

Svensk Förening för Patologi – Svensk Förening för Klinisk Cytologi			
Dokumentnamn: Lungtumörer			
Framtaget av: KVA-THORAX	Utgåva: 2.4	Fastställt: 2020-09-06	Sidor: 42

Arbetsgrupp: Hans Brunnström, Aziz Hussein, Cristian Ortiz-Villalon, Göran Elmberger, Katalin Dobra, Levent Akyürek, Lorand Kis, Martin Mettäväinö, Mátyás Béndek, Miklos Gulyas, Nastaran Monsef, Patrick Micke

I. Innehållsförteckning

I. Innehållsförteckning	1
II. Omfattning	2
III. Klinisk bakgrundsinformation	2
IV. Patologins roll i den diagnostiska processen	3
V. Aktuella provtyper	4
VI. Anvisningar för provtagarens hantering av prover	4
VII. Anamnestisk remissinformation	5
VIII. Hantering av prover på patologlaboratoriet	6
IX. Utskärningsanvisningar	8
X. Analyser	9
Konventionella färgningar	9
Immunhistokemiska färgningar	9
Behandlingsprediktiva analyser	10
Multipla tumörer	12
XI. Rekommenderade klassifikationssystem	13
XII. Information i remissens svarsdel	13
XIII. Svarsmallar	17
Svarsmall biopsi/cytologi	17
Svarsmall resektat	17
Svarsmall prediktiv molekylärpatologisk analys	17
XIV. Administrativt	17
SNOMED-koder	17
Provtyps-beteckningar	18
Förslag på kvalitetsindikatorer	18
Rekommenderade svarstider	18
Möjlig delegation	18
XV. Kvalitetsarbete inom patologin	18
Kvalitet färgningar/analyser	18
Kvalitet diagnostik	19
XVI. Övrigt	20
Klinisk organisation som granskad och godkänt dokumentet	20
Länk till nationellt vårdprogram (NVP)	20
Multidisciplinär konferens (MDK)	20
XVII. Referenser	20
Klassifikationssystem	20
Internationella kvalitetsdokument	21
Epidemiologi	21
Diagnostiska markörer	21

Molekylära analyser och målriktad terapi	24
Immunmodulerande terapi	25
Multipla tumörer	25
Cytologi	26
Histopatologiska prognosfaktorer	27
Neuroendokrina tumörer	28
HPV i lungtumörer	28
Appendix 1. Kommentar till diagnostik	30
Appendix 2. Immunhistokemi	35
Appendix 3. Tumörklassifikation enligt WHO 2015	37
Appendix 4. Stadiindelning enligt TNM8	39
Appendix 5. Lymfkörtelstationer enligt IASLC	40
Appendix 6. Isolated tumour cells (ITC) enligt TNM/IASLC	41
Appendix 7. Utredningsalgoritm biopsi/cytologi	42

II. Omfattning

Detta KVASt-dokument omfattar all provtagning (cytologi, biopsi, resektat) för tumörer i lunga och luftvägar, samt till del provtagning från suspekt lungcancermetastas utanför lungan. Under flera avsnitt finns dels allmän information och riktlinjer för all provtagning samt därefter specifikt för cytologi, biopsi respektive resektat. För vidare anvisningar gällande diagnostik av icke-epiteliala tumörer, metastaser från andra organ och pleurala förändringar hänvisas även till respektive KVASt-dokument för dessa tumörformer/områden.

Den fjärde utgåvan av WHO-klassifikationen av tumörer i lunga mm från 2015 ligger till grund för klassifikation och kodning etc. Vidare har KVASt-gruppen, i syfte att utnyttja ett redan utfört omfattande kvalitetsarbete inkl. vetenskaplig granskning, valt att titta på hur motsvarande amerikanska (College of American Pathologists; CAP) och engelska (Royal College of Pathologists; RCPATH) grupper utformat sina dokument.

III. Klinisk bakgrundsinformation

Ungefär 3900 nya fall av cancer utgående från luftvägar och lunga diagnostiseras varje år i Sverige, vilket gör gruppen till den femte vanligaste. Rökning är dominerande etiologi och orsakar 80-90% av lungcancerfallen. Prognosen vid lungcancer är dålig, med en förväntad 5-årsöverlevnad efter diagnos på ca 20%, och lungcancer är den vanligaste orsaken till cancerrelaterad död både i Sverige och i världen. Kirurgiskt behandlade patienter har bättre prognos, men även för patienter med mycket begränsad sjukdom (stadium I) ses en 5-årsöverlevnad på 70-80% efter operation. Endast ca 20-25% av patienter med lungcancer genomgår emellertid operation, där spridd sjukdom är vanligaste skäl till att kirurgi inte är aktuellt. För en betydande del av lungcancerpatienterna baseras den morfologiska diagnostiken därför på biopsi och/eller cytologi.

Utredning vid misstänkt lungcancer innefattar bland annat anamnes, kliniskt status, blodprovsanalys, radiologisk undersökning (i första hand CT), positronemissionstomografi (PET) och lungfunktionsundersökning (i första hand spirometri). Morfologisk diagnos eftersträvas alltid, och kan erhållas genom bronkoskopi, transthorakal biopsi/punktion, öppen eller videoassisterad (VATS) kirurgisk biopsi eller resektion samt diverse andra

provtagningmöjligheter vid förekomst av metastas i annat organ. Vid bronkoskopi kan utöver vanlig tångbiopsi, cytologisk bronkborste och bronksköljvätska mm även kryobiopsi, biopsi med elektromagnetisk navigation (SuperDimension) eller radiellt ultraljud samt ultraljudsledde finnålspunktion av lymfkörtlar eller tumör (EBUS, eller via esofagus, EUS) utföras. EBUS har på en del kliniker i princip helt ersatt mediastinoskopi i den preoperativa utredningen av lymfkörtlar.

I behandlingsarsenalen ingår utöver kirurgi även radioterapi (konventionell, typiskt som tillägg till annan behandling, eller stereotaktisk), kemoterapi, immunmodulerande terapi och medicinsk målriktad terapi. För flera läkemedel föreligger en varierande effekt och/eller biverkningsprofil mellan olika histologiska typer, vilket ställer stort krav på histologisk typning. Målriktad terapi, som bland annat innefattar tyrosinkinashämmare (TKI) vid aktiverande EGFR-mutation och ALK- eller ROS1-genrearrangemang, samt immunmodulerande läkemedel som PD-1/PD-L1-hämmare, har medfört att prediktiv molekylärpatologisk analys har fått stor betydelse vid de vanligaste typerna av lungcancer. Samtidigt som det är viktigt att säkerställa histologisk typ och ursprung, där immunhistokemiska färgningar ofta är nödvändiga, är det alltså viktigt att spara material för molekylärpatologisk analys.

IV. Patologins roll i den diagnostiska processen

Målet med den morfologiska diagnostiken är att fastställa om neoplastisk sjukdom föreligger och i så fall tumörens histologiska typ och ursprung samt förekomst av ev. behandlingsprediktiva förändringar, i syfte att vägleda behandling och prognosbedömning. För fall aktuella för operation ingår utöver preoperativ provtagning från tumören även undersökning av mediastinala lymfkörtlar. Peroperativt kan det vara aktuellt med fryssnitt från tumören för att bekräfta malignitet eller för undersökning av utbredning eller radikalitet.

Vid utredning av misstänkt lungcancer finns ett stort antal differentialdiagnoser. Att skilja epitelial primär malignitet i lunga från icke-epitelial malignitet, metastas eller reaktiva förändringar (fr.a. inflammatoriska och infektiösa tillstånd) kan vara mycket svårt, ibland omöjligt, på biopsi/cytologi. God anamnestisk information på remissen och multidisciplinärt arbetssätt är viktigt. Tilläggsanalyser har i de flesta fall inget värde för att skilja reaktiva förändringar från högt differentierad cancer (erfarenhetsmässigt kan FISH för ploidiundersökning på cytologiskt material vara av nytta). Förnyad provtagning bör alltid övervägas i oklara fall. Vidare krävs immunhistokemiska analyser av hög kvalitet då stor vikt läggs vid dessa i diagnostiken. Det finns ett stort antal faktorer som påverkar utfallet av immunhistokemiska färgningar och kan leda till falska resultat. Ansvaret för validering av färgningar och andra analyser ligger på den enskilda patologavdelningen.

För skivepitelcancer och neuroendokrina tumörer i lunga är dessutom möjligheten att bedöma ursprung begränsad även vid resektat eftersom morfologi och immunhistokemisk profil ofta inte är vägledande. Att bedöma om en tumör är ny/synkron eller recidiv/intrapulmonell metastas kan också vara mycket svårt; morfologi, immunhistokemi och molekylär analys kan idealt ge vägledning och multidisciplinär bedömning rekommenderas.

I normalfallet diagnostiseras ett prov av en patolog. Behovet av intern och/eller extern konsultation avgörs av ansvarig diagnostiker. Förnyad granskning av relevanta preparat bör ske inför multidisciplinär konferens (MDK). Eftergranskning kan också begäras av

behandlande läkare inför ställningstagandet till slutgiltig behandling om 1) PAD-svaret saknar fullständiga uppgifter som krävs för ställningstagande till behandling, 2) fallet primärt diagnostiserats av en patolog som inte har thoraxpatologisk eller cytologisk inriktning, eller 3) patienten önskar en "second opinion".

V. Aktuella provtyper

De vanligaste provtyperna vid lungtumörer framgår nedan (för provtagning från pleura, se KVASt-dokument Pleura).

Cytologi: Bronkborste, bronksköljvätska, sugkateter, ultraljudsledd finnålspunktion vid skopi (EBUS/EUS), transthorakal finnålspunktion, sputum.

Biopsi: Bronkbiopsi (tång- eller kryobiopsi), transthorakal mellannålsbiopsi.

Resektat: Kilexcision, segmentresektion, lobektomi, bilobektomi, pulmektomi.

VI. Anvisningar för provtagarens hantering av prover

Oavsett typ av prov (cytologi/biopsi/resektat) ska provmaterialet hanteras på så sätt att både immunhistokemisk färgning och molekylärpatologisk analys kan utföras.

Då provmaterialet ofta är begränsat vid utredning av lungcancer rekommenderas ett nära samarbete mellan remitterande kliniker och patologavdelningen för att upparbeta lokalt fungerande rutiner för provtagning/provhantering och för att öka andelen fall med tillräckligt utbyte för diagnostik/klassifikation inkl. erforderliga tilläggsanalyser. Åtgärder som kan underlätta för förbättrad provkvalitet inkluderar systematisk återkoppling till lungläkare eller radiolog som utför provtagning genom att patolog regelmässigt beskriver provets sammansättning, representativitet och kvalitet i PAD-svaret samt att kopia av PAD-svar sänds till radiolog som utför nålbiopsi. Ett alternativ är makrofotografering (biopsier) eller inscanning av prov (biopsier eller cytologi) som provtagare sedan får ta del av. Ytterligare ett sätt är s.k. rapid on-site evaluation (ROSE) där provtagaren själv eller patolog/cytodiagnostiker (på plats eller via länk) i samband med provtagningen bedömer utbytet, alikvoterar provet och gör en preliminärbedömning av representativitet och eventuellt diagnos.

Cytologi: Hantering av cytologiskt material måste till del styras av lokala rutiner upparbetade av provtagare och patologavdelning då analyser (som immunhistokemisk färgning) ibland behöver optimeras efter typ av fixering/preparering och då tekniska möjligheter och vana att arbeta med olika prepareringar kan skilja mellan olika patologavdelningar.

I grunden används direktutstryk och vätskebaserad cytologi vid cytologisk provtagning. Direktutstryk av cytologiskt material på glas lufttorkas före fixering eller spritfixeras direkt, och glaset ska märkas med vald metod (metod styr möjliga val av konventionella färgningar). Vid vätskebaserad cytologi tillsätts cellmaterialet i någon metanol-/etanolinnehållande lösning (CytoLyt, PreservCyt, CytoRich m.fl.). Hanks lösning är en annan vätska som fungerar väl för flödescytometri, vilket rekommenderas vid lymfomfrågeställning. Cytologimaterialet kan också tillsättas i koksalt (PBS fungerar också för flödescytometri), normosmolär BSA eller

formalin. Materialets hållbarhet i koksalt är begränsad, och provet bör då så snart som möjligt skickas till patologavdelning för vidare omhändertagande.

Normalt är två bra utstryksglas lämpligt och därefter övrigt material till vätskebaserad cytologi/koksalt/formalin. Vid provtagning är det ofta relativt enkelt med upprepad borstning eller upprepad aspiration vid finnålspunktion (EBUS mm), och man bör eftersträva rikligt material till vätskebaserad cytologi/koksalt/formalin (idealt minst 4-5 borstningar/aspirationer). Vid mer begränsade provtagningsmöjligheter bör vätskebaserad cytologi/koksalt/formalin oftast prioriteras eftersom de diagnostiska valmöjligheterna är större från dessa prepareringar.

Biopsi: Biopsier bör skickas i ofärgad pH-neutral buffrad 4%-ig formaldehydlösning (motsvarar 10%-ig formalin). För starkt eller för svagt formalin kan påverka resultatet av vissa analyser, vilket färgat formalin, som ibland används för att små preparat ska synas bättre på patologavdelningen, möjligen också kan göra. Vid bronkoskopi bör idealt minst 5 biopsier tas, och vid perkutan provtagning med mellannål idealt minst 3-4 biopsier.

Resektat: Resektat bör skickas färskt till patologavdelningen för möjlighet till tillvaratagande av färskt material för biobanking/forskning. Biobanking uppmuntras om det kan ske utan påverkan av den diagnostiska säkerheten. Tillvaratagande av färskt material för biobanking/forskning bör därför ske på patologavdelningen och inte utföras på resektat med mycket små tumörer eller på biopsi/cytologi. Om resektat skickas i formalin ska inremitterande tillse att preparatet är välfyllt och formalinmängden tillräcklig för god fixering (se detaljer under avsnitt VIII. Hantering av prover på patologlaboratoriet), men genomskärning av stor tumör för bättre fixering rekommenderas inte vid formalinfullnad på kirurgisk avdelning.

VII. Anamnestisk remissinformation

Av remissen ska följande framgå:

- Patientens namn och personnummer
- Remitterande enhet och läkare
- Känd smittfara (HIV, HBV, HCV, misstänkt tuberkulos)
- Om fryssnitt eller snabbsvar önskas och i så fall telefon-/sökarnummer
- Provtagningsdatum och klockslag
- Typ av fixering
- Typ av preparat (inkl. preparatförteckning om flera preparat)
- Klinisk bedömning/diagnos och relevanta tidigare PAD/CD, rtg/labfynd, tidigare sjukdomar, statusfynd, fynd i samband med provtagningen, information om rökning etc.
- Frågeställning

Det är av stor vikt att adekvat information om bedömning/fynd och frågeställning (inkl. om klinisk/radiologisk bild talar för primär lungtumör eller metastas) framgår av remissen, då detta kan styra val av tilläggsanalyser och bedömning. Omfattande information bör därför framgå redan vid första remiss oavsett om diskussion vid multidisciplinär konferens (MDK) planeras.

VIII. Hantering av prover på patologlaboratoriet

Utöver att möjliggöra adekvat diagnostik ska rutinerna för hanteringen på patologavdelningen (inkl. efterföljande analyser, diagnostik och utsvarande) medge att tid från ankomst av prov till slutsvar kan medföra rimlig total utredningstid för patienten. Särskilda rutiner för att åstadkomma korta svarstider är upp till patologavdelningen (t.ex. intern prioritering av utredningsprover/snabbsvarsförfarande, direkt snittning av biopsi för snabbare handläggning och för att undvika att slösa material vid ny snittning, molekylärpatologisk diagnostik parallellt med diagnostisk immunhistokemisk färgning etc.).

Om materialet vid utredning (cytologi, biopsi) inkommer till patologavdelningen vid samma tidpunkt, exempelvis efter bronkoskopi, är det en fördel om alla prover kan bedömas av samma patolog för val av bästa material för eventuell histokemisk/immunhistokemisk färgning och molekylärpatologisk analys då det visats att andelen fall med diagnosen ospecificerad icke-småcellig cancer (NSCC) minskar om cytologi och biopsi från samma patient undersöks av en och samma diagnostiker. Detta förfarande rekommenderas också i WHO-klassifikationen, men förutsätter att patologen är kompetent inom samtliga dessa områden. Likaså är det lämpligt att den patolog som diagnostiserar provet också ansvarar för att molekylärpatologisk utredning utförs och tolkas diagnostiskt och prediktivt i relation till provets representativitet och övriga histopatologiska/cytologiska och immunhistokemiska fynd.

Cytologi: Cytologiskt material i vätska omhändertas utifrån typ av vätska. Material i koksalt bör omhändertas relativt omgående och kan användas för utstryk, överförs till annan fixeringsvätska och/eller användas för direkt cellblockstillverkning som sedan fixeras. Material i formalin fixeras minst 12 h. Material i metanol-/etanolbaserad vätska (Cytolyt, PreservCyt, CytoRich m.fl.) fixeras minst 15-30 min före vidare automatisk processning (ThinPrep, SurePath) inkl. överföring av (del av) cellmaterial till glas.

Oavsett typ av fixering rekommenderas vid förekomst av malignitet tillverkning av cellblock (eller Cytospin) från resterande material. Vid tillverkning av cellblock kan man med fördel slå ihop material från flera provtagningar (inkl. Hanks lösning) för att maximera cellmängden. Direktutstryk från vätskan är också möjligt för immunfärgning (och går snabbare), men erfarenhetsmässigt räcker materialet till färre analyser med denna taktik. För cellmaterial i formalin och koksalt görs normalt cellblock direkt av hela materialet.

Slutresultaten från cellblockstillverkning är en paraffinbäddad cellpellet som kan användas på motsvarande sätt som kloss med biopsi. Det finns olika cellblocksmaskiner som använder metanol (Cellient) eller formalin (Shandon) som fixativ, men alla kan användas oavsett vilken typ av fixeringsvätska som använts initialt. Alternativt kan man skapa ett cellblock genom centrifugering och adhesion med plasma-thrombin eller HistoGel. Som för biopsi nedan gäller för cellblock att snittning bör ske med tunna snitt (2-3 mikrometer) på en mikrotom där varje snitt kan tillvaratas. Cytospin är ytterligare ett alternativ där cellerna centrifugeras till en pellet utan vidare fixering, paraffinbäddning eller snittning.

Biopsi: Biopsier fixeras idealt i 24 h i formalin. Kort fixeringstid (fr.a. <8 h) påverkar vissa immunhistokemiska färgningar negativt, medan lång fixeringstid (fr.a. >3 dagar) kan påverka vissa molekylära analyser. I syfte att utnyttja det ofta sparsamma materialet på bästa sätt rekommenderas att biopsierna delas upp i två-flera kassetter/klossar om flera biopsier tagits

vid ett provtillfälle för att materialet skall räcka till fler representativa snitt för immunhistokemi resp. molekylärpatologisk analys.

Initial nivåsnittning förbi biopsins maximala dimension bör inte utföras. Istället kan det enskilda laboratoriet välja mellan två strategier för optimalt biopsiutnyttjande, antingen försiktig första snittning ("touch and go") för vidare urval och prioritering, eller tillvaratagande av ofärgade numrerade seriella snitt (typiskt 12-20 stycken) där första och sista färgas med hematoxylin-eosin för representativitetskontroll. I det förstnämnda fallet bör ev. kompletterande analyser sambeställas och prioriteras så att kompletterande snittning kan utföras vid ett tillfälle då separat snittning vid olika tillfällen regelmässigt leder till vävnadsförlust. Oavsett strategi bör snittning ske med tunna snitt (2-3 mikrometer) på en mikrotom där varje snitt kan tillvaratas. Kompletterande nivåsnittning bör övervägas vid benigna fynd om försiktig första snittning utförts.

Resektat: Tillvaratagande av färskt material för biobankning/forskning bör, när aktuellt, utföras av patolog väl förtrogen med principer för utskärning och diagnostik och får inte riskera att påverka den diagnostiska säkerheten. Tillvaratagande rekommenderas därför inte vid för liten tumör (i allmänhet om storlek ≤ 1 cm, men får bedömas i det aktuella fallet) eller om tumörlokalisering eller annan omständighet kan medföra diagnostiska problem i senare skede.

Pleuranära tumör ska inte genomskäras från närliggande pleura då det kan försvåra senare utskärning och bedömning av pleurainvasion. Motsvarande ska central tumör nära resektionskanten inte genomskäras från bronksidan då det kan försvåra radikalitetsbedömning. Tumörstorlek bör mätas i samband med genomskärning för att säkerställa storleksmått om adekvat mätning inte skulle vara möjlig vid efterföljande utskärning.

Resektat bör fixeras i ofärgad pH-neutral buffrad 4%-ig formaldehydlösning (motsvarar 10%-ig formalin) helst minst 10-20 gånger preparatets volym. Man kan med fördel använda slang, spruta eller annan konstruktion för formalinfyllnad direkt i bronksystemet. Eventuellt kan man dessutom vid större tumörer spruta med kanyl direkt i tumörvävnaden och i peritumoral vävnad för att ytterligare förbättra fixeringen. Det sistnämnda är i princip alltid nödvändigt för god fixering vid kilexcision eller segmentresektion som inte har större luftväg tillgänglig för formalinfyllnad. Överfyllnad av preparat med formalin kan leda till artefaktmässig emfysembild och att alveolarmakrofager sköljs bort, varför formalinfyllnad bör ske tills en naturlig anatomisk form erhålls.

Vid stor tumör (≥ 5 cm, men ibland även av värde vid mindre tumörer) bör tumören genomskäras med ett eller flera snitt för bättre fixering om möjligt utan att inkräkta på radikalitetsbedömningen.

Resektat fixeras som regel i 48 h innan utskärning. Kortare tid är möjligt vid fr.a. små tumörer, medan längre kan vara aktuellt vid stora tumörer eller smittorisk, varvid byte av formalin bör ske. Kortare fixeringstid (< 24 h) påverkar vissa immunhistokemiska färgningar, medan längre fixeringstid (fr.a. > 3 dagar) kan påverka vissa molekylära analyser (alternativt inkluderar exempelvis att bit tas färskt för separat fixering exakt 24 h). Dålig fixering p.g.a. stor solid tumör där formalinet har svårt att tränga in påverkar såväl rutinmorfologi, immunhistokemiska färgningar som molekylära analyser.

IX. Utskärningsanvisningar

Preparatets sammansättning och mått noteras, liksom eventuella intraparenkymatösa suturrader och patologiska fynd såsom pleuraindragning, carcinosknottor och överväxt på pleura parietale eller andra kringliggande strukturer. Kritiska ytor som pleuraindragningar och resektionsränder bör färgmarkeras om behov för orientering efter avlägsnande av eventuella suturrader. Suturrader som påverkar säkerheten i bedömningen av radikalitet bör noteras (fr.a. tumörnära metallclips/staples).

Tumörens lokalisering noteras, liksom tumörstorleken, åtminstone största mått. Perifera tumörer skärs lämpligen vinkelrätt från närmast liggande pleurayta, medan centrala tumörer lämpligen skärs från bronksidan. Avståndet till bronkiell resektionsyta noteras, och vid central tumör även relation till icke pleurabeklädd mjukdelsresektionsyta mot mediastinum. Relation till övriga resektionsytor såsom intraparenkymatösa eller medresecerade intilliggande strukturer som pleura parietalis, delar av bröstorgsväggen, diafragma eller intilliggande lunglob noteras också.

Efter undersökning av huvudtumören undersöks övrig lungvävnad noggrant. Dels bör man leta efter ytterligare tumörer, dels notera om obstruktiv pneumoni eller atelektas (kan vara svårbedömt) föreligger och omfattningen av dessa. Till sist bör lungvävnaden undersökas avseende eventuell icke-neoplastisk komorbiditet som emfysem, interstitiell lungsjukdom mm.

Tillvaratagande av följande bitar rekommenderas:

- Tvärsnitt från bronkresektionskant
- Från tumör med största mått ≤ 3 cm bör hela tumören bäddas, annars bäddas 1 bit per påbörjad cm i största mått (dvs 4 bitar från tumör 3,1-4,0 cm) – för användning av storsnitt se nedan
- Från perifer tumör som återfinns ända fram till pleura (utan lungvävnad mellan tumör och pleura) ska flera tumörbitar tas mot pleura med snitt vinkelrätt mot pleuraytan för färgning med elastica-van Gieson (EVG) för bedömning av ev. pleurainvasion, men vid perifer tumör som inte återfinns ända fram till pleura räcker 1 bit med tumör mot närmsta pleurayta
- Från central tumör ska minst 1 av tumörbitarna tas med längsgående snitt i bronken (om tumör finns nära icke pleurabeklädd yta eller suturad invid bronk ska fler bitar med längsgående snitt tas härifrån, om behov för orientering efter tuskning, och ev. separat snitt från större kärl) för undersökning av bronkrelation och ev. dysplasi
- Vinkelräta snitt mot samtliga kritiska resektionsytor (bör tas om tumör < 10 mm från resektionskanten)
- Bitar från alla separata tumörsuspekta eller oklara förändringar i parenkym eller pleura
- Minst 1 bit perifert om tumör om central tumör vid misstanke om obstruktiv pneumoni
- 1-2 bitar normal lungvävnad per lob
- Samtliga framdissekerade lymfkörtlar på huvudpreparatet (noggrann dissektion längs bronker eller konsekutiva tvärsnitt rekommenderas) samt samtliga separat inskickade lymfkörtlar – om uppenbar metastas bäddas en bit per lymfkörtel, annars delas lymfkörtlarna i bitar och allt bäddas (rutinmässig nivåsnittning eller immunhistokemisk färgning rekommenderas inte), antalet lymfkörtlar behöver inte räknas

Storsnitt (i första hand supermegakassett) bör användas om tumören är större än ett helt centralt snitt (vid största tumördiameter) från tumören får plats i vanlig kassett eller om det bedöms som nödvändigt för att med säkerhet kunna avgöra tumörstorlek, utbredning (inkl. växt in i annan lob) eller andra fynd som påverkar stadium/handläggning. Storsnitt underlättar även bedömningen av största mått av invasion, vilket används för stadieindelning.

För kilexcision och segmentresektion utan större luftväg gäller samma principer för tumörbitar som vid perifer tumör ovan. I övrigt tas minst 1 bit mot resektionskant (vid behov för orientering tuschning efter borttagande av ev. suturrad), normal lungvävnad om möjligt (om resten av loben opererats ut efteråt är det oftast bättre att ta normal lungvävnad från denna), samt lymfkörtlar enligt ovan (lymfkörtlar brukar dock inte finnas på huvudpreparatet i dessa fall).

X. Analyser

Konventionella färgningar

Konventionella rutinfärgningar är basen vid diagnostik. Hematoxylin-eosin är rutinfärgning vid biopsi/resektat. Tillägg av elastica-van Gieson (EVG) eller motsvarande färgning som visualiserar de elastiska fibrerna i pleura ska användas vid resektat med pleuranära tumör. Mucinfärgning (i första hand perjodsyra-Schiff (PAS)-diastas eller alcian blue (AB)-PAS) är också aktuellt som tilläggsanalys som markör för adenokarcinom.

För cytologi används som regel May-Grünwald-Giemsa vid lufttorkade direktutstryk. Ett alternativ är snabbfärgning med Diff-Quik (modifierad Giemsa/Romanowski) för bedömning inom ett par minuter, men med något sämre morfologisk kvalitet. Direkt spritfixerade utstryk färgas normalt färgas med Papanicolau eller hematoxylin-eosin. Även specialfärgningar som mucinfärgning mm går att utföra på cytologiskt material. Cellmaterial från vätskebaserad cytologi färgas som spritfixerade glas, snitt från cellblock normalt med hematoxylin-eosin.

Immunhistokemiska färgningar

Immunhistokemisk färgning bör i de flesta fall användas som tillägg för att om möjligt avgöra histologisk typ och ursprung vid malign tumör i lunga. Störst betydelse torde immunhistokemi och andra tilläggsanalyser (främst mucinfärgning) ha för typning av lågt differentierad cancer, ursprungsbedömning av adenokarcinom samt verifiering av neuroendokrina tumörer. För övriga tumörer som mesoteliom, ovanligare primära epitheliala lungtumörer, mesenkymala tumörer, melanom, lymfocytära tumörer samt tumörer av ektopiskt ursprung är immunhistokemisk, flödescytometrisk och/eller molekylärpatologisk undersökning ofta avgörande för klassifikation.

Valet av immunpanel är emellertid komplext där även faktorer som det enskilda laboratoriets tillgång till uppsatta antikroppar och materialtillgång (som ofta är begränsat) starkt influerar sammansättning och dimension av panelen. Vidare är lungan det vanligaste organet för metastaser, och samtliga växtmönster inklusive lepidiskt kan imiteras av metastaser, varför hänsyn bör tas till den morfologiska bilden, patientens tidigare tumörhistoria, epidemiologisk situation (ålder, kön, riskfaktorer) samt till radiologisk och klinisk bild. Ett välfungerande multidisciplinärt samarbete är här av stor vikt för god handläggning.

I Appendix 1 finns kommentarer till diagnostik av vanliga tumörer i lunga, och i Appendix 2 återfinns immunhistokemiska färgningsmönster vid olika typer av lungcancer och några vanliga typer av metastaser.

Som markör för skivepitelcancer rekommenderas p40, CK5 eller CK5/6 (även p63 är markör för skivepitelcancer men p.g.a. låg specificitet är övriga tre att föredra). Vid tydlig bild som keratiniserande skivepitelcancer kan man överväga att inte utföra immunhistokemisk färgning. Vid skivepitelcancer finns i allmänhet mindre möjlighet att påvisa ursprung, möjligen med undantag för EBV- och HPV-associerade tumörer som oftast bör uppfattas som metastatiska i lungan och skivepitelcancer från thymus som brukar uttrycka CD5 och CD117.

Som markör för adenokarcinom i lunga rekommenderas TTF-1 eller napsin A. Även positiv mucinfärgning påvisar adenokarcinom, och kan vara aktuellt som tilläggsanalys.

Som neuroendokrina markörer rekommenderas CD56, synaptofysin och chromogranin A (INSM1 är en ny markör som också bör vara aktuell). Enligt WHO-klassifikationen rekommenderas tillägg av neuroendokrina markörer enbart vid morfologisk neuroendokrin bild (p.g.a. låg specificitet) och att en positiv markör räcker för diagnos neuroendokrin tumör i dessa fall. Eftersom samtliga markörer dock sällan är positiva vid högmaligna neuroendokrina tumörer (d.v.s. småcellig och storcellig neuroendokrin cancer) rekommenderas färgning med mer än en markör vid misstanke om dessa diagnoser. Ki67 ska utföras vid karcinoid på utredningsprov, och är ofta av värde om oklar typ av neuroendokrin tumör (Ki67 definierar inte typisk/atypisk lungkarcinoid, men skiljer oftast tydligt mellan karcinoid och höggradig neuroendokrin tumör). Vid neuroendokrina tumörer är möjligheten att bedöma ursprung begränsad då markörer som TTF-1 och CDX2 har relativt låg sensitivitet och specificitet.

För tumörer med oklar histologi som är negativa för adenokarcinom- och skivepitelmarkörer bör immunfärgning utföras för att påvisa epitelialt ursprung (t.ex. CKAE1/3, CK7, EpCAM). Även vidare diagnostisk immunhistokemisk färgning bör vara aktuellt om materialet tillåter för att om möjligt nå säkrare diagnos avseende typ och ursprung. Omfattande immunpaneler bör i normalfallet dock inte utföras före vävnad har tagits för prediktiv molekylärpatologisk analys. I normalfallet bör också immunfärgning och molekylär analys beställas samtidigt för att spara tid genom parallell testning vid icke-småcellig utan misstanke om metastas (se även nedan).

Behandlingsprediktiva analyser

Indikationen för målriktad terapi inkluderar avancerad icke-småcellig lungcancer med aktiverande mutation i EGFR (typiskt punktmutation eller deletion i vissa domäner) eller BRAF (V600E-mutation) eller genrearrangemang/translokation av ALK eller ROS1 (för ALK oftast inversion och fusion med EML4, för ROS1 ofta CD74, men flera andra partners förekommer). Indikationen för immunmodulerande terapi med PD-1- eller PD-L1-läkemedel inkluderar avancerad icke-småcellig lungcancer där det för vissa läkemedel krävs immunhistokemiskt test för PD-L1 som behandlingsunderlag (men nationellt rekommenderas test generellt då ett visst prediktivt värde kan finnas för fler läkemedel och då det sällan är känt vilka behandlingar som kan bli aktuella för patienten vid provtagningstillfället).

Det finns vetenskapligt underlag och klinisk erfarenhet av att påvisa molekylärgenetiska förändringar på både cytologiskt och histologiskt material, medan underlaget är begränsat för immunhistokemi för PD-L1 på cytologi. Lokal validering av prediktiva analyser (såväl immunfärgning som FISH och sekvensering) rekommenderas för cytologi då processning av

materialet kan skilja sig åt mellan avdelningar och kan påverka kvaliteten, se vidare nedan samt avsnitt XV. Kvalitetsarbete inom patologin.

Det finns olika metoder för att påvisa mutationer, t.ex. pyrosekvensering, massiv parallellsekvensering/NGS (next generation sequencing) och PCR-baserade metoder. Immunhistokemisk färgning och FISH har tidigare testats som alternativa metoder för EGFR-analys, men är idag inte behandlingsgrundande och rekommenderas därför inte. Genrearrangemang/translokation kan detekteras med t.ex. FISH, immunhistokemisk färgning eller RNA/RTPCR-baserade analyser. Idag finns tillräckligt underlag för ALK för att rekommendera immunhistokemi för detektion (med kompletterande FISH eller annan metod endast vid ej konklusivt resultat). Erfarenheter från bl.a. NordiQCs program för extern kvalitetskontroll (Run39, 2013) har visat svårigheter att optimalt påvisa ALK i lungadenokarcinom med klon ALK1 jämfört med klon 5A4 och D5F3, där den sistnämnda finns som CE-IVD-märkt kit och därför rekommenderas. För ROS1 kan immunhistokemi (klon SP384 eller D4D6) användas för screening men med bekräftande FISH eller RNA/PCR-baserad teknik vid positivt resultat.

Det finns olika tester för PD-L1 som använts i studier för de olika aktuella läkemedlen, med olika antikroppskloner testade på delvis olika plattformar och med olika cutoff-nivåer för positivt test. Minst 100 utvärderbara tumörceller rekommenderas oavsett test. Klon 28-8, 22C3 och SP263 finns som CE-IVD-märkta kit och är enligt nya jämförande studier så pass lika att vilken som bör kunna användas som grund för de tre läkemedlen kopplade till testerna (nivolumab, pembrolizumab, durvalumab). Detta medger också att det går att välja antikropp utprovad på den plattform som finns att tillgå på den enskilda patologavdelningen. Klon SP142 (kopplat till atezolizumab) skiljer sig däremot från övriga nämnda och bör inte ersätta eller ersättas av någon annan klon.

Generellt rekommenderas testning av all icke-småcellig lungcancer. Inklusionskriterier för testning på biopsi och cytologi generellt vara generösa, p.g.a. möjligheten av samplingartefakt vid heterogena tumörer och diagnostisk osäkerhet. T.ex. rekommenderas testning vid bild av storcellig neuroendokrin cancer på biopsi/cytologi. Som regel testas annars inte neuroendokrina tumörer eller cancer av spottkörteltyp vid säker diagnos. Förfrågan från kliniker och lokal rutin styr dock, och för patienter som aldrig rökt och/eller är yngre önskar kliniker oftast molekylärpatologisk analys oavsett typ av lungcancer (även NUT-analys om skivepitelcancer). Likaså får lokal rutin styra vad som är lämplig åtgärd om en eller flera analyser inte är möjliga att utföra. T.ex. kan komplettering med riktade fusionsgensanalyser bedömas vara av mindre värde om multiplex testning inte fungerat om skivepitelcancer har kunnat fastställas som diagnos. För en patient som bedöms som lämplig för målriktad terapi bör oftast nytt prov övervägas.

Testning direkt vid diagnos (reflextestning vid patologavdelningen) och i första hand parallellt med diagnostiska tilläggsanalyser rekommenderas starkt för rimliga svarstider och minimal vävnadsåtgång. Testning bör ske dels vid initial diagnos men även upprepas vid progress, recidiv eller metastas om patienten erhållit systemisk behandling och då särskilt om målriktad terapi givits. Behandlingstryck medför ofta klonal evolution och selektion inom tumören med uppkomst av resistens mot den primära terapin. Fynd av resistensfaktorer (v.b. med utvidgad resistenspanel) kan göra att ny målstyrd behandling kan väljas.

Utifrån dagens behandlingsstrategi och läkemedelsindikationer (i synnerhet då ett flertal aktuella läkemedel godkänts i första linjen) bör testningen omfatta åtminstone EGFR, KRAS,

BRAF, ALK, ROS1 och PD-L1. Värdet i att testa för KRAS (som relativt ofta är muterad i lungcancer) är att mutation i denna gen eller någon av EGFR/BRAF/ALK/ROS1 i princip inte förekommer samtidigt och att testutfallet för KRAS kan fungera som inbyggd kvalitetskontroll vid icke-småcellig cancer av icke-skivepiteltyp. Positiv KRAS-analys talar vid okänd, oklar eller negativ EGFR/BRAF/ALK/ROS1-analys för att målriktad terapi med dagens mediciner inte är aktuellt.

Utvecklingen är snabb inom målriktad terapi, och antalet intressanta markörer ökar hela tiden. Utöver de ovan nämnda bör även ERBB2 och MET (mutationer) samt RET och NTRK (translokationer) övervägas och kan behöva analyseras för vissa patienter (enligt internationella guidelines rekommenderas utökad analys vid negativ EGFR/KRAS/ALK/ROS1). Utöver den behandlingsgrundande EGFR T790M-mutationen kan även mutationer i ALK-genen och amplifiering av MET kan vara intressanta vid behandlingssvikt/resistens. Härav rekommenderas multiplexa analyser som t.ex. massiv parallellsekvensering med NGS. Den stora fördelen med denna teknik är att alla intressanta punktmutationer och (med moderna paneler/metoder) även genrearrangemang och amplifikationer kan analyseras för ett och samma prov. Åtgången av prov minskas radikalt och några få snitt från representativ mellannålsbiopsi räcker ofta för samtliga analyser. Vidare kan svarstiderna bli rimliga då fem arbetsdagar är tillräckligt för de flesta teknikerna.

Makrodissektion bör utföras vid behov för att uppnå adekvat tumörcellshalt i relation till testmetodens känslighetsnivå. Från paraffinbäddad vävnad får antalet vävnadsnitt anpassas så att erforderlig tumörmängd till analys uppnås. Vid biopsi och resektat är ett alternativ att karva respektive stansa ut vävnadsbitar ur paraffinblocket. Molekylärpatologisk analys (även FISH och immunhistokemisk färgning) går att utföra på cellutstryk från vätskebaserad cytologi eller via cellblock/Cytospin. Mutationsanalys går även att utföra på redan färgade cytologiska utstryk på glas (cellerna skrapas av och lyseras; eftersom diagnostiskt material då försvinner rekommenderas scanning av glas före; på vissa laboratorier finns erfarenhet att Giemsa-färgade glas är att föredra p.g.a. bättre bevarat DNA än Papanicolau-färgade glas). Fördelen med cellblock och lysering av befintliga glas är att bedömning av tumörcellshalt och mängd är enklare.

FISH är en ganska arbetskrävande metod som också kan vara tekniskt känslig och tar mer tid att utvärdera än t.ex. immunfärgning. Enligt erfarenhet kan de tekniska artefakter som ofta uppstår vid FISH av material med lång formalinfixering motverkas av proteasbehandling. Även kort formalinfixering påverkar kvaliteten, enligt erfarenhet fr.a. vid expressdehydrering. Massiv parallellsekvensering (eller annan teknik) med multipla fusionsgensanalyser, i stället för separat FISH för varje, har börjat införas i rutindiagnostiken. Även sekvensering kan vara känslig för (lång) överfixering, men här kan enzymatisk reversering av deaminering också nyttjas.

Cellfritt plasma-DNA (cfDNA; "liquid biopsies") är en snabb och provtagningsmässigt enkel metod som kan användas för påvisade av behandlingsprediktiva förändringar och resistensmutationer. Känsligheten är dock inte optimal och vid negativt test rekommenderas kompletterande vävnads- eller cellprov.

Multipla tumörer

För en patient med mer än en tumör kan det spela stor roll för handläggningen om det rör sig om separat synkron tumör eller metastas inom lunga. Likaså vid tidigare lungcancer blir handläggningen ofta olika vid recidiv respektive ny metakron tumör. I samband med arbetet

kring TNM8 har det kommit internationella rekommendationer om bedömning av multipla tumörer, men det behövs också mer data inom området.

Tumörer av olika histologisk typ betraktas normalt som synkrona/metakrona (men t.ex. kan transformation från icke-småcellig till småcellig cancer ses efter systemisk behandling). För synkrona/metakrona tumörer talar också mycket starkt skivepitelcancer med in situ-växt i båda samt adenokarcinom som är endast in situ eller minimalt invaderande. Avsaknad av lymfkörtel- och distansmetastaser samt olika uttryck av biomarkörer talar i viss mån för synkrona/metakrona tumörer, liksom även olika driver/trunk mutations/rearrangements (EGFR, BRAF, ALK och ROS1, medan KRAS är mer osäker).

För intrapulmonell metastas talar mutation med exakt samma breakpoint (möjligen behövs comparative genomic hybridization (CGH) för detta). För metastas talar i viss mån också förekomst av lymfkörtel- och distansmetastaser (i dessa fall spelar det dessutom sällan roll om två synkrona/metakrona varav en metastaserat eller allt samma tumör), samma uttryck av biomarkörer samt samma cellmorfologi/atypi och växtmönster (histologisk subtyp).

Synkrona/metakrona tumörer stadieindelas separat, och högsta T-stadium ska framgå tydligt. Det ligger således ett stort ansvar på diagnostiserande patolog att noga undersöka morfologi och utföra erforderliga tilläggsanalyser vid denna frågeställning (molekylär testning av båda tumörer bör ofta vara aktuellt i fall där det inte är uppenbart metastas/recidiv). Det är dock långt ifrån alltid möjligt att på endast patologisk bas avgöra om synkron/metakron tumör eller metastas/recidiv, och generellt rekommenderas multidisciplinär bedömning av dessa fall.

XI. Rekommenderade klassifikationssystem

För histologisk indelning av lungtumörer ska senaste WHO-klassifikation användas, idag klassifikationen från 2015. I den aktuella klassifikationen refererar man även till en tidigare tilläggspublicering från 2011 av IASLC/ATS/ERS för terminologi mm vid små material (biopsi/cytologi) och 2019 kom en tilläggspublicering rörande diagnostiska immunfärgningar vid lungcancer. För stadieindelning ska TNM8 användas. I Appendix 3 och 4 finns sammanfattning av klassifikation/nomenklatur respektive stadieindelning.

XII. Information i remissens svarsdel

Förslag på svarsmallar för cytologi/biopsi, resektat respektive behandlingsprediktiv molekulär analys återfinns i avsnitt XIII. Svarsmallar. Svarsmallarna får anpassas till lokala förhållanden och bör betraktas som minsta nödvändiga data att rapportera (i mallarna finns även rekommenderade men ej obligatoriska rubriker). Kommentarer till rubrikerna i svarsmallarna återfinns nedan.

Cytologi/biopsi:

Preparatbeskrivning – anges i enlighet med remiss (t.ex. ”bronkborste vänster ovanlob”).

Representativt material för lokalen – gäller i första hand för cytologi, men kan också anges för biopsi. För representativ bronkborste och bronksköljvätska krävs förekomst av respiratoriskt epitel, för sputum förekomst av alveolarmakrofager. För representativ ultraljudsledd punktion av lymfkörtlar (EBUS, EUS) krävs något av: ett högförstoringssynfält (x40 objektiv) med

minst 40 lymfocyter, >5 lågförstoringssynfält (x10 objektiv) med minst 100 lymfocyter i vardera, kluster av pigmenterade histiocyter/makrofager eller granulom. Föreslagna kriterier är framtagna för utstryksglas, men de två sistnämnda går att applicera även på vätskebaserad cytologi utan ändring, medan antal lymfocyter per synfält sannolikt inte går att översätta rakt av (jämförande data och riktlinjer saknas, men rimligen kan även vätskebaserad cytologi vara grund för representativitetsbedömning på basen av lymfocytantal). För alla provtyper motiverar förekomst av tumör representativet. För pleuraexsudat hänvisas till KVASt-dokument Pleura.

Fynd – vid förekomst av tumör ska histologisk typ anges enligt Appendix 3. Att ange subtyp för adenokarcinom är inte nödvändigt (korrelation mellan dominerande växtmönster och prognos finns visat på resektat endast).

Molekylär analys utförd – om molekylärpatologisk analys är utförd på tidigare preparat, om analys beställs på aktuellt preparat eller om det aktuella preparatet är olämpligt för molekylärpatologisk analys bör anges. En samlad bedömning av samtliga tillgängliga prov på patienten kan med fördel göras och anges under denna rubrik.

Resektat:

Preparatbeskrivning – anges i enlighet med remiss (t.ex. ”vänster ovanlob”). Uppmätt storlek kan med fördel anges. Särskilda makroskopiska fynd av betydelse, såsom suturrader eller märkningar, makroskopisk pleuraindragning, medföljande revben etc. rapporteras här.

Tumörlokalisering och utbredning – perifer/central/annan lokalisering anges. Utbredning avser överväxt på revben, mediastinum etc. samt förekomst av metastas till samma eller annan lob.

Tumörstorlek (invasiv del specificerat) – åtminstone största mått för invasiv del ska anges. Största mått för invasiv plus lepidisk del bör dock anges om lepidisk växt finns för att underlätta jämförelse med radiologisk bild. Tumörstorlek avser enligt TNM invasiv del (perifer lepidisk komponent och spridning via luftrum/STAS ingår alltså inte i måttet), vilket ofta mäts enklast mikroskopiskt, men vid tumör utan lepidisk växt motsvarar mikroskopiskt mått som regel det makroskopiska. Notera att för invasivt mucinöst adenokarcinom gäller total storlek (inkl. lepidisk växt men exkl. spridning via luftrum/STAS). Vid diskrepans mellan makro- och mikroskopisk bedömning eller om det är svårt att uppskatta tumörstorleken efter makro- och mikroskopisk bedömning (t.ex. multipla invasiva foci samt lepidisk växt) bör ett mått för invasiv tumörstorlek anges efter bästa uppskattning och jämförelse med radiologisk bild göras.

Histologisk typ – vid förekomst av tumör ska histologisk typ anges enligt Appendix 3. Vid neoadjuvant behandling, fr.a. i fall med mycket lite kvarvarande cancer, får hänsyn tas till att det kan vara svårt att ange typ lika exakt som annars eller jämfört med preoperativ utredning.

Histologisk subtyp – subtyp för neuroendokrina tumörer ska alltid anges, i övrigt bör subtyp idealt anges enligt Appendix 3.

Histologisk grad – för adenokarcinom räknas minimalt invaderande (icke-mucinöst och mucinöst) och lepidiskt adenokarcinom som låg grad, acinärt och papillärt som medelhög grad och mikropapillärt, solitt och invasivt mucinöst som hög grad. Det finns dock ingen konsensus om dominerande, värsta eller någon kombination vid flera växtmönster bör

användas vid gradering. Då hög grad är prognostiskt ogynnsamt kan det rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta, och i nuläget kan dominerande och värsta grad med fördel anges. Något relevant graderingssystem för skivepitelcancer finns idag inte. Småcellig cancer, storcellig neuroendokrin cancer och storcellig cancer graderas inte heller (dessa motsvarar höggradig tumör).

Invasion av visceral pleura – ingen eller förekomst av tumör genomväxt av visceral pleura elastica interna (PL1) ska anges, liksom tumörinvasion i parietal pleura (PL3) i förekommande fall. Tumörväxt på själva pleuraytan men utan invasion i parietal pleura (PL2) är prognostiskt ogynnsamt och kan därför med fördel rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta.

Radikalitet/marginaler – avstånd till bronkresektionskant anges, liksom andra relevanta marginaler i förekommande fall. Ingen eller förekomst av tumörväxt i bronkresektionskanten ska anges. Föreslagen terminologi kan med fördel användas: R0, fri marginal; R1, mikroskopiskt ej fri marginal (oavsett lokal, t.ex. periglandulär växt ut i kanten); R2, makroskopiskt ej fri marginal. Run har föreslagits beteckna osäker marginal och även inkludera fall där systematisk lymfkörtelutrymning inte utförts samt fall där ”högsta nivå” av lymfkörtlar uppvisar metastas.

Behandlingseffekt (vid neoadjuvant behandling) – vid neoadjuvant behandling anges lämpligen om ingen viabel tumörvävnad ses eller om $<10\%$ eller $\geq 10\%$ av mikroskopiskt undersökt yta utgörs av viabel tumör (yta av nekros och fibros efter behandling räknas som icke-viabel tumör).

(Misstanke om) tumörassocierad atelektas eller obstruktiv pneumoni – misstanke om något av dessa två tillstånd ska rapporteras eftersom det kan påverka stadiet vid små tumörer, men fr.a. atelektas är svårbedömt histopatologiskt och korrelation till radiologisk bild bör göras.

Lymfovaskulär invasion (LVI) – lymfovaskulär inväxt är prognostiskt ogynnsamt och kan därför med fördel rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta (utifrån sistnämnda förhållande rekommenderas inte rutinmässig färgning avseende lymfkärl).

Spridning via luftrum (STAS) – spridning via luftrum (spreading through air spaces) innebär mikropapillära kluster, solida nästen eller enskilda tumörceller etc. som ligger fritt i alveolarrummen nära eller längre ifrån tumören (dvs allt utanför tumörfrenten). Detta är prognostiskt ogynnsamt och kan därför med fördel rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta.

Undersökta lymfkörtelstationer – samtliga undersökta lymfkörtelstationer anges enligt gängse positionsnumrering som ska framgå av remissen. Lymfkörtlar framdissekerade från lungresektatet (typiskt position 12-14, men beror på typ av operation och teknik) anges lämpligen som ’lymfkörtlar från huvudpreparatet’ utan vidare numrering. Antal lymfkörtlar från varje position behöver inte anges (separat inskickade lymfkörtlar kommer ofta i bitar, vilket omöjliggör räkning).

Förekomst av lymfkörtelmetastaser (specificera position) – i vilka lymfkörtelpositioner metastas återfinns ska rapporteras. Lymfkörtlar framdissekerade från lungresektatet anges enligt ovan. Notera att direktöverväxt på lymfkörtel räknas som metastas, liksom tumörväxt i vad som bedöms vara undergången/tumörömvandlad lymfkörtel (metastas till själva

lungvävnaden påverkar T- eller M-stadium i stället). Notera att isolated tumour cells (ITC; ≤ 0.2 mm) ska rapporteras men inte påverkar stadiet, se Appendix 6. Notera att spottkörtlar och mesotelceller är exempel på benigna strukturer i thorakala lymfkörtlar som inte får misstas för tumör.

Stadium (pTNM) – stadium anges i enlighet med TNM8 som finns sammanfattad i Appendix 4.

Molekylär analys utförd – om molekylärpatologisk analys är utförd på tidigare preparat, om analys beställs på aktuellt preparat eller om det aktuella preparatet är olämpligt för molekylärpatologisk analys kan med fördel anges.

Patologiska fynd i övrig lungvävnad – metaplasi och/eller dysplasi i bronker, emfysem, fibros, inflammation, organiserande pneumoni, granulomatos etc. med beskrivning av omfattning/utbredning kan med fördel anges.

Övrigt – övriga noteringar inkluderar t.ex. fynd i extra preparat (biopsier från t.ex. pleura eller mediastinum; obligatorisk rapportering), dålig fixering av preparatet, förekomst av suturrader som påverkat utskärning/bedömning, perineural tumörväxt etc.

Prediktiv molekylärpatologisk analys:

Provnummer – Lab-ID/PAD-nummer inkl. klossnummer för analyserat material anges.

Provtyp och fixeringsmetod – cytologi/biopsi/resektat respektive färsk/fryst/formalinfixerad paraffinbäddad vävnad eller motsvarande anges (notera särskilt typ av urkalkningsmetod om detta använts). Tidigare ställd diagnos inkl. om metastas/primärtumör/oklart kan också anges.

Re-test (ja/nej) – re-test kan anges och innebär att samma analys finns tidigare utförd (som t.ex. vid nytt test för att undersöka resistensmekanism vid känd EGFR-mutation).

Ev. tumörcellsseparation – manuell makrodissektion etc. anges.

Tumörcellshalt (%) – bedömd tumörcellshalt anges i procent.

Testmetod – testmetod inkl. DNA-extraktionsmetod samt testade genetiska förändringar eller motsvarande anges. För PD-L1 anges antikropp (kit) och plattform.

Testresultat – genetiska förändringar anges enligt www.hgvs.org (t.ex. "c.35G>A, p.Gly12Ala"). För PD-L1 anges infärgade tumörceller där skalan <1%, 1-4%, 5-9%, 10-24%, 25-49%, 50-74%, 75%+ rekommenderas.

Kommentar – avser ev. tolkningsproblem eller andra kommentarer av värde.

Värdering – fyndens betydelse i förhållande till klinisk frågeställning anges (t.ex. "analysresultaten talar för/emot behandlingssvar vid terapi med anti-EGFR-antikroppar"). Värdering anges inte för PD-L1.

XIII. Svarsmallar

Svarsmall biopsi/cytologi

Preparatbeskrivning:

Representativt material för lokalen:

Fynd:

Molekylär analys utförd:

Svarsmall resektat

Preparatbeskrivning:

Tumörlokalisering och utbredning:

Tumörstorlek (invasiv del specificerat):

Histologisk typ:

*Histologisk subtyp:

*Histologisk grad:

Invasion (genomväxt) av visceral pleura:

Radikalitet/marginaler:

*Behandlingseffekt (vid neoadjuvant behandling):

(Misstanke om) tumörassocierad atelektas eller obstruktiv pneumoni:

*Lymfovaskulär invasion (LVI):

*Spridning via luftrum (STAS):

Undersökta lymfkörtelstationer:

Förekomst av lymfkörtelmetastaser (specificera position):

Stadium (pTNM):

Molekylär analys utförd:

*Patologiska fynd i övrig lungvävnad:

*Övrigt:

(* = ej obligatoriskt)

Svarsmall prediktiv molekylärpatologisk analys

Provnummer:

Provtyp och fixeringsmetod:

*Re-test (ja/nej):

**Ev. tumörcellsseparation:

**Tumörcellshalt (%):

Testmetod:

Testresultat:

Kommentar:

*Värdering:

(* = ej obligatoriskt; ** = ej obligatoriskt vid morfologiska tester som immunfärgning och FISH)

XIV. Administrativt

SNOMED-koder

Följande T-koder är i första hand aktuella:

T26 bronk

T28 lunga

T083 thorakal lymfkörtel

M-koder som i första hand är aktuella återfinns i Appendix 3 (för fullständig förteckning hänvisas till WHO-klassifikationen från 2015).

Provtypsbeteckningar

Provtypsbeteckningar skiljer mellan olika patologavdelningar och även om enhetlighet vore optimalt så spelar den exakta beteckningen inte någon vidare roll. Det är vilka prover som beteckningarna omfattar som är det viktiga för att jämförelse mellan patologavdelningar (inkl. kvalitetsindikatorer) ska kunna ske. En ännu mer detaljerad uppdelning bör följaktligen inte medföra några problem medan det motsatta kan göra det. För att kunna ge exempel listas dock här förslag på provtypsbeteckningar som i första hand bör vara aktuella inom området:

BOR bronkborste

BRO bronksköljvätska

EBUS finnålsaspirat vid EBUS/EUS

FNA finnålsaspirat

SPU sputum

P bronkbiopsi, transthorakal mellannålsbiopsi, lymfkörtelbiopsi vid mediastinoskopi

X excision av lymfkörtlar vid operation

R kilexcision, segmentresektion, lobektomi, bilobektomi

E pulmektomi

Exempel bronkborste med småcellig cancer:

BOR, T26, M80413

Exempel transthorakal mellannålsbiopsi med adenokarcinom:

P, T28, M81403

Exempel lobektomi samt lymfkörtelutrymning med skivepitelcancer med lymfkörtelmetastas:

R, T28, M80703 plus X, T083, M80706

Förslag på kvalitetsindikatorer

Se separat tilläggsdokument Kvalitetsindikatorer och svarstider thorax.

Rekommenderade svarstider

Se separat tilläggsdokument Kvalitetsindikatorer och svarstider thorax.

Möjlig delegation

Förgranskning och besvarande av benigna cytologiska prover från lunga kan delegeras till cytodiagnostiker. EBUS-prover samt maligna och oklara fynd bör dock även granskas av thoraxcytologiskt kompetent patolog. Utskäring av thorakala lymfkörtlar kan delegeras till BMA. Granskning av prediktiva molekylärpatologiska analyser (immunhistokemisk färgning, FISH, mutationsanalys) kan utföras av annan yrkeskategori, men resultat bör bekräftas av molekylärt kompetent patolog.

XV. Kvalitetsarbete inom patologi

Kvalitet färgningar/analyser

Ansvar för validering av färgningar och andra analyser ligger på den enskilda patologavdelningen, och ett systematiskt internt kvalitetsarbete är en förutsättning för högkvalitativ diagnostik. Vidare bör samtliga patologavdelningar delta i program för extern kvalitetskontroll av analyser (t.ex. NordiQC). Utifrån antalet möjliga metodologiska variabler vid immunhistokemiska färgningar och andra analyser är lokal validering av varje analys en förutsättning för kvalitetskontroll.

Kontrollvävnad för immunhistokemiska färgningar bör användas på varje glas, och bör idealt utgöras av relevant normalvävnad (undantaget färgningar där positiv normalvävnad inte finns) med negativ, låg- och högexpressor som är hanterat och preparerat på samma sätt som provmaterialet.

Protokoll för immunhistokemiska färgningar är normalt utprovade på formalinfixerat histologiskt preparat, och för cytologi ska immunfärgningsprotokollen vid behov optimeras för denna typ av material. Utöver att vätskebaserad cytologi tillåter ytterligare preparation från kvarvarande cellmaterial i vätskan för immunhistokemisk färgning, FISH eller molekylärpatologisk analys (via cellblock/Cytospin eller direktutstryk resp. lysat) har andra kvalitativa fördelar lyfts fram, såsom att erythrocyter kan tvättas bort och att morfologin kan bli tydligare. Om första medlet cellerna fixeras i är metanol/etanol-baserat (vilket gäller en del vätskebaserad cytologi) kan vissa immunhistokemiska färgningar påverkas kvalitetsmässigt (t.ex. S100 och TTF-1, risk falskt negativ i vissa studier, men stora studier saknas).

Cytologiskt material kan fixeras i formalin som första medium, men en potentiell nackdel är att kvaliteten vid mutationsanalyser kan påverkas (formalininducerad DNA-fragmentering och skador riskerar att påverka sparsamt cytologiskt material mer än biopsi/resektat) och att extra ”tvättning” av materialet kan behövas. Detta gäller oavsett var i processen formalin används.

För nya mediciner riktade mot specifik tumör genetisk förändring (t.ex. tyrosinkinashämmare mot EGFR, BRAF eller ALK/ROS1) krävs enligt riktlinjer validerade och robusta tester utförda vid avdelning/laboratorium med erforderlig kunskap om dessa analyser. Vid behandlingsprediktiva analyser uppfattas generellt valideringskraven som extra höga och en ackrediterad analys bör starkt eftersträvas. Många tillverkare tillhandahåller idag tester med hög valideringsgrad (CE-IVD-märkta kit etc.) och vid utnyttjande av dylika tester blir ansvaret för den lokala valideringen klart mindre. Molekylärpatologiska analyser kan fungera utmärkt på cytologiskt material, men lokal validering bör utföras (validering/klinisk erfarenhet har lokalt – på en avdelning – t.ex. visat fler falskt negativa fall vid immunhistokemisk färgning för ALK för cytologi än biopsi, medan erfarenhet också visat mer lättolkad FISH på osnittat cytologiskt material).

Kvalitet diagnostik

Målsättningen är att thoraxinriktade patologer ska vara kompetenta inom cytologi och molekylärpatologi för att kunna handlägga samtliga prover från en patient i samtliga steg i den diagnostiska processen. Thoraxinriktade patologer bör regelbundet delta i kurser och konferenser inom thoraxpatologi eller angränsande områden.

Samtliga patologavdelningar ska delta i Equalis-utskick rörande thoraxpatologi, och alla patologer som självständigt besvarar prover från thorax bör delta i Equalis-utskick gällande thorax. Thorax-KVAST-gruppen ansvarar för framtagande av fall till Equalis-utskick.

Patologer som självständigt besvarar prover från thorax bör också ta del av relevanta anmälningsärenden från hela landet, samt delta i lokal intern kvalitetskalibrering (t.ex. regelbundet återkommande individuell eller gemensam granskning av utvalda fall och/eller intern uppdatering av nyheter inom området).

Vidare bör en nationell digital bilddatabas upprättas för samling av typfall och ovanliga fall inom thorax.

XVI. Övrigt

Klinisk organisation som granskat och godkänt dokumentet

Svenska lungcancerstudiegruppen (SLUSG)

Länk till nationellt vårdprogram (NVP)

<https://www.cancercentrum.se/samverkan/cancerdiagnoser/lunga-och-lungsack/vardprogram/>

Multidisciplinär konferens (MDK)

Vid lungcancerutredning finns ofta ett flertal prover från bronkoskopi samt ev. ytterligare från transthorakal punktion, pleuraexsudat och extrathorakala metastaser. Det rör sig oftast om såväl histopatologiska som cytologiska prover. Lungan är också det vanligaste organet för metastaser, och all klinisk/radiologisk/epidemiologisk/tumörhistorisk information finns inte alltid tillgänglig för patologen i den diagnostiska situationen (även om så omfattande information som möjligt är önskvärt redan vid första remiss). Av detta skäl är det viktigt att en konsensusdiagnos baserad på allt tillgängligt material ställs i samband med MDK. Vid detta tillfälle kan även beslutas om eventuell ytterligare diagnostik beträffande tumörtyp, ursprung och molekylär prediktion är önskvärt.

XVII. Referenser

Klassifikationssystem

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al (Eds). WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart, 4th edition. IARC Press, Lyon: 2015.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lung cancer/American thoracic society/European respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol 2011;6:244-285.

[https://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)31930-4/fulltext](https://www.jto.org/article/S1556-0864(15)31930-4/fulltext)

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. J Thorac Oncol 2019;14:377-407.

[https://www.jto.org/article/S1556-0864\(18\)33514-7/fulltext](https://www.jto.org/article/S1556-0864(18)33514-7/fulltext)

Rami-Porta R (Ed). Staging handbook in thoracic oncology, 2nd edition. Editorial Rx Press, North Fort Meyers (FL): 2016.

Travis WD, Asamura H, Bankier AA, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Coding T Categories for Subsolid Nodules and Assessment of Tumor Size in

Part-Solid Tumors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11:1204-1223.

Edwards JG, Chansky K, Van Schil P, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Analysis of Resection Margin Status and Proposals for Residual Tumor Descriptors for Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2020;15:344-359.

Internationella kvalitetsdokument

College of American Pathologists (CAP). Cancer protocols.

http://www.cap.org/web/oracle/webcenter/portalapp/pagehierarchy/cancer_protocol_template_s.jsp?_afLoop=502736797600562#!%40%40%3F_afLoop%3D502736797600562%26_adf.ctrl-state%3D12y7ja6ad1_4

Royal College of Pathologists (RCPATH). Datasets and tissue pathways.

<https://www.rcpath.org/profession/publications/cancer-datasets.html>

Epidemiologi

Socialstyrelsen (SoS). Statistikdatabas för cancer.

<http://www.socialstyrelsen.se/statistik/statistikdatabas/cancer>

Socialstyrelsen (SoS). Cancer i siffror 2018. Populärvetenskapliga fakta om cancer.

<https://www.socialstyrelsen.se/Lists/Artikelkatalog/Attachments/20976/2018-6-10.pdf>

World Health Organization (WHO). The top 10 causes of death.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>

International Agency for Research on Cancer (IARC). Cancer fact sheets.

http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx

Diagnostiska markörer

Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer. *Hum Pathol* 2014;45:926-934.

Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 2010;41:20-25.

Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 (Δ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Modern Pathology* 2012;25:405-415.

Chang YL, Lee YC, Liao WY, et al. The utility and limitation of thyroid transcription factor-1 protein in primary and metastatic pulmonary neoplasms. *Lung Cancer* 2004;44:149-157.

Gomez-Fernandez C, Mejias A, Walker G, et al. Immunohistochemical expression of estrogen receptor in adenocarcinomas of the lung: the antibody factor. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:137-141.

Gremel G, Bergman J, Djureinovic D, et al. A systematic analysis of commonly used antibodies in cancer diagnostics. *Histopathology* 2014;64:293-305.

- Kadota K, Nitadori J, Rekhtman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1170-1180.
- Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology* 2000;36:415-420.
- Kim MJ, Shin HC, Shin KC, et al. Best immunohistochemical panel in distinguishing adenocarcinoma from squamous cell carcinoma of lung: tissue microarray assay in resected lung cancer specimens. *Ann Diagn Pathol* 2013;17:85-90.
- La Rosa S, Chiaravalli AM, Placidi C, et al. TTF1 expression in normal lung neuroendocrine cells and related tumors: immunohistochemical study comparing two different monoclonal antibodies. *Virchows Arch* 2010;457:497-507.
- Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2011;35:816-826.
- Liu H, Shi J, Wilkerson ML, et al. Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2012;138:57-64.
- Lyda MH, Weiss LM. Immunoreactivity for epithelial and neuroendocrine antibodies are useful in the differential diagnosis of lung carcinomas. *Hum Pathol* 2000;31:980-987.
- Ma Y, Fan M, Dai L, et al. Expression of p63 and CK5/6 in early-stage lung squamous cell carcinoma is not only an early diagnostic indicator but also correlates with a good prognosis. *Thorac Cancer* 2015;6:288-295.
- Masai K, Tsuta K, Kawago M, et al. Expression of squamous cell carcinoma markers and adenocarcinoma markers in primary pulmonary neuroendocrine carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013;21:292-297.
- Matoso A, Singh K, Jacob R, et al. Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:142-149.
- Micke P, Botling J, Mattsson JSM, et al. Mucin staining is of limited value in addition to basic immunohistochemical analyses in the diagnostics of non-small cell lung cancer. *Sci Rep.* 2019;9:1319.
- Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2014;38:13-22.
- Mukhopadhyay S, Dermawan JK, Lanigan CP, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) is a sensitive and highly specific marker of neuroendocrine differentiation in

primary lung neoplasms: an immunohistochemical study of 345 cases, including 292 whole-tissue sections. *Mod Pathol.* 2019;32:100-109.

Nagashio R, Ueda J, Ryuge S, et al. Diagnostic and prognostic significances of MUC5B and TTF-1 expressions in resected non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 2015;5:8649.

Nicholson SA, Beasley MB, Brambilla E, et al. Small cell lung carcinoma (SCLC): a clinicopathologic study of 100 cases with surgical specimens. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1184-1197.

Nonaka D. A study of Δ Np63 expression in lung non-small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2012;36:895-899.

Ordóñez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2000;24:1217-1223.

Pelosi G, Fraggetta F, Pasini F, et al. Immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in stage I non-small cell carcinomas of the lung. *Am J Surg Pathol* 2001;25:363-372.

Pelosi G, Rossi G, Cavazza A, et al. Δ Np63 (p40) distribution inside lung cancer: a driver biomarker approach to tumor characterization. *Int J Surg Pathol* 2013;21:229-239.

Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol* 2011;24:1348-1359.

Rooper LM, Sharma R, Li QK, et al. INSM1 demonstrates superior performance to the individual and combined use of synaptophysin, chromogranin and CD56 for diagnosing neuroendocrine tumors of the thoracic cavity. *Am J Surg Pathol.* 2017;41:1561-1569.

StAAF J, Tran L, Söderlund L, et al. Diagnostic Value of Insulinoma-Associated Protein 1 (INSM1) and Comparison With Established Neuroendocrine Markers in Pulmonary Cancers: A Comprehensive Study and Review of the Literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2020 (in press).

Stenhouse G, Fyfe N, King G, et al. Thyroid transcription factor 1 in pulmonary adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 2004;57:383-387.

Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, et al. Expression of thyroid transcription factor-1 in the spectrum of neuroendocrine cell lung proliferations with special interest in carcinoids. *Hum Pathol* 2002;33:175-182.

Tacha D, Yu C, Bremer R, et al. A 6-antibody panel for the classification of lung adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012;20:201-207.

Tatsumori T, Tsuta K, Masai K, et al. p40 is the best marker for diagnosing pulmonary squamous cell carcinoma: comparison with p63, cytokeratin 5/6, desmocollin-3, and sox2. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2014;22:377-382.

Turner BM, Cagle PT, Sainz IM, et al. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136:163-171.

Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Comparison of three different TTF-1 clones in resected primary lung cancer and epithelial pulmonary metastases. *Am J Clin Pathol*. 2018;150:533-544.

Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol*. 2019;84:221-230.

Wang LJ, Greaves WO, Sabo E, et al. GCDFP-15 positive and TTF-1 negative primary lung neoplasms: a tissue microarray study of 381 primary lung tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2009;17:505-511.

Warth A, Muley T, Herpel E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology* 2012;61:1017-1025.

Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, et al. 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* 2012;136:155-162.

Yang M, Nonaka D. A study of immunohistochemical differential expression in pulmonary and mammary carcinomas. *Mod Pathol* 2010;23:654-661.

Ye J, Hameed O, Findeis-Hosey JJ, et al. Diagnostic utility of PAX8, TTF-1 and napsin A for discriminating metastatic carcinoma from primary adenocarcinoma of the lung. *Biotech Histochem* 2012;87:30-34.

Molekylära analyser och målriktad terapi

Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010;363:1693-1703.

Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13:323-358.

My Cancer Genome. Molecular profiling of lung cancer.

<https://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/>

Nordic immunohistochemical Quality Control (NordiQC). Assessment Run 51, 2017. Lung Anaplastic Lymphoma Kinase (lu-ALK).

http://www.nordiqc.org/downloads/assessments/90_14.pdf

Rosell R, Moran T, Queralt C, et al; Spanish Lung Cancer Group. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009;361:958-967.

Thunnissen E, Bubendorf L, Dietel M, et al. EML4-ALK testing in non-small cell carcinomas of the lung: a review with recommendations. *Virchows Arch* 2012;461:245-257.

Immunmodulerande terapi

Janusinfo, Stockholms läns landsting. NT-rådets yttrande till landstingen gällande PD1-hämmarna Keytruda (pembrolizumab), Opdivo (nivolumab) och PD-L1-hämmaren Tecentriq (atezolizumab) för behandling av icke-småcellig lungcancer i andra linjen.

<https://janusinfo.se/download/18.1dfa69ad1630328ad7c5e8a/1535626614716/Keytruda-Opdivo-Tecentriq-NSCLC-andra-linjen-180220.pdf>

Brunnström H, Johansson A, Westbom-Fremer S, et al. PD-L1 immunohistochemistry in clinical diagnostics of lung cancer: inter-pathologist variability is higher than assay variability. *Mod Pathol*. 2017;30:1411-1421.

Lantuejoul S, Damotte D, Hofman V, Adam J. Programmed death ligand 1 immunohistochemistry in non-small cell lung carcinoma. *J Thorac Dis*. 2019;11:S89-S101.

Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, et al. PD-L1 Testing for Lung Cancer in 2019: Perspective From the IASLC Pathology Committee. *J Thorac Oncol*. 2020;15:499-519

Koomen BM, Badrising SK, van den Heuvel MM, Willems SM. Comparability of PD-L1 immunohistochemistry assays for non-small cell lung cancer: a systematic review. *Histopathology*. 2020;76:793-802.

Skov BG, Skov T. Paired comparison of PD-L1 expression on cytologic and histologic specimens from malignancies in the lung assessed with PD-L1 IHC 28-8pharmDx and PD-L1 IHC 22C3pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25:453-459.

Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1302-1311.

Villaruz LC, Anceviski Hunter K, Kurland BF, et al. Comparison of PD-L1 immunohistochemistry assays and response to PD-1/L1 inhibitors in advanced non-small cell lung cancer in clinical practice. *Histopathology*. 2019;74:269-275.

Multipla tumörer

Detterbeck FC, Nicholson AG, Franklin WA, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Summary of Proposals for Revisions of the Classification of Lung Cancers with Multiple Pulmonary Sites of Involvement in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification. *J Thorac Oncol*. 2016;11:639-650.

Detterbeck FC, Franklin WA, Nicholson AG, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Background Data and Proposed Criteria to Distinguish Separate Primary Lung Cancers from Metastatic Foci in Patients with Two Lung Tumors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11:651-665.

Detterbeck FC, Marom EM, Arenberg DA, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Background Data and Proposals for the Application of TNM Staging Rules to Lung Cancer

Presenting as Multiple Nodules with Ground Glass or Lepidic Features or a Pneumonic Type of Involvement in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification. *J Thorac Oncol.* 2016;11:666-680.

Ericson-Lindquist K, Johansson A, Levéen P, et al. Targeted sequencing may facilitate differential diagnostics of pulmonary tumours: a case series. *Diagn Pathol.* 2017;12:31.

Nicholson AG, Torkko K, Viola P, et al. Interobserver Variation among Pathologists and Refinement of Criteria in Distinguishing Separate Primary Tumors from Intrapulmonary Metastases in Lung. *J Thorac Oncol.* 2018;13:205-217.

Cytologi

Alsharif M, Andrade RS, Groth SS, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial fine-needle aspiration: the University of Minnesota experience, with emphasis on usefulness, adequacy assessment, and diagnostic difficulties. *Am J Clin Pathol* 2008;130:434-443.

Cameron SE, Andrade RS, Pambuccian SE. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration cytology: a state of the art review. *Cytopathology* 2010;21:6-26.

Nayak A, Sugrue C, Koenig S, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspirate (EBUS-TBNA): a proposal for on-site adequacy criteria. *Diagn Cytopathol* 2012;40:128-137.

Michael CW, Bedrossian CC. The implementation of liquid-based cytology for lung and pleural-based diseases. *Acta Cytol* 2014;58:563-573.

Rekhtman N, Brandt SM, Sigel CS, et al. Suitability of thoracic cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma: high accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing. *J Thorac Oncol.* 2011;6:451-458.

Sigel CS, Moreira AL, Travis WD, et al. Subtyping of non-small cell lung carcinoma: a comparison of small biopsy and cytology specimens. *J Thorac Oncol* 2011;6:1849-1856.

Wagner DG, Russell DK, Benson JM, et al. Cellient™ automated cell block versus traditional cell block preparation: a comparison of morphologic features and immunohistochemical staining. *Diagn Cytopathol* 2011;39:730-736.

Jing X, Li QK, Bedrossian U, Michael CW. Morphologic and immunocytochemical performances of effusion cell blocks prepared using 3 different methods. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:177-182.

van Hemel BM, Suurmeijer AJ. Effective application of the methanol-based PreservCyt™ fixative and the Cellient™ automated cell block processor to diagnostic cytopathology, immunocytochemistry, and molecular biology. *Diagn Cytopathol* 2013;41:734-741.

Kruger AM, Stevens MW, Kerley KJ, Carter CD. Comparison of the Cellient™ automated cell block system and agar cell block method. *Cytopathology* 2014;25:381-388.

Montgomery E, Gao C, de Luca J, et al. Validation of 31 of the most commonly used immunohistochemical antibodies in cytology prepared using the Cellient(®) automated cellblock system. *Diagn Cytopathol* 2014;42:1024-1033.

Prendeville S, Brosnan T, Browne TJ, McCarthy J. Automated Cellient(™) cytoblocks: better, stronger, faster? *Cytopathology* 2014;25:372-380.

Gruchy JR, Barnes PJ, Dakin Haché KA. CytoLyt® fixation and decalcification pretreatments alter antigenicity in normal tissues compared with standard formalin fixation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2015;23:297-302.

Histopatologiska prognosfaktorer

Kadota K, Nitadori J, Sima CS, et al. Tumor spread through air spaces is an important pattern of invasion and impacts the frequency and location of recurrences after limited resection for small stage I lung adenocarcinomas. *J Thorac Oncol* 2015;10:806-814.

Warth A, Muley T, Kossakowski CA, et al. Prognostic impact of intra-alveolar tumor spread in pulmonary adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39:793-801.

Nitadori J, Bograd AJ, Kadota K, et al. Impact of micropapillary histologic subtype in selecting limited resection vs lobectomy for lung adenocarcinoma of 2 cm or smaller. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:1212-1220.

Russell PA, Wainer Z, Wright GM, et al. Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival?: A clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *J Thorac Oncol* 2011;6:1496-1504.

Warth A, Muley T, Meister M, et al. The novel histologic International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification system of lung adenocarcinoma is a stage-independent predictor of survival. *J Clin Oncol* 2012;30:1438-1446.

Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Mod Pathol* 2011;24:653-664.

Yoshizawa A, Sumiyoshi S, Sonobe M, et al. Validation of the IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification for prognosis and association with EGFR and KRAS gene mutations: analysis of 440 Japanese patients. *J Thorac Oncol* 2013;8:52-61.

Al-Alao BS, Gately K, Nicholson S, et al. Prognostic impact of vascular and lymphovascular invasion in early lung cancer. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2014;22:55-64.

Chen YY, Huang TW, Tsai WC, et al. Lymphovascular space invasion and tumor differentiation are predictors for postoperative recurrence in patients with pathological stage I nonsmall cell lung cancer. *J Chin Med Assoc* 2014;77:416-421.

Kuo SW, Chen JS, Huang PM, et al. Prognostic significance of histologic differentiation, carcinoembryonic antigen value, and lymphovascular invasion in stage I non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2014;148:1200-1207.e3.

Lopez Guerra JL, Gomez DR, Lin SH, et al. Risk factors for local and regional recurrence in patients with resected N0-N1 non-small-cell lung cancer, with implications for patient selection for adjuvant radiation therapy. *Ann Oncol* 2013;24:67-74.

Mollberg NM, Bennette C, Howell E, et al. Lymphovascular invasion as a prognostic indicator in stage I non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Thorac Surg* 2014;97:965-971.

Yanagawa N, Shiono S, Abiko M, et al. Prognostic impact and initial recurrence site of lymphovascular and visceral pleural invasion in surgically resected stage I non-small-cell lung carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013;44:e200-206.

Zhang Y, Sun Y, Xiang J, et al. A clinicopathologic prediction model for postoperative recurrence in stage Ia non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2014;148:1193-1199.

Neuroendokrina tumörer

Fasano M, Della Corte CM, et al. Pulmonary large-cell neuroendocrine carcinoma: from epidemiology to therapy. *J Thorac Oncol* 2015;10:1133-1141.

Igawa S, Watanabe R, Ito I, et al. Comparison of chemotherapy for unresectable pulmonary high-grade non-small cell neuroendocrine carcinoma and small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2010;68:438-445.

Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:1628-1638.

Rindi G, Klersy C, Inzani F, et al. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. *Endocr Relat Cancer* 2014;21:1-16.

Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol* 2012;25 Suppl 1:S18-30.

HPV i lungtumörer

Bishop JA, Ogawa T, Chang X, et al. HPV analysis in distinguishing second primary tumors from lung metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2012;36:142-148.

Chang SY, Keeney M, Law M, et al. Detection of human papillomavirus in non-small cell carcinoma of the lung. *Hum Pathol* 2015;46:1592-1597.

Galvan A, Noci S, Taverna F, et al. Testing of human papillomavirus in lung cancer and non-tumor lung tissue. *BMC Cancer* 2012;12:512.

Koshiol J, Rotunno M, Gillison ML, et al. Assessment of human papillomavirus in lung tumor tissue. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:501-507.

Sagerup CM, Nymoer DA, Halvorsen AR, et al. Human papilloma virus detection and typing in 334 lung cancer patients. *Acta Oncol* 2014;53:952-957.

van Boerdonk RA, Daniels JM, Bloemena E, et al. High-risk human papillomavirus-positive lung cancer: molecular evidence for a pattern of pulmonary metastasis. *J Thorac Oncol* 2013;8:711-718.

Yanagawa N, Wang A, Kohler D, et al. Human papilloma virus genome is rare in North American non-small cell lung carcinoma patients. *Lung Cancer* 2013;79:215-220.

Appendix 1. Kommentarer till diagnostik

Vanliga histologiska typer

Adenokarcinom:

Adenokarcinom i lunga uppvisar definitionsmässigt minst en av A) körtelbildning (inkl. kribiformt mönster), B) mucinproduktion (≥ 5 inklusioner i varje av två högförstoringsfält), C) positiv immunhistokemisk markör (TTF-1, napsin A; $\geq 1\%$ positiva tumörceller).

För kombinerade tumörer gäller att om $\geq 10\%$ av vardera adenokarcinom och skivepitelcancer så klassas tumören som adenoskvamös. Motsvarande klassas tumören som pleomorf cancer om $\geq 10\%$ spolcellig eller jättecellscancer. Notera att säker diagnos avseende dessa kombinationstumörer endast kan ställas på resektat – vid biopsi/cytologi klassas cancer med sarkomatoida drag efter immunhistokemi i NSCC sannolikt adenokarcinom, NSCC sannolikt skivepitelcancer eller NSCC ospecificerad (se Appendix 3). Vid kombinerad tumör med $\geq 10\%$ småcellig cancer eller storcellig neuroendokrin cancer klassas tumören i stället som subtyp till dessa former, nämligen kombinerad småcellig cancer respektive kombinerad storcellig neuroendokrin cancer.

Vid körtelformationer/mucinproduktion ingår utöver de nämnda differentialdiagnoserna adenoskvamös cancer, pleomorf cancer och kombinerad neuroendokrin cancer även cancer av spottkörteltyp, metastas av adenokarcinom från annat organ, bifasiskt synovialt sarkom och köns-cellstumör (körtellika ”pseudoglandulära” formationer kan även ses vid skivepitelcancer, mesoteliom och neuroendokrina tumörer).

Positiv TTF-1 och napsin A talar, förutom för adenokarcinom, även för ursprung i lunga, och är därför ofta av värde även vid tydlig morfologisk bild. Se Appendix 2 för differentialdiagnoser vid TTF-1- eller napsin A-positiv tumör.

Positiv TTF-1 klon 8G7G3/1 och/eller napsin A utesluter i princip positiv p40, CK5 och CK5/6 (p63 är däremot mer ospecifik). Vid positiv (fokal eller diffus, definierat som $< 10\%$ respektive $\geq 10\%$ av tumörcellerna) TTF-1 klon 8G7G3/1 och/eller napsin A med samtidig fokal p40 och/eller fokal CK5 och/eller fokal/diffus p63 rekommenderas att fallet klassas som adenokarcinom om den morfologiska bilden är icke-småcellig cancer av oklar typ. Undantag är om TTF-1/napsin A respektive p40/CK5 ses i olika cellpopulationer, varvid adenoskvamös cancer bör misstänkas (för säker diagnos av adenoskvamös cancer krävs emellertid resektat). Vid diffust positiv p40 eller CK5 med samtidig svag och/eller fokal positivitet med TTF-1 klon SPT24 (som flertalet patologavdelningar idag använder) eller klon SP141 är diagnosen dock i princip alltid skivepitelcancer (notera att skillnad mellan kloner inte tas upp i WHO-klassifikationen men kommenteras i tilläggspubliceringen från 2019 där klon 8G7G3/1 rekommenderas, varvid fall med positiv TTF-1 bör betraktas som adenokarcinom oavsett p40/CK5 om den morfologiska bilden är icke-småcellig cancer av oklar typ). Vidare har 10% visats vara en bättre cutoff-nivå för positiv TTF-1 med klon SPT24 och SP141 (men även $> 10\%$ positivitet förekommer vid skivepitelcancer). Fångade bronkiolära strukturer med basalceller (CK5- och p40-positiva) kan förekomma och får inte misstolkas som tumörceller.

Vid lågt differentierad icke-småcellig cancer med bild suggestiv för skivepiteldifferentiering görs immunfärgning för att fastställa om skivepitelcancer (endast CK5/p40 positiv), adenoskvamös cancer (olika populationer CK5/p40 respektive TTF-1/napsin A positiv) eller pseudoskvamöst adenokarcinom (endast TTF-1/napsin A positiv) föreligger.

Adenokarcinom in situ definieras som lokaliserat ≤ 3 cm stort adenokarcinom med ren lepidisk växt utan tecken till invasion. Oftast är adenokarcinom in situ icke-mucinöst. Vid endast lepidiskt växtmönster utan invasion i biopsi bör man dock ange att invasion inte kan uteslutas eftersom ren in situ-växt är mycket ovanligt. (Differentialdiagnosen atypisk adenomatös hyperplasi, AAH, med kuboida lätt atypiska glest kontinuerliga epitelceller som följer alveolarsepta är sällan aktuell på biopsi/cytologi då AAH typiskt är en mycket liten lesion som är svår att ta prov från.)

Invasion definieras som annat växtmönster än lepidiskt, stroma med myofibroblaster med invasion, vaskulär eller pleural invasion samt spridning via luftrum (STAS). Minimalt invaderande adenokarcinom (MIA) definieras som ≤ 3 cm stort adenokarcinom med lepidiskt växtmönster med totalt ≤ 5 mm invasion samt ingen invasion i kärl/pleura, nekros eller spridning via luftrum (STAS).

För övriga invasiva adenokarcinom motsvarar subtyp det dominerande växtmönstret vid resektat (undantag 10-90% mucinös komponent som klassas som kombinerat invasivt mucinöst adenokarcinom, med mucinöst definierat som bägarcells- eller cylindercells morfologi med rikligt intracytoplasmiskt mucin), men enligt WHO-klassifikationen rekommenderas att alla växtmönster redovisas i 5%-intervall. Notera att även invasiva mucinösa adenokarcinom kan uppvisa de olika växtmönstren lepidiskt, acinär, papillär och mikropapillär, men man brukar inte ange detta (subtypen blir 'invasiv mucinös'). För invasiva mucinösa adenokarcinom (men inte mucinös MIA) räknas all tumör som invasiv vid mätning av storlek för T-stadium. Pneumonisk spridning (närliggande härdar fr.a. med lepidisk växt) är vanligt vid fr.a. invasiva mucinösa adenokarcinom, och detta räknas då som ett tumörfokus och inte metastas inom samma lob om det makroskopiskt ser ut att vara ett tumörområde.

För biopsi kan också anges vilket växtmönster man ser, men viktigast är att ange om icke-mucinöst eller mucinöst adenokarcinom.

Skivepitelcancer:

Skivepitelcancer uppvisar definitionsmässigt minst en av A) keratinisering (inkl. pärlbildning), B) intercellulära bryggor, C) positiv immunhistokemisk markör (CK5, CK5/6, p40, p63) inte enbart fokalt (dvs $\geq 10\%$ infärgade tumörceller, men högre cutoff-nivå diskuteras i WHO-gruppens tilläggspublicering från 2019).

Se adenokarcinom ovan angående blandformer (adenoskvamös och pleomorf cancer samt kombinerad småcellig och storcellig neuroendokrin cancer) samt hur man resonerar vid samtidig positiv TTF-1/napsin A och uteslutande av pseudoskvamöst adenokarcinom etc. Fångat alveolarepitel förekommer relativt ofta och är positivt för TTF-1 och napsin A (även makrofager är napsin A-positiva) och får inte misstolkas som tumör.

Då p40 och CK5 är i princip helt överlappande vid skivepitelcancer i lunga och CK5 visat något begränsad sensitivitet i vissa studier har p40 lyfts fram som förstahandsalternativ som skivepitelmarkör. Se Appendix 2 för differentialdiagnoser vid CK5- eller p40-positiv tumör.

Vid tydlig keratinisering kan man avstå från bekräftande immunfärgning, fr.a. på resektat. Man bör dock vara liberal med immunfärgning, fr.a. på små material men även vid resektat. Keratinisering utesluter inte heller adenoskvamös cancer, pleomorf cancer, kombinerad

neuroendokrin cancer och metastas av endometroid cancer med skvamös differentiering. Apoptotiska celler kan misstas för unicellulär keratinisering, medan lamellär arkitektur och palissadering även kan ses vid annan histologisk typ, och tydliga intercellulära bryggor är ofta svårt att se. Vid icke-keratiniserande typ är solitt växande adenokarcinom, storcellig cancer, cancer av spottkörteltyp och metastas av urotelial cancer, basaloid bröstcancer eller thymom viktigaste differentialdiagnoser, medan neuroendokrina tumörer, lymfom, cancer av spottkörteltyp och de ovanliga lymfoepiteliom-lik cancer och NUT-karcinom (kan uppvisa keratinisering) och är viktigaste differentialdiagnoser vid basaloid typ. Metastas av hudadnextumör och basaliom samt olfaktoriskt neuroblastom är sällsynta differentialdiagnoser.

Storcellig cancer:

Storcellig cancer uppvisar definitionsmässigt inga tecken till adenokarcinom, skivepitelcancer, småcellig cancer eller andra specifika drag. Fokal (<10%) positivitet för skivepitelmarkör (CK5, CK5/6, p40 eller p63) accepteras, men diffus (≥10%) positivitet för dessa eller fokal eller diffus positivitet för TTF-1 eller napsin A utesluter diagnosen storcellig cancer, liksom ≥5 mucininklusioner i varje av två högförstoringsfält. På biopsi/cytologi används inte diagnosen storcellig cancer utan i stället icke-småcellig cancer UNS.

Småcellig cancer:

Småcellig cancer uppvisar definitionsmässigt relativt små celler med sparsam cytoplasma, fingranulärt kromatin och inga eller diskreta nukleoler. Cellerna är runda, ovala eller spolformade och ligger tätt med kärnor som formar sig efter varandra ('nuclear moulding'). Rikligt med mitoser (definitionsomässigt >10 per 2 mm²) och nekroser ska ses.

Diagnosen kombinerad småcellig cancer gäller om ≥10% småcellig och ≥10% annan histologisk typ (oftast storcellig neuroendokrin cancer, adenokarcinom eller skivepitelcancer). Det föreligger ett morfologiskt kontinuum mellan storcellig neuroendokrin cancer och småcellig cancer, och tydlig morfologisk bild av varje (≥10%) krävs för diagnosen kombinerad småcellig cancer.

Småcellig cancer är oftast positiv för neuroendokrina markörer, men det är inget absolut krav för diagnos. Cytokeratinfärgning ger som regel en punkt- eller skärformad cytoplasmfärgning. Viktiga differentialdiagnoser är skivepitelcancer, lymfom, vissa sarkom och storcellig neuroendokrin cancer. Den sistnämnda går inte att skilja från småcellig cancer genom immunfärgning (se vidare nedan).

Vid tångbiopsi ses ofta de typiska krossartefakterna. Vid kryobiopsi där cellstrukturen är mer bevarad och fr.a. vid resektat där kärnorna ofta får ett mer luckert utseende efter fixering kan diagnosen vara mindre självklar.

Storcellig neuroendokrin cancer:

Storcellig neuroendokrin cancer uppvisar definitionsmässigt neuroendokrin differentiering (organoida nästen, rosetter, trabekulär växt eller perifer palissadering) utan att fylla kriterierna för småcellig cancer och minst en positiv immunhistokemisk neuroendokrin markör (av CD56, synaptofysin, chromogranin A, INSM1). Rikligt med mitoser (definitionsomässigt >10 per 2 mm²) och förekomst av nekroser ska ses. Se småcellig cancer ovan angående blandformer.

Skillnaden mot småcellig cancer är att storcellig neuroendokrin cancer har större celler och/eller kärnor med vesikulärt eller grovt kromatin (men fint kromatin är relativt vanligt) och/eller förekomst av tydliga nukleoler. Ki67-index och mitosantal uppvisar stort överlapp mellan diagnoserna och ger oftast ingen direkt vägledning. Man kan ha nytta av en bred cytokeratinfärgning för att visualisera cytoplasmamängden.

För att skilja storcellig neuroendokrin cancer och småcellig cancer är sannolikt kärn-/cytoplasma-kvot och förekomst av nukleoler bäst, men även cellstorlek, cytoplasmamängd och kromatinteckning beaktas. Studier visar dock på likartad prognos och behandlingssvar vid de båda tumörformerna, varför uppdelningen inte bedöms som särskilt biologiskt relevant (i praktiken utförs dock normalt behandlingsprediktiv molekylärpatologisk analys vid bild av storcellig neuroendokrin cancer på biopsi/cytologi, och vid bild av småcellig cancer ges normalt profylaktisk hjärnbestrålning, varför det finns en viss skillnad i handläggning). I WHO-klassifikationen anges flera olika termer vid bild av storcellig neuroendokrin cancer på biopsi/cytologi. 'Icke-småcellig cancer sannolikt storcellig neuroendokrin cancer' rekommenderas som svensk term.

Karcinoid:

Karcinoider utgör tillsammans med småcellig cancer och storcellig neuroendokrin cancer gruppen neuroendokrina tumörer, men är av låg (typisk karcinoid) eller medelhög grad (atypisk karcinoid). Tumörerna är monomorfa och har neuroendokrint växtmönster (se ovan) och tillhörande immunhistokemisk profil. Spolcelligt inslag är inte ovanligt, speciellt vid perifera tumörer, och kan vid tekniska artefakter försvåra den morfologiska bedömningen. Typiska karcinoider uppvisar definitionsmässigt <2 mitoser per 2 mm² och inga nekroser, medan atypiska karcinoider har 2-10 mitoser per 2 mm² och/eller nekroser. Att använda proliferationsindex vid Ki67-färgning är ett sätt att dela upp låg/medel/höggradiga neuroendokrina tumör i GI-trakten, men definierar inte typisk/atypisk karcinoid i lunga. Det finns idag ingen evidens för att Ki67 skulle ge en bättre gradering av lungkarcinoider, men däremot är Ki67 till stor nytta för att skilja karcinoider och höggradiga neuroendokrina tumörer i de fall morfologin är oklar.

Rationell immunpanel enligt dagens kunskap

Vid rikligt med tumörvävnad (fr.a. vid resektat) är det oproblematiskt att utföra en omfattande immunhistokemisk/histokemisk analys för att så långt det går avgöra histologisk typ och ursprung. Vid små material är det en större utmaning att välja optimal panel.

Enligt WHO-klassifikationen och senare tilläggspublicering rekommenderas vid tydlig morfologisk bild av skivepitelcancer eller adenokarcinom inte något tillägg av immunhistokemisk/histokemisk färgning. Om oklar bild av icke-småcellig cancer rekommenderas en minimal panel med en markör för skivepitelcancer (i första hand p40, alt. CK5 eller CK5/6) och en markör adenokarcinom (i första hand TTF-1, alt. napsin A) plus mucinfärgning. Neuroendokrina markörer rekommenderas om neuroendokrin morfologi.

Med denna strategi kommer man enkelt att kunna selektera alla fall i vilka som ska resp. inte ska genomgå fullständig behandlingsprediktiv molekylärpatologisk analys och samtidigt förbruka mycket lite material för diagnostik. Men samtidigt kommer utredning av ursprung vid morfologiskt adenokarcinom samt NSCC ospecificerad (då TTF-1 inte görs resp. är negativ) att i princip helt ligga på utredande kliniker med stöd av radiologi mm. Det blir sålunda inte primärt patologens uppgift ta ställning till metastas eller primär lungcancer till

förmån för molekylärpatologisk analys. Från WHO-gruppen förespråkas i stället ett ökat multidisciplinärt samarbete där i princip samtliga patienter tas upp vid konferens.

I Sverige finns en tradition av att patologen tar större ansvar att på eget initiativ utreda tumörursprung och själv beställa rimliga tilläggsanalyser utifrån morfologisk bild, historik och epidemiologisk situation utöver direkt frågeställning som utgår från anamnestisk, klinisk och radiologisk misstanke mm. Lokal förankring rekommenderas om strategin enligt WHO-klassifikationen ska användas för att inte missförstånd ska uppstå, och att färga för åtminstone TTF-1 (eller napsin A) även vid tydlig morfologisk bild av adenokarcinom kan vara att föredra eftersom positiv färgning då talar starkt för ursprung i lunga.

Ett exempel på effektiv och vävnadsbesparande minipanel vid lågt differentierad icke-småcellig cancer där endast två-tre snitt används är immunhistokemiska dubbelfärgningar med p40, TTF-1, napsin A och ytterligare en cytoplasmatisk färgning (förslagsvis CK7, CK5 eller möjligen en neuroendokrin markör) samt ev. mucinfärgning (PAS-diastas eller AB-PAS). Neuroendokrina markörer samt ev. Ki67 tillkommer om neuroendokrin morfologi. Se även Appendix 7.

Utöver dessa kan för riktad differentialdiagnostik t.ex. användas CK7 samt CDX2 eller ev. CK20 om misstanke om metastas av kolorektalcancer, GATA3 och ev. ER och PGR om bröstcancer, PAX8, WT1, och ev. ER, PGR, p53 och p16 om ovarialcancer, PAX8, CK7 och ev. RCC och CD10 om njurcancer, GATA3, uroplakin II, CK7, CK20, p40 och ev. CK5 om urotelial cancer, CK7, CK20 och CDX2 om övre gastrointestinal cancer (ventrikel- och pankreascancer är ofta positiva i både CK7 och CK20, gallvägscancer oftare bara CK7-positiva, men även positiv CK19), HepPar1 och Glyp3 om levercellscancer, NKX3.1, PSA och/eller P501S om prostatacancer, bred cytokeratin om icke-epitelial tumör i kombination med S100, SOX10, HMB45 och MelanA om melanom, CD45 och/eller CD3 och CD20 om lymfom mm. Nära samarbete med patologer inriktade på andra områden såsom mjukdels- och hematopatologi etc. rekommenderas för val av bästa immunhistokemiska färgningar i dessa fall.

I praktiken bör epitelialt ursprung bekräftas för tumörer med oklar morfologisk bild och negativa markörer för adenokarcinom och skivepitelcancer med t.ex. CK7, CKAE1/3 eller EpCAM. Om sparsamt material bör som regel molekylärpatologisk analys prioriteras framför omfattande immunpaneler. Tidigare maligna sjukdomar, radiologiska fynd och klinisk misstanke ska framgå av remissen, annars är kontakt med utredande läkare ofta lämpligt i dessa fall för vägledning angående riktade immunhistokemiska färgningar. Diagnostiserande patolog ska också ta del av provtagningshistoriken för patienten.

Appendix 2. Immunhistokemi

Andel positiva fall	CKAE1/3	CK5, CK5/6	p40	p63	CK7	CK20	CDX2	TTF-1 klon 8G7G3/1	TTF-1 klon SPT24	Napsin A	Synapto, ChromA, CD56 *	INSM1	ER	PGR, MAGLO, GCDFP-15	GATA3
Adenokarcinom	100%	0-3%	0-3%	9-29%	96-100%	2-10%	2-9%	64-96%	72-97%	77-94%	5-12%	3%	1-27%	0-5%	0-8%
Skivepitelcancer	100%	53-95%	76-100%	87-100%	21-42%	0-14%	0-8%	0-6%	2-19%	0-9%	3-8%	3-4%	0-3%	0%	0-12%
Storcellig cancer	pos	0%	0%	0%	pos	neg	neg	0%	0%	0%	neg	neg	neg	neg	neg
Småcellig cancer	100%	0-1%	0%	0-22%	5-25%	4%	neg	53-96%	84-86%	0%	85-100%	95-98%	neg	neg	0%
Storcellig neuroendokrin cancer	100%	0-2%	0%	0-13%	56%	neg	neg	23-61%	47-78%	0%	100%	75-91%	neg	neg	0%
Karcinoid	100%	0%	0%	0-6%	16%	neg	neg	0-50%	24-61%	0%	100%	98-100%	neg	neg	0%
Bröstcancer	100%	3%	0%	5%	88%	3%	0%	0-1%	0-2%	0-3%	5%	neg	67-80%	23-57%	65-94%
Kolorektalcancer	100%	0%	0%	7%	2%	88%	92%	0-3%	2-7%	0-2%	3%	neg	0%	0%	0-1%

* Procentsiffran anger positivitet i åtminstone någon av de tre markörerna

Kommentarer:

Siffrorna anger i första hand primär lungcancer och kan skilja för metastaser av lungcancer i andra organ.

Värdena för vissa diagnoser/antikroppar baseras på ett relativt begränsat antal undersökta fall (pos/neg har använts när mycket begränsad data finns).

Enstaka resultat/studier med extrema värden har uteslutits i sammanställningen.

Försök till korrektion för variation i preanalytiska (fixering etc.), analytiska (färgningsprotokoll etc.) och postanalytiska (vald cutoff för positivitet etc.) har inte gjorts.

Enligt WHO-klassifikationen från 2015 är positiv CK5/p40/p63 ($\geq 10\%$) eller positiv TTF-1/napsin A ($\geq 1\%$) inte förenligt med diagnosen storcellig cancer (nya studier med denna definition saknas, varför övriga data är osäkra).

TTF-1 är även positiv i thyreoideacancer, en del fall av höggradiga neuroendokrina tumörer (främst småcellig cancer) i andra organ samt enstaka fall av gynekologisk cancer; napsin A är även positiv i njurcancer och klarcellig cancer av annat ursprung; CK5 är även positiv i mesoteliom, vissa spottkörteltumörer, thymustumörer, en del fall av urotelial cancer och vissa gyntumörer (de fyra sistnämnda är normalt även p40-positiva), CK5-positiv bröstcancer är vanligen ”trippelnegativ” och p40-negativ; GATA3 är förutom i bröstcancer även positiv i urotelial cancer, en del mesoteliom och vissa andra tumörer som t.ex. paragangliom (fler studier behövs); PAX8 är positiv i adenokarcinom från ovarium, endometrium, cervix, njure och thyreoidea samt en del thymustumörer.

Appendix 3. Tumörklassifikation enligt WHO 2015

Nomenklatur för invasiva epiteliala lungtumörer inkl. skillnader i terminologi för resektat resp. små material.

RESEKTAT	M-kod SNOMED	BIOPSI/CYTOLOGI
Histologisk typ/subtyp		Histologisk typ/subtyp
Adenokarcinom	M81403	Adenokarcinom
Minimalt invaderande, icke-mucinöst	M82502	(Ingen motsvarighet)
Minimalt invaderande, mucinöst	M82573	(Ingen motsvarighet)
Lepidiskt	M82503	Lepidiskt växtmönster
Acinärt	M85513	Acinärt växtmönster
Papillärt	M82603	Papillärt växtmönster
Mikropapillärt	M82653	Mikropapillärt växtmönster
Solitt	M82303	Solitt växtmönster
Invasivt mucinöst (inkl. kombinerat)	M82533 (komb. M82543)	Invasivt mucinöst ('Mucinöst lepidiskt' om ej synlig invasion)
Kolloitt	M84803	Kolloitt växtmönster
Fetalt	M83333	Fetalt växtmönster
Enteriskt	M81443	Enteriskt växtmönster
(Ingen motsvarighet)	M81403	NSCC sannolikt adenokarcinom
Skivepitelcancer	M80703	Skivepitelcancer
Keratiniserande	M80713	(Används normalt inte)
Icke-keratiniserande	M80723	(Används normalt inte)
Basaloid	M80833	(Används normalt inte)
(Ingen motsvarighet)	M80703	NSCC sannolikt skivepitelcancer
Neuroendokrina tumörer		Neuroendokrina tumörer
Småcellig cancer (inkl. kombinerad)	M80413 (komb. M80453)	Småcellig cancer (inkl. kombinerad)
Storcellig neuroendokrin cancer (inkl. kombinerad)	M80133	NSCC sannolikt storcellig neuroendokrin cancer (inkl. kombinerad)
Karcinoid, atypisk	M82493	Karcinoid, sannolikt atypisk
Karcinoid, typisk	M82403	Karcinoid, sannolikt typisk
Storcellig cancer	M80123	NSCC ospecificerad
Adenoskvamös cancer	M85603	NSCC möjligen adenoskvamös cancer
Sarkomatoida tumörer		Sarkomatoida tumörer
Pleomorf cancer	M80223	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Spolcellig cancer	M80323	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Jättecellscancer	M80313	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Carcinosarkom	M89803	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Pulmonellt blastom	M89723	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Cancer av spottkörteltyp		Cancer av spottkörteltyp
Mukoepidermoid cancer	M84303	Mukoepidermoid cancer
Adenocystisk cancer	M82003	Adenocystisk cancer
Epitelial-myoepitelial cancer	M85623	Epitelial-myoepitelial cancer
Övriga tumörer		Övriga tumörer
Lymfoepiteliom-lik cancer	M80823	NSCC sannolikt lymfoepiteliom-lik cancer
NUT-karcinom	M80233	NUT-karcinom

NSCC = icke-småcellig cancer

Kommentarer:

Listan är inte komplett, och för övriga diagnoser och koder hänvisas till WHO-klassifikationen från 2015.

Adenokarcinom med lepidiskt, acinärt, papillärt, mikropapillärt eller solitt växtmönster avser icke-mucinöst adenokarcinom (det dominerande växtmönstret används för subtypning, undantag om tumören klassas som minimalt invaderande). De specifika M-koderna för adenokarcinom med olika växtmönster gäller fr.a. resektat.

Icke-småcellig cancer (NSCC) sannolikt adenokarcinom definieras som NSCC utan tydlig morfologi med positiv markör för adenokarcinom (TTF-1, napsin A eller mucinfärgning). NSCC sannolikt skivepitelcancer definieras som NSCC utan tydlig morfologi med positiv markör för skivepitelcancer (p40, CK5 eller CK5/6, p63). NSCC ospecificerad används för motsvarande fall där markörer för adenokarcinom och skivepitelcancer är negativa.

Om sarkomatoida drag såsom grav pleomorfism, spol- eller jätteceller eller mesenkymala strukturer som brosk etc. finns på cytologi/biopsi kan dessa anges. Fallet klassas emellertid efter positiv markör för eller morfologisk förekomst av adenokarcinom- eller skivepiteldifferentiering enligt ovan (d.v.s. NSCC sannolikt adenokarcinom/sannolikt skivepitelcancer/ospecificerad om ej tydlig morfologi).

Termen 'icke-skivepitelcancer' kan vara användbar i kliniska sammanhang men rekommenderas inte i utlåtanden inom patologin.

'Lepidisk' rekommenderas som svensk term för 'lepidic growth'.

Termen bronkioloalveolär cancer (BAC) ska inte användas längre – fall som tidigare klassades som BAC klassas idag som adenokarcinom in situ (AIS), minimalt invaderande adenokarcinom (MIA), lepidiskt adenokarcinom eller invasivt mucinöst adenokarcinom enligt nedan.

Karakteristika	Tidigare nomenklatur	Aktuell nomenklatur
<ul style="list-style-type: none"> • ≤3 cm, • endast lepidisk växt, • ingen invasion/nekros/spridning via luftrum, • mucinös eller icke-mucinös 	BAC, mucinös/icke-mucinös	Adenokarcinom in situ, mucinös/icke-mucinös
<ul style="list-style-type: none"> • ≤3 cm, • dominerande lepidisk växt, • invasion ≤0.5 cm, • ingen nekros/pleura-/kärlinvasion/spridning via luftrum, • mucinös eller icke-mucinös 	BAC, mucinös/icke-mucinös	Minimalt invaderade adenokarcinom, mucinös/icke-mucinös
<ul style="list-style-type: none"> • Dominerande lepidisk växt, • ej endast AIS/MIA ovan, • icke-mucinös 	BAC, icke-mucinös	Lepidiskt adenokarcinom
<ul style="list-style-type: none"> • Dominerande lepidisk växt, • ej endast AIS/MIA ovan, • mucinös 	BAC, mucinös	Invasivt mucinöst adenokarcinom

Appendix 4. Stadiindelning enligt TNM8

T1	Tumör ≤ 3 cm i största mått, omgiven av lunga eller visceral pleura och utan inväxt i huvudbronk
T1a(mi)	Minimalt invaderande adenokarcinom
T1a	≤ 1 cm
T1b	>1 men ≤ 2 cm
T1c	>2 men ≤ 3 cm
T2	Tumör >3 men ≤ 5 cm i största mått och/eller någon av följande egenskaper: - växt i huvudbronk men utan växt i carina-området - växt i visceral pleura (förbi/genom elastica) inkl. direktöverväxt på annan lob - atelektas eller obstruktiv pneumoni p.g.a. tumör från hilusområdet och distalt i delar av eller hela lungan
T2a	>3 men ≤ 4 cm
T2b	>4 men ≤ 5 cm
T3	Tumör >5 cm men ≤ 7 cm i största mått och/eller någon av följande egenskaper: - växt i thoraxvägg (inkl. revben och sulcus superior), n phrenicus eller parietala perikardiet - separat tumörnodulus (metastas) i samma lob som primärtumören (se avsnitt X. Analyser ovan för kommentar)
T4	Tumör >7 cm i största mått och/eller någon av följande egenskaper: - växt i diafragma, mediastinum, hjärta inkl. visceral perikardiet, större kärl (aorta, vv. cavae, a pulmonalis, intraperikardiala delar av pulmonarartärer och vener, plexus brachialis, v subclavia), trakea, n recurrens, esofagus, kotkropp eller carina - separat tumörnodulus (metastas) i annan ipsilateral lob än primärtumören (se avsnitt X. Analyser ovan för kommentar)
N1	Metastas i ipsilateral station 10-14 lgl eller intrapulmonell lgl inkl. per continuitatum (direktöverväxt)
N2	Metastas i ipsilateral station 1-9 lgl
N3	Metastas i supraklavikulär, skalenus- eller kontralateral station 1-14 lgl
M1a	Metastas i kontralateral lunga, metastas till pleura (som involverar parietala pleura) eller perikard, eller malignt exsudat i pleura eller perikard
M1b	En extrathorakal metastas (inkl. lgl som inte omfattas av N)
M1c	Fler än en extrathorakal metastas

Notera att tumörstorlek avser största mått av invasiv del utom för invasiva mucinösa adenokarcinom

Appendix 5. Lymfkörtelstationer enligt IASLC

Supraklavikulära zonen	1. Nedre cervikala, supraklavikulära och övre sternala lymfkörtlar
Övre zonen	2. Övre paratrakeala lymfkörtlar
	3. Prevasikulära och retrotrakeala lymfkörtlar
	4. Nedre paratrakeala lymfkörtlar
Aortopulmonära zonen	5. Subaortala lymfkörtlar (aortopulmonella fönstret)
	6. Para-aortala lymfkörtlar (aorta ascendens el. phrenicus)
Subcarinala zonen	7. Subcarinala lymfkörtlar
Nedre zonen	8. Paraesofagala lymfkörtlar (under carina)
	9. Pulmonära ligament lymfkörtlar
Hilära/interlobära zonen	10. Hilära lymfkörtlar
	11. Interlobära lymfkörtlar
Perifera zonen	12. Lobära lymfkörtlar
	13. Segmentella lymfkörtlar
	14. Subsegmentella lymfkörtlar

Appendix 6. Isolated tumour cells (ITC) enligt TNM/IASLC

Beteckning	Typ
pN0	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, ingen undersökning avseende ITC
pN0(i-)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, negativ morfologisk undersökning för ITC
pN0(i+)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, positiv morfologisk undersökning för ITC
pN0(mol-)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, negativ icke-morfologisk undersökning för ITC
pN0(mol+)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, positiv icke-morfologisk undersökning för ITC

Kommentarer:

ITC definieras som enskilda tumörceller eller kluster av tumörceller ≤ 0.2 mm i största mått. Dessa påverkar inte tumörstadiet.

Morfologisk undersökning innefattar konventionell och immunhistokemisk färgning, icke-morfologisk PCR etc.

Tillägg (sn) efter beteckningen specificerar sentinel node.

M i stället för N i beteckningen används för distansmetastaser (i övrigt samma förfarande).

Appendix 7. Utredningsalgoritm biopsi/cytologi

Morfologi	Diagnos/diagnosförslag	Immunhistokemi	Prediktiv analys
Neuroendokrin morfologi, små celler, små/inga nukleoler, sparsam cytoplasma	Småcellig cancer	CK, NE-markörer, TTF-1, ev. p40, ev. Ki67, ev. CD45	-
Neuroendokrin morfologi, stora celler, måttlig till rikligt cytoplasma o/e tydliga nukleoler	Icke-småcellig cancer sannolikt storcellig neuroendokrin cancer	CK, NE-markörer, TTF-1, p40, ev. napsin A, ev. Ki67, ev. mucinfärgning	Direkt EGFR, BRAF, KRAS, ALK, ROS1, PD-L1
Neuroendokrin morfologi, monomorf bild med begränsad atypi, få/inga mitoser eller nekroser	Karcinoid	CK, NE-markörer, Ki67, ev. TTF-1	-
Lepidisk, papillär, mikropapillär o/e acinär arkitektur, skummig/vakuoliserad cytoplasma, 3D-formationer, fint kromatin med typiskt tydliga nukleoler	Adenokarcinom	TTF-1	Direkt EGFR, BRAF, KRAS, ALK, ROS1, PD-L1
Keratinisering, keratinpärlor o/e intercellulära bryggor	Skivepitelcancer	Ev. p40	Direkt PD-L1 (och förslagsvis även övriga molekyllära tester)
Icke-småcellig cancer utan tydliga drag av skivepitelcancer eller adenokarcinom	Icke-småcellig cancer oklar typ	TTF-1, p40, ev. napsin A, ev. mucinfärgning	Direkt EGFR, BRAF, KRAS, ALK, ROS1, PD-L1
(Specifika morfologiska drag eller klinisk/radiologisk/anamnestisk bild talar för metastas)	Icke-småcellig cancer/adenokarcinom med misstanke om metastas till lunga	TTF-1, p40 (om inte tydligt adenokarcinom), CK7, ev. mucinfärgning, riktad panel utifrån misstanke om typ/ursprung	Om ändå lungcancer så sedan EGFR, BRAF, KRAS, ALK, ROS1, PD-L1

Kommentarer:

Immunhistokemi anger förslag på panel (inkl. histokemiska färgningar), se även text i dokumentet för vidare diskussion kring val av panel (t.ex. kan CK5 eller CK5/6 användas i stället för p40 etc.).

Med direkt prediktiv analys avses att samtliga analyser beställs i samband med att de diagnostiska immunfärgningarna beställs.