch bestand keine prädiktive Bedeutung für den prognostischen Nutzen einer adjuvanten Chemotherapie [68]. Der Zusammenhang zum Lymphknotenstatus wurde ebenfalls untersucht [68]. Im „Discovery Set“ lagen bei einem ausgeprägteren lymphozytären Infiltrat („non-intense“ vs. „intense“) prozentual mehr N1-Metastasen (27% (188/697) vs. 40,7% (35/86)), jedoch weniger N2-Metastasen (26,1% (182/697) vs. 12,8% (11/86)) vor [68]. Auch im „Validation Set“ zeigte sich für beide Gruppen eine ähnliche Verteilung in Bezug auf den N1- (33,8% (241/714) vs. 38,8% (19/49)) und den N2-Status (5,3% (38/714) vs. 0% (0/49)) [68]. Erwähnenswert ist diesbezüglich jedoch, dass keine eindeutigen Angaben zur Signifikanz dieser Zusammenhänge gemacht wurden [68]. Ferner ist hervorzuheben, dass im „Validation Set“ bei keinem der Tumoren mit einem Infiltrat der Ausprägung „intense“ eine N2-Metastasierung vorlag und dass bei 0,8% (6/714) der Tumoren mit einem Infiltrat der Ausprägung „non-intense“ keine Daten zum Lymphknotenstatus erhoben werden konnten [68]. Des Weiteren muss bei der Interpretation der Daten berücksichtigt werden, dass in beiden Kohorten deutlich weniger Tumoren ein Infiltrat der Ausprägung „intense“ (n=86 bzw. n=49) als „non-intense“ (n=697 bzw. n=714) aufwiesen [68]. Die Autoren werfen in Ihrer Publikation die Frage auf, ob die lymphozytäre Tumorzellinfiltration als Stratifizierungsfaktor in zukünftigen Studien zur Immuntherapie oder Immunmodulation berücksichtigt werden sollte [68]. Zudem könne ein lymphozytäres Infiltrat der Kategorie „intense“ ein guter Parameter zur Etablierung einer Immun-TNM-Klassifikation sein [68]. *Feng et al.* analysierten das Ausmaß der TILs bei NSCLC im Stadium IIIA(N2) zunächst ebenfalls anhand von vier Kategorien (0, kein Infiltrat; 1, geringes Infiltrat; 2, moderates Infiltrat; 3, hochgradiges Infiltrat) [69]. Diese wurden im Anschluss dichotom zu TIL- (0-1, kein bis

geringes Infiltrat) und TIL+ (2-3, moderates bis hochgradiges Infiltrat) zusammengefasst [69]. Für die Evaluation wurden mit 100-facher Vergrößerung mindestens fünf unabhängige Gesichtsfelder innerhalb der HE-Schnitte des Primärtumors beurteilt [69]. TILs wurden innerhalb der Tumorgrenzen insgesamt als stromale TILs evaluiert, ohne Bereiche mit Quetschartefakten, Nekrosen oder Entzündungsreaktionen zu berücksichtigen [69]. Die Wahrscheinlichkeit innerhalb von fünf Jahren kein lokoregionäres Rezidiv zu erleiden, war bei einem moderaten bis hochgradigen Infiltrat (TIL- vs. TIL+) deutlich höher (63,5% vs. 79,2%;  $p=0,02$ ) [69]. Ebenfalls die mediane Überlebenszeit (35,7 Monate vs. 45,5 Monate) unterschied sich zwischen den beiden Gruppen [69]. Zudem konnte in den Subgruppenanalysen in Zusammenhang mit einem moderaten bis hochgradigen Infiltrat (TIL+) für Plattenepithelkarzinome ( $HR=0,44$ ;  $p=0,03$ ), das Vorliegen einer Lymphgefäßinvasion ( $HR=0,55$ ;  $p=0,02$ ) und Tumoren im T1-Status ( $HR=0,41$ ;  $p=0,03$ ) ein längeres allgemeines Überleben nachgewiesen werden [69]. Diesbezüglich ist insbesondere erwähnenswert, dass die lymphozytäre Entzündungsreaktion, selbst im Falle einer bereits erfolgten Lymphgefäßinvasion, eine prognostische Bedeutung zu haben scheint. In der Studie von *Feng et al.* bestand keine signifikante Assoziation ( $p=0,6$ ) zwischen TILs (TIL-, TIL+) und der Anzahl an Lymphknotenmetastasen ( $\leq 4$ ,  $>4$ ; positive Lymphknoten), jedoch war in der multivariaten Analyse eine ausgeprägtere lymphonoduläre Metastasierung ( $>4$  positive Lymphknoten) unabhängig mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert ( $HR=1,72$ ;  $p=0,001$ ) [69]. Interessanterweise führen die Autoren an, dass eine konventionelle Beurteilung (HE-Färbung) der Ausprägung des lymphozytären Infiltrats, im Gegensatz zur Analyse einer einzelnen immunozytären Subgruppe (Immunhistochemie), ggf. besser dazu beitragen könnte, anhand eines hochgradigen TIL-Infiltrats Tumoren mit einer größeren Immunogenität zu identifizieren [69]. Dennoch wird ebenfalls diskutiert, dass eine semiquantitative Analyse der TILs zwar im Rahmen pathologischer Routineuntersuchungen einfach durchführbar und reproduzierbar ist, jedoch noch keine definierten Trennwerte zur Erfassung der TILs vorliegen [69]. Eine ähnliche methodische Herangehensweise zur Beurteilung der TILs nutzten auch *Horne et al.* (TIL-, geringes Infiltrat; TIL+, moderates und hochgradiges Infiltrat) [52]. Die Studie umfasste jedoch ausschließlich NSCLC im Stadium IA, sodass der Einfluss von TILs auf den Lymphknotenstatus nicht untersucht wurde [52]. Zudem wurde die Abwesenheit von TILs nicht als eigene Kategorie beurteilt [52]. Zwar hatten TILs (TILs+ vs. TILs-) keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben der Patienten, jedoch

bestand eine unterschiedliche Wahrscheinlichkeit innerhalb von fünf Jahren kein Rezidiv zu erleiden („five-year recurrence-free survival“; 87% vs. 73%;  $p=0,011$ ) [52]. In der Subgruppenanalyse in Bezug auf die Lymphgefäßinvasion bestand ein signifikanter Effekt interessanterweise lediglich bei Tumoren ohne Lymphgefäßinvasion (93% vs. 79%;  $p=0,036$ ), nicht jedoch bei Tumoren mit Lymphgefäßinvasion (68% vs. 56%;  $p=0,126$ ) [52]. Die Autoren diskutieren, dass die mögliche direkte antitumorale Wirkung der TILs durch eine unspezifische Entzündungsreaktion, eine Antwort auf die nekrotische Tumorumgebung oder auch eine Verstärkung der systemischen Immunüberwachung vermittelt sein könnte [52]. Zudem sei denkbar, dass TILs die Tumorzellen während des Metastasierungsprozesses angreifen können, um zu versuchen die Ausbreitung der Erkrankung innerhalb des Körpers zu verhindern [52]. Diese Theorie wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützt, da in Zusammenhang mit einem lymphozytären Infiltrat (TILs bzw. CLCC) seltener Lymphknotenmetastasen nachweisbar waren. Die Arbeitsgruppe um *Kilic et al.* untersuchte TILs ebenfalls anhand von zwei Kategorien (1, kein Infiltrat bis geringes Infiltrat; 2, moderates bis hochgradiges Infiltrat), jedoch ausschließlich bei Patienten im Erkrankungsstadium IA und IB [64]. Ein prognostischer Einfluss der TILs konnte nur für Tumoren  $\geq 50\text{mm}$  nachgewiesen werden und die Bedeutung für den Lymphknotenstatus wurde im Rahmen der Patientenkohorte nicht untersucht [64]. *Rakae et al.* untersuchten 537 NSCLC im Stadium I-III und erfassten TILs als prozentualen Anteil des Tumorstromas, das mononukleäre Immunzellen wie z.B. Lymphozyten und Plasmazellen enthält und konnten für diese eine positive prognostische Bedeutung nachweisen [50]. Trotz der prognostischen Relevanz konnte keine Assoziation zwischen TILs (0-5%; 6%-25%; 26-50%; >50%) und dem Lymphknotenstatus (N0, N1, N2) nachgewiesen werden ( $p=0,599$ ) [50]. Zur Erfassung der TILs modifizierten die Autoren eine Vorgehensweise, die ursprünglich zur Beurteilung von TILs bei Brustkrebs vorgeschlagen wurde [50, 79]. Es wurde eine umfangreiche vierstufige Skalierung (0: 0-5%, vollständig lockeres oder dichtes fibroblastisches Stroma ohne oder mit nur sehr wenigen Immunzellen; 1: 6-25%, lockeres und verstreutes TIL-Muster innerhalb des Stromas; 2: 26-50%, TILs häufiger angrenzend an neoplastische Epithelzellen und in einigen Stromaabschnitten zu lückenhaften Aggregaten konfiguriert; 3: >50%, sehr dichte Immunzellinfiltration innerhalb des Stromas) verwendet [50]. Nicht beurteilt wurden Tumor-assoziierte Granulozyten, tertiäre lymphoide Strukturen sowie lymphoide Aggregate, Quetschartefakte, Nekrosen, TILs im normalen Lungengewebe und TILs

außerhalb des juxtatumoralen Stromas wie z.B. im invasiven Tumorrandbereich [50]. Auch diese Arbeitsgruppe weist auf die hohe Praktikabilität und die geringen Kosten einer semiquantitativen Beurteilung der Immunzellen anhand der konventionellen HE-Färbung hin [50]. Erwähnenswert ist insbesondere, dass *Rakae et al.* keine TILs im invasiven Tumorrandbereich und keine lymphoiden Aggregate beurteilt haben [50]. Im Gegensatz hierzu, wurden in der hier vorliegenden Arbeit sowohl TILs im invasiven Tumorrandbereich (TILs-IM) als auch lymphoide Aggregate (CLCC) analysiert, sodass diese eine umfangreichere morphologische Beurteilung der Lymphozyten umfasst. Für beide Parameter konnte ein signifikanter, negativer Zusammenhang zum Lymphknotenstatus nachgewiesen werden. In der hier vorliegenden Arbeit wurde hingegen nicht zwischen einer Stromalen und einer epithelialen lymphozytären Infiltration unterschieden, da dies die untersucherabhängige Variabilität negativ beeinflussen könnte [68].

Insgesamt besteht aufgrund divergenter Patientenkollektive, unterschiedlicher Definitionen der lymphozytären Infiltrate sowie uneinheitlicher methodischer Herangehensweisen eine deutlich eingeschränkte Vergleichbarkeit der Studien und der entsprechenden Ergebnisse. Vor diesem Hintergrund ist insbesondere eine einheitliche Methodik für zukünftige Studien essentiell. Eine Herangehensweise, die sich auf die konventionelle HE-Färbung fokussiert, birgt diesbezüglich u.a. den Vorteil geringer Durchführungskosten und einer flächendeckenden Umsetzung, die auch in wirtschaftlich schwächeren Gebieten möglich ist [62]. Von *Hendry et al.* wurde eine solche, standardisierte Methodik zur Erfassung von TILs u.a. auch für Lungentumoren veröffentlicht [62, 70]. Die vorliegende Arbeit richtet sich nach wesentlichen Aspekten dieser Herangehensweise, wobei keine getrennte Evaluation der TILs für das Stroma- und das Tumorzellkompartiment erfolgte. Die semiquantitative Analyse der TILs beinhaltete jedoch sowohl den zentralen Tumorbereich als auch den invasiven Tumorrandbereich. Zudem wurden lymphozytäre Aggregate analysiert und morphologisch als zirkuläre lymphozytäre Zellcluster (CLCC) definiert. Da sowohl TILs als auch CLCC Teil der immunologischen antitumoralen Abwehrreaktion sind, könnte sich hierdurch der seltenere Nachweis von Lymphknotenmetastasen erklären lassen. Lediglich bei den Plattenepithelkarzinomen bestand keine signifikante Assoziation zwischen CLCC-CT und dem Nodalstatus. Im Rahmen der Berechnung des relativen Risikos konnte in dieser Untergruppe für die Parameter des zentralen Tumorbereichs (TILs-CT, CLCC-CT) ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zum Lymphknoten-



status nachgewiesen werden. Dies könnte u.a. auf die teilweise eher geringe Fallzahl innerhalb der einzelnen Kategorien zurückzuführen sein.

#### **4.2.7 PLYNOM-Score**

Der PLYNOM-Score kombiniert die einzelnen lymphozytären Parameter zu einem Punktesystem und konnte als unabhängiger Prädiktor des Lymphknotenstatus bei NSCLC identifiziert werden. Je höher die Score-Punktzahl war, desto weniger wahrscheinlich wurden Lymphknotenmetastasen nachgewiesen. Ebenfalls bestand in allen analysierten Gruppen (NSCLC, ADC, SCC) in Zusammenhang mit einer höheren Score-Kategorie (PLYNOM-I, -II, -III) ein geringeres relatives Risiko für eine Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0). Lediglich bei den Plattenepithelkarzinomen konnte beim Vergleich der Gruppen PLYNOM-III und PLYNOM-I/II keine signifikante Risikoreduktion nachgewiesen werden, jedoch bestand diesbezüglich nur eine marginale Abweichung vom Signifikanzniveau ( $p=0,052$ ). Auch die Odds Ratio im Rahmen der multivariaten Analyse beschreibt eine deutlich geringere Chance auf eine lymphonoduläre Metastasierung in Zusammenhang mit einer höheren Score-Kategorie. Diese negative Korrelation des PLYNOM-Scores mit dem Lymphknotenstatus ist nicht nur unabhängig von anderen morphologischen Kriterien, sondern liefert auch weitere Hinweise darauf, dass die lymphozytäre Immunreaktion eine bedeutsame Rolle bei der Eindämmung der Tumorausbreitung spielt. Der PLYNOM-Score kann zudem zum besseren Verständnis dieser Immunreaktion beitragen, da ebenfalls die Morphologie (CLCC) des lymphozytären Infiltrats bedeutsam erscheint. Des Weiteren kann er durch das Abschätzen der Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen einen wichtigen Beitrag dazu leisten, Tumoren mit einem hohen bzw. niedrigen lymphonodulären Metastasierungspotential zu identifizieren. In zukünftigen Studien sollte er daher nicht nur anhand größerer Studienkohorten validiert, sondern auch im Hinblick auf die Patientenprognose mit Überlebenszeitparametern korreliert werden. Ein weiterer zukünftiger Ansatzpunkt könnte es sein, den Score ebenfalls bei der Aufarbeitung von Frischgewebe anzuwenden. Es ist denkbar, dass so ein Beitrag dazu geleistet werden könnte, bereits intraoperativ Tumoren mit einer hohen bzw. niedrigen Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen zu identifizieren. Auf diese Weise könnte die Auswahl des passenden operativen Therapieverfahrens vereinfacht werden. Ein weiterer interessanter Aspekt für zukünftige Untersuchungen könnte die Korrelation mit einer Subkategorisierung der Lymphknoten sein, die die Anzahl der befallenen

Lymphknotenstationen berücksichtigt [15]. In der vorliegenden, retrospektiven Analyse konnten für eine valide und aussagekräftige Subkategorisierung hierzu nicht ausreichend Daten erhoben werden. Aufgrund der beschriebenen Korrelation der lymphozytären Parameter mit dem Lymphknotenstatus wäre ein weiterer interessanter Aspekt zudem eine Korrelation des PLYNOM-Scores mit der Fernmetastasierung (M), z.B. anhand einer größeren Studienkohorte mit NSCLC im Stadium IV.

### 4.3 Schlussfolgerungen

#### A. Korrelieren folgende klinische Parameter mit dem Lymphknotenstatus?

##### I. Tumorgröße

- Ja, es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Tumorgröße und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Sowohl in der Gesamtkohorte der NSCLC als auch in beiden Untergruppen (ADC, SCC) bestanden bei größeren Tumoren häufiger Lymphknotenmetastasen. Tumoren >37mm hatten zudem ein deutlich höheres relatives Risiko einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0). Dies galt sowohl für die Gesamtkohorte (RR=1,851) als auch für die Untergruppen (ADC: RR=1,596; SCC: RR=3,125).

##### II. Patientengeschlecht

- In der vorliegenden Arbeit konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Patientengeschlecht und dem Lymphknotenstatus nachgewiesen werden.

##### III. Patientenalter

- Ja, es konnte ein negativer Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Patienten, die bei Erstdiagnose älter als 65 Jahre waren, wiesen in der Gesamtkohorte und in der Untergruppe der Plattenepithelkarzinome seltener Lymphknotenmetastasen auf. Das relative Risiko einer lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0) war in Bezug auf die Vergleichsgruppe (≤65 Jahre) jeweils signifikant erniedrigt (NSCLC: RR=0,699; SCC: RR=0,468).

## **B. Besteht eine Assoziation zwischen folgenden histomorphologischen Kriterien und dem Lymphknotenstatus?**

### **I. Prädominante Wachstumsmuster**

- Weder bei den Adeno-, noch bei den Plattenepithelkarzinomen konnte in der vorliegenden Arbeit ein signifikanter Zusammenhang zwischen den prädominanten Wachstumsmustern und dem Lymphknotenstatus nachgewiesen werden.

### **II. Lymphgefäßinvasion**

- Ja, bei Tumoren mit Lymphgefäßinvasion konnten häufiger Lymphknotenmetastasen (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Sowohl bei NSCLC im Allgemeinen (RR=28,318) als auch in der Untergruppe der Adenokarzinome (RR=19,444) bestand bei Nachweis einer Lymphgefäßinvasion zudem ein deutlich erhöhtes relatives Risiko einer lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0). Keines der Plattenepithelkarzinome ohne Lymphgefäßinvasion wies Lymphknotenmetastasen auf.

### **III. Blutgefäßinvasion**

- Ja, es konnte sowohl für die Gesamtkohorte (NSCLC) als auch die beiden Untergruppen (ADC, SCC) ein positiver Zusammenhang zwischen der Blutgefäßinvasion und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Zudem bestand bei Vorliegen einer Blutgefäßinvasion, bei NSCLC im Allgemeinen (RR=1,995) und in der Untergruppe der Adenokarzinome (RR=2,128), ein deutlich erhöhtes Risiko einer lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0).

### **IV. Mitosenanzahl**

- Ja, es konnte für die Gesamtkohorte (NSCLC) und beide Untergruppen (ADC, SCC) ein positiver Zusammenhang zwischen der Mitosenanzahl und der Lymphknotenmetastasierung (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Zudem bestand bei einer Mitosenanzahl  $\geq 10/10\text{HPF}$  in allen analysierten Gruppen ein höheres relatives Risiko (NSCLC: RR=1,711; ADC: RR=1,676; SCC: RR=3,352) einer lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0).

V. Tumornekrosen

- Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumornekrosen und dem Lymphknotenstatus konnte in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden.

VI. Tumor Budding

- In der vorliegenden Arbeit konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumor Budding und dem Lymphknotenstatus nachgewiesen werden.

**C. Besteht ein Zusammenhang zwischen Tumor-infiltrierenden Lymphozyten und dem Lymphknotenstatus?**

- Ja, sowohl innerhalb der Gesamtkohorte der NSCLC als auch in beiden Untergruppen (ADC, SCC) bestand eine negative Korrelation zwischen der Ausprägung des lymphozytären Infiltrats (TILs) und der Lymphknotenmetastasierung (pN0, pN1, pN>1). Dies galt sowohl für lymphozytäre Infiltrate im zentralen Tumorbereich (TILs-CT) als auch im invasiven Tumorrandbereich (TILs-IM). Das relative Risiko für eine lymphonoduläre Metastasierung (pN+, pN0) war bei Nachweis eines hochgradigen TILs-IM-Infiltrats deutlich geringer (NSCLC: RR=0,350; ADC: RR=0,382; SCC: RR=0,282). Bei NSCLC im Allgemeinen (RR=0,562) und in der Untergruppe der Adenokarzinome (RR=0,511) bestand bei Nachweis eines hochgradigen TILs-CT-Infiltrats ebenfalls ein geringeres relatives Risiko.

**D. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Morphologie des lymphozytären Infiltrats und dem Lymphknotenstatus?**

- Ja, es konnte eine negative Korrelation zwischen zirkulären lymphozytären Zellclustern (CLCC) und dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN>1) nachgewiesen werden. Für den zentralen Tumorbereich (CLCC-CT) galt dies sowohl für die Gesamtkohorte der NSCLC als auch für die Untergruppe der Adenokarzinome. Es bestand bei deren Nachweis zudem eine signifikante Reduktion des relativen Risikos (NSCLC: RR=0,464; ADC: RR=0,443) einer

lymphonodulären Metastasierung (pN+, pN0). Für den invasiven Tumorrandbereich (CLCC-IM) konnte eine entsprechende Korrelation in allen untersuchten Gruppen (NSCLC, ADC, SCC) nachgewiesen werden. Eine relative Risikoreduktion ließ sich ebenfalls für alle drei Gruppen nachweisen (NSCLC: RR=0,421; ADC: RR=0,471; SCC: RR=0,286).

**E. Ist es möglich anhand eines Punktesystems, das auf klinischen und/oder histomorphologischen Parametern der konventionellen HE-Färbung basiert, die Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen abzubilden?**

- Ja, anhand des PLYNOM-Scores (0-4 Punkte), der die lymphozytären Einzelparameter (TILs-CT, TILs-IM, CLCC-CT, CLCC-IM) zusammenfasst, konnte die Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen (pN0, pN1, pN>1) abgeschätzt werden. Der PLYNOM-Score korrelierte negativ mit der lymphonodulären Metastasierung. Lag eine höhere Score-Punktzahl vor, waren Lymphknotenmetastasen somit weniger wahrscheinlich nachweisbar als bei einer niedrigeren Punktzahl. Dies galt sowohl für die Gesamtkohorte der NSCLC als auch für beide Untergruppen (ADC, SCC). Für die Gruppe PLYNOM-II/III (1-4 Punkte) bestand im Vergleich zur Gruppe PLYNOM-I (0 Punkte) ein geringeres relatives Risiko (NSCLC: RR=0,436; ADC: RR=0,436; SCC: RR=0,438) einer Lymphknotenmetastasierung (pN+, pN0). Ebenfalls für die Gruppe PLYNOM-III (3-4 Punkte) ließ sich im Vergleich zur Gruppe PLYNOM-I/II (0-2 Punkte) ein geringeres relatives Risiko (NSCLC: RR=0,364; ADC: RR=0,348) nachweisen. Bei den Plattenepithelkarzinomen lag die relative Risikoreduktion geringfügig außerhalb des Signifikanzniveaus (RR=0,413; p=0,052).

**F. Gibt es innerhalb der analysierten klinischen und histomorphologischen Kriterien unabhängige Prädiktoren des Lymphknotenstatus?**

- Ja, in der multivariaten Analyse konnten die Lymphgefäßinvasion, die Mitosenanzahl und der PLYNOM-Score als unabhängige Prädiktoren des Lymphknotenstatus identifiziert werden.

## Literaturverzeichnis

1. WHO, International Agency for Research on Cancer. Population Fact Sheet, World, Source: Globocan 2018. 2020. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>. Accessed December 09, 2020.
2. WHO, International Agency for Research on Cancer. Cancer Fact Sheet, Lung, Source: Globocan 2018. 2019. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf>. Accessed December 09, 2020.
3. Robert Koch Institut, gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12. Auflage, korrigierte Fassung vom 17. August 2020. [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs\\_in\\_Deutschland/kid\\_2019/krebs\\_in\\_deutschland\\_2019.pdf;jsessionid=6E9C7267FB4674DB838F013D6C184783.1\\_cid372?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf;jsessionid=6E9C7267FB4674DB838F013D6C184783.1_cid372?__blob=publicationFile). Accessed December 09, 2020.
4. Griesinger F, Eberhardt W, Früh M, Gautschi O, Hilbe W, Hoffmann H, Huber RM, Loges S, Pirker R, Pöttgen C, Pritzkeleit R, Reck M, Reinmuth N, Sebastian M, Ukena D, Waller C, Wolf J, Wolf M, Wörmann B, in Kooperation mit der AIO. Onkopedia Leitlinie „Lungenkarzinom, nicht-kleinzellig (NSCLC)". 2019. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-nicht-kleinzellig-nsclc/@@guideline/html/index.html>. Accessed December 09, 2020.
5. Leitlinienprogramm Onkologie. S3-Leitlinie: Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms, Langversion 1.0, AWMF-Registernummer: 020/007OL. 2018. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/020-007OL\\_I\\_S3\\_Lungenkarzinom\\_2018-03.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/020-007OL_I_S3_Lungenkarzinom_2018-03.pdf). Accessed December 09, 2020.
6. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. 4th Edition, International Agency for Research on Cancer; 2015.
7. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Duhig E, Flieder DB, Geisinger K, Hirsch FR, Ishikawa Y, Kerr KM, Noguchi M, Pelosi G, Powell CA, Tsao MS, Wistuba I. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(9):1243-1260.
8. Zappa C, Mousa SA. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. *Transl Lung Cancer Res*. 2016; 5(3):288-300.

9. Li J, Zhu H, Sun L, Xu W, Wang X. Prognostic value of site-specific metastases in lung cancer: A population based study. *J Cancer*. 2019; 10(14):3079-3086.
10. Riihimäki M, Hemminki A, Fallah M, Thomsen H, Sundquist K, Sundquist J, Hemminki K. Metastatic sites and survival in lung cancer. *Lung Cancer*. 2014; 86(1):78-84.
11. Pschyrembel Redaktion. Continuitas. Pschyrembel Online. 2016. <https://www.pschyrembel.de/Continuitas/K0574/doc/>. Accessed December 09, 2020.
12. Pschyrembel Redaktion. Contiguitas. Pschyrembel Online. 2016. <https://www.pschyrembel.de/Contiguitas/K0571>. Accessed December 09, 2020.
13. Kadota K, Nitadori J-I, Sima CS, Ujiie H, Rizk NP, Jones DR, Adusumilli PS, Travis WD. Tumor Spread through Air Spaces is an Important Pattern of Invasion and Impacts the Frequency and Location of Recurrences after Limited Resection for Small Stage I Lung Adenocarcinomas. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(5):806-814.
14. Lu S, Tan KS, Kadota K, Eguchi T, Bains S, Rekhtman N, Adusumilli PS, Travis WD. Spread through Air Spaces (STAS) Is an Independent Predictor of Recurrence and Lung Cancer-Specific Death in Squamous Cell Carcinoma. *J Thorac Oncol*. 2017; 12(2):223-234.
15. Asamura H, Chansky K, Crowley J, Goldstraw P, Rusch VW, Vansteenkiste JF, Watanabe H, Wu Y-L, Zielinski M, Ball D, Rami-Porta R. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the N Descriptors in the Forthcoming 8th Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(12):1675-84.
16. Rami-Porta R, Bolejack V, Crowley J, Ball D, Kim J, Lyons G, Rice T, Suzuki K, Thomas Jr CF, Travis WD, Wu Y-L. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revisions of the T Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(7):990-1003.
17. Eberhardt WEE, Mitchell A, Crowley J, Kondo H, Kim YT, Turrisi III A, Goldstraw P, Rami-Porta R. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the M Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(11):1515-22.
18. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WEE, Nicholson AG, Groome P, Mitchell A, Bolejack V. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016; 11(1):39-51.



19. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. UICC. TNM Classification of Malignant Tumours. 8th Edition, John Wiley & Sons; 2017.
20. Harms A, Kriegsmann M, Fink L, Länger F, Warth A. Die neue TNM-Klassifikation für Lungentumoren - Änderungen und Bewertung multipler Tumorherde. Pathologe. 2017; 38:11-20.
21. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, Escriu C, Peters S, ESMO Guidelines Committee. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2017; 28(suppl\_4):iv1-iv21.
22. Eberhardt WEE, De Ruyscher D, Weder W, Le Péchoux C, De Leyn P, Hoffmann H, Westeel V, Stahel R, Felip E, Peters S, Panel Members: Stahel R, Felip E, Peters S, Kerr K, Besse B, Vansteenkiste J, Eberhardt W, Edelman M, Mok T, O'Byrne K, Novello S, Bubendorf L, Marchetti A, Baas P, Reck M, Syrigos K, Paz-Ares L, Smit EF, Meldgaard P, Adjei A, Nicolson M, Crinó L, Van Schil P, Senan S, Faivre-Finn C, Rocco G, Veronesi G, Douillard J-Y, Lim E, Doooms C, Weder W, De Ruyscher D, Le Pechoux C, De Leyn P, Westeel V. 2nd ESMO Consensus Conference in Lung Cancer: locally advanced stage III non-small-cell lung cancer. Ann Oncol. 2015; 26(8):1573-88.
23. Douillard J-Y, Rosell R, De Lena M, Riggi M, Hurteloup P, Mahe M-A. Impact of Postoperative Radiation Therapy on Survival in Patients With Complete Resection and Stage I, II, or IIIA Non-Small-Cell Lung Cancer Treated With Adjuvant Chemotherapy: The Adjuvant Navelbine International Trialist Association (ANITA) Randomized Trial. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008; 72(3):695-701.
24. Robinson CG, Patel AP, Bradley JD, DeWees T, Waqar SN, Morgensztern D, Baggstrom MQ, Govindan R, Bell JM, Guthrie TJ, Colditz GA, Crabtree TD, Kreisel D, Krupnick AS, Patterson GA, Meyers BF, Puri V. Postoperative Radiotherapy for Pathologic N2 Non-Small-Cell Lung Cancer Treated With Adjuvant Chemotherapy: A Review of the National Cancer Data Base. J Clin Oncol. 2015; 33:870-876.
25. Heigener DF, Reck M. Lungenkarzinom - Was ist gesichert in der Therapie?. Internist. 2017; 58:1258-1263.
26. Dai C, Ren Y, Xie D, Zheng H, She Y, Fei K, Jiang G, Chen C. Does Lymph Node Metastasis Have a Negative Prognostic Impact in Patients with NSCLC and M1a Disease? J Thorac Oncol. 2016; 11(10):1745-54.
27. Kuhn E, Morbini P, Cancellieri A, Damiani S, Cavazza A, Comin CE. Adenocarcinoma classification: patterns and prognosis. Pathologica. 2018; 110(1):5-11.

28. Cao Y, Zhu L-Z, Jiang M-J, Yuan Y. Clinical impacts of a micropapillary pattern in lung adenocarcinoma: a review. *Onco Targets Ther.* 2015; 9:149-158.
29. von der Thüsen JH, Tham YS, Pattenden H, Rice A, Dusmet M, Lim E, Nicholson AG. Prognostic Significance of Predominant Histologic Pattern and Nuclear Grade in Resected Adenocarcinoma of the Lung: Potential Parameters for a Grading System. *J Thorac Oncol.* 2013; 8(1):37-44.
30. Hung J-J, Yeh Y-C, Jeng W-J, Wu K-J, Huang B-S, Wu Y-C, Chou T-Y, Hsu W-H. Predictive Value of the International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification of Lung Adenocarcinoma in Tumor Recurrence and Patient Survival. *J Clin Oncol.* 2014; 32(22):2357-64.
31. Russell PA, Wainer Z, Wright GM, Daniels M, Conron M, Williams RA. Does Lung Adenocarcinoma Subtype Predict Patient Survival? A Clinicopathologic Study Based on the New International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Lung Adenocarcinoma Classification. *J Thorac Oncol.* 2011; 6(9):1496-1504.
32. Tsao M-S, Marguet S, LeTeuff G, Lantuejoul S, Shepherd FA, Seymour L, Kratzke R, Graziano SL, Popper HH, Rosell R, Douillard J-Y, Le-Chevalier T, Pignon J-P, Soria J-C, Brambilla EM. Subtype Classification of Lung Adenocarcinoma Predicts Benefit From Adjuvant Chemotherapy in Patients Undergoing Complete Resection. *J Clin Oncol.* 2015; 33(30):3439-46.
33. Warth A, Muley T, Meister M, Stenzinger A, Thomas M, Schirmacher P, Schnabel PA, Budczies J, Hoffmann H, Weichert W. The Novel Histologic International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification System of Lung Adenocarcinoma Is a Stage-Independent Predictor of Survival. *J Clin Oncol.* 2012; 30(13):1438-46.
34. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, Sima CS, Gerald WL, Kris MG, Park BJ, Rusch VW, Travis WD. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Mod Pathol.* 2011; 24(5):653-64.
35. Bao F, Yuan P, Yuan X, Lv X, Wang Z, Hu J. Predictive risk factors for lymph node metastasis in patients with small size non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis.* 2014; 6(12):1697-703.
36. Tsuta K, Kawago M, Inoue E, Yoshida A, Takahashi F, Sakurai H, Watanabe S-I, Takeuchi M, Furuta K, Asamura H, Tsuda H. The utility of the proposed

IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma subtypes for disease prognosis and correlation of driver gene alterations. *Lung Cancer*. 2013; 81(3):371-376.

37. Brambilla E, Moro D, Veale D, Brichon PY, Stoebner P, Paramelle B, Brambilla C. Basal cell (basaloid) carcinoma of the lung: a new morphologic and phenotypic entity with separate prognostic significance. *Hum Pathol*. 1992; 23(9):993-1003.

38. Kadota K, Nitadori J-I, Woo KM, Sima CS, Finley DJ, Rusch VW, Adusumilli PS, Travis WD. Comprehensive Pathological Analyses in Lung Squamous Cell Carcinoma: Single Cell Invasion, Nuclear Diameter, and Tumor Budding Are Independent Prognostic Factors for Worse Outcomes. *J Thorac Oncol*. 2014; 9(8):1126-39.

39. Kim DJ, Kim KD, Shin DH, Ro JY, Chung KY. Basaloid carcinoma of the lung: a really dismal histologic variant? *Ann Thorac Surg*. 2003; 76(6):1833-7.

40. Moro D, Brichon P-Y, Brambilla E, Veale D, Labat F, Brambilla C. Basaloid bronchial carcinoma. A histologic group with a poor prognosis. *Cancer*. 1994; 73(11):2734-9.

41. Moro-Sibilot D, Lantuejoul S, Diab S, Moulai N, Aubert A, Timsit JF, Brambilla C, Brichon P-Y, Brambilla E. Lung carcinomas with a basaloid pattern: a study of 90 cases focusing on their poor prognosis. *Eur Resp J*. 2008; 31(4):854-9.

42. Weichert W, Kossakowski C, Harms A, Schirmacher P, Muley T, Dienemann H, Warth A. Proposal of a prognostically relevant grading scheme for pulmonary squamous cell carcinoma. *Eur Respir J*. 2016; 47(3):938-46.

43. Zhang Y, Sun Y, Shen L, Li Y, Xiang J, Zhang Y, Hu H, Chen H. Predictive Factors of Lymph Node Status in Small Peripheral Non-small Cell Lung Cancers: Tumor Histology is More Reliable. *Ann Surg Oncol*. 2013; 20(6):1949-54.

44. Gürel D, Ulukuş Ç, Karaçam V, Ellidokuz H, Umay C, Öztop İ, Sarıoğlu S. The prognostic value of morphologic findings for lung squamous cell carcinoma patients. *Pathol Res Pract*. 2016; 212(1):1-9.

45. Taira T, Ishii G, Nagai K, Yoh K, Takahashi Y, Matsumura Y, Kojima M, Ohmatsu H, Goto K, Niho S, Takashima H, Inoue H, Ohe Y, Ochiai A. Characterization of the immunophenotype of the tumor budding and its prognostic implications in squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer*. 2012; 76(3):423-30.

46. Yamaguchi Y, Ishii G, Kojima M, Yoh K, Otsuka H, Otaki Y, Aokage K, Yanagi S, Nagai K, Nishiwaki Y, Ochiai A. Histopathologic Features of the Tumor Budding in Adenocarcinoma of the Lung: Tumor Budding As an Index to Predict the Potential Aggressiveness. *J Thorac Oncol*. 2010; 5(9):1361-8.

47. Kadota K, Yeh Y-C, Villena-Vargas J, Cherkassky L, Drill EN, Sima CS, Jones DR, Travis WD, Adusumilli PS. Tumor Budding Correlates With the Protumor Immune Microenvironment and Is an Independent Prognostic Factor for Recurrence of Stage I Lung Adenocarcinoma. *Chest*. 2015; 148(3):711-721.
48. Kadota K, Miyai Y, Katsuki N, Kushida Y, Matsunaga T, Okuda M, Yokomise H, Kanaji N, Bandoh S, Haba R. A Grading System Combining Tumor Budding and Nuclear Diameter Predicts Prognosis in Resected Lung Squamous Cell Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2017; 41(6):750-760.
49. Kadota K, Suzuki K, Kachala SS, Zabor EC, Sima CS, Moreira AL, Yoshizawa A, Riely GJ, Rusch VW, Adusumilli PS, Travis WD. A grading system combining architectural features and mitotic count predicts recurrence in stage I lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2012; 25(8):1117-27.
50. Rakaee M, Kilvaer TK, Dalen SM, Richardsen E, Paulsen E-E, Hald SM, Al-Saad S, Andersen S, Donnem T, Bremnes RM, Busund L-T. Evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes using routine H&E slides predicts patient survival in resected non-small cell lung cancer. *Hum Pathol*. 2018; 79:188-198.
51. Inoue M, Takakuwa T, Minami M, Shiono H, Utsumi T, Kadota Y, Nasu T, Aozasa K, Okumura M. Clinicopathologic factors influencing postoperative prognosis in patients with small-sized adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008; 135(4):830-6.
52. Horne ZD, Jack R, Gray ZT, Siegfried JM, Wilson DO, Yousem SA, Nason KS, Landreneau RJ, Luketich JD, Schuchert MJ. Increased Levels of Tumor-Infiltrating Lymphocytes are Associated with Improved Recurrence-Free Survival in Stage 1A Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Surg Res*. 2011; 171(1):1-5.
53. Funai K, Sugimura H, Morita T, Shundo Y, Shimizu K, Shiiya N. Lymphatic Vessel Invasion is a Significant Prognostic Indicator in Stage IA Lung Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2011; 18(10):2968-72.
54. Roberts TE, Hasleton PS, Musgrove C, Swindell R, Lawson RA. Vascular invasion in non-small cell lung carcinoma. *J Clin Pathol*. 1992; 45(7):591-3.
55. Konaka C, Ikeda N, Hiyoshi T, Tsuji K, Hirano T, Kawate N, Ebihara Y, Kato H. Peripheral non-small cell lung cancers 2.0 cm or less in diameter: Proposed criteria for limited pulmonary resection based upon clinicopathological presentation. *Lung Cancer*. 1998; 21(3):185-91.

56. Rigau V, Molina TJ, Chaffaud C, Huchon G, Audouin J, Chevret S, Bréchet JM. Blood vessel invasion in resected non small cell lung carcinomas is predictive of metastatic occurrence. *Lung Cancer*. 2002; 38(2):169-76.
57. Poleri C, Morero JL, Nieva B, Vázquez MF, Rodríguez C, de Titto E, Rosenberg M. Risk of Recurrence in Patients With Surgically Resected Stage I Non-small Cell Lung Carcinoma: Histopathologic and Immunohistochemical Analysis. *Chest*. 2003; 123(6):1858-67.
58. Seok Y, Yang HC, Kim TJ, Lee KW, Kim K, Jheon S, Cho S. Frequency of Lymph Node Metastasis According to the Size of Tumors in Resected Pulmonary Adenocarcinoma with a Size of 30 mm or Smaller. *J Thorac Oncol*. 2014; 9(6):818-24.
59. Zhao F, Zhou Y, Ge P-F, Huang C-J, Yu Y, Li J, Sun Y-G, Meng Y-C, Xu J-X, Jiang T, Zhang Z-X, Sun J-P, Wang W. A prediction model for lymph node metastases using pathologic features in patients intraoperatively diagnosed as stage I non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2017; 17(1):267.
60. Duhig EE, Dettrick A, Godbolt DB, Pauli J, van Zwieten A, Hansen AR, Yang IA, Fong KM, Clarke BE, Bowman RV. Mitosis Trumps T Stage and Proposed International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification for Prognostic Value in Resected Stage 1 Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(4):673-81.
61. Swinson DEB, Jones JL, Richardson D, Cox G, Edwards JG, O'Byrne KJ. Tumour necrosis is an independent prognostic marker in non-small cell lung cancer: correlation with biological variables. *Lung Cancer*. 2002; 37(3):235-40.
62. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, Christie M, van de Vijver K, Estrada MV, Gonzalez-Ericsson PI, Sanders M, Solomon B, Solinas C, Van den Eynden GGM, Allory Y, Preusser M, Hainfellner J, Pruneri G, Vingiani A, Demaria S, Symmans F, Nuciforo P, Comerma L, Thompson EA, Lakhani S, Kim S-R, Schnitt S, Colpaert C, Sotiriou C, Scherer SJ, Ignatiadis M, Badve S, Pierce RH, Viale G, Sirtaine N, Penault-Llorca F, Sugie T, Fineberg S, Paik S, Srinivasan A, Richardson A, Wang Y, Chmielik E, Brock J, Johnson DB, Balko J, Wienert S, Bossuyt V, Michiels S, Ternes N, Burchardi N, Luen SJ, Savas P, Klauschen F, Watson PH, Nelson BH, Criscitiello C, O'Toole S, Larsimont D, de Wind R, Curigliano G, André F, Lacroix-Triki M, van de Vijver M, Rojo F, Floris G, Bedri S, Sparano J, Rimm D, Nielsen T, Kos Z, Hewitt S, Singh B, Farshid G, Loibl S, Allison KH, Tung N, Adams S, Willard-Gallo K, Horlings HM, Gandhi L, Moreira A, Hirsch F, Dieci MV, Urbanowicz M, Brcic I, Korski K, Gaire F, Koeppen H, Lo A, Giltnane J, Rebelatto MC, Steele KE, Zha J, Emancipator K, Juco JW, Denkert C, Reis-Filho J, Loi S, Fox SB. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1:

Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. *Adv Anat Pathol*. 2017; 24(5):235-251.

63. Ruffini E, Asioli S, Filosso PL, Lyberis P, Bruna MC, Macrì L, Daniele L, Oliaro A. Clinical Significance of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Lung Neoplasms. *Ann Thorac Surg*. 2009; 87(2):365-2.

64. Kilic A, Landreneau RJ, Luketich JD, Pennathur A, Schuchert MJ. Density of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Correlates with Disease Recurrence and Survival in Patients with Large Non-Small-Cell Lung Cancer Tumors. *J Surg Res*. 2011; 167(2):207-10.

65. Johnson SK, Kerr KM, Chapman AD, Kennedy MM, King G, Cockburn JS, Jeffrey RR. Immune cell infiltrates and prognosis in primary carcinoma of the lung. *Lung Cancer*. 2000; 27(1):27-35.

66. Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, McLaughlin J, Velcheti V, Syrigos KN, Herbst RS, Rimm DL. Objective Measurement and Clinical Significance of TILs in Non-Small Cell Lung Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015; 107(3):dju435.

67. Zeng D-Q, Yu Y-F, Ou Q-Y, Li X-Y, Zhong R-Z, Xie C-M, Hu Q-G. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(12):13765-81.

68. Brambilla E, Le Teuff G, Marguet S, Lantuejoul S, Dunant A, Graziano S, Pirker R, Douillard J-Y, Le Chevalier T, Filipits M, Rosell R, Kratzke R, Popper H, Soria J-C, Shepherd FA, Seymour L, Tsao MS. Prognostic Effect of Tumor Lymphocytic Infiltration in Resectable Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2016; 34(11):1223-30.

69. Feng W, Li Y, Shen L, Cai X-W, Zhu Z-F, Chang J-H, Xiang J-Q, Zhang Y-W, Chen H-Q, Fu X-L. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with completely resected stage IIIA(N2) non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(6):7227-40.

70. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, Christie M, van de Vijver K, Estrada MV, Gonzalez-Ericsson PI, Sanders M, Solomon B, Solinas C, Van den Eynden GGM, Allory Y, Preusser M, Hainfellner J, Pruneri G, Vingiani A, Demaria S, Symmans F, Nuciforo P, Comerma L, Thompson EA, Lakhani S, Kim S-R, Schnitt S, Colpaert C, Sotiriou C, Scherer SJ, Ignatiadis M, Badve S, Pierce RH, Viale G, Sirtaine N, Penault-Llorca F, Sugie T, Fineberg S, Paik S, Srinivasan A, Richardson A, Wang Y, Chmielik E, Brock J, Johnson DB, Balko J, Wienert S, Bossuyt V, Michiels S, Ternes N, Burchardi N, Luen SJ, Savas P, Klauschen F, Watson PH, Nelson BH, Criscitiello C, O'Toole S, Larsimont D, de Wind R, Curigliano G, André F, Lacroix-Triki M, van de

Vijver M, Rojo F, Floris G, Bedri S, Sparano J, Rimm D, Nielsen T, Kos Z, Hewitt S, Singh B, Farshid G, Loibl S, Allison KH, Tung N, Adams S, Willard-Gallo K, Horlings HM, Gandhi L, Moreira A, Hirsch F, Dieci MV, Urbanowicz M, Brcic I, Korski K, Gaire F, Koeppen H, Lo A, Giltnane J, Rebelatto MC, Steele KE, Zha J, Emancipator K, Juco JW, Denkert C, Reis-Filho J, Loi S, Fox SB. Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in Melanoma, Gastrointestinal Tract Carcinomas, Non–Small Cell Lung Carcinoma and Mesothelioma, Endometrial and Ovarian Carcinomas, Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck, Genitourinary Carcinomas, and Primary Brain Tumors. *Adv Anat Pathol*. 2017; 24(6):311-335.

71. Travis WD, Brambilla E, Geisinger KR. Histological grading in lung cancer: one system for all or separate systems for each histological type? *Eur Respir J*. 2016; 47(3):720-3.

72. Dieu-Nosjean M-C, Goc J, Giraldo NA, Sautès-Fridman C, Fridman WH. Tertiary lymphoid structures in cancer and beyond. *Trends Immunol*. 2014; 35(11):571-80.

73. Cho S, Song IH, Yang HC, Kim K, Jheon S. Predictive Factors for Node Metastasis in Patients With Clinical Stage I Non-Small Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Surg*. 2013; 96(1):239-45.

74. Fukui T, Katayama T, Ito S, Abe T, Hatooka S, Mitsudomi T. Clinicopathological features of small-sized non-small cell lung cancer with mediastinal lymph node metastasis. *Lung Cancer*. 2009; 66(3):309-13.

75. Watanabe S-I, Oda M, Go T, Tsunozuka Y, Ohta Y, Watanabe Y, Watanabe G. Should mediastinal nodal dissection be routinely undertaken in patients with peripheral small-sized (2 cm or less) lung cancer? Retrospective analysis of 225 patients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001; 20(5):1007-11.

76. Wang L, Jiang W, Zhan C, Shi Y, Zhang Y, Lin Z, Yuan Y, Wang Q. Lymph node metastasis in clinical stage IA peripheral lung cancer. *Lung Cancer*. 2015; 90(1):41-6.

77. Chansky K, Sculier J-P, Crowley JJ, Giroux D, Van Meerbeeck J, Goldstraw P. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project: Prognostic Factors and Pathologic TNM Stage in Surgically Managed Non-small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2009; 4(7):792-801.

78. Maeda R, Isowa N, Onuma H, Miura H, Harada T, Touge H, Tokuyasu H, Kawasaki Y. Lung adenocarcinomas with micropapillary components. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 57(10):534-9.

79. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, Wienert S, Van den Eynden G, Baehner FL, Penault-Llorca F, Perez EA, Thompson EA, Symmans WF, Richardson AL, Brock J, Criscitiello C, Bailey H, Ignatiadis M, Floris G, Sparano J, Kos Z, Nielsen T, Rimm DL, Allison KH, Reis-Filho JS, Loibl S, Sotiriou C, Viale G, Badve S, Adams S, Willard-Gallo K, Loi S. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015; 26(2):259-71.



## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Thilo Graumann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Einfluss klinischer und histomorphologischer Parameter auf den Lymphknotenstatus beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

[Für den Fall, dass Sie die Forschung für Ihre Promotion ganz oder teilweise in Gruppenarbeit durchgeführt haben:] Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dipl.-Phys. Frederick Klauschen und Herrn PD Dr. med. Maximilian von Laffert für die Überlassung des Promotionsthemas und die langjährige, gute Betreuung. Bedanken möchte ich mich insbesondere für die konstruktive und freundliche Zusammenarbeit, die mir eine wertvolle Motivation war und mir wissenschaftliche Orientierung gab.

Ein großes Dankeschön gilt zudem Herrn PD Dr. rer. nat. Jan Budczies für seine Hilfsbereitschaft und die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Persönlich möchte ich mich insbesondere bei meinen Eltern für die Ermöglichung meines Studiums und die große Hilfe in allen Lebenslagen bedanken. Ein herzlicher Dank gilt zudem meiner Freundin für ihre liebevolle Unterstützung und die vielen motivierenden Worte während der Anfertigung dieser Dissertation.