Aus der Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie
(Prof. Dr. med. Dipl.-Phys. F. Schöndube)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Das Expressionsverhalten von ABCA3 und TTF-1 in nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen

INAUGURIAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
für Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Johanna Friederike Arnemann

aus
Cuxhaven

Göttingen 2015

Dekan: **Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer**

I. Berichterstatter: **PD Dr. med. B. Danner**

II: Berichterstatter: **Prof. Dr. med. Hans-Ulrich Schildhaus**

III. Berichterstatter: **Prof. Dr. med. Gerald Wulf**

Tag der mündlichen Prüfung: **26.09.2016**

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis ..... **IV**

Abbildungsverzeichnis ..... **VI**

Tabellenverzeichnis ..... **VII**

1 Einleitung **1**

1.1 Bronchialkarzinome **1**

1.1.1 Epidemiologie 1

1.1.1.1 Inzidenz und Mortalität 1

1.1.1.2 Ätiologie 4

1.1.2 Klassifikation 8

1.1.2.1 Vorbemerkungen 8

1.1.2.3 NSCLC (nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom) 11

1.1.3 Staging 13

1.1.3.1 Das TNM-Schema 13

1.1.3.2 R-Klassifikation 17

1.1.3.3 UICC-Stadien 18

1.1.4 Grading 19

1.1.5 Therapie 19

1.1.6 Prognose 23

1.2 ABCA3 ..... **25**

1.3 TTF-1 ..... **29**

1.4 Zielsetzung der Arbeit **32**

2 Material und Methoden **35**

2.1 Patientenkollektiv **35**

2.1.1 Zusammensetzung 35

2.1.2 Datenerfassung und Follow-Up 35

2.2 Laboruntersuchungen **37**

2.2.1 Materialien 37

2.2.1.1 Vorbemerkungen ... 37
2.2.1.2 Chemikalien und Verbrauchsmaterialien ... 37
2.2.1.3 Gerätschaften ... 40
2.2.1.4 Software ... 40
2.2.2 Methoden ... 41
2.2.2.1 Herstellung der Tumorgewebeschnitte ... 41
2.2.2.2 Herstellung Hämalaun ... 41
2.2.2.3 Herstellung Puffer ... 42
2.2.2.4 Immunhistochemie ... 42
2.2.2.5 Lichtmikroskopische Auswertung ... 48
2.3 Auswertungen ... 55
2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte ... 55
2.3.2 Definition Rauchverhalten ... 59
2.4 Statistische Auswertung ... 59
3 Ergebnisse ... 60
3.1 Epidemiologie ... 60
3.1.1 Demographische Übersicht ... 60
3.1.2 Durchgeführte Therapien ... 61
3.1.3 Überlebenszeitanalyse und Todesursachen des Gesamtkollektivs ... 61
3.1.5 Überlebenszeitanalyse des Gesamtkollektivs anhand der Entitäten ... 63
3.2 Ergebnisse ABCA3 ... 64
3.2.1 Überlebenszeitanalyse anhand der Maximal-Werte ... 64
3.2.2 Überlebenszeitanalyse anhand des Positiv-Indexes ... 65
3.2.3 Korrelationsanalyse ... 66
3.2.3.1 Korrelationsanalyse anhand der Maximal-Werte ... 66
3.2.3.2 Korrelationsanalyse anhand des Positiv-Indexes ... 67
3.3 Ergebnisse TTF-1 ... 67
3.3.1 Überlebenszeitanalyse anhand der Maximal-Werte ... 68
3.3.2 Überlebenszeitanalyse anhand des Positiv-Indexes ... 69
3.3.3 Korrelationsanalyse ... 70
3.3.3.1 Korrelationsanalyse anhand der Maximal-Werte ... 70
3.3.3.2 Korrelationsanalyse anhand des Positiv-Indexes ... 71
3.4 Korrelationsanalyse ABCA3 und TTF-1 ... 71

4 Diskussion **73**
4.1 Epidemiologie **73**
4.2 Immunhistochemische Methodik **75**
4.3 Auswertung der semiquantitativen Immunhistochemie **79**
4.4 ABCA3 ..... **83**
4.5 TTF-1 ..... **86**
4.6 ABCA3 und TTF-1 im statistischen Vergleich **88**
4.7 Zusammenfassung **90**
4.7.1 Erkenntnisse der vorliegenden Studie 90
4.7.2 Ausblick 91
Anhang **92**
Tabellen **92**
Literaturverzeichnis **134**

Abkürzungsverzeichnis

ABC	ATP-binding cassette
ABC1	= ABCA; ATP-binding cassette sub-family A
ABCA	ATP-binding cassette sub-family A
ABCA1	ATP-binding cassette sub-family A member 1
ABCA2	ATP-binding cassette sub-family A member 2
ABCA3	ATP-binding cassette sub-family A member 3
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
ATS	American Thoracic Society
CCSP	Clara-Cell-Secretory-Protein
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DIMDI	Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information
DKG	Deutsche Krebsgesellschaft e.V.
EGFR	epidermal growth factor receptor
EML4-ALK	echinoderm microtubule–associated protein-like 4 - anaplastic lymphoma kinase
ERS	European Respiratory Society
IARC	International Agency for Research on Cancer
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer
ICD-O-3	International Classification of Diseases for Oncology 3 rd Edition
IHC	Immunhistochemie

kDa	Kilodalton
M	Metastase
N	Nodus
NKX2-1	NK2 homeobox 1
NSCLC	non small cell lung cancer
pAK	Primärantikörper
pN	pathologischer Nodalstatus
R	residual
sAK	Sekundärantikörper
SCLC	small cell lung cancer
SP	Surfactant-Protein
SP-A	Surfactant-Protein A
SP-B	Surfactant-Protein B
SP-C	Surfactant-Protein C
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences; Marke der Firma IBM
T/EBP	thyroid-specific-enhancer-binding protein
TBS	Tris-buffered saline
TBS-Puffer	Tris-buffered saline-Puffer
THG	Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie
TNM	Tumor, Nodus, Metastase
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
TTF-1	Thyroidaler Transkriptionsfaktor-1
UICC	Union internationale contre le cancer
VEGF	vascular endothelial growth factor
WHO	World Health Organization

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Das Transportprotein ABCA3 – eine schematische Darstellung der Proteinstruktur....26
Abbildung 2.1: Prinzip der indirekten Immunhistochemie (vereinfachtes Schema).. 44
Abbildung 2.2: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_0....49
Abbildung 2.3: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_1....49
Abbildung 2.4: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_2....50
Abbildung 2.5: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_3....50
Abbildung 2.6: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_0....51
Abbildung 2.7: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_1....51
Abbildung 2.8: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_2....52
Abbildung 2.9: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_3....52
Abbildung 2.10: Schema zur lichtmikroskopischen Auswertung....53
Abbildung 2.11: Scatter-Plot-Diagramm Positiv-Index ABCA3....57
Abbildung 2.12: Scatter-Plot-Diagramm Positiv-Index TTF-1....58
Abbildung 3.1: Kaplan-Meier-Überlebenskurve Gesamtkollektiv....62
Abbildung 3.2: Kaplan-Meier-Überlebenskurve Gesamtkollektiv nach Tumorentitäten....63
Abbildung 3.3: Kaplan-Meier-Überlebenskurve ABCA3 - Gruppen nach Maximal-Werten....64
Abbildung 3.4: Kaplan-Meier-Überlebenskurve ABCA3 - Positiv-Index....65
Abbildung 3.5: Kaplan-Meier-Überlebenskurve TTF-1 - Gruppen nach Maximal-Werten....68
Abbildung 3.6: Kaplan-Meier-Überlebenskurve TTF-1 - Positiv-Index....69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Maligne epitheliale Tumore der Lunge. 9
Tabelle 1.2: TNM-Klassifikation - Bedeutung vorangestellter Buchstaben 14
Tabelle 1.3: TNM-Klassifikation: "T" - Primärtumor. 15
Tabelle 1.4: TNM-Klassifikation: "N" - regionale Lymphknoten 16
Tabelle 1.5: TNM-Klassifikation: "M" - Fernmetastasen. 17
Tabelle 1.6: R-Klassifikation. 17
Tabelle 1.7: UICC-Klassifikation.. 18
Tabelle 1.8: 5-Jahres-Überleben Bronchialkarzinome. 24
Tabelle 2.1: Chemikalien. 37
Tabelle 2.2: Primärantikörper. 39
Tabelle 2.3: Sekundärantikörper. 39
Tabelle 2.4: Verbrauchsmaterialien. 39
Tabelle 2.5: Gerätschaften. 40
Tabelle 2.6: Software. 40
Tabelle 2.7: Ansatz von MAYERS saurem Hämatoxylin. 41
Tabelle 2.8: Herstellung der Stammlösung des Waschpuffers. 42
Tabelle 2.9: Herstellung der Gebrauchslösung des Waschpuffers. 42
Tabelle 2.10: Schematische Darstellung immunhistochemischer Färbung hinsichtlich ABCA3. 45
Tabelle 2.11: Schematische Darstellung immunhistochemischer Färbung hinsichtlich TTF-1. 47
Tabelle 3.1: Verteilung der Patienten nach Geschlechtern. 60
Tabelle 3.2: Patientenverteilung auf die UICC-Stadien – Gesamtkollektiv und aufgeschlüsselt nach Entitäten. 61
Tabelle A.1: Ergebnisse lichtmikroskopischer Auswertung ABCA3. 92
Tabelle A.2: Ergebnisse lichtmikroskopische Auswertung TTF-1 95

Tabelle A.3: Zusammenfassung der Fallverarbeitung Gesamtkollektiv (Kaplan-Meier). 97
Tabelle A.4: Überlebenstabelle Gesamtkollektiv (Kaplan-Meier). 98
Tabelle A.5: Zusammenfassung der Fallverarbeitung Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier). 100
Tabelle A.6: Überlebenstabelle Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier). 101
Tabelle A.7: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier). 104
Tabelle A.8: Gesamtvergleiche Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier). 104
Tabelle A.9: Zusammenfassung der Fallverarbeitung Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier). 104
Tabelle A.10: Überlebenstabelle Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier). 105
Tabelle A.11: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit, Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier). 108
Tabelle A.12: Gesamtvergleiche Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier). 108
Tabelle A.13: Zusammenfassung der Fallverarbeitung ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 108
Tabelle A.14: Überlebenstabelle ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 109
Tabelle A.15: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 112
Tabelle A.16: Gesamtvergleich ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 112
Tabelle A.17: Zusammenfassung der Fallverarbeitung ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 112
Tabelle A.18: Überlebenstabelle ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 113

Tabelle A.19: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 116
Tabelle A.20: Gesamtvergleich ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 116
Tabelle A.21: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Nodalstatus. 116
Tabelle A.22: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und UICC-Stadien. 117
Tabelle A.23: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Grading. 117
Tabelle A.24: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Histologie. 117
Tabelle A.25: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Rauchverhalten 118
Tabelle A.26: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Nodal-Status. 118
Tabelle A.27: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und UICC-Stadien. 118
Tabelle A.28: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Grading. 119
Tabelle A.29: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Histologie. 119
Tabelle A.30: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Geschlecht. 119
Tabelle A.31: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Rauchverhalten. 120
Tabelle A.32: ABCA3 statistisch signifikante Ergebnisse. 120
Tabelle A.33: Zusammenfassung der Fallverarbeitung TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 120
Tabelle A.34: Überlebenstabelle TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 121
Tabelle A.35: Mittelwerte und Mediane Überlebenszeit TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 124
Tabelle A.36: Gesamtvergleich TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier). 124
Tabelle A.37: Zusammenfassung der Fallverarbeitung TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 124
Tabelle A.38: Überlebenstabelle TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 125

Tabelle A.39: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 128
Tabelle A.40: Gesamtvergleiche TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier). 128
Tabelle A.41: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Nodal-Status. 128
Tabelle A.42: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Grading. 129
Tabelle A.43: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und UICC-Stadien. 129
Tabelle A.44: Spearman-Korrelation TTF-1 und Histologie. 129
Tabelle A.45: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Rauchverhalten. 130
Tabelle A.46: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Geschlecht. 130
Tabelle A.47: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Nodal-Status. 130
Tabelle A.48: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Grading. 131
Tabelle A.49: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und UICC. 131
Tabelle A.50: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Histologie. 131
Tabelle A.51: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Geschlecht. 132
Tabelle A.52: Spearman-Korrelation Positiv-Index und Rauchverhalten. 132
Tabelle A.53: TTF-1 statistisch signifikante Ergebnisse. 132
Tabelle A.54: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und ABCA3 Maximal-Werte. 133
Tabelle A.55: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Positiv-Index TTF-1. 133

1 Einleitung

1.1 Bronchialkarzinome

1.1.1 Epidemiologie

Das Bronchialkarzinom zählt zu den häufigsten Krebserkrankungen. Allein im Jahr 2008 erkrankten weltweit etwa 1,61 Millionen Menschen an Bronchialkarzinomen, dies stellte mit 12,7% den größten Anteil aller Neuerkrankungen an Krebs in jenem Jahr dar. Auch bei den weltweit ermittelten statistischen Erhebungen zu Todesfällen, die durch Krebserkrankungen verursacht wurden, war das Bronchialkarzinom 2008 führend: So starben weltweit etwa 1,38 Millionen Menschen an Bronchialkarzinomen – das ist ein Anteil von 18,2% aller durch Krebserkrankungen verursachten Sterbefälle (Ferlay et al. 2010).

1.1.1.1 Inzidenz und Mortalität

Vorkommen

Auch in Deutschland ist das Bronchialkarzinom eine der häufigsten Krebserkrankungen. Allein im Jahr 2008 erkrankten bundesweit etwa 33.960 Männer und etwa 15.570 Frauen an Bronchialkarzinomen. Dies ergab für das Jahr 2008 in Deutschland eine Neuerkrankungsrate für Männer von 84,4 pro 100.000 Personen und bei Frauen von 37,2 pro 100.000 Personen, was das Bronchialkarzinom bei Betrachtung der Gesamtbevölkerung zur dritthäufigsten Krebserkrankung in Deutschland machte. Die Entwicklung der Erkrankungs- und Sterberaten zeigte bei Männern und Frauen eine entgegengesetzte Tendenz: Während die Erkrankungs- und Sterberaten bei den Frauen seit den neunziger

Jahren des vergangenen Jahrhunderts in Deutschland jeweils um 30% gestiegen sind, nahmen die Raten der Männer hingegen fortlaufend ab (Krebs in Deutschland 2012).

Das mittlere Erkrankungsalter lag bei Männern 2008 bei 69 Jahren und bei Frauen bei 68 Jahren. Vergleicht man die Tumorstadien (T-Stadien) zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, ergibt sich bei getrennter Betrachtung von Männern und Frauen eine ähnliche Verteilung der Tumorstadien zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Hierbei war das T4-Stadium bei beiden Geschlechtern auffallend häufig vertreten (Krebs in Deutschland 2012).

Im Jahr 2008 sind in Deutschland 29.505 Männer und 12.841 Frauen an Bronchialkarzinomen verstorben. Damit war 2008 das Bronchialkarzinom führend bei den Todesursachenstatistiken der malignen Tumorerkrankungen der Männer in Deutschland: Es machte insgesamt einen Anteil von 26% aller Todesfälle in diesem Bereich aus. Bei den Frauen war das Bronchialkarzinom hier mit einem Anteil von 13% die dritthäufigste Todesursache (Krebs in Deutschland 2012). Im Jahr 2011 lagen die bösartigen Neubildungen der Bronchien und der Lunge insgesamt mit einem Anteil von 5,2% der Verstorbenen sogar an vierter Stelle aller Todesursachen in Deutschland hinter der chronischen ischämischen Herzkrankheit (8,3% der Verstorbenen), dem akuten Myokardinfarkt (6,1% der Verstorbenen) und der Herzinsuffizienz (5,3% der Verstorbenen) (Statistisches Bundesamt 2012).

Vergleich

Prognostisch stellt sich das Bronchialkarzinom ungünstig dar: Die relative 5-Jahres-Überlebensrate für Bronchialkarzinome in Deutschland liegt für Männer bei 15% und für Frauen bei 19% (Krebs in Deutschland 2012). Ähnlich niedrige Überlebensraten zeigen lediglich Krebs des Ösophagus, des Pankreas oder der Leber: Für Ösophagus-Krebs liegt die relative 5-Jahres-Überlebensrate in Deutschland bei Männern bei 16%, für Frauen bei 20%. Krebs des Pankreas hat in Deutschland eine relative 5-Jahres-Überlebensrate von 8% bei Männern und 7% bei

Frauen, während Krebs der Leber 5-Jaresüberlebensraten von 15% bei Männern und 13% bei Frauen aufweist (Krebs in Deutschland 2012). Diese Krebserkrankungen weisen allerdings im Vergleich zum Bronchialkarzinom, welches die dritthäufigste Krebserkrankung in Deutschland darstellt (2008 lag die Zahl der Neuerkrankungen im fünfstelligen Bereich), erheblich niedrigere Neuerkrankungsraten auf: An Krebs des Pankreas sind 2008 in Deutschland lediglich 7390 Männer und 7570 Frauen erkrankt. An Krebs der Leber erkrankten nur 5270 Männer und 2340 Frauen und an Krebs des Ösophagus erkrankten lediglich 4800 Männer und 1380 Frauen (Krebs in Deutschland 2012).

Entwicklung Weltweit

Betrachtet man die Entwicklung der Sterbefälle durch Krebs der Trachea, der Bronchien und der Lunge im Zeitraum von 1990 bis 2010 weltweit, so ist ein Anstieg der absoluten Zahlen an hierdurch verursachten Todesfällen zu beobachten: 1990 verstarben weltweit etwa 1.036.300 Menschen an Krebs der Trachea, der Bronchien und der Lunge; 2010 waren es 1.527.100 Menschen – das machte einen prozentualen Anstieg von 47,4%. Bei den Sterberaten pro 100.000 pro Jahr ist weltweit hingegen ein Abfall von 1990 zu 2010 von 8,3% zu verzeichnen: So verstarben 1990 weltweit 25,5 Menschen pro 100.000 Personen an Krebs der Trachea, der Bronchien und der Lunge, während es 2010 23,4 Menschen pro 100.000 Personen waren (Lozano et al. 2012).

Entwicklung Deutschlandweit

In Deutschland konnte im Zeitraum von 1998 bis 2008 eine Abnahme der Sterberate durch Lungenkrebs bei Männern nachgewiesen werden: 1998 lag die Anzahl der Verstorbenen pro 100.000 der Bevölkerung bei 64,7, 2008 bei 52,3. Bei den Frauen war in Deutschland hingegen ein Anstieg in diesem Zeitraum festzustellen: 1998 waren es 14,9 Verstorbene pro 100.000 der Bevölkerung, 2008 19,2 (Robert Koch-Institut 2011).

Diese Entwicklung wird dem veränderten Rauchverhalten sowohl von Frauen als auch von Männern zugeschrieben.

1.1.1.2 Ätiologie

Tabakrauchen

Die Hauptursache des Bronchialkarzinoms ist das Tabakrauchen. Zwischen 83% und 92% aller Lungenkrebsfälle bei Männern und zwischen 57% und 80% aller Lungenkrebsfälle bei Frauen sind auf das Zigarettenrauchen zurückzuführen (Boyle und Maisonneuve 1995).

Zigaretten- bzw. Tabakrauch enthält etwa 4000 verschiedene chemische Verbindungen, von denen durch die „International Agency for Research on Cancer“ (IARC) 69 Substanzen benannt wurden, die kanzerogen wirken. Zu den kanzerogenen Substanzen zählen unter anderem polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, aromatische Amine und tabakspezifische N-Nitrosamine (Hecht 1999; International Agency for Research on Cancer 2004).

Das Tabakrauchen wirkt sich begünstigend auf die Entstehung aller histologischen Typen von Bronchialkarzinomen aus, besonders häufig ist es aber mit der Entstehung von Plattenepithelkarzinomen und kleinzelligen Bronchialkarzinomen assoziiert (Pesch et al. 2012; Khuder 2001a).

Des Weiteren gibt es eine Beziehung zwischen dem Rauchverhalten - also der Anzahl der gerauchten Zigaretten in Verbindung mit der Dauer der Rauchgewohnheit - und der Häufigkeit des Auftretens von Bronchialkarzinomen. Das Rauchverhalten wird in sogenannten Packungsjahren oder auch englisch *pack years* charakterisiert, die nach folgender Formel berechnet werden können:

$$\frac{(\textit{Anzahl der Zigaretten pro Tag} \times \textit{Anzahl der Raucherjahre})}{20}$$

(Gerok et al. 2007).

Im Vergleich zu Nichtrauchern ergab sich im Rahmen einer italienischen Studie, geführt von Barbone et al. (1997), für Männer mit einem Rauchverhalten von weniger als 45 *pack years* ein 6,5-fach erhöhtes Risiko an einem Bronchialkarzinom zu erkranken. Bei einem Konsumverhalten von 45-89 *pack years* war das Risiko um das 12,7-fache gegenüber Nichtrauchern erhöht und bei Personen mit mehr als 89 *pack years* stieg das Risiko auf das 20,5-fache im Vergleich zu dem Risiko von Nichtrauchern (Barbone et al. 1997). Das Risiko kann durch Abstinenz stark gesenkt werden, erreicht aber sogar nach über zehn Jahren Abstinenz, trotz kontinuierlicher Senkung des Risikos über die Jahre, nie die Werte eines Nichtrauchers (Khuder 2001b). So liegt das Risiko nach 25 Jahren Rauch-Abstinenz zwischen 2,5- und 10-fach niedriger als bei Rauchern mit kontinuierlichem Rauchverhalten (Barbone et al. 1997; Vlaanderen et al. 2014).

Aber auch das sogenannte Passivrauchen erhöht das Risiko, an einem Bronchialkarzinom zu erkranken, erheblich. So ist es für Personen, die sich in einer Lebensgemeinschaft mit einem Raucher befinden, 1,2-mal wahrscheinlicher, an Lungenkrebs zu erkranken als unter Ausschluss einer solchen Exposition (Zhong et al. 2000). Insgesamt steigt das Risiko, an Lungenkrebs zu erkranken um 20%-30% bei Personen, die mit einem Raucher im selben Haushalt zusammenleben (U.S. Departement of Health an Human Services 2006). In Deutschland wurden Anstrengungen zum Schutz von Nichtrauchern unternommen, indem zum Beispiel das Rauchen in öffentlichen Gebäuden und in Gaststätten (Ausnahmen sind sogenannte Raucherkneipen) untersagt und strenge Arbeitsschutzrichtlinien zum Schutz von Nichtrauchern am Arbeitsplatz eingerichtet worden sind. Hierdurch soll das Risiko für Nichtraucher, an Raucher-assoziierten Krankheiten wie dem Bronchialkarzinom zu erkranken, zumindest in öffentlichen Räumen minimiert werden. Da keine Gesetzesvorgaben für den privaten Bereich in dieser Hinsicht erstellt werden können und somit weiterhin vielfach eine Exposition von Nichtrauchern gegenüber Zigarettenrauch bestehen wird, wird sich der Nutzen dieser Verbote erst noch zeigen müssen.

Weitere Risikofaktoren

Ca. 25 % aller Bronchialkarzinome treten bei Nichtrauchern auf (Pallis und Syrigos 2013). Hier sind es unter anderem folgende Risikofaktoren, die für die Entwicklung eines Bronchialkarzinoms verantwortlich sind: Exposition gegenüber Asbest, Quarzstäuben, Nickelstäuben oder eine vermehrte Belastung der Umgebung mit Radon, weiterhin Exposition gegenüber Dämpfen von kochendem Öl und bei Kohlefeuern in geschlossenen Räumen. Infektionen (humane Papillomviren, Mycobacterium tuberculosis) und auch hormonelle und ernährungsbedingte Risikofaktoren sowie Diabetes mellitus zeichnen sich verantwortlich für Bronchialkarzinome.

Des Weiteren deuten Studien darauf hin, dass genetische Faktoren einen Einfluss die Entstehung und die Anfälligkeit für Bronchialkarzinome haben können (Pallis und Syrigos 2013).

Asbest ist führend unter den berufsbedingten Gründen für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms. Unter dem Sammelbegriff Asbest verbirgt sich eine Gruppe von natürlich vorkommenden faserförmigen Silikat-Mineralien, die sich in zwei Untergruppen einteilen lassen: die Serpentin- und die Amphibolgruppe.

Das Risiko, an einem Bronchialkarzinom aufgrund einer vorhergehenden Asbest-Exposition zu erkranken, ist Dosis-abhängig und variiert je nach Typ der exponierten Asbestfaser: Das Risiko scheint bei Fasern der Amphibolgruppe höher zu sein, als bei denen der Serpentingruppe.

Tabakrauchen erhöht das Risiko, bei berufsbedingter Exposition gegenüber Asbest an Bronchialkarzinomen zu erkranken, erheblich. Das relative Risiko, an einem Bronchialkarzinom zu erkranken, ist bei alleiniger Exposition gegenüber Asbest 6-fach erhöht, bei einer Asbest-Exposition in Verbindung mit Rauchen steigt das Risiko für ein Bronchialkarzinom um das 59-fache (Dela Cruz et al. 2011).

Des Weiteren begünstigt die Exposition gegenüber Radon die Entstehung von Bronchialkarzinomen. Radon ist ein radioaktives Zerfallsprodukt von Radium und liegt bei normalen Umgebungstemperaturen im gasförmigen Zustand vor. Radon

kommt natürlicherweise in Erde und Stein vor und kann sich in geschlossenen Räumen wie Minen und Häusern akkumulieren. Das stabilste und natürlicherweise am häufigsten vorkommende Isotop ist das ^{222}Rn mit einer Halbwertszeit von 3,82 Tagen.

Minenarbeiter, die einer nachgewiesenen erhöhten Radonbelastung ausgesetzt sind, haben ein erhöhtes Risiko, an Bronchialkarzinomen zu erkranken (Lubin et al. 1995).

Auch bei der Exposition gegenüber Radon bewirkt eine zusätzliche Belastung des Organismus mit Tabakrauchen eine Steigerung des Risikos an Bronchialkarzinomen zu erkranken (Dela Cruz et al. 2011).

Auf einen potentiellen Einfluss von hormonellen Risikofaktoren auf die Entstehung von Bronchialkarzinomen scheint bereits die dominierende Rolle von Frauen unter den nicht rauchenden Patienten hinzudeuten, die an Bronchialkarzinomen erkrankt sind. Epidemiologische Studien deuten darauf hin, dass exogenes und endogenes Östrogen mit der Karzinogenese von Bronchialkarzinomen assoziiert sein kann. Außerdem scheinen Östrogen-Rezeptoren einen Einfluss auf die Prognose von Bronchialkarzinomen zu haben (Pallis und Syrigos 2013).

Des Weiteren scheint eine genetische Disposition für Bronchialkarzinome zu bestehen. So ist das Risiko, an einem Bronchialkarzinom zu erkranken erhöht, wenn ein Verwandter bereits betroffen ist. Außerdem wurden verschiedene Chromosomenregionen gefunden, die mit der Anfälligkeit für Bronchialkarzinome in Verbindung stehen sollen (Pallis und Syrigos 2013).

1.1.2 Klassifikation

1.1.2.1 Vorbemerkungen

Die meisten Lungentumoren zählen zu den bösartigen, den malignen Tumoren, wobei 95% der malignen Tumoren der Lunge Bronchialkarzinome sind. Neben den Bronchialkarzinomen treten in der Lunge weitere maligne Tumoren wie zum Beispiel neuroendokrine Tumoren und seltener primäre maligne Lymphome und Sarkome auf (Drings et al. 1999).

Die Bronchialkarzinome werden klinisch in kleinzellige (*small cell lung cancer*; SCLC) und nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome (*non small cell lung cancer*; NSCLC) unterteilt.

Eine genaue Einteilung der Tumoren der Lunge hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) im Rahmen der Internationalen Klassifikation der Krankheiten für die Onkologie (ICD-0-3) vorgenommen: Sie teilt die Tumoren der Lunge und der Trachea nach ihren histologischen Charakteristika in verschiedene Entitäten und deren Untergruppen ein (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) 2003; Travis et al. 2004). Travis et al. ergänzten diese Einteilung in Bezug auf die Klassifikation des Adenokarzinoms der Lunge (Travis et al. 2011) (siehe Tabelle 1.1).

Des Weiteren wird im Rahmen des sogenannten Gradings vom Pathologen anhand von morphologischen bzw. histologischen Merkmalen des untersuchten Tumors wie Form und Größe der Zellkerne, deren Mitoserate sowie Ähnlichkeit mit dem Ursprungsgewebe und der Grad der Differenzierung festgehalten.

Plattenepithelkarzinom

- papilläres Plattenepithelkarzinom
- klarzelliges Plattenepithelkarzinom
- kleinzelliges Plattenepithelkarzinom
- basaloides Plattenepithelkarzinom

Kleinzelliges Bronchialkarzinom

- kombiniertes kleinzelliges Bronchialkarzinom

Adenokarzinom

- Adenocarcinoma in situ
- minimal invasives Adenokarzinom
- invasives Adenokarzinom (lepidisch, azinär, papillär oder solide)

Großzelliges Bronchialkarzinom

- großzelliges neuroendokrines Karzinom
- basaloides Karzinom
- lymphoepitheliom-artiges Karzinom
- klarzelliges Karzinom
- großzelliges Karzinom mit rhabdoidem Phänotypen

Adenosquamöse Karzinome

Sarkomatoide Karzinome

Karzinoidtumoren

Karzinome vom Speicheldrüsentyp/ Bronchialdrüsenkarzinome

Tabelle 1.1: Maligne epitheliale Tumoren der Lunge. Modifiziert nach Travis et al. 2004 S. 10 sowie Travis et al. 2011 S.95.

Eine der Hauptentitäten stellt das SCLC dar. Das SCLC ist ein hoch maligner Tumor, der überwiegend zentral im Bronchialsystem lokalisiert ist. Seine Häufigkeit an den Bronchialkarzinomen beträgt etwa 15-25% (Elias 1997).

Es ist gekennzeichnet durch eine sehr schnelle Tumorzellproliferation mit einer überaus raschen Tumorverdopplungszeit und durch eine frühe Tendenz zur Metastasierung (Arai et al. 1994).

Klinisch werden die SCLC oftmals nach der Veterans Administration Lung Cancer Study Group (VALG) in ein lokalisiertes (limited disease) und ein generalisiertes Wachstum (extensive disease) unterteilt (Micke et al. 2001).

Es besteht eine schlechte Prognose: Die mittlere Überlebenszeit liegt bei sechs bis acht Monaten und die 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei nur 3% bis 8% (Elias 1997); ohne Therapie liegt die Überlebensrate bei weniger als 4 Monaten (Micke et al. 2001).

Zu den NSCLC, die etwa 80% der Bronchialkarzinome ausmachen (Korst und Ginsberg 2001), zählen das Plattenepithelkarzinom, das Adenokarzinom und das Großzellige Bronchialkarzinom.

Das Großzellige Karzinom ist undifferenziert und es fehlen ihm die zytologischen und baulichen Eigenschaften von kleinzelligen Karzinomen sowie glanduläre oder squamöse Differenzierungen (Travis et al. 2004).

Es ist ein relativ seltener Tumor und macht nur ca. 9% aller Bronchialkarzinome aus (Travis et al. 1995).

Die 5-Jahres-Überlebensrate des Großzelligen Karzinoms liegt bei ca. 11% (Travis et al. 1995).

Das Hauptaugenmerk der vorliegenden Untersuchung war das NSCLC, insbesondere das Plattenepithel- und das Adenokarzinom, auf welche in den folgenden Kapiteln näher eingegangen wird.

1.1.2.3 NSCLC (nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom)

Plattenepithelkarzinom

Plattenepithelkarzinome sind maligne epitheliale Tumoren, die typischerweise Keratinisierungen und/oder interzelluläre Brücken aufweisen und vom Bronchialepithel abstammen (Travis et al. 2004).

Es ist eine der am häufigsten auftretenden Formen der nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome (Travis et al. 1995) und sehr oft mit Zigarettenrauchen assoziiert (Morita und Urano, 1989).

Nach ihrem primären Entstehungsort werden die Plattenepithelkarzinome in zwei Formen unterteilt: die zentrale und die periphere Form.

Zwei Drittel der Plattenepithelkarzinome lassen sich der zentralen Form zuordnen, ein Drittel sind vom peripheren Typ (Saijo et al. 2006).

Die Plattenepithelkarzinome vom zentralen Typ entstehen aus dysplastischem bronchialem Schleimhautepithel, wobei die Entstehung mittels einer Dysplasie-Karzinom-Sequenz beschrieben wird (Funai et al. 2003).

Patienten, die an einer peripheren Form des Plattenepithelkarzinoms erkrankt sind, sind durchschnittlich älter als die Patienten, welche an einer zentralen Form erkrankt sind. Periphere Plattenepithelkarzinome infiltrieren häufiger Gefäße und die Pleura, weisen aber weniger Metastasen in Lymphknoten auf als Tumoren der zentralen Form (Saijo et al. 2006). Für ihre Entstehung wurde noch keine Sequenz wie für die primär zentral auftretenden Plattenepithelkarzinome gefunden (Funai et al. 2003).

Histologisch zeigen Plattenepithelkarzinome je nach Differenzierungsgrad Keratinisierungen, Hornperlen und auch interzelluläre Brücken. Es kommen sowohl hoch differenzierte als auch wenig differenzierte Typen mit atypischen Zellen vor. Mit fortschreitender Tumorerkrankung können große nekrotische Bereiche und Pseudozysten auftreten (Travis et al. 2004).

Anhand der unterschiedlichen Differenzierungsgrade und ihrer entsprechenden unterschiedlichen histologischen Charakteristika werden die Plattenepithelkarzinome ihren verschiedenen Untergruppen zugeordnet (siehe Kapitel 1.1.2.1, Tabelle 1.1).
Die Überlebensrate für Patienten mit Bronchialkarzinomen, so auch für Plattenepithelkarzinome, ist stadienabhängig (siehe Kapitel 1.1.6 Prognose).

Adenokarzinom

Adenokarzinome sind maligne epitheliale Tumoren mit glandulärer Differenzierung oder Muzin-Produktion (Travis et al. 2004).
Ebenso wie das Plattenepithelkarzinom ist das Adenokarzinom häufig mit Zigarettenrauchen bzw. Tabakrauchen assoziiert, tritt aber auch vermehrt bei Nichtrauchern in Erscheinung im Gegensatz zum Plattenepithelkarzinom (Kenfield et al. 2008; Pallis und Syrigos 2013).
Besonders häufig tritt das Adenokarzinom bei Frauen auf: Hier ist das Adenokarzinom mit 33,5% aller Bronchialkarzinome der verbreitetste Subtyp, gefolgt vom Plattenepithelkarzinom mit 26,4% und dem kleinzelligen Bronchialkarzinom mit 22,3% (Agudo et al. 2000).
Bei Männern tritt das Adenokarzinom in etwa äquivalent häufig zum Plattenepithelkarzinom auf (Stellman et al. 1997; Zang und Wynder 1996).
Die Unterteilung der Adenokarzinome der Lunge erfolgt momentan nach einer im Jahr 2011 von der IASLC, der „American Thoracic Society“ (ATS) und der „European Respiratory Society“ (ERS) veröffentlichten Klassifikation. Diese soll die sich im klinischen Alltag sehr heterogen darstellenden Gruppen von Tumoren, die bisher unter anderem unter dem Begriff bronchioalveoläre Adenokarzinome zusammengefasst wurden, besser differenzieren können - im Gegensatz zu der 2004 von der WHO veröffentlichten Klassifikation (Travis et al. 2011).
Die Adenokarzinome der Lunge werden in das Adenokarzinom in situ, das minimal invasive Adenokarzinom und das invasive Adenokarzinom unterteilt (Travis et al.

2011). Letztere werden nach der vorherrschenden histologischen Struktur in lepidisch (schuppenartig), azinär, papillär, mikropapillär und solide Adenokarzinome eingeteilt (Travis et al. 2013).
Die 5-Jahres-Überlebensrate für Adenokarzinome der Lunge liegt bei ca. 16% (Travis et al. 1995).

1.1.3 Staging

1.1.3.1 Das TNM-Schema

Um eine bessere Vergleichbarkeit zu erhalten und eine gezielte Therapieplanung und Prognoseabschätzung erreichen zu können, werden maligne Tumoren, so auch das Bronchialkarzinom, klassifiziert. Hierbei wird das TNM-Schema der „Union internationale contre le cancer“ (UICC) herangezogen, nach dem die malignen Tumoren sowohl anhand der Eigenschaften des Primärtumors als auch anhand ihres Verhaltens im Organismus, zum Beispiel in Bezug auf ihr Metastasierungsverhalten, in unterschiedliche Klassen eingeteilt werden (Fisseler-Eckhoff 2009).
„T“ steht hierbei für Tumor, „N“ für Nodus (Lymphknoten) und „M“ für Metastase.
Des Weiteren wird dem ermittelten TNM-Stadium ein Buchstabe vorangestellt, der eine Aussage über das Verfahren zulässt, nach dem die TNM-Klassifikation vorgenommen wurde (siehe Tabelle 1.2).
Aktuell werden die Bronchialkarzinome nach der 7. Klassifikation der UICC aus dem Jahr 2009 eingeteilt (Sobin et al. 2009; Rami-Porta et al. 2009).

„c“: clinical – klinisch gesicherte Diagnose
„p“: pathological – pathologisch-histologisch gesicherte Diagnose
„a“: autopsy – durch Autopsie ermittelte Parameter
„r“: Rezidiv – TNM-Stadium eines rezidivierten Tumors
„y“: neoadjuvante Chemotherapie ist erfolgt

Tabelle 1.2: TNM-Klassifikation - Bedeutung vorangestellter Buchstaben

Primärtumor „T“

Der Tumor wird nach seiner primären Ausbreitung beurteilt. Hierbei wird der Tumor je nach Durchmesser und Infiltration benachbarter Gewebe in vier Stadien bzw. deren Untergruppen unterteilt (siehe Tabelle 1.3).

Eine definitive Aussage kann meist erst nach pathologisch-histologischer Untersuchung getroffen werden (a und p).

Tx	der Tumor kann nicht beurteilt werden *oder* der Tumor wurde über maligne Zellen im Sputum oder über maligne Zellen im Rahmen einer bronchioalveolären Lavage nachgewiesen, kann aber nicht mittels bildgebender Verfahren oder Bronchoskopie dargestellt werden	
Tis	Carcinoma in situ	
T0	kein Anhalt für Primärtumor	
T1	größter Tumordurchmesser ≤ 3cm, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura; keine Tumorinfiltration proximal Lappenbronchus bronchoskopisch nachweisbar	
	T1a	wie T1, nur Tumordurchmesser ≤ 2cm
	T1b	wie T1, nur Tumordurchmesser > 2cm ≤ 3cm
T2	Tumordurchmesser > 3cm ≤ 7cm *oder* einer der folgenden Punkte: • Tumorbefall Hauptbronchus ≥ 2cm distal der Carina • Tumorinfiltration viszerale Pleura • assoziierte Atelektase oder obstruktive Pneumonitis bis Hilus, nicht ganze Lunge einbezogen	
	T2a	wie T2, nur Tumordurchmesser > 3cm ≤ 5cm
	T2b	wie T2, nur Tumordurchmesser > 5cm ≤ 7cm
T3	Tumor mit Tumordurchmesser > 7cm *oder* ein Tumor der eine der folgenden Strukturen direkt infiltriert: parietale Pleura, Brustwand (beinhaltet Sulcus-superior-Tumoren), Zwerchfell, Nervus phrenicus, mediastinale Pleura, parietales Perikard *oder* Tumor im Hauptbronchus < 2cm distal der Carina (kein Tumorbefall Carina) *oder* assoziierte Atelektase oder obstruktive Entzündung der ganzen Lunge *oder* ein separater oder mehrere separate Tumorknoten im gleichen Lappen wie Primärtumor	
T4	Tumor jeglicher Größe der eine der folgenden Strukturen infiltriert: Mediastinum, Herz, große Gefäße, Trachea, Nervus laryngeus recurrens, Ösophagus, Wirbelkörper, Karina *oder* separate Tumorknoten in einem anderen ipsilateralen Lungenlappen	

Tabelle 1.3: TNM-Klassifikation: "T" - Primärtumor. Modifiziert nach Sobin et al. 2009 S.139-140.

Lymphknotenstatus „N“

Mittels dieses Status hält man die Metastasierung in den Lymphknoten fest (siehe Tabelle 1.4), wobei sich die einzelnen Stadien von den Stationen des Abflusses der pulmonalen Lymphe ableiten. Auch hier lässt sich erst nach pathologisch-histologischer Untersuchung eine verifizierte Aussage treffen, insbesondere bei Mikrometastasierungen.

Nx	regionale Lymphknoten nicht beurteilbar
N0	keine Metastasen in regionalen Lymphknoten
N1	Lymphknotenmetastasen in ipsilateralen peribronchialen und/ oder ipsilateralen hilären Lymphknoten und intrapulmonalen Lymphknoten (einschließlich Befall durch direkte Ausbreitung des Primärtumors)
N2	Lymphknotenmetastasen in mediastinalen und/ oder sub-karinalen Lymphknoten
N3	Lymphknotenmetastasen in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen hilären, ipsilateralen oder kontralateralen Skalenuslymphknoten oder supraklavikulären Lymphknoten

Tabelle 1.4: TNM-Klassifikation: "N" - regionale Lymphknoten. Modifiziert nach Sobin et al. 2009 S.140-141.

Fernmetastasen „M“

In diesem Status werden Absiedlungen des Primärtumors erfasst (siehe Tabelle 1.5), die sich in kontralateralen Lungenlappen oder in anderen Organsystemen befinden sowie Tumorerkrankungen der Lunge, die einen malignen Pleura- oder Perikarderguss oder Absiedlungen des Tumors in der Pleura aufweisen.

Mx	Fernmetastasen nicht beurteilbar	
M0	keine Fernmetastasen	
M1	Fernmetastasen	
	M1a	einzelne Tumorknoten in einem kontralateralen Lungenlappen; Tumor mit Metastasen in Pleura oder maligner Pleura- oder Perikarderguss
	M1b	Fernmetastasen

Tabelle 1.5: TNM-Klassifikation: "M" - Fernmetastasen. Modifiziert nach Sobin et al. 2009 S.141.

1.1.3.2 R-Klassifikation

Eine Ergänzung zum TNM-Schema ist die R-Klassifikation (siehe Tabelle 1.6), wobei „R“ für „residual“ steht. Es ist ein für die Prognose und praktische Behandlung wichtiger Parameter, der beschreibt, ob nach einer reserzierenden Behandlung des Primärtumors noch ein Residualtumor insbesondere an den Absetzungsrändern vorhanden ist oder nicht. So korreliert zum Beispiel die R-Klassifikation signifikant mit dem Überleben bei der Resektion von NSCLCs (Hermanek und Wittekind 1994). Die R-Klassifikation wird häufig nach Resektion des Primärtumors angewendet, kann aber ebenso nach Radiotherapie oder Chemotherapie oder einer kombinierten Therapie Anwendung finden (Wittekind et al. 2002).

Rx	Anwesenheit Residualtumor nicht beurteilbar
R0	kein Residualtumor
R1	mikroskopischer Residualtumor (histologisch nachgewiesen)
R2	makroskopischer Residualtumor

Tabelle 1.6: R-Klassifikation. Modifiziert nach Wittekind et al. 2002 S.2512.

In ähnlicher Weise werden der Befall der Lymphbahnen („L“) und der venösen Gefäße („V“) eingeteilt.

1.1.3.3 UICC-Stadien

Auf Grundlage der Klassifizierung nach dem TNM-Schema werden die Bronchialkarzinome in verschiedene Stadien zusammengefasst (siehe Tabelle 1.7). Diese Stadien wurden von der UICC definiert und in regelmäßigen Abständen anhand der Prognose modifiziert. Sie wurden zuletzt im Jahr 2009 für die Bronchialkarzinome angepasst (Sobin et al. 2009).

UICC-Stadium	**Primärtumor „T“**	**Regionale Lymphknoten „N“**	**Fernmetastasen „M“**
Okkultes Karzinom	Tx	N0	M0
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1a, T1b	N0	M0
Stadium IB	T2a	N0	M0
Stadium IIA	T2b	N0	M0
	T1a, T1b, T2a	N1	M0
Stadium IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T1a, T1b, T2a, T2b	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
	T4	N0, N1	M0
Stadium IIIB	jedes T (Tx, Tis, T1-T4)	N3	M0
	T4	N2	M0
Stadium IV	jedes T (Tx, Tis, T1-T4)	jedes N (N0-N3)	M1

Tabelle 1.7: UICC-Klassifikation. Modifiziert nach Wittekind und Meyer 2009 S.94.

1.1.4 Grading

Das sogenannte „Grading“ stellt eine Möglichkeit dar, einen malignen Tumor auf histologischer Ebene nach dem Differenzierungsgrad seiner Zellen zu beurteilen und somit seine Aggressivität beschreiben zu können.
Es werden vier verschiedene Grade unterschieden: von Grad I (gut differenziert) bis zu Grad 4 (undifferenziert, dem Ursprungsgewebe kaum noch ähnlich).
Die diagnostischen Kriterien zur Einstufung eines malignen Tumors im Rahmen des Gradings sind für jede Tumorart speziell definiert (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) 2003), hierzu zählen unter anderem Form und Größe der Zellkerne, deren Mitoserate sowie Ähnlichkeit mit dem Ursprungsgewebe.

1.1.5 Therapie

Zur optimalen Therapieplanung sollte vor jeder Therapie von Bronchialkarzinomen der Tumor hinsichtlich seiner Eigenschaften, wie zum Beispiel Ausdehnung und Metastasierungsverhalten, eingehend untersucht werden. Anschließend kann im Rahmen eines interdisziplinären Vorgehens für jeden Patienten eine individuelle Therapieplanung erstellt werden. Zur optimalen Versorgung von Patienten im Hinblick auf ihre Krebserkrankung zertifiziert die Deutsche Krebsgesellschaft e.V. (DKG) in diesem Zusammenhang Zentren, die diese Kriterien im besonderen Maße erfüllen.
Die gewählte Therapie sollte nicht nur individuell auf jeden Tumor zugeschnitten sein, sondern auch die individuellen Erfordernisse des einzelnen Patienten widerspiegeln – so ist zum Beispiel nicht nur auf eine reine Verlängerung der Lebenszeit, sondern auch auf eine adäquate Lebensqualität des Patienten Wert zu legen (Spira und Ettinger 2004; Deslauriers 2002). Prinzipiell besteht die

Versorgung von Patienten, die an einem Bronchialkarzinom erkrankt sind, aus chirurgischer, Chemo-, Radio- sowie supportiver Therapie.

Chirurgische Therapie

Grundprinzip der chirurgischen Therapie ist, so sie kurativ angelegt ist, eine vollständige Resektion des Tumors einschließlich des entsprechenden Lungenlappens bzw. Lungenflügels mit vollständiger Entfernung des zugehörigen Lymphabflussgebietes (eine sogenannte anatomische Resektion). Zusätzlich ist eine radikale systematische Lymphadenektomie indiziert (Dienemann 2001).

Als chirurgische Techniken gibt es die Lobektomie, die Bilobektomie, die Pneumonektomie, die Segmentektomie, die Manschettenresektion und die Keilresektion (engl. *wedge*) mit Erweiterung, dass heißt mit Resektion der umliegenden Strukturen (zum Beispiel der Thoraxwand).

Bei der Lobektomie handelt es sich um die Resektion eines Lungenlappens. Sie ist die empfohlene Therapie bei peripheren begrenzten Tumoren und sollte zusammen mit einer Ausräumung der hilären und mediastinalen Lymphknoten erfolgen. Dieser Therapieansatz ist von Ginsberg und Rubinstein (1995) in einer prospektiven Studie als entscheidend nachgewiesen worden, wobei der Überlebensvorteil nach circa 3 Jahren eintritt.

Unter Segmentektomie wird hingegen die Entfernung von einem oder mehreren Lungensegmenten verstanden.

Bei der Wedge- oder Keilresektion wird der Tumor entfernt, ohne anatomische Grenzen zu beachten. Die Lobektomie ist der Keilexzision vorzuziehen, da bei dieser Operationsform die Patienten im Vergleich zur Keilexzision längere Überlebenszeiten aufweisen (Kraev et al. 2007; Ginsberg und Rubinstein 1995).

Der Begriff Bilobektomie bezeichnet das Entfernen von mehreren Lungenlappen, meist des Mittellappens der rechten Lunge zusammen mit Unter- oder Oberlappen.

Unter Pneumonektomie wird die Resektion einer ganzen Lunge eines Hemithoraxes zusammengefasst.

Eine parenchymschonende Alternative zur Pneumonektomie stellt die Manschettenresektion dar, bei der die gesunden Teile des Bronchial- oder Gefäßbaumes reanastomosiert werden. Auch hier gelten die Grundprinzipien der Tumorresektion, wobei die Manschettenresektion technisch deutlich anspruchsvoller ist (Ludwig et al. 2004).

Pharmakotherapie

Die chirurgische Resektion ist die effektivste Behandlung zumindest der nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome, in fortgeschrittenen Fällen ist häufig eine Chemotherapie notwendig.

Es gibt verschiedene Ansätze, die die Chemotherapie sowohl neoadjuvant, adjuvant als auch palliativ anwenden.

Eine adjuvante Chemotherapie, d.h. nach chirurgischer Resektion des Tumors, scheint bei nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen mit Stadien zwischen I und IIIA lebensverlängernd zu wirken (Heon und Johnson 2012).

Neoadjuvant, dass heißt vor chirurgischer Behandlung, werden Chemotherapeutika zum sogenannten Downstaging oder zur Tumormassenreduktion angewandt. Außerdem können Mikrometastasen frühzeitig behandelt werden und Therapieergebnisse hinsichtlich der Mortalität der Patienten verbessert werden (Bozcuk et al. 2012; Gray et al. 2009).

Eine besondere Bedeutung fällt der chemotherapeutischen Behandlung von Patienten mit bereits nicht mehr operablen Tumoren zu. Patienten mit nicht operablen Tumoren können von einer kurativen oder palliativen Chemotherapie profitieren, die ihnen eine deutliche Verbesserung der krankheitsbedingten Symptome und der Lebensqualität bieten kann (Matsuda et al. 2012; Greer et al. 2012).

Strahlentherapie

Radiotherapie kann bei Patienten mit Bronchialkarzinomen sowohl neoadjuvant, adjuvant als auch palliativ eingesetzt werden (Cochrane Lung Cancer Group 2005; Dai et al. 2011; Matsuguma et al. 2008).

Die Strahlentherapie wird hauptsächlich bei Patienten eingesetzt, bei denen eine Operation nicht indiziert bzw. nicht möglich ist, so zum Beispiel auch bei funktioneller Inoperabilität.

Ist nur noch eine palliative Therapie möglich, kann Radiotherapie eingesetzt werden, um eine Erhaltung bzw. Verbesserung der Lebensqualität des betroffenen Patienten zu erzielen und Symptome, die aufgrund des Tumors auftreten, zu kontrollieren. Die Strahlentherapie kann helfen Schmerzen im Brustbereich und Symptome wie Atemnot und Husten zu verbessern und wird insbesondere bei Metastasen eingesetzt (Toy et al. 2003; Lester et al. 2012).

Targeted Therapy

Unter dem Begriff *targeted therapy* versteht man eine gezielte Krebstherapie, bei der Arzneimittel eingesetzt werden, die gezielt das Wachstum und die Vermehrung von Krebszellen blockieren. Anders als bei der klassischen Chemotherapie richten sich diese Arzneimittel nicht gegen alle sich schnell teilenden Zellen, sondern behindern gezielt Mechanismen der Karzinogenese und des Tumorwachstums.

Zur Therapie von Bronchialkarzinomen werden unter anderem Arzneimittel eingesetzt, die die Angiogenese (die Bildung neuer Blutgefäße) der Tumoren zum Ziel haben. Hierzu zählt zum Beispiel Bevacizumab, ein Inhibitor des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (Pal et al. 2010; Lauro et al. 2014).

Des Weiteren werden Inhibitoren für den Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) im Rahmen der *targeted therapy* eingesetzt. Hierzu zählen Thyrosin-Kinase-Inhibitoren und monoklonale Antikörper. EGFR führt bei verstärkter Expression von Zellen der NSCLCs zu einem schnelleren Tumorwachstum (Pal et al. 2010).

Ein dritter Ansatz ist der Einsatz von Inhibitoren des EML4-ALK (echinoderm microtubule–associated protein-like 4 - anaplastic lymphoma kinase), eines Fusion-Onkogens (Ulivi et al. 2013).

Supportive Therapie

Unter supportiver Therapie werden die Behandlungsmaßnahmen verstanden, die sich nicht primär auf die Therapie des Tumorleidens beziehen, sondern sich dem allumfassenden Wohlergehen der Patienten widmen, um sie bei der Bewältigung ihrer Krankheit zu unterstützen.

Hierzu zählen zum Beispiel eine effektive Schmerztherapie, antiemetische Therapien, Infektionsprophylaxe, aber auch begleitende psychologische Unterstützung (Aebert et al. 2008).

1.1.6 Prognose

Trotz stetiger Forschung im Bereich Diagnostik und Therapie der Bronchialkarzinome ist die Prognose für Patienten, die an einem Bronchialkarzinom erkrankt sind, immer noch als schlecht zu bewerten. Das 5-Jahres-Überleben beträgt in Deutschland, werden alle Stadien zusammengefasst, nur 15% (Krebs in Deutschland 2012) und auch die durchschnittliche Überlebenszeit ist recht kurz.

Ein Vergleich der 5-Jahres-Überlebensraten der einzelnen Stadien zeigt, dass die frühen Stadien eine deutlich bessere Prognose aufweisen als weiter fortgeschrittenere (siehe Tabelle 1.8) (Rami-Porta et al. 2009).

UICC-Stadium	5-Jahres-Überleben in % (klinisches Staging)	5-Jahres-Überleben in % (pathologisches Staging)
IA	50	73
IB	47	58
IIA	36	46
IIB	26	36
IIIA	19	24
IIIB	7	9
IV	2	13

Tabelle 1.8: 5-Jahres-Überleben Bronchialkarzinome. Modifiziert nach Rami-Porta et al. 2009 S.7-8.

Dies spiegelt sich auch in den für die einzelnen Stadien empfohlenen Therapiekonzepten wider, die in frühen Stadien noch weitestgehend kurativ angelegt sind, später vielfach eher auf eine Verbesserung der Lebensqualität und krankheitsbedingter Symptome abzielen. Wobei inzwischen Fortschritte bei der Therapie von Bronchialkarzinomen in höheren Stadien (Stadium III und IV) durch die *targeted therapy* erzielt werden konnten (Carnio et al. 2014; Djalalov et al. 2014).

Der Einfluss der verschiedenen Tumorentitäten des NSCLC auf die Prognose ist noch unklar: So haben Pinsky et al. (2013) Überlebensvorteile für Patienten beschrieben, die an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt waren, während Goya et al. (2005) in ihrer Studie hingegen zu längeren Überlebenszeiten für Patienten mit Adenokarzinomen kamen.

Bei NSCLC scheint die Histologie als prägnanter prognostischer Marker in Bezug auf das Ansprechen auf Therapien und das Überleben somit eher ungeeignet; auch wenn Studien darauf hindeuten, dass es geringe Unterschiede im Ansprechen von NSCLC verschiedener Histologie auf Chemotherapie gibt (Sereno et al. 2012).

Unter anderem aufgrund der schlechten Prognosen für Patienten mit Bronchialkarzinomen, den selbst in niedrigen Tumorstadien relativ hohen Rezidivraten sowie des nur vorübergehenden Ansprechens von Bronchialkarzinomen auf Chemotherapeutika, ist das Bronchialkarzinom Gegenstand weiterer Studien, so auch der vorliegenden.

Auf zellulärer Ebene spiegeln sich die oben genannten negativen klinischen Merkmale in Tumorzellen mit noch unzulänglich verstandenen Resistenzeigenschaften wider. In Vorläuferzellen von hämatologischen Tumorzellen wurde nun ein intrazellulärer ABC-Transporter, ABCA3, ermittelt, der Zytostatikaresistenz vermittelt. Als Mechanismus wurde hier eine verstärkte subzelluläre Sequestration klassischer Chemotherapeutika und Tyrosinkinasen nachgewiesen (Wulf et al. 2004). Des Weiteren wurde eine Expression von ABCA3 in primären Bronchialkarzinomen (NSCLC, weniger SCLC) und Lungentumor-Zelllinien dokumentiert. Der ABCA3-Transporter kann durch den thyroid transcription factor 1 (TTF1) aktiviert werden, der ebenfalls bei Bronchialkarzinomen nachweisbar ist (Overbeck et al. 2013).

1.2 ABCA3

Das Protein ABCA3 wird vom Gen ABCA3 kodiert, welches auf dem Chromosom 16p13.3 lokalisiert ist (van der Deen et al. 2005).

Die ABC-Gene sind in sieben Subgruppen unterteilt (ABC A-G), wobei die einzelnen Subgruppen aufgrund ihrer Sequenzhomologien und ihrer Substrateigenschaften unterteilt werden. Das ABCA3-Gen zählt zur Subgruppe ABCA (auch ABC1 genannt), welche beim Menschen insgesamt 12 Gene beinhaltet (Yamano et al. 2001).

Das Protein ABCA3 ist ein 1704 Aminosäuren langes membranassoziiertes Protein, welches ein Molekulargewicht von 150 kDa besitzt (Albrecht und Viturro 2007; Engelbrecht et al. 2010). Das ABCA3-Protein zählt zur Familie der ABC-

Transportproteine (ATP-binding cassette; ATP-bindende Kassette) (Stahlman et al. 2007). Die ABC-Proteine sind die größte Familie von Transmembranproteinen (Dean et al. 2001; van der Deen et al. 2005). Sie binden Adenosintriphosphat (ATP) und nutzen die darin enthaltene Energie um unterschiedlichste Moleküle über extra- und intrazelluläre Zellmembranen hinweg zu transportieren.

Das ABCA3-Protein ist strukturell ähnlich aufgebaut wie die Proteine ABCA1 und ABCA2.

Das ABCA3-Protein besteht aus zwei symmetrischen Hälften, die jeweils eine Transmembrandomäne (transmembrane domaine, TMD), zusammengesetzt aus jeweils sechs Teilstücken, und eine ATP-bindende Kassette enthalten (siehe Abbildung 1.1). Zwischen diesen beiden Teilstücken befindet sich eine lange zytoplasmatische regulatorische Domäne, welche von einer stark hydrophoben Schleife unterbrochen wird, die in die Membran eintaucht (Albrecht und Viturro 2007). Diese hydrophobe Schleife ist charakteristisch für die ABCA-Subgruppe.

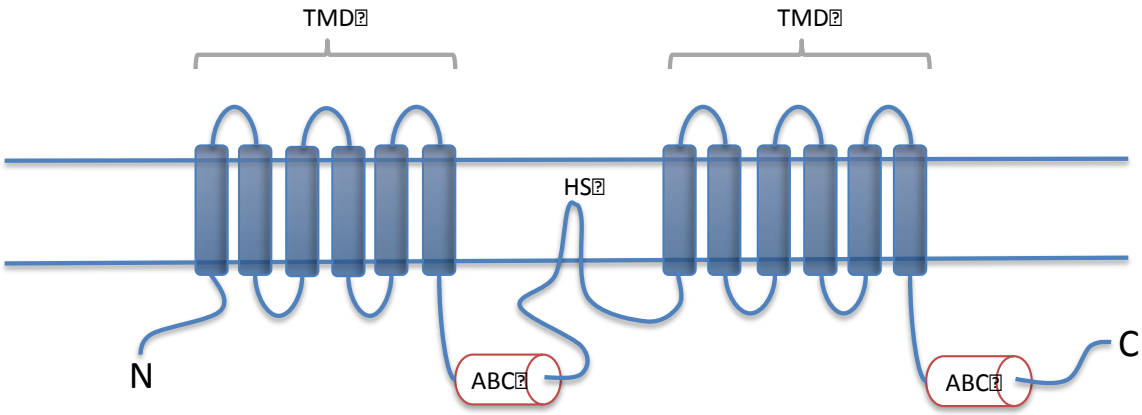

Abbildung 1.1: Das Transportprotein ABCA3 – eine schematische Darstellung der Proteinstruktur: Zwei Hälften, bestehend aus jeweils einer Transmembrandomäne (TMD) und einer ATP-bindenden Kassette (ABC), werden durch eine Domäne mit einer charakteristischen hydrophoben Schleife (HS) verbunden. Modifiziert nach Albrecht und Viturro 2007 S.582.

ABCA3 wird von den Pneumozyten Typ II der Lunge exprimiert. Hier kann ABCA3 immunhistologisch in den Membranen von Vesikeln im Cytoplasma, auch Lamellarkörper genannt, nachgewiesen werden (Yoshida et al. 2004; Yamano et al. 2001; Stahlman et al. 2007). In den Vesikeln der Pneumozyten Typ II der Lunge, die Lysosomen ähneln, wird das von diesen Zellen gebildete Surfactant gespeichert. Surfactant (aus dem Englischen von surface active agent; Deutsch: oberflächenaktive Substanz) besteht aus Phospholipiden und spezifischen Surfactant-Proteinen. Es reduziert die Oberflächenspannung im Bereich der Alveolen, sodass die Lunge nicht kollabiert (Albrecht und Viturro 2007).

Die Pneumozyten Typ II zeichnen sich außerdem verantwortlich für den Gehalt an extrazellulärem Surfactant im alveolären Raum. Diesen Gehalt regulieren sie über Sekretion, Reabsorption und Speicherung des Surfactant in den Vesikeln. Das Transportprotein ABCA3 soll hierbei maßgeblich beteiligt sein: Es soll an der Exozytose eines Anteils des Surfactants in den alveolären Raum, vermutlich der Phospolipide, beteiligt sein (Albrecht und Viturro 2007; Stahlman et al. 2007; Yoshida et al. 2004; Yamano et al. 2001; Shulenin et al. 2004). Für den Zusammenhang zwischen der Exozytose des Surfactants und ABCA3 spricht auch der zeitliche Zusammenhang zwischen einem markanten Anstieg der Expression von ABCA3 und einem gleichzeitigen Anstieg der Produktion von Surfactant bei Säugetieren kurz vor der Geburt: Yoshida et al. zeigten dies 2004 durch Versuche an Ratten (Yoshida et al. 2004). ABCA3 soll ebenfalls an der Bildung der Vesikel in den Pneumozyten Typ II beteiligt sein (Stahlman et al. 2007; Shulenin et al. 2004).

In der menschlichen Lunge wird ABCA3 normalerweise nicht vor der 22. bis 23. Schwangerschaftswoche exprimiert. Regulär lässt sich ABCA3 ab der 28. Schwangerschaftswoche in Pneumozyten Typ II der menschlichen Lunge nachweisen (Stahlman et al. 2007). Die Expression von ABCA3 scheint somit mit der Reifung der Lunge assoziiert zu sein (Yoshida et al. 2004).

Die klinisch prägnante Rolle, die der Funktion von ABCA3 in der Lunge zukommt, wird bei der Entstehung von schweren Surfactant-Mängeln mit fatalem Verlauf bei

Neugeborenen deutlich: Mehr als zwei Drittel aller Betroffenen dieser oft tödlich verlaufenden Krankheit tragen eine frameshift- oder nonsense-Mutation des ABCA3-Gens, die auch mit unnatürlich kleinen Vesikeln in den Pneumozyten Typ II einhergeht (dies spricht wiederum für die Beteiligung von ABCA3 bei der Bildung der Vesikel, siehe oben) (Albrecht und Viturro 2007). Auch andere schwere Lungenerkrankungen, die mit Surfactant-Dysfunktionen assoziiert sind, scheinen mit einer Mutation des ABCA3-Gens in Zusammenhang zu stehen. Hierzu zählen zum Beispiel das Atemnotsyndrom bei Neugeborenen, Asthma bronchiale oder das Atemnotsyndrom beim Erwachsenen (acute respiratory distress syndrome, ARDS) (Shulenin et al. 2004).

Ursprünglich wurde das ABCA3-Gen aus einer cDNA-Datenbank aus einer Zelllinie von menschlichen medullären Schilddrüsenkarzinomen geklont (Albrecht und Viturro 2007), kommt aber wie oben beschrieben auch regulär in gesundem Lungengewebe (in Pneumozyten Typ II) vor und wurde auch bereits in Gewebeproben unterschiedlicher Herkunft, zum Beispiel Leber, Bauchspeicheldrüse und Kehlkopf, nachgewiesen (Stahlman et al. 2007). Neben dem Vorkommen in Schilddrüsenkarzinomen wurde ABCA3 auch noch in anderen Tumorzelllinien nachgewiesen. Hierzu zählen Neuroblastome, Mammakarzinome und Zellen der akuten myeloischen Leukämie sowie Zellen der akuten lymphatischen Leukämie (Albrecht und Viturro 2007; Chapuy et al. 2008; Rahgozar et al. 2014).

Neuroblastome, die akute myeloische Leukämie und die akute lymphatische Leukämie zeigen multiple Resistenzen gegen pharmakologische Therapien. An diesen Resistenzen scheint ABCA3 beteiligt zu sein.

In Fällen von akuter myeloischer Leukämie konnte bei stärkerer Expression von ABCA3 ein ungünstiger Behandlungsausgang verzeichnet werden. Des Weiteren erzeugte eine Überexpression von ABCA3 in vitro Resistenzen gegen ein weites Spektrum an Zytostatika, vermittelt von einer subzellulären Sequestration der entsprechenden Chemotherapeutika in Lysosomen der Tumorzellen (Chapuy et al. 2008). ABCA3 wurde, wie oben erwähnt, bereits in Gewebeproben

unterschiedlichster Herkunft nachgewiesen und scheint hier eine tragende Rolle in der Bildung von späten Endosomen/Lysosomen zu spielen. Bei malignen Transformationen geht die Kontrolle der Transkription von ABCA3 jedoch verloren, was zu einer stark erhöhten Expression von ABCA3 zu führen scheint.

Chapuy et al. (2008) fanden heraus, dass ABCA3 in den Membranen des späten endosomalen Systems - hierzu zählen Lysosomen, multivesikuläre und multilamelläre Körper - von leukämischen Zellen expremiert wird. Diese Zellkompartimente weisen ein saures Millieu auf. Eine verstärkte Expression von ABCA3 korrelierte mit einer Vergrößerung des endosomalen Systems der Zellen und verbesserte die Aufnahmekapazität für Zytostatika in dieses System.

Die Sequestration der Chemotherapeutika in lysosomale Organellen führt dazu, dass besonders schwach basische Zytostatika über Protonierung nicht mehr permeabel für die Lysosomenmembran sind und dementsprechend nicht den Zellkern oder andere zytoplamatische Ziele erreichen und auch nicht ihren toxischen Effekt auf die Tumorzellen ausüben können – die Zellen sind somit resistent.

Des Weiteren scheint ABCA3 an der Biogenese von Exosomen in Zellen des aggressiven B-Zell-Lymphoms beteiligt zu sein. Mittels dieser Exosomen können zuvor in lysosomalen Organellen zurückgehaltene Chemotherapeutika auch wieder aus der Zelle ausgeschleust werden (Aung et al. 2011).

1.3 TTF-1

Der Thyroidale Transkriptionsfaktor 1 (TTF-1), auch bekannt als T/EBP (thyroid-specific-enhancer-binding protein) oder auch NK2 homeobox 1 (NKX2-1), ist ein 38 kDa großes Protein (Ikeda et al. 1995), welches zur Familie der homöodomänen-haltigen Transkriptionsfaktoren zählt (Myong 2003; Boggaram 2009). Er wird in der Schilddrüse, der Lunge und in bestimmten Bereichen des Diencephalons exprimiert (Myong 2003).

TTF-1 ist 371 Aminosäuren lang und enthält eine 60 Aminosäuren lange Homöodomäne, welche zur NK2-Familie der Homöodomänen gezählt wird (Bingle 1997). Es wird von einem single-copy-Gen auf dem Chromosom 14 kodiert und ist in drei Exons und zwei Introns organisiert (Boggaram 2009).

TTF-1 ist ein Mediator für die Expression von verschiedenen wichtigen Schilddrüsen-spezifischen und Lungen-spezifischen Genen (Bingle 1997). So aktiviert es zum Beispiel die Transkription der Thyroeglobulin- und Thyreoperoxidase-Gene in follikulären thyroidalen Zellen und in der Lunge ist es essentiell für die Expression der Gene für die Surfactant-Proteine (SP) SP-A, SP-B, SP-C, das Clara-Cell-Secretory-Protein (CCSP) und ABCA3 (Boggaram 2009). TTF-1 kann dementsprechend bei immunhistochemischen Untersuchungen in den Zellkernen nachgewiesen werden. In der vorliegenden Untersuchung stellte es sich beispielsweise als braune Färbung im Zellkern dar.

Die distale Promotorregion des ABCA3-Gens beinhaltet eine Gruppierung von potentiellen Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren, unter anderem für TTF-1, welche als Enhancer agieren. Enhancer sind Gensequenzen, die die Anlagerung des Transkriptionskomplexes an den Promoter beeinflussen und damit die Transkriptionsaktivität eines Gens verstärken. Auf diese Weise beeinflusst TTF-1 die Expression von ABCA3 in der Lunge positiv (Besnard et al. 2007).

Auch in der menschlichen Entwicklung bzw. in der Organogenese scheint TTF-1 eine wichtige Rolle zu spielen: TTF-1 wird in den frühesten Stadien der Entwicklung von Schilddrüse, Lunge und Gehirn in diesen Regionen exprimiert, noch vor der Expression seiner Zielgene (Boggaram 2009). Des Weiteren führt zum Beispiel die Deletion von TTF-1 bei Mäusen zu totgeborenem Nachwuchs, bei dem das Lungenparenchym fehlt und anstatt dessen nur ein rudimentärer Bronchialbaum assoziiert mit einem abnormen Epithel vorhanden ist. Außerdem haben diese totgeborenen Mäuse keine Schilddrüse und auch in den ventralen Regionen des Vorderhirns bestehen große Defekte, obendrein fehlt die Hypophyse (Kimura et al. 1996).

In Zellen der menschlichen Lunge kann TTF-1 das erste Mal in der 11.-12. Schwangerschaftswoche immunhistochemisch nachgewiesen werden. Danach ist TTF-1 in verschiedenen Untergruppen des respiratorischen Epithels der sich entwickelnden Lunge nachweisbar. Postnatal befindet sich das Protein in der Lunge primär in Pneumozyten Typ II und verschiedenen Untergruppen der nicht-ziliären bronchiolären epithelialen Zellen (Ikeda et al. 1995).

Bei verschiedenen die Lunge betreffenden Krankheiten können Veränderungen des Expressionsverhaltens von TTF-1 in den entsprechenden TTF-1-exprimierenden Zellen detektiert werden. Eine verminderte oder nicht-vorhandene Konzentration an TTF-1 in Pneumozyten Typ II kommt zum Beispiel bei Säuglingen mit hyalinem Membransydrom bzw. Atemnotsyndrom des Neugeborenen (englisch: *infant respiratory distress syndrome*) oder bei Säuglingen mit Bronchopulmonaler Dysplasie in den Regionen der Lunge vor, welche von akuter Entzündung, Ödemen, Hämorrhagien oder Atelektasen betroffen sind. Ein Anstieg von TTF-1 wird dagegen bei regenerativen Prozessen in der Lunge beobachtet (Stahlman et al. 1996).

Auch in Zellen verschiedener Entitäten von Bronchialkarzinomen kann TTF-1 nachgewiesen werden. So lässt sich TTF-1 vorwiegend bei Adenokarzinomen der Lunge finden, weniger ausgeprägt bei Plattenepithelkarzinomen (Perner et al. 2009). Aber auch bei kleinzelligen Bronchialkarzinomen (SCLC) tritt TTF-1 in den Zellen auf (Boggaram 2009; Kitamura et al. 2009).

Studien haben gezeigt, dass TTF-1 als möglicher Indikator für eine Prognose für Patienten mit Bronchialkarzinomen geeignet sein könnte. Patienten mit NSCLC, die eine starke Expression von TTF-1 aufweisen, haben zum Beispiel statistisch eine signifikant bessere mittlere Überlebenszeit (Boggaram 2009).

Speziell bei Adenokarzinomen konnte eine signifikante Korrelation von einer starken Expression von TTF-1 mit einer kleineren Tumorgröße, weiblichem Geschlecht und einem längerem Gesamtüberleben gezeigt werden (Perner et al. 2009).

Bei metastasierenden Adenokarzinomen kann die starke Expression von TTF-1 genutzt werden um einen Hinweis auf das Ursprungsgewebe des Karzinoms zu erhalten. Denn aufgrund von ähnlichen morphologischen Eigenschaften von Adenokarzinomen, zum Beispiel der Lunge, der Brust und des Gastrointestinaltraktes, kann sich der Nachweis der ursprünglichen Herkunft über diese Charakteristika als schwierig erweisen. Hier kann TTF-1 als ein spezifischer und sensitiver Marker für Adenokarzinome der Lunge Verwendung finden. Um eine Differenzierung gegenüber den, allerdings nur selten metastasierenden Neoplasien der Schilddrüse zu erzielen, bei denen ebenso wie bei den Adenokarzinomen der Lunge TTF-1 nachweisbar ist, könnte der Nachweis von Thyreoglobulin als Marker sinnvoll sein (Gomez-Fernandez et al. 2002).

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Zwischen 1996 und 2006 wurde in der Abteilung für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Göttingen aus allen an Bronchialkarzinomen in kurativer Absicht operierten Patienten ein Kollektiv zu Studienzwecken aufgebaut. Das während der Operation gewonnene Tumormaterial wurde in der Pathologie des Universitätsklinikums Göttingen makroskopisch beurteilt, fixiert und archiviert. Dieses Tumormaterial wurde anhand von Hämatoxylin-Eosin-Färbungen aus den fixierten Tumorproben von einem Pathologen auf vitale Zellbereiche hin beurteilt und für die Studienzwecke ausgewählt.

Außerdem wurde eine Datenbank zur Erfassung der entsprechenden Patientendaten inklusive der klinischen Daten, der Daten über den Krankheitsverlauf bzw. über den Behandlungsablauf sowie eine Erfassung des langfristigen Behandlungserfolges angelegt. Hierzu wurde im Rahmen von Nachbeobachtungen

(Follow-Ups) der postoperative Krankheitsverlauf jedes einzelnen in die Studie aufgenommenen Patienten erfasst und in der Datenbank dokumentiert.

Bisher unzulänglich verstandene Resistenzmechanismen könnten klinischen Eigenschaften von NSCLC entsprechen wie einer ungünstigen Prognose, hohen Rezidivraten auch bei niedrigen Tumorstadien und nur temporärem Ansprechen auf Chemotherapie.
Das in der gesunden Lunge vorkommende ABCA3 wurde bei Fällen akuter myeloischer Leukämie als Vermittler von multiplen Resistenzen gegen Zytostatika ermittelt (Chapuy et al. 2008). Es ist eine hohe Expression von ABCA3 mit einem ungünstigen Behandlungsausgang und Resistenzen gegenüber pharmakologischen Therapien verknüpft.
In einer vorigen Studie wurde nun gezeigt, dass ABCA3 nicht nur in gesundem Lungengewebe, sondern auch in NSCLC exprimiert wird (Overbeck et al. 2013).
Wie in Kapitel 1.2 dargestellt, beeinflusst TTF-1 die Expression von ABCA3 in der gesunden Lunge positiv, da das ABCA3-Gen eine Gruppierung potentieller Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren enthält, unter anderem für TTF-1.
TTF-1 wurde wiederum bereits als möglicher Indikator für eine Prognose für Patienten mit Bronchialkarzinomen identifiziert.
Des Weiteren zeigen Adenokarzinome der Lunge, die zu den NSCLC zählen, eine signifikante Korrelation von der Expression von TTF-1 und verschiedenen klinischen Parametern, wie zum Beispiel Tumorgröße und Geschlecht.

Aus diesen Vorkenntnissen sollten in der vorliegenden Studie nun anhand immunhistochemischer und statistischer Untersuchungen und mit Hilfe der angelegten Datenbank von Patienten mit NSCLC gezeigt werden:

- ob ABCA3 und / oder TTF-1 einen Einfluss auf das Gesamtüberleben haben,
- ob ein Zusammenhang zwischen der Expression von ABCA3 und TTF-1 besteht und
- ob ein Zusammenhang zwischen der Expression von ABCA3 bzw. TTF-1 und spezifischen klinischen Parametern besteht.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

2.1.1 Zusammensetzung

89 Patienten mit Bronchialkarzinomen bilden das Gesamtkollektiv der vorliegenden Studie. Die vorliegende Studie umfasst ausschließlich Patienten, deren Tumoren histopathologisch als Adeno- oder Plattenepithelkarzinome klassifiziert worden sind.
Da die Tumorproben nicht bei jedem Patienten von ausreichender Qualität waren, konnten bei vier Patienten keine Färbung hinsichtlich TTF-1 durchgeführt werden. Deshalb ergeben sich zwei leicht differierende Patientenkollektive. So entspricht das Gesamtkollektiv von 89 Patienten dem Patientenkollektiv ABCA3, welches 61 Patienten, deren Bronchialkarzinom als Plattenepithelkarzinom, und 28 Patienten, deren Bronchialkarzinom als Adenokarzinom klassifiziert wurde, umfasst.
Des Weiteren ergibt sich das Patientenkollektiv TTF-1, welches insgesamt 85 Patienten umfasst (60 Fälle mit Plattenepithelkarzinomen, 25 Fälle mit Adenokarzinomen).

2.1.2 Datenerfassung und Follow-Up

Die den Patienten zugehörigen Daten wurden in einer relationalen Datenbank (Microsoft Access 2003) erfasst. Dort wurden sowohl prä-, intra- als auch postoperative Daten festgehalten.

Präoperativ wurden Alter und Geschlecht der Patienten ermittelt. Darüber hinaus wurden alle Ergebnisse der präoperativen Tumorklassifikation (Staging) und der klinisch ermittelten TNM-Stadien sowie weitere Daten, zum Beispiel Lungenfunktionsparameter, in die Datenbank eingetragen. Dezidiert wurden Daten in Bezug auf das Rauchverhalten der Patienten festgehalten.

Die intraoperativen Daten, die in der Datenbank erfasst wurden, umfassen u.a. den Operateur, das Operationsverfahren bzw. die Operationstechnik, die Zuordnung der entnommenen Lymphknoten sowie während der Operation aufgetretene Besonderheiten.

Zu den postoperativen Daten zählen weiterhin Daten wie die Verweildauer auf der Intensivstation, gegebenenfalls vorgenommene Bluttransfusionen, die pathologisch ermittelte TNM-Klassifikation, die Anzahl infiltrierter Lymphknoten, Daten von stationären Aufenthalten in Krankenhäusern, postoperative Komplikationen falls vorgefallen, und Informationen über Revisionseingriffe.

Ergänzt wurden diese Daten durch nachfolgende Befragungen der Hausärzte der entsprechenden Patienten, so dass die Datenbank nach Möglichkeit um Informationen wie adjuvante oder neoadjuvante Therapien (Radio-, Chemo- oder anderweitige Therapien), gegebenenfalls aufgetretene Rezidive und/ oder Metastasen, Todeszeitpunkte und Todesursachen erweitert werden konnte.

Die zuständige Ethikkommission hat die entsprechenden Unterlagen überprüft und keine Einwände gegen die vorliegende Studie erhoben.

2.2 Laboruntersuchungen

2.2.1 Materialien

2.2.1.1 Vorbemerkungen

Alle in der vorliegenden Studie verwendeten Materialien (Chemikalien, Verbrauchsmaterialien, Gerätschaften, EDV-Systeme bzw. Software) sind in den Tabellen 2.1 Chemikalien, 2.2 Primärantikörper, 2.3 Sekundärantikörper, 2.4 Verbrauchsmaterialien, 2.5 Gerätschaften und 2.6 Software aufgeführt.

2.2.1.2 Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Chemikalie	**Hersteller**
Ethanol 99% (vergällt 1%) in folgenden Konzentrationen: 100%, 96%, 70%, 50%, 30%	Apotheke der Universitätsmedizin Göttingen (Göttingen, Deutschland)
Citrat-Puffer: Target Retrieval Solution (10x) S2031	Dako REAL™ (Hamburg, Deutschland)
Wasserstoffperoxid (3%): Peroxidase-Blocking Solution S2023	Dako REAL™ (Hamburg, Deutschland)
AK-Diluent: Antibody Diluent S2022	Dako REAL™ (Hamburg, Deutschland)
Chromogen: Liquid Permanent Red (Liquid Permanent Red Chromogen, Liquid Permanent Red Substrate Buffer) K0640	Dako REAL™ (Hamburg, Deutschland)

Chemikalie	Hersteller
Chromogen: Liqiud DAB + Substrate Chromogen System (DAB+ Chromogen, DAB+ Substrate Buffer) K3468	Dako REAL™ (Hamburg, Deutschland)
Hämatoxylin	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Na-Jodat	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Kalialaun	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Chloralhydrat	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Citronensäure	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Xylol	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Entellan 1.07961.0100	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Novocastra NovoLink Polymer Detection System	Leica Biosystems (Newcastle, Groß-Britannien)
Bi-destilliertes Wasser	Forschungslabor der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie der Universitätsmedizin Göttingen (Göttingen, Deutschland)
Ionisiertes und entionisiertes Leitungswasser	Forschungslabor der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie der Universitätsmedizin Göttingen (Göttingen, Deutschland)
Tris AE 15.2	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)
NaCl 1367.1000	Th. Geyer GmbH & Co. KG (Renningen, Deutschland)
Tween® 20 9127.2	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)

Tabelle 2.1: Chemikalien.

Primärantikörper	Produktnummer	Konzentration	Hersteller
Anti-ABCA3, antibody produced in rabbit, affinity isolated	HPS007884	0,26 mg/ml	SIGMA Life Science (St. Louis, USA)
Dako Monoclonal Mouse Anti-Thyroid Transcrpition Factor (TTF-1)	M3575	1,339 mg/l	DakoCytomation (Hamburg, Deutschland)

Tabelle 2.2: Primärantikörper.

Sekundärantikörper/ Polymersystem	Produktnummer	Hersteller
ZytoChem Plus AP Polymer anti-Rabbit (6 ml, gebrauchsfertig)	ZUC031-006	ZYTOMED SYSTEMS (Berlin, Deutschland)

Tabelle 2.3: Sekundärantikörper.

Material	Hersteller
Deckgläser 22x32mm	MENZEL-Gläser (Braunschweig, Deutschland)
Objektträger	MENZEL-Gläser (Braunschweig, Deutschland)
Fettstift (Dako Pen)	DakoCytomation (Hamburg, Deutschland)
Filterspitzen: 10 µl, 1000 µl	STARLAB (Ahrensburg, Deutschland)
Pipettenspitzen: Standard Universal 1-200 µl, Standard Makro 1-5 ml	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Eppendorfer Safe-Lock Gefäße 1,5 ml	Eppendorf (Hamburg, Deutschland)
Klinge Mikrotome Blades S 35	Feather (Osaka, Japan)

Tabelle 2.4: Verbrauchsmaterialien.

2.2.1.3 *Gerätschaften*

Gerät	Hersteller
MS2 Minishaker	IKA® (Staufen, Deutschland)
MultiGourmet plus Dampfgarer	BRAUN (Kronberg, Deutschland)
Magnetrührer MR 3002C	Heidolph Instruments (Schwabach, Deutschland)
Eppendorf Research Pipetten: 0,5-10 µl (4745572), 10-100 µl (3619472), 100-1000 µl (4786522), 500-5000 µl (3628442)	Eppendorf (Hamburg, Deutschland)
Olympus BH-2 Research Microscope	Olympus (Hamburg, Deutschland)
Digitalkamera: Olympus Camedia C-4040 Zoom	Olympus (Hamburg, Deutschland)
Olympus Super Bright Zoom Lens F1,8	Olympus (Hamburg, Deutschland)
Mikroskop MBL 2000	Krüss Optronic (Hamburg, Deutschland)
Schlittenmikrotom SM 2000 R	Leica Camera AG (Sohns, Deutschland)
Kühlschrank	Bosch (Stuttgart, Deutschland)
Waage BL 1505	Sartorius (Göttingen, Deutschland)
pH-Messgerät inoLab	WTW (Weilheim, Deutschland)

Tabelle 2.5: Gerätschaften.

2.2.1.4 *Software*

Software	Hersteller
SPSS für Mac, Version 20.0	IBM (Ehningen, Deutschland)
analySIS Version 3.1	Olympus (Hamburg, Deutschland)
Microsoft Excel für Mac 2011 Home & Student	Microsoft (Redmond, USA)
Microsoft PowerPoint für Mac 2011 Home & Student	Microsoft (Redmond, USA)

Tabelle 2.6: Software.

2.2.2 Methoden

2.2.2.1 Herstellung der Tumorgewebeschnitte

Die in Formalin fixierten Tumorproben, die in Paraffin eingebettet wurden (Tumorblöcke), wurden mit Hilfe des Schlittenmikrotoms SM 2000 R und der verwendeten Klinge "Mikrotome Blades S 35“ in 4 µm starke Präparate geschnitten. Zunächst wurden diese Gewebeschnitte in entionisiertem Wasser aufgefangen, um sie dann in 45 °C warmes Wasser zu überführen, was zur Streckung der Oberfläche führte. Im Anschluss wurden die Gewebeschnitte auf zuvor gereinigte Objektträger aufgezogen und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. So waren die Gewebeschnitte unter Ausschluss von Tageslicht und bei Raumtemperatur ohne Begrenzung bis zur weiteren Verarbeitung - hier die immunhistochemische Färbung - lagerfähig.

2.2.2.2 Herstellung Hämalaun

Das Hämalaun, oder auch Hämatoxylin genannt, wurde wie in Tabelle 2.7 (Ansatz von MAYER’s saurem Hämatoxylin) dargestellt angesetzt.

1g Hämatoxylin krist.	in 750mL bi-destilliertem Wasser schütteln
0,2g Na-Jodat	alles in Lösung bringen und mit bi-destilliertem Wasser auf 1000mL Wasser auffüllen
50g Kalialaun	
50g Chloralhydrat	
1g Citronensäure	
	in dunkler Flasche lagern

Tabelle 2.7: Ansatz von MAYERS saurem Hämatoxylin.

2.2.2.3 Herstellung Puffer

Die für die immunhistochemischen Färbungen benötigten Puffer (Waschpuffer bzw. TBS-Puffer) wurden wie in Tabelle 2.8 Herstellung der Stammlösung des Waschpuffers und 2.9 Herstellung der Gebrauchslösung des Waschpuffers dargestellt hergestellt.

Stammlösung: 10x Puffer TBS ph=7,6

121 g Tris	in ca. 660 ml bi-destilliertem Wasser lösen, auf pH 7,6 einstellen (pH-Meter und nach Bedarf 5N HCl, 1N HCl, 1N NaOH) sowie mit bi-destilliertem Wasser auf 2000 ml auffüllen
180 g NaCl	

Tabelle 2.8: Herstellung der Stammlösung des Waschpuffers.

Gebrauchslösung: 0.05M pH 7,6 Tris-Puffer

200 ml 10x TBS	miteinander vermischen
1800 ml bi-destilliertes Wasser	
1 ml TWEEN 20	

Tabelle 2.9: Herstellung der Gebrauchslösung des Waschpuffers.

2.2.2.4 Immunhistochemie

Bei der Immunhistochemie handelt es sich um ein Verfahren, das in der Medizin und Biologie angewendet wird und der Lokalisation und Identifikation von Proteinen mittels Antikörpern dient. Hierbei findet das Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion Anwendung. Das Antigen ist in diesem Fall das zu detektierende Protein.

In der vorliegenden Studie wurde die Methode der indirekten Immunhistochemie angewendet, bei der neben einem primären Antikörper auch ein sekundärer Antikörper zum Einsatz kommt (siehe Abbildung 2.1).

ABCA3

Nach spezifischer Vorbereitung der Tumorpräparate wird zunächst ein Antikörper in einer Verdünnung auf das Tumorpräparat appliziert. Der Primärantikörper (hier ein Anti-ABCA3-Antikörper), der im Kaninchen produziert wird, reagiert mit dem Ziel-Antigen (hier ABCA3).

Anschließend erfolgt das Auftragen des zweiten Antikörpers. In diesem Fall ist dies ein Enzym-Polymer, welches für die Verwendung in Kombination mit Primärantikörpern aus dem Kaninchen entwickelt wurde. In dem Enzym-Polymer sind mehrere Moleküle Sekundärantikörper und mehrere Moleküle Alkalische Phosphatase über kovalente Bindungen miteinander gekoppelt. Der Sekundärantikörper reagiert mit dem Primärantikörper. Die optische Darstellung erfolgt über eine Enzym-Substrat-Reaktion. Das Substrat, hier der Farbstoff (Liquid Permanent Red), bindet an das Enzym mit dem der Sekundärantikörper gelabelt ist, in diesem Fall die Alkalische Phosphatase. Es entsteht ein rotes Farbprodukt, das im Lichtmikroskop im Cytoplasma der Zellen nachweisbar ist. Stark vereinfacht ist dies in Abbildung 2.1 dargestellt.

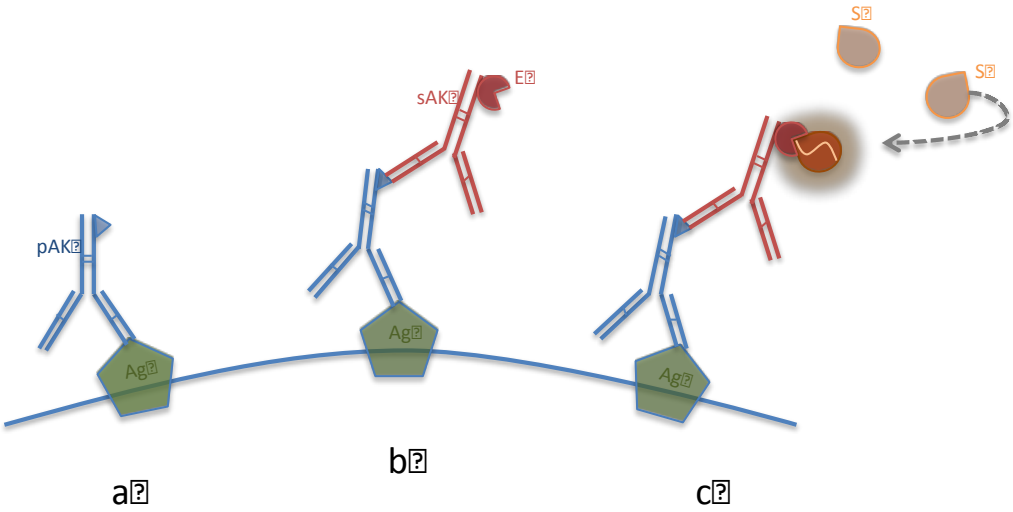

Abbildung 2.1: Prinzip der indirekten Immunhistochemie (vereinfachtes Schema). a) Primärkörper (pAk) gegen das Antigen (Ag). b) Sekundärantikörper (sAk) gegen den Primärantikörper. c) Substrat (S) wird vom am Sek.-Antikörper befindlichen Enzym (E) zu Farbstoff gespalten.

TTF-1

Bei dem Protein TTF-1 kommt in der hier beschriebenen Arbeit das Novocastra NovoLink Polymer Detection System zur Anwendung.

Auch hier wird, nach entsprechender Vorbehandlung der Tumorpräparate, zunächst ein spezifischer Antikörper in einer Verdünnung auf das Tumorpräparat appliziert. Der hier verwendete Primärantikörper, Monoclonal Mouse Anti-Thyroid-Transcription-Factor (TTF-1), reagiert mit dem Ziel-Antigen (TTF-1). Im Anschluss erfolgt die Applikation des Novocastra Post Primary Blocks zur Verstärkung der Wirkung des danach zu applizierenden Polymerreagenzes. Als nächster Schritt erfolgt die Applikation von NovoLink Polymer. Dieses kann die Maus-Immunglobuline erkennen und den am Ziel-Antigen gebundenen Monoclonal Mouse Anti-Thyroid-Transcription-Factor nachweisen. Danach wird zur Visualisierung das Liquid DAB+ Substrate Chromogen System von Dako inkubiert. Es kommt zur Reaktion mit der im Polymer gebundenen Peroxidase und zur Ausfällung eines sichtbaren braunen Niederschlags an der Stelle von TTF-1, der im Lichtmikroskop im Zellkern der Zellen nachweisbar ist.

Angewendetes Verfahren bei ABCA3

Der Vorgang für die immunhistochemische Färbung ist in Tabelle 2.10 dargestellt.

Schritt	Zeit	Vorgang
1	Je 5 Min.	Entparaffinieren mit Xylol (3x)
2	Je 5 Min.	Rehydrieren: 2x 100%igen, 69%igen, 70%igen, 50%igen, 30%igen Alkohol & entionisiertes Wasser
3	40 Min.	Antigen-Demaskierung: 90°C heißer, 10%iger Citrat-Puffer
4	Ca. 25 Min.	Abkühlen auf Raumtemperatur
5	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
6	15 Min.	Blocken endogener Peroxidase (3%iges H_2O_2) in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
7	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
8	30 Min.	Antikörper-Diluent inkubieren in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
9	Über Nacht	Primär-Antikörper inkubieren in feuchter Kammer im Kühlschrank bei 4°C
10	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
11	30 Min.	Sekundär-Antikörper inkubieren in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
12 13	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer Chromogen ansetzen: 3000 µL Liquid Permanent Red Substrate Buffer + 1 Tropfen Liquid Permanent Red Chromogen
14	5-30 Min.	100 µL Chromogen-Gemisch inkubieren bei Raumtemperatur
15	7 Min.	Spülen mit bi-destilliertem Wasser (Abbruch Reaktion)
16	2,5 Min.	Hämalaun (Kernfärbung)
17	7 Min.	Differenzieren unter fließendem, lauwarmen Wasser
18	Je 3 Min.	Dehydrieren: 2x 96%iger und 2x 100%iger Alkohol sowie 3x Xylol
19		Eindecken mit Entellan

Tabelle 2.10: Schematische Darstellung immunhistochemischer Färbung hinsichtlich ABCA3.

Die wichtigsten Punkte werden an dieser Stelle detaillierter aufgeführt.

Zu Schritt 1: Zunächst wurden die Gewebeschnitte durch drei mal fünf-minütiges Eintauchen in Xylolbäder entparaffiniert, um sie für die immunhistochemische Färbung vorzubereiten.

Zu Schritt 3: Um die Proteinvernetzung im Tumorpräparat, welche durch die Fixierung mit Phosphat-gepuffertem Formalin entstand, wieder aufzuheben, wurden die Tumorpräparate Antigen-demaskiert.

Zu Schritt 5, 7, 10, 12: Das Waschen der Tumorpräparate erfolgte stets auf der Schüttelplatte bei sanften Kippbewegungen.

Zu Schritt 6 und folgende: Beim Blocken der endogenen Peroxidase und bei den darauf folgenden Schritten durften die Tumorproben keinesfalls antrocknen.

Um den Verbrauch an Analysematerialien möglichst gering zu halten, wurden die Tumorproben mit einem Fettstift umrandet, sodass ein sogenannter *magic circle* entstand, der als Barriere für die im folgenden aufgetragenen Flüssigkeiten diente.

Dann erfolgte die Applikation der Flüssigkeiten.

Zu Schritt 8 und 9: Parallel zur Inkubationszeit des Antikörper-Diluenten wurde Anit-ABCA3 der Firma SIGMA® Life Science (Primär-Antikörper) mit dem Antikörper-Diluenten im Verhältnis 1:150 in einem Eppendorfer-Gefäß zusammen gegeben und mit Hilfe des Minishakers gemischt. Dieses Mischungsverhältnis wurde in einer vorangegangenen Studie (Overbeck et al. 2013) ermittelt.

Zu Schritt 14 und 15: Die Kontrolle der Farbreaktion erfolgte im Lichtmikroskop. Die Reaktion wurde so lange beobachtet, bis eine Sättigung erreicht war, aber abgebrochen, bevor sich eine Hintergrundfärbung zeigte. Das Abschätzen des richtigen Zeitpunktes, um die Reaktion abzubrechen, beruhte dabei auf Erfahrungswerten und betrug etwa 5-10 Sekunden.

Angewendetes Verfahren bei TTF-1

Der Vorgang der immunhistochemischen Färbung hinsichtlich TTF-1 ist schematisch in Tabelle 2.11 dargestellt.

Schritt	Zeit	Vorgang
1	Je 5 Min.	Entparaffinieren mit Xylol (3x)
2	Je 5 Min.	Rehydrieren: 2x 100%igen, 69%igen, 70%igen, 50%igen, 30%igen Alkohol & entionisiertes Wasser
3	40 Min.	Antigen-Demaskierung: 90°C heißer, 10%iger Citrat-Puffer
4	Ca. 25 Min.	Abkühlen auf Raumtemperatur
5	Je 5 Min.	2x Waschen in entionisiertem Wasser
6	5 Min.	Peroxidase-Block inkubieren in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
7	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
8	5 Min.	Protein-Block inkubieren in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
9	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
10	Über Nacht	100 µL verdünnter Antikörper (Verdünnung 1:200 mit Antikörper-Diluent) inkubieren in feuchter Kammer im Kühlschrank bei 4°C
11	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
12	30 Min.	Post Primary Block inkubieren in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
13	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
14	30 Min.	Polymer inkubieren in feuchter Kammer bei Raumtemperatur
15	Je 5 Min.	4x Waschen in Waschpuffer
16		Chromogen ansetzen: 1 Tropfen DAB+Chromogen & 1 mL DAB+ Substrate Buffer
17	5-30 Min.	100 µL Chromogengemisch inkubieren bei Raumtemperatur
18	7 Min.	Spülen mit bi-destilliertem Wasser (Abbruch Reaktion)
19	2,5 Min.	Hämalaun (Kernfärbung)
20	7 Min.	Differenzieren unter fließendem, lauwarmen Wasser
21	Je 3 Min.	Dehydrieren: 2x 96%iger und 2x 100%iger Alkohol sowie 3x Xylol
22		Eindecken mit Entellan

Tabelle 2.11: Schematische Darstellung immunhistochemischer Färbung hinsichtlich TTF-1.

Die wichtigsten Schritte sind im Folgenden detailierter ausgeführt.

Zu Schritt 1 bis 4: Die ersten Schritte bis hin zur Applikation des *magic circle*s erfolgten analog denen bei der immunhistochemischen Färbung hinsichtlich ABCA3.

Ab Schritt 12: Ab hier kam das NovoLink Polymer Detection System zur Anwendung.

Zu Schritt 17 und 18: Die Kontrolle der Farbreaktion erfolgte im Lichtmikroskop. Die Reaktion wurde so lange beobachtet, bis eine Sättigung erreicht war, aber abgebrochen, bevor sich eine Hintergrundfärbung zeigte. Das Abschätzen des richtigen Zeitpunktes, um die Reaktion abzubrechen, beruhte dabei auf Erfahrungswerten und betrug etwa 5-10 Sekunden.

2.2.2.5 Lichtmikroskopische Auswertung

Die Auswahl, der für die Studie verwendeten Tumorpräparate sowie der Ausschluss von bindegewebigen und nekrotischen Bereichen, erfolgte im Vorfeld durch einen erfahrenen Pathologen. Hierfür verwendete der Pathologe mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung gefärbte Tumorpräparate, die aus Tumorproben hergestellt wurden, die während der Operationen gewonnen wurden.

Die im Rahmen der Studie hinsichtlich ABCA3 und TTF-1 gefärbten Tumorpräparate wurden am Olympus BH-2 Research Microscope ausgewertet.

Zur Dokumentation wurde eine digitale Kamera zur Hilfe genommen.

Im Vorfeld der Auswertung wurde eine Intensitätsskala definiert. Diese konnte ganze Zahlen von null bis drei annehmen ($0 \triangleq I_0$; $1 \triangleq I_1$; $2 \triangleq I_2$; $3 \triangleq I_3$), wobei I_0 keine Expression bedeutet (keine Färbung) und I_3 die stärkst mögliche Expression (intensivste Färbung) (Beispielbilder siehe Abbildungen 2.2 – 2.9).

In jedem Präparat fanden sich neben den Tumorzellen auch Pneumozyten Typ II, die sich im Fall von ABCA3 durch eine intensive Rotfärbung auszeichneten. Pneumozyten Typ II wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen.

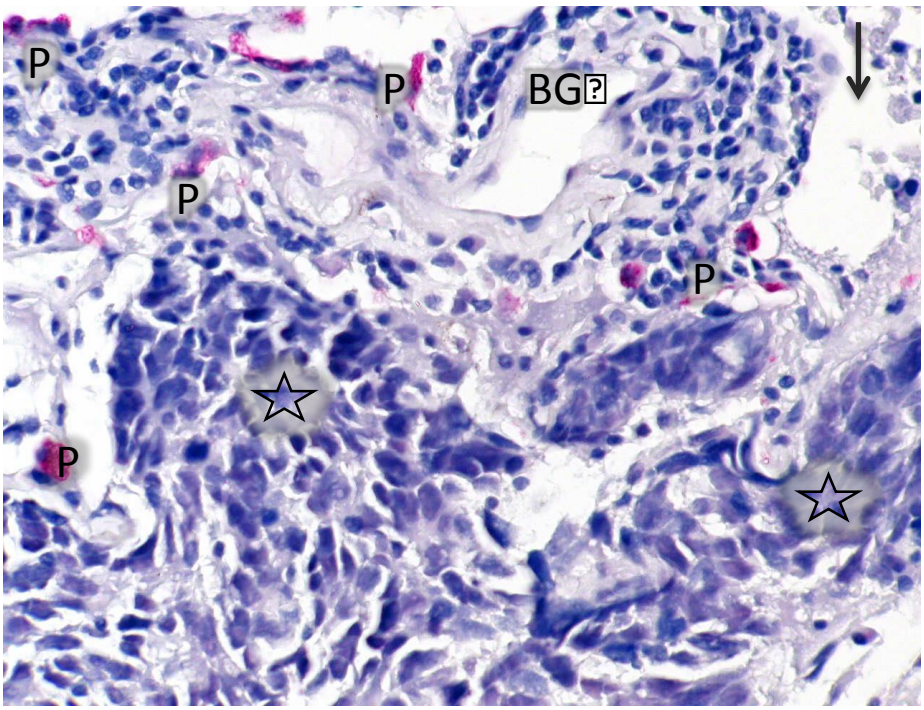

Abbildung 2.2: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_0, 100-fache Vergrößerung, keine Färbung im Zytoplasma der Tumorzellen (*); weiterhin im Bild Pneumozyten Typ II (P), Bindegewebe (BG) und Artefakt (Pfeil).

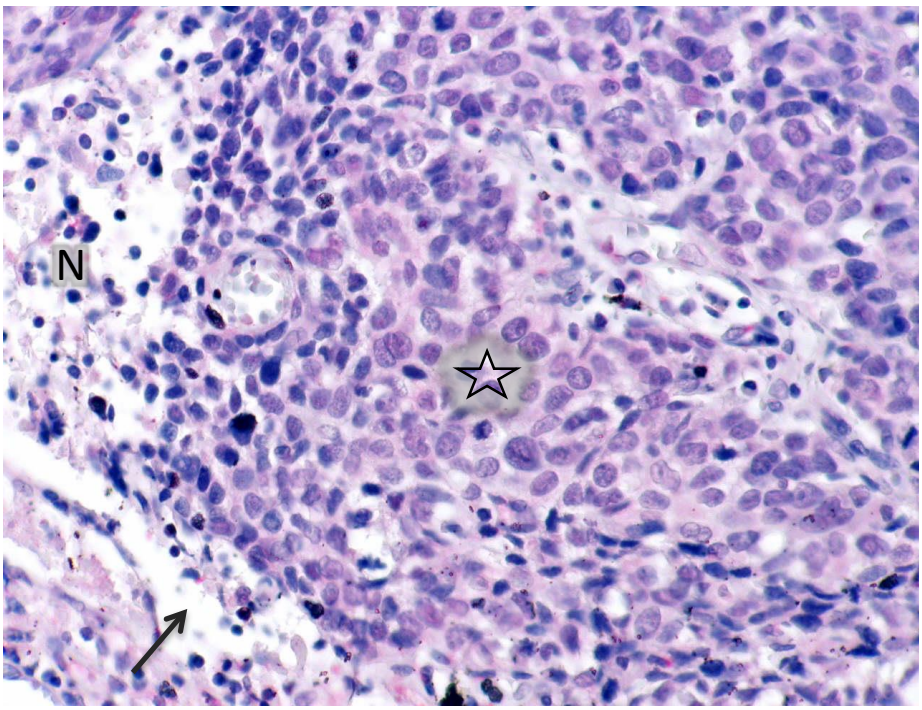

Abbildung 2.3: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_1, 100-fache Vergrößerung, leichte Rotfärbung des Zytoplasmas der Tumorzellen (*), weiterhin im Bild nekrotisches Gewebe (N) und Artefakt (Pfeil).

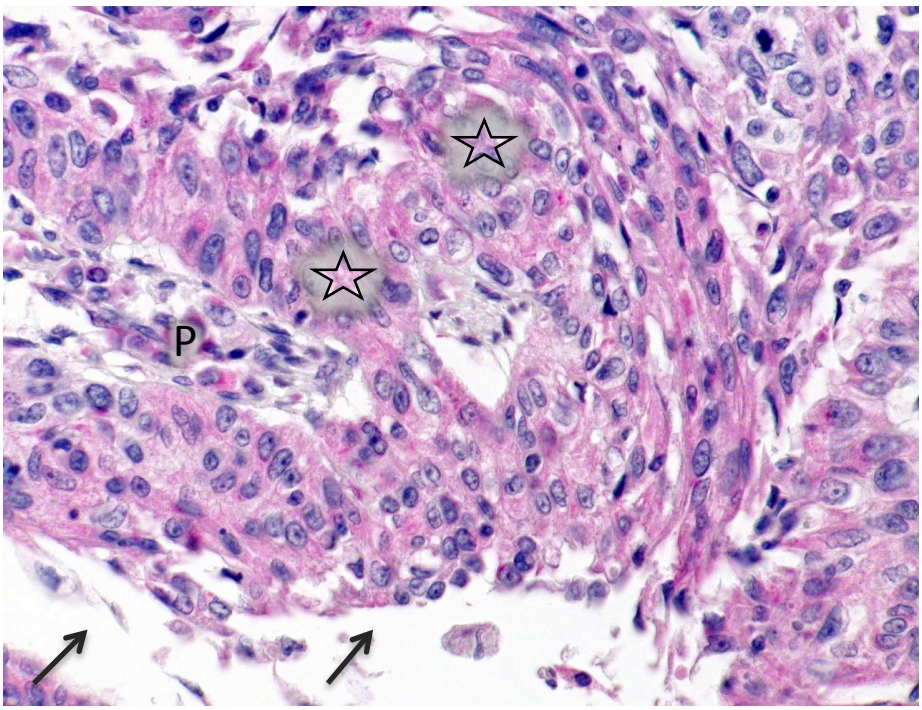

Abbildung 2.4: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_2, 100-fache Vergrößerung, mittlere Rotfärbung des Zytoplasmas der Tumorzellen, weiterhin im Bild Pneumozyten Typ II (P) und Artefakte (Pfeile).

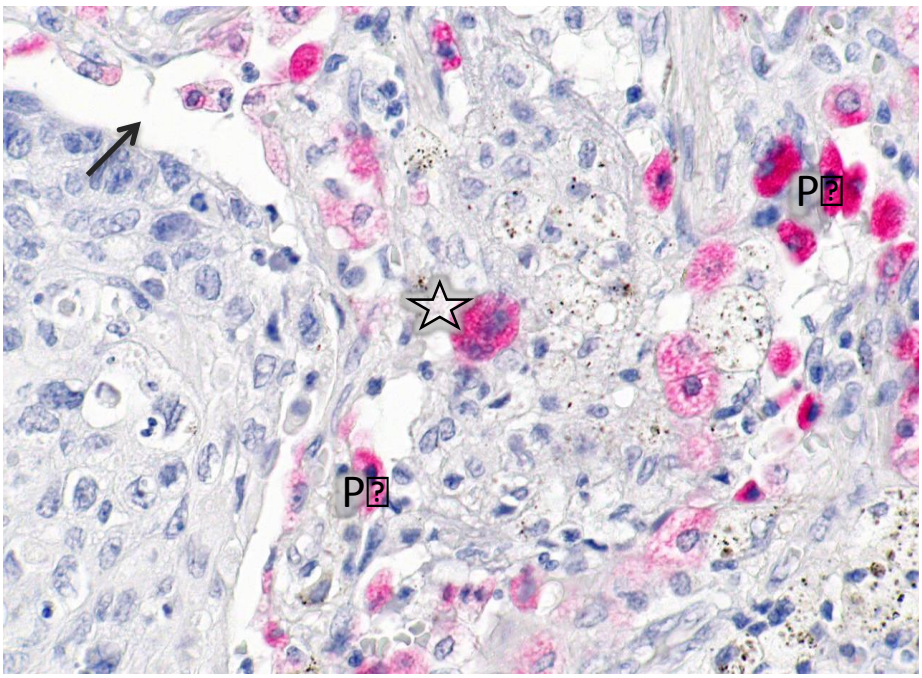

Abbildung 2.5: Beispielbild ABCA3 - Intensität I_3, 100-fache Vergrößerung, intensive Rotfärbung des Zytoplasmas der Tumorzelle (*), weiterhin im Bild Artefakt (Pfeil) und Pneumozyten TypII (P).

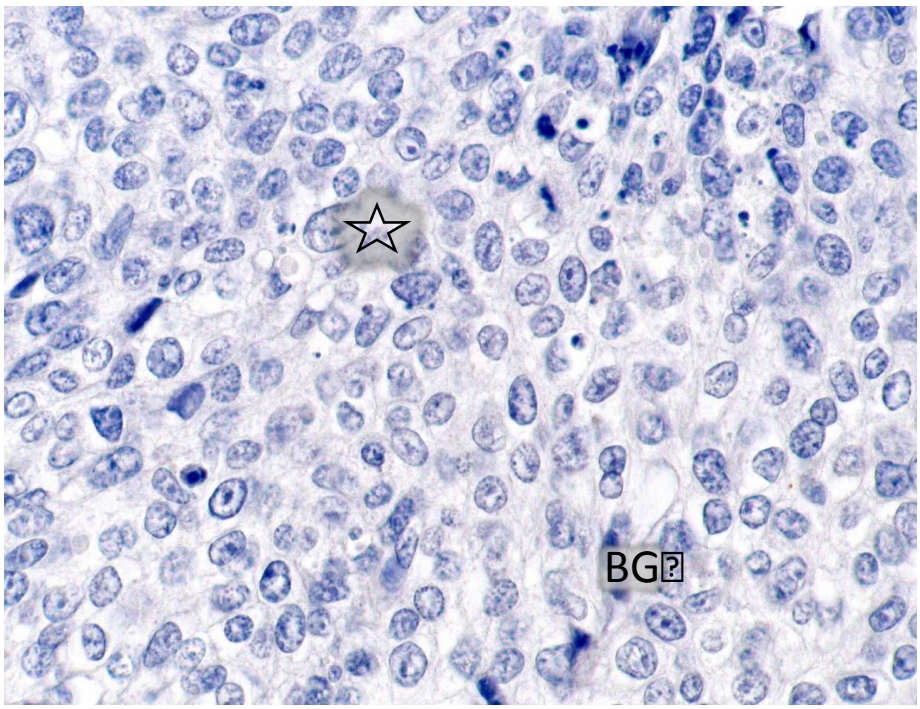

Abbildung 2.6: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_0, 100-fache Vergrößerung, keine Färbung der Zellkerne der Tumorzellen (*), weiterhin Bindegewebe (BG) im Bild.

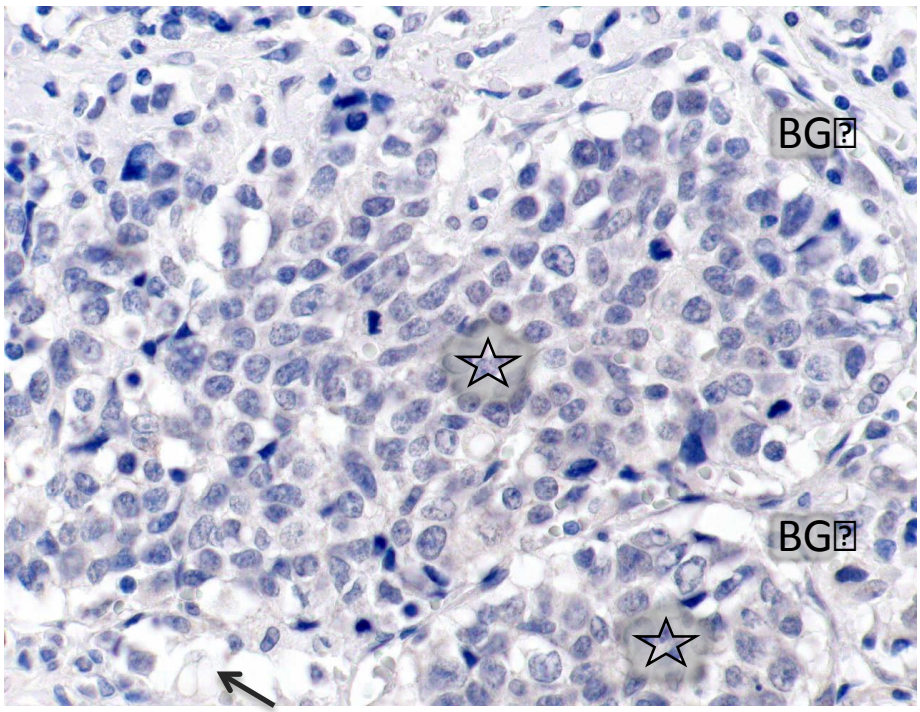

Abbildung 2.7: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_1, 100-fache Vergrößerung, leichte Braunfärbung der Zellkerne der Tumorzellen (*), weiterhin Bindegewebe (BG) und Artefakt (Pfeil) im Bild.

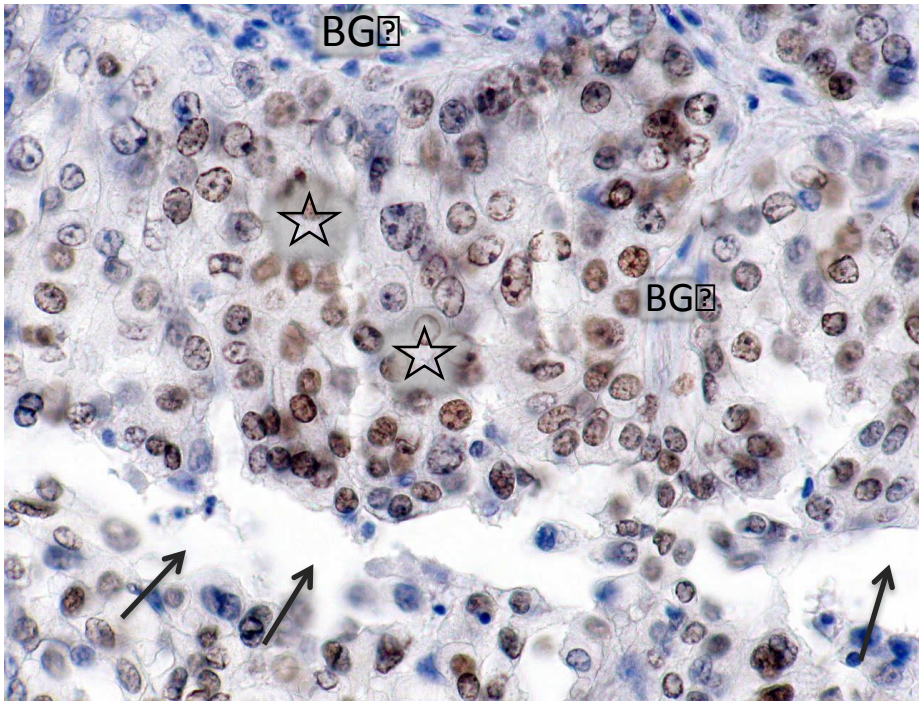

Abbildung 2.8: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_2, 100-fache Vergrößerung, mittlere Braunfärbung der Zellkerne der Tumorzellen (*), weiterhin Bindegewebe (BG) und Artefakte (Pfeile) im Bild.

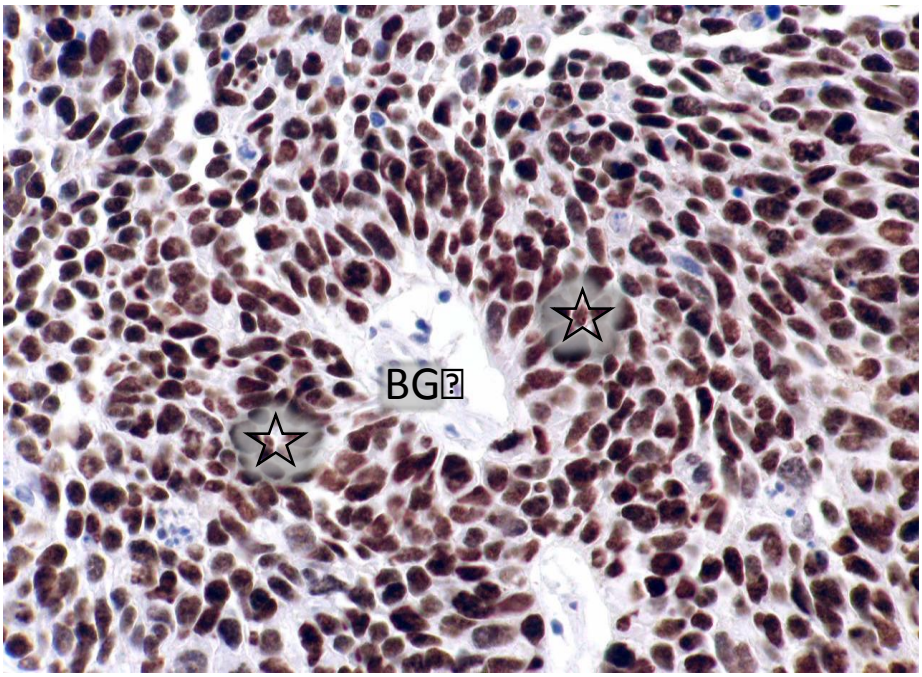

Abbildung 2.9: Beispielbild TTF-1 - Intensität I_3, 100-fache Vergrößerung, intensive Braunfärbung der Zellkerne der Tumorzellen (*), weiterhin Bindegewebe (BG) im Bild.

Die Auswertung für die einzelnen Präparate (sowohl für ABCA3 als auch TTF-1) erfolgte nach folgendem Schema:

Da sich eine Auswertung des gesamten Tumorpräparats aufgrund der enormen Größe der einzelnen Präparate ausschloss, wurde als ***erster Schritt*** das auszuwertende Areal festgelegt. Hierzu wurde der Teil des Tumorpräparates gesucht, der die höchste detektierbare Expression des zu untersuchenden Proteins (die höchste Intensität der Färbung) innerhalb des Präparates aufwies (siehe **1** in Abbildung 2.10). Dies entsprach der qualitativen Bewertung.
Dieser Bereich wurde mittels der digitalen Kamera unter Verwendung des 10er-Objektivs des Mikroskops dokumentiert (siehe **2** in Abbildung 2.10).

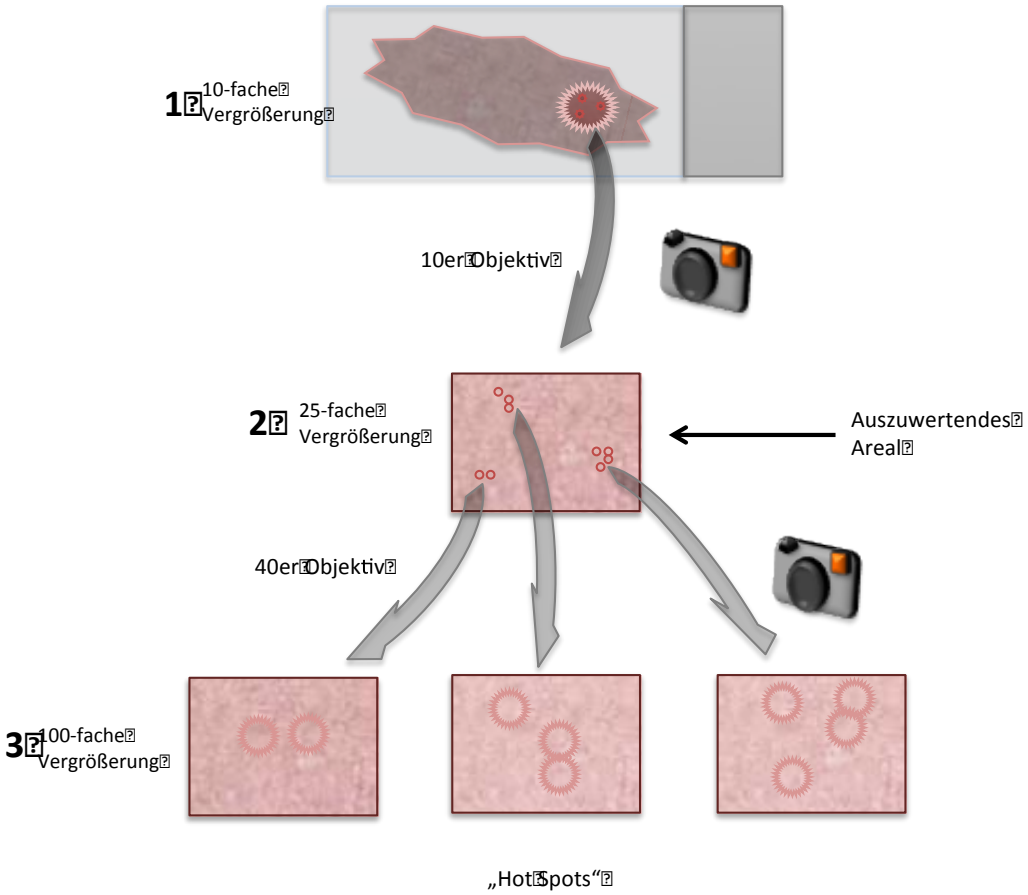

Abbildung 2.10: Schema zur lichtmikroskopischen Auswertung.

Aus diesem auszuwertenden Areal wurden zur detaillierten Dokumentation anschließend die drei Ballungszentren (hot spots) der am intensivsten gefärbten Zellen mittels 40er Objektiv und digitaler Kamera festgehalten (siehe **3** in Abbildung 2.10).

In einem ***zweiten Schritt*** wurde der prozentuale Anteil an vitalen Tumorzellen im auszuwertenden Areal bestimmt. Dieser Wert floss nicht in die Auswertung ein, sondern diente als Hilfsmittel zur Fokussierung des Untersuchers auf die entsprechenden Tumorzellen, falls andersartige Zellen im entsprechenden Areal zu finden sein sollten.

Um im weiteren einerseits eine qualitative als auch quantitative Aussage zu erhalten, wurde in einem ***dritten Schritt*** das auszuwertende Areal, genauer die darin enthaltenen vitalen Tumorzellen, anhand ihrer Gesamtverteilung in Prozent bewertet, dabei entsprach das auszuwertende Areal 100% (quantitative Bewertung).

Ein Beispiel: In einem auszuwertenden Areal wiesen ein 1/10 der vitalen Tumorzellen eine Färbung der Intensität 3 auf, jeweils 1/5 der Zellen konnten den Intensitäten 1 und 2 zugeordnet werden, der Rest wies keine Färbung auf. So ergab sich folgendes Bild: I_0 = 50%, I_1 = 20%, I_2 = 20%, I_3 = 10%.
Die qualitativ höchste Expression (in dem oben genannten Beispiel $I_3 \triangleq 3$) wurde als Maximal-Wert bezeichnet.
Die Ergebnisse wurden in einer Excel-Tabelle festgehalten (siehe Tabellen A.1 und A.2 im Anhang).

Die Untersuchung erfolgte von zwei erfahrenen Untersuchern, die sich bei jedem Tumorpräparat hinsichtlich der Auswertungsergebnisse auf einen Konsens verständigten, so dass eine einheitliche Bewertung resultierte.

2.3 Auswertungen

2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte

Aus den Maximal-Werten, also der qualitativ höchsten zu detektierenden Expression im Tumorpräparat, wurden drei Gruppen gebildet: Die erste Gruppe negativ/schwach (negative/weak) bildeten die Patienten mit den Maximal-Werten 0 und 1. Die zweite Gruppe mittel (*intermediate*) erfasste die Patienten mit dem Maximal-Wert 2 und die dritte Gruppe stark (strong) setzte sich aus den Patienten zusammen, die den Maximal-Wert 3 hatten (vergleiche Overbeck et al. 2013).

Des Weiteren wurde aus den Ergebnissen der lichtmikroskopischen Auswertung ein Index errechnet (Positiv-Index). Dieser Positiv-Index sollte sowohl die qualitativen als auch die quantitativen Ergebnisse widerspiegeln und setzte sich wie folgt zusammen:

$$\text{Positiv-Index} = (I_0 * X_0) * 0 + (I_1 * X_1) * 0 + (I_2 * X_2) + (I_3 * X_3)$$
$$= I_2 * X_2 + I_3 * X_3 ,$$

wobei: $I_2=2$ und

$I_3=3$.

X_0 entspricht dem prozentualen Anteil des auszuwertenden Areals mit der Intensität $I_0=0$.
X_1 entspricht dem prozentualen Anteil des auszuwertenden Areals mit der Intensität $I_1=1$.
X_2 entspricht dem prozentualen Anteil des auszuwertenden Areals mit der Intensität $I_2=2$.
X_3 entspricht dem prozentualen Anteil des auszuwertenden Areals mit der Intensität $I_3=3$.

Der Positiv-Index konnte so Werte zwischen 0 und 300 annehmen, wobei 0 das niedrigste Ergebnis widerspiegelt und 300 das höchste.
Dieses Verfahren wurde an den erweiterten H-Score mit Vergrößerungsregel (updated H-Score with magnification rule) angelehnt, der bereits bei immunhistochemischen Untersuchungen von Bronchialkarzinomen hinsichtlich EGFR zur Anwendung kam (Hirsch et al. 2003; Mazières et al. 2013). In der vorliegenden Studie wurde die Intensität 1 ebenfalls mit Null multipliziert anstatt mit 1 wie im ursprünglichen H-Score. So wurden, analog der Gruppenbildung bei der Auswertung der Maximal-Werte, negative und schwache Ergebnisse ausgeschlossen.

Um sowohl die qualitativen als auch die quantitativen Ergebnisse der Untersuchung der Tumorpräparate hinsichtlich des Expressionsverhalten von ABCA3 (zusammengefasst mit dem Positiv-Index) mit dem Überleben (over-all-survival) der Patienten vergleichen zu können, wurden anhand des Positiv-Indexes zwei Gruppen gebildet. Hierzu wurde ein Scatter-Plot-Diagramm als Orientierungshilfe benutzt, in dem die Verteilung der Positiv-Index-Werte dargestellt worden ist (siehe Abbildung 2.11).

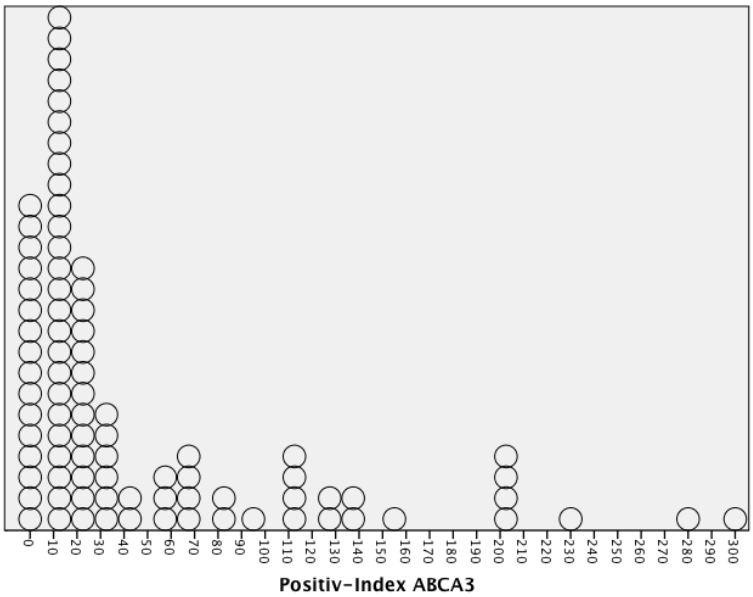

Abbildung 2.11: Scatter-Plot-Diagramm "Positiv-Index" ABCA3.

Als Grenzwerte für die erste Gruppe wurden die Werte 0-100 und für die zweite Gruppe 101-300 festgelegt. Somit ist der Grenzwert auf 1/3 der Gesamtskala (0 bis 300) festgesetzt worden. 72 Patienten waren in der ersten Gruppe (0-100) enthalten, 17 in der zweiten (101-300).

Dieser Grenzwert ist zwar ein arbiträrer Wert, orientiert sich jedoch an Auswertungsbeispielen des erweiterten H-Scores. Mazières et al. (2013) haben zur Auswertung der Ergebnisse des erweiterten H-Scores bei einer Untersuchung von NSCLC hinsichtlich EGFR einen Schwellen- bzw. Grenzwert von 200 gewählt, sodass Ergebnisse in den unteren zwei Dritteln des Scores einer niedrigen EGFR-Expression und Ergebnisse im oberen Drittel einer hohen EGFR-Expression zugeordnet wurden.

Aufgrund der Überlegung, dass im Fall von ABCA3 auch wenige Tumorzellen einen relevanten Einfluss auf Resistenzen gegenüber Chemotherapeutika haben können (vergleiche hierzu Overbeck et al. 2013), wurde in der vorliegenden Studie der Grenzwert niedriger (auf 100) angesetzt, um diese Zellen berücksichtigt zu wissen.

Im Fall von TTF-1 wurden analog den Auswertungen hinsichtlich ABCA3 zum Vergleich des Positiv-Indexes und des Überlebens der Patienten anhand des Positiv-Indexes zwei Gruppen gebildet. Diese sind wie bei den Untersuchungen hinsichtlich ABCA3 mit Hilfe eines Scatter-Plot-Diagramms erstellt worden (siehe Abbildung 2.12) und durch folgende Grenzwerte definiert: Die erste Gruppe bilden Patienten, deren Positiv-Index Werte zwischen 0 und 100 annimmt und beinhaltet 68 Patienten. Die zweite Gruppe wird durch die Patienten gebildet, deren Positiv-Index Werte zwischen 101 und 300 annimmt und beinhaltet 17 Patienten.

Somit ergeben sich für die auf diese Weise durch den Grenzwert gebildeten Gruppen hinsichtlich ABCA3 als auch TTF-1 vergleichbare Gruppengrößen (ABCA3: 72/17; TTF-1: 68/17).

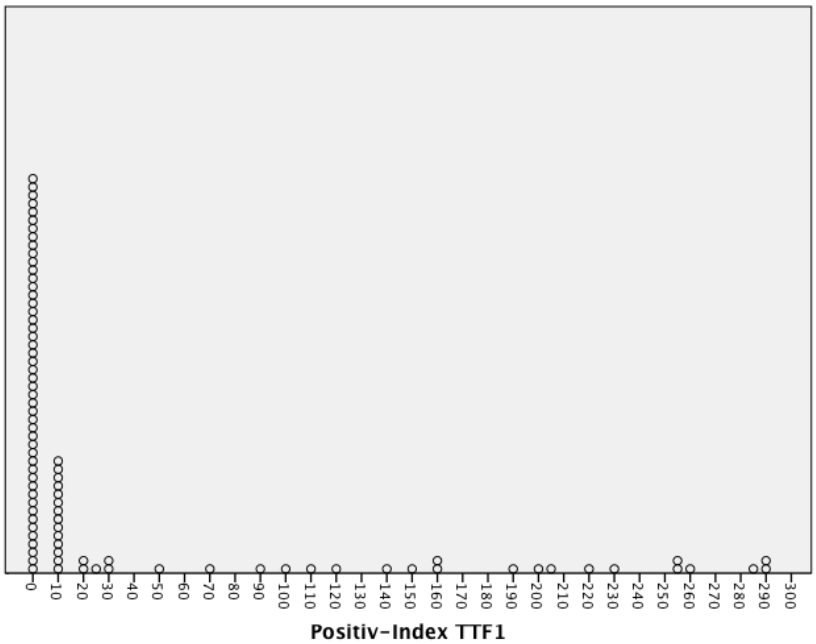

Abbildung 2.12: Scatter-Plot-Diagramm "Positiv-Index" TTF-1.

2.3.2 Definition Rauchverhalten

Das Rauchverhalten wurde in der vorliegenden Studie wie folgt definiert:
Als Nichtraucher wurden die Patienten definiert, die angegeben haben nie geraucht zu haben. Alle anderen Patienten wurden der Gruppe Raucher zugeordnet.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen der Patientendaten sowie der Ergebnisse der Auswertungen der immunhistochemischen Färbungen wurden mit Hilfe des Computerprogramms SPSS (Version 20.0) für Mac von IBM vorgenommen.

Kaplan-Meier-Kurve

Die Sterberaten bzw. Überlebenswahrscheinlichkeiten der Patienten wurden mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven dargestellt. Zum Vergleich der Überlebenszeiten von zwei oder mehr Gruppen wurde der LogRank-Test angewendet. Hierbei wurde ein Signifikanzniveau von 5% als Referenzwert festgelegt, sodass $p<0,05$ für ein statistisch signifikanten Unterschied im Überleben steht.

Rangkorrelation nach Spearman

Mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman wurden die Ergebnisse der Auswertung der immunhistochemischen Untersuchungen auf Wechselbeziehungen mit verschiedenen kategorialen Parametern aus der Datenbank (wie zum Beispiel pN, UICC-Stadien und Grading) untersucht. Die Rangkorrelation erfolgte stets zweiseitig.

3 Ergebnisse

3.1 Epidemiologie

3.1.1 Demographische Übersicht

Das Gesamtkollektiv der vorliegenden Studie bestand aus 89 Patienten. Zum Zeitpunkt der Operation lag das durchschnittliche Alter bei 64,7 Jahren mit einer Standardabweichung von 9,2 Jahren.
Die Verteilung der Patienten nach Geschlecht ist in Tabelle 3.1 dargestellt.

	Patienten		**Adenokarzinom**		**Plattenepithelkarzinom**	
	absolut	**Relativ**	**absolut**	**relativ**	**absolut**	**relativ**
männlich	80	(89,9%)	21	(75,0%)	59	(96,7%)
weiblich	9	(10,1%)	7	(25,0%)	2	(3,3%)

Tabelle 3.1: Verteilung der Patienten nach Geschlechtern.

Der Anteil an Plattenepithelkarzinomen lag bei 61 Patienten (68,5% des Gesamtkollektivs). Es wurden bei 28 der im Gesamtkollektiv enthaltenen 89 Patienten Adenokarzinome diagnostiziert (31,5% des Gesamtkollektivs).
Die Verteilung der einzelnen Patienten auf die UICC-Stadien (7. Version) ist in Tabelle 3.2 dargestellt. Nur 3 Patienten konnten aufgrund der pathologischen Befunde den UICC-Stadien IIIB und IV zugeordnet werden, die übrigen 86 verteilten sich auf die Stadien IA-IIIA.

UICC-Stadium (7. Auflage)	Patienten		Adenokarzinom		Plattenepithelkarzinom	
	absolut	relativ	absolut	relativ	absolut	relativ
Stadium IA	21	23,6	10	35,7	11	18,0
Stadium IB	14	15,7	5	17,9	9	14,8
Stadium IIA	15	16,9	3	10,7	12	19,7
Stadium IIB	14	15,7	3	10,7	11	18,0
Stadium IIIA	22	24,7	7	25,0	15	24,6
Stadium IIIB	2	2,2	0	0,0	2	3,3
Stadium IV	1	1,1	0	0,0	1	1,6

Tabelle 3.2: Patientenverteilung auf die UICC-Stadien – Gesamtkollektiv und aufgeschlüsselt nach Entitäten.

3.1.2 Durchgeführte Therapien

Eine neoadjuvante Chemotherapie erhielten 13 Patienten, eine adjuvante Chemotherapie 15. Adjuvante Radiotherapien wurden bei insgesamt 14 Patienten des Gesamtkollektivs durchgeführt.

3.1.3 Überlebenszeitanalyse und Todesursachen des Gesamtkollektivs

12 der Patienten des Gesamtkollektivs sind perioperativ (das heißt im zeitlichen Umfeld des operativen Eingriffes, dies beinhaltet stationäre Aufnahme, Anästhesie, Operation sowie bis zu einem Zeitraum von 90 Tage postoperativ) verstorben.
Im nachfolgenden Beobachtungszeitraum (im Mittel 46 Monate mit einer Standardabweichung von 39 Monaten) verstarben weitere 58 Patienten der 89 Patienten. Hiervon 34 am Primärtumor, weitere 7 Patienten sind aufgrund von anderen Ursachen im Nachbeobachtungszeitraum verstorben, hierzu zählen unter anderem: Herzinfarkt, Multiinfarktsyndrom und Suizid. Bei 17 Patienten konnte die Todesursache nicht ermittelt werden (unbekannt).

Bei 12 Patienten, der insgesamt 89 Patienten, war das Follow-Up nicht bis zum Ende der vorliegenden Studie erneuerbar (zum Beispiel war ein Patient unbekannt verzogen oder nahm keine weiteren Nachsorgetermine wahr), hier wurde das letzte gesicherte Follow-Up-Datum als Referenzzeitpunkt verwendet und zensiert bewertet. Für diese Patientengruppe betrug der durchschnittliche Nachbeobachtungszeitraum 73 Monate (mit einer Standardabweichung von 31 Monaten).

Im Rahmen dieser Studie und des Nachbeobachtungszeitraums waren 7 Patienten des Gesamtkollektivs am Leben.

Die 5-Jahres-Überlensrate betrug 32,4% und die mediane Überlebenszeit 28 Monate.

Die Überlebenszeit des Gesamtkollektivs ist mittels einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve dargestellt (siehe Abbildung 3.1; vergleiche auch Tabellen A.3 – A.4 im Anhang).

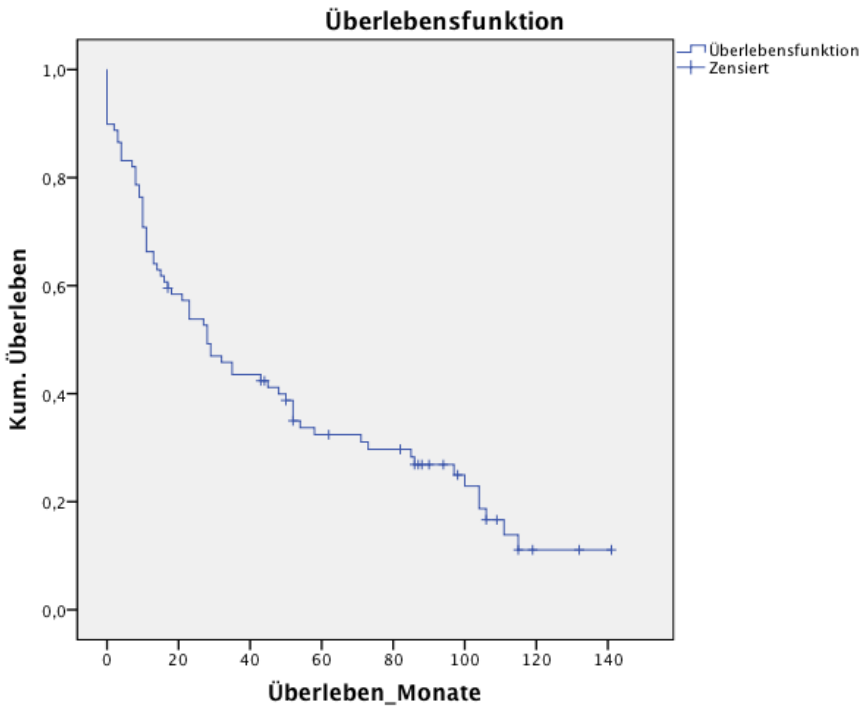

Abbildung 3.1: Kaplan-Meier-Überlebenskurve Gesamtkollektiv.

3.1.5 Überlebenszeitanalyse des Gesamtkollektivs anhand der Entitäten

Die Überlebenszeiten des Gesamtkollektivs wurden nach Tumorentitäten getrennt in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt (siehe Abbildung 3.2; vergleiche auch Tabellen A.5 – A.8 im Anhang).

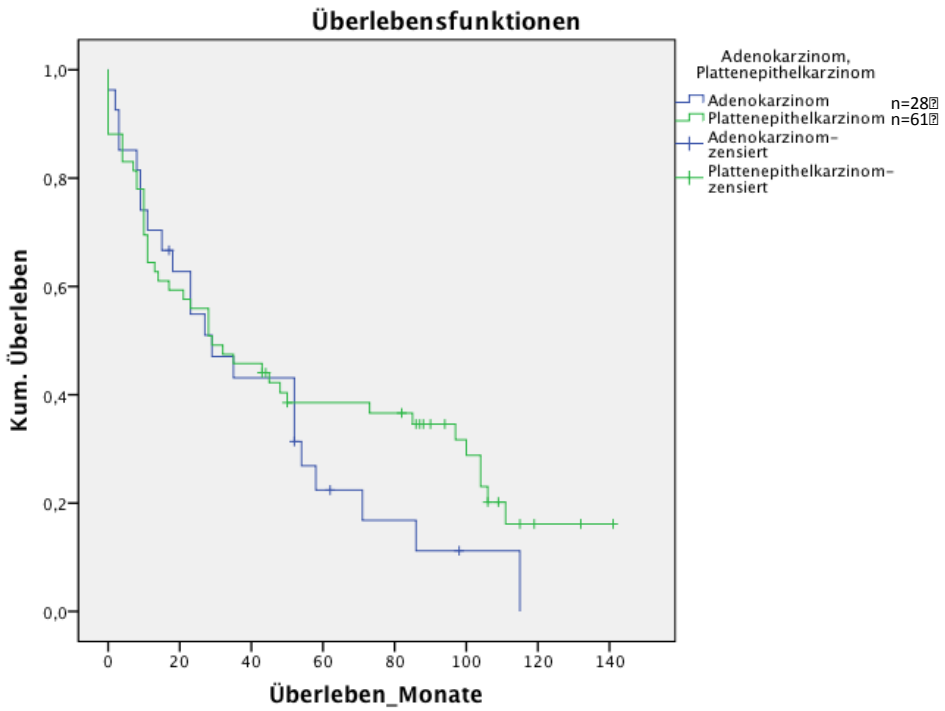

Abbildung 3.2: Kaplan-Meier-Überlebenskurve Gesamtkollektiv nach Tumorentitäten.

Es zeigten sich für Patienten mit Adenokarzinomen eine 5-Jahres-Überlebensrate von 21,6% und eine mediane Überlebenszeit von 27 Monaten. Die Patienten mit Plattenepithelkarzinomen weisen eine 5-Jahres-Überlebensrate von 37,3% und eine mediane Überlebenszeit von 28 Monaten auf. Der LogRank-Test ergab kein statistisch signifikantes Ergebnis mit p=0,296, wobei die Stadienverteilung nicht identisch ist.

Des Weiteren wurde das Überleben getrennt nach Rauchverhalten in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt (siehe Tabellen A.9-A.11 im Anhang). Im LogRank-Test ergab sich kein statistisch signifikantes Ergebnis (siehe Tabelle A.12 im Anhang).

3.2 Ergebnisse ABCA3

Die Tumorpräparate aller 89 Patienten des Gesamtkollektivs wurden immunhistochemisch hinsichtlich ABCA3 gefärbt und am Lichtmikroskop wie oben beschrieben semiquantitativ ausgewertet (siehe Tabelle A.1 im Anhang: Ergebnisse lichtmikroskopische Auswertung ABCA3).

3.2.1 Überlebenszeitanalyse anhand der Maximal-Werte

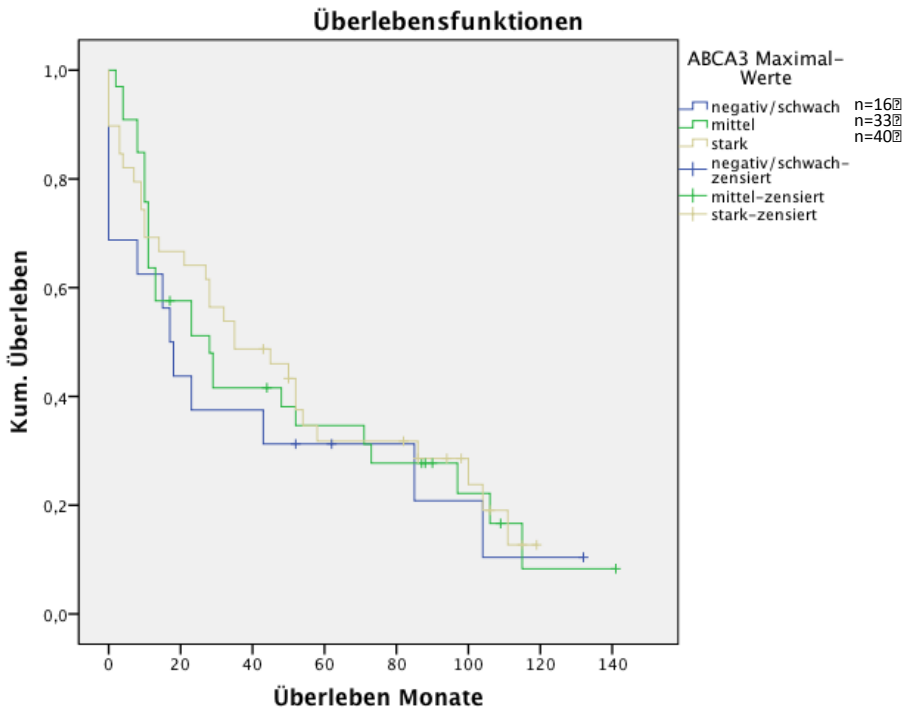

Abbildung 3.3: Kaplan-Meier-Überlebenskurve ABCA3 - Gruppen nach Maximal-Werten.

Das Überleben getrennt nach den Maximal-Werten (vergleiche hierzu Kapitel 2.3.1 Auswertungen Positiv–Index und Maximal-Werte) wurde in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt (siehe Abbildung 3.3; vergleiche auch Tabellen A.13 – A.16 im Anhang), um zu überprüfen, ob die qualitativ höchste Expression an ABCA3 einen Einfluss auf das Überleben der Patienten hat.

Im LogRank-Test ergab sich beim Vergleich dieser drei Gruppen mit einem p-Wert von 0,728 kein statistisch signifikantes Ergebnis in der Überlebenszeit.

Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug für die Gruppe negativ/schwach 31,3% (16 Patienten), für die Gruppe mittel 34,7% (33 Patienten) und für die Gruppe stark 31,0% (40 Patienten).

3.2.2 Überlebenszeitanalyse anhand des Positiv-Indexes

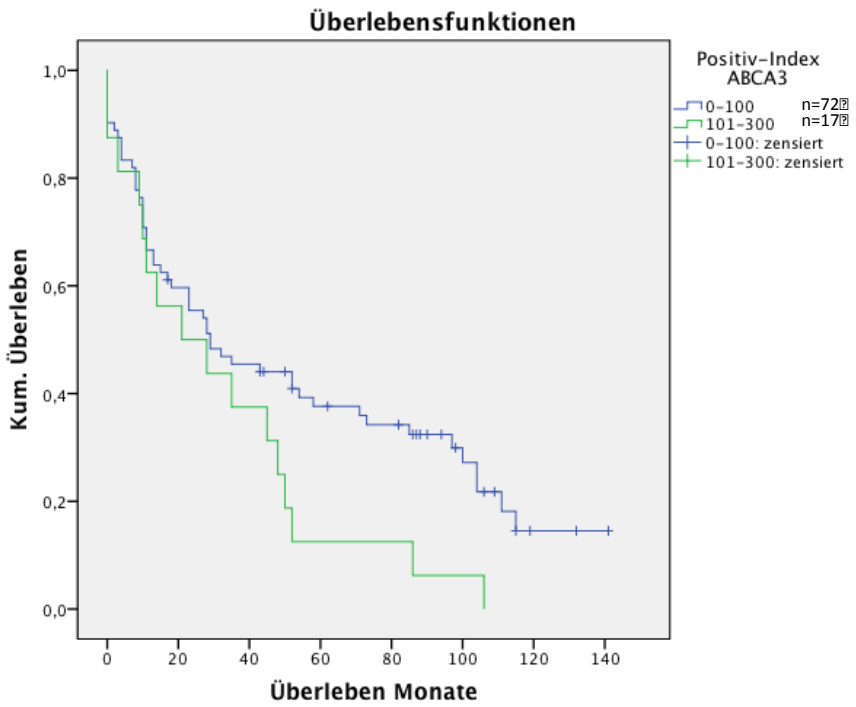

Abbildung 3.4: Kaplan-Meier-Überlebenskurve ABCA3 - Positiv-Index.

Um die Frage zu überprüfen, ob sowohl die qualitative als auch quantitative Expression von ABCA3 einen Einfluss auf das Überleben der Patienten haben, wurde das Überleben getrennt nach den aus dem Positiv-Index gebildeten Gruppen (siehe Kapitel 2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte) in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt (siehe Abbildung 3.4; vergleiche auch Tabellen A.17 – A.20 im Anhang).
Im LogRank-Test ergab sich im Vergleich dieser Gruppen ein statistisch signifikantes Ergebnis mit einem p-Wert von 0,044. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug für die Gruppe 0-100 37,6% (72 Patienten) und für die Gruppe 101-300 11,8% (17 Patienten).

3.2.3 Korrelationsanalyse

Die qualitativ höchsten Ergebnisse (Maximal-Werte) sowie die qualitativen und quantitativen Ergebnisse (zusammengefasst im Positiv-Index) der immunhistologischen Untersuchung wurden mit verschiedenen Parametern aus der erstellten Datenbank korreliert, um mögliche Wechselbeziehungen nachzuweisen. Hierbei wurde die Spearman-Korrelation angewandt.
Es wurden mit den oben genannten Daten folgende Parameter korreliert: Nodal-Status (pN), UICC-Stadien, Grading histologischen Klassifikation (Plattenepithelkarzinom oder Adenokarzinom) und Rauchverhalten.

3.2.3.1 Korrelationsanalyse anhand der Maximal-Werte

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen den qualitativ höchsten Ergebnissen (den Maximal-Werten) und pN. Auch bei der Korrelation von UICC-Stadien, Grading, der histologischen Klassifikation und dem Rauchverhalten mit den Maximal-Werten ergaben sich keine statistisch signifikanten Ergebnisse (vergleiche Tabellen A.21 – A.25 im Anhang).

3.2.3.2 Korrelationsanalyse anhand des Positiv-Indexes

Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Ergebnisse bei der Korrelation von Positiv-Index und pN, Grading, UICC-Stadien, dem Geschlecht sowie der histologischen Klassifikation (vergleiche Tabellen A.26 – A.30 im Anhang).
Ein statistisch signifikantes Ergebnis ergab hingegen die Korrelation von Positiv-Index und Rauchverhalten: Nichtraucher waren mit einem hohen Positiv-Index (einer qualitativ und quantitativ hohen Expression von ABCA3) assoziiert, Raucher mit einem niedrigen Positiv-Index (Mittelwert des Positiv-Indexes ABCA3 = 51,01; Median = 20,0) (vergleiche Tabelle A.31 im Anhang).

Zur besseren Übersicht sind die statistisch signifikanten Ergebnisse noch einmal in Tabelle A.32 im Anhang dargestellt.

3.3 Ergebnisse TTF-1

Die Tumorpräparate der 85 Patienten des TTF-1-Kollektivs wurden immunhistochemisch hinsichtlich TTF-1 gefärbt und am Lichtmikroskop wie oben beschrieben ausgewertet (siehe Tabelle A.2 im Anhang).
Das Patientenkollektiv TTF-1 umfasst 85 Patienten. Alle Patienten des Patientenkollektivs TTF-1 sind im Patientenkollektiv ABCA3 enthalten (siehe Kapitel 2.1.1 Zusammensetzung).

3.3.1 Überlebenszeitanalyse anhand der Maximal-Werte

Das Überleben getrennt nach den Maximal-Werten (vergleiche hierzu Kapitel 2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte) wurde in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt (siehe Abbildung 3.5), um zu überprüfen, ob die qualitativ höchste Expression an TTF-1 einen Einfluss auf das Überleben der Patienten hat.
Im LogRank-Test ergab sich mit einem p-Wert von 0,061 kein statistisch signifikanter Unterschied im Überleben zwischen diesen drei Gruppen.

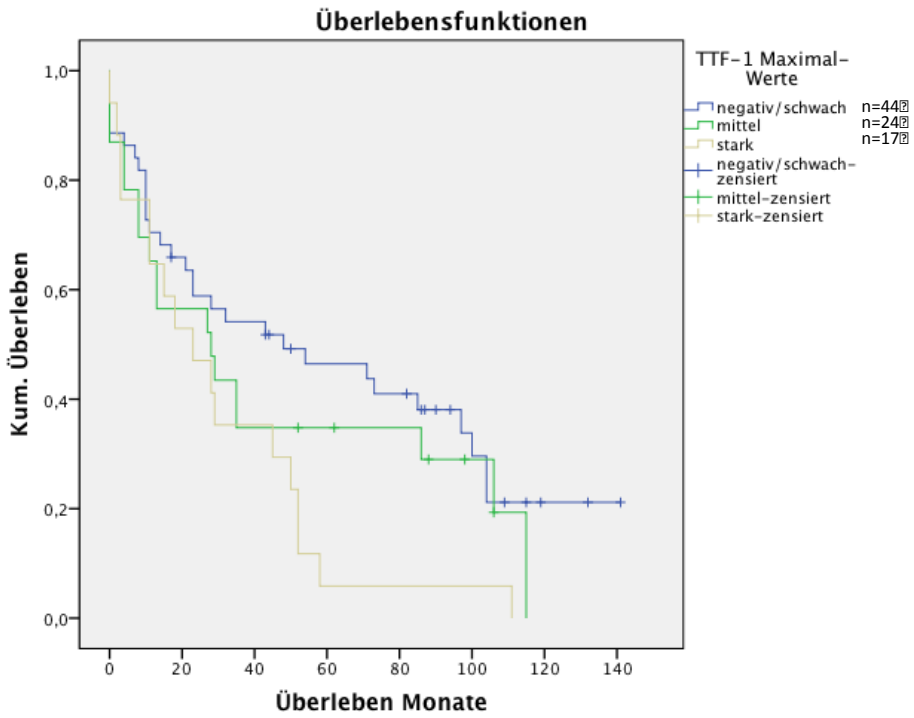

Abbildung 3.5: Kaplan-Meier-Überlebenskurve TTF-1 - Gruppen nach Maximal-Werten.

Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug für die Gruppe negativ/schwach 46,5% (44 Patienten), für die Gruppe mittel 33,3% (24 Patienten) und für die Gruppe stark 5,9% (17 Patienten) (vergleiche Tabellen A.33 – A.36 im Anhang).

3.3.2 Überlebenszeitanalyse anhand des Positiv-Indexes

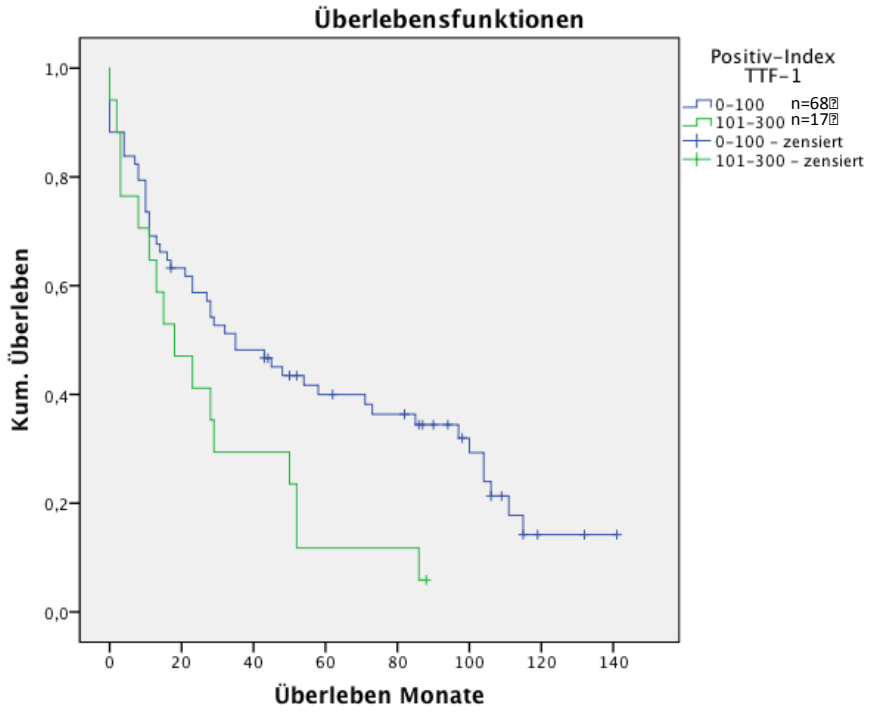

Abbildung 3.6: Kaplan-Meier-Überlebenskurve TTF-1 - Positiv-Index.

Um die Frage zu überprüfen, ob sowohl die qualitative als auch quantitative Expression von TTF-1 einen Einfluss auf das Überleben der Patienten haben, wurde das Überleben getrennt nach den aus dem Positiv-Index gebildeten Gruppen (siehe Kapitel 2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte) in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt (siehe Abbildung 3.6).

Im LogRank-Test ergab sich im Vergleich dieser Gruppen ein statistisch signifikantes Ergebnis mit einem p-Wert von 0,025. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug für die Gruppe 0-100 40,0% (68 Patienten) und für die Gruppe 101-300 11,8% (17 Patienten) (vergleiche Tabellen A.37 – A.40 im Anhang).

3.3.3 Korrelationsanalyse

Ebenso wie bei den Auswertungen bzgl. ABCA3 wurden die qualitativ höchsten Ergebnisse (Maximal-Werte) sowie die im Positiv-Index zusammengefassten qualitativen und quantitativen Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung mit verschiedenen Parametern aus der erstellten Datenbank korreliert, um mögliche Wechselbeziehungen nachzuweisen.
Hierbei wurde analog den Auswertungen hinsichtlich ABCA3 die Spearman-Korrelation angewandt. Die Korrelation wurde mit dem pathologischen Nodal-Status (pN), mit den UICC-Stadien, mit dem Grading, der histologischen Klassifikation (Plattenepithelkarzinom oder Adenokarzinom), dem Geschlecht und dem Rauchverhalten durchgeführt.

3.3.3.1 Korrelationsanalyse anhand der Maximal-Werte

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen den Maximal-Werten und dem Nodal-Status (pN), den Maximal-Werten und dem Grading sowie den UICC-Stadien.
Ein statistisch signifikantes Ergebnis erbrachte die Korrelation der Maximal-Werte (Mittelwert=2; Median=2) und des Geschlechts mit einem Korrelationskoeffizienten von r_s=0,318, p=0,01. (Patienten weiblichen Geschlechts waren demnach mit einem hohen Maximal-Wert assoziiert, Patienten männlichen Geschlechts mit einem niedrigen). Auch die Korrelation der Maximal-Werte und der Histologie ergab ein statistisch signifikantes Ergebnis mit einem Korrelationskoeffizienten von r_s=-0,517, p=0,01 (Adenokarzinome waren demnach mit einer qualitativ hohen Expression von TTF-1 assoziiert, während Plattenepithelkarzinome mit einer qualitativ niedrigeren Expression von TTF-1 assoziiert waren). (Vergleiche Tabellen A.41 – A.46 im Anhang).

3.3.3.2 Korrelationsanalyse anhand des Positiv-Indexes

Die Korrelation der Ergebnisse des Positiv-Indexes und des Nodal-Status (pN), des Gradings, der UICC-Stadien sowie des Rauchverhaltens ergab keine statistisch signifikanten Ergebnisse. Die Korrelation der Ergebnisse des Positiv-Indexes (Mittelwert Positiv-Index TTF-1 = 46,91; Median = 0,00) und der Histologie erbrachte ein statistisch signifikantes Ergebnis mit einem Korrelationskoeffizienten von r_s=-0,553, p=0,01. (Demnach sind Adenokarzinome mit einem hohen Positiv-Index assoziiert, wohingegen Plattenepithelkarzinome mit einem niedrigen Positiv-Index einhergehen). Ein statistisch signifikantes Ergebnis ergab ebenfalls die Korrelation der Ergebnisse des Positiv-Indexes und des Geschlechts mit r_s=0,314 und p=0,01 (Patienten weiblichen Geschlechts wiesen dementsprechend eine hohe Assoziation mit einem hohen Positiv-Index auf, während Patienten männlichen Geschlechts mit einem niedrigen Positiv-Index assoziiert waren). (Vergleiche Tabellen A.47 – A.52 im Anhang). Zur besseren Übersicht sind die statistisch signifikanten Ergebnisse auch in der Tabelle A.53 im Anhang dargestellt.

3.4 Korrelationsanalyse ABCA3 und TTF-1

Weiterhin wurden die Maximal-Werte sowie die im Positiv-Index zusammengefassten qualitativen und quantitativen Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung der Tumorpräparate hinsichtlich TTF-1 mit den Maximal-Werten und dem Positiv-Index aus den Untersuchungen der Tumorpräparate hinsichtlich ABCA3 korreliert. Hierbei wurde der Fragestellung nachgegangen, ob Wechselbeziehungen zwischen den qualitativ höchsten Expressionen von ABCA3 und TTF-1 sowie Wechselbeziehungen zwischen den qualitativ und quantitativen

Expressionen von ABCA3 und TTF-1 nachweisbar sind, um zu untersuchen, ob TTF-1 die Expression von ABCA3 nicht nur in gesundem Lungengewebe beeinflusst.
Es ergaben sich weder bei der beidseitigen Korrelation der Positiv-Indizes noch bei der beidseitigen Korrelation der Maximalwerte statistisch signifikante Ergebnisse (vergleiche Tabellen A.54 und A.55 im Anhang).

4 Diskussion

4.1 Epidemiologie

Das Gesamtkollektiv der vorliegenden Studie bestand aus 89 Patienten. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der Operation - alle Patienten dieser Studie wurden operiert - lag bei etwa 65 Jahren.

Pitz et al. (2009) untersuchten im Zeitraum von 1985 bis 2004 ein größeres Patientenkollektiv von 10908 Kanadiern, die an NSCLC erkrankt waren. Sie ermittelten für die in der Studie enthaltenen operierten Patienten ein durchschnittliches Alter zum Zeitpunkt der Diagnose von 66,6 Jahren. In Deutschland liegt das mittlere Erkrankungsalter zum Vergleich bei etwa 69 Jahren (Krebs in Deutschland 2012). In diesem Wert sind allerdings alle Neuerkrankungen, nicht nur die operierten Fälle wie in der vorliegenden Studie, einberechnet.

Betrachtet man das durchschnittliche Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose nach Geschlechtern getrennt, liegt es bei Pitz et al. (2009) bei 69,2 Jahren im Fall von männlichem Geschlecht und bei 67,9 Jahren bei weiblichem Geschlecht. Dies entspricht nicht dem Alter in der vorliegenden Studie (65,6 Jahre bei Patienten männlichen Geschlechts, 57,0 Jahre bei weiblichem Geschlecht). Dagegen entspricht das Patientenkollektiv der vorliegenden Studie hinsichtlich des geschlechterspezifischen Durchschnittsalters zum Zeitpunkt der Operation der von Perng et al. 1996 veröffentlichten Studie. Perng et al. (1996) haben in ihrer im Zeitraum von 1970 bis 1993 in Taiwan durchgeführten Studie 10910 Patienten mit NSCLCs aufgenommen (ein Kollektiv ähnlicher Größe wie bei Marshall et al.). Von diesen Patienten waren ca. 84,1% Männer und 15,9% Frauen.

Dagegen waren etwa 10% der Patienten der vorliegenden Studie weiblichen, 90% männlichen Geschlechts.

Die Verteilung der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome lag in der vorliegenden Studie bei etwa 68,5% Plattenepithelkarzinomen und 31,5% Adenokarzinomen. Bei Perng et al. (1996) liegt die Verteilung, betrachtet man nur Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome, bei 49,2% Plattenepithelkarzinomen und 50,8% Adenokarzinomen: An diesen Stellen differieren das Kollektiv von Perng et al. (1996) und das Kollektiv der vorliegenden Studie, wobei das Patientenkollektiv der vorliegenden Studie wesentlich weniger Patienten umfasst als das von Perng et al. (1996). Des Weiteren waren die Patienten von Perng et al. (1996) asiatischer Herkunft, anders als die kaukasischen Patienten der vorliegenden Studie.

Die Überlebenszeit in der vorliegenden Studie wurde in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt. Die ermittelte 5-Jahres-Überlebensrate betrug 32,4%. Die 5-Jahres-Überlebensrate in Deutschland beträgt für Bronchialkarzinome 19% (Krebs in Deutschland 2012), wobei hier alle erfassten Bronchialkarzinome in Deutschland enthalten sind. Weitere Studien hinsichtlich NSCLCs zeigen 5-Jahres-Überlebenraten zwischen 36,0% und 52,6% (Goya et al. 2005; Jassem et al. 2000; van Rens et al. 2000). Die -Überlebensraten bei diesen Studien zeigen eine recht große Varianz, was zum Teil in der unterschiedlichen Patientenauswahl begründet liegen mag. So waren bei van Rens et al. (2000) nur Patienten der Stadien I, II und IIIA (UICC Version 6) inkludiert.
Jassem et al. (2000) untersuchten im Gegensatz dazu Patienten aller Stadien (IA 8,7%, IB 37,5%, IIA 11,9%, IIB 11,3%, IIIA 25%, IIIB 3,6%, IV 1,9%; UICC Version 6), wobei die Verteilung nicht der der vorliegenden Studie entsprach. Diese umfasst Patienten aller Stadien, welche gleichmäßig auf die UICC-Stadien verteilt sind (siehe Tabelle 3.2 Patientenverteilung auf die UICC-Stadien – Gesamtkollektiv und aufgeschlüsselt nach Entitäten). Lediglich die Stadien IIIB und IV weisen in der vorliegenden Studie vergleichsweise wenig Patienten auf (insgesamt nur 3,3%). Da in der vorliegenden Studie nur Patienten aufgenommen worden sind, bei denen

eine Operation in kurativer Absicht durchgeführt worden war, erklärt sich diese Verteilung. Auch bei Jassem et al., die ebenfalls nur operierte Patienten in ihrer Studie aufführen, sind es lediglich 5,5% der Patienten mit Stadium IIIB und IV.

In der vorliegenden Studie wurde die Überlebenszeit getrennt nach Entitäten in einer Kaplan-Meier-Kurve aufgetragen. Es ergab sich für Adenokarzinome eine 5-Jahres-Überlebensrate von 21,6% und somit eine geringere 5-Jahres-Überlebensrate als für Plattenepithelkarzinome, die eine 5-Jahres-Überlebensrate von 37,3% aufwiesen. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant (siehe Kapitel 3.1.5 Überlebenszeitanalyse des Gesamtkollektives anhand der Entitäten).
Der Einfluss der Tumorentitäten auf die Prognose der Patienten ist noch unklar: Studien mit weitaus größeren Patientenkollektiven als in der vorliegenden Studie kamen an diesem Punkt zu konträren Ergebnissen. Pinsky et al. (2013) beschrieben Überlebensvorteile für Patienten, die an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt waren (sie untersuchten die Daten von 53.454 Patienten), wohingegen Goya et al. (2005) in ihrer Studie zu längeren Überlebenszeiten für Patienten mit Adenokarzinomen kamen (sie untersuchten die Daten von 6644 Patienten).

Somit liegt in dem untersuchten Kollektiv durchaus eine repräsentative Gruppe vor, allerdings mit der Einschränkung der relativ kleinen Gruppengröße.

4.2 Immunhistochemische Methodik

Die Immunhistochemie ist eine etablierte Methode zur Untersuchung histologischer Gewebepräparate, auch von Tumorpräparaten.
Sie dient der Lokalisation und Identifikation von Proteinen mittels Antikörpern. In der vorliegenden Studie waren dies ABCA3 und TTF-1 in NSCLC.
TTF-1 kann die Expression von ABCA3 in der gesunden Lunge positiv beeinflussen, da das ABCA3-Gen eine Gruppierung potentieller Bindungsstellen für

Transkriptionsfaktoren, unter anderem TTF-1, enthält (siehe Kapitel 1.2 TTF-1). ABCA3 wurde nun auch in NSCLC nachgewiesen (Overbeck et al. 2013). Aufgrund der vorhandenen Enhancer (der Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren) für TTF-1, wäre ein Einfluss von TTF-1 auf ABCA3 auch in NSCLC möglich. In der vorliegenden Studie wurden zunächst Tumorpräparate derselben Tumorprobe separat immunhistochemisch hinsichtlich dieser zwei Proteine untersucht. Um eine noch präzisere Aussage über die Expression von ABCA3 und TTF-1 in derselben Zelle treffen zu können, wäre eine Untersuchung mittels Immunfluoreszenzfärbung denkbar.

ABCA3

ABCA3 wurde in NSCLC bisher kaum untersucht. So gibt es nur eine Studie, die der vorliegenden Studie vorausgeht (Overbeck et al. 2013), die dieses Protein in NSCLC mittels Immunhistochemie untersucht hat. Dementsprechend untersuchten Overbeck et al. *tissue microarrays* (ausgestanzte Gewebezylinder aus NSCLC) mit Hilfe des gleichen Färbe- und Auswerteprotokolls, das auch in der vorliegenden Studie zur Anwendung kam (siehe Kapitel 2.2.2.4 Immunhistochemie).

Während ABCA3 in NSCLC kaum untersucht worden ist, kam die Immunhistochemie als Untersuchungsmethode bereits bei Untersuchungen von Gewebeproben unterschiedlichen Ursprungs (zum Beispiel Leber, Bauchspeicheldrüse und Kehlkopf) und Tumorzellen der akuten myeloischen Leukämie hinsichtlich ABCA3 zum Einsatz.

Stahlman et al. (2007) wiesen ABCA3 unter anderem in Gewebeproben der menschlichen Leber nach. Stahlman et al. produzierten eigene Antikörper gegen ABCA3. In der vorliegenden Studie wurde hingegen ein kommerziell erwerblicher Antikörper (Anti-ABCA3, antibody produced in rabbit von SIGMA Life Science) verwendet. Stahlman et al. (2007) produzierten einen Antikörper im Kaninchen – auch der in der vorliegenden Studie verwendete kommerzielle Antikörper wird im Kaninchen produziert. Durch einen kommerziell produzierten Antikörper, der

entsprechenden Qualitätskontrollen unterliegt, kann eine gleichbleibende Qualität des Antikörpers einfacher garantiert werden.

Stahlman et al. (2007) verdünnten ihren Antikörper allerdings auf 1:1000 und inkubierten ihn nur eine Stunde. In der vorliegenden Studie wurde hingegen eine Verdünnung von 1:150 verwandt und der Antikörper inkubierte über Nacht. Auf diese Weise wurde dem Antikörper mehr Zeit zur Reaktion mit dem Protein ermöglicht, um alle im Tumorpräparat vorhandenen Proteine ABCA3 sicher nachweisen zu können.

ABCA3 wurde aber nicht nur in menschlichen Gewebeproben unterschiedlichen Ursprungs wie bei Stahlman et al. (2007) immunhistochemisch untersucht, sondern auch in Zellen der akuten myeloischen Leukämie (Chapuy et al. 2008).

Chapuy et al. verwendeten bei ihren Untersuchungen keine Gewebeschnitte, wie in der vorliegenden Studie geschehen, sondern fixierten zuvor zentrifugierte Zellen in Formalin. Dies ist bei Zellen der akuten myeloischen Leukämie nicht anders möglich, da die akute myeloische Leukämie Zellen des blutbildenden Systems betrifft, die nicht in einem Gewebe bzw. Zellverband wie bei NSCLC auftreten.

Chapuy et al. (2008) verwendeten weiterhin den gleichen kommerziell hergestellten primären Antikörper, der auch in der vorliegenden Studie zur Anwendung kam. Ebenso wie in der vorliegenden Studie wurde er über Nacht inkubiert, allerdings in einer Verdünnung von 1:200. Die in dieser Studie angewandte Verdünnung von 1:150 erwies sich in Vorversuchen zur vorausgegangenen Studie von Overbeck et al. (2013) als gleichwertig zur Detektion von ABCA3 im Gewebeverband.

Anders als in der vorliegenden Studie, in der ein separater Sekundär-Antikörper (ZytoChem Plus AP Polymer anti-Rabbit von ZYTOMED SYSTEMS) verwendet wurde mit anschließender Visualisierung mittels Liquid Permanent Red (Dako Real), verwendeten Chapuy et al. zur Visualisierung das EnVision System von Dako. Dieses System verkürzt das Verfahren (es ist ein einfaches Zwei-Schritt-Visualisierungssystem). Es kann aber nicht an die Gegebenheiten verschiedener

Tumorgewebe angepasst werden wie das Verfahren, welches in der vorliegenden Studie angewandt wurde.
Die in der vorliegenden Studie definierte und verwendete Intensitätsskala zur Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Tumorpräparate ist hingegen analog der von Chapuy et al. (2008) verwendeten Einteilung: Sie unterschieden in *high* (hoch≙I_3), *intermediate* (mittel≙I_2), *low* (niedrig≙I_1) und *negative* (negative≙I_0).

TTF-1

Im Gegensatz zu ABCA3 wurde TTF-1 in NSCLC bereits vielfach untersucht, auch immunhistochemisch.
So untersuchten Haque et al. (2002) die Expression von TTF-1 in NSCLC. Sie verwendeten ebenso wie in der vorliegenden Studie den kommerziellen primären Antikörper Monoclonal Mouse Anti-Thyroid Transcription Factor (TTF-1), clone 8G7G3/1 von Dako. Sie verwendeten jedoch eine Verdünnung von 1:800 im Gegensatz zur vorliegenden Studie, die eine geringere Verdünnung von 1:200 anwendete. Durch die höhere Konzentration sollte eine Reaktion aller Proteine von TTF-1 mit dem Antikörper sichergestellt werden.
Auch Perner et al. (2009) verwendeten den 8G7G3/1-Antikörper zum immunhistochemischen Nachweis von TTF-1 in NSCLC. Sie verwendeten eine noch geringere Verdünnung von 1:50. Anders als in der vorliegenden Studie nutzten Perner et al. (2009) nach Applikation des Primärantikörpers Ultraview Amp von Ventana. In der vorliegenden Studie wurde hingegen das NovoLink Polymer Detection System verwendet. Letzteres hat den Vorteil, dass die zu verwendenden Reagenzien in genormten Tropfflaschen geliefert werden, welche die Applikation enorm vereinfachen und somit Anwenderfehler minimieren.
Tan et al. (2003) nutzten ebenfalls zur immunhistochemischen Untersuchung von NSCLC hinsichtlich TTF-1 den 8G7G3/1-Antikörper und verwendeten die gleiche Verdünnung (1:200) wie in der vorliegenden Studie. Sie inkubierten die Primär-

antikörper jedoch nicht über Nacht, sondern nur 25 Minuten. Dies verkürzt Zeit, in der der Antikörper mit dem Protein reagieren kann, und könnte auf diese Weise dazu führen, dass nicht alle Proteine nachgewiesen werden. Des Weiteren benutzten Tan et al. (2003) ebenfalls im Anschluss an den Antikörper ein Nachweis-Kit, welches aber nicht näher benannt ist.
8G7G3/1 ist somit ein weit verbreiteter Antikörper zur Detektion von TTF-1 in Bronchialkarzinomen. Matoso et al. (2010) stellten in einer Vergleichsstudie zwischen den Antikörpern 8G7G3/1 und SPT24 jedoch fest, dass der vergleichsweise neuere SPT24 sensibler bei der Untersuchung von Bronchial-karzinomen hinsichtlich TTF-1 sein könnte.

Die Auswertung der gefärbten Tumorpräparate in der vorliegenden Studie ist semiquantitativ: Es wurde eine Intensitätsskala definiert, anhand derer die Untersucher die Auswertung am Lichtmikroskop vornahmen, dennoch sind die Ergebnisse partiell von den subjektiven Einflüssen der einzelnen Untersucher beeinflusst. Darum wurde bei jedem Tumorpräparat ein Konsens hinsichtlich des Ergebnisses gebildet.
Eine denkbare Alternative wäre eine Auswertung, die von mehreren Untersuchern vorgenommen wird, deren Ergebnisse dann gemittelt würden. Allerdings ist auch diese Auswertung immer noch semiquantitativ.

4.3 Auswertung der semiquantitativen Immunhistochemie

Die Maximal-Werte, die zur Auswertung verwendet wurden, geben die qualitativ höchste Expression von ABCA3 bzw. TTF-1 im Tumorpräparat wieder.
Wie oben beschrieben (siehe Kapitel 2.3 Auswertungen) wurden aus den Maximal-Werten drei Gruppen gebildet, analog der Studie von Overbeck et al. (2013).

Hierbei werden die Tumorpräparate, die keine Expression aufweisen und Tumorpräparate mit nur sehr schwacher Expression in einer Gruppe zusammengefasst. An dieser Stelle wird zwar der Grad der Genauigkeit der statistischen Auswertungen herabgesetzt, dies vereinfacht aber gleichzeitig auch die statistischen Auswertungen, die sich nur noch auf drei Gruppen beziehen müssen.

Außerdem geschieht dies aus der Überlegung heraus, dass primär Zellen mit einer gesteigerten Expression von ABCA3 bzw. TTF-1 Einfluss auf das Überleben und andere klinische Parameter nehmen können, da nur Zellen mit einer erhöhten Expression dieser Proteine Mechanismen wie die subzelluläre Sequestration von Chemotherapeutika in ausreichendem Maße etablieren können.

Die Auswertung anhand der Maximal-Werte verfolgt somit die Fragestellung, inwieweit die rein qualitativ höchste Expression Einfluss auf die verschiedenen untersuchten Parameter nimmt, und kann damit einen Überblick über den Einfluss der Proteine auf diese Parameter verschaffen.

Tan et al. (2003) haben in ihrer Studie ebenfalls immunhistochemische Untersuchungen an Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen hinsichtlich des Expressionsverhaltens von TTF-1 vorgenommen. Sie haben die Auswertung jedoch wesentlich weniger differenziert durchgeführt als in der vorliegenden Studie. Es wurde zwischen negativ und positiv unterschieden, die Intensität wurde nicht beurteilt. Haque et al. (2002) haben hingegen die Intensität von TTF-1 in ihre Auswertungen mit einbezogen, sie haben folgende Differenzierungen gewählt: Negativ, schwach positiv und stark positiv. Auch diese Einteilung ist trotz Einbeziehung der Intensität nicht deckungsgleich mit der Einteilung der vorliegenden Studie, da bei der vorliegenden Studie bei der lichtmikroskopischen Auswertung zunächst vier unterschiedliche Gruppen gebildet wurden und nachträglich die Tumorpräparate, die keine Färbung aufwiesen, und die Tumorpräparate, die nur eine sehr schwache Färbung aufwiesen, zusammengefasst

worden sind, woraus sich differierende Gruppen zu den von Haque et al. (2002) gebildeten Gruppen ergeben.
Wiederum andere Studien wählten der vorliegenden Studie sehr ähnliche Einteilungen für die Auswertung ihrer immunhistochemischen Untersuchungen: Eine analoge Einteilung der Intensitäten wie in der vorliegenden Studie wählten Chapuy et al. (2008) bei der Untersuchung von Zellen der akuten myeloischer Leukämie hinsichtlich der Expression von ABCA3. Sie wählten die Einteilung *negative* (0), *low* (+), *intermediate* (++) und *high* (+++).
Auch Danner et al. (2010) verwandten für Untersuchungen desselben Patientenkollektivs aus der vorliegenden Studie zu Auswertungen ihrer immunhistochemischen Untersuchungen hinsichtlich der Laktat-Dehydrogenase eine vergleichbare Einteilung. Sie unterteilten in *low*, *intermediate* und *high*. Diese Einteilung ist vergleichbar mit der angwendeten und oben beschriebenen Gruppenbildung nach Overbeck et al. (2013).

Eine noch wesentlich detailliertere bzw. differenziertere Methode ist die in Kapitel 2.3 Auswertungen beschriebene Bildung des Positiv-Indexes. Hier wurden die qualitativen und die quantitativen Ergebnisse in einem gemeinsamen Index erfasst, um auf diese Weise die physiologischen Effekte der Proteine möglichst wirklichkeitsnah (eben nicht nur rein qualitativ) abzubilden.
Die differenzierte Auswertung in Form des Positiv-Indexes stellt eine Modifikation des erweiterten H-Scores mit Vergrößerungsregel (updated H-Score with magnification rule) dar.
Mittels des H-Scores konnten im Rahmen von immunhistochemischen Untersuchungen zum ersten Mal sowohl das quantitative als auch das qualitative Expressionsverhalten in einem Zahlenwert zusammengefasst und somit einer gemeinsamen statistischen Auswertung zugeführt werden.
Im Gegensatz zum einfachen H-Score, der nur die höchste Intensität und den Anteil an gefärbten Zellen im Gewebeschnitt wiedergibt (Hirsch et al. 2003), sind im

erweiterten H-Score mit Vergrößerungsregel alle Intensitäten, die im Gewebeschnitt detektierbar sind, in den Score-Wert einbezogen (Mazières et al. 2013). Der erweiterte H-Score spiegelt dementsprechend am detailliertesten das gesamte detektierbare Expressionsverhalten eines Gewebeschnittes wider. Auf diese Weise kann das gesamte charakteristische Expressionsverhalten eines Gewebeschnittes statistisch ausgewertet werden.

Der erweiterte H-Score wurde bei immunhistochemischen Untersuchungen von Bronchialkarzinomen hinsichtlich EGFR bereits erfolgreich angewandt (Pirker et al. 2012; Mazières et al. 2013). Bisher liegen für ABCA3 in NSCLC keine vergleichbaren Untersuchungen vor.

In der vorliegenden Studie fand die Modifikation des erweiterten H-Scores auf Grundlage der Gruppen-Bildung bei der Auswertung der Maximal-Werte statt.

Negative und schwache Expressionen wurden in eine Gruppe zusammengeführt und rechnerisch negiert (siehe Kapitel 2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte). So werden negative und schwach positive Tumorzellen im Positiv-Index gleich bewertet bzw. ausgeschlossen. Eine leichte (Hinter-)Grundfärbung wurde auf diese Weise akzeptiert.

An dieser Stelle steht dabei die Überlegung im Vordergrund, dass primär Zellen mit einer gesteigerten Expression von ABCA3 bzw. TTF-1 Einfluss auf das Überleben und andere klinische Parameter nehmen können, da nur Zellen mit einer erhöhten Expression dieser Proteine Mechanismen wie die subzelluläre Sequestration von Chemotherapeutikern in ausreichendem Maße etablieren können.

Zur statistischen Auswertung wurden diese Ergebnisse anhand der Scatterplot-Diagramme weiter zusammengefasst. Die in der vorliegenden Studie verwendeten Scatterplot-Diagramme, angewendet als Dotplot-Diagramme, dienen der eindimensionalen graphischen Darstellung einer Verteilung von Ereignissen. Anhand der Diagramme können recht einfach Einblicke in die Verteilung einer Variablen gewonnen werden, insbesondere erlauben sie eine rasche Übersicht über Clusterbildungen und Lücken. Sie eignen sich besonders für kleinere bis mittlere

Untersuchungsgruppen und erlauben anhand der optischen Einschätzung eine einfache Gruppenbildung, wie in der vorliegenden Studie geschehen.
Pirker et al. (2012) verwandten bei ihren Untersuchungen zur Expression von EGFR in NSCLCs den erweiterten H-Score zur Auswertung ihrer immunhistochemischen Untersuchungen. Dabei legten auch sie anhand eines Scatterplot-Diagramms einen Schwellenwert für die weiteren statistischen Auswertungen fest, blieben die Erläuterung für die Definition dieses Schwellenwertes jedoch schuldig.
In der vorliegenden Studie wurde der Grenzwert für die Auswertung des Positiv-Indexes aufgrund theoretischer Überlegungen bezüglich des Einflusses einzelner Tumorzellen auf Resistenzen gegenüber Chemotherapien (siehe Kapitel 2.3.1 Auswertungen Positiv-Index und Maximal-Werte) und anschließender eingehender statistischer Beratung festgelegt. Der Grenzwert wurde somit hinlänglich diskutiert und statistisch akzeptiert.
Bei Verwendung dieses Grenzwertes ergaben sich ähnliche Gruppengrößen bei der Auswertung des Positiv-Indexes von ABCA3 und TTF-1. Dies ist für den Vergleich der Ergebnisse von ABCA3 und TTF-1 günstig.

4.4 ABCA3

Bei den statistischen Auswertungen der immunhistochemischen Untersuchungen hinsichtlich ABCA3 ergab sich beim Vergleich der mit Hilfe des Positiv-Indexes gebildeten Gruppen im LogRank-Test ein statistisch signifikanter Unterschied. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass eine qualitativ und quantitativ hohe Expression von ABCA3 zu einem deutlich niedrigeren Überleben von Patienten mit Bronchialkarzinomen führt. Vergleichbare Studien zur Einschätzung dieses Ergebnisses bei Bronchialkarzinomen können derzeit noch nicht herangezogen werden.
Studien, die ABCA3 in Fällen akuter myeloischer Leukämie untersucht haben, deuten darauf hin, dass eine erhöhte Expression von ABCA3 bei akuter myeloischer

Leukämie zu einem ungünstigen Behandlungsausgang führt und eine Überexpression von ABCA3 in vitro Resistenzen gegen ein weites Spektrum von Zytostatika erzeugt (Chapuy et al. 2008).

ABCA3 scheint eine tragende Rolle in der Bildung von späten Endosomen bzw. Lysosomen zu spielen. Transformiert eine Zelle bösartig, kann die Kontrolle der Transkription von ABCA3 verloren gehen, was zu einer stark erhöhten Expression von ABCA3 zu führen scheint. Chapuy et al. (2008) fanden heraus, dass bei verstärkter Expression von ABCA3 das endosomale System der Zellen vergrößert und die Aufnahmekapazität für Zytostatika in dieses System verbessert war.

Auf diese Weise sorgt ABCA3 für eine vermehrte subzelluläre Sequestration von Chemotherapeutika.

Dieser Mechanismus ist nicht nur bei Zellen der akuten myeloischen Leukämie denkbar, sondern auch bei Plattenepithelkarzinomen und Adenokarzinomen der Lunge, denn gesundes Lungengewebe expremiert ohnehin ABCA3.

Der Überlebensunterschied der beiden in der vorliegenden Studie gebildteten Gruppen (Positiv-Index 0-100, 101-300) setzt etwa nach zwei Jahren ein. Diese Verzögerung könnte im Zusammenhang mit dem untersuchten Patientenkollektiv stehen: Alle Patienten wurden in kurativer Absicht operiert, so dass mögliche Rezidive erst spät aufgetreten sein können. Nach dem propagierten Effekt der durch ABCA3 vermittelten Chemotherapie-Resistenz, wäre es möglich, dass diese Patienten erst zu diesem Zeitpunkt einer Chemotherapie zugeführt worden sind und auch erst zu diesem Zeitpunkt der erwartete Effekt (mit dem Resultat des schlechteren Gesamtüberlebens) einsetzen konnte.

Es erhielten zwei der Patienten, die einen hohen Positiv-Index (101-300) aufwiesen, eine neoadjuvante Chemotherapie und zwei weitere dieser Patienten eine adjuvante Chemotherapie.

Pirker et al. (2012) untersuchten einen ähnlichen Zusammenhang zwischen der Expression von EGFR in NSCLCs, Chemotherapie und dem Überleben mit einer dem Positiv-Index sehr ähnlichen Methode (siehe Kapitel 4.3 Auswertung der

semiquantitativen Immunhistochemie), so dass bei entsprechender Datenlage eine Untersuchung in diesem Zusammenhang (Einfluss der Expression von ABCA3 auf das Gesamtüberleben der Patienten mit NSCLC unter Berücksichtigung von angewandten Chemotherapien) anhand des Positiv-Indexes auch für ABCA3 vorstellbar wäre.
Eine Überexpression von ABCA3 könnte auch an anderen Mechanismen beteiligt sein, die bislang noch nicht entdeckt sind und das Überleben der Patienten negativ beeinflussen. So wurden alle Patienten der vorliegenden Studie in kurativer Absicht operiert. Eine Beteiligung von ABCA3 an der Bildung von Mikrometastasen, die das Überleben der Patienten negativ beeinflussten, wäre beispielsweise denkbar.

Eine statistisch signifikante Korrelation ergab sich ebenfalls zwischen dem Positiv-Index und dem Rauchverhalten: Eine quantitativ und qualitativ hohe Expression von ABCA3 ist demnach bei Nichtrauchern zu finden.
Bei Nichtrauchern scheinen sich ebenso wie bei Frauen vermehrt Mutationen zu finden, die die Entstehung von Tumoren positiv beeinflussen (Serke et al. 2013). So wird auch die Überexpression von EGFR wird in NSCLC besonders häufig bei Nichtrauchern, Adenokarzinomen und Frauen gefunden (da Cunha Santos et al. 2011). Ursache ist hier eine Mutation.
Eine weitere Veränderung, die häufig bei Nichtrauchern zu finden ist, ist die Überexpression von VEGF (Serke et al. 2013).
Die Überexpression von ABCA3 reiht sich hier ein und unterliegt womöglich zellinternen Mechanismen, die treibend für die Tumorentstehung sind.
Das Rauchverhalten zeigte bei unserem Patientenkollektiv keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben der Patienten (siehe Tabellen A.9-A.12 im Anhang). Somit scheinen Rauchen und die Expression von ABCA3 voneinander unabhängige Faktoren zu sein.

Der Vergleich der Expression von ABCA3 und weiteren statistischen Parametern wie dem Geschlecht, dem Grading, dem Nodal-Status und dem UICC-Stadium ergab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Schimanski et al. (2010), die die Expression von ABCA3 bei Mamma-Karzinomen untersuchten: Auch sie fanden keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression von ABCA3 in Mammakarzinomen, dem Grading, der histologischen Klassifikation und dem T-Stadium.

4.5 TTF-1

TTF-1 wurde in Fällen von Bronchialkarzinomen als möglicher prognostischer Indikator identifiziert. Patienten, die an NSCLC erkrankt waren, wiesen in einigen Studien eine statistisch signifikant bessere mittlere Überlebenszeit auf, wenn sie eine starke Expression von TTF-1 zeigten (Haque et al. 2002; Tan et al. 2003).
Dahingegen ergab sich im Rahmen der vorliegenden Studie bei der Analyse der nach den Ergebnissen des Positiv-Indexes gebildeten Gruppen folgendes Bild: Patienten, die eine starke Expression von TTF-1 aufwiesen, zeigten statistisch signifikant niedrigeres Überleben als die Gruppe mit keiner bzw. schwacher Expression von TTF-1. Der Positiv-Index gibt sowohl die qualitative als auch die quantitative Expression von TTF-1 wieder und versucht damit möglichst wirklichkeitsnah das Expressionsverhalten zu beschreiben. Tan et al. (2003) unterschieden bei ihrer Studie hingegen nur in positiv (TTF-1 Expression vorhanden) und negativ (keine TTF-1 Expression). Haque et al. (2002) arbeiteten wiederum mit einer Auswertung der rein qualitativen Expression von TTF-1 (Einteilung der Expression in negativ, schwach positiv und stark positiv). Im Hinblick auf die rein qualitative Expression ergaben sich bei der statistischen Analyse der Ergebnisse der vorliegenden Studie keine signifikanten Ergebnisse in Bezug auf das Expressionsverhalten und das Überleben der Patienten.

Der genaue Grund für einen Zusammenhang zwischen dem Überleben der Patienten und der Expression von TTF-1 ist bislang noch nicht genau verstanden: Es existieren kontroverse Studien, ob ein Zusammenhang zwischen der Expression von TTF-1 und der Differenzierung der Tumorzellen besteht oder nicht (Boggaram 2009).
In der vorliegenden Studie zeigte sich an dieser Stelle keine statistisch signifikante Assoziation zwischen den Ergebnissen des Positiv-Indexes und dem Grading. Haque et al. (2002) zeigten ebenfalls, dass kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Differenzierungsgrad des Tumorgewebes von Bronchialkarzinomen und der Expression von TTF-1 besteht.
So könnte TTF-1 durchaus ein prognostischer Indikator sein, wobei der Zusammenhang zwischen TTF-1 und dem Überleben noch weitergehend, insbesondere auf physiologischer Ebene, untersucht werden sollte.

Es zeigte sich weiterhin in der vorliegenden Studie eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Maximal-Werten und den Entitäten: Adenokarzinome waren in der vorliegenden Studie mit einer qualitativ hohen Expression von TTF-1 assoziiert (hoher Maximal-Wert), während Plattenepithelkarzinome mit einer qualitativ niedrigeren Expression von TTF-1 assoziiert waren. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien (Berghmans et al. 2006; Whithaus et al. 2012), die ebenfalls den Zusammenhang zwischen der Expression von TTF-1 und der histologischen Klassifikation untersuchten.
Die Korrelation der Ergebnisse des Positiv-Indexes mit der histologischen Klassifikation ergab ebenfalls ein statistisch signifikantes Ergebnis: Demnach sind Adenokarzinome mit einem hohen Positiv-Index assoziiert (starke qualitative und quantitative Expression von TTF-1), wohingegen Plattenepithelkarzinome mit einem niedrigen Positiv-Index (niedrige qualitative und quantitative Expression von TTF-1) einhergehen. Diese Korrelation ist analog den Ergebnissen der rein qualitativ betrachteten Ergebnisse und ein Hinweis auf die Aussagekraft des

Positiv-Indexes, da sich diese Ergebnisse mit denen aktueller Studien decken (Berghmans et al. 2006; Whithaus et al. 2012).

Außerdem ergaben sowohl die Korrelation von Geschlecht und Maximal-Werten als auch von Geschlecht und Positiv-Index einen statistisch signifikanten Zusammenhang: Patienten weiblichen Geschlechts wiesen eine hohe Assoziation mit einem hohen Maximal-Wert und einem hohen Positiv-Index auf, während Patienten männlichen Geschlechts mit einem niedrigen Maximal-Wert und einem niedrigen Positiv-Index assoziiert waren. Diese Assoziation zwischen hoher Expression von TTF-1 und weiblichem Geschlecht haben bereits Perner et al. 2009 beschrieben. Auch Myong et al. (2003) fanden diesen Zusammenhang. Sie gaben an, dass ein möglicher Zusammenhang zwischen der hohen Prävalenz von Adenokarzinomen der Lunge bei weiblichen Nicht-Rauchern und der hohen Expression von TTF-1 bestehen könnte (Myong et al. 2003).

4.6 ABCA3 und TTF-1 im statistischen Vergleich

Da die distale Promotorregion des ABCA3-Gens eine Gruppierung von potentiellen Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren beinhaltet (unter anderem für TTF-1), welche als Enhancer agieren, kann TTF-1 die Expression von ABCA3 in der gesunden Lunge positiv beeinflussen (Besnard et al. 2007).
TTF-1 wurde des Weiteren bereits als möglicher Indikator für eine Prognose für Patienten mit Bronchialkarzinomen identifiziert (Boggaram 2009; Perner et al. 2009), während eine erhöhte Expression von ABCA3 in Fällen akuter myeloischer Leukämie zu einem ungünstigen Behandlungsausgang führt (Chapuy et al. 2008).
Beide Proteine nehmen folglich Einfluss auf das Überleben von Tumorpatienten.
Das Vorkommen erhöhter Expressionen von TTF-1 bei NSCLC wurde bereits vielfach untersucht (Haque et al. 2002, Perner et al. 2009, Tan et al. 2003). Aufgrund des Nachweises von ABCA3 in NSCLC (Overbeck et al. 2013) wäre eine mögliche

Wechselbeziehung zwischen ABCA3 und TTF-1 nicht nur in der gesunden Lunge, sondern auch bei NSCLC denkbar.

Auf Grundlage dieser Überlegungen wurden die Maximal-Werte sowie der Positiv-Index aus den Untersuchungen hinsichtlich TTF-1 mit den Maximal-Werten und dem Positiv-Index hinsichtlich ABCA3 korreliert.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie liegt kein Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten von ABCA3 und TTF-1 in NSCLC vor.

Möglicherweise wird die Expression von ABCA3 in NSCLC von anderen Mechanismen (als von TTF-1) positiv beeinflusst und beide Proteine sollten unabhängig voneinander in NSCLC betrachtet werden. In der gesunden Lunge regulieren neben TTF-1 noch weitere Transkriptionsfaktoren (wie Forkhead-Box-Protein A2 (FOXA2), CCAAT/enhancer binding protein-α (C/EBPα), GATA-6 und nuclear factor of activated T cells-c3) die Expression von ABCA3 (Besnard et al. 2007) und könnten dementsprechend auch in NSCLC einen Einfluss nehmen.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie geht des Weiteren eine starke Expression von ABCA3 in NSCLC mit einem niedrigeren Gesamtüberleben einher. Während eine starke Expression von TTF-1 bei Patienten, die an NSCLC erkrankt sind, zu besseren mittleren Überlebenszeiten führen (Haque et al. 2002; Tan et al. 2003). Diese konträren Ergebnisse bezüglich des Expressionsverhaltens der beiden Proteine und des Überlebens unterstützen die Vermutung, dass TTF-1 nicht maßgeblich an der Regulierung der Expression von ABCA3 in NSCLC beteiligt ist.

4.7 Zusammenfassung

4.7.1 Erkenntnisse der vorliegenden Studie

Die vorliegende retrospektive Studie untersuchte 89 Tumorproben von Patienten, die an NSCLC (Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen) erkrankt waren, hinsichtlich ihres Expressionsverhaltens von TTF-1 und ABCA3.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass ein Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten von ABCA3 in Plattenepithel- und Adenokarzinomen der Lunge und dem Überleben der Patienten besteht. So lassen die Ergebnisse dieser Studie die Vermutung zu, dass eine sowohl quantitativ als auch qualitativ hohe Expression von ABCA3 mit einem niedrigen durchschnittlichen Überleben, eine entsprechend niedrige Expression mit einem hohen Überleben assoziiert ist.

Des Weiteren haben Nichtraucher eine hohe Assoziation zu einer qualitativ und quantitativ hohen Expression von ABCA3.

Eine sowohl quantitativ als auch qualitativ hohe Expression von TTF-1 ist nach den Erkenntnissen der vorliegenden Studie mit einem geringen Gesamtüberleben und Patienten weiblichen Geschlechts assoziiert, eine niedrige Expression dementsprechend mit Patienten männlichen Geschlechts.

Ein Zusammenhang zwischen der Expression von TTF-1 und ABCA3 konnte nicht ermittelt werden.

4.7.2 Ausblick

Die Erforschung von Bronchialkarzinomen dient dem Ziel, neue Therapieansätze und Behandlungsmethoden zu finden, die langfristig verbesserte Heilungschancen bzw. Überlebenszeiten der Patienten sichern.

In den Ergebnissen der vorliegenden Studie scheint sich ein Zusammenhang zwischen dem Überleben der Patienten und der Expression von ABCA3 in Bronchialkarzinomen darzustellen.

Studien über Patienten mit akuter myeloischer Leukämie haben bereits den Einfluss von ABCA3 auf den Behandlungsausgang darstellen können sowie den Nachweis erbracht, dass eine Überexpression von ABCA3 in vitro Resistenzen gegen ein weites Spektrum von Zytostatika erzeugt.

Da sich in der vorliegenden Studie ein Zusammenhang zwischen dem Überleben der Patienten und der Expression von ABCA3 abzeichnet, wäre der postulierte Effekt der Chemoresistenz bei einer homogeneren Patientengruppe mit adjuvanter/ neoadjuvanter Chemotherapie retrospektiv zu überprüfen und prospektiv zu validieren.

Des Weiteren wäre eine Genanalyse denkbar, um mögliche Risikofaktoren für eine erhöhte Expression von ABCA3 zu detektieren.

Inhibitoren für ABCA3 wurden bereits etabliert, so dass bei Bestätigung in weiteren präklinischen und klinischen Studien gezeigt werden könnte, ob bei Kombination dieser Inhibitoren mit systemischer Therapie Effekte bei der Behandlung von Bronchialkarzinomen, insbesondere bezogen auf das Überleben, nachgewiesen werden können.

Anhang

Tabellen

Präparate-Kasten-Nummer	Prozentualer Anteil an vitalem Tumorgewebe im Präparat	0	1	2	3
1	50	0	40	55	5
2	60	85	10	5	0
3	30	0	10	40	50
4	90	60	0	10	30
5	30	50	50	0	0
6	60	0	90	5	5
7	30	50	0	35	15
8	100	90	0	0	10
11	30	50	50	0	0
12	60	10	90	0	0
13	40	30	40	5	25
14	100	40	40	15	5
15	100	90	0	5	5
16	70	85	5	10	0
18	100	95	0	0	5
19	25	10	5	30	55
20	10	95	0	5	0
21	60	80	5	10	5
22	50	90	5	0	5
23	70	85	0	15	0
24	40	10	30	50	10
25	15	5	0	5	90
26	40	0	100	0	0
27	50	90	0	10	0
28	80	95	0	5	0

Präparate-Kasten-Nummer	Prozentualer Anteil an vitalem Tumorgewebe im Präparat	0	1	2	3
29	70	0	90	5	5
31	50	0	25	70	5
32	65	0	100	0	0
33	100	0	100	0	0
39	80	95	0	0	5
40	50	90	5	5	0
41	30	0	0	100	0
42	40	95	5	0	0
43	20	50	45	5	0
45	90	95	5	0	0
46	25	15	80	0	5
48	40	55	40	5	0
49	75	0	85	10	5
50	75	0	90	10	0
51	40	0	65	35	0
53	35	0	70	30	0
54	10	95	0	5	0
55	65	0	75	20	5
56	70	20	70	10	0
57	80	0	0	100	0
58	35	95	0	0	5
59	20	0	80	5	15
60	50	90	0	5	5
61	90	95	0	0	5
62	80	45	10	20	25
63	90	90	0	0	10
64	50	95	5	0	0
65	80	95	0	5	0
66	50	70	0	10	20
68	60	50	45	5	0
70	60	0	100	0	0
71	60	20	45	35	0

Präparate-Kasten-Nummer	Prozentualer Anteil an vitalem Tumorgewebe im Präparat	0	1	2	3
72	50	85	10	5	0
73	60	5	85	10	0
74	80	15	40	40	5
75	5	0	0	0	100
76	60	0	100	0	0
77	90	0	100	0	0
81	40	0	0	95	5
82	40	55	35	5	5
83	60	10	85	0	5
84	50	10	25	55	10
85	50	20	60	20	0
87	70	90	0	10	0
88	80	100	0	0	0
89	30	95	0	5	0
90	50	0	35	60	5
91	80	60	15	10	15
92	60	95	0	5	0
94	40	100	0	0	0
95	95	40	55	5	0
97	50	0	50	40	10
98	65	95	0	5	0
99	60	0	0	100	0
100	25	55	10	35	0
101	80	85	5	5	5
103	25	80	20	0	0
104	70	100	0	0	0
105	20	90	0	10	0
106	10	95	0	5	0
107	90	95	0	0	5
108	20	85	0	10	5
109	50	90	5	5	0

Tabelle A.1: Ergebnisse lichtmikroskopischer Auswertung ABCA3.

Präparate-Kasten-Nummer	Prozentualer Anteil an vitalem Tumorgewebe im Präparat	0	1	2	3
1					
2	40	30	0	70	0
3					
4					
5	90	40	50	10	0
6	50	90	0	10	0
7	30	100	0	0	0
8	50	0	0	10	90
11	40	95	5	0	0
12	25	95	0	5	0
13	40	90	0	0	10
14	90	5	0	0	95
15	90	95	0	5	0
16	30	85	0	15	0
18	100	95	5	0	0
19	20	40	20	40	0
20	80	95	5	0	0
21	60	95	0	5	0
22	90	95	0	5	0
23	80	90	10	0	0
24	60	100	0	0	0
25	60	100	0	0	0
26	40	90	5	5	0
27	90	90	5	5	0
28	100	100	0	0	0
29	50	20	80	0	0
31	40	0	0	95	5
32	60	20	30	30	20
33	90	10	0	40	50
39	30	95	5	0	0
40	90	95	5	0	0
41	70	55	10	35	0
42	80	90	10	0	0
43	60	95	5	0	0

Präparate-Kasten-Nummer	Prozentualer Anteil an vitalem Tumorgewebe im Präparat	0	1	2	3
45	100	100	0	0	0
46	40	90	10	0	0
48	90	5	10	0	85
49	50	0	100	0	0
50	50	100	0	0	0
51	80	100	0	0	0
53	40	90	10	0	0
54	80	100	0	0	0
55	80	5	10	0	85
56	40	100	0	0	0
57	90	95	5	0	0
58	60	95	5	0	0
59	90	50	50	0	0
60	10	0	100	0	0
61	40	95	5	0	0
62	90	50	0	50	0
63	75	95	0	5	0
64	90	95	5	0	0
65	50	95	5	0	0
66	40	95	5	0	0
68	70	90	0	5	5
69	20	40	0	30	30
70	25	100	0	0	0
71	75	50	50	0	0
72	45	100	0	0	0
73	50	95	5	0	0
74	40	80	0	10	10
75	10	70	0	0	30
76	70	85	10	5	0
77	90	100	0	0	0
81	70	10	0	50	40
82	50	100	0	0	0
83	80	95	5	0	0
84	50	35	0	35	30
85	50	95	5	0	0
87	80	95	0	5	0

Präparate-Kasten-Nummer	Prozentualer Anteil an vitalem Tumorgewebe im Präparat	0	1	2	3
88	70	0	0	10	90
89	80	60	35	5	0
90	30	100	0	0	0
91					
92	80	0	0	100	0
94	80	100	0	0	0
95	80	90	5	5	0
97	70	20	0	80	0
98	60	100	0	0	0
99	80	95	0	5	0
100	30	0	0	40	60
101	90	90	10	0	0
103	90	55	40	5	0
104	30	100	0	0	0
105	90	95	5	0	0
106	70	40	10	40	10
107	80	90	5	5	0
108	60	95	5	0	0
109	60	5	0	95	0

Tabelle A.2: Ergebnisse lichtmikroskopische Auswertung TTF-1.

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
		N	Prozent
89	70	19	21,3%

Tabelle A.3: Zusammenfassung der Fallverarbeitung Gesamtkollektiv (Kaplan-Meier).

Überlebenstabelle

	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
1	,000	1	.	.	1	88
2	,000	1	.	.	2	87
3	,000	1	.	.	3	86
4	,000	1	.	.	4	85
5	,000	1	.	.	5	84
6	,000	1	.	.	6	83
7	,000	1	.	.	7	82
8	,000	1	.	.	8	81
9	,000	1	,899	,032	9	80
10	2,000	1	,888	,033	10	79
11	3,000	1	.	.	11	78
12	3,000	1	,865	,036	12	77
13	4,000	1	.	.	13	76
14	4,000	1	.	.	14	75
15	4,000	1	,831	,040	15	74
16	7,000	1	,820	,041	16	73
17	8,000	1	.	.	17	72
18	8,000	1	.	.	18	71
19	8,000	1	,787	,043	19	70
20	9,000	1	.	.	20	69
21	9,000	1	,764	,045	21	68
22	10,000	1	.	.	22	67
23	10,000	1	.	.	23	66
24	10,000	1	.	.	24	65
25	10,000	1	.	.	25	64
26	10,000	1	,708	,048	26	63
27	11,000	1	.	.	27	62
28	11,000	1	.	.	28	61
29	11,000	1	.	.	29	60
30	11,000	1	,663	,050	30	59
31	13,000	1	.	.	31	58
32	13,000	1	,640	,051	32	57
33	14,000	1	,629	,051	33	56

	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
34	15,000	1	,618	,052	34	55
35	16,000	1	,607	,052	35	54
36	17,000	1	,596	,052	36	53
37	17,000	0	.	.	36	52
38	18,000	1	,584	,052	37	51
39	21,000	1	,573	,052	38	50
40	23,000	1	.	.	39	49
41	23,000	1	.	.	40	48
42	23,000	1	,538	,053	41	47
43	27,000	1	,527	,053	42	46
44	28,000	1	.	.	43	45
45	28,000	1	.	.	44	44
46	28,000	1	,492	,053	45	43
47	29,000	1	.	.	46	42
48	29,000	1	,470	,053	47	41
49	32,000	1	,458	,053	48	40
50	35,000	1	.	.	49	39
51	35,000	1	,435	,053	50	38
52	43,000	1	,424	,053	51	37
53	43,000	0	.	.	51	36
54	44,000	0	.	.	51	35
55	45,000	1	,412	,053	52	34
56	48,000	1	,400	,052	53	33
57	50,000	1	,387	,052	54	32
58	50,000	0	.	.	54	31
59	52,000	1	.	.	55	30
60	52,000	1	.	.	56	29
61	52,000	1	,350	,051	57	28
62	52,000	0	.	.	57	27
63	54,000	1	,337	,051	58	26
64	58,000	1	,324	,051	59	25
65	62,000	0	.	.	59	24
66	71,000	1	,310	,050	60	23
67	73,000	1	,297	,050	61	22

	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
68	82,000	0	.	.	61	21
69	85,000	1	,283	,050	62	20
70	86,000	1	,269	,049	63	19
71	86,000	0	.	.	63	18
72	87,000	0	.	.	63	17
73	88,000	0	.	.	63	16
74	90,000	0	.	.	63	15
75	94,000	0	.	.	63	14
76	97,000	1	,250	,049	64	13
77	98,000	0	.	.	64	12
78	100,000	1	,229	,049	65	11
79	104,000	1	.	.	66	10
80	104,000	1	,187	,048	67	9
81	106,000	1	,166	,047	68	8
82	106,000	0	.	.	68	7
83	109,000	0	.	.	68	6
84	111,000	1	,139	,047	69	5
85	115,000	1	,111	,045	70	4
86	115,000	0	.	.	70	3
87	119,000	0	.	.	70	2
88	132,000	0	.	.	70	1
89	141,000	0	.	.	70	0

Tabelle A.4: Überlebenstabelle Gesamtkollektiv (Kaplan-Meier).

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

Histologie	Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
			N	Prozent
Adenokarzinom	28	24	4	14,3%
Plattenepithelkarzinom	61	46	15	24,6%
Gesamt	89	70	19	21,3%

Tabelle A.5: Zusammenfassung der Fallverarbeitung Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier).

Überlebenstabelle

Histologie		Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
Adenokarzinom	1	,000	1	,964	,035	1	27
	2	2,000	1	,929	,049	2	26
	3	3,000	1	.	.	3	25
	4	3,000	1	,857	,066	4	24
	5	8,000	1	,821	,072	5	23
	6	9,000	1	.	.	6	22
	7	9,000	1	,750	,082	7	21
	8	11,000	1	,714	,085	8	20
	9	13,000	1	,679	,088	9	19
	10	15,000	1	,643	,091	10	18
	11	17,000	0	.	.	10	17
	12	18,000	1	,605	,093	11	16
	13	23,000	1	.	.	12	15
	14	23,000	1	,529	,095	13	14
	15	27,000	1	,492	,096	14	13
	16	29,000	1	,454	,096	15	12
	17	35,000	1	,416	,095	16	11
	18	52,000	1	.	.	17	10
	19	52,000	1	.	.	18	9
	20	52,000	1	,303	,089	19	8
	21	52,000	0	.	.	19	7
	22	54,000	1	,259	,086	20	6
	23	58,000	1	,216	,082	21	5
	24	62,000	0	.	.	21	4
	25	71,000	1	,162	,077	22	3
	26	86,000	1	,108	,068	23	2
	27	98,000	0	.	.	23	1
	28	115,000	1	,000	,000	24	0

Histologie		Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
Plattenepithelkarzinom	1	,000	1	.	.	1	60
	2	,000	1	.	.	2	59
	3	,000	1	.	.	3	58
	4	,000	1	.	.	4	57
	5	,000	1	.	.	5	56
	6	,000	1	.	.	6	55
	7	,000	1	.	.	7	54
	8	,000	1	,869	,043	8	53
	9	4,000	1	.	.	9	52
	10	4,000	1	.	.	10	51
	11	4,000	1	,820	,049	11	50
	12	7,000	1	,803	,051	12	49
	13	8,000	1	.	.	13	48
	14	8,000	1	,770	,054	14	47
	15	10,000	1	.	.	15	46
	16	10,000	1	.	.	16	45
	17	10,000	1	.	.	17	44
	18	10,000	1	.	.	18	43
	19	10,000	1	,689	,059	19	42
	20	11,000	1	.	.	20	41
	21	11,000	1	.	.	21	40
	22	11,000	1	,639	,061	22	39
	23	13,000	1	,623	,062	23	38
	24	14,000	1	,607	,063	24	37
	25	16,000	1	,590	,063	25	36
	26	17,000	1	,574	,063	26	35
	27	21,000	1	,557	,064	27	34
	28	23,000	1	,541	,064	28	33
	29	28,000	1	.	.	29	32
	30	28,000	1	.	.	30	31

Histologie	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
31	28,000	1	,492	,064	31	30
32	29,000	1	,475	,064	32	29
33	32,000	1	,459	,064	33	28
34	35,000	1	,443	,064	34	27
35	43,000	1	,426	,063	35	26
36	43,000	0	.	.	35	25
37	44,000	0	.	.	35	24
38	45,000	1	,408	,063	36	23
39	48,000	1	,391	,063	37	22
40	50,000	1	,373	,062	38	21
41	50,000	0	.	.	38	20
42	73,000	1	,354	,062	39	19
43	82,000	0	.	.	39	18
44	85,000	1	,335	,062	40	17
45	86,000	0	.	.	40	16
46	87,000	0	.	.	40	15
47	88,000	0	.	.	40	14
48	90,000	0	.	.	40	13
49	94,000	0	.	.	40	12
50	97,000	1	,307	,062	41	11
51	100,000	1	,279	,063	42	10
52	104,000	1	.	.	43	9
53	104,000	1	,223	,061	44	8
54	106,000	1	,195	,060	45	7
55	106,000	0	.	.	45	6
56	109,000	0	.	.	45	5
57	111,000	1	,156	,059	46	4
58	115,000	0	.	.	46	3
59	119,000	0	.	.	46	2
60	132,000	0	.	.	46	1
61	141,000	0	.	.	46	0

Tabelle A.6: Überlebenstabelle Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier).

Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit

Histologie	Mittelwert[a]				Median			
	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall		Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
Adenokarzinom	40,114	7,077	26,243	53,986	27,000	8,609	10,125	43,875
Plattenepithelkarzinom	53,470	6,830	40,083	66,856	28,000	7,809	12,694	43,306
Gesamt	49,520	5,268	39,195	59,845	28,000	5,416	17,384	38,616

a. Die Schätzung ist auf die längste Überlebenszeit begrenzt, wenn sie zensiert ist.

Tabelle A.7: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier).

Gesamtvergleiche

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	1,094	1	,296

Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von HistoWertung_Adeno1_Platte2.

Tabelle A.8: Gesamtvergleiche Gesamtkollektiv nach Histologie (Kaplan-Meier).

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

Niemalsraucher/ Raucher	Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
			N	Prozent
Niemalsraucher	10	10	0	0,0%
Raucher	78	59	19	24,4%
Gesamt	88	69	19	21,6%

Tabelle A.9: Zusammenfassung der Fallverarbeitung Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier).

Überlebenstabelle

Niemalsraucher/ Raucher	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
Niemalsraucher	,000	1	.	.	1	9
	,000	1	,800	,126	2	8
	3,000	1	,700	,145	3	7
	8,000	1	.	.	4	6
	8,000	1	,500	,158	5	5
	9,000	1	,400	,155	6	4
	13,000	1	,300	,145	7	3
	73,000	1	,200	,126	8	2
	86,000	1	,100	,095	9	1
	106,000	1	,000	,000	10	0
Raucher	,000	1	.	.	1	77
	,000	1	.	.	2	76
	,000	1	.	.	3	75
	,000	1	.	.	4	74
	,000	1	.	.	5	73
	,000	1	.	.	6	72
	,000	1	,910	,032	7	71
	2,000	1	,897	,034	8	70
	3,000	1	,885	,036	9	69
	4,000	1	.	.	10	68
	4,000	1	.	.	11	67
	4,000	1	,846	,041	12	66
	7,000	1	,833	,042	13	65
	8,000	1	,821	,043	14	64
	9,000	1	,808	,045	15	63
	10,000	1	.	.	16	62
	10,000	1	.	.	17	61
	10,000	1	.	.	18	60
	10,000	1	.	.	19	59
	10,000	1	,744	,049	20	58
	11,000	1	.	.	21	57
	11,000	1	.	.	22	56

Niemalsraucher/ Raucher	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
	11,000	1	.	.	23	55
	11,000	1	,692	,052	24	54
	13,000	1	,679	,053	25	53
	14,000	1	,667	,053	26	52
	15,000	1	,654	,054	27	51
	16,000	1	,641	,054	28	50
	17,000	1	,628	,055	29	49
	17,000	0	.	.	29	48
	18,000	1	,615	,055	30	47
	21,000	1	,602	,055	31	46
	23,000	1	.	.	32	45
	23,000	1	.	.	33	44
	23,000	1	,563	,056	34	43
	27,000	1	,550	,056	35	42
	28,000	1	.	.	36	41
	28,000	1	.	.	37	40
	28,000	1	,510	,057	38	39
	29,000	1	,497	,057	39	38
	32,000	1	,484	,057	40	37
	35,000	1	.	.	41	36
	35,000	1	,458	,057	42	35
	43,000	1	,445	,057	43	34
	43,000	0	.	.	43	33
	44,000	0	.	.	43	32
	45,000	1	,431	,056	44	31
	48,000	1	,417	,056	45	30
	50,000	1	,403	,056	46	29
	50,000	0	.	.	46	28
	52,000	1	.	.	47	27
	52,000	1	.	.	48	26
	52,000	1	,360	,055	49	25

Niemalsraucher/ Raucher	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
	52,000	0	.	.	49	24
	54,000	1	,345	,055	50	23
	58,000	1	,330	,055	51	22
	62,000	0	.	.	51	21
	71,000	1	,314	,054	52	20
	82,000	0	.	.	52	19
	85,000	1	,298	,054	53	18
	86,000	0	.	.	53	17
	87,000	0	.	.	53	16
	88,000	0	.	.	53	15
	90,000	0	.	.	53	14
	94,000	0	.	.	53	13
	97,000	1	,275	,054	54	12
	98,000	0	.	.	54	11
	100,000	1	,250	,055	55	10
	104,000	1	.	.	56	9
	104,000	1	,200	,054	57	8
	106,000	0	.	.	57	7
	109,000	0	.	.	57	6
	111,000	1	,167	,054	58	5
	115,000	1	,133	,053	59	4
	115,000	0	.	.	59	3
	119,000	0	.	.	59	2
	132,000	0	.	.	59	1
	141,000	0	.	.	59	0

Tabelle A.10: Überlebenstabelle Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier).

Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit

Niemalsraucher/ Raucher	Mittelwert[a]				Median			
	Schätzer	Standard fehler	95%-Konfidenzintervall		Schätzer	Standard fehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
Niemalsraucher	30,600	12,903	5,310	55,890	8,000	3,162	1,802	14,198
Raucher	52,514	5,798	41,150	63,879	29,000	9,654	10,078	47,922
Gesamt	49,764	5,323	39,331	60,197	28,000	5,872	16,490	39,510

a. Die Schätzung ist auf die längste Überlebenszeit begrenzt, wenn sie zensiert ist.

Tabelle A.11: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit, Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier).

Gesamtvergleiche

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	3,760	1	,052

Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von Niemalsraucher/Raucher.

Tabelle A.12: Gesamtvergleiche Gesamtkollektiv nach Rauchverhalten (Kaplan-Meier).

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

ABCA3maximalWertung	Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
			N	Prozent
negativ/schwach	16	13	3	18,8%
mittel	33	26	7	21,2%
stark	40	31	9	22,5%
Gesamt	89	70	19	21,3%

Tabelle A.13: Zusammenfassung der Fallverarbeitung ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier)

Überlebenstabelle

ABCA3maximalWertung		Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
negativ/schwach	1	,000	1	.	.	1	15
	2	,000	1	.	.	2	14
	3	,000	1	.	.	3	13
	4	,000	1	.	.	4	12
	5	,000	1	,688	,116	5	11
	6	8,000	1	,625	,121	6	10
	7	15,000	1	,563	,124	7	9
	8	17,000	1	,500	,125	8	8
	9	18,000	1	,438	,124	9	7
	10	23,000	1	,375	,121	10	6
	11	43,000	1	,313	,116	11	5
	12	52,000	0	.	.	11	4
	13	62,000	0	.	.	11	3
	14	85,000	1	,208	,115	12	2
	15	104,000	1	,104	,093	13	1
	16	132,000	0	.	.	13	0
mittel	1	2,000	1	,970	,030	1	32
	2	4,000	1	.	.	2	31
	3	4,000	1	,909	,050	3	30
	4	8,000	1	.	.	4	29
	5	8,000	1	,848	,062	5	28
	6	10,000	1	.	.	6	27
	7	10,000	1	.	.	7	26
	8	10,000	1	,758	,075	8	25
	9	11,000	1	.	.	9	24
	10	11,000	1	.	.	10	23
	11	11,000	1	.	.	11	22
	12	11,000	1	,636	,084	12	21
	13	13,000	1	.	.	13	20
	14	13,000	1	,576	,086	14	19
	15	17,000	0	.	.	14	18

	ABCA3 maximal Wertung	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
stark	16	23,000	1	.	.	15	17
	17	23,000	1	,512	,088	16	16
	18	28,000	1	,480	,088	17	15
	19	29,000	1	.	.	18	14
	20	29,000	1	,416	,087	19	13
	21	44,000	0	.	.	19	12
	22	48,000	1	,381	,086	20	11
	23	52,000	1	,347	,085	21	10
	24	71,000	1	,312	,083	22	9
	25	73,000	1	,277	,081	23	8
	26	87,000	0	.	.	23	7
	27	88,000	0	.	.	23	6
	28	90,000	0	.	.	23	5
	29	97,000	1	,222	,082	24	4
	30	106,000	1	,166	,078	25	3
	31	109,000	0	.	.	25	2
	32	115,000	1	,083	,071	26	1
	33	141,000	0	.	.	26	0
	1	,000	1	.	.	1	39
	2	,000	1	.	.	2	38
	3	,000	1	.	.	3	37
	4	,000	1	,900	,047	4	36
	5	3,000	1	.	.	5	35
	6	3,000	1	,850	,056	6	34
	7	4,000	1	,825	,060	7	33
	8	7,000	1	,800	,063	8	32
	9	9,000	1	.	.	9	31
	10	9,000	1	,750	,068	10	30
	11	10,000	1	.	.	11	29
	12	10,000	1	,700	,072	12	28
	13	14,000	1	,675	,074	13	27
	14	16,000	1	,650	,075	14	26

ABCA3 maximal Wertung	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
15	21,000	1	,625	,077	15	25
16	27,000	1	,600	,077	16	24
17	28,000	1	.	.	17	23
18	28,000	1	,550	,079	18	22
19	32,000	1	,525	,079	19	21
20	35,000	1	.	.	20	20
21	35,000	1	,475	,079	21	19
22	43,000	0	.	.	21	18
23	45,000	1	,449	,079	22	17
24	50,000	1	,422	,079	23	16
25	50,000	0	.	.	23	15
26	52,000	1	.	.	24	14
27	52,000	1	,366	,077	25	13
28	54,000	1	,338	,076	26	12
29	58,000	1	,310	,075	27	11
30	82,000	0	.	.	27	10
31	86,000	1	,279	,074	28	9
32	86,000	0	.	.	28	8
33	94,000	0	.	.	28	7
34	98,000	0	.	.	28	6
35	100,000	1	,232	,075	29	5
36	104,000	1	,186	,073	30	4
37	106,000	0	.	.	30	3
38	111,000	1	,124	,070	31	2
39	115,000	0	.	.	31	1
40	119,000	0	.	.	31	0

Tabelle A.14: Überlebenstabelle ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit

ABCA3maximalWertung	Mittelwert[a]				Median			
	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall		Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
negativ/schwach	41,188	11,939	17,788	64,587	17	3	11,12	22,88
mittel	49,041	8,43	32,517	65,564	28	8,778	10,796	45,204
stark	49,612	6,954	35,982	63,241	35	13,239	9,052	60,948
Gesamt	49,52	5,268	39,195	59,845	28	5,416	17,384	38,616

a. Die Schätzung ist auf die längste Überlebenszeit begrenzt, wenn sie zensiert ist.

Tabelle A.15: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Gesamtvergleiche

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,636	2	,728

Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von ABCA3maximalWertung.

Tabelle A.16: Gesamtvergleich ABCA3-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

Positiv-Index ABCA3	Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
			N	Prozent
0-100	72	53	19	26,4%
101-300	17	17	0	0,0%
Gesamt	89	70	19	21,3%

Tabelle A.17: Zusammenfassung der Fallverarbeitung ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Überlebenstabelle

Positiv-Index ABCA3		Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
0-100	1	,000	1	.	.	1	71
	2	,000	1	.	.	2	70
	3	,000	1	.	.	3	69
	4	,000	1	.	.	4	68
	5	,000	1	.	.	5	67
	6	,000	1	.	.	6	66
	7	,000	1	,903	,035	7	65
	8	2,000	1	,889	,037	8	64
	9	3,000	1	,875	,039	9	63
	10	4,000	1	.	.	10	62
	11	4,000	1	.	.	11	61
	12	4,000	1	,833	,044	12	60
	13	7,000	1	,819	,045	13	59
	14	8,000	1	.	.	14	58
	15	8,000	1	.	.	15	57
	16	8,000	1	,778	,049	16	56
	17	9,000	1	,764	,050	17	55
	18	10,000	1	.	.	18	54
	19	10,000	1	.	.	19	53
	20	10,000	1	.	.	20	52
	21	10,000	1	,708	,054	21	51
	22	11,000	1	.	.	22	50
	23	11,000	1	.	.	23	49
	24	11,000	1	,667	,056	24	48
	25	13,000	1	.	.	25	47
	26	13,000	1	,639	,057	26	46
	27	15,000	1	,625	,057	27	45
	28	17,000	1	,611	,057	28	44
	29	17,000	0	.	.	28	43
	30	18,000	1	,597	,058	29	42

Positiv-Index ABCA3	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
31	23,000	1	.	.	30	41
32	23,000	1	.	.	31	40
33	23,000	1	,554	,059	32	39
34	27,000	1	,540	,059	33	38
35	28,000	1	.	.	34	37
36	28,000	1	,512	,059	35	36
37	29,000	1	.	.	36	35
38	29,000	1	,483	,059	37	34
39	32,000	1	,469	,059	38	33
40	35,000	1	,455	,059	39	32
41	43,000	1	,441	,059	40	31
42	43,000	0	.	.	40	30
43	44,000	0	.	.	40	29
44	50,000	0	.	.	40	28
45	52,000	1	.	.	41	27
46	52,000	1	,409	,059	42	26
47	52,000	0	.	.	42	25
48	54,000	1	,393	,059	43	24
49	58,000	1	,376	,058	44	23
50	62,000	0	.	.	44	22
51	71,000	1	,359	,058	45	21
52	73,000	1	,342	,058	46	20
53	82,000	0	.	.	46	19
54	85,000	1	,324	,058	47	18
55	86,000	0	.	.	47	17
56	87,000	0	.	.	47	16
57	88,000	0	.	.	47	15
58	90,000	0	.	.	47	14
59	94,000	0	.	.	47	13

	Positiv-Index ABCA3	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
	60	97,000	1	,299	,058	48	12
	61	98,000	0	.	.	48	11
	62	100,000	1	,272	,059	49	10
	63	104,000	1	.	.	50	9
	64	104,000	1	,218	,058	51	8
	65	106,000	0	.	.	51	7
	66	109,000	0	.	.	51	6
	67	111,000	1	,181	,059	52	5
	68	115,000	1	,145	,057	53	4
	69	115,000	0	.	.	53	3
	70	119,000	0	.	.	53	2
	71	132,000	0	.	.	53	1
	72	141,000	0	.	.	53	0
	1	,000	1	.	.	1	16
	2	,000	1	,882	,078	2	15
	3	3,000	1	,824	,092	3	14
	4	9,000	1	,765	,103	4	13
	5	10,000	1	,706	,111	5	12
	6	11,000	1	,647	,116	6	11
	7	14,000	1	,588	,119	7	10
	8	16,000	1	,529	,121	8	9
101-300	9	21,000	1	,471	,121	9	8
	10	28,000	1	,412	,119	10	7
	11	35,000	1	,353	,116	11	6
	12	45,000	1	,294	,111	12	5
	13	48,000	1	,235	,103	13	4
	14	50,000	1	,176	,092	14	3
	15	52,000	1	,118	,078	15	2
	16	86,000	1	,059	,057	16	1
	17	106,000	1	,000	,000	17	0

Tabelle A.18: Überlebenstabelle ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit

Positiv-Index ABCA3	Mittelwert[a]				Median			
	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall		Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
0-100	54,327	6,253	42,07	66,583	29	10,408	8,6	49,4
101-300	31,412	7,327	17,05	45,774	21	9,604	2,176	39,824
Gesamt	49,52	5,268	39,195	59,845	28	5,416	17,384	38,616

a. Die Schätzung ist auf die längste Überlebenszeit begrenzt, wenn sie zensiert ist.

Tabelle A.19: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Gesamtvergleiche

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	4,050	1	,044

Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von PosIndexABCA3_23_Wertung_0100_300.

Tabelle A.20: Gesamtvergleich ABCA3-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Korrelationen

			ABCA3 Maximal-Werte	Nodal-Status (pN)
Spearman-Rho	ABCA3 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	1,000	,054
		Sig. (2-seitig)	.	,616
		N	89	89
	Nodal-Status (pN)	Korrelationskoeffizient	,054	1,000
		Sig. (2-seitig)	,616	.
		N	89	89

Tabelle A.21: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Nodalstatus.

Korrelationen

			ABCA3 Maximal-Werte	UICC-Stadien
Spearman-Rho	ABCA3 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	1,000	,042
		Sig. (2-seitig)	.	,694
		N	89	89
	UICC-Stadien	Korrelationskoeffizient	,042	1,000
		Sig. (2-seitig)	,694	.
		N	89	89

Tabelle A.22: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und UICC-Stadien.

Korrelationen

			ABCA3 Maximal-Werte	Grading
Spearman-Rho	ABCA3 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	1,000	-,117
		Sig. (2-seitig)	.	,274
		N	89	89
	Grading	Korrelationskoeffizient	-,117	1,000
		Sig. (2-seitig)	,274	.
		N	89	89

Tabelle A.23: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Grading.

Korrelationen

			ABCA3 Maximal-Werte	Histologie
Spearman-Rho	ABCA3 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	1,000	-,016
		Sig. (2-seitig)	.	,883
		N	89	89
	Histologie	Korrelationskoeffizient	-,016	1,000
		Sig. (2-seitig)	,883	.
		N	89	89

Tabelle A.24: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Histologie.

Korrelationen

			ABCA3 Maximal-Werte	Rauchverhalten
Spearman-Rho	ABCA3 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	1,000	-,103
		Sig. (2-seitig)	.	,340
		N	89	88
	Rauchverhalten	Korrelationskoeffizient	-,103	1,000
		Sig. (2-seitig)	,340	.
		N	88	88

Tabelle A.25: Spearman-Korrelation ABCA3 Maximal-Werte und Rauchverhalten.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	Nodal-Status (p(N)
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	,039
		Sig. (2-seitig)	.	,714
		N	89	89
	Nodal-Status p(N)	Korrelationskoeffizient	,039	1,000
		Sig. (2-seitig)	,714	.
		N	89	89

Tabelle A.26: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Nodal-Status.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	UICC-Stadien
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	,122
		Sig. (2-seitig)	.	,254
		N	89	89
	UICC-Stadien	Korrelationskoeffizient	,122	1,000
		Sig. (2-seitig)	,254	.
		N	89	89

Tabelle A.27: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und UICC-Stadien.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	Grading
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	-,176
		Sig. (2-seitig)	.	,098
		N	89	89
	Grading	Korrelationskoeffizient	-,176	1,000
		Sig. (2-seitig)	,098	.
		N	89	89

Tabelle A.28: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Grading.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	Histologie
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	-,019
		Sig. (2-seitig)	.	,860
		N	89	89
	Histologie	Korrelationskoeffizient	-,019	1,000
		Sig. (2-seitig)	,860	.
		N	89	89

Tabelle A.29: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Histologie.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	Geschlecht
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	-,083
		Sig. (2-seitig)	.	,442
		N	89	89
	Geschlecht	Korrelationskoeffizient	-,083	1,000
		Sig. (2-seitig)	,442	.
		N	89	89

Tabelle A.30: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Geschlecht.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	Rauchverhalten
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	-,221*
		Sig. (2-seitig)	.	,039
		N	89	88
	Rauchverhalten	Korrelationskoeffizient	-,221*	1,000
		Sig. (2-seitig)	,039	.
		N	88	88

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

Tabelle A.31: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Rauchverhalten.

ABCA3	**korreliert mit**	**Korrelationskoeffizient & Signifikanzniveau**
Maximal-Werte	keine statistisch signifikanten Ergebnisse	
	Rauchverhalten	r_s =-0,229, p=0,05

Tabelle A.32: ABCA3 statistisch signifikante Ergebnisse.

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

TTF1maximalWertung	Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
			N	Prozent
negativ/schwach	44	30	14	31,8%
mittel	24	19	5	20,8%
stark	17	17	0	0,0%
Gesamt	85	66	19	22,4%

Tabelle A.33: Zusammenfassung der Fallverarbeitung TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Überlebenstabelle

TTF1maximalWertung		Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
negativ/schwach	1	,000	1	.	.	1	43
	2	,000	1	.	.	2	42
	3	,000	1	.	.	3	41
	4	,000	1	.	.	4	40
	5	,000	1	,886	,048	5	39
	6	4,000	1	,864	,052	6	38
	7	7,000	1	,841	,055	7	37
	8	8,000	1	,818	,058	8	36
	9	10,000	1	.	.	9	35
	10	10,000	1	.	.	10	34
	11	10,000	1	.	.	11	33
	12	10,000	1	,727	,067	12	32
	13	11,000	1	,705	,069	13	31
	14	14,000	1	,682	,070	14	30
	15	17,000	1	,659	,071	15	29
	16	17,000	0	.	.	15	28
	17	21,000	1	,636	,073	16	27
	18	23,000	1	.	.	17	26
	19	23,000	1	,588	,075	18	25
	20	28,000	1	,565	,075	19	24
	21	32,000	1	,541	,076	20	23
	22	43,000	1	,518	,076	21	22
	23	43,000	0	.	.	21	21
	24	44,000	0	.	.	21	20
	25	48,000	1	,492	,076	22	19
	26	50,000	0	.	.	22	18
	27	54,000	1	,465	,077	23	17
	28	71,000	1	,437	,077	24	16
	29	73,000	1	,410	,077	25	15
	30	82,000	0	.	.	25	14

	TTF1 maximal Wertung	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
	31	85,000	1	,381	,077	26	13
	32	86,000	0	.	.	26	12
	33	87,000	0	.	.	26	11
	34	90,000	0	.	.	26	10
	35	94,000	0	.	.	26	9
	36	97,000	1	,338	,079	27	8
	37	100,000	1	,296	,080	28	7
	38	104,000	1	.	.	29	6
	39	104,000	1	,211	,076	30	5
	40	109,000	0	.	.	30	4
	41	115,000	0	.	.	30	3
	42	119,000	0	.	.	30	2
	43	132,000	0	.	.	30	1
	44	141,000	0	.	.	30	0
	1	,000	1	.	.	1	23
	2	,000	1	.	.	2	22
	3	,000	1	,875	,068	3	21
	4	4,000	1	.	.	4	20
	5	4,000	1	,792	,083	5	19
	6	8,000	1	.	.	6	18
	7	8,000	1	,708	,093	7	17
	8	11,000	1	,667	,096	8	16
	9	13,000	1	.	.	9	15
mittel	10	13,000	1	,583	,101	10	14
	11	16,000	1	,542	,102	11	13
	12	27,000	1	,500	,102	12	12
	13	28,000	1	,458	,102	13	11
	14	29,000	1	,417	,101	14	10
	15	35,000	1	.	.	15	9
	16	35,000	1	,333	,096	16	8
	17	52,000	0	.	.	16	7
	18	62,000	0	.	.	16	6
	19	86,000	1	,278	,095	17	5

	TTF1 maximal Wertung	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
	20	88,000	0	.	.	17	4
	21	98,000	0	.	.	17	3
	22	106,000	1	,185	,099	18	2
	23	106,000	0	.	.	18	1
	24	115,000	1	,000	,000	19	0
stark	1	,000	1	,941	,057	1	16
	2	2,000	1	,882	,078	2	15
	3	3,000	1	.	.	3	14
	4	3,000	1	,765	,103	4	13
	5	11,000	1	.	.	5	12
	6	11,000	1	,647	,116	6	11
	7	15,000	1	,588	,119	7	10
	8	18,000	1	,529	,121	8	9
	9	23,000	1	,471	,121	9	8
	10	28,000	1	,412	,119	10	7
	11	29,000	1	,353	,116	11	6
	12	45,000	1	,294	,111	12	5
	13	50,000	1	,235	,103	13	4
	14	52,000	1	.	.	14	3
	15	52,000	1	,118	,078	15	2
	16	58,000	1	,059	,057	16	1
	17	111,000	1	,000	,000	17	0

Tabelle A.34: Überlebenstabelle TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit

TTF1 maximal Wertung	Mittelwert[a]				Median			
	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall		Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
negativ/schwach	62,392	8,329	46,068	78,716	48,000	25,745	,000	98,460
mittel	45,514	9,569	26,758	64,269	27,000	9,798	7,796	46,204
stark	30,059	6,973	16,392	43,726	23,000	8,918	5,521	40,479
Gesamt	50,970	5,457	40,275	61,665	29,000	6,048	17,147	40,853

a. Die Schätzung ist auf die längste Überlebenszeit begrenzt, wenn sie zensiert ist.

Tabelle A.35: Mittelwerte und Mediane Überlebenszeit TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Gesamtvergleiche

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	5,595	2	,061

Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von TTF1maximalWertung.

Tabelle A.36: Gesamtvergleich TTF-1-Kollektiv nach Maximal-Werten (Kaplan-Meier).

Zusammenfassung der Fallverarbeitung

PosIndexTTF1Wertung	Gesamtzahl	Anzahl der Ereignisse	Zensiert	
			N	Prozent
0-100	68	50	18	26,5%
101-300	17	16	1	5,9%
Gesamt	85	66	19	22,4%

Tabelle A.37: Zusammenfassung der Fallverarbeitung TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Überlebenstabelle

PosIndexTTF1Wertung		Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
0-100	1	,000	1	.	.	1	67
	2	,000	1	.	.	2	66
	3	,000	1	.	.	3	65
	4	,000	1	.	.	4	64
	5	,000	1	.	.	5	63
	6	,000	1	.	.	6	62
	7	,000	1	.	.	7	61
	8	,000	1	,882	,039	8	60
	9	4,000	1	.	.	9	59
	10	4,000	1	.	.	10	58
	11	4,000	1	,838	,045	11	57
	12	7,000	1	,824	,046	12	56
	13	8,000	1	.	.	13	55
	14	8,000	1	,794	,049	14	54
	15	10,000	1	.	.	15	53
	16	10,000	1	.	.	16	52
	17	10,000	1	.	.	17	51
	18	10,000	1	,735	,054	18	50
	19	11,000	1	.	.	19	49
	20	11,000	1	.	.	20	48
	21	11,000	1	,691	,056	21	47
	22	13,000	1	,676	,057	22	46
	23	14,000	1	,662	,057	23	45
	24	16,000	1	,647	,058	24	44
	25	17,000	1	,632	,058	25	43
	26	17,000	0	.	.	25	42
	27	21,000	1	,617	,059	26	41
	28	23,000	1	.	.	27	40
	29	23,000	1	,587	,060	28	39
	30	27,000	1	,572	,060	29	38

PosIndex TTF1 Wertung	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
			Schätzer	Standardfehler		
31	28,000	1	.	.	30	37
32	28,000	1	,542	,061	31	36
33	29,000	1	,527	,061	32	35
34	32,000	1	,512	,061	33	34
35	35,000	1	.	.	34	33
36	35,000	1	,482	,061	35	32
37	43,000	1	,467	,061	36	31
38	43,000	0	.	.	36	30
39	44,000	0	.	.	36	29
40	45,000	1	,451	,061	37	28
41	48,000	1	,435	,061	38	27
42	50,000	0	.	.	38	26
43	52,000	0	.	.	38	25
44	54,000	1	,417	,061	39	24
45	58,000	1	,400	,061	40	23
46	62,000	0	.	.	40	22
47	71,000	1	,382	,061	41	21
48	73,000	1	,363	,060	42	20
49	82,000	0	.	.	42	19
50	85,000	1	,344	,060	43	18
51	86,000	0	.	.	43	17
52	87,000	0	.	.	43	16
53	90,000	0	.	.	43	15
54	94,000	0	.	.	43	14
55	97,000	1	,320	,061	44	13
56	98,000	0	.	.	44	12
57	100,000	1	,293	,061	45	11
58	104,000	1	.	.	46	10
59	104,000	1	,240	,061	47	9
60	106,000	1	,213	,059	48	8
61	106,000	0	.	.	48	7

	PosIndex TTF1 Wertung	Zeit	Status	Kumulierter Anteil Überlebender zum Zeitpunkt		Anzahl der kumulativen Ereignisse	Anzahl der verbliebenen Fälle
				Schätzer	Standardfehler		
	62	109,000	0	.	.	48	6
	63	111,000	1	,178	,059	49	5
	64	115,000	1	,142	,057	50	4
	65	115,000	0	.	.	50	3
	66	119,000	0	.	.	50	2
	67	132,000	0	.	.	50	1
	68	141,000	0	.	.	50	0
	1	,000	1	,941	,057	1	16
	2	2,000	1	,882	,078	2	15
	3	3,000	1	.	.	3	14
	4	3,000	1	,765	,103	4	13
	5	8,000	1	,706	,111	5	12
	6	11,000	1	,647	,116	6	11
	7	13,000	1	,588	,119	7	10
	8	15,000	1	,529	,121	8	9
101-300	9	18,000	1	,471	,121	9	8
	10	23,000	1	,412	,119	10	7
	11	28,000	1	,353	,116	11	6
	12	29,000	1	,294	,111	12	5
	13	50,000	1	,235	,103	13	4
	14	52,000	1	.	.	14	3
	15	52,000	1	,118	,078	15	2
	16	86,000	1	,059	,057	16	1
	17	88,000	0	.	.	16	0

Tabelle A.38: Überlebenstabelle TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit

PosIndexTTF1Wertung	Mittelwert[a]				Median			
	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall		Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
0-100	56,515	6,39	43,991	69,039	35	9,299	16,773	53,227
101-300	28,294	6,581	15,395	41,193	18	6,86	4,555	31,445
Gesamt	50,97	5,457	40,275	61,665	29	6,048	17,147	40,853

a. Die Schätzung ist auf die längste Überlebenszeit begrenzt, wenn sie zensiert ist.

Tabelle A.39: Mittelwerte und Mediane für die Überlebenszeit TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Gesamtvergleiche

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	5,002	1	,025

Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von PosIndexTTF1Wertung.

Tabelle A.40: Gesamtvergleiche TTF-1-Kollektiv nach Positiv-Index gewertet (Kaplan-Meier).

Korrelationen

			TTF-1 Maximal	Nodal-Status (pN)
Spearman-Rho	TTF-1 Maximal	Korrelationskoeffizient	1,000	-,134
		Sig. (2-seitig)	.	,223
		N	85	85
	Nodal-Status (pN)	Korrelationskoeffizient	-,134	1,000
		Sig. (2-seitig)	,223	.
		N	85	85

Tabelle A.41: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Nodal-Status.

Korrelationen

			TTF-1 maximal	Grading
Spearman-Rho	TTF-1 Maximal	Korrelationskoeffizient	1,000	,070
		Sig. (2-seitig)	.	,526
		N	85	85
	Grading	Korrelationskoeffizient	,070	1,000
		Sig. (2-seitig)	,526	.
		N	85	85

Tabelle A.42: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Grading.

Korrelationen

			TTF-1 Maximal	UICC-Stadien
Spearman-Rho	TTF-1 Maximal	Korrelationskoeffizient	1,000	-,142
		Sig. (2-seitig)	.	,195
		N	85	85
	UICC-Stadien	Korrelationskoeffizient	-,142	1,000
		Sig. (2-seitig)	,195	.
		N	85	85

Tabelle A.43: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und UICC-Stadien.

Korrelationen

			TTF-1 Maximal	Histologie
Spearman-Rho	TTF-1 Maximal	Korrelationskoeffizient	1,000	-,517**
		Sig. (2-seitig)	.	,000
		N	85	85
	Histologie	Korrelationskoeffizient	-,517**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	.
		N	85	85

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

Tabelle A.44: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Histologie.

Korrelationen

			TTF-1 Maximal	Rauchverhalten
Spearman-Rho	TTF-1 Maximal	Korrelationskoeffizient	1,000	-,063
		Sig. (2-seitig)	.	,567
		N	85	84
	Rauchverhalten	Korrelationskoeffizient	-,063	1,000
		Sig. (2-seitig)	,567	.
		N	84	84

Tabelle A.45: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Rauchverhalten.

Korrelationen

			TTF-1 Maximal	Geschlecht
Spearman-Rho	TTF-1 Maximal	Korrelationskoeffizient	1,000	,318**
		Sig. (2-seitig)	.	,003
		N	85	85
	Geschlecht	Korrelationskoeffizient	,318**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,003	.
		N	85	85

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

Tabelle A.46: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und Geschlecht.

Korrelationen

			Positiv-Index TTF-1	Nodal-Status (pN)
Spearman-Rho	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	1,000	-,107
		Sig. (2-seitig)	.	,328
		N	85	85
	Nodal-Status (pN)	Korrelationskoeffizient	-,107	1,000
		Sig. (2-seitig)	,328	.
		N	85	85

Tabelle A.47: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Nodal-Status.

Korrelationen

			Positiv-Index TTF-1	Grading
Spearman-Rho	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	1,000	,039
		Sig. (2-seitig)	.	,725
		N	85	85
	Grading	Korrelationskoeffizient	,039	1,000
		Sig. (2-seitig)	,725	.
		N	85	85

Tabelle A.48: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Grading.

Korrelationen

			Positiv-Index TTF-1	UICC
Spearman-Rho	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	1,000	-,122
		Sig. (2-seitig)	.	,267
		N	85	85
	UICC	Korrelationskoeffizient	-,122	1,000
		Sig. (2-seitig)	,267	.
		N	85	85

Tabelle A.49: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und UICC.

Korrelationen

			Positiv-Index TTF-1	Histologie
Spearman-Rho	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	1,000	-,553**
		Sig. (2-seitig)	.	,000
		N	85	85
	Histologie	Korrelationskoeffizient	-,553**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	.
		N	85	85

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

Tabelle A.50: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Histologie.

Korrelationen

			Positiv-Index TTF-1	Geschlecht
Spearman-Rho	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	1,000	,314**
		Sig. (2-seitig)	.	,003
		N	85	85
	Geschlecht	Korrelationskoeffizient	,314**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,003	.
		N	85	85

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

Tabelle A.51: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Geschlecht.

Korrelationen

			Positiv-Index TTF-1	Rauchverhalten
Spearman-Rho	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	1,000	-,108
		Sig. (2-seitig)	.	,326
		N	85	84
	Rauchverhalten	Korrelationskoeffizient	-,108	1,000
		Sig. (2-seitig)	,326	.
		N	84	84

Tabelle A.52: Spearman-Korrelation Positiv-Index TTF-1 und Rauchverhalten.

TTF-1	**korreliert mit**	**Korrelationskoeffizient & Signifikanzniveau**
Maximal-Werte	Geschlecht	r_s=0,318, p=0,01
	Histologie	r_s=-0,526, p=0,05
Positiv-Index	Histologie	r_s=-0,480, p=0,01
	Geschlecht	r_s=0,270, p=0,05

Tabelle A.53: TTF-1 statistisch signifikante Ergebnisse.

Korrelationen

			TTF1 Maximal-Werte	ABCA3 Maximal-Werte
Spearman-Rho	TTF1 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	1,000	,101
		Sig. (2-seitig)	.	,359
		N	85	85
	ABCA3 Maximal-Werte	Korrelationskoeffizient	,101	1,000
		Sig. (2-seitig)	,359	.
		N	85	89

Tabelle A.54: Spearman-Korrelation TTF-1 Maximal-Werte und ABCA3 Maximal-Werte.

Korrelationen

			Positiv-Index ABCA3	Positiv-Index TTF-1
Spearman-Rho	Positiv-Index ABCA3	Korrelationskoeffizient	1,000	,048
		Sig. (2-seitig)	.	,655
		N	89	89
	Positiv-Index TTF-1	Korrelationskoeffizient	,048	1,000
		Sig. (2-seitig)	,655	.
		N	89	89

Tabelle A.55: Spearman-Korrelation Positiv-Index ABCA3 und Positiv-Index TTF-1.

Literaturverzeichnis

(1) Aebert H, Eckert R, Friedel G, Geißler M, Golf A, Harmann JT, Hehr T, Hetzel J, Ohmenhäuser A, Schäfer J, Simon H et al.: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Bronchialkarzinom. 3. überarb. Auflage; Südwestdeutsches Tumorzentrum, Tübingen 2008

(2) Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Benhamou S, Boffetta P, Darby SC, Forastiere F, Fortes C, Gaborieau V, González CA (2000): Lung Cancer and Cigarette Smoking in Women: A Multicenter Case-Control Study in Europe. *Int J Cancer 88*, 820-827

(3) Albrecht C, Viturro E (2007): The ABCA subfamily - gene and protein structures, functions and associated hereditary diseases. *Pflugers Arch, 453* (5), 581-589

(4) Arai T, Kuruishi T, Saito Y, Kurita Y, Naruke T, Kaneko M (1994): Tumor Doubling Time and the Prognosis in Lung Cancer Patients: Evaluation from Chest Films and Clinical Follow-up Study. *Jpn J Clin Oncol, 24 (4)*, 199-204

(5) Aung T, Chapuy B, Vogel D, Wenzel D, Oppermann M, Lahmann M, Weinhage T, Menck K, Hupfeld T, Koch R, Trümper L, Wulf GG (2011): Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. *Proc Natl Acad Sci U S A, 108 (37)*, 15336-15341

(6) Barbone F, Bovenzi M, Cavallieri F, Giorgio S (1997): Cigarette Smoking and Histological Types of Lung Cancer in Men. *Chest, 112* (6), 1474-1479

(7) Berghmans T, Paesmans M, Mascaux C, Martin B, Meert AP, Haller A, Lafitte JJ, Sculier JP (2006): Thyroid transcription factor 1--a new prognostic factor in lung cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol, 17* (11), 1673-1676

(8) Besnard V, XuY, Whitsett JA (2007): Sterol response element binding protein and thyroid transcription factor-1 (Nkx2.1) regulate Abca3 gene expression. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 293* (6), L1395-L1405

(9) Bingle CD (1997): Thyroid Transcription Factor-1. *Int J Biochem Cell Biol, 29* (12), 1471-1473

(10) Boggaram V (2009): Thyroid transcription factor-1 (TTF-1/Nkx2.1/TITF-1) gene regulation in the lung. *Clin Sci, 116* (1), 27-35

(11) Boyle P, Maisonneuve P (1995): Lung cancer and tobacco smoking. *Lung Cancer, 12* (3), 167-181

(12) Bozcuk H, Abali H, Coskun S (2012): The correlates of benefit from neoadjuvant chemotherapy before surgery in non-small cell lung cancer: a metaregression analysis. *World J Surg Oncol, 10 (1)*, 161

(13) Carnio S, Novello S, Mele T, Levra MG, Scagliotti GV (2014): Extending Survival of Stage IV Non-Small Cell Lung Cancer. *Semin Oncol, 41* (1), 69-92

(14) Chapuy B, Koch R, Radunski U, Corsham S, Cheong N, Inagaki N, Ban N, Wenzel D, Reinhardt D, Zapf A (2008): Sensitivity and Resistance to Therapy. Intracellular ABC transporter A3 confers multidrug resistance in leukemia cells by lysosomal drug sequestration. *Leukemia, 22* (8), 1576-1586

(15) Cochrane Lung Cancer Group (2005): PORT Meta-analysis Trialist Group. Postoperative radiotherapy for non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev , 2*

(16) da Cunha Santos G, Shepherd F, Tsao MS (2011): EGFR mutations and lung cancer. *Annu Rev Pathol, 6*, 49-69

(17) Dai H, Hui Z, Ji W, Liang J, Lu J, Ou G, Zhou Z, Feng Q, Xiao Z, Chen D (2011): Postoperative Radiotherapy for Resected Pathological Stage IIIA-N2 Non-Small Cell Lung Cancer: A Retrospective Study of 221 Cases from a Single Institution. *Oncologist, 16* (5), 641-650

(18) Danner BC, Didilis VN, Wiemeyer S, Stojanovic T, Kitz J, Emmert A, Füzesi L, Schöndube FA (2010): Long-term survival is linked to serum LDH and partly to tumour LDH-5 in NSCLC. *Anticancer Res, 30* (4), 1347-1351

(19) Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R (2001): The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily. *Genome Res, 11* (7), 1156-1166

(20) Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA (2011): Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med, 32* (4), 605-644

(21) Deslauriers J (2002): Current surgical treatment of nonsmall cell lung cancer 2001. *Eur Respir J Suppl*, *35*, 61-70

(22) Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI): Internationale Klassifikation der Krankheiten für die Onkologie, Dritte Revision. 1. Auflage. Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) (Hrsg.), Köln 2003

(23) Dienemann H (2001): Principles of surgical treatment in localized non-small cell lung cancer. *Lung Cancer, 33 (1)*, 3-8

(24) Djalalov S, Beca J, Hoch JS, Krahn M, Tsao MS, Cutz JC, Leighl NB (2014): Cost Effectiveness of EML4-ALK Fusion-Testing and First-Line-Crizotinib Treatment for Patients With Advanced ALK-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol, 32* (10), 1012-1019

(25) Drings P, Hoffmann H, Dienemann H (1999): Seltene Tumore der Lunge. *Onkologe, 5* (11), 941-947

(26) Elias AD (1997): Small Cell Lung Cancer. State-of-the-Art Therapy in 1996. *Chest, 112 (4)*, 251-258

(27) Engelbrecht S, Kaltenborn E, Griese M, Kern S (2010): The surfactant lipid transporter ABCA3 is N-terminally cleaved inside LAMP3-positive vesicles. *FEBS Lett, 584* (20), 4306-4312

(28) Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM (2010): Estimates of worlwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer, 127* (12), 2893-2917

(29) Fisseler-Eckhoff A (2009): Neue TNM-Klassifikation maligner Tumoren aus Sicht der Pathologie. *Pathologe, 30* (2), 193-199

(30) Funai K, Yokose T, Ishii G, Araki K, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Nishiwaki Y, Ochiai A (2003): Clinicopathologic characteristics of peripheral squamous cell carcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol, 27* (7), 978-984

(31) Gerok W, Huber CM, Zeidler H: *Die Innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt.* Schattauer Verlag, Stuttgart 2007

(32) Ginsberg RJ, Rubinstein LV (1995): Randomized Trial of Lobectomy Versus Limited Resection for T1 N0 Non-Small Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Surg, 60*, 615-623

(33) Gomez-Fernandez C, Jorda M, Delgado PI, Ganjei-Azar P (2002): Thyroid transcription factor 1. A marker for lung adenocarcinoma in body cavitiy fluids. *Cancer Cytopathol, 96* (5), 289-293

(34) Goya T, Asamura H, Yoshimura H, Kato H, Shimokata K, Tsuchiya R, Sohara Y, Miya T, Miyaoka E, Japanese Joint Committee of Lung Cancer Registry (2005): Prognosis of 6644 resected non-small cell lung cancers in Japan: A Japanese lung cancer registry study. *Lung Cancer, 50* (2), 227-234

(35) Gray J, Sommers E, Alvelo-Rivera M, Robinson L, Bepler G (2009): Neoadjuvant chemotherapy for resectable non-small cell lung cancer. *Oncology, 23 (10)* , 879-886

(36) Greer JA, Pirl WF, Jackson VA, Muzikansky A, Lennes IT, Heist RS, Gallagher ER, Temel JS (2012): Effect of Early Palliative Care on Chemotherapy Use and End-of-Life Care in Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol, 30* (4), 394-400

(37) Haque AK, Syed S, Lele SM, Freeman DH, Adegboyega PA (2002): Immunhistochemical Study of Thyroid Transcription Factor-1 and HER2/neu in Non-Small Cell Lung Cancer: Strong Thyroid Transcription Factor-1 Expression predicts Better Survival. *Appl Immunohistochem Mol Morphol, 10* (2), 103-109

(38) Hecht SS (1999): Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer. *J Natl Cancer Inst, 91* (14), 1194-1210

(39) Heon S, Johnson BE (2012): Adjuvant chemotherapy for surgically resected non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg, 114* (3), 39-42

(40) Hermanek P, Wittekind C (1994): Residual Tumor (R) Classification and Prognosis. *Semin Surg Oncol, 10*, 12-20

(41) Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, Di Maria MV, Veve R, Bremmes RM, Barón AE, Zeng C, Franklin WA (2003): Epidermal Growth Factor Receptor in Non-Small Cell Lung Carcinomas: Correlation Between Gene Copy Number and Protein Expression and Impact on Prognosis. *J Clin Oncol, 21* (20), 3798-3807

(42) Ikeda K, Clark JC, Shaw-White JR, Stahlman MT, Boutell CJ, Whitsett JA (1995): Gene Structure and Expression of Human Thyroid Transcription Factor-1 in Respiratory Epithelial Cells. *J Biol Chem*, *270* (14), 8108-8114

(43) International Agency for Research on Cancer: IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. International Agency for Research on Cancer. Lyon, 2004

(44) Jassem J, Skokowski J, Dziadziuszko R, Jassem E, Szymanowska A, Rzyman W, Roszkiewicz A (2000): Results of surgical treatment of non-small cell lung cancer: validation of the new postoperative pathologic tnm-classification. *J Thorac Cardiovasc Surg, 119* (6), 1141-1146

(45) Kenfield SA, Wei EK, Stampfer MJ, Rosner BA, Colditz GA (2008): Comparison of Aspects of Smoking Among Four Histological Types of Lung Cancer. *Tob Control, 17* (3), 198-204

(46) Khuder SA (2001 a): Effect of cigarette smoking in major histological types of lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer, 31* (2-3), 139-141

(47) Khuder SA (2001 b): Effect of Smoking Cessation on Major Histological Types of Lung Cancer. *Chest, 120* (5), 1577-1583

(48) Kimura S, Hara Y, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Fox CH, Ward JM, Gonzalez FJ (1996): The T/ebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. *Genes Dev, 10* (1), 60-69

(49) Kitamura H, Yazawa T, Sato H, Okudela K, Shimoyamada H (2009): Small Cell Lung Cancer: Significance of RB Alterations and TTF-1 Expression in its Carcinogenesis, Phenotype, and Biology. *Endocrine, 20* (2), 101-107

(50) Korst RJ, Ginsberg RJ (2001): Appropriate surgical treatment of resectable non-small-cell-lung cancer. *World J Surg, 25*, 184-188

(51) Kraev A, Rassias D, Vetto J, Torosoff M, Ravichandran P, Clement C, Kadri A, Ilves R (2007): Wedge-Resection vs Lobectomy: 10-year Survival in Stage I Primary Lung Cancer. *Chest, 131* (1), 136-140

(52) Krebs in Deutschland 2007/2008. 8. Ausgabe. Robert-Koch-Institut (Hrsg.) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg.), Berlin 2012

(53) Lauro S, Onesti CE, Righini R, Marchetti P (2014): The use of Bevacizumab in Non-Small Cell Lung Cancer: An Update. *Anticancer Res, 34* (4), 1537-1545

(54) Lester J, Macbeth F, Toy E, Coles B (2012): Palliative radiotherapy regimes for non-small cell lug cancer (Review). *Cochrane Database Syst Rev, 18 (4)*

(55) Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, Abraham J, Adair T, Aggarwal R, Ahn SY (2012): Global an regional mortilaty from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet, 380* (9859), 2095-2128

(56) Lubin JH, Boice JD Jr, Edling C, Hornung RW, Howe GR, Kunz E, Kusiak RA, Morrison HI, Radford EP, Samet JM (1995): Lung Cancer in Radon-Exposed Miners and Estimation of Risk from Indoor Exposure. *J Natl Cancer Inst, 87* (11), 817-827

(57) Ludwig C, Hasse J, Olschewski M (2004): Früh- und Spätergebnisse nach Pneumonektomie und Manschettenlobektomie nicht kleinzelliger Bronchialkarzinome im Stadium I-IIIa. *Z Herz- Thorax- Gefäßchir, 18* (6), 268-274

(58) Matoso A, Singh K, Jacob R, Greaves WO, Tavares R, Noble L, Resnick MB, Delellis RA, Wang LJ (2010): Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol, 18* (2), 142-149

(59) Matsuda A, Yamaoka K, Tango T (2012): Quality of life in advanced non-small cell lung cancer patients receiving palliativ chemotherapy: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Exp Ther Med, 3* (1), 134-140

(60) Matsuguma H, Nakahara R, Ishikawa Y, Suzuki H, Inoue K, Katano S, Yokoi K (2008): Postoperative radiotherapy for patients with completely resected pathological stage IIIA-N2 non-small cell lung cancer: focusing on an effect of the number of the mediastinal lymph node stations involved. *Interact Cardiovasc Thorac Surg, 7* (4), 573-577

(61) Mazières J, Brugger W, Cappuzzo F, Middel P, Frosch A, Bara I, Klingelschmitt G, Klughammer B (2013): Evaluation of EGFR protein expression by immunhistochemistry using H-Score and the magnification rule: Re-analysis of the SATURN study. *Lung Cancer, 82* (2), 231-237

(62) Micke P, Faldum A, Metz T, Beeh KM, Bittinger F, Hengstler JG, Buhl R (2001): Staging small cell lung cancer: Veterans Administration Lung Cancer Study Group versus International Association for the Study of lung cancer - what limits limited disease? *Lung Cancer, 37 (3), 271-276*

(63) Morita T, Urano Y (1989): An Autopsy Study of Lung Cancer with Special Reference to the Relationship between Cigarette Smoking and Histological Differentiation of Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma. *Jpn J Clin Oncol, 19* (2), 94-101

(64) Myong NH (2003): Thyroid-Transcription Factor-1 (TTF-1) Expression in Human Lung Carcinomas: Its Prognostic Implication and Relationship with Expression of p53 and Ki-67 Proteins. *J Korean Med Sci, 18* (4), 494-500

(65) Overbeck TR, Hupfeld T, Krause D, Waldmann-Beushausen R, Chapuy B, Güldenzoph B, Aung T, Inagaki N, Schöndube FA, Danner BC (2013): Intracellular ATP-Binding Cassette Transporter A3 is Expressed in Lung Cancer Cells and Modulates Susceptibility to Cisplatin and Paclitaxel. *Oncology, 84 (6)*, 362-370

(66) Pal SK, Figlin RA, Reckamp K (2010): Targeted Therapies for Non-Small Lung Cancer: An Evolving Landscape. *Mol Cancer Ther, 9* (7), 1931-1944

(67) Pallis AG, Syrigos KN (2013): Lung cancer in never smokers: Disease characteristics and risk factors. *Crit Rev Oncol Hematol, 88 (3)*, 494-503

(68) Perner S, Wagner PL, Soltermann A, LaFargue C, Tischler V, Weir BA, Weder W, Meyerson M, Giordano TJ, Moch H (2009): TTFI expression in non-small cell lung carcinoma: association with TTFI gene amplification and improved survival. *J Pathol , 217*, 65-72

(69) Perng DW, Perng RP, Kuo BIT, Chiang SC (1996): The Variation of Cell Type Distribution in Lung Cancer: A study of 10,910 Cases at a Medical Center in Taiwan between 1970 and 1993. *Jpn J Clin Oncol, 26* (4), 229-233

(70) Pesch B, Kendzia B, Gustavsson P, Jöckel KH, Johnen G, Pohlabeln H, Olsson A, Ahrens W, Gross IM, Brüske I (2012): Cigarette smoking and lung cancer - relative risk estimates for the major histological types from a pooles analysid case-control studies. *Int J Cancer, 131* (5), 1210-1219

(71) Pinsky PF, Church TR, Izmirlian , Kramer BS (2013): The national lung screening trial: Results stratified by demographics, smoking history, and lung cancer histology. *Cancer, 119 (22),* 3976-3983

(72) Pirker R, Pereira JR, von Pawel J, Krzakowski M, Ramlau R, Park K, de Marinis F, Eberhardt WE, Paz-Ares L, Störkel S (2012): EGFR expression as a predictor of survival for first-line chemotherapy plus cetuximab in patients with advanced non-small cell lung cancer: analysis of data from 3-phase FLEX study. *Lancet Oncol, 13* (1), 33-42

(73) Pitz MW, Musto G, Demers AA, Kliewer EV (2009): Survival and Treatment Pattern of Non-small Cell Lung Cancer Over 20 Years. *J Thorac Oncol, 4* (4), 492-498

(74) Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P (2009): The Revised TNM Staging System for Lung Cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg, 15* (1), 4-9

(75) Rahgozar S, Moafi A, Abedi M, Entezar-E-Ghaem M, Moshtaghian J, Ghaedi K, Esmaeili A, Montazeri F (2014): mRNA expression profile of multidrug-resistant genes in acute lymphoblastic leukemia of children, a prognostic value for ABCA3 and ABCA2. *Cancer Biol Ther, 15* (1), 35-41

(76) Robert Koch-Institut: Sterblichkeit, Todesursachen und regionale Unterschiede. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Heft 52. Robert Koch-Institut. Berlin 2011

(77) Saijo T, Ishii G, Nagai K, Funai K, Nitadori J, Tsuta K, Nara M, Hishida T, Ochiai A (2006): Differences in clinopathological and biological features between central-type and peripheral-type squamousa cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer, 52* (1), 37-45

(78) Schimanski S, Wild PJ, Treeck O, Horn F, Sigruener A, Rudolph C, Blaszyk H, Klinkhammer-Schalke M, Ortmann O, Hartmann A (2010): Expression of the Lipid Transporter ABCA3 and ABCA1 is Diminished in Human Breast Cancer Tissue. *Horm Met Res, 42* (2), 102-109

(79) Sereno M, Rodriguez Esteban I, Zambrana F, Merino M, Gómez-Raposo C, López-Gómez M, Casado Sáenz E (2012): Squamous-cell carcinoma of the lungs: Is it really so different? *Crit Rev Oncol Hematol, 84* (3), 327-339

(80) Serke M, Stanzel F, Westoff M (2013): Geschlechtsspezifische Unterschiede beim Lungenkarzinom. *TumorDiagn u Ther, 34* (8), 459-468

(81) 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, 350 (13)*, 1296-1303

(82) Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C: TNM Classificiation of Malignant Tumours. 7. Ausgabe. Wiley-Blackwell, Oxford 2009

(83) Spira A, Ettinger DS (2004): Multidisciplinary Management of Lung Cancer. *N Engl J Med, 350 (4)*, 379-392

(84) Stahlman MT, Gray ME, Whitsett JA (1996): Expression of Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1) in Fetal and Neonatal Human Lung. *The J Histochem Cytochem, 44* (7), 673-678

(85) Stahlman MT, Besnard V, Wert SE, Weaver TE, Dingle S, Xu Y, von Zychlin K, Olson SJ, Whitsett JA (2007): Expression of ABCA3 in Developing Lung and Other Tissues. *J Histochem Cytochem, 55* (1), 71-83

(86) Statistisches Bundesamt: Gesundheit; Todesursachen in Deutschland. DESTATIS - Statistisches Bundesamt (Hrsg.), Wiesbaden 2012

(87) Stellman SD, Muscat JE, Thompson S, Wynder EL (1997): Risk of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung in relation to lifetime filter cigarette smoking. *Cancer, 80* (3), 382-388

(88) Tan D, Li Q, Deeb G, Ramnath N, Slocum HK, Brooks J, Cheney R, Wiseman S, Anderson T, Loewen G (2003): Thyroid Transcription Factor 1 Expression Prevalence And Its Clinical Implications In Non-Small Cell Lung Cancer: A High Troughput Tissue Microarray and Immunhistochemistry Study. *Hum Pathol, 34* (6), 597-604

(89) Toy E, Macbeth F, Coles B, Melville A, Eastwood A (2003): Palliative Thoracic Radiotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer. A Systematic Review. *American J Clin Oncol, 26*, 112-120

(90) Travis WD, Travis LB, Devesa SS (1995): Lung Cancer. *Cancer, 75* , 191-202

(91) Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC: World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press (Hrsg.). Lyon 2004

(92) Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, Beer DG, Powell CA, Riely GJ, Van Schil PE (2011): International Association for the Study of Lung Cancer/ American Thoracic Society/ European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol, 6 (2)*, 244-285

(93) Travis WD, Brambilla E, Riely GJ (2013): New Pathologic Classification of Lung Cancer: Relevance for Clinical Practice and Clinical Trials. *J Clin Oncol, 31 (8)*, 992-1001

(94) Ulivi P, Zoli W, Capelli L, Chiadini E, Calistri D, Amadori D (2013): Targeted therapy in NSCLC patients: Relevant clinical agents and tumour molecular characterisation. *Mol Clin Oncol, 1* (4), 575-581

(95) U.S. Departement of Health an Human Services: The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General. U.S. Departement of Health and Human Services. Atlanta, GA 2006

(96) van der Deen M, de Vries EG, Timens W, Scheper RJ, Timmer-Bosscha H, Postma DS (2005): ATP-binding cassette (ABC) transporters in normal and pathological lung. *Respir Res, 6* (1), 59

(97) van Rens MT, Brutel de la Rivière A, Elbers HR, van den Bosch JM (2000): Prognostic Assessment of 2,631 Patients Who Underwent Pulmonary Resection for Non-Small Cell Lung Cancer, Stage I, II, and IIIA. *Chest, 117*, 374-379

(98) Vlaanderen J, Portengen L, Schüz J, Olsson A, Pesch B, Kendzia B, Stücker I, Guida F, Brüske I, Wichmann HE (2014): Effect Modification of the Association of Cumulative Exposure and Cancer Risk by Intensity of Exposure and Time since Exposure Cessation: A Flexible Method Applied to Cigarette Smoking and Lung Cancer in the SYNERGY Study. *Am J Epidemiol, 179* (3), 290-298

(99) Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, Jagirdar J (2012): Evaluation of Napsin A, Cytokeratin 5/6, p63, and Thyroid Transcription Factor 1 in Adenocarcinoma Versus Squamous Cell Carcinoma of the Lung. *Arch Pathol Lab Med, 136* (2), 155-162

(100) Wittekind C, Meyer H-S: TNM Klassifikation maligner Tumoren. Wiley VCH Verlag. Weinheim 2009

(101) Wittekind C, Compton CC, Greene FL, Sobin, LH (2002): TNM residual tumor classification revisited. *Cancer, 94 (9)* , 2511-2516

(102) Wulf GG, Modlich S, Inagaki N, Reinhardt D, Schroers R, Griesinger F, Trümper L (2004): ABC transporter ABCA3 is expressed in acute myeloid leukemia blast cells and participates in vesicular transport. *Haematologica, 89*, 1395-1397

(103) Yamano G, Funahashi H, Kawanami O, Zhao LX, Ban N, Uchida Y, Morohoshi T, Ogawa J, Shioda S, Inagaki N (2001): ABCA3 is a lamellar body membrane protein in human lung alveolar type II cells. *FEBS Lett, 508* (2), 221-225

(104) Yoshida I, Ban N, Inagaki N (2004): Expression of ABCA3, a causative gene for fatal surfactant deficiency, is up-regulated by glucocorticoids in lung alveolar type II cells. *Biochem Biophys Res Commun, 323* (2), 547-555

(105) Zang EA, Wynder EL (1996): Differences in Lung Cancer Risk Between Men and Women: Examination of the Evidence. *J Natl Cancer Inst, 88* (3/4), 183-192

(106) Zhong L, Goldberg MS, Parent MÉ, Hanley JE (2000): Exposure to environmental tobacco smoke and the risk of lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer, 27* (1), 3-18

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med Dipl.-Phys. Friedrich Schöndube, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Bernd Danner und Herrn Dr. med. Tobias Overbeck für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Doktorarbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Klaus Jung und Herrn Benjamin Becker danke ich für die Beantwortung der Fragen hinsichtlich der medizinischen Statistik.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Regina Waldmann-Beushausen für die stets unermüdliche Unterstützung und geduldige Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Experimente.

Lebenslauf

Am 15. September 1988 wurde ich als zweites Kind von Annemarie Grassow-Arnemann und Rolf Arnemann in Cuxhaven geboren.

Im Jahr 1994 wurde ich in der Grundschule Otterndorf eingeschult, die ich bis 1998 besuchte. Von 1998 bis 2000 war ich Schülerin der Orientierungsstufe des Schulzentrums Otterndorf. Daraufhin besuchte ich bis zum Jahr 2007 das Gymnasium Otterndorf, wo ich am 25. Juni 2007 meine Allgemeine Hochschulreife erlangte.

Zum Wintersemester 2007/08 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Georg-August-Universität zu Göttingen, welches ich am 22. November 2012 erfolgreich mit dem Staatsexamen beendete. Meine Approbation zur Zahnärztin erhielt ich am 29. November 2012.

Im Dezember 2012 begann ich meine Dissertation.
Vom 01. Oktober 2013 bis zum 30. September 2014 war ich als Vorbereitungsassistentin in der Praxis Dr. Weiß und Partner in Bremen tätig. Seit dem 01. Oktober 2014 bis zum 30. September 2015 arbeitete ich in der Praxis Buchwald und Partner in Bremerhaven als Vorbereitungsassistentin. Am 01. Oktober 2015 eröffnete ich meine eigene zahnärztliche Praxis in Wanna und bin seitdem selbstständig als Zahnärztin tätig.