



Medical University of Graz

TUMOR- PATHOLOGIE

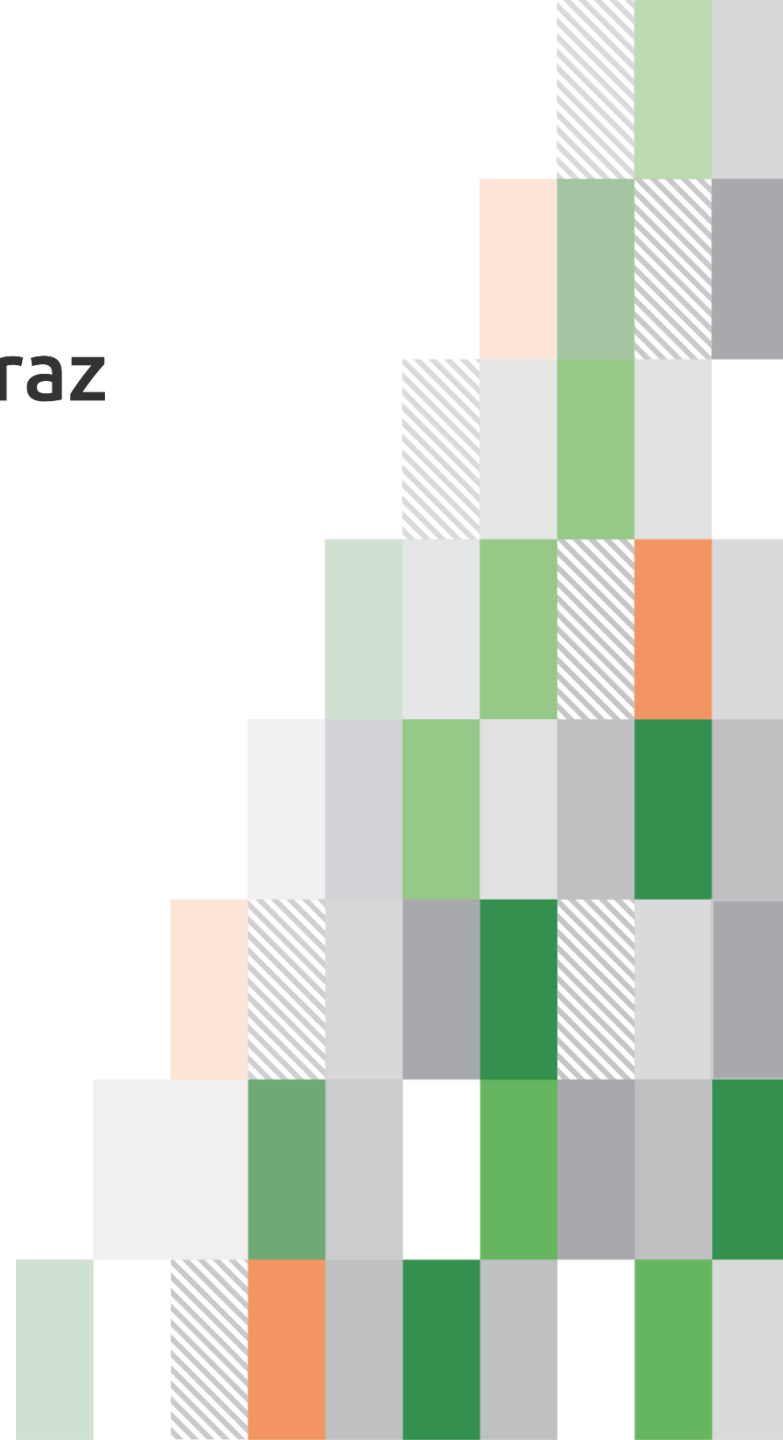
Univ. FA Dr. Christian Viertler

Diagnostik- und Forschungs-

Institut für Pathologie

Medizinische Universität Graz

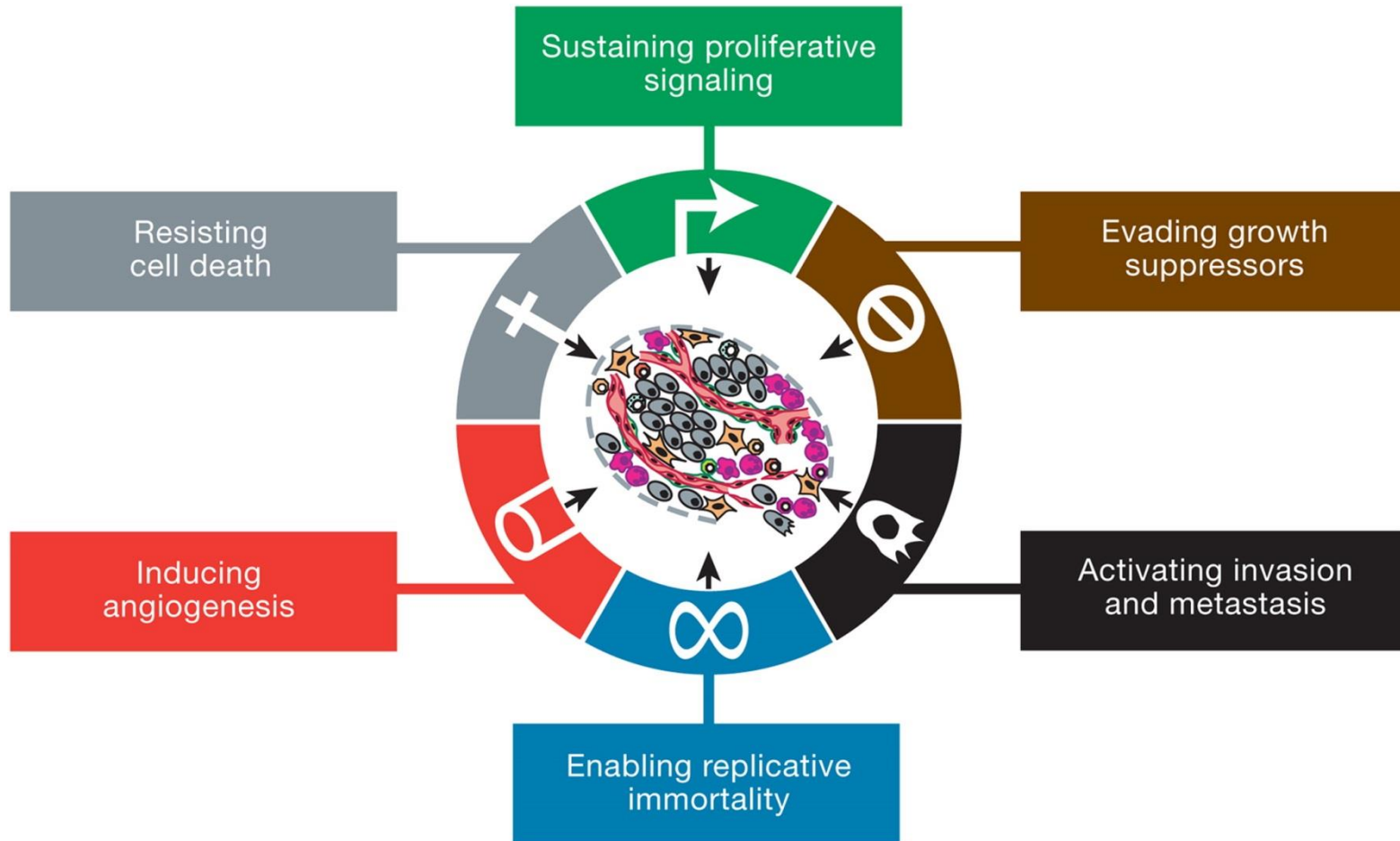
christian.viertler@medunigraz.at



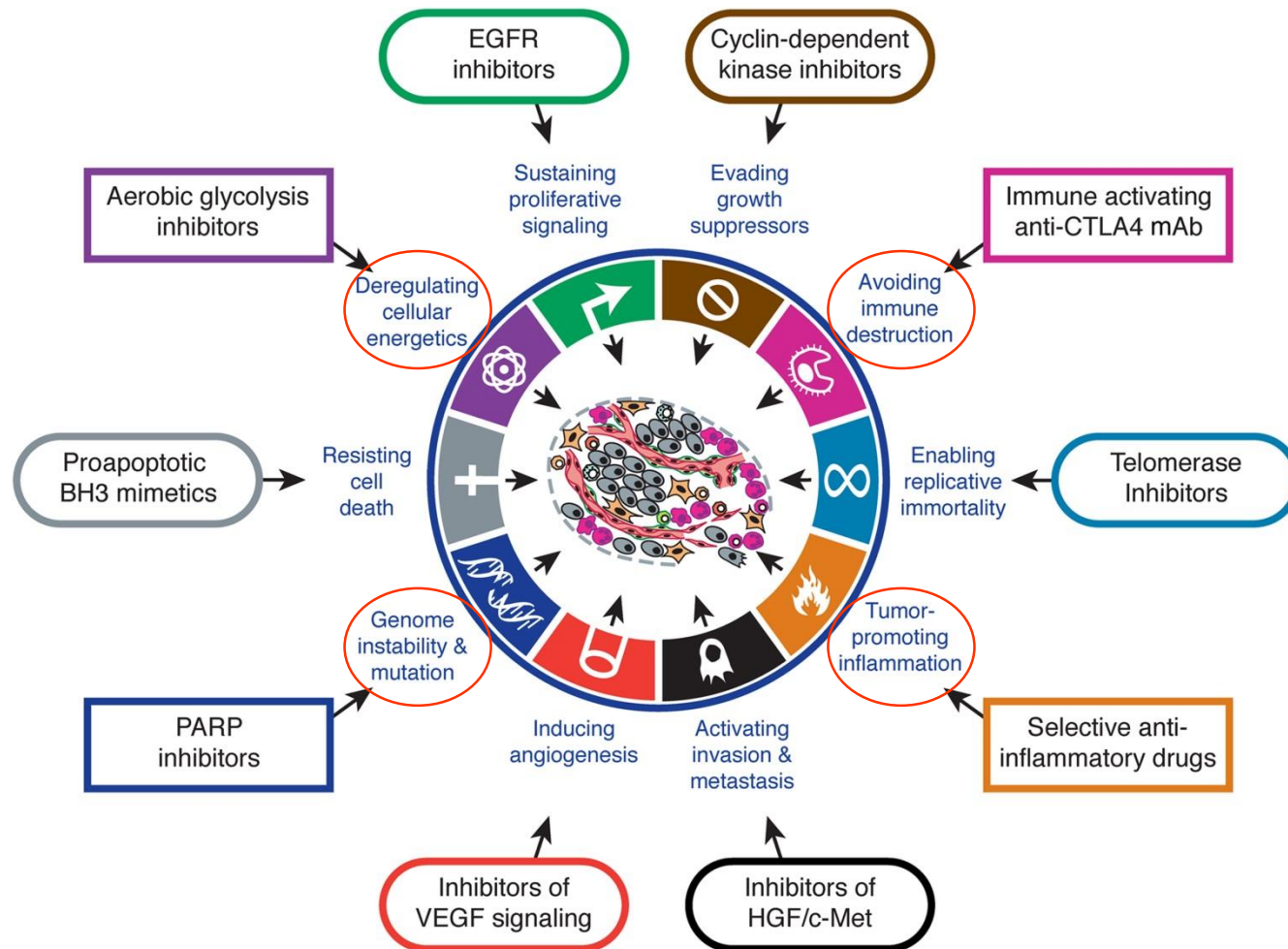
Tumor - Geschwulst - Neoplasma (Neubildung)

- ▶ Abnorme Gewebsmasse, entstanden durch Vermehrung körpereigener Zellen
- ▶ Regulationsstörung
 - ▶ Zellteilung (Proliferation)
 - ▶ Zellverlust (Apoptose)
- ▶ Tumorwachstum: autonom
 - ▶ irreversibel, progressiv, nicht mit normalem Gewebe koordiniert
 - ▶ Invasion, Destruktion
 - ▶ Stoffwechselprodukte (Hormone)
 - ▶ Metastasen

6 Hallmarks of cancer (2000)



10 Hallmarks of cancer (2011)



Mammakarzinom



Magenkarzinom



Größe [cm]

4

3

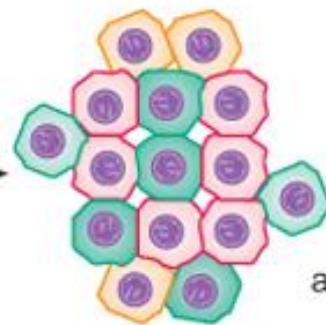
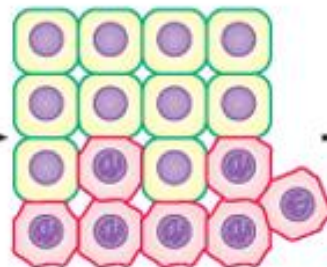
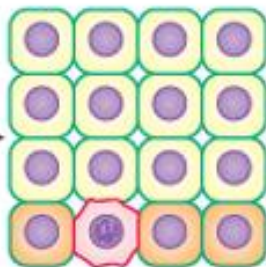
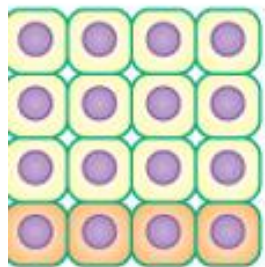
2

1

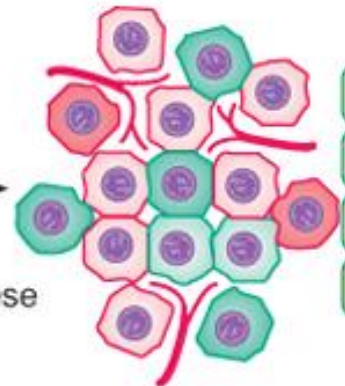
0

Zeit

Tumorwachstum



Tumor-
angiogenese



Normalgewebe

transformierte
neoplastische
Zelle

klonales
Wachstum

avaskuläres
Tumorknötchen

vaskularisierter
Tumor

Transformation



W

a

c

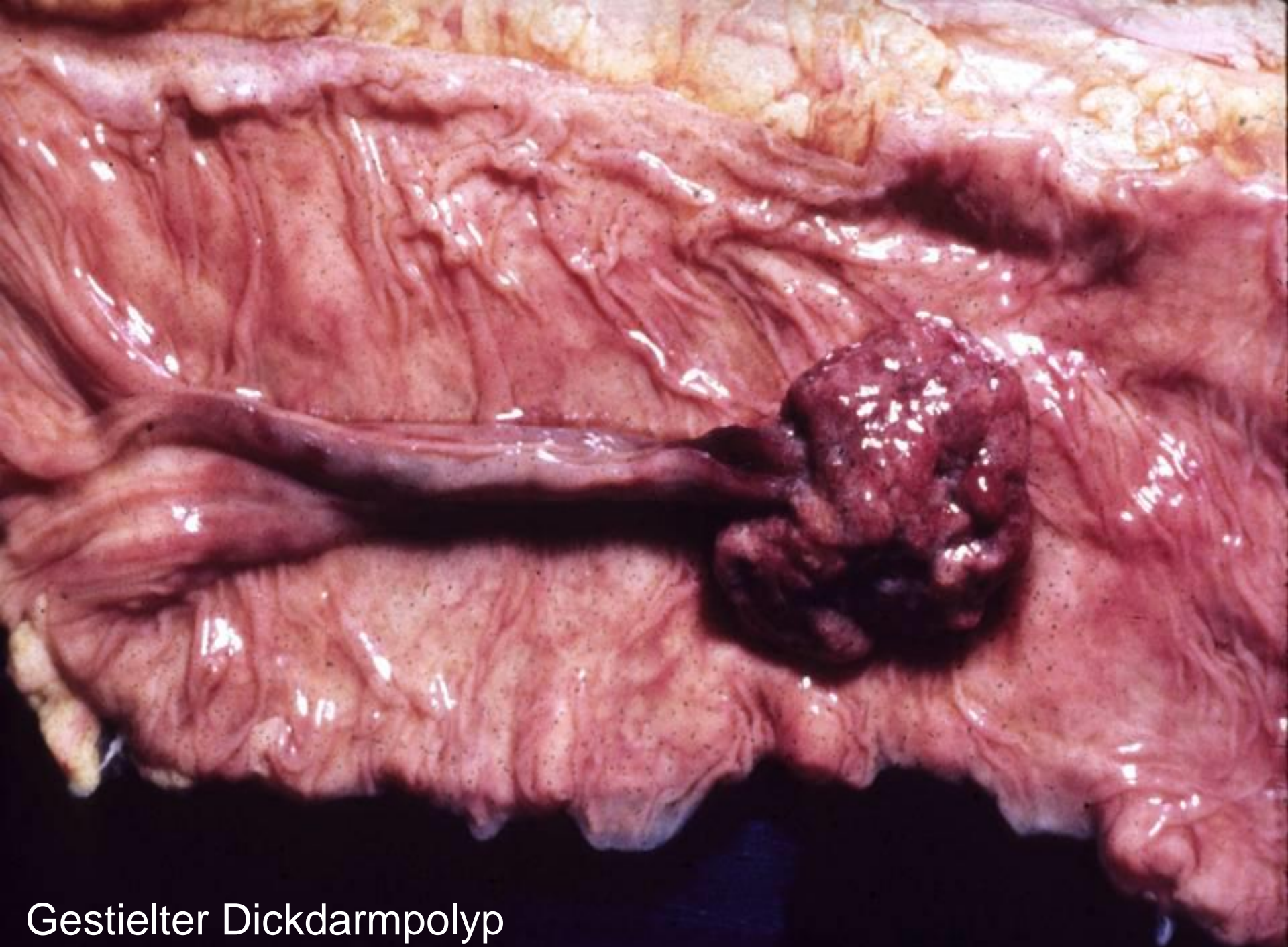
h

s

t

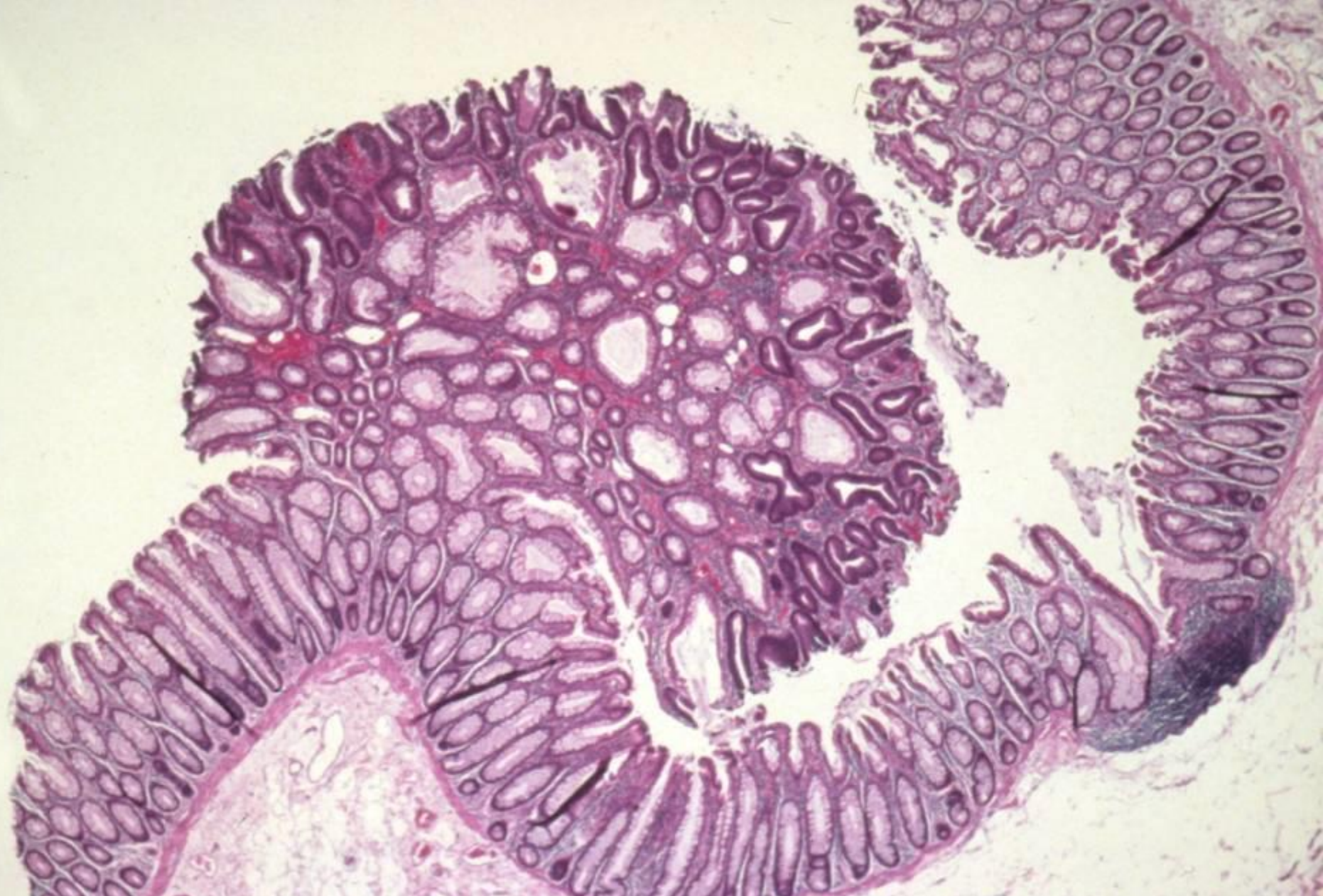
u

m



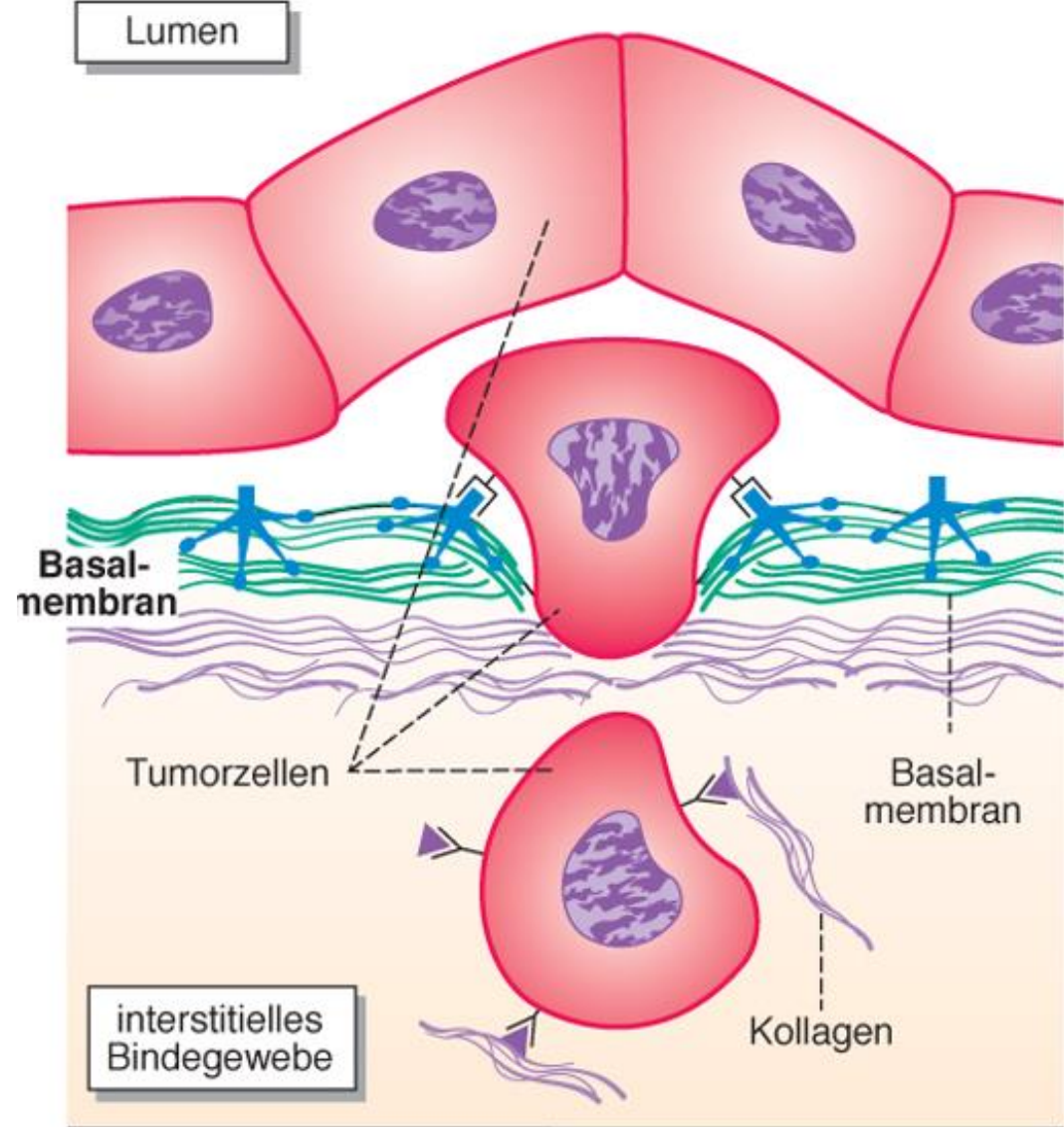
Gestielter Dickdarmpolyp

Tubuläres Adenom der Dickdarmschleimhaut (geringgradige intraepitheliale Neoplasie)

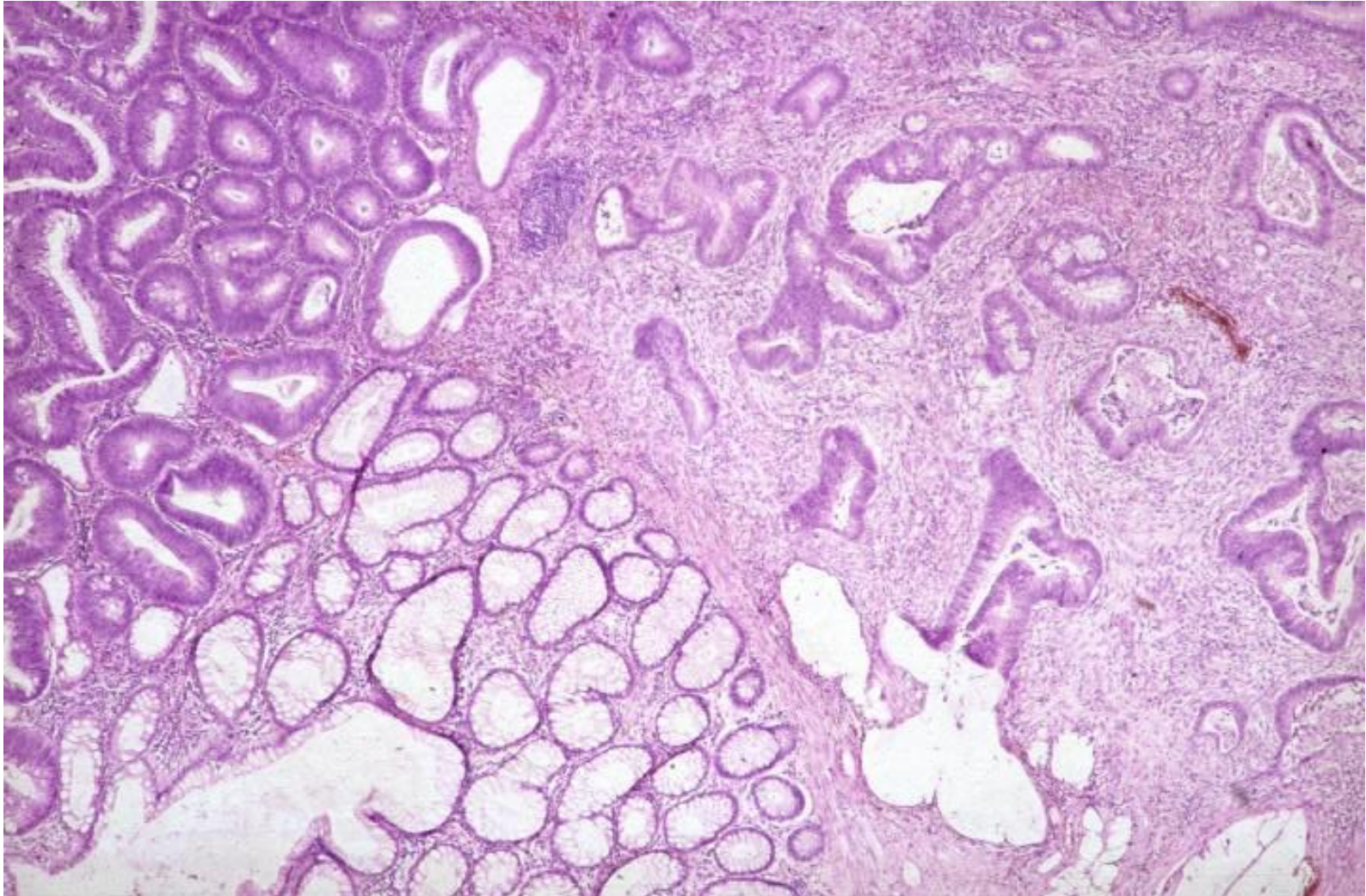


Invasion

- ▶ Verminderte Zell-Zell-Adhäsion
- ▶ Tumorzelle löst sich aus dem epithelialen Tumorverband
- ▶ Bindung Tumorzelle - Basalmembran (Lamininrez.)
- ▶ Rezeptor-Liganden-Bindung induziert Prokollagenase IV
- ▶ Basalmembran fokal enzymatisch aufgelöst
- ▶ Tumorzelle wandert aktiv durch Basalmembran
- ▶ Fibronektinrezeptoren geben Halt im interstitiellen Bindegewebe

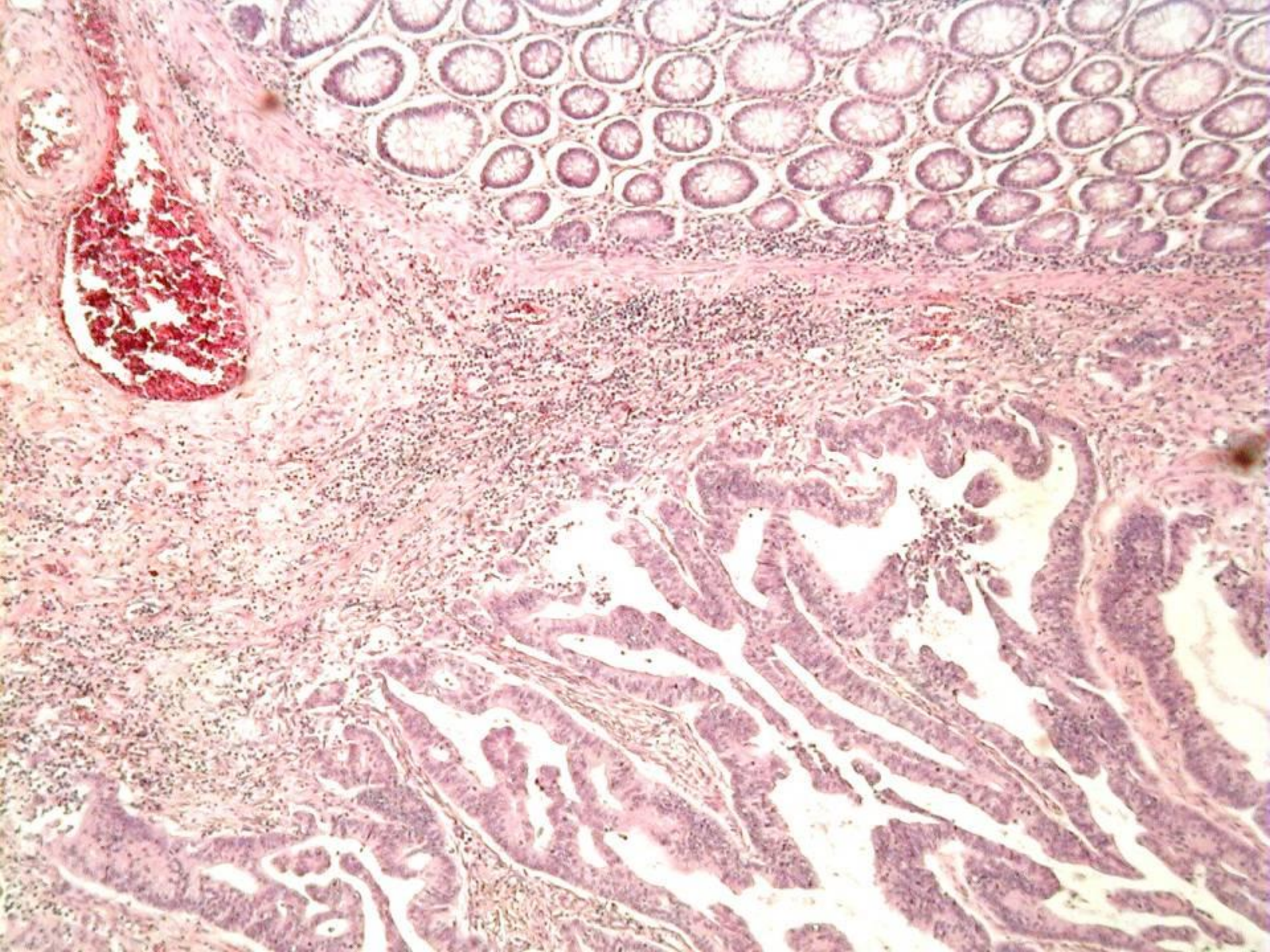


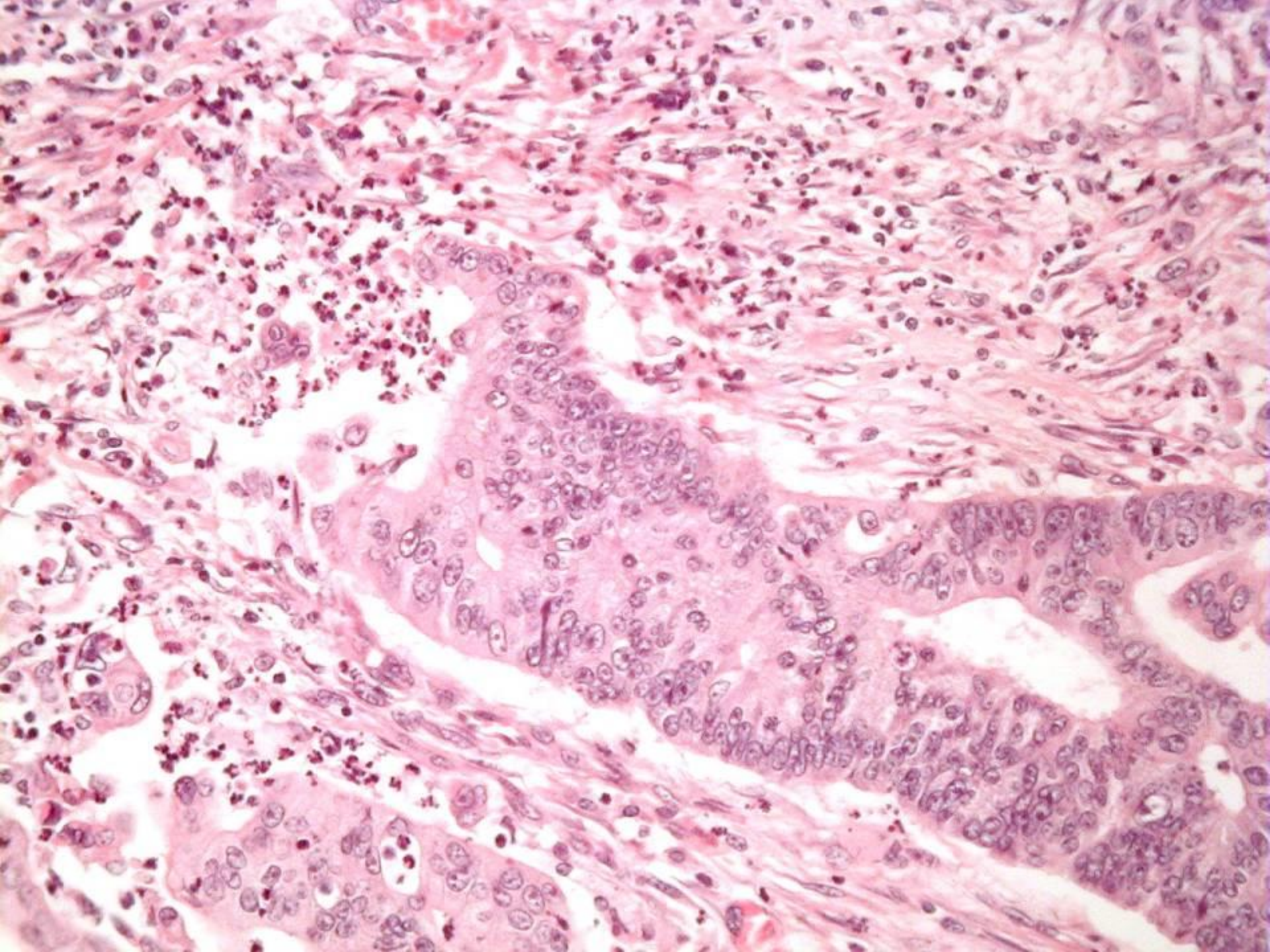
Adenokarzinom des Dickdarms



Aufbau

- ▶ Tumorparenchym
 - ▶ Tumorzellen
- ▶ Tumorstroma
 - ▶ Bindegewebe
 - ▶ Gefäße
 - ▶ Entzündungszellen: Lymphozyten,
Makrophagen





Dignitätsbeurteilung

Merkmale	Benigner TU	Maligner TU
<i>Wachstumsrate</i>	Langsam, wenige Mitosen	Langsam bis schnell, Mitosen ev. zahlreich, atypische Mitosen
<i>Lokale Ausbreitung</i>	Zusammenhängend Gut begrenzt Expansiv. Verdrängend Kapsel	Schlecht begrenzt Invasiv, destruierend
<i>Histologie</i>	Hoher Differenzierungsgrad Meist monomorph	Differenzierungsverlust Zellatypien
<i>Umgebung</i>	Kompression Druckatrophie Hormonsekretion	Invasion, Destruktion Rezidive Metastasen

Ursprung, Nomenklatur

▶ Karzinom

- ▶ Epithel (zB Plattenepithel, Urothel, Drüsen)
 - ▶ Bsp: Adenom, Adenokarzinom

▶ Sarkom

- ▶ Mesenchymal, Binde-/Stützgewebe (zB Fett, Muskel, Knorpel, Knochen)
 - ▶ Bsp: Lipom, Liposarkom

▶ Neuroektodermale Tumore

- ▶ Neuroendokrines System, Neuroektoderm
- ▶ Bsp:
 - ▶ Phäochromozytom, kleinzelliges Bronchialkarzinom
 - ▶ ZNS: Meningeom, Glioblastom
 - ▶ Nävus, Melanom

▶ Hämatookologische Erkrankungen

- ▶ Knochenmark, Blut (-stammzellen)
 - ▶ Lymphome, Leukämien

▶ Sonstige: Mischformen; Keimzelltumore; Embryonale Tumore;...

Zelluläre Atypien (I)

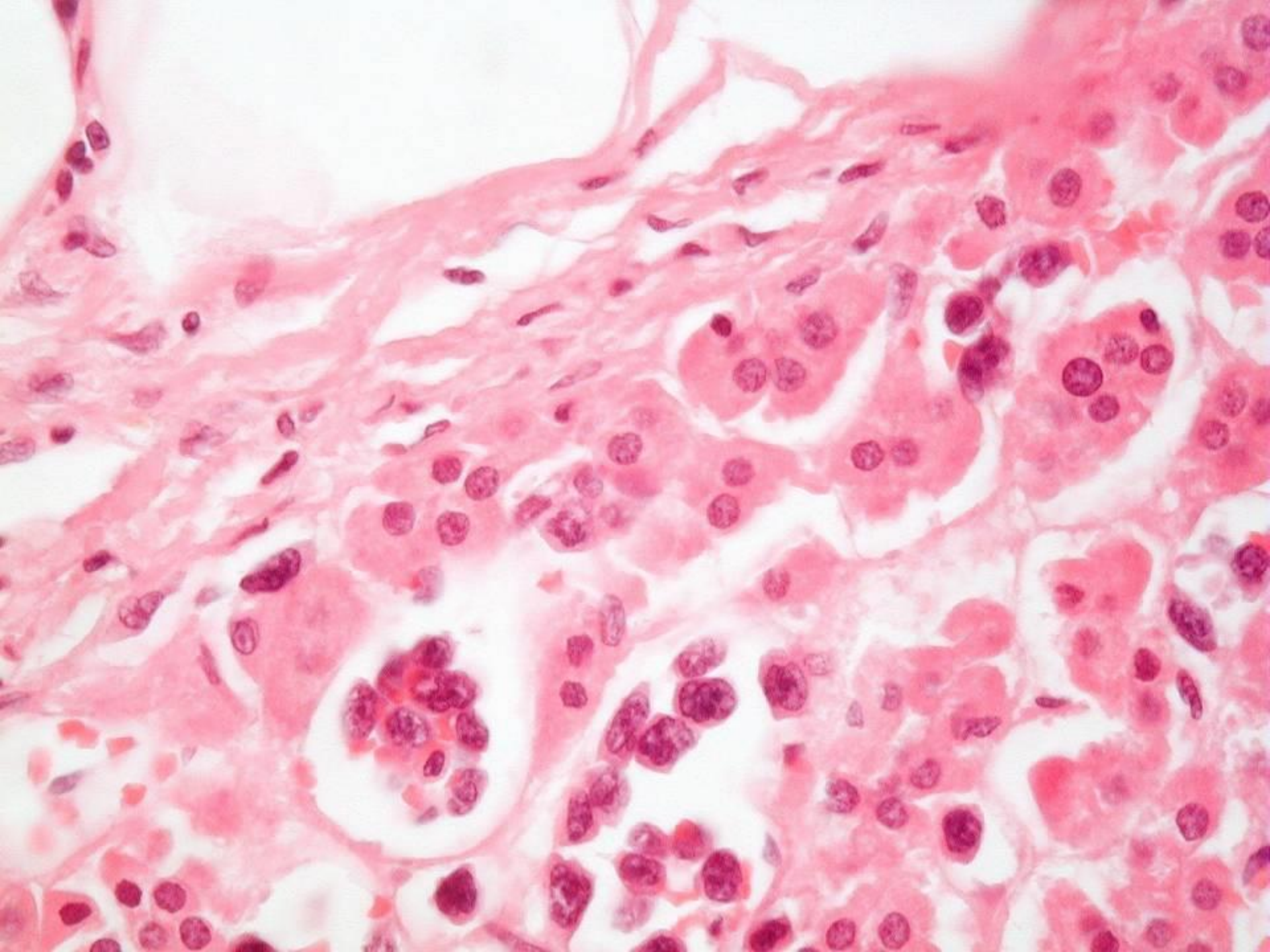
- ▶ Zellpolymorphie:
 - ▶ Variable Zellgröße, -form
- ▶ Anisonukleose (-karyose):
 - ▶ Variable Kerngröße
- ▶ Kernpolymorphie
 - ▶ Unterschiedliche Kernform
- ▶ Kernhyperchromasie:
 - ▶ Vergrößertes, stärker anfärbbares Chromatin
 - ▶ Erhöhter DNA-Gehalt

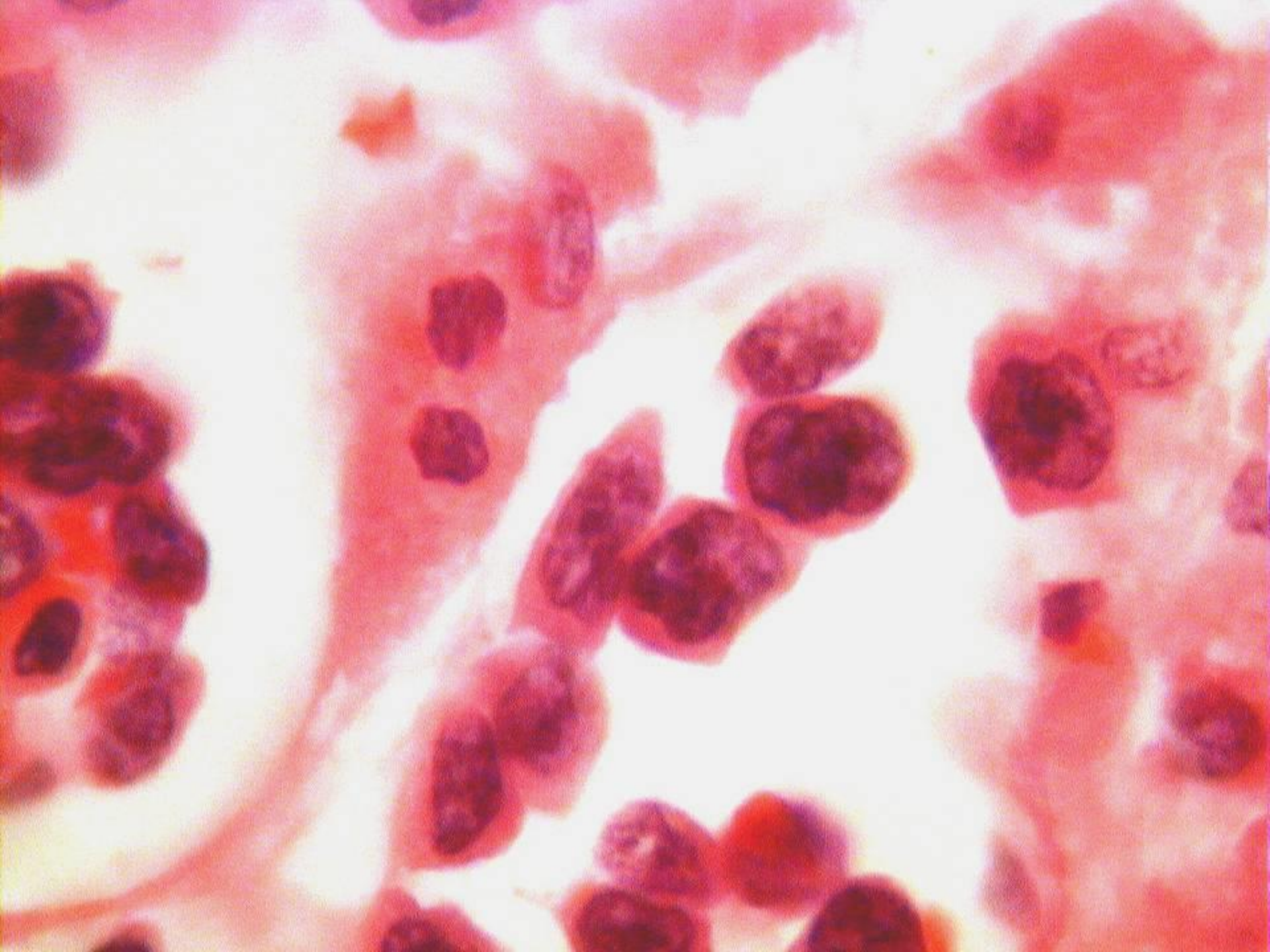
Zelluläre Atypien (II)

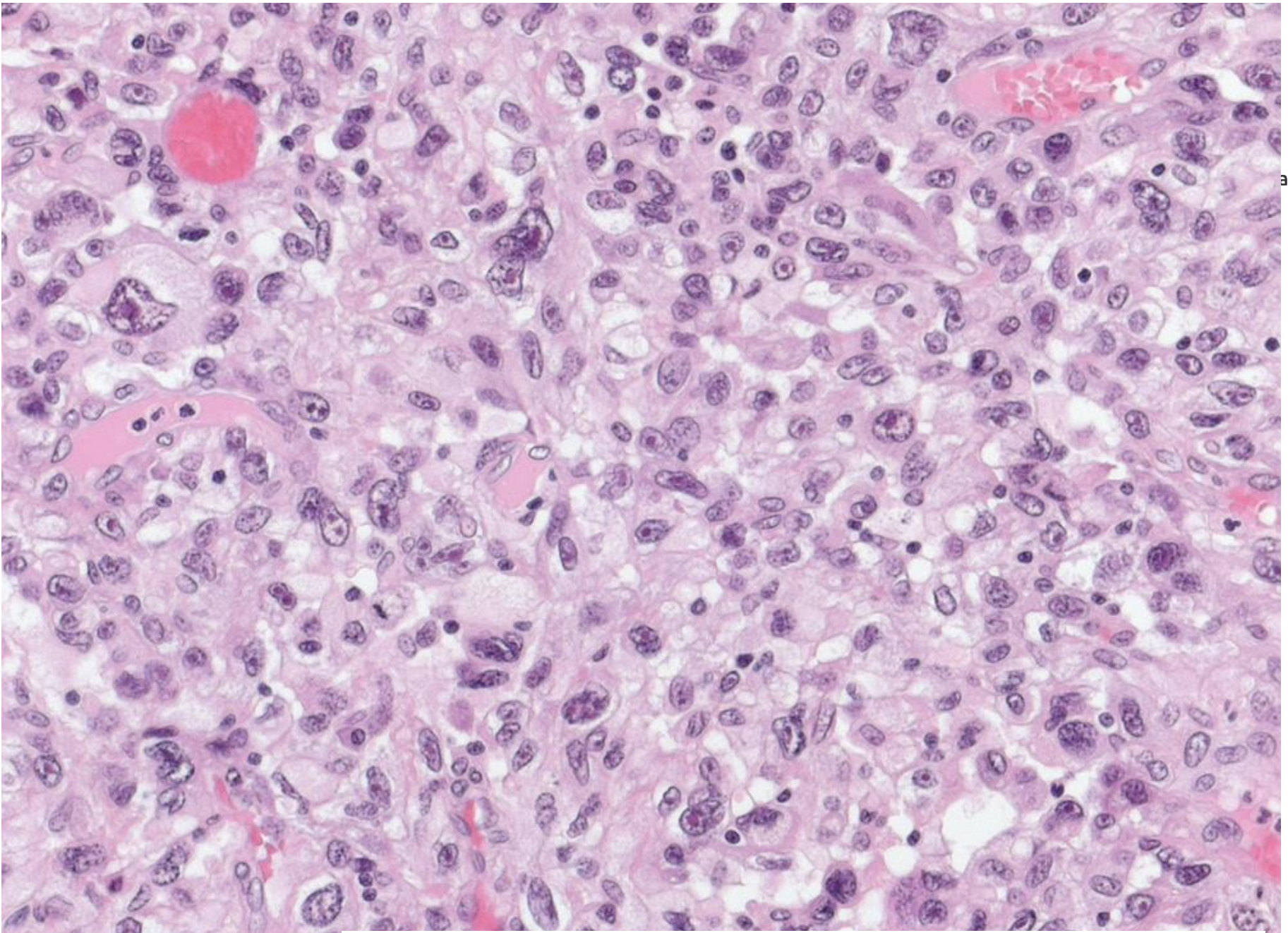
- ▶ Mitosefiguren
 - ▶ Vermehrtes Auftreten
 - ▶ Atypische Formen: tri-, tetrapolar
- ▶ Nucleolenvergrößerung
- ▶ Verschiebung der Kern/Plasma-Relation
 - ▶ Zugunsten des Kerns
- ▶ Vermehrte zytoplasmatische Basophilie
 - ▶ Vermehrte RNA - Proliferation
- ▶ Polyploidie: [4N], [8N]
- ▶ Aneuploidie:
 - ▶ Hyperdiploid [2,5N], triploid [3N]



Carcinoid

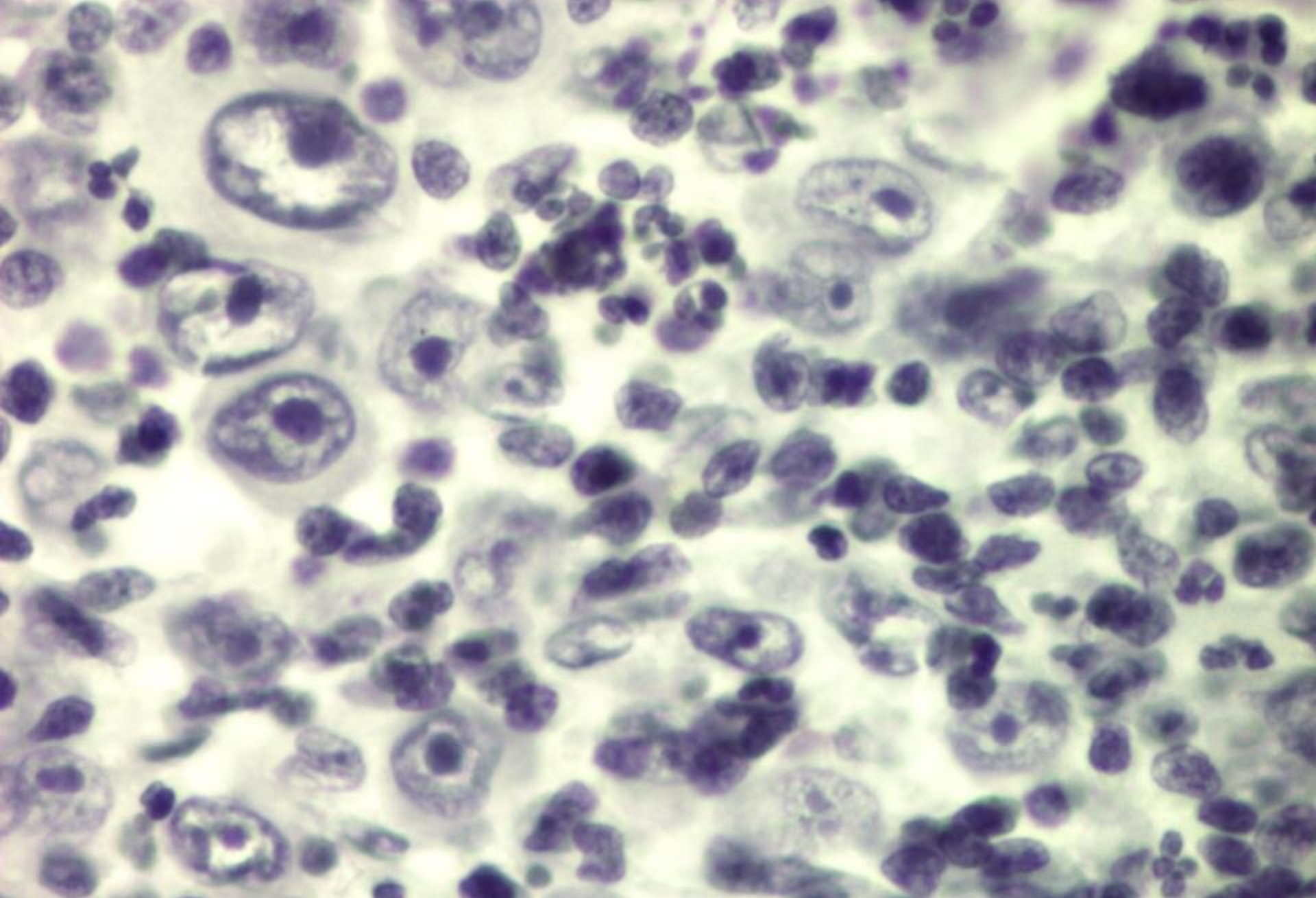






32

Sarkomatoides Lungenkarzinom © PathoPic

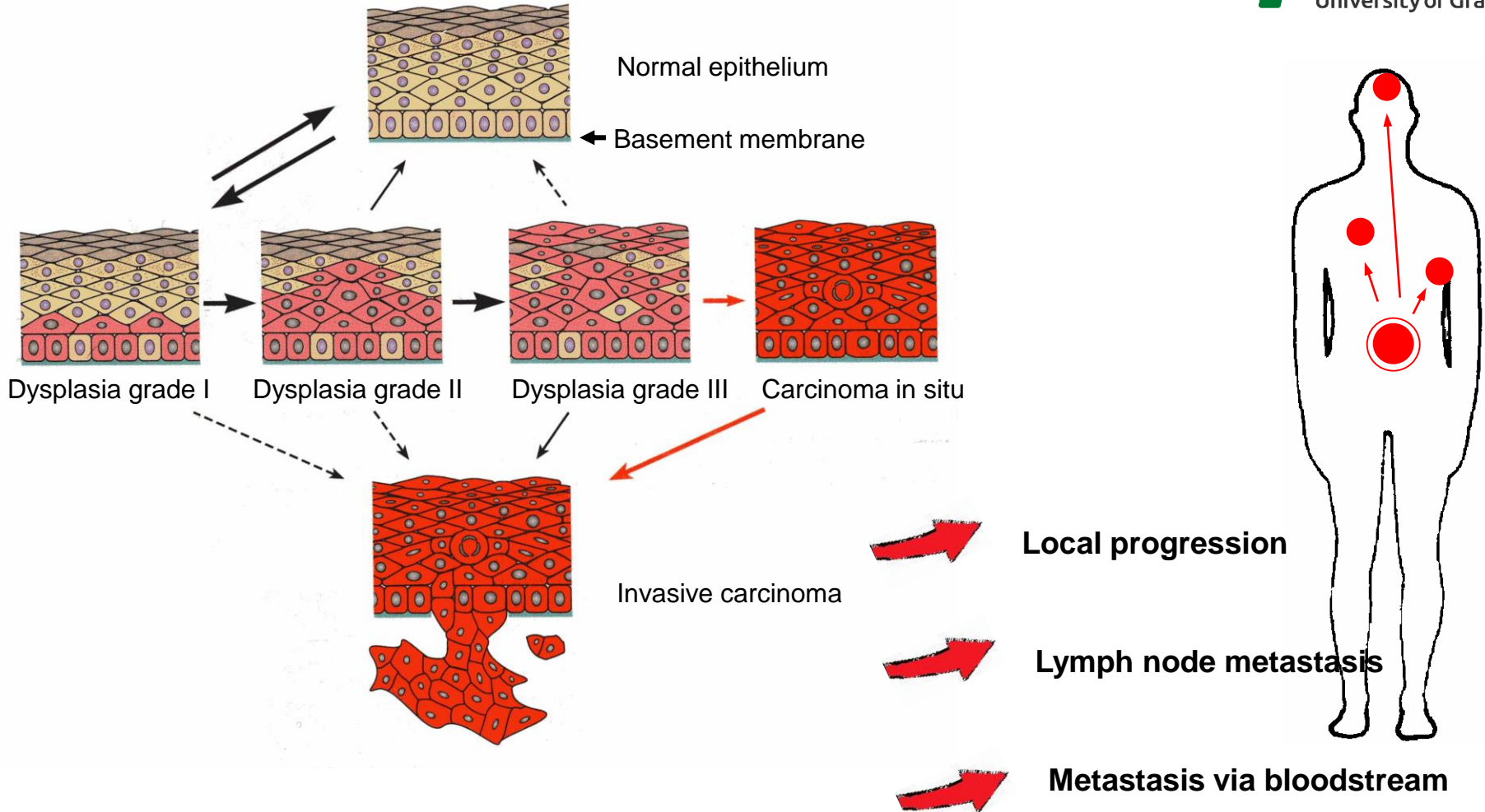


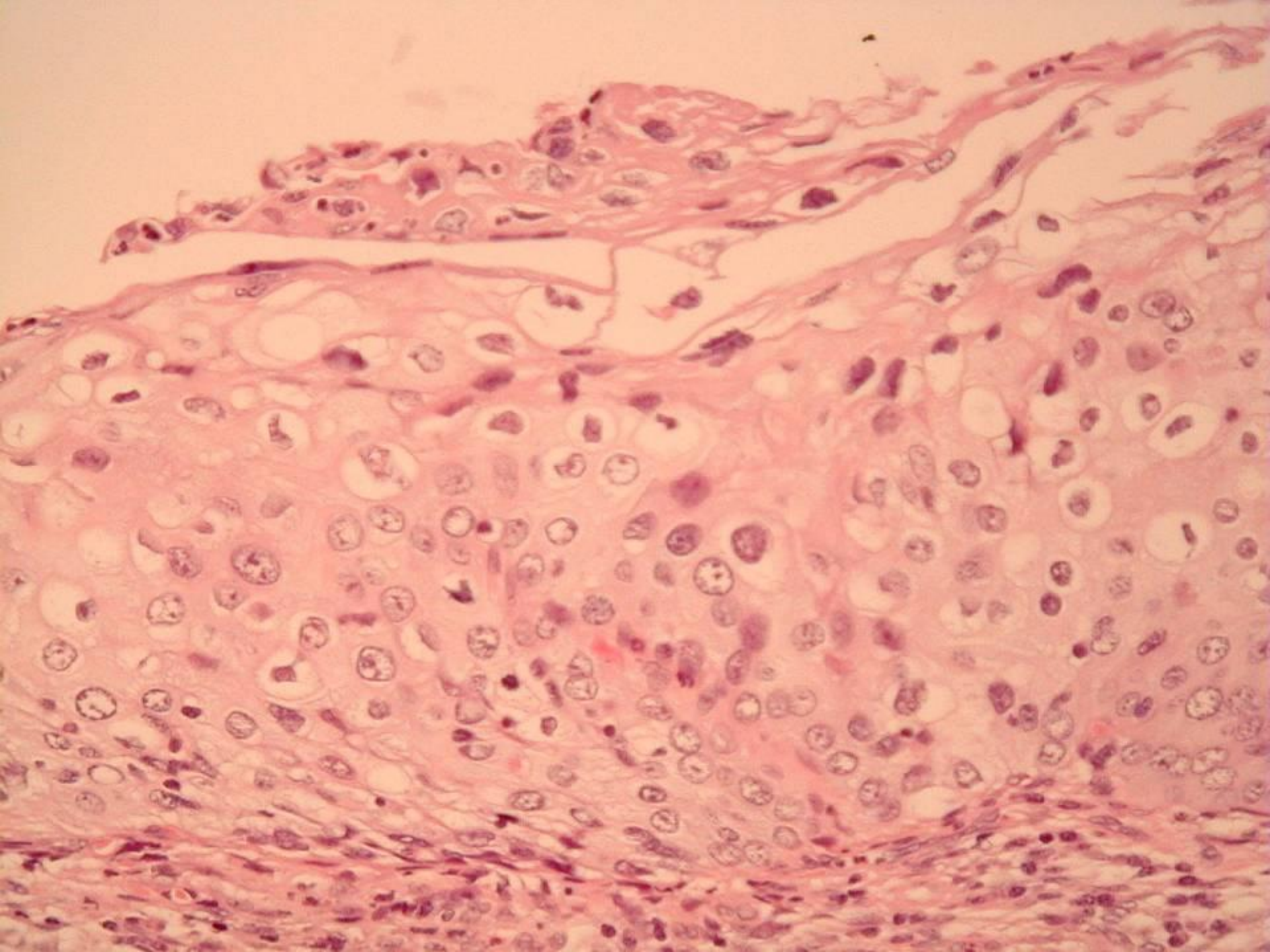
Großzellig anaplastisches Lymphom

Intraepitheliale Neoplasie (*in-situ* Karzinom, intraepitheliale Läsion, Dysplasie)

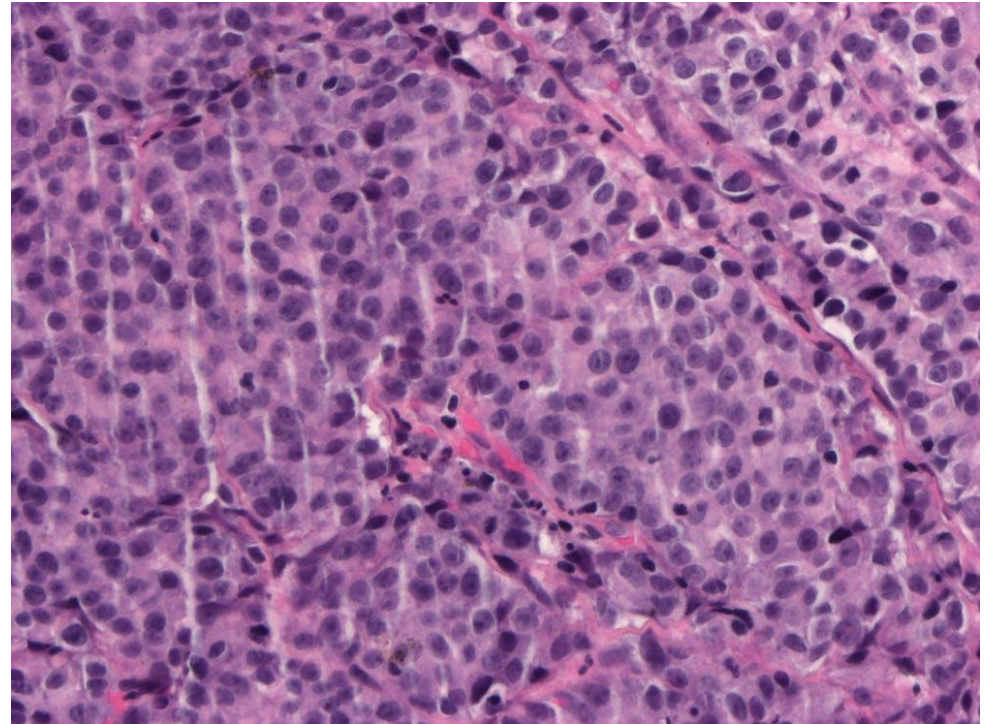
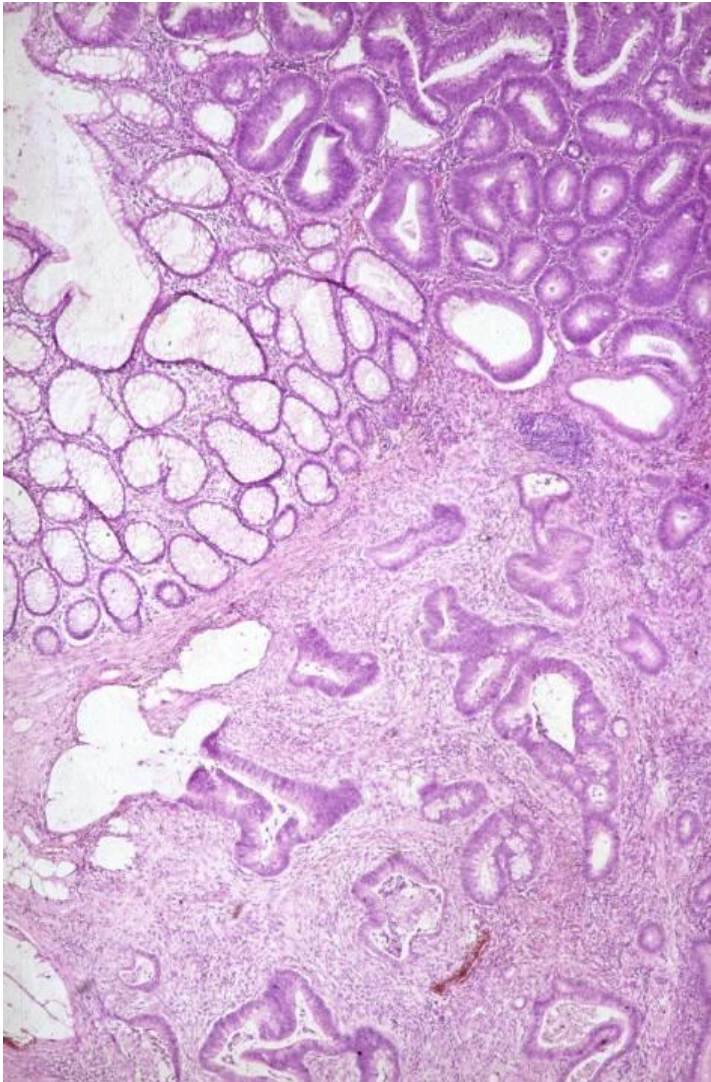
- ▶ Präinvasives Karzinom
 - ▶ Proliferation atypischer, neoplastischer Zellen innerhalb des ursprünglichen Epithelverbandes
- ▶ Entwicklung in (mikro-) invasives Karzinom
- ▶ Entfernung verhindert Entstehung eines metastasierungsfähigen Tumors

Neoplasie





Differenzierungsgrad Grading



Grading

▶ Grading

- ▶ Kernatypien

- ▶ Mitosezahl

- ▶ Differenzierung (Ähnlichkeit zum Ursprungsgewebe)

 - ▶ G1=gut (hoch/gut) differenziert

 - ▶ G2=mäßig (mittel/mäßig) differenziert

 - ▶ G3=schlecht (niedrig/schlecht) differenziert

 - ▶ G4=undifferenziert/anaplastisch

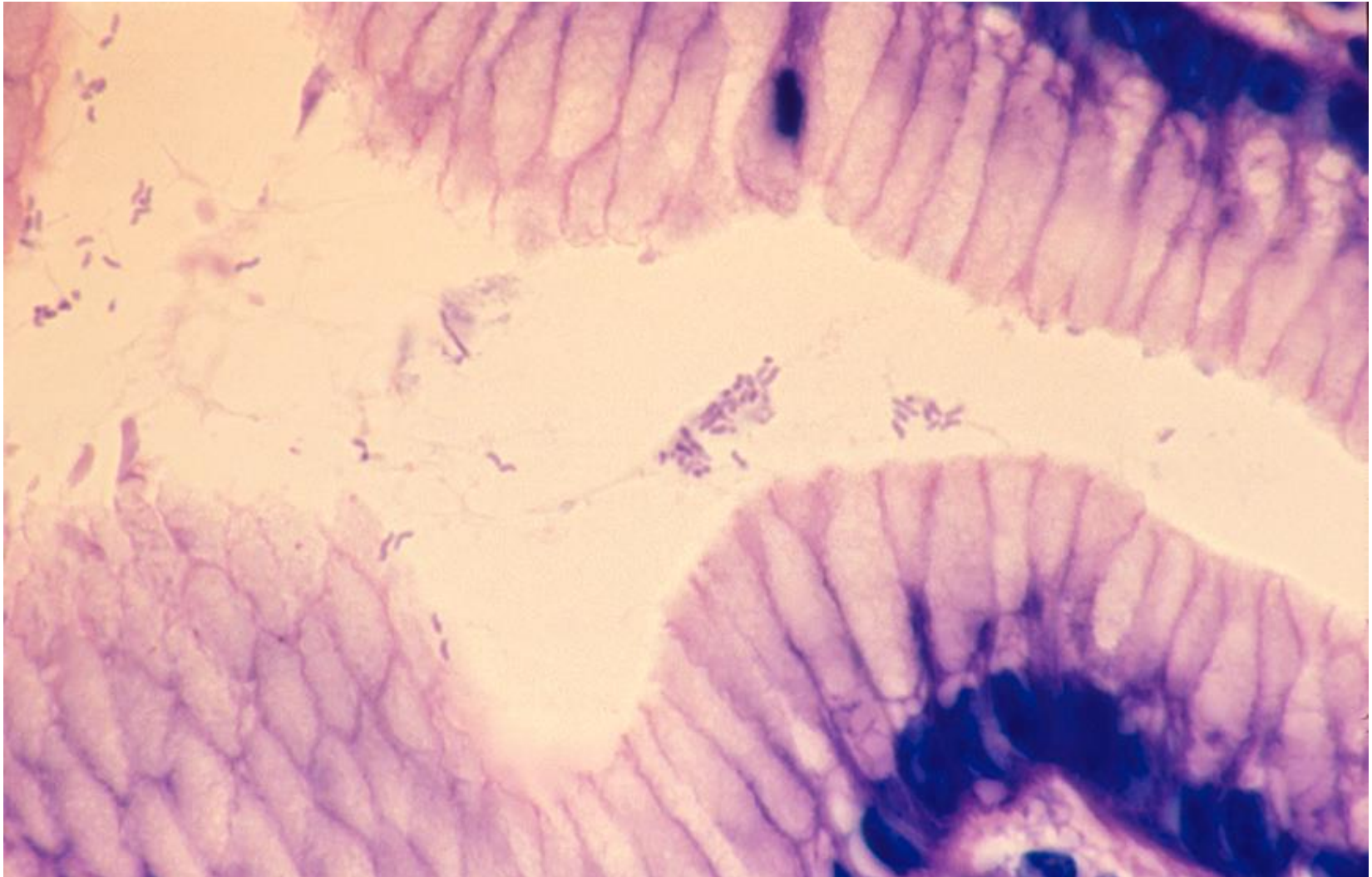
Staging

- ▶ TNM System (klinisch/pathologisch)
- ▶ T=lokale Ausbreitung
 - ▶ pTX: lokale Ausbreitung nicht bestimmbar
 - ▶ pTis: präinvasives/in situ Karzinom
 - ▶ pT0: keine histologische Evidenz
 - ▶ pT1-4: zunehmende Größe/Ausbreitung
- ▶ N=regionärer Lymphknotenstatus
 - ▶ pNX: Befall nicht bestimmbar
 - ▶ pN0: kein Befall
 - ▶ pN1-3: zunehmender Befall
- ▶ M=Fernmetastasen
 - ▶ pM1: Fernmetastasen histologisch bestätigt
 - ▶ pM0 und pMX: keine validen Kategorien
- ▶ Zusätzliche Angaben:
 - ▶ R (Residualtumor), L (Lymphinvasion), V (Veneninvasion), Pn (Perineurale Invasion), ...
- ▶ **Grading und Staging wichtige Prognosefaktoren!**

Krebsrisikofaktoren: Umwelt

- ▶ Chemische Verbindungen
 - ▶ Zigarettenrauch: Lungenkarzinom
 - ▶ Asbest: Pleuramesotheliom
 - ▶ Aflatoxin (Schimmelpilz): Leberkarzinom
- ▶ Ernährung: Colonkarzinom
- ▶ Chronische Infektionen
 - ▶ Helicobacter pylori: Magenkarzinom
 - ▶ Hepatitis B, C: Leberkarzinom
 - ▶ HPV: Cervixkarzinom
- ▶ Strahlen:
 - ▶ UV: chronisch (Basaliom, Plattenepithelkarzinom), intermittierend (Melanom)
 - ▶ Ionisierende Strahlen: Schilddrüsenkarzinom

Helicobacter pylori



Krebsrisiko: Genetische Faktoren

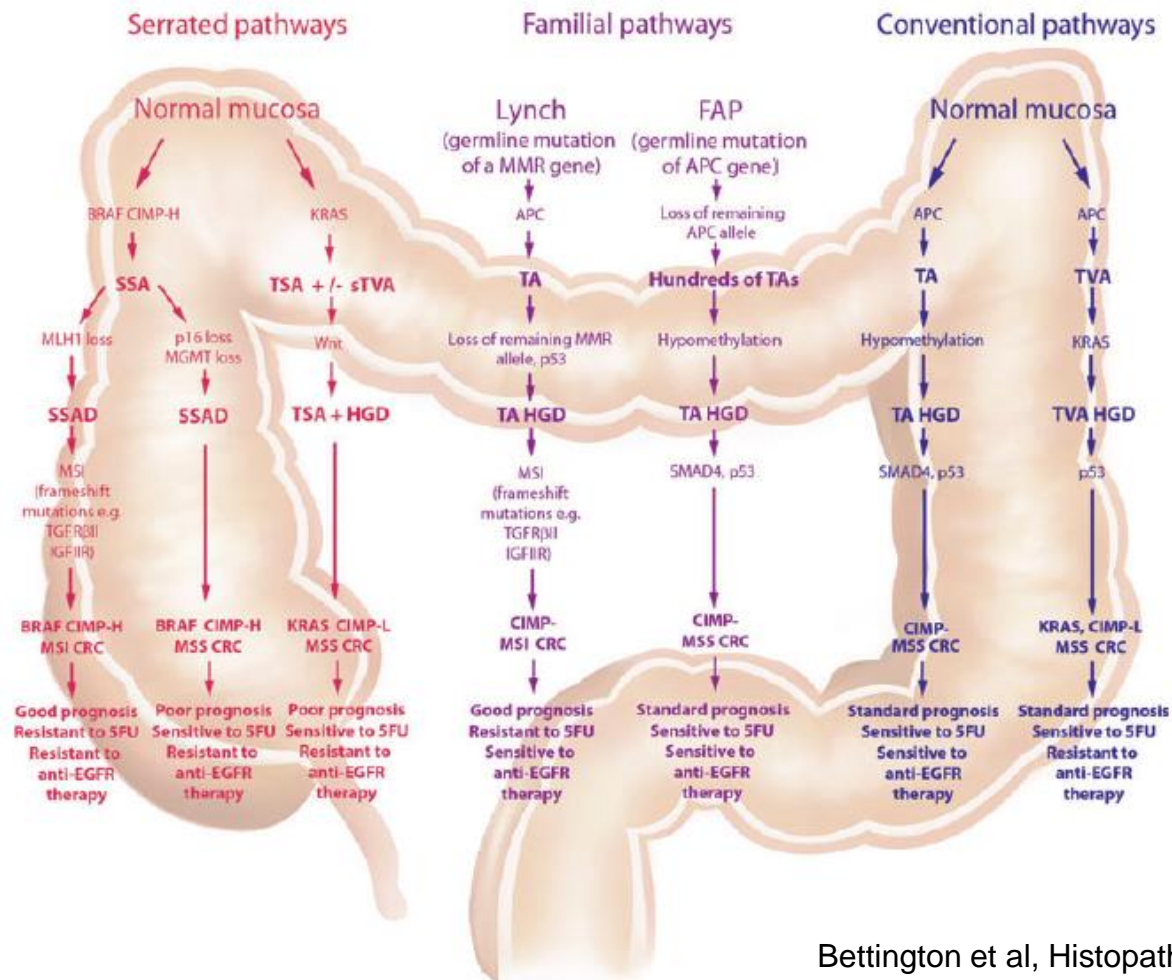
- ▶ Angeboren: Keimbahnmutationen
- ▶ Erworben: Somatische Mutationen
 - ▶ Onkogene
 - ▶ Tumorsuppressorgene
 - ▶ Apoptosegene
 - ▶ Telomerasegene
 - ▶ DNA-Reparaturgene

(Proto-) Onkogene

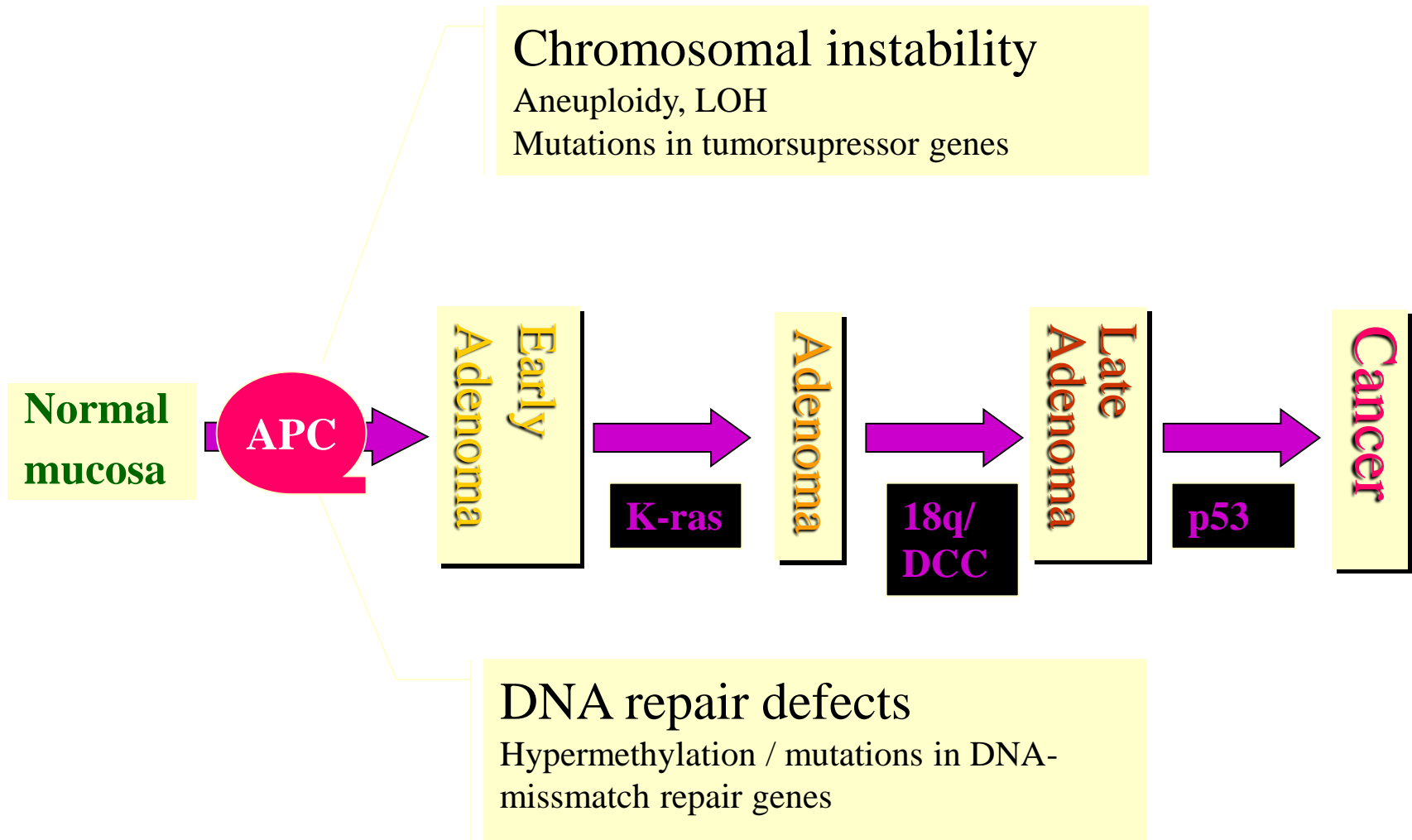
- ▶ Normale zelluläre Gene
- ▶ Genprodukte regeln
 - ▶ Proliferation
 - ▶ Differenzierung
 - ▶ Mobilität
- ▶ Mutationen führen zu konstitutiver Aktivierung, „gain of function“, „dominante“ Mutation
 - ▶ z.B.: Aktivierung eines Wachstumsfaktor-Rezeptors

Molekulare Karzinogenese

PUTATIVE MOLECULAR PATHWAYS TO COLORECTAL CARCINOMA



Colorectal cancer: molecular events



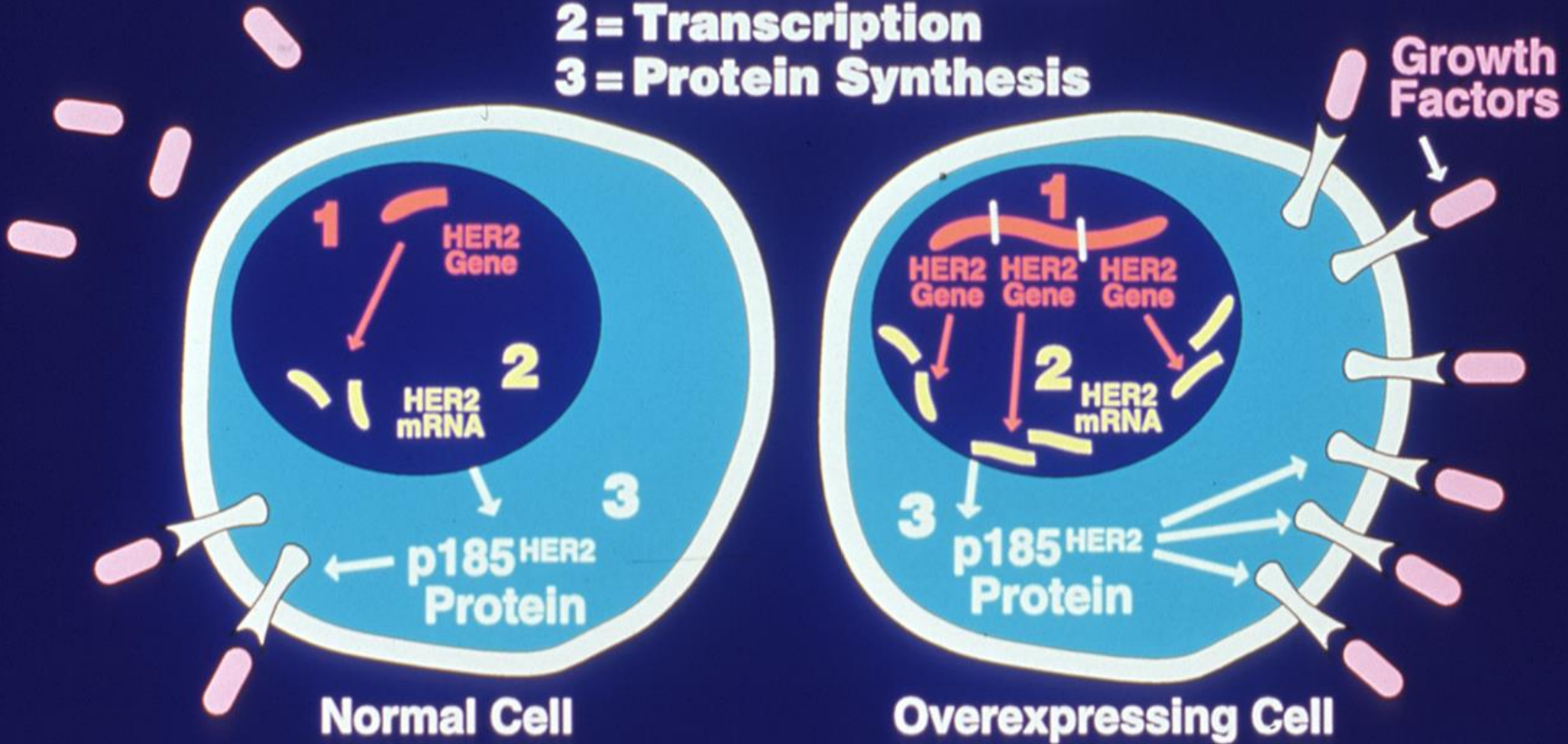
Onkogengruppen

Wachstumsfaktorrezeptoren

- ▶ Extrazelluläre Ligandenbindungsdomäne
- ▶ Transmembranöse Region
- ▶ Intrazelluläre katalytische Domäne, meist mit Protein (Tyrosin-) Kinaseaktivität
 - ▶ erbB2(Her-2/neu): Amplifikation
 - ▶ Mammakarzinom, Ovar, Magen
 - ▶ RET: Tyrosinkinaserzeptor Punktmutation
 - ▶ dominante Keimbahnmutation: MEN (multiple endokrine Neoplasie):
 - ▶ Somatische Mutation: papilläres Schilddrüsenkarzinom

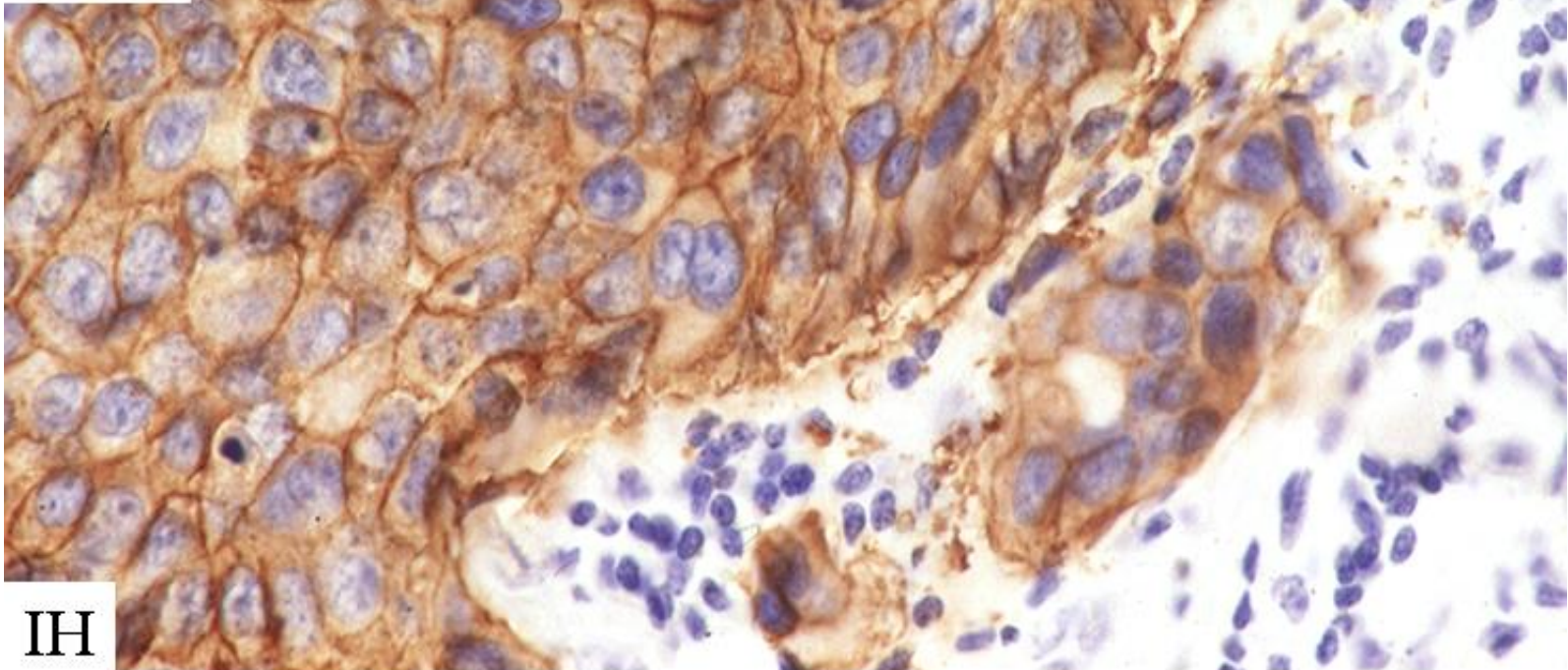
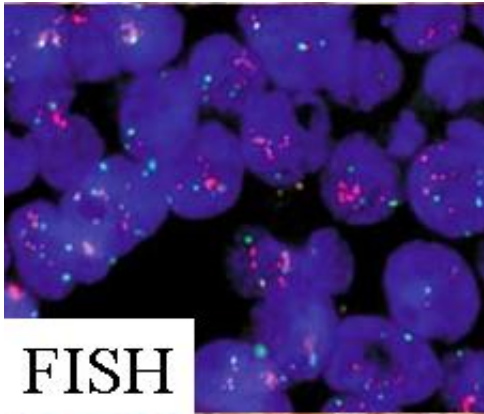
Mechanisms of HER2 Overexpression

1 = Gene Copy Number
2 = Transcription
3 = Protein Synthesis



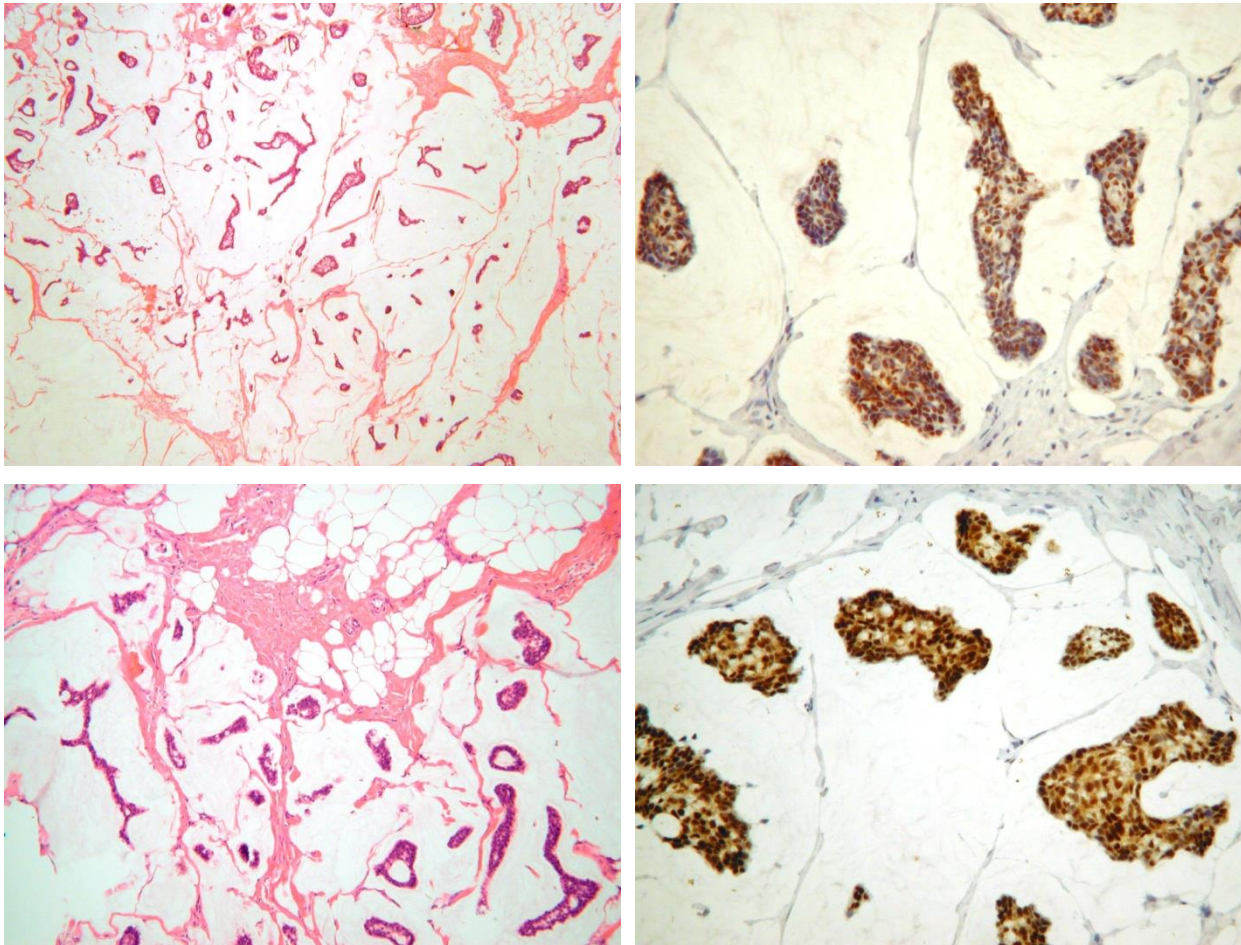
↑ p185^{HER2} receptors = ↑ cell proliferation

Mammakarzinom: HER2



Pathological examination - Immunohistochemistry

G3

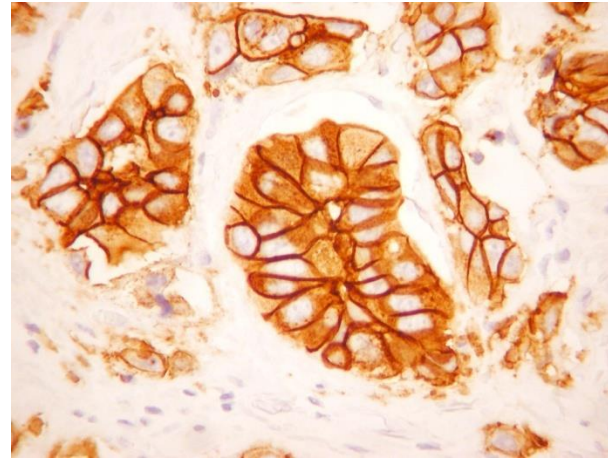
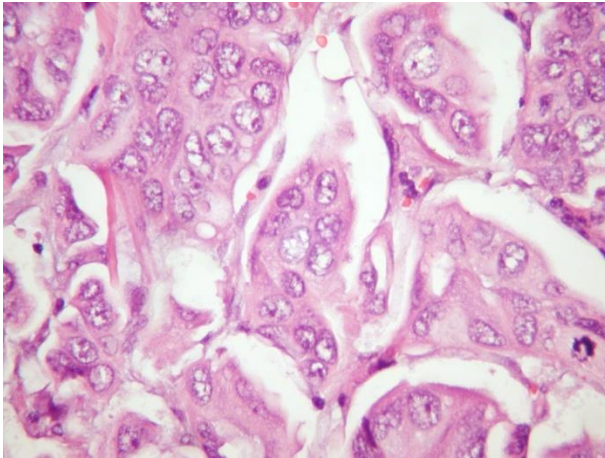
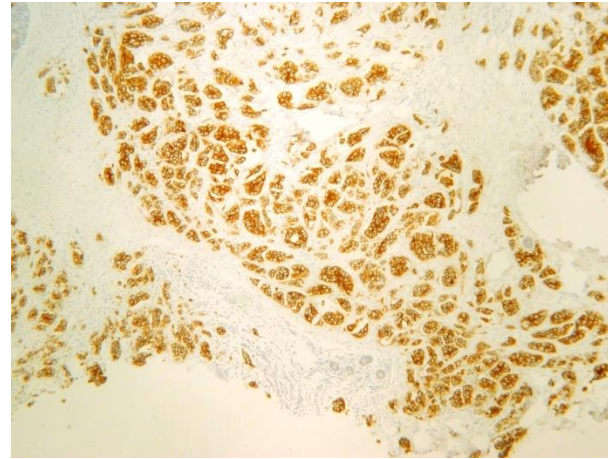
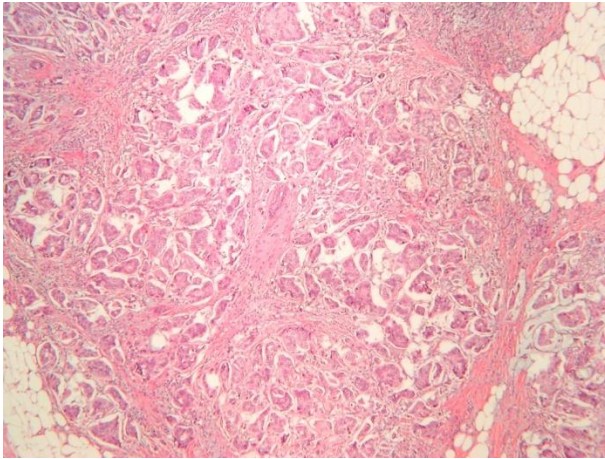


Positivity for estrogen & progesterone receptors [score: low, medium, high]

Therapy: Tamoxifen (binds to and inhibits estrogen receptors and its proliferation promoting actions)

Pathological examination - Immunohistochemistry

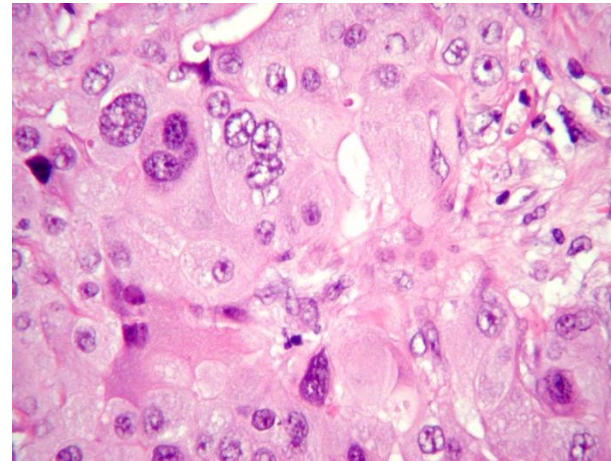
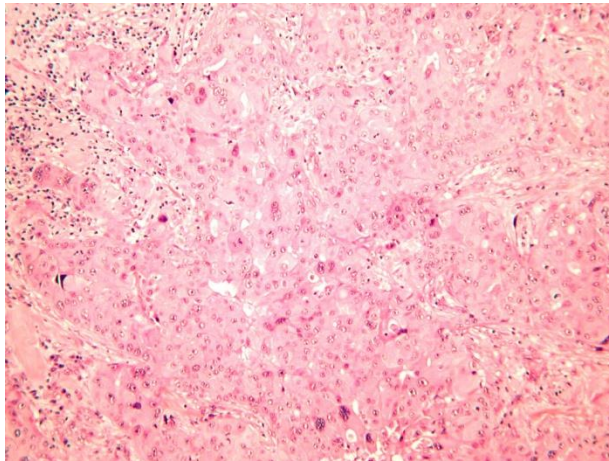
G3



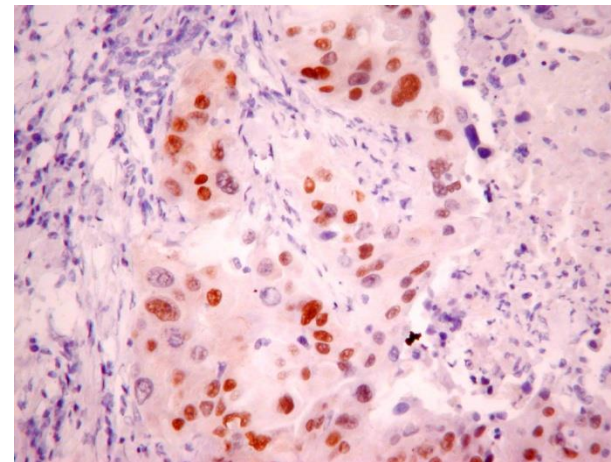
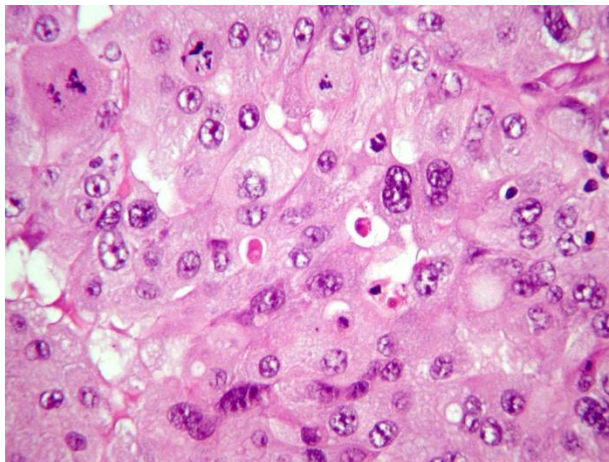
Overexpression of ERBB2 (epidermal-growth factor receptor 2; HER2/NEU)
[score: low, medium, high]

Therapy: Trastuzumab (Herceptin) (Antibody directed against ERB2)

Pathological examination - Immunohistochemistry



G4



Loss of expression of predictive markers (only the “primitive” marker – androgen receptor is present)

Therapy: Polychemotherapy

Onkogengruppen

Signaltransduktionskette

- ▶ Wachstumsfaktorrezeptor->Transkriptionsfaktoren
- ▶ Molekulare Schalter, Signalverstärkung
- ▶ Rezeptor-Tyrosinkinasen
 - ▶ RAS: zentrale Position
 - ▶ in zahlreichen Neoplasien durch Mutation permanent aktiviert
 - ▶ Ras-GTP - aktiv
 - ▶ 20% aller Tumoren zeigen Mutationen
 - ▶ Oft Inaktivierung zu RAS-GDP defekt
 - ▶ Bsp. CRC: EGFR AK Therapie bei KRAS Mutation nicht wirksam - prädiktiver Marker

Signaltransduktionskette

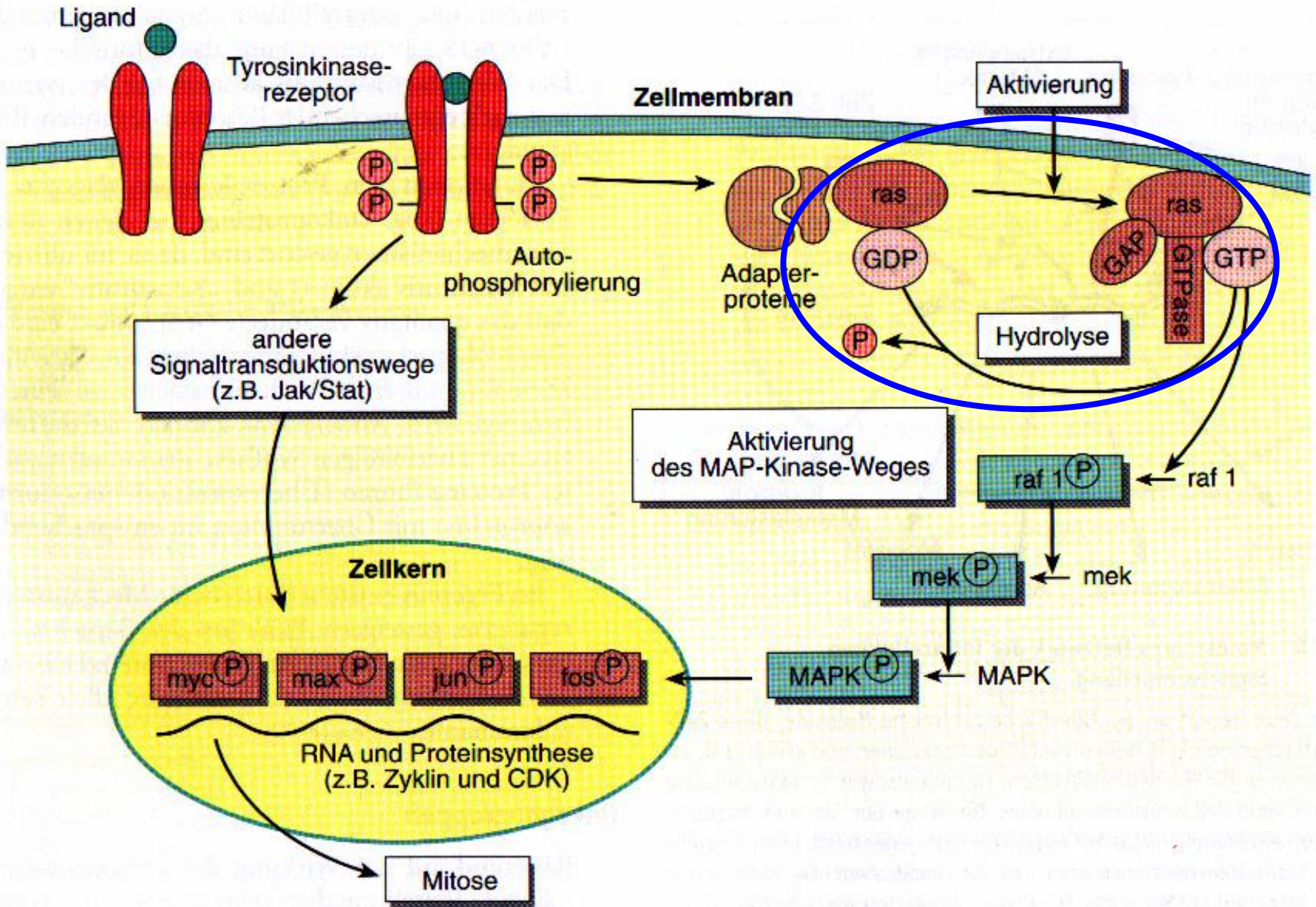


Table 2 | *HRAS*, *KRAS*, *NRAS* and *BRAF* mutations in human cancer

Cancer type	<i>HRAS</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>BRAF</i>
Biliary tract	0%	33%	1%	14%
Bladder	11%	4%	3%	0%
Breast	0%	4%	0%	2%
Cervix	9%	9%	1%	0%
Colon	0%	32%	3%	14%
Endometrial	1%	15%	0%	1%
Kidney	0%	1%	0%	0%
Liver	0%	8%	10%	3%
Lung	1%	19%	1%	2%
Melanoma	6%	2%	18%	43%
Myeloid leukaemia	0%	5%	14%	1%
Ovarian	0%	17%	4%	15%
Pancreas	0%	60%	2%	3%
Thyroid	5%	4%	7%	27%

The mutation data was obtained from the [Sanger Institute Catalogue of Somatic Mutations in Cancer](#) web site¹⁴⁸.

Totals:
51264

Positive:
10841

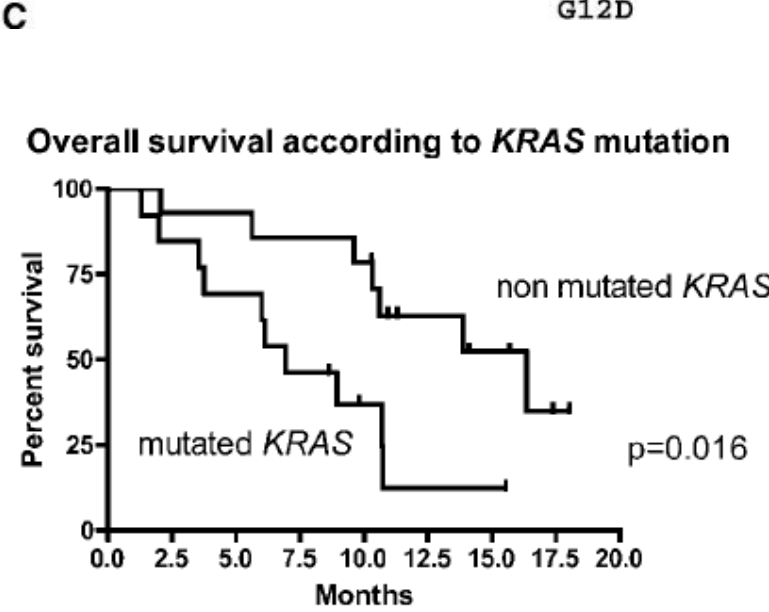
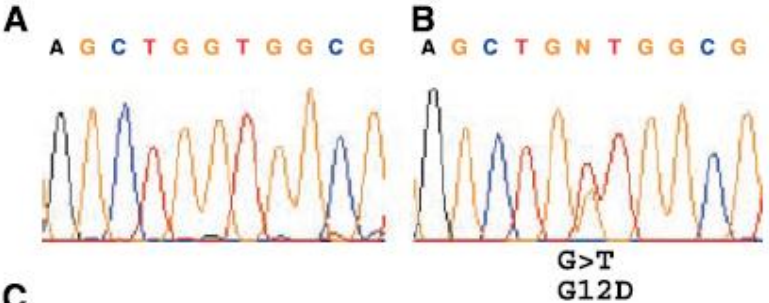
21%

Nature Rev Cancer 2007; 7: 295-308

KRAS Mutation Status Is Predictive of Response to Cetuximab Therapy in Colorectal Cancer

Cancer Res. 2006
66(8):3992-5.

Astrid Lièvre,^{1,3} Jean-Baptiste Bachet,³ Delphine Le Corre,¹ Valérie Boige,⁴ Bruno Landi,²
Jean-François Emile,³ Jean-François Côté,^{1,2} Gorana Tomasic,⁴ Christophe Penna,³
Michel Ducreux,⁴ Philippe Rougier,³ Frédérique Penault-Llorca,⁵ and Pierre Laurent-Puig^{1,2}

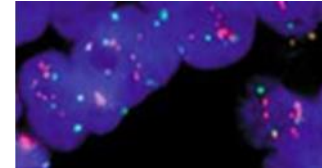


Tumor response	Duration (wk)	KRAS mutation	Overall survival		
			SD	Best response	Duration (wk)
	20.0	G12S	SD	20.0	G12S
	19.3	G12D	SD	19.3	G12D
	16.0	G13D	SD	16.0	G13D
	20.0	G12A	SD	20.0	G12A
	20.0	WT	SD	20.0	WT
CR	58.1	WT	PD		WT
PR	34.1	WT	PD		G12D
PR	33.9	WT	PD		G12V
PR	20.9	WT	PD		G13D
PR	46.0	WT	PD		WT
PR	62.9	WT	PD		WT
PR	44.0	WT	PD		G12D
PR	17.1	WT	PD		G12D
PR	23.7	WT	PD		G12D
PR	17.1	WT	PD		G12C
PR	32.0	WT	PD		WT
PR	32.0	WT	PD		G12C
SD	14.7	WT	PD		G13D

Aktivierungsmechanismen von Onkogenen

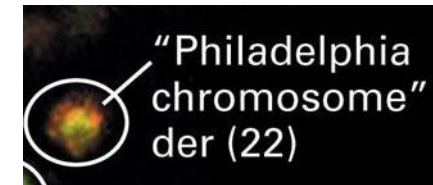
▶ Amplifikation: DNA-Vermehrung

- ▶ N-MYC, Her2/NEU



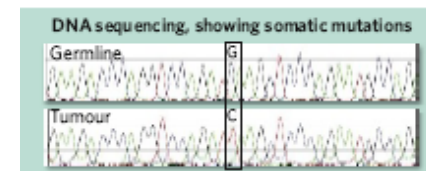
▶ Chromosomale Translokationen (Rearrangement)

- ▶ Philadelphia-chromosom t[9;22]: CML
- ▶ BCL-2/IgH t[14;18]: folliculäres Lymphom
- ▶ SYT/SSX1,2: Synovialsarkom



▶ Punktmutation

- ▶ H-, Ki-, N-RAS, MEN1, RET



▶ Deregulierung der Onkogenexpression

- ▶ Promotor-(De)Methylierung

Tumorsuppressorgene

- ▶ Normale zelluläre Gene
- ▶ Negative Regulation von wachstumsassoziierten Funktionen/Zellzyklus
- ▶ „rezessives“ Verhalten bei Mutation

- ▶ Bsp: Retinoblastomgen

- ▶ „Two hit“ Keimbahn

+ somatische Mutation

Retinoblastom, Mamma

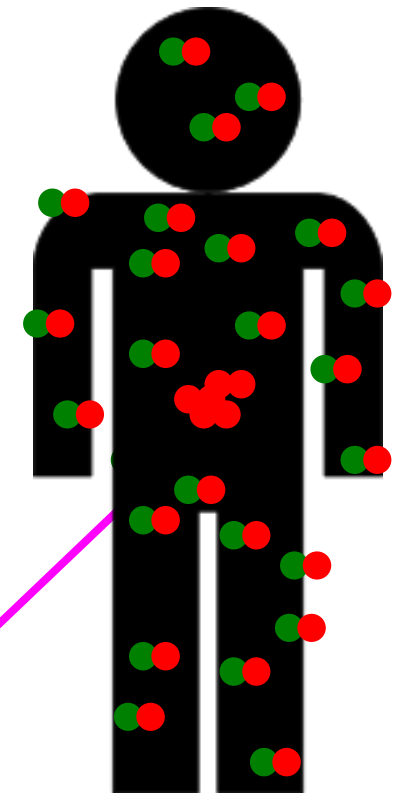
SCLC, Glioblastom,

Melanom, Sarkom

„First Hit“



„Second Hit“

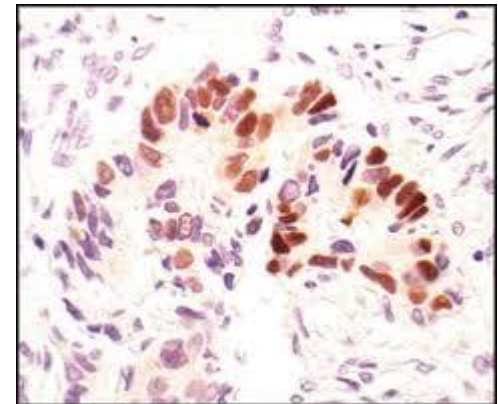


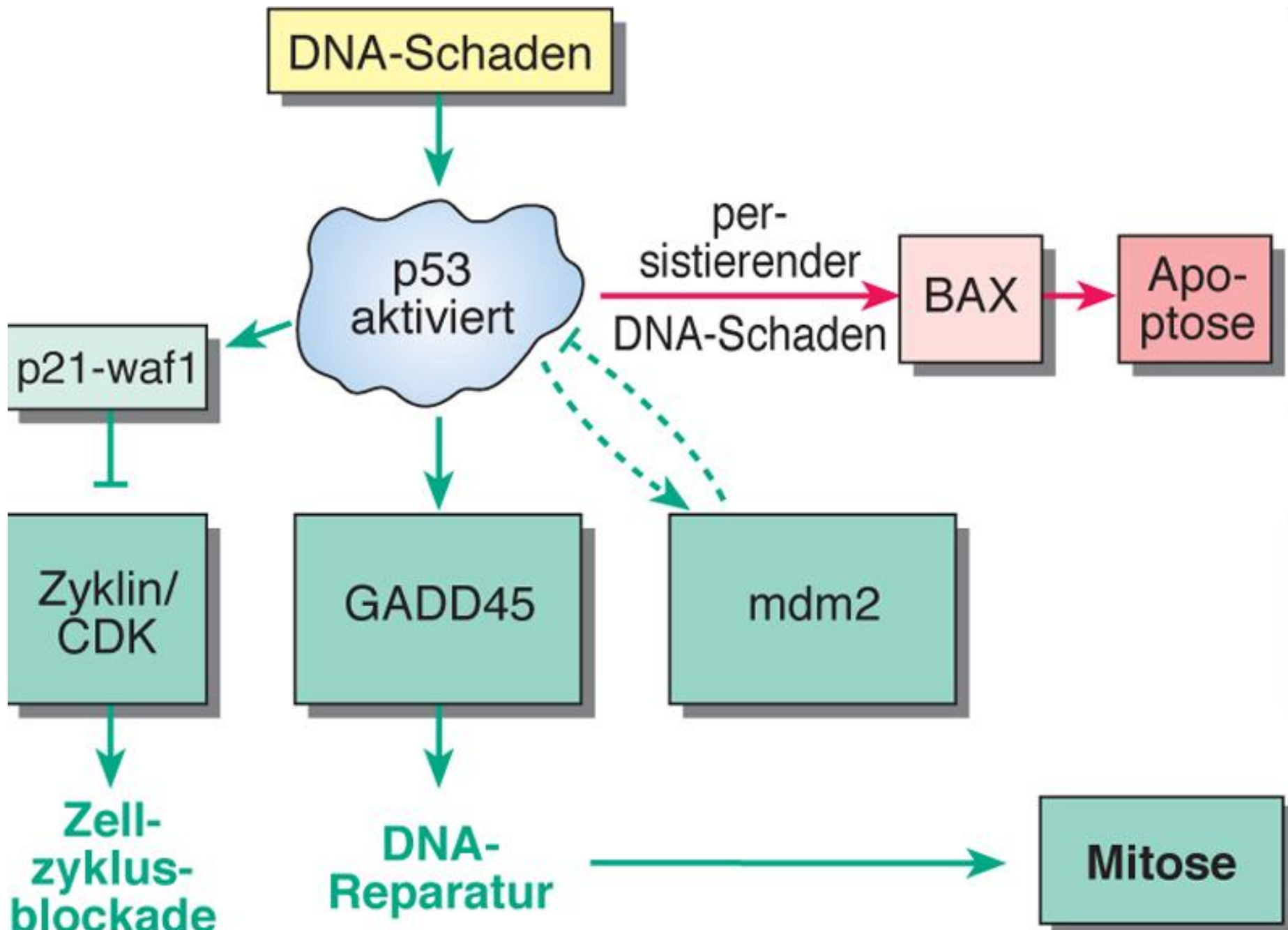
Tumor



P53 - „Guardian of the Genome“

- ▶ DNA Schaden reparabel od nicht (->Apoptose)
- ▶ Nukleärer Transkriptionsfaktor
- ▶ Bei Auftreten eines genetischen Schadens hochreguliert, Aktivierung von Zielgenen:
 - ▶ Arretierung des Zellzyklus in G1
 - ▶ Aktivierung von DNA-Reparaturmechanismen
 - ▶ Behebung des DNA-Schadens
 - ▶ Wenn „irreparabel“ → Apoptose
- ▶ Dickdarm-, Lungen-, Magen-, Mammakarzinom
 - ▶ Verlängerte Halbwertszeit, IH nachweisbar
 - ▶ Funktionsverlust
 - ▶ Akkumulation genetischer Schäden
 - ▶ Wachstumsvorteil
 - ▶ Blockade der Apoptose (u.a. Resistenz gegen Chemotherapie)





Erbliche Tumore

▶ Lynch Syndrom:

- ▶ *Henry T. Lynch (geb. 1928) amerikanischer Chirurg*
- ▶ Häufigster erblicher Dickdarmkrebs: 2-3 % aller CRC

▶ Autosomal dominant vererbt

- ▶ Häufig Tumorentstehung vor dem 50 Lebensjahr
- ▶ Charakteristische Histologie und Lokalisation
- ▶ Synonym: **H**ereditary **N**on **P**olyposis **C**olorectal **C**ancer **S**yndrom
 - > **HNPCC Syndrom**

DNA Reparaturgene

- ▶ Reparatur von Basenfehlpaarungen, entstanden bei
 - ▶ DNA-Replikation
 - ▶ Mutagene Einflüsse
- ▶ Störung: genetische Instabilität
 - ▶ „Mutatorphänotyp“
- ▶ Humane Gene:
 - ▶ hMSH2, hMSH6, hMLH1, hPMS1, hPMS2

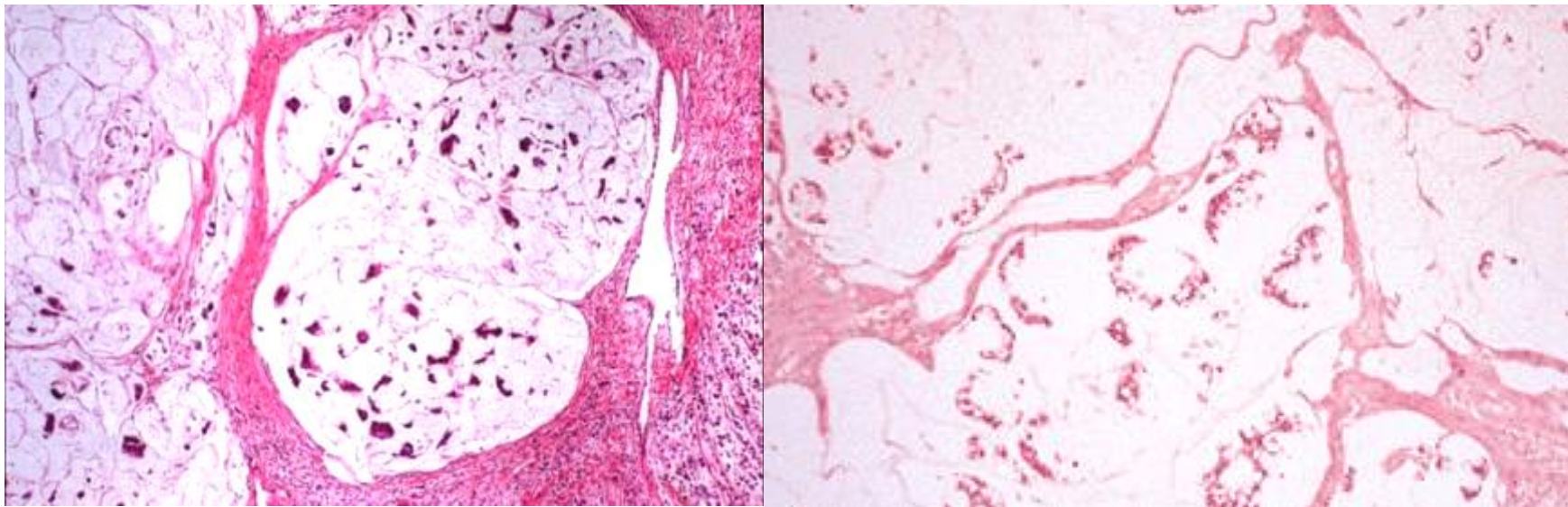
Das Grundproblem

- ▶ Gesamte Erbinformation in jeder Zelle
- ▶ Wieviele Zellen hat ein Erwachsener ?
- ▶ **100 Billionen** (10^{14})
- ▶ **Jede Sekunde sterben 50 Millionen**
und werden zum Gutteil ersetzt
(turnover)
- ▶ Fehlerfreie DNA Verdoppelung der
Zellteilung ist überlebenswichtig !

HNPPC Tumore

▶ Pathologische Charakteristika

- ▶ Rechtsseitiges Kolon (Coecum, colon ascendens)
- ▶ Mucinöses Adenokarcinom
- ▶ Niedrig differenziert
- ▶ Vermehrte Lymphozyteninfiltrate



Lifetime Cancer Risk bei Lynch Syndrom



25% ohne
Tumor aber
Überträger !

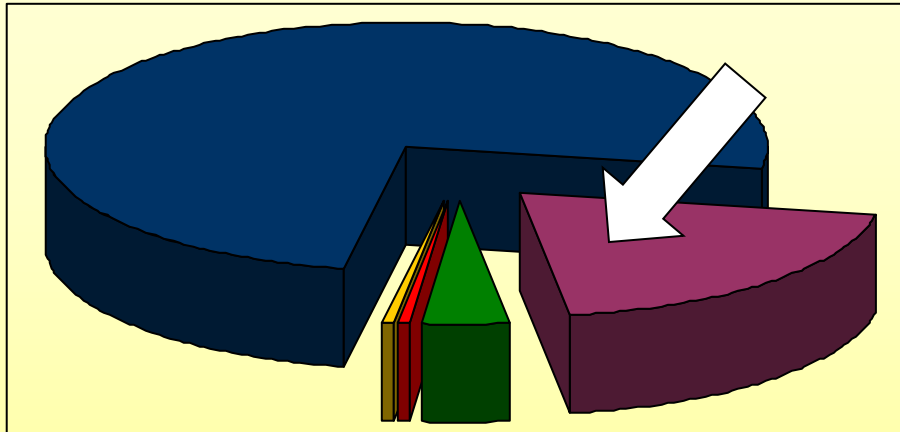
Colorectal cancer (men)	28-75%
Colorectal cancer (women)	24-52%
Endometrial cancer	27-71%
Ovarian cancer	3-13%
Gastric cancer	2-13%
Urinary tract cancer	1-12%
Brain tumor	1-4%
Bile duct/gallbladder cancer	2%
Small bowel cancer	4-7%

Bei 30 000 Personen...



werden 40 an Colonkarzinom
durch Lynch S. erkranken

CRC - genetic disposition

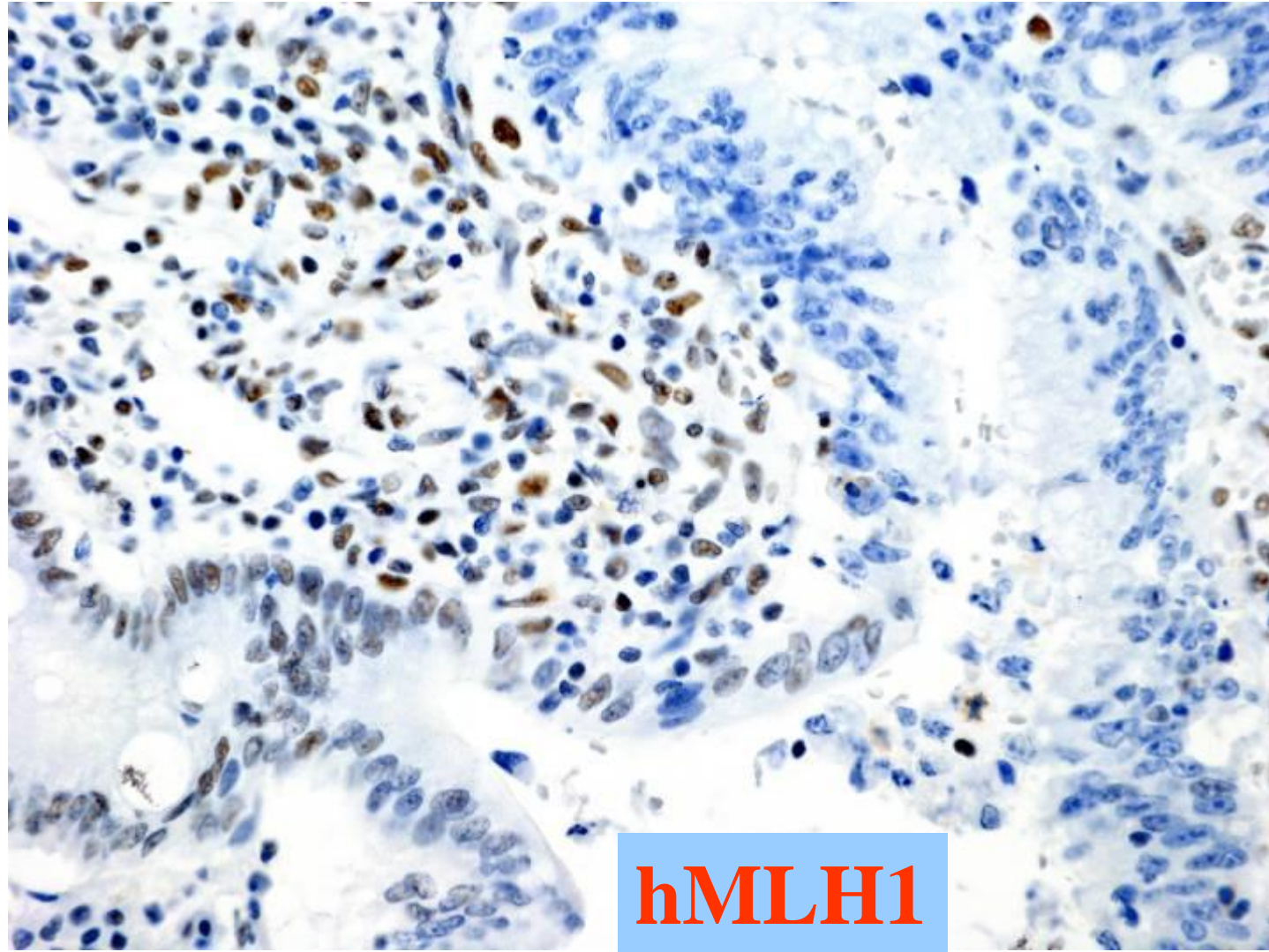


- Sporadic CRC (65-85%)
- Familial; gene defect not known (10-30%)
- Hereditary non polyposis colorectal cancer (3-5%)
- Familial adenomatous polyposis coli (<1%)
- Rare hereditary CRC syndromes

DNA „mismatch-repair“ Proteine - Immunhistochemie

hMLH1
hMSH2
hMSH6
hPMS2

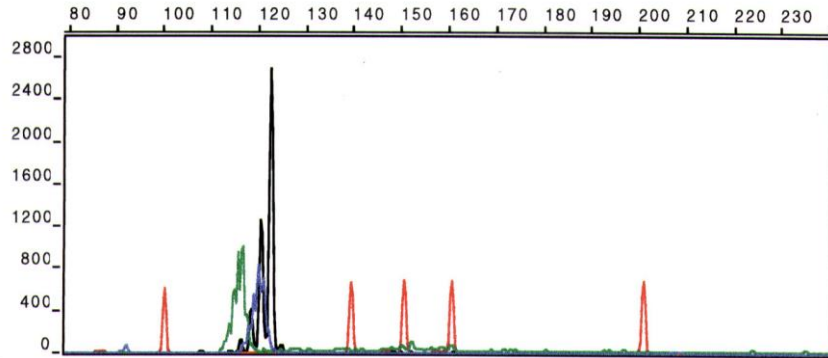
Fehlen =
Funktions-
verlust



HNPCC MSI-Analyse

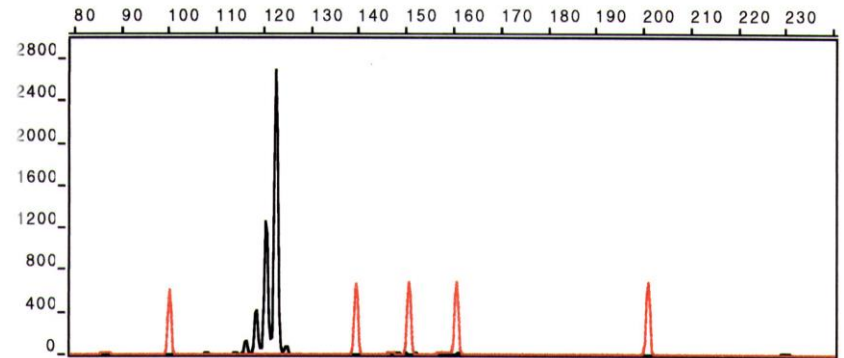
BAT 25

BAT26 D5 S346 (APC)

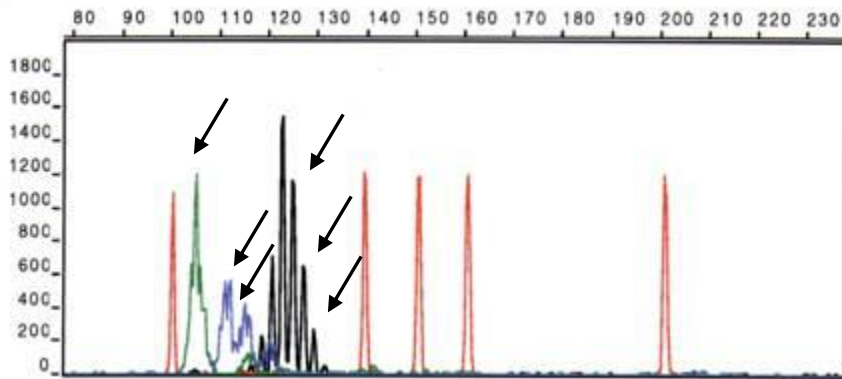


NORMALGEWEBE

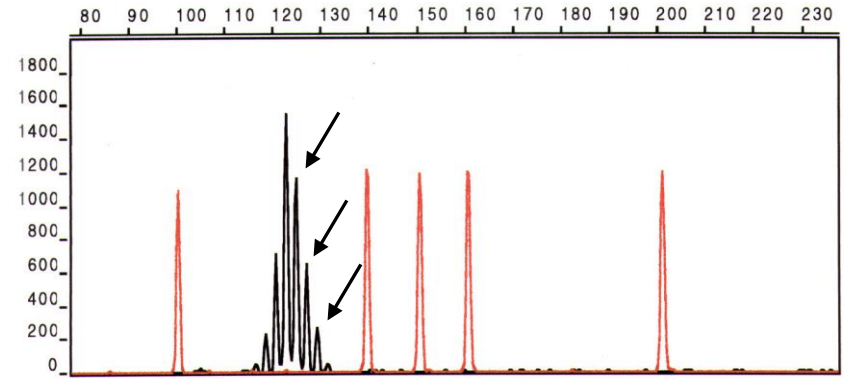
D5 S346 (APC) Interner Standard



NORMALGEWEBE



TUMORGEWEBE: MSI-H



TUMORGEWEBE: MSI-H

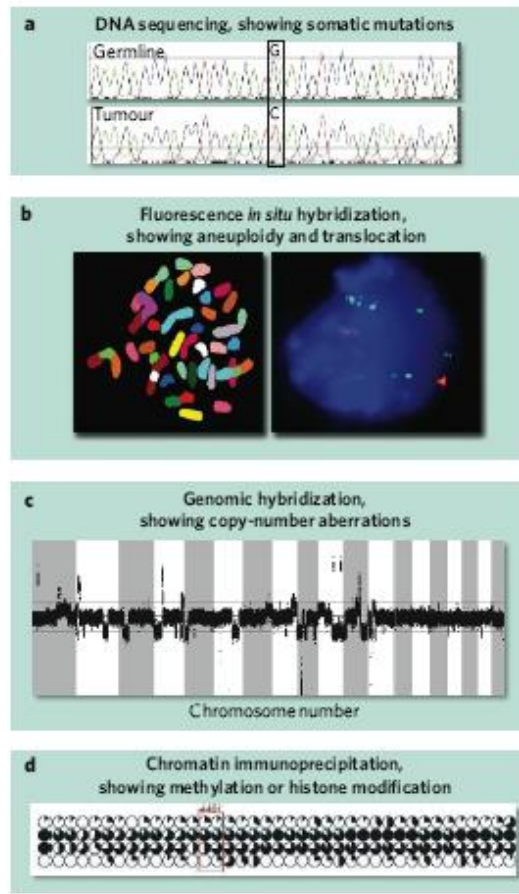
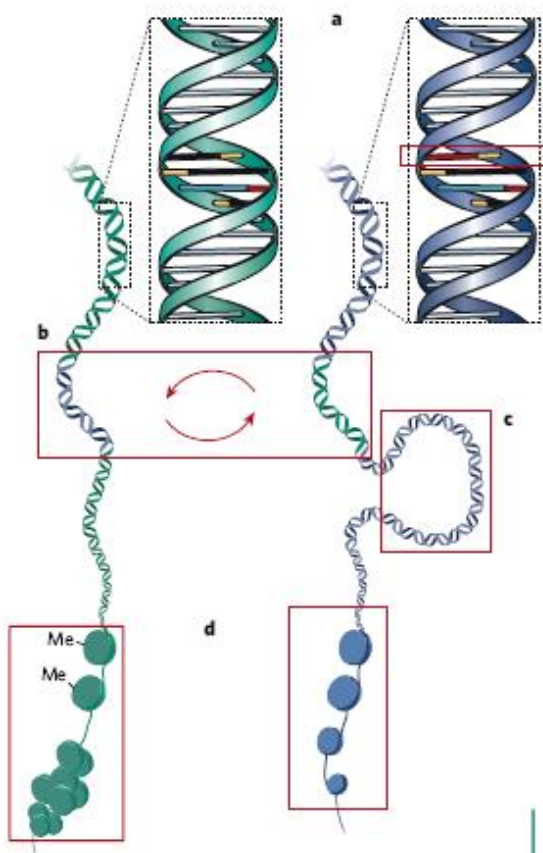
Was passiert nun ?

- ▶ Hochgradiger Verdacht auf Lynch Syndrom
- ▶ Patient wird beraten und aufgeklärt
- ▶ Einverständniserklärung
- ▶ Blutabnahme -> DNA Isolation
- ▶ Sequenzierung der DNA-Reparaturgene aus Blut -> Beweis der Erbllichkeit
- ▶ PCR für Familie „gestrickt“ -> Screening

Konsequenzen für Patient u. Angehörige n. kompletter Abklärung

- ▶ 5 FU-haltige Chemotherapie bei MSI-high nicht sinnvoll, da wenig wirksam bis wirkungslos
- ▶ Engere postoperative Kontrolle: Colonoskopie und Ultraschall
- ▶ Verwandte (Geschwister, Kinder) untersuchen
 - ▶ Träger früh erkannt: Karzinomentstehung durch Vorsorge verhindern / rechtzeitig erfassen
 - ▶ Keine Mutation - psychische Entlastung

Molecular cancer profiling



Cancer associated genomic changes:

- DNA sequence abnormalities
- Copy-number aberrations
- Structural aberrations
- Epigenomic alterations

Altered GEOI expression

- Coding mRNA
- Non-coding microRNA



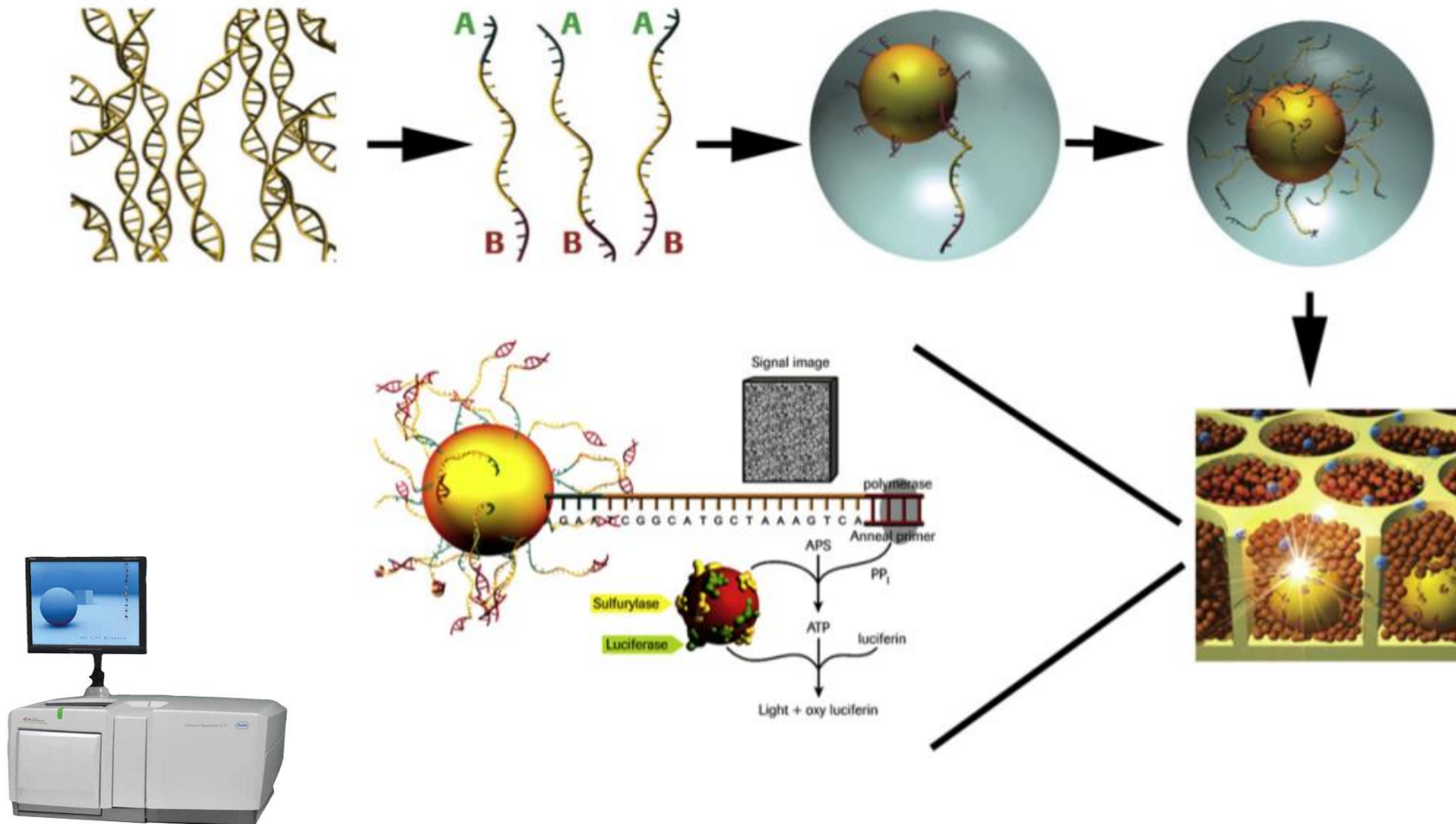
- Change in level of expression
- Shift in pattern of alternatively spliced variants
- Presence of aberrant transcripts (for example, fusion transcripts)

Altered functions

Die Zukunft – ist schon hier

Next Generation Sequencing (NGS) Technology

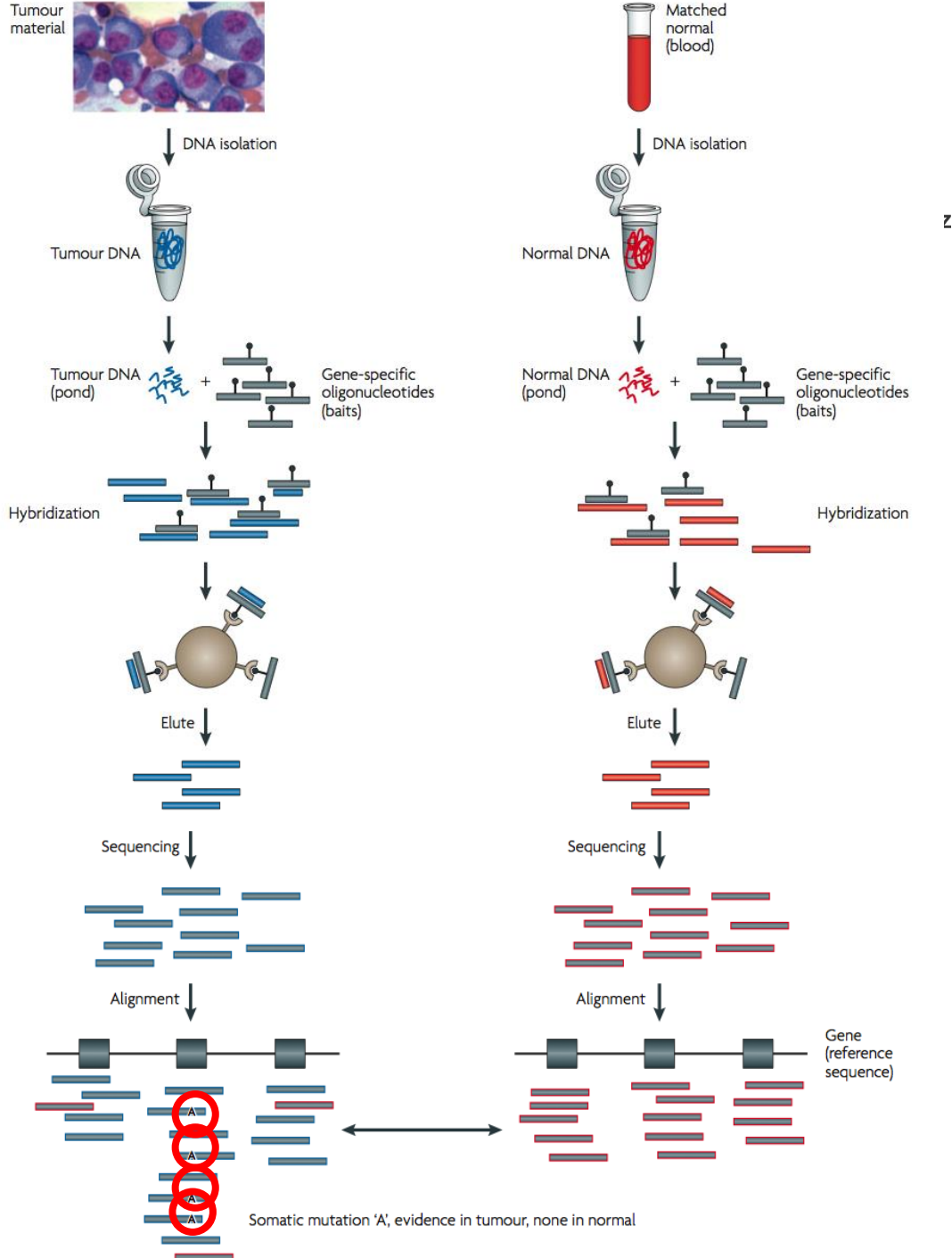
Example ROCHE/454



Generates 400,000 reads per run with 500-base reads at 99.5% accuracy 200 million high-quality filtered bases per 7.5 hour run

Application of NGS in molecular oncology:

Sequence capture technology:
 „Finding new mutations in oncogenes“

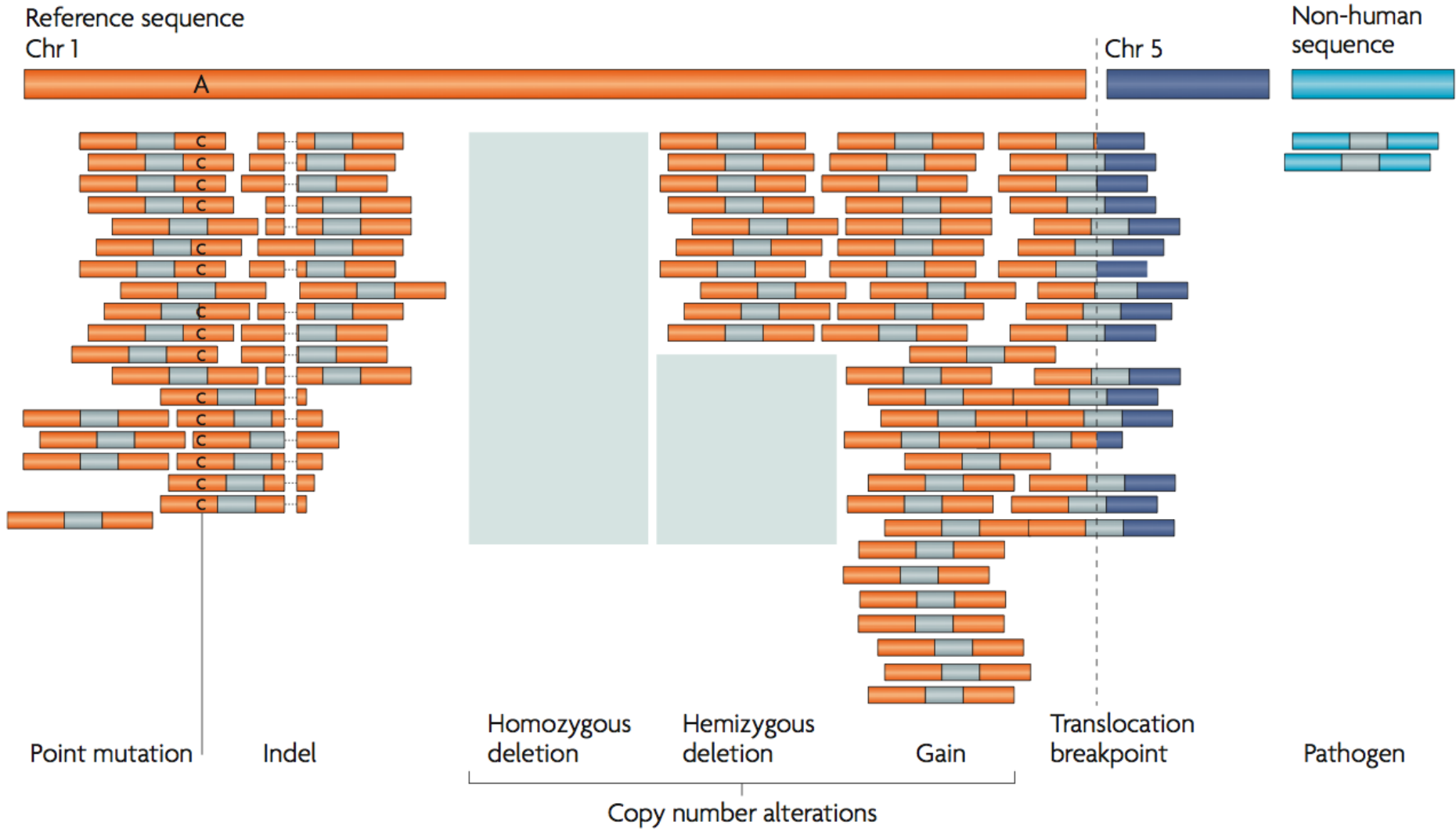


Enrichment of genes of interest

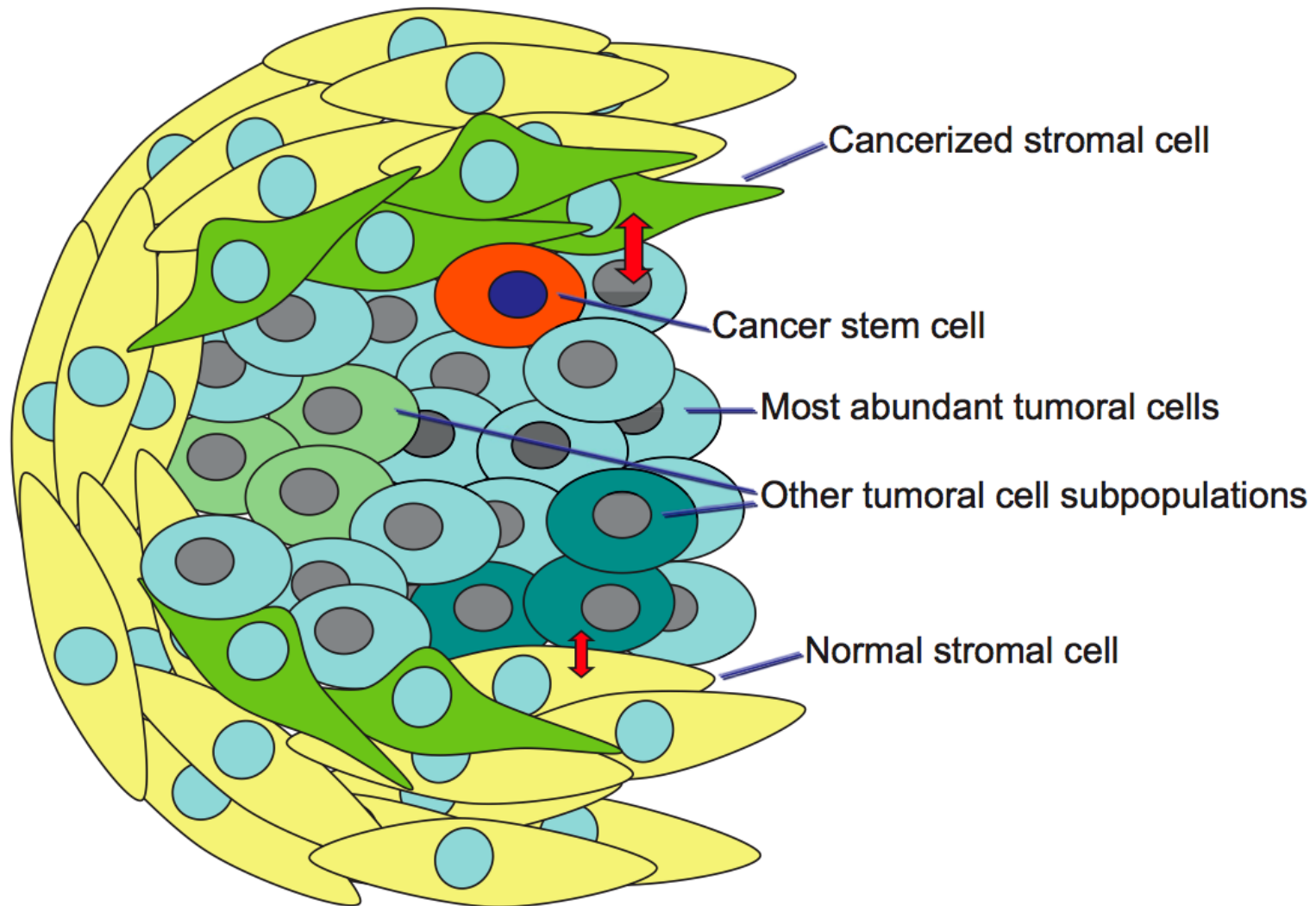
Next Generation Sequencing

Bioinformatics analysis

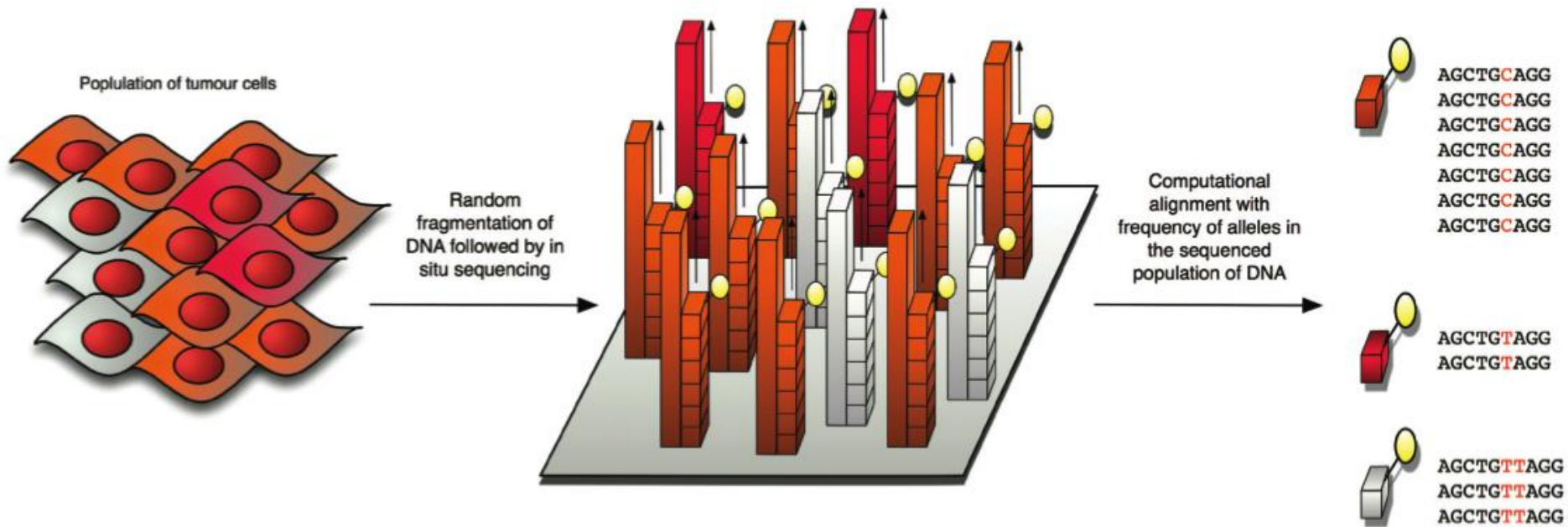
Types of genetic alterations which can be detected by NGS



A tumor is heterogeneous - different malignant cells with different mutations



A tumor is heterogeneous - different malignant cells with different mutations (resolved by NGS)





"Wenn wir in der einfachen Box nicht so gut gewesen wären, hätten sie uns nie die komplizierte Box gegeben..."