Aus der Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (Prof. Dr. med. I. Kutschka) der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

# Expressionsverhalten von ABC-A3 in Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen - ein neoadjuvantes Therapiekonzept

# INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades für Zahnheilkunde der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Dorothee Höner, geb. Kaufmann

aus

Rotenburg a.d. Fulda

Göttingen 2021

Dekan:	Prof. Dr. med. W. Brück
Referent/in:	Prof. Dr. med. B. Danner
Ko-Referent/in:	PD Dr. med. A. Rittmeyer
Drittreferent/in:	PD. Dr. med. F. Bremmer

Datum der mündlichen Prüfung: 09.06.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit Titel dem "Expressionsverhalten von ABC-A3 in Nicht-kleinzelligen ein Therapiekonzept" Bronchialkarzinomen neoadjuvantes \_ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

# Inhaltsverzeichnis

A	bbildur	ngsverzeichnis	IV
Т	abellen	verzeichnis	V
A	bkürzu	ngsverzeichnis	VI
1	Einl	leitung	
	1.1	Epidemiologie	1
	1.2	Ätiologie	1
	1.3	Histopathologische Tumorklassifikation	3
	1.4	TNM-Klassifikation	5
	1.4.1	l Primärtumor "T"	6
	1.4.2	2 Regionäre Lymphknoten "N"	7
	1.4.3	3 Fernmetastasen "M"	7
	1.4.4	4 R-Klassifikation	8
	1.5	Stadieneinteilung nach IASLC (UICC 6. und 8. Auflage)	8
	1.6	Therapie	10
	1.7	Prognose des Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms	13
	1.8	Regressionsgrad nach Junker	14
	1.9	ABC-A3	15
	1.10	Zielsetzung	17
2	Mat	erial und Methoden	19
	2.1	Patientenkollektiv	19
	2.1.1	Zusammensetzung	19
	2.1.2	2 Kollektiv der vorliegenden Studie	19
	2.2	Laboruntersuchung	23
	2.2.1	Prinzip der Immunhistochemie	23
	2.2.2	2 Herstellung der Tumorgewebeschnitte	24
	2.2.3	3 Reinigung der Tumorgewebeschnitte	24
	2.2.4	Immunhistochemische Färbung des Proteins ABC-A3	25
	2.3	Labormaterialien	26
	2.4	Auswertungen	28
	2.4.1	Lichtmikroskopische Auswertungen	28

2.4.2	ABC-A3 Intensität I <sub>0</sub> / I <sub>1</sub>	
2.4.3	ABC-A3 Intensität I <sub>2</sub>	
2.4.4	ABC-A3 Intensität I <sub>3</sub>	
2.4.5	Positiv-Index	
2.5	Statistische Auswertung	
2.5.1	Überlebenskurve nach Kaplan-Meier	
2.5.2	Rangkorrelation nach Spearman	
2.5.3	McNemar-Test	
3 Erge	bnisse	
3.1	Gesamtkollektiv	
3.1.1	Epidemiologie	
3.1.2	Chirurgische Therapie	
3.1.3	Raucherstatus	
3.1.4	Regressionsgrad nach Junker	
3.1.5	Überlebenszeit für Gesamtkollektiv	41
3.1.6	Überlebenszeit anhand Tumorentitäten	
3.1.7	Überlebenszeit Rezidiv	
3.2	Auswertung Laboruntersuchung	
3.2.1	Maximalwerte	45
3.2	2.1.1 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus Baseline	
3.2	2.1.2 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus OP	47
3.2.2	Positiv-Index	
3.2	2.2.1 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus Baseline	49
3.2	2.2.2 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus OP	
3.3	Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie	53
3.3.1	Überlebenszeit	53
3.3.2	Regressionsgrad nach Junker	54
3.3.3	McNemar-Test	55
3.4	Rangkorrelation nach Spearman	
3.4.1	Korrelationsanalyse anhand der ABC-A3 Maximalwerte	58
3.4	4.1.1 Tumorproben aus Baseline	58
3.4	4.1.2 Tumorproben aus OP	
3.4.2	Korrelationsanalyse anhand der ABC-A3 Positiv-Indizes	59

	3.4	4.2.1	Tumorproben aus Baseline	59
	3.4	4.2.2	Tumorproben aus OP	59
4	Disk	cussior	1	60
	4.1	Epider	miologie Gesamtkollektiv	60
	4.2	Ergeb	nisse Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie	62
	4.3	Immu	nhistochemische Methodik und Auswertung	64
	4.4	Statisti	sche Auswertung von ABC-A3	66
	4.4.1	Kap	olan-Meier	66
	4.4.2	2 Kor	relationsanalysen	67
5	Zusa	ammei	nfassung und Ausblick	69
6	Anh	ang		71
7	Lite	raturve	erzeichnis	96

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Proteinstruktur von ABC-A3	16
Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der Studiendurchführung	22
Abbildung 2.2: Vereinfachte Darstellung indirekte Immunhistochemie	23
Abbildung 2.3: Lichtmikroskopische Auswertung	30
Abbildung 2.4: ABC-A3 Intensität $I_0/I_1$ Scanbild	32
Abbildung 2.5: ABC-A3 Intensität $I_0/I_1$ 25-fache Vergrößerung	32
Abbildung 2.6: ABC-A3 Intensität I2 Scanbild	33
Abbildung 2.7: ABC-A3 Intensität I2 25-fache Vergrößerung	33
Abbildung 2.8: : ABC-A3 Intensität I2 100-fache Vergrößerung	33
Abbildung 2.9: ABC-A3 Intensität I <sub>3</sub> Scanbild	34
Abbildung 2.10: ABC-A3 Intensität I3 25-fache Vergrößerung	34
Abbildung 2.11: ABC-A3 Intensität I3 100-fache Vergrößerung	34
Abbildung 3.1 Säulendiagramm zur Darstellung der Anzahl der <i>pack years</i>	39
Abbildung 3.2: Überlebenskurve in Monaten für Gesamtkollektiv	41
Abbildung 3.3: Überlebenskurve in Monaten nach Tumorentitäten getrennt	42
Abbildung 3.4: Vergleich des progressionsfreien Überlebens (PFS) in Monaten	43
Abbildung 3.5: Überlebenskurve anhand ABC-A3 Maximalwerte (Baseline)	46
Abbildung 3.6: Überlebenskurve anhand ABC-A3 Maximalwerte (OP)	47
Abbildung 3.7: Überlebenskurve anhand ABC-A3 PI (Baseline)	49
Abbildung 3.8: Überlebenskurve anhand ABC-A3 PI (OP)	50
Abbildung 3.9: Überlebenskurve in Monaten des Kollektivs Prä-Post-Vergleich	53

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: TNM-Klassifikation Primärtumor "T"	6
Tabelle 1.2: TNM-Klassifikation regionäre Lymphknoten "N"	7
Tabelle 1.3: TNM-Klassifikation Fernmetastasen "M"	7
Tabelle 1.4: TNM-Klassifikation, R-Klassifikation	8
Tabelle 1.5: Klassifikation der Tumorstadien von Bronchialkarzinomen	8
Tabelle 1.6: Subklassifikation des Stadiums IIIA N2	9
Tabelle 1.7: Stadienabhängige 5-Jahres-Überlebensrate	13
Tabelle 2.1: Übersicht der Tumorproben insgesamt	20
Tabelle 2.2: Verteilung der Tumorproben	20
Tabelle 2.3: Herstellung der Stammlösung des TBS-Puffers	24
Tabelle 2.4: Herstellung der Gebrauchslösung	24
Tabelle 2.5: Verwendete Gerätschaften und Verbrauchsmaterialien	26
Tabelle 2.6: Verwendete Chemikalien und Biochemikalien	27
Tabelle 2.7: Software	27
Tabelle 2.8: Verwendeter Primärantikörper	
Tabelle 2.9: Verwendeter Sekundärantikörper; Polymersystem	
Tabelle 3.1: cTNM für Gesamtkollektiv	
Tabelle 3.2: ypTNM für Gesamtkollektiv	
Tabelle 3.3: Bestimmung des Regressionsgrades nach Junker	
Tabelle 3.4: Auswertung der Maximalwerte	45
Tabelle 3.5: Auswertung der Positiv-Indizes	
Tabelle 3.6: Zusammenfassung Ergebnisse Gesamtkollektiv	51
Tabelle 3.7: Kreuztabelle Tumormaterial Baseline vs. Tumormaterial OP	55
Tabelle 3.8: McNemar-Test	56
Tabelle 3.9: Ergebnisse des Prä-Post-Vergleichs der neoadjuvanten Therapie	57

# Abkürzungsverzeichnis

ABC	ATP-binding cassette
ABC-A3	ATP-binding cassette sub-family A member 3
AC	adenocarcinoma
ATP	Adenosintriphosphat
cTNM	clinical tumor, node, metastasis
CTLA-4	cytotoxic T-Lymphocyte-associated antigen-4
EGFR	epidermal growth factor receptor
HPV	human papillomaviruses, humane Papillomaviren
G-CSF	granulocyte-colony stimulation factor 1
Μ	metastasis
Ν	node
NSCLC	non-small cell lung cancer
SCLC	small cell lung cancer
Т	tumor
TNM	tumor, node, metastasis
TBS	tris-buffered saline
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
PD-1	programmed cell death protein 1
PD-L1	programmed cell death ligand 1
PI	Positiv-Index
PFS	progression-free survival
pN	pathologic node
рТ	pathologic tumor
R	residual
SCC	squamous cell carcinoma
VATS	video assisted thoracoscopic surgery
WHO	World Health Organization
ypTNM	pTNM classification after neodadjuvant therapy

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie

Das Bronchialkarzinom ist mit jährlich ca. 1,8 Millionen Neuerkrankungen die am häufigsten diagnostizierte Krebserkrankung weltweit, gefolgt von Brustkrebs (1,7 Millionen) und Darmkrebs (1,4 Millionen) (WHO 2020).

In Deutschland wurde laut Robert Koch-Institut im Jahr 2016 bei 35960 Männern und 21500 Frauen Lungenkrebs diagnostiziert (ZfKD 2019). Mit einer Mortalität von 24 % ist es weiterhin die häufigste Krebstodesursache bei Männern und nach dem Mammakarzinom die zweithäufigste bei Frauen (15 %) (ZfKD 2019).

Die relative 5-Jahres-Überlebensrate liegt in Abhängigkeit vom Tumorstadium und dem histologischen Tumortyp bei Männern bei 16 % und bei Frauen bei etwa 21 % (dkfz 2020).

Das mediane Erkrankungsalter beträgt bei beiden Geschlechtern zwischen 68 und 70 Jahren (DGHO 2019).

#### 1.2 Ätiologie

Als größter Risikofaktor für die Entstehung von Bronchialkarzinomen gilt nach wie vor der Tabakrauch mit seinen kanzerogenen Substanzen. Dieser ist für vier von fünf Lungenkrebstodesfällen verantwortlich (Goeckenjan 2010).

Auffällig ist eine gegenläufige Entwicklung der Rauchgewohnheiten bei beiden Geschlechtern: Während im Jahr 1992 noch 37 % der Männer und 21 % der Frauen regelmäßig Tabak konsumierten, sank der Anteil an männlichen Rauchern 2005 auf 32 % und stieg bei den Frauen auf 23 %. Nach diesem Zeitpunkt sank der Anteil an Rauchern der deutschen Bevölkerung bei beiden Geschlechtern, sodass aktuell 29 % der Männer und 20 % der Frauen aktive Raucher sind (ZfKD 2019).

Etwa 75 % der Raucher rauchen täglich, von denen rund 24 % bis zu 10 Zigaretten, etwa 21 % zwischen 11 und 19 Zigaretten und ca. 20 % mehr als 19 Zigaretten täglich rauchen und somit als starke Raucher gelten (dkfz 2020). Entscheidend für das Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken, sind die Menge der Zigaretten, die pro Tag geraucht werden und die Anzahl der Jahre, in denen Zigaretten konsumiert wurden. Dies wird mit Hilfe der sogenannten *pack years* (py), auch Packungsjahre, angegeben und wird anhand folgender Formel berechnet:

Anzahl *pack years* = (Pro Tag gerauchte Zigarettenpackungen) × (Anzahl Raucherjahre)

Ein pack year entspricht somit dem Konsum von 20 Zigaretten täglich in einem Jahr.

Auf der anderen Seite nimmt das Risiko kontinuierlich ab, sobald Raucher ihre Sucht aufgeben. Bereits nach fünf Jahren verringert es sich um 60 % (dkfz 2020).

Obwohl aktive Raucher als die Personengruppe mit dem höchsten Lungenkrebsrisiko gelten, muss auch das passive Rauchen streng betrachtet werden. 1,6 % der Lungenkrebs-Neuerkrankungen sind dem Passivrauchen geschuldet (Boffetta 2006). Dies entspricht in Deutschland ca. 280 Patienten, von denen 260 aufgrund ihrer Erkrankung sterben (dkfz 2020). Wer durch sein Umfeld, wie etwa durch rauchende Partner oder Passivrauch am Arbeitsplatz, regelmäßigem Tabakrauch ausgesetzt ist, besitzt ein 24-mal höheres Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken im Vergleich zu einem unbelasteten Nichtraucher (Stayner et al. 2007; Secretan et al. 2009).

Besondere Beachtung gilt dem Passivrauchen bei Kindern und Jugendlichen: Wer im Kindesalter mehrere Stunden täglich passivem Tabakrauch ausgesetzt ist, besitzt ein 3,6 % höheres Lungenkrebsrisiko (Vineis et al. 2005).

Weitere Risikofaktoren zur Entstehung von Bronchialkarzinomen sind neben aktivem und passivem Tabakrauch auch Radon als natürlich vorkommendes radioaktives Edelgas (Field et al. 2000; Subramanian et al. 2007), radioaktive (kosmische) Strahlenbelastung und Röntgenstrahlung.

Berufsgruppen, die einer erhöhten Strahlenexposition ausgesetzt sind, wie Flugpersonal oder medizinisches Röntgenpersonal, stehen unter der Kontrolle des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (Bundesamt für Strahlenschutz 2015).

Aufgrund erhöhtem Lungenkrebsrisiko bei LKW- und Busfahrern, Bergarbeitern, Bedienern schwerer Baumaschinen und Eisenbahnern wurden Dieselmotoremissionen 2012 als kanzerogen eingestuft (Benbrahim-Tallaa et al. 2012).

Daneben scheinen auch genetische Faktoren eine Rolle zu spielen. Im Rahmen der LUCY Studie (*lung cancer in the young*) wurden die Daten (Familienanamnese, medizinische Vorgeschichte, Rauchgewohnheiten, molekularbiologische Informationen) von 246 Lungenkrebspatienten im Alter bis 50 Jahren rekrutiert und genotypisiert (Rosenberger et al. 2008). Es scheint, dass die Träger der Gene GPX-1 (Glutathionperoxidase 1) mit T-Allel und EPHX-1 (Epoxidhydrolase 1) mit C-Allel ein statistisch signifikant geringeres Risiko besitzen, an frühem Lungenkrebs zu erkranken als die Träger mit anderen Allelen dieser beiden Gene.

Weitere Studien konnten vermehrt das Humane Papilloma Virus (HPV) in malignen Bronchialkarzinomen nachweisen (Chiou et al. 2003; Ciotti et al. 2006; Giuliani et al. 2007). Es bedarf jedoch noch weiterführender Forschung in diese Richtung, um HPV tatsächlich als Risikofaktor ausmachen zu können (De Freitas et al. 2016).

## 1.3 Histopathologische Tumorklassifikation

Bronchialkarzinome sind maligne Neoplasien, die primär in der Lunge entstehen und meistens epithelialen Ursprungs sind. Die World Health Organization (WHO) unterscheidet für das Bronchialkarzinom verschiedene histopathologische Tumortypen (Travis et al. 2015):

Das Adenokarzinom, welches in den letzten 20 Jahren vermehrt diagnostiziert wurde, ist mit einer Inzidenz von 42 % die am häufigsten vorkommende Tumorentität. Die Tumorzellen sind bevorzugt in Narbengewebe zu finden und entwickeln sich aus schleimproduzierenden Zellen. Als größter Risikofaktor für seine Entstehung gilt der Tabakkonsum. Es wird gehäuft bei Männern unter 50 Jahren, Frauen jeden Alters, Nichtrauchern und ehemaligen Rauchern diagnostiziert (Brambilla et al. 2001).

Im Vergleich zum Plattenepithelkarzinom ist das Durchschnittsalter zum Diagnosezeitpunkt etwas niedriger. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate des Adenokarzinoms liegt bei Männern bei ca. 18 % und bei Frauen bei ca. 21 % (ZfKD 2019).

Häufig sind Adenokarzinome in der Lungenperipherie lokalisiert. Im makroskopischen Befund ist eine zentrale schwarze Pigmentierung auffällig, während sich mikroskopisch häufig Sekretvakuolen und mehrkernige Riesenzellen nachweisen lassen (Müller und Wiethege 2004).

Ähnlich häufig, mit einer Inzidenz von 28 %, tritt das Plattenepithelkarzinom auf. Es kann vom verhornenden Typ oder nicht-verhornenden Typ, als präinvasive Läsion (plattenepitheliales Carcinoma in situ) oder basaloides Plattenepithelkarzinom vorliegen, wobei sich mit Abnahme des Differenzierungsgrades die Prognose für den Patienten verschlechtert. Typische Charakteristika des Plattenepithelkarzinoms sind ein langsames Wachstum und die frühe Metastasierung in die Lymphknoten. In über 90 % wird es mit Tabakrauch assoziiert (dkfz 2020). Die relative 5-Jahres-Überlebensrate des Plattenepithelkarzinoms ist mit ca. 21 % für beide Geschlechter ähnlich der des Adenokarzinoms (ZfKD 2019). Häufig sind die Tumorzellen in Segment- oder Subsegmentbronchien lokalisiert. Mikroskopisch auffällig sind epidermisähnliche Epithelverbände mit variabel entwickelten Interzellularbrücken (Müller und Wiethege 2004).

Die Gruppe der neuroendokrinen Tumoren besteht aus dem kleinzelligen Karzinom, dem großzellig neuroendokrinen Karzinom, typischen und atypischen Karzinoiden und präinvasiven Läsionen.

Das kleinzellige Karzinom, das sogenannte SCLC (*small cell lung cancer*), hat eine Inzidenz von ca. 10-15 % und wird mit Patienten mit langer Raucheranamnese assoziiert. Charakteristisch ist eine hohe Zellteilungsrate verbunden mit einem raschen Wachstum. Das SCLC neigt zur Metastasenbildung und besitzt aufgrund seines häufig späten Diagnosezeitpunktes eine schlechte Prognose. Häufig ist nur noch ein palliativer Therapieansatz möglich. Dies belegt auch die 5-Jahres-Überlebensrate, die mit ca. 6 % bei Männern und ca. 8 % bei Frauen die niedrigste aller histologischen Typen des Bronchialkarzinoms ist (ZfKD 2019).

Das klinische Bild unterscheidet sich grundsätzlich nicht von dem eines Patienten mit NSCLC (*non-small cell lung cancer*): die frühen Stadien sind häufig asymptomatisch. Je weiter fortgeschrittener der Tumor ist, desto häufiger treten unspezifische Schmerzen wie Husten (teilweise mit blutigem Auswurf), Dyspnoe, Kurzatmigkeit, Thoraxschmerzen oder Stridor auf. Anders als bei NSCLC treten jedoch beim kleinzelligen Karzinom aufgrund des neuroendokrinen Ursprungs der Zellen deutlich häufiger paraneoplastische Syndrome wie das Schwartz-Bartter-Syndrom (SIADH bzw. Syndrom der inadäquaten Sekretion des Antidiuretischen Hormons), das Cushing-Syndrom oder das Lambert-Eaton-Syndrom auf (Van Meerbeeck et al. 2011).

Die Tumorzellen lokalisieren sich bevorzugt in den zentralen und intermediären Segment- und Subsegmentbronchien. Der mikroskopische Befund zeigt runde, kleine bis mittelgroße Tumorzellen mit wenig Zytoplasma und pleomorphen, dunklen Kernen, die sich in ungeordneten Zellverbänden dicht aneinander legen (Müller und Wiethege 2004).

Als großzelliges Bronchialkarzinom werden alle Karzinome beschrieben, die keine differenzierten Merkmale besitzen und nicht kleinzellig sind, daher ist es häufig eine Ausschlussdiagnose. Männer besitzen eine 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 16 % und Frauen ca. 19 % (ZfKD 2019).

Es kann sowohl zentral als auch in der Peripherie lokalisiert sein. Histologisch zeigen sich hier große Zellen mit großen Kernen, viel Zytoplasma und ein prominenter Nukleolus. Sehr häufig ist auch nekrotisches Gewebe zu finden (Müller und Wiethege 2004). Weitere selten auftretende histopathologische Subtypen des Bronchialkarzinoms sind das lepidische Karzinom, das pleomorphe Karzinom, das spindelzellige Karzinom, das riesenzellige Karzinom, das Karzinosarkom, Tumoren vom Speicheldrüsentyp, Papillome und Adenome.

# 1.4 TNM-Klassifikation

Die TNM-Klassifikation wurde von der UICC (Union Internationale Contre Le Cancer) entwickelt, um das Stadium maligner Tumoren zu erfassen und so eine Aussage über Therapie und Prognose der Erkrankung abschätzen zu können. Seit 1.1.2017 ist die 8. Auflage der TNM Stadieneinteilung gültig.

Es existiert eine prätherapeutische klinische Klassifikation (cTNM; *clinical tumor, node, metastasis*), welche auf Befunden basiert, die vor der Behandlung erhoben wurden (klinische Untersuchung, bildgebende Verfahren, Endoskopie, Biopsie, chirurgische Exploration). Hierbei werden Tumor (T), Lymphknoten (N) und Fernmetastasen (M) gesichtet und bewertet.

Ergänzt bzw. modifiziert wird die prätherapeutische Klassifikation mit den Ergebnissen der Operation und der pathohistologischen Untersuchung des aus der Tumorentfernung gewonnenen Gewebes, der sogenannten pathohistologischen Klassifikation (pTNM) (Wittekind 2017).

Mit Hilfe des Präfix "y" wird gekennzeichnet, dass vor der Tumorklassifizierung bereits eine neoadjuvante Therapie (Strahlentherapie, Chemotherapie oder kombinierte Strahlenchemotherapie) stattgefunden hat (ycTNM oder ypTNM).

Nach Festlegung von T-, N- und M-Kategorien können diese zu Stadien gruppiert werden. Im Folgenden werden die einzelnen Stadien näher erläutert (nach Goldstraw et al. 2016).

# 1.4.1 Primärtumor "T"

Je nach Durchmesser und Infiltration benachbarter Gewebe wird der Tumor nach seiner primären Ausbreitung beurteilt. Es existieren vier Stadien T1-T4, sowie dazugehörige Untergruppen.

Kategorie	Stadium	Kurzbeschreibung	
Т	Tx	Tumor kann nicht beurteilt werden oder	
(tumor)		Nachweis von malignen Zellen im Sputum oder bei	
		Bronchialspülungen, jedoch Tumor weder radiologisch noch	
		bronchoskopisch sichtbar	
	Tis	Carcinoma in situ	
	T1	größter Durchmesser < 3 cm, umgeben von Lungengewebe	
		oder viszeraler Pleura, Hauptbronchus nicht beteiligt	
	T1a (mi)	Minimal invasives Adenokarzinom	
	T1a	größter Durchmesser ≤ 1 cm	
	T1b	größter Durchmesser > 1 und $\leq$ 2 cm	
	T1c	größter Durchmesser > 2 und $\leq$ 3 cm	
	T2	größter Durchmesser > 3 und $\leq$ 5 cm <u>oder</u>	
		- Infiltration des Hauptbronchus unabhängig vom Abstand von	
		der Karina aber ohne direkte Invasion der Karina <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 erfassen	
	T2a	größter Durchmesser > 3 und $\leq$ 4 cm	
	T2b	größter Durchmesser > 4 und $\leq$ 5 cm	
	Т3	größter Durchmesser > 5 und $\leq$ 7 cm <u>oder</u>	
		- Infiltration der Thoraxwand (inklusive parietale Pleura und	
		Sulcus superior), N. phrenicus, oder parietales Perikard oder	
		- zusätzlicher Tumorknoten im selben Lungenlappen wie der	
		Primärtumor	
	T4	größter Durchmesser > 7 cm <u>oder</u>	
		- mit direkter Infiltration von Diaphragma, Mediastinum, Herz,	
		großen Gefäßen, Trachea, N. laryngeus recurrens, Ösophagus,	
Wirbelkörper oder Ka		Wirbelkörper oder Karina <u>oder</u>	
		- zusätzlicher Tumorknoten in einem anderen ipsilateralen	
		Lungenlappen	

Tabelle 1.1: TNM-Klassifikation Primärtumor "T"

# 1.4.2 Regionäre Lymphknoten "N"

Der Status "N" gibt Auskunft über eine eventuelle Metastasierung der Lymphknoten, wobei die betroffenen Lymphknoten zum Abfluss der pulmonalen Lymphe gehören.

Kategorie	Stadium	Kurzbeschreibung	
Ν	Nx	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden	
(nodulus)	N0	Keine Lymphknotenmetastasen	
	N1	Metastase in ipsilateralen, peribronchialen <u>und/oder</u>	
		- ipsilateralen hilären Lymphknoten <u>und/oder</u>	
		- intrapulmonalen Lymphknoten oder direkte Invasion dieser	
		Lymphknoten	
	N2	Metastase in ipsilateralen mediastinalen und/oder subcarinalen	
		Lymphknoten	
N3 Metastase in kontralateralen mediastinalen, kontra		Metastase in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen	
		hilären, ipsi- oder kontralateral tief zervikalen, supraklavikulären	
		Lymphknoten	

Tabelle 1.2: TNM-Klassifikation regionäre Lymphknoten "N"

# 1.4.3 Fernmetastasen "M"

Metastasen des Primärtumors, die sich im kontralateralen Lungenlappen oder in anderen Organsystemen befinden, sowie Tumorerkrankungen der Lunge, die einen malignen Pleuraoder Perikarderguss oder Metastasen des Tumors in der Pleura aufweisen, werden in dem Status "M" bewertet.

Kategorie	Stadium	Kurzbeschreibung	
М	M0	keine Fernmetastasen	
(metastasis)			
	M1	Fernmetastasen	
	M1a	- separater Tumorknoten in einem kontralateralen	
		Lungenlappen	
		- Pleura mit knotigem Befall	
		- maligner Pleuraerguss	
		- maligner Perikarderguss	
	M1b	isolierte Fernmetastase in einem extrathorakalen Organ	
	M1c	mehrere Fernmetastasen (> 1) in einem oder mehreren	
		Organen	

Tabelle 1.3: TNM-Klassifikation Fernmetastasen "M"

#### 1.4.4 **R-Klassifikation**

Zusätzlich zum TNM-Schema und pTNM-Schema existiert die R-Klassifikation, wobei "R" für "*residual*" steht und beschreibt, inwiefern nach erfolgter Therapie noch Tumorgewebe vorhanden ist (Residualtumor oder Resttumor). Die R-Klassifikation eines chirurgischen Resektats beeinflusst das weitere therapeutische Vorgehen und liefert Voraussagen zur Prognose.

Rx	Residualtumor nicht beurteilbar
R0	Kein nachweisbarer Residualtumor
R1	Mikroskopischer Residualtumor (histologisch nachgewiesen)
R2	Makroskopischer Residualtumor

Tabelle 1.4: TNM-Klassifikation, R-Klassifikation

# 1.5 Stadieneinteilung nach IASLC (UICC 6. und 8. Auflage)

Nach Einteilung des Primärtumors, der regionären Lymphknoten und der eventuell vorliegenden Fernmetastasen können die malignen Tumoren verschiedenen Stadien zugeordnet werden.

Da das Gesamtkollektiv dieser Studie aus den Jahren 1996-2002 stammt (siehe 2.1.1), wurde in dieser Arbeit sowohl die damals gültige 6. Auflage der Stadieneinteilung nach IASLC sowie die seit dem 01.01.2017 gültige 8. Auflage beschrieben.

Stadium	TNM-Klassifikation	TNM-Klassifikation
	nach UICC 6	nach UICC 8
Okkultes		
Karzinom	-	Tx N0 M0
0	Tis N0 M0	Tis N0 M0
IA/ IA1	T1 N0 M0	T1a(mi) N0 M0
IA1-3		Т1а-с N0 M0
IB	T2 N0 M0	T2a N0 M0
IIA	T1 N1 M0	T2b N0 M0
IIB	T2 N1 M0	Т1а-с N1 M0
	T3 N0 M0	T2a N1 M0
		T3 N0 M0

Tabelle 1.5: Klassifikation der Tumorstadien von Bronchialkarzinomen nach UICC 6 und UICC 8 (Goldstraw et al. 2007; Goldstraw et al. 2016)

Einleitung

a 41		
Stadium	TNM-Klassifikation	TNM-Klassifikation
	nach UICC 6	nach UICC 8
IIIA	T1 N2 M0	Т1а-с N2 M0
	T2 N2 M0	T2a-b N2 M0
	T3 N1 M0	T3 N1 M0
	T3 N2 M0	T4 N0 M0
		T4 N1 M0
IIIB	T4 N0 M0	T1a-b N3 M0
	T4 N1 M0	T2a-b N3 M0
	T4 N2 M0	T3 N2 M0
	Jedes T N3 M0	T4 N2 M0
IIIC		T3 N3 M0
		T4 N3 M0
IV	Jedes T jedes N M1	
IVA		jedes T jedes N M1a
		jedes T jedes N M1b
IVB		jedes T jedes N M1c

Während die 6. Auflage (und 7. Auflage) der Tumorstadieneinteilung nach UICC lediglich zwischen prognostisch ungünstigen, technisch resektablen Tumoren (Stadium IIIA) und prognostisch ungünstigen, in der Regel jedoch technisch inoperablen Tumoren (Stadium IIIB) unterscheidet, wurden die Stadien der aktuell gültigen 8. Auflage neu definiert und ergänzt. Das neu eingeführte Stadium IIIC beinhaltet lokal fortgeschrittene Tumore (T3/T4 N3), bei denen aufgrund sehr schlechter Prognose in der Regel keine chirurgische Tumorentfernung indiziert ist. Auch eine exaktere Beschreibung der vorhandenen Fernmetastasen wird in der aktuellen Version durch die Differenzierung des Stadiums IV in IVA und IVB vorgenommen.

Da das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen für die spätere Therapieentscheidung eine relevante Rolle spielt, wurde von Robinson et al. (2007) eine Subklassifikation des Stadiums IIIA-N2 beschrieben und in Tabelle 1.6. dargestellt:

Stadium	Beschreibung
	Inzidentelle Lymphknotenmetastasen nach postoperativer Aufarbeitung im
$\Pi \Pi \Lambda_1$	Präparat
TTT A .	Intraoperativer Nachweis von Lymphknotenmetastasen in einer
111742	Lymphknotenstation
IIIA <sub>3</sub>	Präoperativer Nachweis von Lymphknotenmetastasen in einer oder
	mehreren Lymphknotenstationen
	Ausgedehnte (" <i>bulky"</i> ) oder fixierte N2-Metastasen oder Metastasen in
IIIIA <sub>4</sub>	mehreren Lymphknotenstationen mit extrakapsulärer Infiltration;
	Befall mehrerer N2-Lymphknotenpositionen;
	Gruppen multipler befallener kleinerer (1-2cm) LK

Tabelle 1.6: Subklassifikation	n des Stadiums	IIIA N2 (na	ach Robinson	et al. 2007)
--------------------------------	----------------	-------------	--------------	--------------

## 1.6 Therapie

Nach Bestimmung des UICC-Stadiums und unter Berücksichtigung des Allgemeinzustandes des Patienten sowie ggf. vorhandener Komorbiditäten kann eine entsprechende Behandlung erfolgen.

Diese besteht im Wesentlichen aus einer chirurgischen Operation, Chemo- und/oder Radiotherapie und wird ergänzt durch neuere Behandlungsmöglichkeiten, wie der zielgerichteten Krebstherapie (auch *targeted therapy*) oder Immuntherapie.

Bei kurativem Anspruch ist die chirurgische Tumorentfernung mit systematischer Lymphadenektomie der mediastinalen Lymphknoten Hauptmodalität (Postmus et al. 2017).

Als Standard gilt hierbei die Lobektomie, bei der ein Lungenlappen entfernt wird (Goldstraw et al. 2007; Vansteenkiste et al. 2013).

Werden zwei Lungenlappen entfernt, spricht man von einer Bilobektomie. Diese kann entweder die Resektion des rechten Oberlappens mit dem Mittellappen (obere Bilobektomie) beinhalten, oder die etwas häufigere untere Bilobektomie, bei der der rechte Unterlappen und der Mittellappen entfernt werden.

Eine komplette Resektion einer Lunge eines Hemithorax, die sogenannten Pneumonektomie, wird in selteneren Fällen bei zentraler Tumorlokalisation angewendet. Studien zeigen, dass aufgrund des größeren Verlustes an Lungenparenchym die Letalität im Vergleich zur Lobektomie zwei- bis dreimal höher ist (Van Meerbeeck et al. 2002). Als alternative Therapie zur Pneumonektomie wird die Manschettenresektion diskutiert (Ferguson und Lehman 2003). Auch sie findet Anwendung bei zentral lokalisierten Tumoren, besitzt jedoch einen geringeren Parenchymverlust als die Pneumonektomie, da nur das tumorinfiltrierte Bronchussegment reseziert wird.

Neben der Lobektomie, die hauptsächlich bei größerer Tumorausbreitung durchgeführt wird, kann für kleinere Tumore ≤ 2cm eine sublobare Resektion (anatomische Segmentresektion oder Keilresektion) erwogen werden (Asamura 2014).

Bei der anatomischen Segmentresektion werden einzelne oder bis zu drei Segmente einzelner Lungenlappen entfernt, wodurch im Vergleich zur Lobektomie mehr vitales Lungengewebe erhalten werden kann (Zhao et al. 2013). Während bei der Segmentresektion entsprechend der anatomischen Strukturen der Lunge reseziert wird, wird bei der Keilresektion, auch periphere atypische Parenchymresektion genannt, das erkrankte Lungengewebe über die anatomischen Grenzen hinaus keilartig entfernt. Sie hat sich bei der Resektion von benignen Tumoren, Metastasen und Lungenrundherden unklarer Dignität bewährt (Lindemann 2013).

Während Ginsberg und Rubinstein (1995) Keilresektionen und Segmentresektionen mit einem erhöhten Rezidivrisiko assoziieren, zeigt eine aktuelle Meta-Analyse von Bedetti et al. (2017),

Als Operationstechnik wird die "offene Operation" immer mehr durch die sogenannte VATS-Technik (*video assisted thoracoscopic surgery*) ersetzt. Diese minimal-invasive Entfernung kleiner Lungenherde oder der kompletten Lungenlappen (VATS-Lobektomie) ist mit weniger Thoraxtraumata verbunden, was wiederum für den Patienten eine schnellere Erholung und einen kürzeren Krankenhausaufenthalt bedeutet (Nwogu et al. 2015).

Neben der VATS-Technik werden auch Operationsroboter (RVATS, *robotic video-assisted thoracoscopic surgery*) zur Entfernung des tumorösen Lungengewebes eingesetzt (Lin et al. 2016). Berühmtester Vertreter ist hier das System Da Vinci® (Intuitive Surgical, Sunnyvale, USA). Ein zusätzlicher medizinischer Benefit durch Einsatz eines Operationsroboters scheint sich bisher noch nicht bestätigt zu haben (Emmert et al. 2017).

In fortgeschrittenen Stadien wird die chirurgische Tumorresektion durch eine Chemotherapie ergänzt. Diese kann adjuvant oder neoadjuvant eingesetzt werden.

Eine adjuvante Chemotherapie wird für Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom der Stadien IB > 4cm, Stadium IIA/B und Stadium IIIA (cT4N1, T4 N0/1) nach der chirurgischen Tumorentfernung empfohlen (DGHO 2019). Hierbei kommen platinbasierte Zytostatika (Cisplatin oder Carboplatin) in Kombination mit den Präparaten Etoposid, Vinorelbin oder Paclitaxel zum Einsatz (Douillard et al. 2010). Die Kombination aus Cisplatin und Vinorelbin ist mehrheitlich etablierter Standard (DGHO 2019).

Eine Alternative zur adjuvanten Therapie in kurativer Intention ist eine Induktionschemotherapie mit anschließender Tumorresektion und ggf. postoperative Radiotherapie. Ziel dieser neoadjuvanten Therapie ist, eine präoperative Operabilität herstellen zu können.

Bei Patienten mit nicht mehr operablen Tumoren kann eine palliative Chemotherapie eine Steigerung der Lebensqualität bringen (Matsuda et al. 2012).

Die Radiotherapie stellt eine weitere Therapieoption bei Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom dar. Sie kann hyperfraktionert (CHART; *continuous hyperfractionated accelerated radiotherapy*), konventionell fraktioniert mit  $\geq 60$  Gy oder stereotaktisch stattfinden und wird neoadjuvant, adjuvant und palliativ eingesetzt oder als kurativ intendierte Radiochemotherapie. In frühen Tumorstadien (IA/ IB), in denen der Tumor als primär inoperabel eingestuft wird, eine Operation aber nicht möglich ist, wird eine stereotaktische Bestrahlung empfohlen (Yahya et al. 2018).

Für lokal fortgeschrittene Stadien (IIIA/B) ist die Radio-Chemotherapie Standard (DGHO 2019).

Während bei einer chemotherapeutischen Behandlung neben den Tumorzellen auch immer gesunde Körperzellen des Patienten angegriffen werden, versucht man mit der sogenannten *targeted therapy* (gezielte Krebstherapie) mit bestimmten Medikamenten die Tumorzellen zielgerichtet anzugreifen und deren Wachstum zu verhindern. Diese Art von Therapie ist für den Patienten häufig mit weniger Nebenwirkungen verbunden als eine Behandlung mit Zytostatika. Voraussetzung für die *targeted therapy* ist die Identifikation von molekularen Zielstrukturen oder Targets.

Sie kann entweder als eigenständige Therapie indiziert sein oder wird zusätzlich zur klassischen Strahlentherapie oder Chemotherapie angewendet.

Mit Bestimmung des Tumorprofils werden molekulare Veränderungen (z. B. Mutationen, Translokationen, Amplifikationen, Fusionen) eruiert und anschließend eine entsprechende zielgerichtete Behandlung definiert. Zielgerichtete Therapien sind fester Bestandteil der Behandlung von NSCLC im Stadium IV. In frühen Stadien konnte noch kein signifikanter Vorteil des Einsatzes zielgerichteter Therapien herausgearbeitet werden.

Eine weitere Therapieoption stellt die Immuntherapie dar. Das Immunsystem verfügt über Immun-Checkpoints (bestimmte auf Membran der sogenannte Rezeptoren der T-Lymphozyten), welche die folgende Immunantwort modulieren (entweder proinflammatorisch oder antiinflammatorisch) und so für ein Gleichgewicht zwischen einer zu geringen und zu lang anhaltender, überschießender Immunreaktion sorgen. Zu den inhibitorischen T-Zellrezeptoren gehört unter anderem PD-1 (programmed cell death receptor-1). cell death Liganden PD-L1 (programmed Durch Bindung der ligand 1) oder PD-L2 (programmed cell death ligand 2) erkennt die Immunzelle ihr Gegenüber als nicht fremd an und eine adäquate Immunantwort folgt.

Manche Tumorzellen exprimieren ebenfalls PD-L1 oder PD-L2, binden an den PD-1-Rezeptor der T-Zelle und können sich somit der Immunantwort entziehen und ungehindert wachsen. Ein weiterer inhibitorischer Rezeptor ist CTLA-4 (*cytotoxic T-Lymphocyte-associated* antigen-4). Im Rahmen der Immunonkologie werden sogenannte Immun-Checkpoint-Inhibitoren eingesetzt, um die inhibierende Interaktion zwischen den Checkpoints und ihrer Liganden zu unterbrechen und somit die Abwehr des Immunsystems auf die Tumorzellen zu triggern (Chen und Mellman 2013).

Als Immun-Checkpoint-Inhibitoren dienen u. a. monoklonale Antikörper gegen PD-1, PD-L1 und CTLA-4. Die Immuntherapien sind etabliert in der Behandlung von Patienten mit NSCLC im Stadium IV als Monotherapie oder in der Kombination mit einer Chemotherapie (DGHO 2019). Derzeit wird der Einsatz der Immuntherapie auch im neoadjuvanten und adjuvanten Setting geprüft.

#### 1.7 Prognose des Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms

Trotz der Entwicklung neuer Therapiemethoden und umfangreicher Forschungen ist die Prognose des Bronchialkarzinoms weiterhin schlecht. Entscheidend für die 5-Jahres-Überlebensrate ist das Stadium der Erkrankung.

	5-Jahres-Überlebensrate			
	6. Edition		8. Ec	lition
UICC-Stadium	cTNM	pTNM	cTNM	pTNM
IA/ IA1	50 %	73 %	92 %	90 %
IA2			83 %	85 %
IA3			77 %	80 %
IB	40 %	54 %	68 %	73 %
IIA	24 %	48 %	60 %	65 %
IIB	25 %	38 %	53 %	56 %
IIIA	18 %	25 %	36 %	41 %
IIIB	8 %	19 %	26 %	24 %
IIIC			13 %	12 %
IV/ IVA	2 %	21 %	10 %	
IVB			0 %	

Tabelle 1.7: Stadienabhängige 5-Jahres-Überlebensrate nach UICC 6 und UICC 8 (Thatcher et al. 2015)

## 1.8 Regressionsgrad nach Junker

Mit Hilfe des Regressionsgrad nach Junker werden nach erfolgter präoperativer Radiound/oder Chemotherapie (neoadjuvantes Therapiekonzept) therapieinduzierte Veränderungen des Primärtumors und der regionären Lymphknoten lokal fortgeschrittener thorakaler Tumore beschrieben. Diese quantitative Größe stellt einen unabhängigen Prognosefaktor für ein Ansprechen einer neoadjuvanten Therapie dar (Junker 2001; Junker 2014; Junker et al. 2018). Bei mikroskopischer Untersuchung des Primärtumorresektats und der Lymphknoten können Veränderungen im vitalen Tumorgewebe, Tumornekrosen, Schaumzellreaktionen, Granulationsgewebsbildung und Cholesterinkristallausfällungen beobachtet werden und dem jeweils entsprechenden Regressionsgrad nach Junker zugeordnet werden (Junker 2014).

Es werden folgende Regressionsgrade unterschieden:

Regressionsgrad I: keine Tumorregression oder ausschließlich spontane Tumorregression im Bereich des Primärtumors und der regionären Lymphknoten.

Regressionsgrad II: morphologischer Nachweis der therapieinduzierten Tumorregression, wobei bei Regressionsgrad IIa mindestens 10 % vitaler Resttumor im Bereich des Primärtumors nachgewiesen wird und/oder mehr als ein kleinherdiger Nachweis vitalen Tumorgewebes in den regionären Lymphknoten vorliegt und bei Regressionsgrad IIb weniger als 10 % vitaler Resttumor im Bereich des Primärtumors vorliegt und/oder der Nachweis vitalen Tumorgewebes in den regionären Lymphknoten lediglich kleinherdig ist.

Regressionsgrad III: komplette therapieinduzierte Tumorregression ohne Nachweis eines vitalen Resttumors im Bereich des Primärtumors und der regionären Lymphknoten.

Der Regressionsgrad I und IIa wird entsprechend der Studie von Junker (2001) als Gruppe der Nonresponder und Grad IIb und III als Gruppe der Responder zusammengefasst.

# 1.9 ABC-A3

Da die Tumorhistologie einen großen prädiktiven Charakter besitzt, wird nach weiteren individuellen Tumormerkmalen (Biomarkern) geforscht, um für den Patienten ein gezieltes Therapiekonzept zu entwickeln.

Studien konnten in den Tumorstammzellen von Patienten mit einer malignen Tumorerkrankung vermehrt Zellen nachweisen, die die Fähigkeit besitzen, Zytostatika aus den Zellen heraus zu transportieren und diese unwirksam zu machen (Hirschmann-Jax et al. 2004). Dieser Resistenzmechanismus wird häufig von ABC-Transporterproteinen, ATP-bindenden Cassetten-Transportern (Adenosintriphosphat), vermittelt.

Die natürliche Expression dieser Membranproteine findet in den meisten sezernierenden Epithelien statt. Sie ermöglichen den aktiven Transport spezifischer Substrate über die Zellmembran hinweg, indem ATP an der ABC-Einheit der Proteine gebunden und hydrolysiert wird. Die insgesamt 49 bekannten ABC-Transporter wurden entsprechend ihrer Substratspezifität und ihrer Ähnlichkeit in der Genstruktur in sieben Untergruppen unterteilt, von ABC-A bis ABC-G (Sarkadi et al. 2006, Vasiliou et al. 2009). Diese wiederum sind entsprechend des Ortes ihrer Expression von A1 bis G8 unterteilt. In der Lunge wird neben den Proteinen ABC-C1 und ABC-C3 auch das in dieser Studie untersuchte Protein ABC-A3 exprimiert (Dean et al. 2001).

Die Transporterproteine regulieren die Permeabilität in Epithelien wie Blut-Hirn-Schranke, Plazenta, Nieren, Leber oder Gastrointestinal-Trakt (Vasiliou et al. 2009).

Mutationen in Genen, die die ABC-Transporterproteine kodieren, sind für eine Reihe von Krankheiten verantwortlich, wie z. B. Mukoviszidose durch Mutationen des Genes, das ABC-C7 kodiert, oder das Dubin-Johnson-Syndrom durch Mutationen des Genes ABC-C2 (Dean et al. 2001, Vasiliou et al. 2009).

Das Transporterprotein ABC-A3 ist eines von insgesamt zwölf Proteinen der Untergruppe A (ABC-A1 bis ABC-A12).

Es ist kodiert auf Chromosom 16p13.3, hat ein Molekulargewicht von 190 kDA, enthält 30 Exons und besteht aus 1704 Aminosäuren (Higgins 1992). Typisch für einen ABC-Transporter besitzt ABC-A3 zwei ähnlich strukturierte Hälften mit jeweils einer zytosolischen nukleotidbindenden Domäne (NBD), die ABC-A3 trägt, einer Transmembrandomäne (TMD) bestehend aus sechs membrandurchspannenden Regionen und einer extrazellulär gelegenen Domäne (ECD). Durch das Zusammenlagern zweier TMDs über die NBD wird die Energie aus der ATP-Hydrolyse für die aktive Translokation von Lipiden aus dem Zytosol in das Lumen intrazellulärer Kompartimente genutzt (Kaminski et al. 2006).



Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Proteinstruktur von ABC-A3: Zwei Transmembrandomänen bestehend aus extrazellulär gelegenen Domänen (ECDs) und jeweils sechs membrandurchspannenden Regionen (hellblau) sind über eine zytoplasmatisch gelegene Nukleotidbindende Domäne (NBD1) miteinander verbunden. NBD1 trägt ATP-bindende Kassette (ABC); ATP: Adenosintriphosphat; Pi: anorganisches Phosphat; modifiziert nach Albrecht und Viturro (2007)

Neben Magen, Darm, Leber, Niere und Gehirn wurde ABC-A3 in der äußeren Membran des Lamellarkörperchen in Pneumozyten Typ II lokalisiert, wo dessen Expression stattfindet (Albrecht und Viturro 2007). Es spielt eine essentielle Rolle für die Bildung von Surfactant, indem es gezielt die hierfür benötigten Lipide aus dem Zytosol zu den inneren Membranen der Lamellarkörpchen transportiert (Whitsett et al. 2010). Studien konnten belegen, dass ein Surfactantmangel mit tödlichem Ausgang auf Mutationen in dem für ABC-A3 kodierenden Gen zurückzuführen ist (Shulenin et al. 2004, Garmany et al. 2006, Cheong et al. 2007).

Neben einigen anderen Vertretern der ABC-Transporterproteine steht auch ABC-A3 im Verdacht, Eigenschaften eines *multidrug resistance proteins* (MRP) zu haben. Bei der akuten myeloischen Leukämie korreliert eine hohe Expression von ABC-A3 mit einem schlechten Ansprechen auf eine Chemotherapie. Dies wird auf einen möglichen Resistenzmechanismus von ABC-A3 gegenüber Zytostatika zurück geführt (Wulf et al. 2004, Steinbach et al. 2006).

Auch in den Progenitorzellen von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie konnte eine erhöhte Expression von ABC-A3 und eine damit verbundene Resistenz gegenüber Imatinib nachgewiesen werden (Chapuy et al. 2009).

## 1.10 Zielsetzung

Die vorliegende Studie "Expressionsverhalten von ABC-A3 in Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen – ein neoadjuvantes Therapiekonzept" untersucht die Expression von ABC-A3 als möglichen prädiktiven Marker für das Ansprechen auf eine neoadjuvante Therapie sowie für das Überleben von Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom.

Aus einem Gesamtkollektiv, welches in der Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie der Universitätsmedizin Göttingen zwischen 1996 und 2003 behandelt wurde und Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom der Stadien IIIA und IIIB beinhaltet, wurden die Patienten ausgewählt, die eine neoadjuvante Chemotherapie mit den Wirkstoffen Docetaxel und Carboplatin mit anschließender Tumorresektion und Radiotherapie erhalten hatten.

Das Kollektiv umfasst 31 Patienten, von denen archiviertes Tumormaterial vorlag und welches immunhistochemisch hinsichtlich ABC-A3 untersucht und bewertet wurde. Dieses Tumormaterial wurde sowohl zum Zeitpunkt der histologischen Tumorsicherung, also vor der neoadjuvanten Therapie, gewonnen, als auch zum Zeitpunkt der postchemotherapeutischen Tumorresektion.

In vorangegangenen Studien wurde die resistenzvermittelnde Eigenschaft von ABC-A3 auf Zytostatika beschrieben und eine Überexpression von ABC-A3 in Adeno- und Plattenepithelkarzinomen mit einem kürzeren Gesamtüberleben der Patienten beobachtet (Overbeck et al. 2013; 2017), sodass die Hypothese der vorliegenden Studie lautet:

Eine hohe Expression von ABC-A3 in Adeno- und Plattenepithelkarzinomen der Lunge korreliert mit einem geringen Ansprechen auf die Chemotherapie, gemessen im Regressionsgrad nach Junker.

Weitere Fragestellungen sind:

- Korreliert ein hoher ABC-A3 Wert mit einem kürzeren Gesamtüberleben der Patienten?
- Wie verändert sich der Status von ABC-A3 bei Patienten nach einer neoadjuvanten Therapie?
- Gibt es Korrelationen zwischen dem Expressionsverhalten von ABC-A3 und klinischen Parametern?

# 2 Material und Methoden

#### 2.1 Patientenkollektiv

#### 2.1.1 Zusammensetzung

Zwischen 1996-2003 wurden in der Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie der Universitätsmedizin Göttingen Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom der Stadien IIIA und IIIB in eine prospektive Phase-II-Studie (Name der Studie: "Taxotere®-Carboplatin Induktionstherapie mit supportiver Erythropoietin a (Erypo®) und G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor; Neupogen®) Therapie beim Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom (NSCLC) der Stadien III A und IIIB") aufgenommen. Dieses Kollektiv setzt sich aus insgesamt 66 Patienten zusammen.

Aufgrund der Ausdehnung des Tumors war eine operative Therapie zunächst nicht möglich, daher fand unmittelbar nach Tumordiagnose eine Induktionstherapie mit den Wirkstoffen Docetaxel und Carboplatin statt. Zusätzlich wurden die Patienten dreimal pro Woche mit dem Wirkstoff Epoetin alfa (Erypo®) behandelt, rekombinant hergestelltes humanes Erythropoetin, um den Abfall der roten Blutkörperchen zu verhindern und den Hb-Wert während der Tumortherapie auf einem gleichbleibenden Niveau zu halten.

Ab dem 2. Zyklus der Therapie erhielten die Patienten einen weiteren Wachstumsfaktor (G-CSF), der die Blutbildung der weißen Blutkörperchen anregt.

Die Chemotherapie beinhaltete vier Zyklen, zwischen den einzelnen Zyklen lagen 21 Tage. Nach den ersten beiden Zyklen fand ein Zwischenstaging statt, nach dem vierten Zyklus folgte das Abschlussstaging.

In direktem Anschluss an die Chemotherapie wurde der Tumor operativ entfernt und die Patienten erhielten eine postoperative Radiatio (PORT).

#### 2.1.2 Kollektiv der vorliegenden Studie

Die vorliegende Studie beinhaltet 31 der insgesamt 66 Patienten des oben genannten Kollektivs. Von den restlichen 35 Patienten lagen keine Tumormaterialien zur immunhistochemischen Untersuchung vor. Die 31 Patienten werden im Folgenden als Gesamtkollektiv bezeichnet.

Für die experimentellen Untersuchungen wurde vorhandenes Tumormaterial aus der postchemotherapeutischen Tumorresektion, welches aus dem Institut für Pathologie Göttingen, dem Institut für Pathologie und Zytologie Wiesbaden, dem Institut für Pathologie Lutherstadt Eisleben, dem Institut für Pathologie Erfurt und dem Pathologischen Institut Traunstein stammt, hinsichtlich des Proteins ABC-A3 untersucht und bewertet. Dieses Tumormaterial, das sowohl Primarius als auch LK beinhaltet, wird in der vorliegenden Studie "Tumormaterial OP" genannt.

Um eine Aussage über die Wirksamkeit des neoadjuvanten Therapiekonzeptes treffen zu können, wurde zusätzlich von den Patienten das Tumormaterial der histologischen Tumorsicherung angefordert, analysiert und bewertet. Dieses Tumormaterial stellt die Situation zu Studienbeginn, also vor der neoadjuvanten Therapie des Patienten dar und wird als "Tumormaterial Baseline" bezeichnet.

Aufgrund der abgelaufenen Aufbewahrungsfrist des Tumormaterials von zehn Jahren war es nicht möglich, von allen Patienten des Gesamtkollektivs entsprechendes Tumormaterial beider Zeitpunkte (Baseline und OP) zu erhalten, sodass folgende Tumorproben in die Analyse und Bewertung miteinbezogen wurden:

#### Tabelle 2.1: Übersicht der Tumorproben insgesamt

	Tumormaterial Baseline	Tumormaterial OP
Anzahl der Patienten	15	29

Ein direkter Vergleich des Expressionsverhaltens des Proteins ABC-A3 anhand der Tumorproben vor der neoadjuvanten Therapie (Tumormaterial Baseline) mit der Proteinexpression anhand der Tumorproben postchemotherapeutischer Tumorresektion (Tumormaterial OP) konnte insgesamt bei 13 Patienten des Gesamtkollektivs stattfinden. (vergleiche 3.3 Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie)

	Tumormaterial	Tumormaterial	Tumormaterial Baseline und OP
	nui Dasenne	nui Or	Dasenne und OP
Anzahl der Patienten	2	16	13

Aus der Studiendatenbank wurden prä-, intra- und postoperative Informationen zu den Patienten zusammengetragen.

Zu den präoperativen Informationen zählen das Alter und Geschlecht des Patienten, das Aufnahmedatum in die Studie, das Rauchverhalten, das Datum und Ergebnis der durchgeführten Mediastinoskopie, die präoperative Tumorklassifikation mit klinisch ermitteltem TNM-Stadium und dazugehörigem Staging, sowie Zeitpunkt und Ergebnisse der Chemotherapie.

Als intraoperative Ergebnisse wurden durchgeführte Operationsverfahren mit entsprechendem Tag der Operation und Name der Klinik, in der der operative Eingriff stattfand, festgehalten. Hierbei handelte es sich um die Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie der Universitätsmedizin Göttingen, das Krankenhaus Neu-Mariahilf GmbH Göttingen, die Thoraxchirurgie des Evangelischen Krankenhauses Göttingen-Weende e.V., die Klinik für Thoraxchirurgie des Agaplesion Markus Krankenhauses in Frankfurt am Main, die Thoraxchirurgie des Helios Klinikums Erfurt und die Chirurgische Abteilung des Kreiskrankenhauses Traunstein.

Ergänzt wurde die Datenbank um postoperativ pathologisch ermittelte TNM-Klassifikationen, Komplikationen, Daten über eventuell tumorbefallene Lymphknoten, gegebenenfalls aufgetretene Metastasen oder Rezidive, Todeszeitpunkt und Todesursache, sowie Angaben über den Regressionsgrad nach Junker.

Bei fehlenden Informationen wurden zusätzlich die behandelnden Hausärzte oder weiterbehandelnde Fachärzte der Patienten befragt. Als Datum der Erstdiagnose wurde das Datum der histologischen Tumorsicherung (Biopsie) gewählt. Bei drei Patienten konnte nur der Monat mit dazugehörigem Jahr ermittelt werden. Bei diesen Patienten wurde für die Berechnung der Überlebenszeit jeweils der 15. Tag des entsprechend bekannten Monats gewählt.

Folgende Abbildung 2.1 stellt die Studiendurchführung schematisch dar:



Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der Studiendurchführung. Für die vorliegende Studie wurde von 15 Patienten das Tumormaterial der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) und von 29 Patienten das Tumormaterial der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) ausgewertet und analysiert.

# 2.2 Laboruntersuchung

### 2.2.1 Prinzip der Immunhistochemie

Für die Darstellung des zu untersuchenden Proteins ABC-A3 wurde die Färbemethode der Immunhistochemie gewählt.

Hierbei wird auf das zu untersuchende Präparat ein spezifischer Antikörper gegeben, der gegen ein bestimmtes Antigen gerichtet ist. Durch immunologische Reaktionen entsteht ein Antigen-Antikörper-Komplex. Bestimmte Markermoleküle (z. B. Enzyme, fluoreszierende Farbstoffe, kolloidales Gold, Radioaktivität), die an dem Antikörper gekoppelt sind, machen das Antigen für die anschließende lichtmikroskopische Untersuchung sichtbar. Es gibt verschiedene Färbemethoden der Immunhistochemie. Während bei der direkten Methode das Markermolekül direkt mit dem primären Antikörper konjugiert ist, wird bei der indirekten Methode ein sekundärer Antikörper zwischengeschaltet, an dem das Markermolekül gekoppelt ist. Der primäre (unkonjugierte) Antikörper bindet nun das Antigen und der sekundäre (konjugierte) Antikörper den primären Antikörper. Da mehrere sekundäre Antikörper an einen primären Antikörper binden können, wird eine Signalverstärkung erzielt (siehe Abbildung 2.2). In der vorliegenden Arbeit wurde mit der indirekten Färbemethode gearbeitet.



Abbildung 2.2: Vereinfachte Darstellung der indirekten Immunhistochemie: a) Primärantikörper (pAK; hier Anti-ABC-A3) reagiert mit Antigen (Ag; hier ABC-A3). b) Sekundärantikörper (sAK; hier ZytoChem Plus AP Polymer) mit daran befindlichem Enzym (E; hier Alkalische Phosphatase) reagiert mit Primärantikörper. c) Enzym bindet Substrat (S; hier Liquid Permanend Red). d) Enzym spaltet Substrat, Enzym-Substrat-Reaktion mit rotem Farbprodukt findet statt (unter Lichtmikroskop im Cytoplasma der Zellen sichtbar).

# 2.2.2 Herstellung der Tumorgewebeschnitte

Nach Tumorresektion wurden die Gewebeschnitte in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet.

Für die Laboruntersuchungen wurden diese Schnitte mit Hilfe des Schlittenmikrotoms SM 2000 R (Leica, Wetzlar, Deutschland) in 1 µm starke Präparate geschnitten und anschließend in entionisiertem Wasser aufgefangen. Zur Streckung der Oberfläche wurden sie vorsichtig in 45 °C warmes Wasser überführt und auf einem Objektträger über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet.

# 2.2.3 Reinigung der Tumorgewebeschnitte

Mit Hilfe eines speziellen Waschpuffers, dem sogenannten TBS-Puffer (*tris-buffered saline puffer*), wurden die Tumorgewebeschnitte gereinigt (siehe auch 2.2.4). Dieser Puffer wurde wie folgt hergestellt:

Stammlösung: 10x TBS-Puffer (pH = 7,6)

121 g Tris-Puffer	in 660ml bi-destilliertem Wasser lösen, auf pH = 7,6
180 g NaCl	einstellen
	(mit pH-Meter überprüfen, ggf. mit 5N HCl, 1N HCl, 1N
	NaOH ausgleichen)
	mit bi-destilliertem Wasser auf 2000ml auffüllen

#### Tabelle 2.3: Herstellung der Stammlösung des TBS-Puffers

Gebrauchslösung: 0,05 M pH 7,6 Tris-Puffer

#### Tabelle 2.4: Herstellung der Gebrauchslösung

200 ml 10x TBS	
800 ml bi-destilliertes Wasser	miteinander vermischen
1 ml Tween 20	

#### 2.2.4 Immunhistochemische Färbung des Proteins ABC-A3

Um die zuvor hergestellten Tumorgewebeschnitte zu entparaffinieren, wurden sie zunächst drei Mal für je fünf Minuten in Xylol gebadet. Anschließend folgte die Rehydrierung der Schnitte durch das Eintauchen in eine Alkoholreihe (100 %, 100 %, 96 %, 70 %, 50 %, 30 %) sowie in entionisiertes Wasser für jeweils fünf Minuten.

Da die Epitope der Antigene durch Formalin bzw. Paraffin die Eigenschaft verlieren, vom Antikörper erkannt zu werden, fand anschließend die thermische Antigen-Demaskierung (auch Epitop-Demaskierung) statt. Hierfür wurden die Tumorschnitte mit 10 % igen Citratpuffer (pH = 6) versehen und für 40 Minuten in einem 90°C heißen Dampfgarer inkubiert. Dabei wurden die Aldehydgruppen aufgebrochen, sodass die spätere Antigen-Antikörperbindung vorangehen konnte. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Tumorschnitte im Waschpuffer auf der Schüttelplatte gewaschen. Um die Hintergrundfärbung der Schnitte möglichst gering zu halten, folgte als nächstes das Blocken der endogenen Peroxidase. Hierfür wurden die Gewebeschnitte mit einem Fettstift umrandet, wodurch ein sogenannter *magic circle* entstand, eine Barriere für nachfolgende Flüssigkeiten, sodass eine Reaktion nur innerhalb dieses *magic circles* stattfand und die Analysematerialien dadurch nicht unnötig verbraucht wurden.

Anschließend wurde je nach Größe des Objektes etwa 100-200 µl dreiprozentiges Wasserstoffperoxid auf das umrandete Gewebe gegeben und für 15 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer gelagert. Nach ausreichendem Waschen mit dem TBS-Waschpuffer wurde der Antikörper-Diluent (Dako Real <sup>TM</sup>; Hamburg; Deutschland) aufgetragen, welcher für ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur in der feuchten Kammer einwirken musste. Der Primär-Antikörper Anti-ABC-A3 der Firma Atlas Antibodies® (Bromma; Schweden) wurde nun mit dem Antikörper-Diluenten im Verhältnis 1:150 in ein Eppendorf-Gefäß gegeben und mit Hilfe des Minishakers vermischt. Nach Ablauf der Einwirkzeit des Diluenten wurden die Objektträger abgeklopft und mit dem zuvor verdünnten Primär-Antikörper versehen. Die Inkubation des Primär-Antikörpers fand in der feuchten Kammer über Nacht bei 4°C im Kühlschrank statt. Am nächsten Tag wurde der Primär-Antikörper gründlich mit dem TBS-Puffer gewaschen und die Gewebeschnitte mit jeweils einem Tropfen ZytoChem Plus AP Polymer anti-Rabbit (Zytomed Systems; Berlin; Deutschland) versehen. Die Inkubationszeit hierfür betrug 30 Minuten in der feuchten Kammer. Parallel wurde das Chromogen, hier Dako Liquid Permanent red (Dako Real <sup>TM</sup>; Hamburg; Deutschland), angesetzt und nach Ablauf der Inkubationszeit wurden jeweils 100 µl des Chromogens mittels Eppendorf-Pipette auf die Tumorpräparate appliziert.

Die nun ablaufende Enzym-Substrat-Reaktion wurde im Lichtmikroskop beobachtet und kontrolliert. Sobald eine Sättigung erreicht wurde, wurde die Reaktion in bidestilliertem H<sub>2</sub>O abgestoppt. Der richtige Zeitpunkt des Abbruchs der Reaktion beruhte auf Erfahrungswerten (ca. 5-10 Sekunden).

Im Anschluss wurden die Tumorpräparate für sieben Minuten im zuvor gewechselten bidestilliertem H<sub>2</sub>O belassen, bevor die Kernfärbung durch zweieinhalb-minütige Hämalaunfärbung stattfand. Unter fließendem, lauwarmem Leitungswasser wurden dann die Präparate differenziert und durch das fünfminütige Tauchen in Alkoholbädern mit verschiedenen Konzentrationen (96 %, 96 %, 100 %, 100 %, 100 %) dehydriert. Zum Schluss wurden die Tumorpräparate dreimal drei Minuten in Xylol gebadet und mit Entellan eingedeckt, bevor sie unter dem Mikroskop gesichtet und bewertet wurden.

# 2.3 Labormaterialien

Tabellen 2.5 bis 2.10 enthalten die Auflistung der verwendeten Laborgeräte, Chemikalien, Verbrauchsmaterialien, sowie Hard- und Software mit dazugehörigen Angaben des Herstellers.

Produkt	Hersteller
Dako Pen Fettstift	DakoCytomation (Hamburg; Deutschland)
Deckgläser	Menzel-Gläser (Braunschweig; Deutschland)
Digitalkamera Olympus Camedia C-4040 Zoom	Olympus (Hamburg; Deutschland)
Eppendorf Research Pipetten	Eppendorf (Hamburg; Deutschland)
Eppendorfer Safe-Lock Gefäße	Eppendorf (Hamburg; Deutschland)
Filterspitzen	STARLAB (Ahrensburg; Deutschland)
Klinge Mikrotome Blades	Feather (Osaka; Japan)
Kühlschrank	Bosch (Stuttgart; Deutschland)
Magnetrijhrer	Heidolph Instruments (Schwabach;
Magnetrunier	Deutschland)
Mikroskop MBL 2000	Krüss Optronic (Hamburg; Deutschland)
Mikroskop Olympus BH-2 Research	Olympus (Hamburg; Deutschland)
MultiGourmet plus Dampfgarer	BRAUN (Kronberg; Deutschland)
Minishaker MS2	IKA® (Staufen; Deutschland)
Objektträger	Menzel-Gläser (Braunschweig; Deutschland)
Pipettenspitzen	Carl Roth (Karlsruhe; Deutschland)
pH-Messgerät inoLab	WTW (Weilheim; Deutschland)
Schlittenmikrotom SM 2000R	Leica Camera AG (Sohns; Deutschland)
Waage BL 1505	Sartorius (Göttingen; Deutschland)

Tabelle 2.5: Verwendete Gerätschaften und Verbrauchsmaterialien

Produkt	Hersteller		
AK-Diluent: Antibody Diluent	Dako Real <sup>TM</sup> (Hamburg; Deutschland)		
Bi-destilliertes Wasser	Med. Labor THG-Universitätsmedizin		
	Göttingen (Göttingen; Deutschland)		
Chloralhydrat	Merck (Darmstadt; Deutschland)		
Chromogen:			
Liquid DAB + Substrate Chromogen	Dako Real <sup>TM</sup> (Hamburg: Deutschland)		
System			
<u>K3468</u>			
Chromogen:			
Liquid Permanent Red	Dako Real <sup>144</sup> (Hamburg; Deutschland)		
K0640			
Citrat-Putter	Dako Real <sup>TM</sup> (Hamburg; Deutschland)		
<u>S2031</u>			
Citronensäure	Merck (Darmstadt; Deutschland)		
Entellan	Merck (Darmstadt; Deutschland)		
Ethanol 99 %	Apotheke Universitätsmedizin Göttingen		
	(Göttingen, Deutschland)		
Hämatoxylin	Merck (Darmstadt; Deutschland)		
Ioniersiertes und entionisiertes	Med. Labor THG-Universitätsmedizin		
Leitungswasser	Göttingen (Göttingen; Deutschland)		
Kalialaun	Merck (Darmstadt; Deutschland)		
NaCl	Th. Geyer GmbH & Co. KG		
	(Renningen; Deutschland)		
Na-Jodat	Merck (Darmstadt; Deutschland)		
Novocastra NovoLink Polymer Detection	Leica Biosystems (Newcastle; Groß-		
System	Britannien)		
Tris	Carl Roth (Karlsruhe; Deutschland)		
Tween® 20	Carl Roth (Karlsruhe; Deutschland)		
Wasserstoffperoxid (3 %)	Daka Real TM (Hamburg Dautashi )		
Peroxidase-Blockung Solution	Dako Keal (Hamburg; Deutschland)		
Xylol	Carl Roth (Karlsruhe; Deutschland)		

## Tabelle 2.7: Software

Produkt	Hersteller
analySIS	Olympus (Hamburg; Deutschland)
Mircosoft® Excel® für Mac 2011	Microsoft (Redmond; USA)
SPSS für Mac, Version 24.0	IBM (Ehningen; Deutschland)
#### Tabelle 2.8: Verwendeter Primärantikörper

Primärantikörper	Hersteller
Anti-ABCA3, antibody produced in rabbit	Atlas Antibodies® (Bromma; Schweden)

#### Tabelle 2.9: Verwendeter Sekundärantikörper; Polymersystem

Sekundärantikörper	Hersteller
ZytoChem Plus AP Polymer anti-Rabbit	Zytomed Systems (Berlin; Deutschland)

# 2.4 Auswertungen

# 2.4.1 Lichtmikroskopische Auswertungen

Nachdem die Gewebeschnitte immunhistochemisch gefärbt wurden, folgte nun die Auswertung dieser von zwei unabhängigen Prüfern mittels Mikroskop (Olympus BH2 Research Mircroscope).

Die Bewertung erfolgte analog der vorangegangenen Studie von Overbeck et al. (2017) in mehreren Schritten:

Zuerst wurde mit dem 10er Objektiv des Mikroskops das Gewebeareal des Tumorpräparates mit der höchsten Expression des Proteins (ABC-A3) festgelegt. Dieses Areal besaß die höchste Intensität der Färbung und wurde mit der Digitalkamera dokumentiert (siehe 1. in Abbildung 2.3).

Anschließend wurde mit einem Kameraadapter 2,5 x ein Bild in 25-facher Vergrößerung erzeugt. Hier wurde zunächst der prozentuale Anteil der hier befindlichen vitalen Tumorzellen bestimmt. Dieser Wert floss nicht in die Auswertung ein, sondern diente den Untersuchern als Hilfsmittel, um sich auf die entsprechenden Tumorzellen zu fokussieren und ggf. vorhandene andersartige Zellen im untersuchten Areal auszublenden.

Anschließend wurde die Intensität der vitalen Tumorzellen bestimmt und ihr Anteil im definierten Gewebeareal in Prozent angegeben (siehe 2. in Abbildung 2.3; vergleiche Beispielbilder 2.4.2 - 2.4.4).

Für die Intensitäten wurden folgende Parameter definiert:

Vitale Tumorzellen mit keiner Färbung wurden der Intensität 0 (I<sub>0</sub>) zugeordnet. Die Intensität 1 (I<sub>1</sub>) beinhaltete vitale Tumorzellen mit einer schwachen Färbung und die Intensität 2 (I<sub>2</sub>) vitale Tumorzellen mit einer mittleren Färbung. Vitale Tumorzellen mit einer starken Färbung und somit einer starken Proteinexpression von ABC-A3 wurden der Intensität 3 (I<sub>3</sub>) zugeordnet.

Ein Beispiel:

In einem zuvor bestimmten Gewebeareal wurden folgende Intensitäten der darin enthaltenen vitalen Tumorzellen (Expressionsverhalten des Proteins) festgelegt:

65 % der vitalen Zellen zeigten keine Färbung, 20 % der Zellen wurden der Intensität 1 und 10 % der Intensität 2 zugeordnet. Die restlichen 5 % besaßen eine starke Färbung der Intensität 3, sodass  $I_0 = 65$  %,  $I_1 = 20$  %,  $I_2 = 10$  %,  $I_3 = 5$  % ist.

Als Maximalwert wurde die qualitativ höchste zu detektierende Proteinexpression im Präparat bezeichnet und beträgt in diesem Beispiel I<sub>3</sub>.

Sogenannte "*Hot spots"*, Areale, die eine besonders intensive Färbung aufwiesen und somit ein hohes Expressionsverhalten besaßen, wurden mit der 100-fachen Vergrößerung (mit dem 40er-Objektiv des Mikroskops und dem 2,5x Adapter der Digitalkamera) dokumentiert (siehe 3. in Abbildung 2.3).

Als unabhängige Prüfer dienten in der Studie zwei erfahrene Untersucher (T.O., R.W.B.), die zuerst jedes Präparat einzeln bewerteten und sich anschließend auf einen Konsens einigten.



Abbildung 2.3: Lichtmikroskopische Auswertung, modifiziert, Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Dr. Johanna Arnemann; Zahnärztin, Wanna (Deutschland).

Für die statistische Berechnung wurden die Ergebnisse der Maximalwerte (qualitativ höchste zu detektierende Proteinexpression) anschließend in einer Excel Tabelle entsprechend ihrer Bewertung zusammengefasst. Hierbei wurden drei Gruppen gebildet: die erste Gruppe beinhaltete Patienten mit Maximalwerten I<sub>0</sub> und I<sub>1</sub> (negativ/ schwach), die zweite Gruppe setzte sich aus den Patienten mit einem Maximalwert von I<sub>2</sub> (mittel) und die dritte Gruppe mit einem Maximalwert von I<sub>3</sub> (stark) zusammen (vergleiche Overbeck et al. 2013; 2017).

Bei einigen Patienten lagen sowohl Gewebeschnitte aus dem Primarius als auch aus den Lymphknoten vor. Für die weitere statistische Auswertung war es nötig, für jeden Patienten nur einen Gewebeschnitt in die Berechnung miteinzubeziehen, sodass in diesem Fall das Material gewählt wurde, welches den höheren Maximalwert besaß. Ein Beispiel:

Bei einem Patienten lag OP-Material sowohl aus Primarius und als auch aus Lymphknoten vor. Die Maximalwerte mit dazugehöriger quantitativer Bewertung wurden wie folgt bestimmt:

Material aus Primarius: $I_0 = 0$  %;  $I_1 = 20$  %;  $I_2 = 80$  %;  $I_3 = 0$ Material aus Lymphknoten: $I_0 = 0$  %;  $I_1 = 25$  %;  $I_2 = 45$  %;  $I_3 = 30$  %

Da die höchste ABC-A3-Expression  $I_3 = 30$  % aus dem Lymphknoten stammt, wurde dieses Material zur statistischen Bewertung benutzt.

# 2.4.2 ABC-A3 Intensität I<sub>0</sub>/ I<sub>1</sub>



Abbildung 2.4: ABC-A3 Intensität  $I_0/I_1$  Scanbild;  $\star$  gibt das Areal mit dem höchsten ABC-A3 Signal an. Dieses Areal wurde anschließend mit der 25-fachen Vergrößerung genauer untersucht und bewertet.



Abbildung 2.5: ABC-A3 Intensität  $I_0/I_1$  25-fache Vergrößerung: der prozentuale Anteil an vitalem Tumorgewebe in diesem Areal beträgt 5 %. Alle Tumorzellen (100 %) sind mit der Intensität  $I_0$  bewertet wurden.

# 2.4.3 ABC-A3 Intensität I<sub>2</sub>



Abbildung 2.6: ABC-A3 Intensität I₂ Scanbild: ★ gibt das Areal mit dem höchsten ABC-A3 Signal an. Dieses Areal wurde anschließend mit der 25-fachen Vergrößerung genauer untersucht und bewertet.



Abbildung 2.7: ABC-A3 Intensität I<sub>2</sub> 25-fache Vergrößerung: der prozentuale Anteil an vitalem Tumorgewebe in diesem Areal beträgt 75 %. Alle Tumorzellen (100 %) wurden mit der Intensität I<sub>2</sub> bewertet. N = Nekrotisches Gewebe; \* = Artefakt; AL = Atelektatisches Lungengewebe



Abbildung 2.8: ABC-A3 Intensität I<sub>2</sub> 100-fache Vergrößerung: das Zytoplasma der Tumorzellen ( $\bigstar$ ) besitzt eine mittlere Rotfärbung (I<sub>2</sub>), die Kerne sind polymorph und hyperchromatisch. AL = Atelektatisches Lungengewebe; I = Inflammationszellen; \* = Artefakt; P = Pneumozyt Typ II

# 2.4.4 ABC-A3 Intensität I<sub>3</sub>



Abbildung 2.9: ABC-A3 Intensität I₃ Scanbild: ★ gibt das Areal mit dem höchsten ABC-A3 Signal an. Dieses Areal wurde anschließend mit der 25-fachen Vergrößerung genauer untersucht und bewertet.



Abbildung 2.10: ABC-A3 Intensität I<sub>3</sub> 25-fache Vergrößerung: der prozentuale Anteil an vitalem Tumorgewebe in diesem Areal beträgt 95 %. 85 % der Tumorzellen wurden mit der Intensität I<sub>2</sub> bewertet, 15 % der Tumorzellen wurden mit der Intensität I<sub>3</sub> bewertet. N = Nekrotisches Gewebe; BG = Bindegewebe



Abbildung 2.11: ABC-A3 Intensität I<sub>3</sub> 100-fache Vergrößerung: das Zytoplasma der Tumorzellen besitzt eine mittlere (I<sub>2</sub>) und starke (I<sub>3</sub>) Rotfärbung, die Kerne sind polymorph und hyperchromatisch; P = Pneumozyten Typ II

#### 2.4.5 Positiv-Index

Um neben der qualitativ höchsten zu detektierenden ABC-A3-Expression im Präparat (Maximalwerte), auch quantitative Ergebnisse darzustellen, wurde der Positiv-Index erhoben. Die Berechnung erfolgte auch hier analog der Studie Overbeck et al. (2017). Um negative und schwache Ergebnisse auszuschließen, wurden sowohl die Tumorproben mit einer Intensität von  $I_0$  als auch von  $I_1$  mit Null multipliziert. Der prozentuale Anteil der Zellen, die mit  $I_2$  bewertet wurde, wurde mit dem Faktor 2 multipliziert, der prozentuale Anteil der Zellen, die mit  $I_3$  bewertet wurde mit dem Faktor 3, sodass mittlere und starke Intensitäten noch stärker zur Geltung kamen.

Die Berechnung des Positiv-Index lässt sich mit folgender Gleichung darstellen:

Positiv-Index =  $0 \ge 0 \le (\% \ \text{Zellen I}_0) + 0 \ge (\% \ \text{Zellen I}_1) + 2 \ge (\% \ \text{Zellen I}_2) + 3 \ge (\% \ \text{Zellen I}_3)$ =  $2 \ge (\% \ \text{Zellen I}_2) + 3 \ge (\% \ \text{Zellen I}_3)$ 

Als Ergebnis des Positiv-Indexes kamen Werte zwischen 0 und 300 in Frage.

# 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der deskriptiven Statistik der Patientendaten und der Ergebnisse der Laboruntersuchungen erfolgte mittels SPSS Statistics Version 24 für Mac von IBM.

# 2.5.1 Überlebenskurve nach Kaplan-Meier

Mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven wurde die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten berechnet. Als Überlebenszeit wurde der Zeitraum vom Datum der histologischen Tumorsicherung bis zum letzten Gesamtdatum (*overall survival*) bestimmt und in Monaten angegeben.

Die vorhandenen Tumormaterialien aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) und aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) wurden entsprechend ihrer Maximalwerte (zur Darstellung der qualitativen ABC-A3-Expression) und Positiv-Indizes (zur Darstellung des qualitativen und quantitativen Expressionsverhaltens von ABC-A3) mit der Überlebenszeit des Patienten verglichen. Hierbei wurden die Positiv-Indizes zuvor in zwei Gruppen unterteilt: die erste Gruppe enthielt Werte von 0-100 und die zweite Gruppe Werte von 101-300. Zum statistischen Vergleich beider Gruppen wurde der LogRank-Test angewendet. Als statistisch signifikante Relevanz wurde ein p-Wert < 0,05 festgelegt.

Um einen möglichen Unterschied bezüglich der Überlebenszeit der Patienten des Gesamtkollektivs mit und ohne diagnostiziertes Rezidiv festzustellen, wurde zusätzlich die Überlebenszeit vom Datum der histologischen Tumorsicherung bis zum Datum der Tumorprogression bzw. Tod (PFS, *progression-free-survival*) bestimmt und mit dem Expressionsverhalten von ABC-A3 verglichen. Auch hier wurde ein p-Wert < 0,05 als statistisch signifikant festgelegt.

### 2.5.2 Rangkorrelation nach Spearman

Um Zusammenhänge zwischen dem Expressionsverhalten des Proteins ABC-A3 (dargestellt im Maximalwert und dem Positiv-Index) und Parametern aus der Datenbank zu definieren, wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r_s$  gebildet. Als positiver Zusammenhang wurden Werte  $r_s > 0$  angenommen, bei Werten  $r_s < 0$  wurde ein negativer Zusammenhang ermittelt. Als Parameter wurden das Geschlecht, das Alter bei Erstdiagnose, die Histologie, der Differenzierungsgrad, der Raucherstatus, die Anzahl der *pack years*, der Nodalstatus, sowie der Regressionsgrad nach Junker gewählt.

# 2.5.3 McNemar-Test

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der quantitativen Expression von ABC-A3 (dargestellt im Positiv-Index) zum Zeitpunkt der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) und der quantitativen Proteinexpression zum Zeitpunkt der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) darzustellen, wurde der McNemar-Test angewendet. Dies ist ein nicht parametrischer Test für verbundene Stichproben (hier: ein Vorher-Nachher-Vergleich im Rahmen einer neoadjuvanten Chemotherapie), um zu vergleichen, ob sich die Häufigkeiten in zwei Stichproben signifikant voneinander unterscheiden.

Als Ausgangspunkt diente hierbei eine 2 x 2 Kontingenztafel (Kreuztabelle), die zwei Merkmale (hier: Gruppe 1 = Positiv-Index 0-100, Gruppe 2 = Positiv-Index 101-300) hinsichtlich ihrer Häufigkeitsverteilung überprüft.

Die Ergebnisse wurden anschließend mit dem McNemar-Test auf einen möglichen Zusammenhang analysiert. Mit Hilfe des p-Wertes (*probability value*) wurde überprüft, ob die Nullhypothese (kein statistischer Zusammenhang, die Merkmale sind unabhängig voneinander) vorliegt oder diese verworfen werden kann. Ein p-Wert < 0,05 wurde als statistisch signifikante Relevanz angenommen.

# 3 Ergebnisse

# 3.1 Gesamtkollektiv (n = 31)

### 3.1.1 Epidemiologie

31 Patienten (Median 60,7 Jahre) wurden mit Diagnose eines Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms im Stadium IIIA und IIIB in die Analyse aufgenommen.

Das männliche Geschlecht lag mit 18 Patienten (58,1 %) vor dem weiblichen Geschlecht mit 13 Patienten (41,9 %).

Das Plattenepithelkarzinom wurde mit 67,7 % (n =21) deutlich häufiger diagnostiziert als das Adenokarzinom mit 32,3 % (n = 10).

Dem Tumorstadium IIIA wurden 11 Patienten (35,5 %) zugeordnet, bei 20 Patienten (64,5 %) wurde das Stadium IIIB diagnostiziert.

Die folgenden Tabellen 3.1 und 3.2. zeigen die Verteilung des Gesamtkollektiv auf die UICC Stadien IIIA und IIIB (nach UICC 6) sowie die aktuelle Stadieneinteilung nach UICC 8, jeweils zum Zeitpunkt der histologischen Tumorsicherung (cTNM) und chirurgischen Tumorresektion (ypTNM).

UICC 6	cTNM	Patienten		UICC8	Änderung	
		n = 31			UICC6 $\rightarrow$ UICC 8	
IIIA	cT1 N2 M0	1		IIIA		
	cT2 N2 M0	7	- 11	IIIA	IIIA $\rightarrow$ IIIA: n = 10	
	cT3 N1 M0	2	n – 11	IIIA		
	cT3 N2 M0	1		IIIB	IIIA $\rightarrow$ IIIB: n = 1	
IIIB	cT4 N0 M0	2		IIIA		
	cT4 N1 M0	1		IIIA	$IIIB \rightarrow IIIA: n = 3$	
	cT4 N2 M0	4		IIIB		
	cT1 N3 M0	1	n = 20	IIIB	IIIB $\rightarrow$ IIIB: n = 10	
	cT2 N3 M0	5		IIIB		
	cT3 N3 M0	2		IIIC		
	cT4 N3 M0	5		IIIC	$IIIB \rightarrow IIIC: n = 7$	
					4	

Tabelle 3.1: cTNM für Gesamtkollektiv

Verteilung des Gesamtkollektivs auf Stadium IIIA und IIIB nach UICC6 zum Zeitpunkt der histologischen Tumorsicherung (cTNM); zum Vergleich wurde das Gesamtkollektiv der aktuellen Stadieneinteilung nach UICC 8 angepasst.

UICC 6	ypTNM	Patienten		UICC 8	Änderung
		n = 31			UICC $6 \rightarrow \text{UICC8}$
0	ypTis N0 M0	2		0	$0 \rightarrow 0$ : $n = 2$
IB	урТ2 N0 M0	5		IB	$IB \rightarrow IB: n = 5$
IIA	ypT1 N1 M0	1		IIB	IIA $\rightarrow$ IIB: $n = 1$
IIB	урТ2 N1 M0	3		IIB	IIB $\rightarrow$ IIB: $n = 3$
IIIA	ypT2 N2 M0	4		IIIA	$IIIA \rightarrow IIIA = 5$
	ypT3 N1 M0	1	n = 8	IIIA	$111A \rightarrow 111A: n = 5$
	ypT3 N2 M0	3		IIIB	IIIA $\rightarrow$ IIIB: n = 3
IIIB	ypT4 N0 M0	2		IIIA	$IIID \rightarrow IIIA, a = 4$
	ypT4 N1 M0	2		IIIA	$111D \rightarrow 111A; n = 4$
	урТ4 N2 M0	1	IIIB IIIB		$IIID \rightarrow IIID, = 4$
	ypT2 N3 M0	3	11 - 12	IIIB	$111D \rightarrow 111D: n - 4$
	урТ3 N3 M0	2		IIIC	
	ypT4 N3 M0	2		IIIC	$\lim B \to \lim C: n = 4$

Tabelle 3.2: ypTNM für Gesamtkollektiv

Verteilung des Gesamtkollektivs auf Stadium IIIA und IIIB nach UICC6 zum Zeitpunkt chirurgischen Tumorresektion (ypTNM); zum Vergleich wurde das Gesamtkollektiv der aktuellen Stadieneinteilung nach UICC 8 angepasst

# 3.1.2 Chirurgische Therapie

Als chirurgischer Eingriff wurde bei 17 Patienten (54,8 %) eine Lobektomie vorgenommen, während 14 Patienten (45,2 %) eine Pneumonektomie erhielten.

Nach erfolgter OP zeigten 19 Patienten (61,3 %) einen Differenzierungsgrad G2, die restlichen zwölf Patienten (38,7 %) G3.

# 3.1.3 Raucherstatus

26 Patienten (83,9 %) waren aktive oder ehemalige Raucher. Die Gruppe der Nichtraucher besteht aus vier Patienten (12,9 %) und ein Patient (3,2 %) konnte aufgrund fehlender Informationen keinem Raucherstatus zugeordnet werden.

Die Anzahl der Zigaretten in *pack years* (py) ergab eine Spannweite von 2-98 Jahren, der Median lag bei 38 Packungsjahren.



Abbildung 3.1: Säulendiagramm zur Darstellung der Anzahl der *pack years* der Patienten 1-31; \*: bei Patient 27 liegen keine Informationen vor, s. a. Patientendaten Anhang

### 3.1.4 Regressionsgrad nach Junker

Die Bestimmung des Regressionsgrades nach Junker ergab folgende Ergebnisse: Bei drei Patienten (9,6 %) wurden ein Regressionsgrad I (keine oder nur sehr geringe, vorwiegend spontane Tumorregression) diagnostiziert. Zehn Patienten (32,2 %) besaßen einen Regressionsgrad IIa (morphologische Zeichen der therapieinduzierten Tumorregression mit mehr als 10 % vitalem Tumorgewebe) und zwölf Patienten (38,7 %) einen Regressionsgrad IIb (morphologische Zeichen der therapieinduzierten Tumorregression mit weniger als 10 % vitalem Tumorgewebe). Einen Regressionsgrad III (komplette Tumorregression ohne Nachweis vitalen Tumorgewebes) zeigte sich bei fünf Patienten (16,1 %) und für einen Patienten (3,2 %) konnte keine Information über den Tumorregressionsgrad nach Junker ermittelt werden.

Die als Non-Responder zusammengefasste Gruppe (Regressionsgrad I und Regressionsgrad IIa) beinhaltet zwölf Patienten (38,7 %) und die Gruppe Responder (Regressionsgrad IIb und Regressionsgrad III) besteht aus 18 Patienten (58,1 %).

In Tabelle 3.3. sind die Ergebnisse der Bestimmung des Regressionsgrades nach Junker dargestellt.

Regressionsgrad	n = 31	Patienten in %	
Ι	3	9,7	1
IIa	10	32,3	J Non-Responder: 13 Patienten (41,9 %)
IIb	12	38,7	3
III	5	16,1	J Responder: 17 Patienten (54,8 %)
Unbekannt	1	3,2	

Tabelle 3.3: Bestimmung des Regressionsgrades nach Junker

### 3.1.5 Überlebenszeit für Gesamtkollektiv

Mit der Kaplan-Meier-Überlebenskurve wurde die Überlebenszeit (*overall survival*) des Gesamtkollektivs dargestellt. Zur Berechnung wurde der Zeitraum vom Datum der histologischen Tumorsicherung bis zum letzten Gesamtdatum angenommen. Das letzte Gesamtdatum entsprach bei 27 Patienten dem Todestag, vier Patienten waren zum aktuellen Stand der Studie laut Informationen ihres Hausarztes als lebend registriert.

Die Überlebenszeit der Patienten reichte von 6,0 bis 155,3 Monaten, der Medianwert wurde mit 31,4 Monaten berechnet. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug 23,1 % (siehe Abbildung 3.2; vergleiche Tabelle A1-A2 im Anhang).



Abbildung 3.2: Überlebenskurve in Monaten für Gesamtkollektiv (n = 31)

# 3.1.6 Überlebenszeit anhand Tumorentitäten

Zusätzlich wurde die Überlebenszeit des Gesamtkollektivs getrennt nach der Histologie (Plattenepithelkarzinom versus Adenokarzinom) berechnet.

Bei den zehn Patienten mit der Diagnose Adenokarzinom zeigte sich eine Überlebenszeit von 18,8 bis 89,2 Monaten, der Medianwert betrug hier 49,7 Monate und die 5-Jahres-Überlebensrate 23,3 %, wobei zum Zeitpunkt der Studienauswertung ein Patient noch am Leben war.

Für das Plattenepithelkarzinom (21 Patienten) reichte die Überlebenszeit von 6,0 bis 155,3 Monaten, die mediane Überlebenszeit betrug 22,7 Monate und die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei 22,9 %, wobei zum Zeitpunkt der Studienauswertung noch drei Patienten am Leben waren. Die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeiten der beiden Gruppen (Adenokarzinom vs. Plattenepithelkarzinom) ergab mit einem p-Wert von 0,494 keinen statistisch relevanten Unterschied (siehe Abbildung 3.3; vergleiche Tabelle A3-A5 im Anhang).



Abbildung 3.3: Überlebenskurve in Monaten nach Tumorentitäten getrennt; Adenokarzinom (AC; *adenocarcinoma*; n = 10) vs. Plattenepithelkarzinom (SCC; *squamous cell carcinoma*; n = 21)

### 3.1.7 Überlebenszeit Rezidiv

Bei zwölf Patienten des Gesamtkollektivs wurde ein Rezidiv diagnostiziert. Ihre Gesamtüberlebenszeit (*overall survival*) reichte von 9,3 bis 135,4 Monaten. Der Medianwert lag bei 31,4 Monaten und die 5-Jahres-Überlebenrate hatte einen Wert von 31,4 %. Der LogRank-Test zum Vergleich der Gesamtüberlebenszeit der Patienten mit und ohne diagnostiziertes Rezidiv ergab kein statistisch relevantes Ergebnis (p = 0,877), es wurde somit kein Unterschied in den Überlebenswahrscheinlichkeiten dieser beiden Gruppen ermittelt.

Zusätzlich zur Gesamtüberlebenszeit wurde die Zeit bei diesen Patienten von der histologischen Tumorsicherung bis zur Tumorprogression (PFS; progressionsfreies Survival) oder bis zum Tod berechnet. Diese lag zwischen 8,1 und 112,6 Monaten, der Medianwert betrug 26,1 Monate.

Die 5-Jahres-Überlebensrate der Patienten mit diagnostiziertem Rezidiv wurde mit 20,8 % berechnet. Mit einem p-Wert von 0,898 wurde kein Unterschied in den Überlebenswahrscheinlichkeiten der beiden Gruppen (mit Rezidiv vs. ohne Rezidiv) bezogen auf die Zeit bis zur Tumorprogression ermittelt (siehe Abbildung 3.4; vergleiche Tabelle A6-A8 im Anhang).



Abbildung 3.4: Vergleich des Progressionsfreien Überlebens (PFS) in Monaten der Patienten mit (n = 12) und ohne (n = 19) Rezidiv

# 3.2 Auswertung Laboruntersuchung

Wie in Kapitel 2.2.4. beschrieben, wurden die Tumorgewebeschnitte im Labor nach dem Prinzip der Immunhistochemie gefärbt und unabhängig bewertet (Maximalwerte, Positiv-Indizes, vergleiche Tabelle A9, A10, A17 im Anhang). Zum Zeitpunkt der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) wurden von 15 Patienten die Tumorproben und Lymphknoten untersucht und ausgewertet, zum Zeitpunkt der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) stand das Material von 29 Patienten zur Verfügung.

Anhand der Ergebnisse fand anschließend eine Überlebenszeitanalyse nach Kaplan-Meier statt.

### 3.2.1 Maximalwerte

Die Auswertung des qualitativen Expressionsverhalten von ABC-A3, dargestellt in den Maximalwerten, ergab folgendes Ergebnis:

Insgesamt wurden 15 Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) analysiert. Vier Patienten (26,7 %) wurden mit einem negativen ( $I_0$ ) oder schwach positiven ( $I_1$ ) Maximalwert bewertet. Bei allen vier Patienten wurde ein Plattenepithelkarzinom diagnostiziert.

Die restlichen elf Patienten (73,3 %) besaßen einen mittleren (I<sub>2</sub>) oder starken (I<sub>3</sub>) Maximalwert. Hiervon waren drei Patienten (20,0 %) an einem Adenokarzinom erkrankt, die restlichen acht Patienten (53,3 %) an einem Plattenepithelkarzinom.

Aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) standen insgesamt 29 Tumorproben bzw. Lymphnoten zur Analyse zur Verfügung. Mit einem negativen ( $I_0$ ) oder schwach positiven ( $I_1$ ) Maximalwert wurden die Tumorproben bzw. Lymphknoten von fünf (17,2 %) Patienten bewertet. Hiervon wurde bei zwei Patienten (6,9 %) ein Adenokarzinom diagnostiziert, während die restlichen drei Patienten (10,3 %) an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt waren.

Bei den restlichen 24 Patienten (82,8 %) wurden die Tumorproben bzw. Lymphknoten mit einem mittleren ( $I_2$ ) oder starken ( $I_3$ ) Maximalwert bewertet. Acht dieser Patienten (27,6 %) waren an einem Adenokarzinom erkrankt und 16 Patienten (55,1 %) an einem Plattenepithelkarzinom.

Tabelle 3.4 fasst die Ergebnisse der Auswertung der Maximalwerte zusammen(vergleiche Tabelle A9- A10 im Anhang).

	ABC-A3 Maximalwerte									
	Ti	umormate	rial Baselii	ne	Tumormaterial OP					
	$I_0$ /	′ I <sub>1</sub>	$I_2 / I_3$		$I_0 / I_1$		$I_2/I_3$			
	absolut	relativ	absolut	relativ	absolut	relativ	absolut	relativ		
Gesamt	4	26,7 %	11	73,3 %	5	17,2 %	24	82,8 %		
AC	0	0 %	3	20,0 %	2	6,9 %	8	27,6 %		
SCC	4	26,7 %	8	53,3 %	3	10,3 %	16	55,1 %		

Tabelle 3.4: Auswertung der Maximalwerte

 $I_0$  = negativer Maximalwert;  $I_1$  = schwach positiver Maximalwert;  $I_3$  = mittlerer Maximalwert;  $I_4$  = starker Maximalwert; AC = adenocarcinoma; SCC = squamous cell carcinoma



3.2.1.1 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus Baseline (n = 15)

Abbildung 3.5: Überlebenskurve anhand ABC-A3 Maximalwerte (Tumormaterial Baseline); Vergleich der Gruppen  $I_0/I_1$  vs.  $I_2/I_3$ 

Bei 15 Patienten lagen Tumorpräparate bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) zur Analyse des qualitativen Expressionsverhaltens von ABC-A3 (dargestellt im Maximalwert) vor. Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Maximalwert von  $I_0/I_1$  (n = 4) reichte von 31,4 bis 155,3 Monaten, die mittlere Überlebenszeit betrug 93,3 Monate und die 5-Jahres-Überlebensrate entsprach einem Wert von 50,0 %.

Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Maximalwert von  $I_2/I_3$  (n = 1) reichte von 8,1 bis 149,2 Monaten, die mittlere Überlebenszeit lag bei 55,6 Monaten und die 5-Jahres-Überlebensrate betrug 27,3 %.

Die Überlebenswahrscheinlichkeiten der beiden Gruppen (Maximalwert  $I_0/I_1$  vs.  $I_2/I_3$ ) ergaben mit einem p-Wert von 0,360 keinen statistisch signifikanten Unterschied (vergleiche Tabelle A11-A13 im Anhang).



3.2.1.2 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus OP (n = 29)

Abbildung 3.6: Überlebenskurve anhand ABC-A3 Maximalwerte (OP); Vergleich der Gruppen I<sub>0</sub>/I<sub>1</sub> vs. I<sub>2</sub>/I<sub>3</sub>

Bei 29 Patienten lagen Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) zur Analyse des qualitativen ABC-A3-Expressionsverhaltens (dargestellt im Maximalwert) vor.

Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Maximalwert  $I_0/I_1$  (n = 5) reichte von 23,2 bis 135,4 Monaten, die mittlere Überlebenszeit betrug 62,8 Monate und die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei 40,0 %.

Die Überlebenszeit der Patienten mit Maximalwert  $I_2/I_3$  (n = 24) reichte von 6,0 bis 155,3 Monaten, die mittlere Überlebenszeit lag bei 37,1 Monaten. Hier wurde eine 5-Jahres-Überlebensrate von 11,1 % bestimmt.

Die Überlebenswahrscheinlichkeiten der beiden Gruppen (Maximalwert  $I_0/I_1$  vs.  $I_2/I_3$ ) ergab mit einem p-Wert von 0,302 keinen statistisch signifikanten Unterschied (vergleiche Tabelle A14-A16 im Anhang).

### 3.2.2 Positiv-Index

Die Auswertung des quantitativen und qualitativen Expressionsverhaltens von ABC-A3, dargestellt im Positiv-Index (vergleiche 2.4.3) ergab folgende Ergebnisse:

Insgesamt wurden 15 Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) analysiert und bewertet. Bei sechs Patienten (40,0 %) wurde ein Positiv-Index  $\leq 100$  (0-100) berechnet. Alle sechs Patienten (40,0 %) waren an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt.

Die restlichen neun Patienten (60,0 %) besaßen einen Positiv-Index von > 100 (101-300). Hiervon waren drei Patienten (20,0 %) an einem Adenokarzinom erkrankt und die restlichen sechs Patienten (40,0 %) an einem Plattenepithelkarzinom.

Für die Berechnung des Positiv-Index der Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) standen insgesamt 29 Tumorproben zur Verfügung. 14 Patienten (48,3 %) hatten einen Positiv-Index  $\leq 100$  (0-100), bei fünf dieser Patienten (17,2 %) wurde ein Adenokarzinom diagnostiziert, bei neun Patienten (31,0 %) ein Platteneptihelkarzinom.

15 Patienten (51,7 %) hatten eine Positiv-Index von > 100 (101-300), von denen waren fünf Patienten (17,2 %) an einem Adenokarzinom erkrankt und die restlichen 10 Patienten (34,5 %) an einem Plattenepithelkarzinom.

Tabelle 3.5 fasst die Ergebnisse der Positiv-Indizes zusammen (vergleiche Tabelle A17 im Anhang).

	ABC-A3 Positiv-Index									
	T	umormate	rial Baseli	ne		Tumorma	aterial OP			
	$\leq 1$	100	> 100		$\leq 100$		> 100			
	absolut	relativ	absolut	relativ	absolut	relativ	absolut	relativ		
Gesamt	6	40,0 %	9	60,0 %	14	48,3 %	15	51,7 %		
AC	0	0 %	3	20,0 %	5	17,2 %	5	17,2 %		
SCC	6	40,0 %	6	40,0 %	9	31,0 %	10	34,5 %		

Tabelle 3.5: Auswertung der Positiv-Indizes

AC = Adenocarcinoma; SCC = squamous cell carcinoma



3.2.2.1 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus Baseline (n = 15)

Abbildung 3.7: Überlebenskurve anhand ABC-A3 PI(Tumormaterial Baseline); Vergleich der Gruppen PI ≤ 100 vs. > 100

Bei 15 Patienten lagen Tumorpräparate bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) zur Analyse des quantitativen und qualitativen Expressionsverhalten (dargestellt im Positiv-Index) vor. Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Positiv-Index  $\leq 100$  (n = 6) reichte von 9,3 bis 155,4 Monaten, die mittlere Überlebenszeit betrug 67,4 Monate und die 5-Jahres-Überlebensrate entsprach einem Wert von 33,3 %.

Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Positiv-Index > 100 (n = 9) reichte von 8,1 bis 149,2 Monaten, die mittlere Überlebenszeit lag bei 64,5 Monaten und die 5-Jahres-Überlebensrate betrug 33,3 %.

Die Überlebenswahrscheinlichkeiten der beiden Gruppen ( $PI \le 100$  vs. P > 100) ergaben mit einem p-Wert von 0,990 keinen statistisch signifikanten Unterschied (vergleiche Tabelle A18-A20 im Anhang).



3.2.2.2 Überlebenszeit anhand Tumorproben aus OP (n = 29)

Abbildung 3.8: Überlebenskurve anhand ABC-A3 PI (OP); Vergleich der Gruppen PI  $\leq 100$  vs. > 100

Bei 29 Patienten lagen Tumorproben aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) zur Analyse des quantitativen und qualitativen Expressionsverhaltens von ABC-A3 (dargestellt im Positiv-Index) vor.

Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Positiv-Index von 0-100 (n = 14) reichte von 6,0 bis 135,4 Monaten, die mittlere Überlebenszeit betrug 38,5 Monate und die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei 14,3 %.

Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Positiv-Index von 101-300 (n = 15) reichte von 9,3 bis 155,3 Monaten, die mittlere Überlebenszeit lag bei 45,4 Monaten. Hier wurde eine 5-Jahres-Überlebensrate von 20,0 % bestimmt.

Die Überlebenswahrscheinlichkeiten der beiden Gruppen (PI 0-100 vs. PI 101-300) ergab mit einem p-Wert von 0,564 keinen statistisch signifikanten Unterschied (vergleiche Tabelle A21-A23 im Anhang).

In Tabelle 3.6 sind die wichtigsten Ergebnisse für das Gesamtkollektiv (n = 31) dargestellt.

### Tabelle3.6: Zusammenfassung Ergebnisse Gesamtkollektiv

Patient	Histologie	cTNM	ypTNM	Tumor- stadium nach UICC 6	Tumor- stadium nach UICC 8	Rezidiv	overall survival in Monaten	ABC-A3 PI Tumorprobe Baseline	ABC-A3 PI Tumorprobe OP	Regressionsgrad nach Junker
1	SCC	cT4N1M0	ypT2pN0M0	IIIB	IIIA	Ja	135,4	$\leq 100$	$\leq 100$	III
2	SCC	cT2N3M0	ypT3pN3M0	IIIB	IIIB	Nein	23,2	kein Material	0	IIa
3	AC	cT2N2M0	ypT2pN3M0	IIIA	IIIA	Nein	18,8	kein Material	> 100	IIa
4	SCC	cT3N3M0	ypT3pN2M0	IIIB	IIIC	Ja	31,4	$\leq 100$	> 100	IIb
5	SCC	cT4N0Mx	ypT4pN0M0	IIIB	IIIA	Nein	6,0	kein Material	$\leq 100$	IIa
6	AC	cT2N2M0	ypT2pN3M0	IIIA	IIIA	Ja	30,7	kein Material	$\leq 100$	IIa
7	SCC	cT4N2Mx	ypT3pN3M0	IIIB	IIIB	Nein	149,2	> 100	kein Material	III
8	AC	cT2N2M0	ypT2pN0M0	IIIA	IIIA	Ja	89,2	kein Material	0	IIb
9	SCC	cT1N2Mx	ypT3pN1M0	IIIA	IIIA	Nein	36,3	> 100	> 100	IIb
10	SCC	cT2N3M0	ypT2pN1M0	IIIB	IIIB	Ja	9,3	$\leq 100$	> 100	Ι
11	SCC	cT4N0M0	ypT4pN1M0	IIIB	IIIA	Nein	31,7	kein Material	> 100	IIb
12	SCC	cT2N2M0	ypT2pN2M0	IIIA	IIIA	Ja	22,4	kein Material	$\leq 100$	IIa
13	AC	cT2N2Mx	ypT2pN2M0	IIIA	IIIA	Nein	59,0	> 100	$\leq 100$	III
14	SCC	cT2N3M0	ypT0pN0M0	IIIB	IIIB	Nein	155,3	$\leq 100$	> 100	III
15	SCC	cT3N1M0	ypT3pN2M0	IIIA	IIIA	Nein	108,2	< 100	kein Material	IIb
16	AC	cT2N3M0	ypT2pN1M0	IIIB	IIIB	Ja	70,1	kein Material	> 100	IIb
17	SCC	cT2N2M0	ypT2pN0M0	IIIA	IIIA	Nein	11,7	> 100	> 100	Ι
18	AC	cT2N2M0	ypT2pN1M0	IIIA	IIIA	Ja	36,3	> 100	> 100	IIb
19	AC	cT4N3M0	ypT4pN3M0	IIIB	IIIC	Nein	49,7	> 100	> 100	IIb

Patient	Histologie	cTNM	ypTNM	Tumor- stadium nach UICC 6	Tumor- stadium nach UICC 8	Rezidiv	overall survival in Monaten	ABC-A3 PI Tumorprobe Baseline	ABC-A3 PI Tumorprobe OP	Regressionsgrad nach Junker
20	SCC	cT4N3M0	ypT4pN1M1 (Zeitpunkt OP)	IIIB	IIIC	Nein	11,3	> 100	≤ 100	IIa
21	SCC	cT4N3M0	ypT4pN2M0	IIIB	IIIC	Ja	18,2	kein Material	> 100	IIa
22	SCC	cT4N2M0	ypT2pN0M0	IIIB	IIIB	Ja	51,2	$\leq 100$	> 100	IIb
23	AC	cT3N2M0	ypT2pN2M0	IIIA	IIIB	Ja	36,3	kein Material	$\leq 100$	Ι
24	SCC	cT4N2M0	ypT4pN0M0	IIIB	IIIB	Nein	13,1	kein Material	$\leq 100$	IIa
25	SCC	cT4N2M0	ypT4pN3M0	IIIB	IIIB	Nein	14,8	kein Material	> 100	IIa
26	SCC	cT1N3M0	ypT1pN1M0	IIIB	IIIB	Ja	30,0	kein Material	$\leq 100$	IIb
27	SCC	cT3N1M0	ypT2pN0M0	IIIA	IIIA	Nein	21,9	≤ 100	≤ 100	Fehlende Information
28	AC	cT2N3M0	ypT2pN3M0	IIIB	IIIB	Nein	52,2	kein Material	$\leq 100$	IIb
29	AC	cT4N3Mx	ypT2pN2M0	IIIB	IIIC	Nein	34,1	kein Material	> 100	IIb
30	SCC	cT3N3M0	ypT3pN2M0	IIIB	IIIC	Nein	22,7	kein Material	> 100	IIa
31	SCC	cT4N3M0	ypT0pN0M0	IIIB	IIIC	Nein	8,1	> 100	≤ 100	III

SCC = squamous cell carcinoma; AC = adenocarcinoma; Regressionsgrad nach Junker: I = keine od. nur geringe, im allg. spontane Tumorregression, IIa = unvollständige Tumorregression mit mehr als 10 % und IIb = mit weniger als 10 % vitalem Tumorgewebe; III = komplette Tumorregression

### 3.3 Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie (n = 13)

Bei 13 Patienten des Kollektivs waren sowohl Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) als auch Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) vorhanden, sodass hier ein direkter Vergleich zwischen dem Expressionsverhalten von ABC-A3 (dargestellt im Positiv-Index) zu den unterschiedlichen Zeitpunkten und somit vor und nach der neoadjuvanten Therapie stattfinden konnte.

# 3.3.1 Überlebenszeit

Die Überlebenszeit der 13 Patienten, von denen sowohl Tumorproben vor (prä) als auch nach (post) neoadjuvanter Therapie zur Analyse zur Verfügung stand, reichte von 8,1 bis 155,3 Monaten, der Median lag bei 36,0 Monaten, die 5-Jahres-Überlebensrate betrug 21,5 % (vergleiche Tabelle A24-A25 im Anhang).

Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit den Ergebnissen der Berechnung der Überlebenszeit für das Gesamtkollektiv (n = 31), welches eine mediane Gesamtüberlebenszeit von 31,4 Monaten und eine 5-Jahres-Überlebensrate von 23,1 % zeigt (vergleiche 3.2.1).



Abbildung 3.9: Überlebenskurve in Monaten des Kollektivs Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie (n = 13)

#### 3.3.2 Regressionsgrad nach Junker

Beim histomorphologischen Regressionsgrad nach Junker wurde bei zwei Patienten (15,4 %) der Regressionsgrad I (keine bzw. sehr geringe, vorwiegend spontane Tumorregression) ermittelt. Bei einem Patienten (7,7 %) wurde der Regressionsgrad IIa (morphologische Zeichen der therapieinduzierten Tumorregression mit mehr als 10 % vitalem Tumorgewebe) bestimmt und bei fünf Patienten (38,5 %) der Regressionsgrad IIb (morphologische Zeichen der therapieinduzierten Tumorregression mit weniger als 10 % vitalem Tumorgewebe. Einen Regressionsgrad III (vollständige Tumorregression ohne Nachweis vitalen Tumorgewebes) besaßen vier Patienten (30,8 %) und bei einem Patienten (7,7 %) fehlten die Informationen über den Regressionsgrad nach Junker.

Im Vergleich zum Gesamtkollektiv (n = 31), in dem die Gruppe der Responder (Regressionsgrad IIb und Regressionsgrad III) mit 54,8 % (17 Patienten) eine ähnliche Größe wie die Gruppe der Nonresponder (Regressionsgrad I und Regressionsgrad IIa) mit 41,9 % (13 Patienten) besitzt, liegt die Gruppe der Responder in der hier dargestellten Stichprobe mit neun Patienten (69,2 %) deutlich vor der Gruppe der Non-Responder, die aus drei Patienten (23,1 %) besteht (vergleiche 3.1.4).

Die mediane Überlebenszeit der Gruppe der Responder reichte für die hier untersuchte Stichprobe (n = 13) von 8,1 bis 155,3 Monaten, der Median lag bei 51,2 Monaten. Für die Gruppe der Non-Responder reichte die mediane Überlebenszeit von 9,3 bis 11,6 Monaten, der Median lag bei 11,3 Monaten (vergleiche Tabelle A26-28 im Anhang).

Im statistischen Vergleich besaß die Gruppe der Responder ein statistisch signifikant längeres medianes Überleben als die Gruppe der Non-Responder (p-Wert = 0,007).

### 3.3.3 McNemar-Test

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Expressionsprofil von ABC-A3 vor durchgeführter neoadjuvanter Therapie (Zeitpunkt histologische Tumorsicherung, Tumormaterial Baseline) und der Proteinexpression nach erfolgter neoadjuvanter Behandlung (Tumormaterial OP) zu definieren, wurde der McNemar-Test angewendet. Hierfür wurde zunächst eine Kreuztabelle erstellt, die die beiden Merkmale Positiv-Index des Tumormaterials Baseline und Positiv-Index des Tumormaterials OP miteinander vergleicht. Für beide Merkmale wurden die unterschiedlichen Häufigkeiten der Gruppen Positiv-Index  $\leq 100$  und > 100berechnet.

Bei zwei Patienten (33,3 %) war der Positiv-Index sowohl zum Zeitpunkt der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) als auch zum Zeitpunkt der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP)  $\leq$ 100, sodass hier keine Veränderung in der ABC-A3-Expression ermittelt wurde. Bei vier Patienten (66,7 %) wurde eine Zunahme der Proteinexpression ermittelt, der Positiv-Index hatte vor der neoadjuvanten Therapie einen Wert  $\leq$  100 und lag danach bei > 100.

Bei der Gruppe der Patienten, die vor der neoadjuvanten Therapie (Tumormaterial Baseline) einen Positiv-Index > 100 besaßen, zeigte sich in den Tumorpräparaten bzw. Lymphknoten aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) folgendes Bild: bei drei Patienten (42,9 %) wurde eine Abnahme der Proteinexpression bestimmt (PI  $\leq$  100), bei den restlichen vier Patienten (57,1 %) wurde keine Veränderung in der ABC-A3-Expression ermittelt, der PI blieb hier > 100 (vergleiche Tabelle 3.7)

			С	Р	
			$\mathrm{PI} \leq 100$	PI > 100	Gesamt
Tumor-	$PI \le 100$	Anzahl der Patienten	2	4	6
material		% innerhalb von	33,3 %	66,7 %	100,0 %
Baseline		Baseline PI			
	PI > 100	Anzahl der Patienten	3	4	7
		% innerhalb von	42,9 %	57,1 %	100,0 %
		Baseline PI			
Gesamt		Anzahl der Patienten	5	8	13
		% innerhalb von	38,5 %	61,5 %	100,0 %
		Baseline PI			

Tabelle 3.7: Kreuztabelle Tumormaterial Baseline vs. Tumormaterial OP

Vergleich der Merkmale ABC-A3 PI Tumormaterial Baseline (vor neoadjuvanter Therapie) und ABC-A3 PI Tumormaterial OP (nach neoadjuvanter Therapie)

Anschließend wurde der McNemar-Test angewendet. Dieser ergab mit einem p-Wert von 1,0 keine statistische Signifikanz. Für die hier dargestellte Stichprobe hat die neoadjuvante Therapie keine statistisch signifikante Änderung des Expressionsverhaltens von ABC-A3 hervorgerufen, daher wird die Nullhypothese beibehalten (vergleiche Tabelle 3.8).

### Tabelle 3.8: McNemar-Test

Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
Die Verteilungen	Veränderungstest	1,000ª	Nullhypothese
unterschiedlicher	nach McNemar bei		beibehalten
Werte in Baseline_PI	verbundenen		
und OP_PI sind	Stichproben		
gleich wahrscheinlich.			

Asymptomatische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist 0,05. a: exakte Signifikanz für diesen Test angezeigt.

Folgende Tabelle 3.9 fasst die Ergebnisse des Prä-Post-Vergleichs der neoadjuvanten Therapie (n = 13) zusammen:

Patient	ABC-A3 Tumor- material Baseline PI	ABC-A3 Tumor- material OP PI	Tatsächliche Änderung ABC-A3 PI	Histologie	Regressions- grad nach Junker	<i>overall</i> <i>survival</i> in Monaten
1	$\leq 100$	$\leq 100$	Ø	SCC	III	135,4
4	$\leq 100$	> 100	+	SCC	IIb	31,4
9	> 100	> 100	Ø	SCC	IIb	36,3
10	$\leq 100$	> 100	+	SCC	Ι	9,3
13	> 100	$\leq 100$	—	AC	III	59,1
14	$\leq 100$	> 100	+	SCC	III	155,3
17	> 100	> 100	Ø	SCC	Ι	11,3
18	> 100	> 100	Ø	AC	IIb	36,2
19	> 100	> 100	Ø	AC	IIb	49,7
20	> 100	$\leq 100$	—	SCC	IIa	11,7
22	$\leq 100$	> 100	+	SCC	IIb	51,2
27	≤ 100	≤ 100	Ø	SCC	Fehlende Information	21,9
31	> 100	$\leq 100$	—	SCC	III	8,1

Tabelle 3.9: Ergebnisse des Prä-Post-Vergleichs der neoadjuvanten Therapie

 $\emptyset$ : keine Änderung des PI vor und nach neoadjuvanter Therapie, +: Zunahme PI nach neoadjuvanter Therapie; -: Abnahme PI nach neoadjuvanter Therapie; Regressionsgrad nach Junker: I = keine od. nur geringe, im allg. spontane Tumorregression, IIa = unvollständige Tumorregression mit mehr als 10 % und IIb = mit weniger als 10 % vitalem Tumorgewebe; III = komplette Tumorregression

### 3.4 Rangkorrelation nach Spearman

Sowohl die Maximalwerte als auch die Positiv-Indizes von ABC-A3 der Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) und der Tumorproben bzw. Lymphknoten aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) des Gesamtkollektivs wurden mit den klinischen Parametern Geschlecht, Alter bei Erstdiagnose, Histologie, Differenzierungsgrad, Raucherstatus, *pack years*, Nodalstatus (pN), Regressionsgrad nach Junker, UICC 6 und UICC8 anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman miteinander korreliert.

#### 3.4.1 Korrelationsanalyse anhand der ABC-A3 Maximalwerte

# 3.4.1.1 Tumorproben aus Baseline (n = 15)

Die Korrelation des ABC-A3 Maximalwertes der Tumorproben aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) und dem Alter der Patienten bei Erstdiagnose ergab ein statistisch relevantes Ergebnis. Bei älteren Patienten ( $\geq 61$  Jahre) wurde demnach häufiger ein mittlerer oder starker Maximalwert ( $I_2/I_3$ ) und somit eine quantitativ höhere ABC-A3-Expression beobachtet als bei jüngeren Patienten ( $r_s = -0.705$ ; p < 0.01).

Alle weiteren Korrelationen der ABC-A3 Maximalwerte und den klinischen Parametern Geschlecht, Alter bei Erstdiagnose, Histologie, Differenzierungsgrad, Raucherstatus, *pack years*, Nodalstatus (pN), Regressionsgrad nach Junker und UICC 6 und 8 ergaben keine statistisch relevanten Ergebnisse (vergleiche Tabelle A29, A32-A40 im Anhang).

### 3.4.1.2 Tumorproben aus OP (n = 29)

Die Korrelation des ABC-A3 Maximalwertes der Tumorproben aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) und dem Geschlecht ergab ein statistisch relevantes Ergebnis: Weibliche Patienten waren häufiger mit einem mittleren oder starken ABC-A3 Maximalwert ( $I_2/I_3$ ) assoziiert als männliche Patienten ( $r_s = 0,383$ ; p < 0,05).

Außerdem erbrachte die Korrelation des ABC-A3 Maximalwertes und der Raucherstatus ein statistisch relevantes Ergebnis: auch hier waren Nichtraucher und ehemalige Raucher mit einem mittleren (I<sub>2</sub>) oder hohen (I<sub>3</sub>) ABC-A3 Maximalwert assoziiert und aktuelle Raucher mit einem niedrigen (I<sub>0</sub>, I<sub>1</sub>) ABC-A3 Maximalwert ( $r_s = -0,472$ ; p < 0,05).

Alle weiteren Korrelationen des ABC-A3 Maximalwertes anhand der Tumorproben aus der chirurgischen Tumorentfernung und den klinischen Parametern Alter bei Erstdiagnose, Histologie, Differenzierungsgrad, Nodalstatus (pN), Regressionsgrad nach Junker, UICC 6 und UICC8 ergaben keine statistisch relevanten Ergebnisse (vergleiche Tabellen A30, A31, A41-A48 im Anhang).

### 3.4.2 Korrelationsanalyse anhand der ABC-A3 Positiv-Indizes

### 3.4.2.1 Tumorproben aus Baseline (n = 15)

Es wurden keine statistisch relevanten Ergebnisse der Korrelationen der ABC-A3 Positiv-Indizes der Tumorproben aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline) mit den klinischen Parametern Geschlecht, Alter bei Erstdiagnose, Histologie, Differenzierungsgrad, Raucherstatus, *pack years*, Nodalstatus (pN) und Regressionsgrad nach Junker, UICC 6 und UICC 8 ermittelt (vergleiche Tabellen A49-A58 im Anhang).

# 3.4.2.2 Tumorproben aus OP (n = 29)

Es wurden keine statistisch relevanten Ergebnisse der Korrelationen der ABC-A3 Positiv-Indizes der Tumorproben aus der chirurgischen Tumorentfernung (Tumormaterial OP) mit den klinischen Parametern Geschlecht, Alter bei Erstdiagnose, Histologie, Differenzierungsgrad, Raucherstatus, *pack years*, Nodalstatus (pN) und Regressionsgrad nach Junker, UICC 6 und UICC 8 ermittelt (vergleiche Tabellen A59-A68 im Anhang).

# 4 Diskussion

# 4.1 Epidemiologie Gesamtkollektiv (n = 31)

Das Gesamtkollektiv der vorliegenden Studie umfasst insgesamt 31 Patienten, bei denen das Nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom diagnostiziert wurde. Das mediane Alter zum Diagnosezeitpunkt wurde mit 60,7 Jahren berechnet und liegt somit ca. 10 Jahre unter den aktuellen Daten des Robert Koch-Instituts, die ein medianes Erkrankungsalter zwischen 68 und 70 Jahren angeben (ZfKD 2019). Auch der Vergleich des medianen Erkrankungsalters der Jahre, aus denen das Patientenkollektiv stammt (1996-2003), mit den Daten der vorliegenden Studie, zeigt keinen Unterschied und liegt ebenfalls bei 68 Jahren (ZfKD 2008). Hierbei zu beachten ist, dass das Robert Koch-Institut in ihren Ergebnissen alle Tumorstadien einschließen, während die Patienten des vorliegenden Studienkollektivs ausschließlich an Bronchialkarzinomen der Stadien IIIA und IIIB erkrankt waren. Das jüngere mediane Erkrankungsalter des vorliegenden Kollektivs begünstigt, dass die Patienten in einer guten körperlichen Verfassung waren, um sich einer multimodalen Therapie zu unterziehen.

Aufgrund des kleinen Patientenkollektivs sind repräsentative Aussagen für die vorliegende Studie erschwert.

In einer Studie von Stupp et al. (2009) wurde ein Kollektiv mit 46 Patienten mit diagnostiziertem Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom des Stadiums IIIB untersucht. Auch diese Patienten erhielten eine neoadjuvante Chemotherapie mit Cisplatin und Docetaxel, allerdings folgte darauf eine Radiotherapie und anschließend die chirurgische Tumorentfernung, während bei den Patienten des vorliegenden Kollektivs nach der neoadjuvanten Chemotherapie direkt die chirurgische Tumorentfernung stattfand und erst anschließend die Radiotherapie folgte.

Das Kollektiv von Stupp et al. (2009) stammt aus den Jahren 2001-2006 und besitzt vergleichbare Ergebnisse mit der vorliegenden Studie: das mediane Erkrankungsalter des Kollektivs von Stupp liegt bei 60,0 Jahren und die mittlere Überlebenszeit liegt mit 29 Monaten nur knapp unter der mittleren Überlebenszeit des vorliegenden Kollektivs mit 31,4 Monaten. Bezogen auf die 5-Jahres-Überlebenszeit, die im vorliegenden Kollektiv 23,1 % beträgt, liefert Stupp et al. (2009) mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 40 % in einem ebenfalls kleinen Kollektiv etwas bessere Ergebnisse. Das Robert Koch-Institut gibt mit einer 5-Jahres-Überlebenszeit von 19 % für das Nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom vergleichbare Zahlen mit den Ergebnissen des vorliegenden Kollektivs an (ZfKD 2019). Allerdings differenziert das Robert Koch-Institut auch hier nicht nach Stadien, sondern schließt alle UICC Stadien in seinen Angaben mit ein.

Die 5-Jahres-Überlebensrate ist stadienabhängig und nimmt ab, je weiter fortgeschritten das Stadium ist. Das vorliegende Kollektiv umfasst Patienten mit NSCLC der Stadien IIIA und IIIB nach UICC 6. Thatcher et al. (2015) geben für Bronchialkarzinome des Stadiums IIIA eine 5-Jahres-Überlebensrate von 18 % und für das Stadium IIIB nur 8 % an. Diese Daten liegen deutlich unter der 5-Jahres-Überlebensrate des vorliegenden Patientenkollektivs (23,5 %). Da aktuell die 8. Edition der Stadieneinteilung nach IASCL/UICC gültig ist, wurden die Patienten der vorliegenden Studie zusätzlich dieser Edition zugeordnet.

Demnach werden neben dem Stadium IIIA und IIIB auch sieben Patienten dem neu definierten Stadium IIIC zugeordnet. Auch die stadienabhängige Prognose nach Thatcher et al. (2015) besitzt für die 8. Edition neue Angaben: für das Stadium IIIA beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate 36 %, für das Stadium IIIB 26 % und für das Stadium IIIC 13 %.

Diese Ergebnisse zeigen deutlich, dass es große Varianzen bezüglich der 5-Jahres-Überlebensrate gibt und sich diese aufgrund unterschiedlicher Studienzusammensetzung nur begrenzt dazu eignet, verschiedene Patientenkollektive miteinander zu vergleichen.

Sowohl das Kollektiv von Stupp et al. (2009) als auch das vorliegende Kollektiv beinhaltet ausschließlich die beiden histologischen Tumortypen Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom, während das Robert Koch-Institut alle histologischen Subtypen des Bronchialkarzinoms miteinbezieht. Inwiefern die Tumorhistologie Einfluss auf die mittlere Überlebenszeit und die 5-Jahres-Überlebenszeit des Patienten nimmt, bleibt laut aktuellen Forschungsergebnissen ungeklärt. Die meisten Studienergebnisse zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom hinsichtlich des Überlebens der Patienten (Adebonojo et al. 1999; Jeremić et al. 2016). Beim Vergleich der 5des vorliegenden Kollektivs getrennt Jahres-Überlebensrate nach Tumorentitäten (Plattenepithekarzinom Adenokarzinom) die muss Repräsentative der vs. Studienzusammensetzung jedoch kritisch hinterfragt werden: während das Adenokarzinom mit 32,3 % vertreten ist, sind 67,7 % der Patienten an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt. Hier scheint ein Auswertungsdefizit vorzuliegen.

Mit einem Raucheranteil von 83,9 % ist die vorliegende Studie repräsentativ und zeigt, dass der Großteil der Patienten mit Bronchialkarzinom raucht bzw. geraucht hat.

Zusammenfassend und unter Berücksichtigung der relativ kleinen Größe des Gesamtkollektivs (n = 31) stellt das vorliegende Kollektiv bezogen auf medianes Gesamtüberleben, 5-Jahres-Überlebensrate, medianes Alter zum Diagnosezeitpunkt und Raucherstatus eine repräsentative Gruppe dar.

# 4.2 Ergebnisse Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie (n = 13)

Für die vorliegende Studie wurde folgende Hypothese formuliert: eine hohe ABC-A3-Expression in Adeno- und Plattenepithelkarzinomen der Lunge korreliert mit einem geringen Ansprechen auf die Chemotherapie. Sie basiert auf der Annahme, dass ABC-A3 einen Resistenzmechanismus gegenüber Chemotherapeutika besitzt.

Während das Protein ABC-A3 in Bronchialkarzinomen bisher wenig untersucht wurde, wurde in Zellen anderer Gewebe bereits ein resistenzvermittelnder Einfluss des Proteins genauer erforscht und beschrieben.

Chapuy et al. (2008; 2009) assoziierten eine Überexpression von ABC-A3 in den Progenitorzellen des Phänotyps *side population* (engl.) der akuten lymphatischen Leukämie mit einem kürzeren Gesamtüberleben und kürzeren progressionsfreien Überleben für den Patienten. Sie führten dies darauf zurück, dass ABC-A3 die Fähigkeit der subzellulären Sequestierung von Zytostatika besitze und diese somit ihre toxische Wirkung im Zellkern nicht entfalten könne.

Aberuyi et al. (2017) stellten in ihrer In-vivo-Studie ebenfalls einen Zusammenhang zwischen einer hohen ABC-A3-Expression und einem Therapieversagen unter Estramustin, Doxorubicin, Methotrexat, Vincristin, 6-Mecaptopurin und Prednisolon bei Kindern mit akuter lymphatischer Leukämie her. Ihre immunhistochemische Untersuchung des Proteins ABC-A3 zeigte außerdem, dass die Tertiärstruktur von ABC-A3 vergleichbare Bindungsstellen mit dem Protein ABC-A2 besitzt, für das bereits in früheren Studien eine Bindung des Zytostatikums Estramustin bei resistentem Eierstockkarzinom beschrieben wurde (Davis et al. 2004; Wolf und Lee 2012). Dies lässt die Vermutung zu, dass neben ABC-A2 auch ABC-A3 eine resistenzvermittelnde Eigenschaft gegenüber Chemotherapeutika besitzen könnte.

Da ABC-A3 u. a. physiologisch von den Pneumozyten Typ II exprimiert wird, verglichen Overbeck et al. (2013) die Proteinexpression in Kleinzelligen und Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen und konnten hierbei eine statistisch signifikant gesteigerte Proteinexpression in NSCLCs nachweisen. Unter der Fragestellung, inwiefern ABC-A3 Lungenkrebszellen vor der zytotoxischen Wirkung von Arzneimitteln schützt, verglichen Overbeck et al. (2013) in ihrer In-vitro-Studie die Wirkung von Cisplatin, Paclitaxel und Vinorelbin auf Lungenkrebszelllinien mit der Wirkung der Chemotherapeutika auf Zelllinien, in denen zuvor ABC-A3 mittels Gen-Knockdown unterdrückt wurde. Hierbei zeigte sich, dass die zytostatische Wirksamkeit von Cisplatin und Paclitaxel bei den Zelllinien, in denen eine natürliche ABC-A3-Expression stattfand, statistisch signifikant geringer war, als in der Knockdown-Variante. Overbeck et al. (2013) führten dieses Ergebnis auf den resistenzvermittelnden Einfluss von ABC-A3 gegenüber Zytostatika bei Lungenkrebspatienten zurück und untersuchten diesen daraufhin in einer weiteren Studie (Overbeck et al. 2017). Aus einem Kollektiv von 89 Patienten, die an einem Adeno- oder Plattenepithelkarzinom der Lunge erkrankt waren, wurde u. a. eine qualitativ und quantitativ hohe ABC-A3-Expression (dargestellt im Positiv-Index) mit einem kürzeren Gesamtüberleben für die Patienten ermittelt. Außerdem wurde bei älteren Patienten und Nichtrauchern bzw. ehemaligen Rauchern eine statistisch signifikant höhere ABC-A3-Expression ermittelt im Vergleich zu jüngeren Patienten und Rauchern.

Diese Ergebnisse sind Grundlage der vorliegenden Studie.

Unter der Fragestellung, ob der Status der ABC-A3-Expression vor und nach einer neoadjuvanten Therapie im Zusammenhang steht und die ABC-A3-Expression einen möglichen Effekt auf die neoadjuvante Therapie besitzt, wurden Tumorschnitte bzw. Lymphknoten aus der histologischen Tumorsicherung (Tumormaterial Baseline), also zum Zeitpunkt vor der neoadjuvanten Chemotherapie, und aus der postchemotherapeutischen Tumorresektion (Tumormaterial OP) miteinander verglichen. Mittels Kreuztabelle wurden die Ergebnisse der Positiv-Indizes (Merkmale PI  $\leq$  100 und PI > 100) jeweils für die beiden Zeitpunkte vor und nach der neoadjuvanten Chemotherapie auf ihre statistischen Häufigkeiten untersucht. Der McNemar-Test ergab für das hier untersuchte Kollektiv keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Proteinexpression vor und nach erfolgter chemotherapeutischer Behandlung.

Bei Patienten mit hoher ABC-A3-Expression in den Tumorproben vor der neoadjuvanten Therapie hätte eine ebenfalls hohe ABC-A3-Expression in den Tumorproben nach der neoadjuvanten Therapie ein erster Hinweis auf eine resistenzvermittelnde Eigenschaft von ABC-A3 gegenüber Zytostatika hindeuten können.

Die Auswertung des Regressionsgrades nach Junker stellt einen Prognosefaktor für den Therapierfolg einer neoadjuvanten Therapie dar (Junker 2014). 69,2 % der Patienten, bei denen sowohl Tumormaterial vor als auch nach der neoadjuvanten Therapie vorlag (n = 13) wurden der Gruppe der Responder (Regressionsgrad IIb und III) zugeordnet. Für diese Patienten wurde mit 51,2 Monaten eine statistisch signifikant höhere mediane Überlebenszeit ermittelt als für die Gruppe der Non-Responder, deren mediane Überlebenszeit 11,6 Monate betrug. Dieses Ergebnis könnte darauf hindeuten, dass die Patienten gut auf die hier durchgeführte neoadjuvante Therapie ansprachen und somit ein Therapieerfolg stattgefunden haben könnte. Dieser Erfolg scheint jedoch nicht im Zusammenhang mit der ABC-A3-Expression zu stehen,
da die Korrelation des Regressionsgrades mit den Ergebnissen der qualitativen und quantitativen Proteinexpression von ABC-A3 (dargestellt im Maximalwert und Positiv-Index) keine statistisch signifikanten Ergebnisse brachte.

Während das Gesamtkollektiv 31 Patienten beinhaltet, stand aufgrund abgelaufener Aufbewahrungsfristen nicht für alle Patienten histologisches Tumormaterial des Zeitpunktes vor der neoadjuvanten Therapie (Tumormaterial Baseline) zur Analyse zur Verfügung, sodass die hier untersuchte Stichprobe nur aus 13 Patienten besteht. Die Studiengröße stellt ein großes Auswertungsdefizit dar und erlaubt somit keine repräsentativen Aussagen bezüglich einer resistenzvermittelnden Eigenschaft des Proteins ABC-A3. Ob die ABC-A3-Expression eine prognostische Bedeutung für den Behandlungsausgang neoadjuvant therapierter Patienten mit NSCLC nimmt, lässt sich mit der vorliegenden untersuchten Stichprobe nicht abschließend beantworten und bedarf weiterführender Untersuchungen.

## 4.3 Immunhistochemische Methodik und Auswertung

Für die Untersuchung des Expressionsverhaltens von ABC-A3 wurde der experimentelle Teil der vorliegenden Studie mit Hilfe der Labormethode der indirekten Immunhistochemie durchgeführt. Da ABC-A3 in NSCLCs bisher nur wenig untersucht wurde, wählte man hierfür das experimentelle Protokoll analog der Studien von Overbeck et al. (2013; 2017). Als Primärantikörper diente jeweils Anti-ABC-A3 der Firma Atlas Antibodies® (Bromma; Schweden). Als Sekundärantikörper wählte man das ZytoChem Plus AP Polymer anti-Rabbit System (Zytomed Systems, Berlin; Deutschland) und die anschließende visuelle Darstellung erfolgte mittels Dako Liquid Permanent red (Dako Real<sup>TM</sup>; Hamburg; Deutschland).

Die experimentelle Untersuchung des Proteins ABC-A3 in anderen Geweben mittels immunhistochemischer Methodik hat sich bereits in anderen Studien als geeignet erwiesen. Chapuy et al. (2008) wiesen in ihrer Studie ABC-A3 in den Tumorzellen von akuter myeloischer Leukämie mittels vergleichbarer Methodik hochexprimiert nach. Der polyklonale Primärantikörper wurde ihnen von N. Inagaki und N. Ban (Kyoto; Japan) bereitgestellt (Ban et al. 2007). Als Sekundärantikörper verwendeten sie das EnVision System von Dako Real <sup>™</sup> (Hamburg; Deutschland), an welches bereits ein Farbstoff zur Visualisierung gekoppelt ist und nicht in einem separaten Schritt, wie in der vorliegenden Studie mittels Permanend Red, durchgeführt werden muss. Während in den beiden Studien von Overbeck et al. (2013; 2017) und der vorliegenden Studie in Formalin fixierte Gewebeschnitte zur Untersuchung zur Verfügung standen, mussten in der Studie von Chapuy et al. (2008) zuerst die Zellen der akuten myeloischen Leukämie, die sich in keinem Zellverband befinden, zentrifugiert und anschließend in Formalin fixiert werden.

Die Qualität der Färbung von ABC-A3 im histologischen Schnitt wurde in der vorliegenden Studie mit Hilfe der Maximalwerte bewertet. Die Bestimmung der Maximalwerte fand nach dem gleichen Schema der vorangegangenen Studien von Overbeck et al. (2013; 2017) statt. Durch das Zusammenfassen der Tumorpräparate mit keiner oder schwacher Proteinexpression (I<sub>0</sub> und I<sub>1</sub>) sowie mittlerer und starker Proteinexpression (I<sub>2</sub> und I<sub>3</sub>) wurde einerseits die anschließende statistische Auswertung vereinfacht, indem statt vier Gruppen nur zwei Gruppen in die Analyse eingingen, andererseits wurde der Grad der Genauigkeit jedoch herabgesetzt.

Chapuy et al. (2008) bewerteten die ABC-A3-Expression ihrer histologischen Schnitte nach einem ähnlichen Prinzip: zunächst wurden vier Gruppen gebildet (*negative* (-), *low* (+), *intermediate* (++), *high* (+++)) und anschließend wurden diese für die statistische Analyse in den Gruppen negative/ low und *intermediate/ high* zusammengefasst.

Zusätzlich zu den Maximalwerten wurde in der vorliegenden Studie der Positiv-Index bestimmt (siehe Kapitel 2.4.2). Er ist eine wesentlich detailliertere Methode, da neben der rein qualitativen Bewertung auch die quantitative Bewertung des Expressionsverhaltens eines Proteins dargestellt werden kann und somit dessen Expressionsmuster möglichst detailgenau bewertet werden kann.

Der Positiv-Index ist eine Modifikation des erweiterten H-Scores, bei dem die Bewertung der Färbungsintensität (qualitativ) des Proteins mit dem Anteil an gefärbten Zellen (quantitativ) in dem zuvor festgelegten Areal der Tumorprobe bestimmt wird (Hirsch et al. 2003).

In einer Erweiterung des H-Scores, die Mazières et al. (2013) in ihrer Studie zur Untersuchung des Expressionsverhaltens von EGFR (*epidermal growth factor receptor*) in NSCLCs verwendeten, wird die Gewichtung stärkerer Färbungsintensitäten verstärkt, indem Zellen mit mittlerer Färbung (I<sub>2</sub>) mit dem Faktor 2 und Zellen mit starker Färbung (I<sub>3</sub>) mit dem Faktor 3 multipliziert werden. Da in der vorliegenden Studie zusätzlich negativ gefärbte Zellen (I<sub>0</sub>) und schwach positiv gefärbte Zellen (I<sub>1</sub>) mit dem Faktor 0 multipliziert wurden und somit nicht in die Berechnung des Positiv-Index miteinbezogen wurden, handelt es sich hier um eine Modifikation des erweiterten H-Scores.

Um einen direkten Vergleich mit den beiden Studien von Overbeck et al. (2013; 2017) bezüglich der Ergebnisse des Positiv-Index ziehen zu können, wurden in der vorliegenden Studie die identische Einteilung des Positiv-Index in zwei Gruppen (Positiv-Index  $\leq$  100 und Positiv-Index > 100) gewählt. Mazières et al. (2013) bestimmte in seiner Studie andere Grenzwerte: er

unterschied zwischen einem negativen H-Score (< 200) und einem positiven H-Score (≥ 200). Overbeck et al. (2013; 2017) begründen ihre Wahl der Grenzwerte damit, dass auch wenige Tumorzellen einen relevanten Einfluss auf den Therapieerfolg von Chemotherapeutika nehmen können.

#### 4.4 Statistische Auswertung von ABC-A3

### 4.4.1 Kaplan-Meier

Eine zentrale Fragestellung der vorliegenden Studie war, inwiefern ein hoher ABC-A3 Wert mit einem kürzeren Gesamtüberleben der Patienten korreliert. Mit Hilfe der Kaplan-Meier-Überlebenszeit wurde die Proteinexpression anhand der Bewertung der Maximalwerte und Positiv-Indizes analysiert, wobei der Fokus hauptsächlich auf den Ergebnissen der ABC-A3 Positiv-Indizes lag. Anschließend wurde mit dem LogRank-Test die statistische Signifikanz geprüft.

Obwohl unterschiedliche Expressionsmuster von ABC-A3 (Maximalwerte  $I_0$ - $I_3$ ; PI  $\leq 100$ , PI > 100) ermittelt wurden, scheinen diese für das vorliegende untersuchte Gesamtkollektiv keinen Einfluss auf die Überlebenszeit zu nehmen.

Dieses Ergebnis kann die Daten der Studie von Overbeck et al. (2017) nicht bestätigen, die bei Patienten mit gesteigerter ABC-A3-Expression ein statistisch signifikant niedrigeres Überleben für den Patienten ermittelten.

Eine Erklärung für die verschiedenen Studienergebnisse kann u. a. in der unterschiedlichen Kollektivzusammensetzung beider Studien vermutet werden: mit einer Gruppengröße von 31 Patienten ist das vorliegende Kollektiv deutlich kleiner als bei Overbeck et al. (2017), die das Expressionsverhalten von ABC-A3 in NSCLCs in einem Kollektiv aus 89 Patienten untersuchten. Während für die vorliegende Studie alle Patienten ausschließlich eine neoadjuvante Therapie erhielten, wurden die Patienten von Overbeck et al. (2017) verschieden therapiert: eine Chemotherapie wurde bei 28 Patienten durchgeführt, wobei diese bei 13 Patienten im neoadjuvanten Setting und bei 15 Patienten im adjuvanten Setting stattfand. Eine postoperative Radiatio erhielten in der vorliegenden Studie 26 Patienten der insgesamt 31 Patienten und bei Overbeck et al. (2017) wurden 14 der 89 Patienten postoperativ radiotherapiert. Ein weiterer Unterschied ist die Verteilung der Patienten auf die UICC Stadien: Alle Patienten des vorliegenden Kollektivs wurden dem Stadium IIIA oder IIIB (nach UICC 6) zugeordnet, während sich die Patienten von Overbeck et al. (2017) auf alle UICC-Stadien (IA-

IV nach UICC 7) verteilen, wobei lediglich zwei der 89 Patienten dem Stadium IIIB zugeordnet wurden und nur ein Patient dem Stadium IV.

Unter Berücksichtigung der kleineren Gruppengröße stellt das hier vorliegende Studienkollektiv eine homogenere Gruppe als das Studienkollektiv von Overbeck et al. (2017) dar.

Neben der Studie von Overbeck et al. (2017) existieren derzeit keine weiteren vergleichbaren Studien, um die Ergebnisse einzuordnen, daher bedarf es hierfür weiterführender Studien.

#### 4.4.2 Korrelationsanalysen

Mittels der Spearman-Korrelation wurden mögliche statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen dem Expressionsverhalten von ABC-A3 und klinischen Parametern (Geschlecht, Alter bei Erstdiagnose, Histologie, Differenzierungsgrad, Raucherstatus, Anzahl der *pack years*, Nodalstatus, Regressionsgrad nach Junker, UICC 6 und UICC 8) untersucht.

Für die vorliegende Studie wurden folgende statistisch signifikante Korrelationen ermittelt: ältere Patienten (> 61 Jahren), Nichtraucher bzw. ehemalige Raucher und Frauen waren statistisch häufiger mit einer mittleren (I<sub>2</sub>) oder hohen (I<sub>3</sub>) Proteinexpression assoziiert als junge Patienten, Raucher und Männer.

Diese Ergebnisse unterstützen die Ergebnisse der vorangegangenen Studie von Overbeck et al. (2017), die ebenfalls bei älteren Patienten (> 65 Jahren) und Nichtrauchern bzw. ehemaligen Rauchern ABC-A3 hochexprimiert vorfanden. Bei der Korrelation des Alters beider Studien ist die Wahl des Alters zu berücksichtigen. Diese ist jeweils auf das mediane Alter der Patienten zurück zu führen, welches in der vorliegenden Studie bei 60,7 Jahren liegt, während Overbeck et al. (2017) ein medianes Alter von 64,7 Jahren angeben.

Auffällig in beiden Studien ist, dass eine Korrelation zwischen einer mittleren oder hohen ABC-A3-Expression und den klinischen Parametern (ältere Patienten, Nichtraucher bzw. ehemalige Raucher und weibliches Geschlecht) nur anhand der Auswertung der Maximalwerte ermittelt wurde, jedoch nicht anhand der Auswertung der Positiv-Indizes. Ein möglicher Benefit des Markers Positiv-Index, welcher neben der rein qualitativen ABC-A3-Expression auch die Quantität der Proteinexpression beinhaltet und somit eine detailliertere Methode zur Darstellung der ABC-A3-Expression ist, lässt sich anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigen.

Eine hohe ABC-A3-Expression fand sich vermehrt bei folgenden klinischen Parametern: höheres Lebensalter, Nie- oder Ex-Raucher-Status, weibliches Geschlecht. Das Spektrum weiterer bekannter molekularer Veränderungen lässt häufig ein klinisches Pattern erkennen: EGFR-Mutationen finden sich z. B. vermehrt bei asiatischen nicht rauchenden jungen Frauen mit Adenokarzinom (Yang et al. 2013; Schuette et al. 2015), während MET Exon 14 skipping Mutationen eher bei älteren Patienten vorkommen (Awad et al. 2016).

Auch Mutationen des ABC-A3-Gens beeinflussen die Entstehung von Lungenerkrankungen. Sie führen u. a. zu neonatalem respiratorischem Versagen, Störungen des Surfactant-Stoffwechsels und Atemnotsyndrom bei Erwachsenen (Shulenin et al. 2004; Peca et al. 2015; Kröner et al. 2017). Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen von ABC-A3 mit den klinischen Parametern Geschlecht, Alter und Raucherstatus der Studien von Overbeck et al. (2017) und der vorliegenden Arbeit könnten darauf hindeuten, dass bei diesen Personengruppen ebenfalls ABC-A3 in mutierter Form vorliegen könnte und somit durch zellinterne Prozesse die Entstehung von Bronchialkarzinomen begünstigt wäre. Hierfür bedarf es weiterführender Studien, in denen Mutationen von ABC-A3 in Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen näher untersucht werden.

# 5 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Studie beinhaltet ein Kollektiv von 31 Patienten mit der Diagnose Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom der Stadien IIIA und IIIB (Plattenepithelkarzinom oder Adenokarzinom), die alle im Rahmen eines neoadjuvanten Therapiekonzeptes behandelt wurden.

Neben der Analyse der Patientencharakteristika war die die Untersuchung des Expressionsverhaltens des Proteins ABC-A3 der zentrale Bestandteil der vorliegenden Studie. ABC-A3 In vorangegangenen Studien wurde bereits in Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen nachgewiesen und in Zusammenhang mit einem resistenzvermittelnden Einfluss auf Zytostatika gebracht (Overbeck et al. 2013; 2017). Basierend auf diesen Ergebnissen wurde für die vorliegende Studie die Hypothese aufgestellt, dass eine hohe Expression von ABC-A3 in Adeno- und Plattenepithelkarzinomen der Lunge mit einem geringen Ansprechen auf die Chemotherapie korreliert, gemessen im Regressionsgrad nach Junker. Hierfür wurde das Tumormaterial des Patientenkollektivs vor der neoadjuvanten Therapie mit dem Tumormaterial aus der chirurgischen Tumorresektion (post neoadjuvanter Therapie) hinsichtlich seiner ABC-A3-Expression untersucht.

In diesem Kontext konnte anhand des vorliegenden Studienkollektivs ABC-A3 zwar ebenfalls in Adeno- und Plattenepithelkarzinomen der Lunge nachgewiesen werden, eine Einflussnahme der ABC-A3-Expression auf die Wirksamkeit der Chemotherapie wurde jedoch nicht ermittelt. Bei der Auswertung des Regressionsgrades nach Junker besaß die Gruppe der Responder ein statistisch signifikant längeres medianes Überleben als die Gruppe der Non-Responder. Dies könnte auf einen Therapieerfolg der hier angewendeten neoadjuvanten Therapie hindeuten, der jedoch nicht im Zusammenhang mit der ABC-A3-Expression zu stehen scheint.

Zusätzlich wurde die ABC-A3-Expression mit klinischen Parametern korreliert. Hier scheinen ältere Patienten (≥ 61 Jahre), Frauen und Nichtraucher bzw. ehemalige Raucher eine hohe Assoziation zu einer ABC-A3-Überexpression (mittlere oder starke qualitative ABC-A3-Expression) zu besitzen.

Da das Bronchialkarzinom weiterhin zu den Tumorerkrankungen mit der höchsten Mortalitätsrate gehört, ist die Verbesserung der Überlebenszeiten der Patienten Ziel der aktuellen Wissenschaft. Neben den klassischen Therapieoptionen der Chirurgie, Chemo- und Radiotherapie haben sich die zielgerichtete Therapie und Immuntherapie als moderne Krebstherapien etabliert. Hierfür wird das Tumorprofil des Patienten analysiert, um u. a. mit Hilfe molekularer Marker eine prognostische Aussage über den individuellen Krankheitsverlauf treffen zu können oder diese als prädiktive Faktoren einer geeigneten Therapie zu nutzen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeichnen den Stellenwert von ABC-A3 als prognostischen Marker für Nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome auf und bilden eine Grundlage für Folgeforschung.

# 6 Anhang

# 6.1 Ergebnisse Gesamtkollektiv (n = 31)

# Tabelle A1-A2: Überlebenszeit Gesamtkollektiv

			Kumulierter Anteil		Anzahl der	Anzahl der
			Überlebende	er zum Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
1	6,045	Tot	0,968	0,032	1	30
2	8,082	Tot	0,935	0,044	2	29
3	9,265	Tot	0,903	0,053	3	28
4	11,269	Tot	0,871	0,060	4	27
5	11,663	Tot	0,839	0,066	5	26
6	13,076	Tot	0,806	0,071	6	25
7	14,784	Tot	0,774	0,075	7	24
8	18,168	Tot	0,742	0,079	8	23
9	18,793	Tot	0,710	0,082	9	22
10	21,881	Tot	0,677	0,084	10	21
11	22,374	Tot	0,645	0,086	11	20
12	22,669	Tot	0,613	0,087	12	19
13	23,162	Tot	0,581	0,089	13	18
14	30,029	Tot	0,548	0,089	14	17
15	30,719	Tot	0,516	0,090	15	16
16	31,441	Tot	0,484	0,090	16	15
17	31,737	Tot	0,452	0,089	17	14
18	34,070	Tot	0,419	0,089	18	13
19	36,172	Lebt			18	12
20	36,304	Tot	0,384	0,088	19	11
21	36,337	Lebt	•	•	19	10
22	49,741	Tot	0,346	0,087	20	9
23	51,220	Tot	0,308	0,085	21	8
24	52,238	Tot	0,269	0,083	22	7
25	59,006	Tot	0,231	0,080	23	6
26	70,078	Tot	0,192	0,075	24	5
27	89,232	Tot	0,154	0,069	25	4
28	108,222	Tot	0,115	0,062	26	3
29	135,392	Tot	0,077	0,052	27	2
30	149,224	Lebt			27	1
31	155,302	Lebt			27	0
			1		1	

Tabelle A1: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier für Gesamtkollektiv (n = 31)

72

	М	littelwert		Median				
		95%-Konfiderzintervall Untere Obere				95 %-Konfide	enzintervall	
						Untere	Obere	
Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	
48,443	8,124	32,519 64,366		31,441	6,070	19,544	43,339	

Tabelle A2: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit Gesamtkollektiv (n = 31)

# Tabelle A3-A5: Überlebenszeit nach Tumorentitäten getrennt

			-			, ,	
_				Kumulierter Ar	nteil	Anzahl der	Anzahl der
				Überlebender z	um Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
Histol	ogie	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
SCC	1	6,045	Tot	0,952	0,046	1	20
	2	8,082	Tot	0,905	0,064	2	19
	3	9,265	Tot	0,857	0,076	3	18
	4	11,269	Tot	0,810	0,086	4	17
	5	11,663	Tot	0,762	0,093	5	16
	6	13,076	Tot	0,714	0,099	6	15
	7	14,784	Tot	0,667	0,103	7	14
	8	18,168	Tot	0,619	0,106	8	13
	9	21,881	Tot	0,571	0,108	9	12
	10	22,374	Tot	0,524	0,109	10	11
	11	22,669	Tot	0,476	0,109	11	10
	12	23,162	Tot	0,429	0,108	12	9
	13	30,029	Tot	0,381	0,106	13	8
	14	31,441	Tot	0,333	0,103	14	7
	15	31,737	Tot	0,286	0,099	15	6
	16	36,337	Lebt			15	5
	17	51,220	Tot	0,229	0,094	16	4
	18	108,222	Tot	0,171	0,086	17	3
	19	135,392	Tot	0,114	0,074	18	2
	20	149,224	Lebt			18	1
	21	155,302	Lebt			18	0
AC	1	18,793	Tot	0,900	0,095	1	9
	2	30,719	Tot	0,800	0,126	2	8
	3	34,070	Tot	0,700	0,145	3	7
	4	36,172	Lebt			3	6
	5	36,304	Tot	0,583	0,161	4	5
	6	49,741	Tot	0,467	0,166	5	4
	7	52,238	Tot	0,350	0,160	6	3

A3: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier für Gesamtkollektiv (n = 31); nach Entitäten getrennt

				Kumulierter Ar	nteil	Anzahl der	Anzahl der
				Überlebender z	um Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
Histologie		Zeit	Status	Schätzer StdFehler		Ereignisse	Fälle
AC	8	59,006	Tot	0,233	0,143	7	2
	9	70,078	Tot	0,117	0,109	8	1
	10	89,232	Tot	0,000	0,000	9	0

Tabelle A4: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit des Gesamtkollektivs nach Entitäten getrennt

		М	ittelwert		Median				
			95 %-Konfie	denzintervall			95 %-Konfi	denzintervall	
Histo-			Untere Obere				Untere	Obere	
logie	Schätzer	StdFehler	Grenze Grenze		Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	
SCC	47,722	11,387	25,405	70,040	22,669	0,978	20,753	24,585	
AC	49,961	7,125	35,997	63,925	49,741	11.321	27,553	71,930	
Gesamt	48,443	8,124	32,519	64,366	31,441	6,070	19,544	43,339	

Tabelle A5: Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für Gesamtkollektiv nach Entitäten getrennt

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0,467	1	0,494

## Tabelle A6-A8: Überlebenszeit Rezidiv

Tabelle A6: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier Vergleich Patienten mit und ohne Rezidiv

				Kumulierter Ante	eil	Anzahl der	Anzahl der
				Überlebender zur	m Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
Rezidiv		Zeit	Status	Schätzer StdFehler H		Ereignisse	Fälle
Nein	1	6,045	Tot	0,947	0,051	1	18
	2	8,082	Tot	0,895	0,070	2	17
	3	11,269	Tot	0,842	0,084	3	16
	4	11,663	Tot	0,789	0,094	4	15
	5	13,076	Tot	0,737	0,101	5	14
	6	14,784	Tot	0,684	0,107	6	13
	7	18,793	Tot	0,632	0,111	7	12
	8	21,881	Tot	0,579	0,113	8	11
	9	22,669	Tot	0,526	0,115	9	10
	10	23,162	Tot	0,474	0,115	10	9
	11	31,737	Tot	0,421	0,113	11	8
	12	34,070	Tot	0,368	0,111	12	7

				Kumulierter Ante	eil	Anzahl der	Anzahl der
				Überlebender zur	n Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
Rezidiv		Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
Nein	13	36,337	Lebt			12	6
	14	49,741	Tot	0,307	0,108	13	5
	15	52,238	Tot	0,246	0,102	14	4
	16	59,006	Tot	0,184	0,093	15	3
	17	108,222	Tot	0,123	0,080	16	2
	18	149,224	Lebt			16	1
	19	155,302	Lebt			16	0
Ja	1	9,265	Tot	0,917	0,080	1	11
	2	18,168	Tot	0,833	0,108	2	10
	3	22,374	Tot	0,750	0,125	3	9
	4	30,029	Tot	0,667	0,136	4	8
	5	30,719	Tot	0,583	0,142	5	7
	6	31,441	Tot	0,500	0,144	6	6
	7	36,172	Lebt			6	5
	8	36,304	Tot	0,400	0,146	7	4
	9	51,220	Tot	0,300	0,140	8	3
	10	70,078	Tot	0,200	0,124	9	2
	11	89,232	Tot	0,100	0,094	10	1
	12	135,392	Tot	0,000	0,000	11	0

Tabelle A7: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit Vergleich Patienten mit und ohne Rezidiv

		М	ittelwert		Median				
			95 %-Konfi	denzintervall			95 %-Konfi	denzintervall	
			Untere Obere				Untere	Obere	
Rezidiv	Schätzer	StdFehler	Grenze Grenze		Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	
Nein	47,036	11,201	25,081	68,990	23,162	7,150	9,147	37,177	
Ja	50,056	11,489	27,536	72,575	31,441	4,397	22,823	40,060	
Gesamt	48,443	8,124	32,519	64,366	31,441	6,070	19,544	43,339	

Tabelle A8: Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für Vergleich Patienten mit und ohne Rezidiv

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0,024	1	0,877

## 6.2 Ergebnisse Maximalwerte (Tabelle A9-A16)

Tabelle A.9: Ergebnisse der Maximalwerte von ABC-A3 zum Zeitpunkt Baseline (prä OP) nach mikroskopischer Sichtung

		Maximalwerte ABC-A3 Baseline									
Patienten-ID	Tumor					LK					
	Anteil					Anteil					
	vitales					vitales					
	Tumor-					Tumor-					
	gewebe					gewebe					
	(%)		1	2	3	(%)	0	1	2	3	
1	80	100	0	0	0	k. M.					
2	k. M.					k. M.					
3	k. M.					k. M.					
4	k. M.					50	0	100	0	0	
5	k. M.					k. M.					
6	k. M.					k. M.					
7	70	0	0	0	100	k. M.					
8	k. M.					k. M.					
9	60	0	30	35	35	k. M.					
10	90	0	80	15	5	k. M.					
11	k. M.					k. M.					
12	k. M.					k. M.					
13	35	0	50	30	20	k. M.					
14	30	95	5	0	0	k. M.					
15	100	0	0	70	30	90	0	0	70	30	
16	k. M.					k. M.					
17	100	5	30	45	20	k. M.					
18	100	20	0	40	40	k. M.					
19	25	0	20	80	0	k. M.					
20	60	0	0	60	40	k. M.					
21	k. M.					k. M.					
22	0	0	0	0	0	k. M.					
23	k. M.					k. M.					
24	k. M.					k. M.					
25	k. M.					k. M.					
26	k. M.					k. M.					
27	70	30	40	20	10	k. M.					
28	k. M.				1	k. M.					
29	k. M.				1	k. M.					
30	k. M.				1	k. M.					
31	80	0	0	100	0	k. M.					
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	

k. M. = kein Material

	Maximalwerte ABC-A3 OP									
Patienten-ID	Tumor					LK				
	Anteil					Anteil				
	vitales					vitales				
	Tumor-					Tumor-				
	gewebe					gewebe				
	(%)	0	1	2	3	(%)	0	1	2	3
1	0	0	0	0	0	k. M.				
2	k. M.					90	70	30	0	0
3	60	0	0	100	0	25	90	10	0	0
4	50	0	0	100	0	k. M.				
5	75	0	95	5	0	k. M.				
6	k. M.					60	55	40	5	0
7	k. M.					k. M.				
8	0	0	0	0	0	k. M.				
9	60	0	0	95	5	k. M.				
10	90	0	0	100	0	20	0	95	5	0
11	5	0	0	100	0	70	0	40	60	0
12	40	0	80	20	0	25	0	100	0	0
13	15	85	10	0	5	k. M.				
14	k. M.					25	0	0	95	5
15	k. M.					k. M.				
16	30	0	95	5	0	50	0	0	95	5
17	k. M.					60	0	30	70	0
18	90	0	45	55	0	k. M.				
19	80	0	20	80	0	60	0	25	45	30
20	35	0	70	30	0	k. M.				
21	95	0	0	85	15	k. M.				
22	70	0	0	95	5	k. M.				
23	35	100	0	0	0	k. M.				
24	5	100	0	0	0	80	0	90	10	0
25	75	0	0	100	0	k. M.				
26	k. M.					90	70	30	0	0
27	50	5	65	30	0	k. M.				
28	70	65	20	10	5	k. M.				
29	100	0	0	0	100	100				100
30	50	0	30	40	30	75	100	0	0	0
31	40	0	90	10	0	80	50	0	50	0

Tabelle A.10: Ergebnisse	der Maximalwerte von ABC-A3	zum Zeitpunkt OP nach	mikroskopischer Sichtung

k. M. = kein Material

					nteil	Anzahl der	Anzahl der
Baseline				Überlebender	Überlebender zum Zeitpunkt		verbliebenen
Maximalw	ert	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
0/1	1	31,441	Tot	0,750	0,217	1	3
	2	51,220	Tot	0,500	0,250	2	2
	3	135,392	Tot	0,250	0,217	3	1
	4	155,302	Lebt			3	0
2/3	1	8,082	Tot	0,909	0,087	1	10
	2	9,265	Tot	0,818	0,116	2	9
	3	11,269	Tot	0,727	0,134	3	8
	4	11,663	Tot	0,636	0,145	4	7
	5	21,881	Tot	0,545	0,150	5	6
	6	36,172	Lebt	•		5	5
	7	36,337	Lebt			5	4
	8	49,741	Tot	0,409	0,163	6	3
	9	59,006	Tot	0,273	0,156	7	2
	10	108,222	Tot	0,136	0,124	8	1
	11	149,224	Lebt	•		8	0

Tabelle A11: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier nach Maximalwerten anhand Tumorproben aus Baseline (n = 15)

Tabelle A12: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit nach Maximalwerten anhand Tumorpro	ben aus Baseline
(n = 15)	

	Mittelwer	ť			Median			
			95 %-Konfidenzintervall				95 %-Konfide	enzintervall
Baseline		Std	Untere	Obere		Std	Untere	Obere
Maximalwert	Schätzer	Fehler	Grenze	Grenze	Schätzer	Fehler	Grenze	Grenze
0/1	93,339	26,473	41,452	145,226	51,220	51,975	,000	153,091
2/3	55,586	16,165	23,904	87,269	49,741	27,338	,000	103,324
Gesamt	67,456	14,973	38,108	96,803	51,220	15,760	20,331	82,109

Tabelle A13: Test auf Gleichheit der	Überlebensverteilungen	für die verschiedenen S	Stufen von Maximalwert	Baseline $(n = 15)$

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0,839	1	0,360

OP				Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen	Anzahl der
Maxima	alwert	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
0/1	1	23,162	Tot	0,800	0,179	1	4
	2	30,029	Tot	0,600	0,219	2	3
	3	36,304	Tot	0,400	0,219	3	2
	4	89,232	Tot	0,200	0,179	4	1
	5	135,392	Tot	0,000	0,000	5	0
2/3	1	6,045	Tot	0,958	0,041	1	23
	2	8,082	Tot	0,917	0,056	2	22
	3	9,265	Tot	0,875	0,068	3	21
	4	11,269	Tot	0,833	0,076	4	20
	5	11,663	Tot	0,792	0,083	5	19
	6	13,076	Tot	0,750	0,088	6	18
	7	14,784	Tot	0,708	0,093	7	17
	8	18,168	Tot	0,667	0,096	8	16
	9	18,793	Tot	0,625	0,099	9	15
	10	21,881	Tot	0,583	0,101	10	14
	11	22,374	Tot	0,542	0,102	11	13
	12	22,669	Tot	0,500	0,102	12	12
	13	30,719	Tot	0,458	0,102	13	11
	14	31,441	Tot	0,417	0,101	14	10
	15	31,737	Tot	0,375	0,099	15	9
	16	34,070	Tot	0,333	0,096	16	8
	17	36,172	Lebt			16	7
	18	36,337	Lebt			16	6
	19	49,741	Tot	0,278	0,095	17	5
	20	51,220	Tot	0,222	0,091	18	4
	21	52,238	Tot	0,167	0,083	19	3
	22	59,006	Tot	0,111	0,072	20	2
	23	70,078	Tot	0,056	0,053	21	1
	24	155,302	Lebt			21	0

Tabelle A14: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier nach Maximalwerten anhand Tumorproben aus OP (n = 29)

	Mittelwer	t			Median				
			95 %-Konfidenzintervall				95 %-Konfide	enzintervall	
OP			Untere	Obere			Untere	Obere	
Maximalwert	Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	
0/1	62,824	21,582	20,524	105,124	36,304	6,874	22,831	49,777	
2/3	37,062	7,416	22,526	51,597	22,669	5,855	11,194	34,144	
Gesamt	42,022	7,310	27,695	56,350	30,719	7,426	16,163	45,275	

Tabelle A15: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit nach Maximalwerten anhand Tumorproben aus OP (n= 29)

Tabelle A16: Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von Maximalwert OP (n = 29)

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	1,065	1	,302

## 6.3 Ergebnisse Positiv-Index (Tabelle A17-A23)

Patienten-ID	Positiv-Ind	ex
	ABC-A3 Baseline	ABC-A3 OP
1	0	0
2	k. M.	0
3	k. M.	200
4	0	200
5	k. M.	10
6	k. M.	10
7	300	k. M.
8	k. M.	0
9	175	205
10	45	200
11	k. M.	200
12	k. M.	40
13	120	15
14	0	205
15	230	k. M.
16	k. M.	205
17	150	140
18	200	110
19	160	180
20	240	60
21	k. M.	215
22	0	205
23	k. M.	0
24	k. M.	20
25	k. M.	200
26	k. M.	0
27	70	60
28	k. M.	35
29	k. M.	300
30	k. M.	170
31	200	100

Tabelle A17: Ergebnisse ABC-A3 Positiv-Index anhand der Tumorproben aus Baseline (n = 15) und OP (n = 29)

k.M. = kein Material

				Kumulierter .	Anteil	Anzahl der	Anzahl der	
Baseline				Uberlebender	zum Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen	
Positiv-Index	x	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle	
0-100	1	9,265	Tot	0,833	0,152	1	5	
	2	21,881	Tot	0,667	0,192	2	4	
	3	31,441	Tot	0,500	0,204	3	3	
	4	51,220	Tot	0,333	0,192	4	2	
	5	135,392	Tot	0,167	0,152	5	1	
	6	155,302	Lebt			5	0	
101-300	1	8,082	Tot	0,889	0,105	1	8	
	2	11,269	Tot	,778	0,139	2	7	
	3	11,663	Tot	,667	0,157	3	6	
	4	36,172	Lebt		•	3	5	
	5	36,337	Lebt			3	4	
	6	49,741	Tot	0,500	0,186	4	3	
	7	59,006	Tot	0,333	0,184	5	2	
	8	108,222	Tot	0,167	0,150	6	1	
	9	149,224	Lebt			6	0	

Tabelle A18: Überlebenstabelle nach Ka	plan-Meier nach PI anhand	Tumorproben aus B	aseline $(n = 15)$

Tabelle A.19: Mittelwerte und Mediane für Überlebenszeit nach PI anhand Tumorproben aus Baseline (n = 15)

		Ν	littelwert				Median	
Baseline			95 %-Konfider	nzintervall			95 %-Konfider	nzintervall
Positiv-			Untere	Obere			Untere	
Index	Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	Schätzer	StdFehler	Grenze	Obere Grenze
0-100	67,417	23,188	21,969	112,865	31,441	17,966	,000	66,655
101-300	64,478	18,467	28,283	100,673	49,741	26,465	,000	101,614
Gesamt	67,456	14,973	38,108	96,803	51,220	15,760	20,331	82,109

Tabelle A20: Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von PI Baseline (n = 15)

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0,000	1	0,990

				Kumulierter Ant	eil	Anzahl der	Anzahl der
OP				Uberlebender zu	m Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
Positiv-Inde:	x	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
0-100	1	6,045	Tot	0,929	0,069	1	13
	2	8,082	Tot	0,857	0,094	2	12
	3	11,663	Tot	0,786	0,110	3	11
	4	13,076	Tot	0,714	0,121	4	10
	5	21,881	Tot	0,643	0,128	5	9
	6	22,374	Tot	0,571	0,132	6	8
	7	23,162	Tot	0,500	0,134	7	7
	8	30,029	Tot	0,429	0,132	8	6
	9	30,719	Tot	0,357	0,128	9	5
	10	36,304	Tot	0,286	0,121	10	4
	11	52,238	Tot	0,214	0,110	11	3
	12	59,006	Tot	0,143	0,094	12	2
	13	89,232	Tot	0,071	0,069	13	1
	14	135,392	Tot	0,000	0,000	14	0
101-300	1	9,265	Tot	0,933	0,064	1	14
	2	11,269	Tot	0,867	0,088	2	13
	3	14,784	Tot	0,800	0,103	3	12
	4	18,168	Tot	0,733	0,114	4	11
	5	18,793	Tot	0,667	0,122	5	10
	6	22,669	Tot	0,600	0,126	6	9
	7	31,441	Tot	0,533	0,129	7	8
	8	31,737	Tot	0,467	0,129	8	7
	9	34,070	Tot	0,400	0,126	9	6
	10	36,172	Lebt			9	5
	11	36,337	Lebt			9	4
	12	49,741	Tot	0,300	0,128	10	3
	13	51,220	Tot	0,200	0,118	11	2
	14	70,078	Tot	0,100	0,092	12	1
	15	155,302	Lebt			12	0

		Ν	littelwert		Median			
OP			95 %-Konfide	nzintervall			95 %-Konfidenzintervall	
Positiv-			Untere	Obere			Untere	Obere
Index	Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze	Schätzer	StdFehler	Grenze	Grenze
0-100	38,515	9,615	19,670	57,360	23,162	7,161	9,127	37,197
101-300	45,447	11,666	22,582	68,312	31,737	7,343	17,346	46,129
Gesamt	42,022	7,310	27,695	56,350	30,719	7,426	16,163	45,275

Tabelle A.22: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit nach PI anhand Tumorproben aus OP (n = 29)

Tabelle A23: Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von PI OP (n = 15)

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0,333	1	0,564

# 6.4 Ergebnisse Prä-Post-Vergleich der neoadjuvanten Therapie (n = 13) (Tabelle A24-A27)

Tabelle A24: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier nach Kollektiv Prä-Post-Vergleich neoadjuvante Therapie (n = 13)

				Kumulierter Ante	il	Anzahl der	Anzahl der
Tumormate	rial			Überlebender zun	n Zeitpunkt	kumulativen	verbliebenen
Baseline + 0	ЭР	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
Patient	1	8,080	Tot	0,923	0,074	1	12
	2	9,260	Tot	0,846	0,100	2	11
	3	11,270	Tot	0,769	0,117	3	10
	4	11,660	Tot	0,692	0,128	4	9
	5	21,880	Tot	0,615	0,135	5	8
	6	31,440	Tot	0,538	0,138	6	7
	7	36,170	Lebt			6	6
	8	36,340	Lebt			6	5
	8	49,740	Tot	0,431	0,147	7	4
	10	51,220	Tot	0,323	0,144	8	3
	11	59,010	Tot	0,215	0,130	9	2
	12	135,390	Tot	0,108	0,100	10	1
	13	155,300	Lebt			10	0

	Mittelwert					1	Median	
			95 %-Konfi	denzintervall			95 %-Konfi	denzintervall
Tumormaterial		Std	Untere	Obere		Std	Untere	Obere
Baseline +OP	Schätzer	Fehler	Grenze	Grenze	Schätzer	Fehler	Grenze	Grenze
Gesamt	55,732	15,147	26,045	85,419	49,740	22,134	6,357	93,123

Tabelle A.25: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit nach Kaplan-Meier Kollektiv Prä-Post-Vergleich neoadjuvante Therapie (n = 13)

Tabelle A26: Überlebenstabelle nach Kaplan-Meier nach Kollektiv Prä-Post-Vergleich neoadjuvante Therapie (n = 13); getrennt nach Gruppe Responder und Non-Responder

				Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen	Anzahl der verbliebenen
Regressionsgrad na	ach Junker	Zeit	Status	Schätzer	StdFehler	Ereignisse	Fälle
Non-Responder	1	9,260	Tot	0,667	0,272	1	2
	2	11,270	Tot	0,333	0,272	2	1
	3	11,660	Tot	0,000	0,000	3	0
Responder	1	8,080	Tot	0,889	0,105	1	8
	2	31,440	Tot	0,778	0,139	2	7
	3	36,170	Lebt			2	6
	4	36,340	Lebt			2	5
	5	49,740	Tot	0,622	0,178	3	4
	6	51,220	Tot	0,467	0,190	4	3
	7	59,010	Tot	0,311	0,179	5	2
	8	135,390	Tot	0,156	0,142	6	1
	9	155,300	Lebt			6	0

Tabelle A27: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit nach Kaplan-Meier Kollektiv Prä-Post-Vergleich neoadjuvante Therapie (n = 13), getrennt nach Gruppe Responder und Non-Responder

	Mittelwert					Μ	ledian	
			95 %-Konfidenzintervall				95 %-Konfi	denzintervall
	Schätze	Std	Untere	Obere		Std	Untere	Obere
	r	Fehler	Grenze	Grenze	Schätzer	Fehler	Grenze	Grenze
Non-Responder	10,730	,744	9,273	12,187	11,270	1,641	8,053	14,487
Responder	74,494	18,718	37,807	111,181	51,220	5,650	40,147	62,293
Gesamt	58,553	16,144	26,911	90,195	49,740	13,092	24,079	75,401

Tabelle A28: Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die Gruppen Responder vs. Non-Responder (n = 13)

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	7,279	1	0,007

## 6.5 Statistisch signifikante Spearman-Korrelationen (Tabelle A29-A31)

		ABC-A3 Baseline	
		Maximalwerte	Alter
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,705**
	Sig. (2-seitig)		0,003
	N	15	15
Alter bei Erstdiagnose	Korrelationskoeffizient	-0,705**	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,049	•
	N	15	31

Tabelle A29: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Alter bei Erstdiagnose

\*\*: Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle A30: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und Geschlecht

		ABC-A3 OP	
		Maximalwerte	Geschlecht
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	0,383*
	Sig. (2-seitig)		0,040
	N	29	29
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	0,383*	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,040	
	N	29	31

\*: Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle A31: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert	(Tumorproben	OP) und Raucherstatus
--	--------------	-----------------------

		ABC-A3 OP	
		Maximalwerte	Raucherstatus
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,472*
	Sig. (2-seitig)	•	0,013
	N	29	28
Raucherstatus	Korrelationskoeffizient	-0,472*	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,013	•
	Ν	28	30

\*. Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

# 6.6 Spearman-Korrelationen ABC-A3 Maximalwerte Baseline und klinische Parameter (statistisch nicht signifikant; Tabelle A32-A40)

		ABC-A3 Baseline	
		Maximalwerte	Geschlecht
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	0,426
	Sig. (2-seitig)	•	0,113
	N	15	15
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	0,426	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,113	
	N	15	31

Tabelle A32: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Geschlecht

Tabelle A33: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Histologie

		ABC-A3 Baseline	
		Maximalwerte	Histologie
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,302
	Sig. (2-seitig)		0,275
	N	15	15
Histologie	Korrelationskoeffizient	-0,302	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,275	•
	N	15	31

Tabelle A34: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Differenzierungsgrad

		ABC-A3 Baseline	Differenzierungs-
		Maximalwerte	grad
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,075
	Sig. (2-seitig)	•	0,789
	N	15	15
Differenzierungsgrad	Korrelationskoeffizient	-0,075	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,789	•
	N	15	31

#### Tabelle A35: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Raucherstatus

		ABC-A3 Baseline	Raucherstatus
		mammawerte	radenerstatus
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,050
	Sig. (2-seitig)	•	0,865
	N	15	14
Raucherstatus	Korrelationskoeffizient	0-,050	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,865	
	N	14	30

		ABC-A3 Baseline	pack years
		Maximalwerte	(< 36,83/ ≥ 36,83)
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	0,158
	Sig. (2-seitig)		0,589
	N	15	14
pack years	Korrelationskoeffizient	0,158	1,000
$(< 36,83 / \ge 36,83)$	Sig. (2-seitig)	0,589	•
	N	14	30

#### Tabelle A36: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und pack years

### Tabelle A37: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Nodalstatus pN

		ABC-A3 Baseline	
		Maximalwerte	pN
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	0,263
	Sig. (2-seitig)		0,344
	N	15	15
pN	Korrelationskoeffizient	0,263	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,344	
	Ν	15	31

Tabelle A38: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und Regressionsgrad nach Junker

		ABC-A3 Baseline	Regressionsgrad
		Maximalwerte	nach Junker
ABC-A3 Baseline Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,330
	Sig. (2-seitig)	•	0,249
	N	15	14
Regressionsgrad nach Junker	Korrelationskoeffizient	-0,330	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,249	
	N	14	30

#### Tabelle A39: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und UICC6

		ABC-A3 Baseline	
		Maximalwert	UICC6
ABC-A3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,492
Maximalwert	Sig. (2-seitig)		0,062
	N	15	15
UICC6	Korrelationskoeffizient	-0,492	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,062	
	N	15	31

		ABC-A3 Baseline	
		Maximalwert	UICC8
ABC-A3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,169
Maximalwert	Sig. (2-seitig)		0,547
	N	15	15
UICC8	Korrelationskoeffizient	-0,169	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,547	
	Ν	15	31

#### Tabelle A40: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben Baseline) und UICC8

# 6.7 Spearman-Korrelationen ABC-A3 Maximalwerte OP und klinische Parameter (statistisch nicht signifikant; Tabelle A41-A48)

Tabelle A41: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (	(Tumorproben OP)	und Alter bei Erstdiagnose
--	------------------	----------------------------

		ABC-A3 OP	Alter bei
		Maximalwerte	Erstdiagnose
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	0,005
	Sig. (2-seitig)	•	0,977
	N	29	29
Alter bei Erstdiagnose	Korrelationskoeffizient	0,005	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,977	
	N	29	31

Tabelle A42: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und Histologie

		ABC-A3 OP	
		Maximalwerte	Histologie
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,053
	Sig. (2-seitig)		0,785
	N	29	29
Histologie	Korrelationskoeffizient	-0,053	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,785	
	N	29	31

Tabelle A43: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und Differenzierungsgrad

		ABC-A3 OP	Differenzierungs-
		Maximalwerte	grad
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,173
	Sig. (2-seitig)	•	0,371
	N	29	29
Differenzierungsgrad	Korrelationskoeffizient	-0,173	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,371	
	N	29	31

		ABC-A3 OP Maximalwerte	pack years
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,350
	Sig. (2-seitig)		0,068
	N	29	28
pack years	Korrelationskoeffizient	-0,350	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,068	•
	Ν	28	30

### Tabelle A44: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und pack years

## Tabelle A45: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und Nodalstatus

		ABC-A3 OP Maximalwerte	pN
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	0,023
	Sig. (2-seitig)		0,907
	N	29	29
pN	Korrelationskoeffizient	0,023	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,907	
	Ν	29	31

#### Tabelle A46: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und Regressionsgrad nach Junker

		ABC-A3 OP	Regressionsgrad
		Maximalwerte	nach Junker
ABC-A3 OP Maximalwerte	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,060
	Sig. (2-seitig)		0,761
	N	29	28
Regressionsgrad nach Junker	Korrelationskoeffizient	-0,060	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,761	•
	Ν	28	30

#### Tabelle A47: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und UICC6

		ABC-A3 OP	
		Maximalwerte	UICC6
ABC-A3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,053
Maximalwerte	Sig. (2-seitig)		0,785
	N	29	29
UICC6	Korrelationskoeffizient	0,053	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,785	
	Ν	29	31

		ABC-A3 OP	
		Maximalwerte	UICC8
ABC-A3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,111
Maximalwerte	Sig. (2-seitig)	•	0,567
	N	29	29
UICC8	Korrelationskoeffizient	0,111	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,567	
	N	29	31

#### Tabelle A48: Spearman-Korrelation ABC-A3 Maximalwert (Tumorproben OP) und UICC8

# 6.8 Spearman-Korrelationen ABC-A3 Baseline PI und klinische Parameter (statistisch nicht signifikant; Tabelle A49-A58)

Tabelle A49: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tume	orproben Baseline) und Geschlecht
---	-----------------------------------

		ABCA3 Baseline	
		PI	Geschlecht
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	0,289
Ы	Sig. (2-seitig)	•	0,297
	Ν	15	15
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	0,289	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,297	
	Ν	15	31

Tabelle A50: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI	(Tumorproben Baseline)	und Alter bei Erstdiagnose
---	------------------------	----------------------------

		ABCA3 Baseline	Alter bei
		PI	Erstdiagnose;
			< 65 Jahre; > 65Jahre
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,480
Ы	Sig. (2-seitig)	•	0,070
	N	15	15
Alter bei Erstdiagnose;	Korrelationskoeffizient	-0,480	1,000
< 65 Jahre; >65Jahre	Sig. (2-seitig)	0,070	
	N	15	31

		ABCA3 Baseline PI	Histologie
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,408
Ы	Sig. (2-seitig)	•	0,131
	N	15	15
Histologie	Korrelationskoeffizient	-0,408	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,131	•
	N	15	31

#### Tabelle A51: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und Histologie

## Tabelle A52: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und Differenzierungsgrad

		ABCA3 Baseline PI	Differenzierungsgrad
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,272
Ы	Sig. (2-seitig)		0,326
	N	15	15
Differenzierungsgrad	Korrelationskoeffizient	-0,272	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,326	
	Ν	15	31

#### Tabelle A53: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und Raucherstatus

		ABCA3 Baseline PI	Raucherstatus
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,141
Ы	Sig. (2-seitig)		0,630
	Ν	15	14
Raucherstatus	Korrelationskoeffizient	-0,141	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,630	
	Ν	14	30

#### Tabelle A54: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und pack years

		ABCA3 Baseline PI	pack years
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,149
Ы	Sig. (2-seitig)		0,611
	Ν	15	14
pack years	Korrelationskoeffizient	-0,149	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,611	
	Ν	14	30

		ABCA3 Baseline PI	pN
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	0,305
PI	Sig. (2-seitig)		0,269
	N	15	15
pN	Korrelationskoeffizient	0,305	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,269	
	N	15	31

Tabelle A55: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und pN

## Tabelle A56: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und Regressionsgrad nach Junker

		ABCA3 Baseline PI	Regressionsgrad nach
			Junker
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,026
Ы	Sig. (2-seitig)		0,930
	N	15	14
Regressionsgrad nach Junker	Korrelationskoeffizient	-0,026	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,930	
	N	14	30

Tabelle A57: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben Baseline) und UICC6

		ABCA3 Baseline PI	UICC6
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,389
PI	Sig. (2-seitig)	•	0,152
	N	15	15
UICC6	Korrelationskoeffizient	-0,389	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,152	
	Ν	15	31

Tabelle A58: Spearman-Korrelation	ABC-A3 PI (	(Tumorproben	Baseline) und UICC8
-----------------------------------	-------------	--------------	---------------------

		ABCA3 Baseline PI	UICC8
ABCA3 Baseline	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,068
Ы	Sig. (2-seitig)		0,810
	N	15	15
UICC8	Korrelationskoeffizient	-0,068	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,810	
	N	15	31

# 6.9 Spearman-Korrelationen ABC-A3 PI OP und klinische Parameter (statistisch nicht signifikant; Tabelle A59-A68)

		ABCA3 OP PI	Geschlecht
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,044
PI	Sig. (2-seitig)		0,820
	N	29	29
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	0,044	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,820	
	N	29	31

Tabelle A59: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Geschlecht

Tabelle A60: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Alter bei Erstdiagnose

		ABCA3 OP	Alter bei Erstdiagnose;
		PI	< 65 Jahre; > 65Jahre
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,133
Ы	Sig. (1-seitig)		0,491
	N	29	29
Alter bei Erstdiagnose;	Korrelationskoeffizient	0,122	1,000
< 65 Jahre; > 65Jahre	Sig. (1-seitig)	0,491	•
	N	29	31

Tabelle A61: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Histologie

		ABCA3 OP PI	Histologie
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,025
PI	Sig. (1-seitig)		0,897
	Ν	29	29
Histologie	Korrelationskoeffizient	-0,025	1,000
	Sig. (1-seitig)	0,897	
	Ν	29	31

Tabelle A62: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Differenzierungsgrad

		ABCA3 OP PI	Differenzierungsgrad
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,111
Ы	Sig. (1-seitig)		0,566
	Ν	29	29
Differenzierungsgrad	Korrelationskoeffizient	0,111	1,000
	Sig. (1-seitig)	0,566	
	Ν	29	31

		ABCA3 OP PI	Raucherstatus
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,175
PI	Sig. (1-seitig)		0,372
	Ν	29	28
Raucherstatus	Korrelationskoeffizient	-0,175	1,000
	Sig. (1-seitig)	0,372	
	Ν	28	30

Tabelle A63: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Raucherstatus

Tabelle A64: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und pack years

		ABCA3 OP PI	pack years
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	-0,207
Ы	Sig. (1-seitig)	•	0,291
	N	29	28
pack years	Korrelationskoeffizient	-0,207	1,000
	Sig. (1-seitig)	0,291	•
	Ν	28	30

Tabelle A65: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Nodalstatus

		ABCA3 OP PI	pN
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,236
Ы	Sig. (1-seitig)		0,218
	N	29	29
pN	Korrelationskoeffizient	0,236	1,000
	Sig. (1-seitig)	0,218	
	N	29	31

Tabelle A66: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und Regressionsgrad nach Junker

			Regressionsgrad nach
		ABCA3 OP PI	Junker
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,138
Ы	Sig. (1-seitig)		0,482
	Ν	29	28
Junker	Korrelationskoeffizient	0,138	1,000
	Sig. (1-seitig)	0,482	
	Ν	28	30

		ABCA3 OP PI	UICC6
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,170
Ы	Sig. (2-seitig)		0,377
	Ν	29	29
UICC6	Korrelationskoeffizient	0,170	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,377	
	Ν	29	31

Tabelle A67: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und UICC8

Tabelle A68: Spearman-Korrelation ABC-A3 PI (Tumorproben OP) und UICC8

		ABCA3 OP PI	UICC8
ABCA3 OP	Korrelationskoeffizient	1,000	0,220
PI	Sig. (2-seitig)	•	0,251
	Ν	29	29
UICC8	Korrelationskoeffizient	0,220	1,000
	Sig. (2-seitig)	0,251	
	Ν	29	31

# 7 Literaturverzeichnis

- Aberuyi N, Rahgozar S, Khosravi Dehaghi Z, Moafi A, Masotti A, Paolini A (2017): The translational expression of ABCA2 and ABCA3 is a strong prognostic biomarker for multidrug resistance in pediatric acute lymphoblastic leukemia. OncoTargets Ther <u>10</u>, 3373–3380
- Adebonojo SA, Bowser AN, Moritz DM, Corcoran PC (1999): Impact of revised stage classification of lung cancer on survival: a military experience. Chest <u>115</u>, 1507–1513
- Albrecht C, Viturro E (2007): The ABCA subfamily—gene and protein structures, functions and associated hereditary diseases. Pflüg Arch Eur J Physiol <u>453</u>, 581–589
- Asamura H (2014): Role of limited sublobar resection for early-stage lung cancer: steady progress. J Clin Oncol <u>32</u>, 2403–2404
- Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, Savukoski DO, Hall D, Shivdasani P, Heng JC, Dahlberg SE, Jänne PA, Verma S et al. (2016): MET exon 14 mutations in non–small-cell lung cancer are associated with advanced age and stage-dependent MET genomic amplification and c-Met overexpression. J Clin Oncol <u>34</u>, 721–730
- Ban N, Matsumura Y, Sakai H, Takanezawa Y, Sasaki M, Aarai H, Inagaki N (2007): ABCA3 as a lipid transporter in pulmonary surfactant biogenesis. J Biol Chem <u>282</u>, 9628-9634
- Bedetti B, Bertolaccini L, Rocco R, Schmidt J, Solli P, Scarci M (2017): Segmentectomy versus lobectomy for stage I non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. J Thorac Dis <u>9</u>, 1615–1623
- Benbrahim-Tallaa L, Baan R, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Guha N, Loomis
   D, Straif K (2012): Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes. Lancet Oncol <u>13</u>, 663–664
- Boffetta P (2006): Human cancer from environmental pollutants: The epidemiological evidence. Mutat Res Toxicol Environ Mutagen <u>608</u>, 157–162
- Brambilla E, Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y (2001): The new World Health Organization classification of lung tumours. Eur Respir J <u>18</u>, 1059–1068
- Bundesamt für Strahlenschutz (2015): Umweltradioaktivität und Strahlenbelastung im Jahr 2015. https://doris.bfs.de/jspui/bitstream/urn:nbn:de:0221-2017072814312/1/ Parlamentsbericht\_2015.pdf; abgerufen am 20.02.2020

- Chapuy B, Koch R, Radunski U, Corsham S (2008): Intracellular ABC transporter A3 confers multidrug resistance in leukemia cells by lysosomal drug sequestracion. Leukemia <u>22</u>, 1576-1586
- Chapuy B, Panse M, Radunski U, Koch R, Wenzel D, Inagaki N, Haase D, Truemper L, Wulf GG (2009): ABC transporter A3 facilitates lysosomal sequestration of imatinib and modulates susceptibility of chronic myeloid leukemia cell lines to this drug. Haematologica <u>94</u>, 1528-1536
- Chen DS, Mellman I (2013): Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. Immunity <u>39</u>, 1–10
- Cheong N, Zhang H, Madesh M, Zhao M, Yu K, Dodia C, Fisher AB, Savani RC, Shuman H (2007): ABCA3 is critical for lamellar body biogenesis in vivo. J Biol Chem <u>282</u>, 23811–23817
- Chiou HL, Wu MF, Liaw YC, Cheng YW, Wong RH, Chen CY, Lee H (2003): The presence of human papillomavirus type 16/18 DNA in blood circulation may act as a risk marker of lung cancer in Taiwan. Cancer <u>97</u>, 1558–1563
- Ciotti M, Giuliani L, Ambrogi V, Ronci C, Benedetto A, Mineo TC, Syrjänen K, Favalli C (2006): Detection and expression of human papillomavirus oncogenes in non-small cell lung cancer. Oncol Rep <u>16</u>, 183–189
- Davis W, Boyd JT, Ile KE, Tew KD (2004): Human ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) positively regulates low-density lipoprotein receptor expression and negatively regulates cholesterol esterification in Chinese hamster ovary cells. Biochim Biophys Acta <u>1683</u>, 89–100
- Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R (2001): The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. Genome Res <u>11</u>, 1156–1166
- De Freitas AC, Gurgel AP, de Lima EG, São Marcos B, Medeiros do Amaral CM (2016): Human papillomavirus and lung cancinogenesis: an overview. J Cancer Res Clin Oncol <u>142</u>, 2415–2427
- DGHO (2019): Leitlinie NSCLC. Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie e.V. DGHO. https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-nicht-kleinzellignsclc/@guideline/html/index.html; abgerufen am 18.02.2020
- dkfz (2020): Deutsches Krebsforschungszentrum; Tabakatlas Deutschland 2020; Heidelberg. Pabst Science Publishers
- Douillard JY, Tribodet H, Aubert D, Shepherd FA, Rosell R, Ding K, Veillard AS, Seymour L et al. (2010): Adjuvant cisplatin and vinorelbine for completely resected non-small cell lung cancer: subgroup analysis of the lung adjuvant cisplatin evaluation. J Thorac Oncol <u>5</u>, 220–228

- Emmert A, Straube C, Buentzel J, Roever C (2017): Robotic versus thoracoscopic lung resection: A systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore) <u>96</u>, e7633
- Ferguson MK, Lehman AG (2003): Sleeve lobectomy or pneumonectomy: optimal management strategy using decision analysis techniques. Ann Thorac Surg <u>76</u>, 1782–1788
- Field RW, Steck DJ, Smith BJ, Brus CP, Fisher EL, Neuberger JS, Platz CE, Robinson RA, Woolson RF, Lynch CF (2000): Residential radon gas exposure and lung cancer. The Iowa radon lung cancer study. Am J Epidemiol <u>151</u>, 1091–1102
- Garmany TH, Moxley MA, White FV, Dean M, Hull WM, Whitsett JA, Nogee LM, Hamvas A (2006): Surfactant composition and function in patients with ABCA3 mutations. Pediatr Res <u>59</u>, 801– 805
- Ginsberg RJ, Rubinstein LV (1995): Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1N0 non-small cell lung cancer. The Annals of Thoracic Surgery <u>60</u>, 615-623
- Giuliani L, Favalli C, Syrjanen K, Ciotti M (2007): Human papillomavirus infections in lung cancer. detection of E6 and E7 transcripts and review of the literature. Anticancer Res <u>27</u>, 2697–2704
- Goeckenjan G (2010): Lungenkrebs Geschichtliche Entwicklung, derzeitiger Stand und Ausblick. Pneumologie <u>64</u>, 555–559
- Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, Postmus PE, (2007): The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. J Thorac Oncol <u>2</u>, 706–714
- Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta Ramon, Asamura H, Eberhardt WEE, Nicholson AG, Groome P, Mitchell A (2016): 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 <u>11</u>, 39–51

Higgins CF (1992): ABC transporters: from microorganisms to man. Annu Rev Cell Biol 8, 67-113

- Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, Di Maria MV, Veve R (2003): Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on progression. J Clin Oncol <u>21</u> 3798-3807
- Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, Nuchtern JG, Jax TW(2004): A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells. Proc Natl Acad Sci U S A <u>101</u>, 14228-14233

- Jeremić B, Casas F, Dubinsky P, Gomez-Caamano A, Čihorić N, Videtic G (2016): Surgery for stage IIIA non–small-cell lung cancer: lack of predictive and prognostic factors identifying any subgroup of patients benefiting from it. Clin Lung Cancer <u>17</u>, 107–112
- Junker K (2001): Prognostic factors in stage I/II non-small cell lung cancer. Lung Cancer 33, S17-S24
- Junker K (2014): Therapieinduzierte Tumorregression und Regressionsgrading bei Lungenkarzinomen. Pathol <u>35</u>, 574–577
- Junker K, Büttner R, Langer T, Ukena D (2018): Pathologisch-anatomische Diagnostik gemäß S3-Leitlinie Lungenkarzinom 2018. Pathol <u>39</u>, 589–603
- Kaminski WE, Piehler A, Wenzel JJ (2006): ABC A-subfamily transporters: structure, function and disease. Biochim Biophys Acta <u>1762</u>: 510-24
- Kröner C, Wittmann T, Reu S, Teusch V, Klemme M, Rauch D, Hengst M (2017): Lung disease caused by ABCA3 mutations. J Thorax <u>72</u>, 213-220
- Lin MW, Kuo SW, Yang SM, Lee JM (2016): Robotic-assisted thoracoscopic sleeve lobectomy for locally advanced lung cancer. J Thorac Dis <u>8</u>, 1747–1752
- Lindemann J (2013): Thoraxchirurgische Standardeingriffe zur Therapie des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms. Interdisziplinäre Onkologie <u>5</u>, 13–21
- Matsuda A, Yamaoka K, Tango T (2012): Quality of life in advanced non-small cell lung cancer patients receiving palliative chemotherapy: A meta-analysis of randomized controlled trials. Exp Ther Med <u>3</u>, 134–140
- Mazières J, Brugger W, Cappuzzo F, Middel P, Frosch A, Bara I, Klingelschmitt G, Klughammer B (2013): Evaluation of EGFR protein expression by immunohistochemistry using H-score and the magnification rule: Re-analysis of the SATURN study. Lung Cancer <u>82</u>, 231–237
- Müller KM, Wiethege T (2004): Pathologie, Klassifikation und Stadieneinteilung bösartiger Lungentumoren. Radiol <u>44</u>, 415–426
- Nwogu CE, D'Cunha J, Pang H, Gu L, Wang X, Richards WG, Veit LJ, Demmy TL, Sugarbaker DJ, Kohman LJ (2015): VATS lobectomy has better perioperative outcomes than open lobectomy: CALGB 31001, an ancillary analysis of CALGB 140202 (Alliance). Ann Thorac Surg <u>99</u>, 399– 405
- Overbeck TR, Hupfeld T, Krause D, Waldmann-Beushausen R, Chapuy B, Guildenzoph B, Aung T, Inagaki N, Schöndube FA, Danner BC et al. (2013): Intracellular ATP-binding cassette transporter A3 is expressed in lung cancer cells and modulates susceptibility to cisplatin and paclitaxel. Oncology <u>84</u>, 362–370
- Overbeck TR, Arnemann J, Waldmann-Beushausen R, Trümper L, Schöndube FA, Reuter-Jessen K, Danner BC (2017): ABCA3 phenotype in non-small cell lung cancer indicates poor outcome. Oncology <u>93</u>, 270-278
- Peca D, Cutrera R, Masotti A, Boldrini R, Danhaive O (2015): ABCA3, a key player in neonatal respiratory transition and genetic disorders of the surfactant system. Biochem Soc Trans <u>43</u>, 913–919
- Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, Escriu C, Peters S, on behalf of the ESMO Guidelines Committee (2017): Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol <u>28</u>, iv1–iv21
- Robinson LA, Ruckdeschel JC, Wagner H, Stevens CW (2007): Treatment of non-small cell lung cancerstage IIIA. Chest <u>132</u>, 2438-2658
- Rosenberger A, Illig T, Korb K, Klopp N, Zietemann V, Wölke G, Meese E, Sybrecht G, Kronenberg F, Cebulla M et al. (2008): Do genetic factors protect for early onset lung cancer? A case control study before the age of 50 years. BMC Cancer <u>8</u>, 60
- Sarkadi B, Homolya L, Szakács G, Váradi A (2006): Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoimmunity defense system. Physiol Rev <u>86</u>, 1179–1236
- Schuette W, Schirmacher P, Eberhardt WEE, Fischer JR, von der Schulenburg JMG, Mezger J, Schumann C, Serke M, Zaun S, Dietel M, Thomas M (2015): EGFR mutation status and firstline treatment in patients with stage III/IV non-small cell lung cancer in germany: an observational study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 24, 1254–1261
- Secretan B, Straif K, Baan R, Grosse Y, Ghissassi FE, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V (2009): A review of human carcinogens—Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. Lancet Oncol <u>10</u>, 1033–1034
- Shulenin S, Nogee LM, Annilo T, Wert SE, Whitsett JA, Dean M (2004): ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. N Engl J Med <u>350</u>, 1296–1303
- Stayner L, Bena J, Sasco AJ, Smith R, Steenland K, Kreuzer M, Straif K (2007): Lung cancer risk and workplace exposure to environmental tobacco smoke. Am J Public Health <u>97</u>, 545–551

- Steinbach D, Gillet JP, Sauerbrey A, Gruhn B, Dawczynski K, Bertholet V, De Longueville F, Zintl F, Remacle J, Efferth T (2006): ABCA3 as a possible cause of drug resistance in childhood acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res <u>12</u>, 4357–4363
- Stupp R, Mayer M, Kann R, Weder W, Zouhair A, Betticher DC, Roth AD, Stahel RA, Majno SB et al. (2009): Neoadjuvant chemotherapy and radiotherapy followed by surgery in selected patients with stage IIIB non-small-cell lung cancer: a multicentre phase II trial. Lancet Oncol <u>10</u>, 785– 793
- Subramanian J, Govindan R (2007): Lung cancer in never smokers: a review. J Clin Oncol 25, 561–570
- Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV, Szczesna A, Ciuleanu TE, Dediu M, Ramlau R, Galiulin RK, Bálint B, Losonczy G et al. (2015): Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. Lancet Oncol <u>16</u>, 763–774
- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S et al. (2015): The 2015 World Health Organization Classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. J Thorac Oncol <u>10</u>, 1243–1260
- Van Meerbeeck JP, Damhuis RAM, Vos de Wael ML (2002): High postoperative risk after pneumonectomy in elderly patients with right-sided lung cancer. Eur Respir J <u>19</u>, 141–145
- Van Meerbeeck JP, Fennell DA, De Ruysscher DKM (2011): Small-cell lung cancer. The Lancet <u>378</u>, 1741–1755
- Vansteenkiste J, De Ruysscher D, Eberhardt WEE, Lim E, Senan S, Felip E, Peters S (2013): Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol <u>24</u>, vi89–vi98
- Vasiliou V, Vasiliou K, Nebert DW (2009): Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. Hum Genomics <u>3</u>, 281-290
- Vineis P, Airoldi L, Veglia P, Olgiati L, Pastorelli R, Autrup H, Dunning A, Garte S, Gormally E et al. (2005): Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. BMJ <u>330</u>, 277
- Whitsett JA, Wert SE, Weaver TE (2010). Alveolar surfactant homeostasis and the pathogenesis of pulmonary disease. Annu Rev Med. <u>61</u>, 105-119

- WHO (2020): World cancer report: cancer research for cancer prevention. Edited by Bernard W. Stewart and Christopher P.Wild, Lyon 2020
- Wittekind C (2017): TNM-Klassifikation maligner Tumore. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Edition <u>8</u>, 336
- Wolf SJ, Lee CG (2012): ABC drug transporter and their impact on drug disposition/ drug sensitivity and resistence. Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions. New York: Wiley; <u>201</u>: 115-194
- Wulf GG, Modlich S, Inagaki N, Reinhardt D, Schroers R, Griesinger F, Trumper L (2004): ABC transporter ABCA3 is expressed in acute myeloid leukemia blast cells and participates in vesicular transport. Haematologica <u>89</u>, 1395–1397
- Yahya S, Ghafoor Q, Stevenson R, Watkins S, Allos B (2018): Evolution of stereotactic ablative radiotherapy in lung cancer and birmingham's (UK) experience. Medicines <u>5</u>, 77
- Yang X, Zhang Z, Qiu M, Hu J, Fan X, Wang J, Xu L, Yin R (2013): Glypican-5 is a novel metastasis suppressor gene in non-small cell lung cancer. Cancer Lett <u>341</u>, 265–273
- Zhao X, Qian L, Luo Q, Huang J (2013): Segmentectomy as a safe and equally effective surgical option under complete video-assisted thoracic surgery for patients of stage I non-small cell lung cancer. J Cardiothorac Surg <u>8</u>, 116
- ZfKD (Zentrum für Krebsregisterdaten), GEKID (Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, e.V.): Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2008. Robert Koch-Institut, Berlin 2008
- ZfKD (Zentrum für Krebsregisterdaten), GEKID (Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, e.V.): Krebs in Deutschland für 2015 / 2016. 12. Ausgabe. Robert Koch-Institut, Berlin 2019

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt und motiviert haben.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Danner und Herrn Dr. med. Overbeck für die Überlassung des Themas und Betreuung der Arbeit.

Ganz besonders danke ich Frau Waldmann-Beushausen, die mich während des experimentellen Teils der Arbeit betreute. Sie stand mir stets geduldig und hilfsbereit zur Seite.