

Elisa Lappi-Blanco, Kaisa Salmenkivi, Soili Kytölä ja Juha Kononen

Keuhkosyövän molekyylibiologinen diagnostiikka edellyttää perustietoja myös kliinikoilta

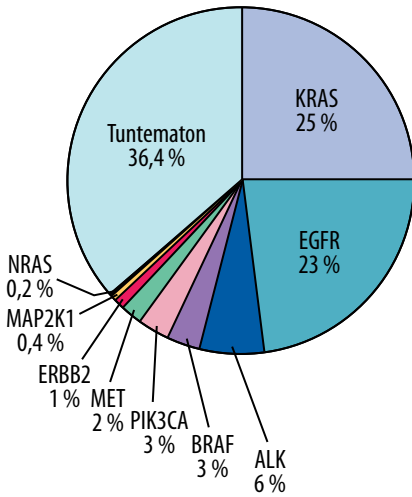
Keuhkosyöprien histologisen luokittelun ohella kasvainten molekyylibiologinen tutkiminen kuuluu keuhkosyöprien nykyaikaiseen taudinmääritykseen, ja yksilöidyt syöpähoidot perustuvat molekyylibiologiseen diagnostiikkaan. Nykyinen laboratoriotekniikka mahdollistaa monien mutaatioiden tutkimisen osana tavanomaista rutiinidiagnostiikkaa, ja tämä edellyttää hyvin toimivaa monialaista yhteistyötä. Patologin rooli näytteiden käsittelyssä on keskeinen. Tulevaisuudessa keuhkosyövän molekyylibiologisten tietojen laajaa hallitsemista tarvitsevat erityisesti patologit, keuhkolääkärit ja onkologit, mutta perustietoja tarvitsevat myös muut keuhkosyöpäpotilaiden kanssa työskentelevät lääkärit.

Keuhkosyöprien luokittelu ja hoito on pohjautunut tavanomaisesti morfologiaan eli histologiseen diagnoosiin, joka on edelleenkin tärkein hoitoa ohjaava tekijä. Tieto keuhkosyöprien molekyylibiologisista ominaisuuksista lisääntyy jatkuvasti, minkä vuoksi kasvainten luokittelu siirtyy kuitenkin morfologiasta niiden biologiaan, eli samankaltaisen morfologian omaavat kasvaimet voidaan nykyisin luokitella hoidollisesti tai ennusteellisesti erilaisiin alatyyppeihin niiden ilmentämien geneettisten muutosten perusteella. Geneettisillä muutoksilla tarkoitetaan kasvaimen geeneissä DNA:n yksittäisten emästen mutaatioita, kopiolumäärän muutoksia ja geenien uudelleenjärjestymiä eli translokaatioita. Geneettiset muutokset kohdistuvat yleensä syövän kasvua edistävien onkogeneenien aktivoitumiseen tai vaihtoehtoisesti syövän kasvulta suojaavien suppressorigeenien vaimentumiseen. Onkogeneenien aktivoitumisen vuoksi solujen toimintaa säätelevissä signaaliketjuissa tapahtuu muutoksia, joiden seurauksena syöpäsolujen lisääntyminen nopeutuu, ne kykenevät suojautumaan soluja tuhoavilta ja solujen kasvua hidastavilta

mekanismeilta ja niiden kyky muodostaa uudisverisuonia ja etäpesäkkeitä lisääntyy (1).

Kaikista keuhkosyöpätyypeistä on tunnistettu lukuisia geneettisiä muutoksia, ja erityisesti adenokarsinoomille ovat ominaisia yksittäiset syövän synnylle keskeiset driver- eli ajurimutaatiot (2, 3) (KUVA 1). Keuhkon adenokarsinoomille on ominaista niin sanottu onkogeneeniaddiktio, eli syöpäsolujen pahanlaatuinen käyttäytyminen edellyttää syöpägeenin aktivaatiota, ja tämän vuoksi keuhkojen adenokarsinoomissa yksittäisten aktivoituvien syöpägeenien toimintaan vaikuttavilla lääkkeillä on keskeinen merkitys. Runsaasti geenimuutoksia sisältävien eli hypermutatoituneiden kasvaintyyppien hoidossa sen sijaan voidaan saada vastetta käyttämällä syöpäimmunologisia lääkkeitä (4). Levyepiteelikarsinoomat ja pienisoluiset karsinoomat liittyvät yleensä tupakointiin ja sisältävät tyypillisesti runsaasti erilaisia mutaatioita (2).

Molekyylibiologisten muutosten tunnistaminen mahdollistaa signaaliketjun tietyn osan toimintaan kohdenetut yksilöidyt lääkehoidot, joista usein käytetään nimitystä täsmälääkkeet.



KUVA 1. Adenokarsinoomien merkittävimpien ohjaajamutaatioiden yleisyys viitteen (3) mukaan.

Niin kutsutuiden täsmälääkkeidenkin kokonaisvaikutus solujen ja elimistön toimintaan voi olla kuitenkin laajaa ja vaikeasti ennustettavissa, sillä lääkevasteet riippuvat muun muassa solunsisäisen signaalintiverkoston takaisinkytkentä- ja muista kompensatiomekanismeista.

Keuhkosyöpänäytteen käsittely patologian laboratoriossa

Keuhkosyöpää diagnosoidessaan patologi asettaa kudus- tai solunäytteen tutkimiseen perustuvan morfologisen diagnoosin ja arvioi, mitkä syöpänäytteet ohjataan molekyylipatologisiin jatkotutkimuksiin; tämä määräytyy keuhkosyövän histologisen tyyppin perusteella (**TAULUKKO**). **KUVASSA 2** on esitetty tavanomainen keuhkosyövän kudus- ja solunäytteiden diagnostinen ja molekyylipatologinen käsittely. Näyttemateriaalia käytetään mahdollisimman säästeliäästi, ja immunohistokemialliset värjäykset minimoidaan. Molekyylipatologiset tutkimukset tehdään formaliinissa fiksoidusta, parafiniiniin valetusta kudoksenäytteestä sekä tietyin edellytyksin solunäytteistä ja erityisesti solunäytteiden parafiniiniin valetusta materiaalista eli solublokeista. Patologi arvioi, ovatko näytteet laadullisesti ja määrällisesti riittävän edustavia, valitsee jatkotutkimukseen parhaiten sopivan

näytteen tai sen edustavan osa-alueen ja arvioi kasvainsolukon määrän. Suomessa sairaalasolubiologit tai -geneetikot tekevät molekyylipatologiset analyysit osana patologian tai genetiikan osaston toimintaa. Tutkimuksia tehdään sekä yliopistosairaaloissa että joissakin keskussairaaloissa, ja niitä voidaan tilata ostopalveluina myös ulkomailta

EGFR-geenin mutaatio ja ALK-geenin translokaatio keuhkosyövän diagnostiikassa

Suomessa tutkitaan nykyisin adenokarsinoomista ja muista ei-levyepiteeliperäisistä, ei-pienisoluista keuhkosyövästä somaattinen *EGFR* (epidermaalisen kasvutekijän reseptorin 1) -geenin mutaatio ja *ALK* (anaplastisen lymfoomakinaasin) -geenin translokaatio. Joissakin yksiköissä tutkimusta ei tehdä primaaridiagnostiikkavaiheessa potilaille, joiden kohdalla pyritään kuratiiviseen leikkaushoitoon. Sekä *EGFR*-mutaatio että *ALK*-translokaatio ovat onkogeenisia, ja niiden seurauksena solunsisäinen tyrosiinikinaasia säätelevä signaaliketju aktivoituu auttaen syövän kasvua ja leviämistä. Suomalaisessa aineistossa *EGFR*-mutatointuneiden adenokarsinoomien osuus on noin 10–15 % ja *ALK*-translokoituneiden noin 3–5 %, mikä vastaa yleistä länsimaista tasoa (2, 3)(**KUVA 1**).

EGFR-mutaatio johtaa reseptorin solunulkoisen osan dimerisaatioon ja reseptorin jatkuvaan aktivaatioon (5). *EGFR*-mutaatio tunnistetaan yleensä sekvensoimalla tai käyttämällä reaaliaikaista, kvantitatiivista polymeraasiketjureaktio (PCR) -menetelmää (RT-PCR), ja molempia tapoja voidaan soveltaa sekä kudosta solunäytteisiin. Pienten näytteiden osalta voidaan käyttää myös erityisen herkkiä PCR-menetelmiä kuten kvantitatiivista, nanopisara-digitaalista PCR:ää. Rutiinikäytössä olevat menetelmät tunnistavat lähes 30 erilaista *EGFR*-mutaatiota, joista suurin osa on prediktiivisiä eli ne ennustavat hyvää vastetta tyrosiinikinaasin estäjille (TKI). Tavallisimmat prediktiiviset *EGFR*-mutaatiot sijaitsevat eksoneissa 18, 19 ja 21 (5). TKI-lääkkeiden teho vaihtelee mutaatiosta riippuen. Erityisesti *T790M*-mutaatio

on huomionarvoinen: ensimmäisen sukupolven TKI-lääkkeille (gefitinibi, erlotinibi) tämä mutaatio on resistentti, kun taas uudemmilla TKI-lääkkeillä (afatinibi) on tehoa myös tähän mutaatioon. Yksiköissä, joissa *EGFR*-mutaatioanalyysit tehdään omana tuotantona, tutkimukset tehdään viikoittain ja kiireellisessä tapauksessa vastaus voidaan saada kahdessa tai kolmessa työpäivässä.

ALK-geenin translokaation seurauksena syntyy tyrosiinikinaasiaktivaatioon johtava fuusio-proteiini, jota ei esiinny normaaleissa soluissa (6, 7). Translokaation tunnistaminen tehdään yleensä *in situ* -hybridisaatiotutkimuksella (ISH), jolla osoitetaan *ALK*-geenialueen uudelleenjärjestymä ja siihen mahdollisesti liittyvä geenialueen häviäminen eli deleetio. ISH voidaan tehdä sekä fluoresenssi *in situ* -hybridisaatiotutkimuksena (FISH) että tavanomaiseen valomikroskopiaan soveltuvana kromogeenisena *in situ* -hybridisaatiotutkimuksena (CISH) (8). Mikäli käytettävissä on formaliinifikoitu kudoksenäyte, *ALK*-translokaation seulontaan voidaan käyttää fuusioproteiinin tunnistavaa immunohistokemiallista (IHK) värjäystä. Mikäli värjäys on negatiivinen, *ALK*-translokaatio on hyvin epätodennäköinen. Mikäli värjäys on positiivinen, löydös yleensä varmennetaan *in situ* -hybridisaatiolla (9) (KUVA 3). Myös *ALK*-translokaation vastaus voi valmistua kahdessa tai kolmessa työpäivässä.

Usein näytteestä pyydetään samanaikaisesti sekä *ALK*-IHK että *EGFR*-mutaatiotesti. Jälkimmäinen usein perutaan, jos *ALK*-värjäys on positiivinen. On hyvin pieni mahdollisuus, että näytteessä olisi sekä *EGFR*-mutaatio että *ALK*-translokaatio (2).

Milloin näyte on riittävä?

Suurin osa keuhkosyöpädiagnostiikkaan saatavista näytteistä on pieniä biopsioita tai solunäytteitä, jolloin samasta niukasta materiaalista tulee saada sekä histologinen diagnoosi että molekyylipatologinen tutkimus.

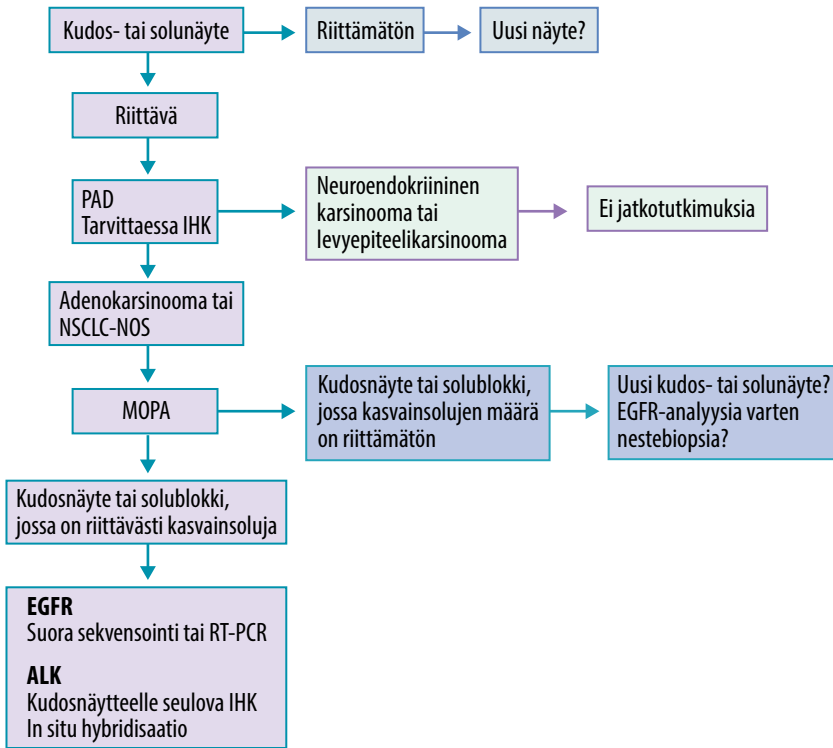
Molekyylipatologisten tutkimusten toteuttamisen käytännöistä olisi hyvä sopia kussakin keskuksessa. Patologian osaston toiminta potilasnäytteiden käsittelyssä on keskeinen, ja suju-

TAULUKKO. Keuhkokarsinoomien WHO 2015 -luokittelu. DIPNECH = diffuusi idiopaattinen keuhkon neuroendokriinisolujen hyperplasia.

Adenokarsinooma
Lepidinen adenokarsinooma
Asinaarinen adenokarsinooma
Papillaarinen adenokarsinooma
Mikropapillaarinen adenokarsinooma
Solidi adenokarsinooma
Invasiivinen musinoosi adenokarsinooma
Kolloidinen adenokarsinooma
Fetaalinen adenokarsinooma
Enteerinen adenokarsinooma
Minimaalisesti invasiivinen adenokarsinooma
Preinvasiiviset leesiot
Atyyppinen adenomatoottinen hyperplasia
Adenokarsinooma <i>in situ</i>
Levyepiteelikarsinooma
Keratinisoituva levyepiteelikarsinooma
Ei-keratinisoituva levyepiteelikarsinooma
Basaloidi levyepiteelikarsinooma
Preinvasiivinen leesio
Levyepiteelikarsinooma <i>in situ</i>
Neuroendokriiniset tuumorit
Pienisolainen karsinooma
Suurisolainen neuroendokriininen karsinooma
Tyyppillinen karsinoidituumori
Atyyppinen karsinoidituumori
Preinvasiivinen leesio
DIPNECH
Suurisolainen karsinooma
Adenoskvamoosi karsinooma
Pleomorfinen karsinooma
Sukkulasolainen karsinooma
Jättisolainen karsinooma

va toiminta edellyttää hyviä lähetetietoja, hyvin toimivia hoitoketjuja, näytemateriaalin käsittelyn suunnitelmallisuutta sekä menetelmien standardointia ja jatkuvaa laadunvarmistusta.

Sekä primaarikasvaimesta että etäpesäkkeistä otetut kudosis- ja solunäytteet soveltuvat molekyylipatologisiin tutkimuksiin, vaikka



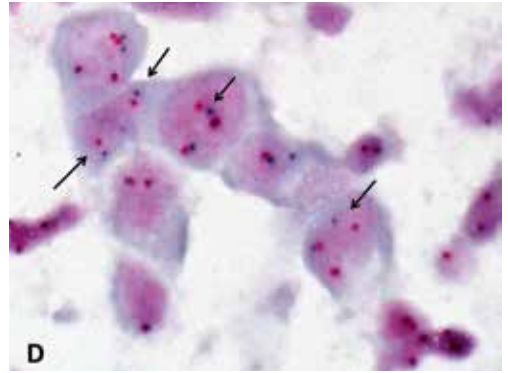
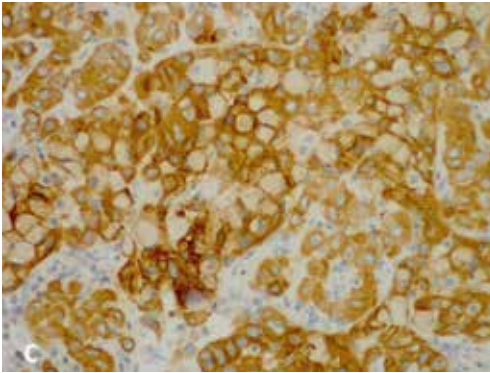
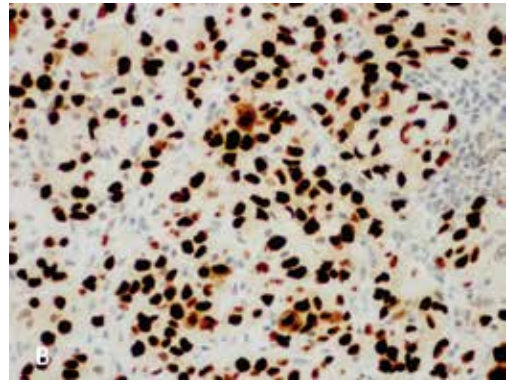
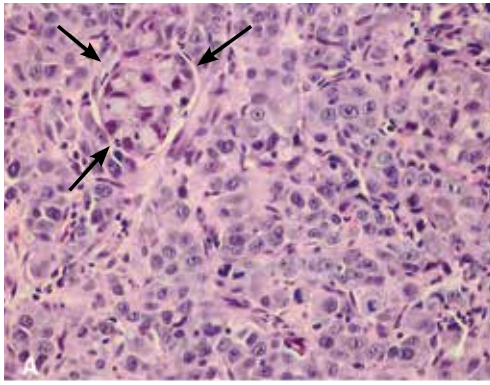
KUVA 2. Kaavio keuhkosyövän kudos- tai solunäytteen käsittelystä patologian laboratorioissa. Lyhenteet: PAD = patologistenanatominen diagnoosi, IHK = immunohistokemia, NSCLC-NOS = tarkemmin määrittelemätön ei-pieni-soluinen karsinoma, MOPA = molekyylibiologinen tai molekyylipatologinen tutkimus; RT-PCR = reaaliaikainen kvantitatiivinen PCR.

optimaalisen näytteen luonteeseen liittyikin vielä avoimia kysymyksiä (10). Käytännössä sekä näytteenottoaika että näytteen määrää ohjaa näytteen saatavuus; olipa kyseessä radiologinen, kirurginen tai keuhko- tai korvalääkärin suorittama näytteenotto. Tutkimustulokset kasvaimen sisäisestä ja primaarikasvaimen ja etäpesäkkeiden välisestä heterogeenisuudesta vaihtelevat, eikä toistaiseksi kumpaakaan ole voitu osoittaa toista paremmaksi näytteenotto-kohteeksi. Syövän geneettinen muuntuvuus on suurta. Esimerkiksi yksittäisten syöpäsolujen sekvensoinnissa on osoittautunut, että kah-ta geneettisesti täysin samanlaista syöpäsolua ei samankaan primaarikasvaimen sisällä ollut (11). Hoitojen aikana resistenssimutaation sisältävä, alkuvaiheessa minimaalisen pieni solupopulaatio voi saada kasvuedun ja vallitseva solukloonin voi evoluutiopaineen myötä vaihtua, minkä perusteella voidaan harkita uutta

näytteenottoa esimerkiksi syövän edessä tai hoitovasteen muuttuessa. Verenkiertoon vapautuvan syöpäsoluperäisen DNA:n analyysi eli niin kutsuttu nestebiopsia voi soveltua tautitaakan reaaliaikaiseen seurantaan ja mutaatio-analyysiin silloin, kun kudosnäytteenotto ei ole mahdollista (12).

Tekninen kehitys on yllättänyt nopeudellaan

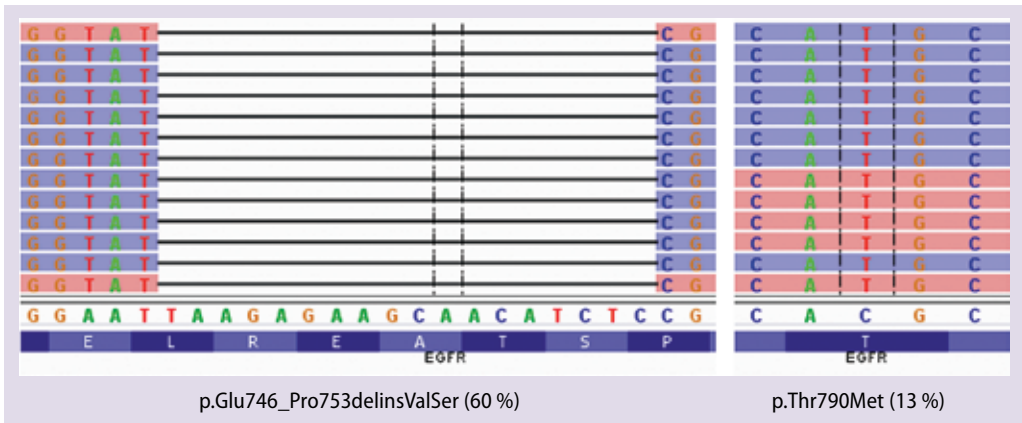
Keuhkosyövän diagnostiikka on uusien hoitojen myötä muuttumassa nopeasti. Kun kasvaimesta pitää tutkia enemmän kuin kaksi geenialuetta tai mutaatiota, uuden polven sekvensointi (NGS) on ylivoimainen hoidon kannalta merkittävien geenimuutosten havaitsemisessa ja tällöin myös menetelmänä edullisin (13). Menetelmällä voidaan jo diagnoosivaiheessa arvioida kasvaimen klonalisuutta ja havai-



KUVA 3. Välikarsinan imusolmukemetastaasin tutkimus. **A)** Perusvärjättyssä HE-leikkeessä todetaan solidisti järjestäytyvä karsinooma, jossa on adenokarsinoomalle ominaisia sinettisormussoluja (nuolet). **B)** Immunohistokemiallinen TTF-1-värjäys varmistaa, että kyseessä on keuhkon adenokarsinooman metastaasi. **C)** Immunohistokemiallinen ALK-värjäys on vahvasti positiivinen. **D)** Valomikroskooppinen kromogeeninen in situ -hybridisaatiotutkimus (CISH) tutkimus, jossa *ALK*-geenialueen uudelleenjärjestymä näkyy signaalikuvioiden erilleen siirtymisenä (nuolet). Kiitämme solubiologi, FT Timo Väisästä CISH-kuvasta.

ta lääkeresistenssiä ennakoivat *EGFR*-geenin eksonin 20 niin sanotut resistentit mutaatiot, jotka saavat valintaedun TKI-hoidon myötä (**KUVA 4**). *RAS* (rat sarcoma) -geenin mutaatioita, joita esiintyy noin neljäsosassa adenokarsinoomista, ei rutiinimaisesti tutkita muuten kuin NGS:llä. NGS-tutkimus valmistuu kahdessa viikossa, ja yhden tutkimuksen korvatussa useita perättäisiä tutkimuksia tulosten saaminen nopeutuu, ja näin potilaan hoito voidaan aloittaa mahdollisimman ajoissa oikealla, yksilöidyllä hoidolla. Lisäksi NGS säästää näytettä. Uuden polven sekvensointi tuo esiin myös *EGFR*-mutaatioita, joita muun muassa kvantitatiivisessa PCR:ssä käytetty kaupallinen reagenssipakkaus ei tunnista. Tutkimukset voidaan tehdä tavanomaisesta patologian laboratorioriden parafiiniin valetusta kudospainemateriaalista.

Laitteistojen kehittyminen, laitekustannusten halpeneminen ja bioinformatikkojen saatavuus mahdollistavat uuden polven sekvensoinnin käytön ainakin suuremmissa genetiikan tai patologian laboratorioissa osana tavanomaista diagnostiikkaa. NGS-menetelmien yleistyessä tulee mahdolliseksi havaita harvinaisia, mutta yksittäisille potilaille merkityksellisiä syöpägeenimutaatioita, kuten keuhkosyövässä esimerkiksi *BRAF*- (B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase) ja *Her2* (human epidermal growth factor receptor 2) -mutaatiot. Kattavien geenianalyyysien myötä kliiniko joutuu tulevaisuudessa harkitsemaan, mitä tuloksia on valmis vastaanottamaan, millaisen tutkimusnäytön pohjalta voidaan kokeellisia hoitoja harkita, ja kuinka toimitaan tilanteissa, joissa lääkkeillä ei ole korvattavuutta.



KUVA 4. Esimerkki *EGFR*-geenin tuloksesta uuden sukupolven sekvensoinnilla (NGS). Oranssilla ja sinisellä merkityt sekvenssit edustavat potilaan näytettä, ja niiden alapuolella on referenssisekvenssi, johon potilaan sekvenssiä verrataan. Valkoisella olevat emäkset puuttuvat potilaan näytteestä. Referenssisekvenssin alapuolella on esitetty aminohappojärjestys. Valtaosassa (60 %) sekvensoiduista juosteista esiintyy prediktiivinen eli suotuisaa tyrosiinikinaasivastetta ilmentävä eksonin 19 insertio-deleetio. Lisäksi todetaan alhaisemmalla frekvenssillä (13 %) eksonin 20 mutaatio, joka aiheuttaa resistenssiä ensimmäisen sukupolven tyrosiinikinaasin estäjille. Mutaatiot aminohappotasolla on esitetty sekvenssien alapuolella.

Lopuksi

Molekyylipatologiset tutkimukset ovat tulleet osaksi normaalia keuhkosyövän diagnostiikkaa. Potilaita hoitavilta lääkäreiltä ja erityisesti patologeilta, keuhkolääkäreiltä ja onkologeilta edellytetään yhä parempaa molekyylipatologian

osaamista. Patologin tulee hallita uusien menetelmien sovellettavuus suhteessa käytettävissä olevaan näytemateriaaliin, hänen tulee voida tulkita molekyylipatologisen analyysin tulos suhteessa kasvaimen morfologiaan ja tarvittaessa tulkita tulos potilasta hoitavalle lääkärille. Onkologinen osaaminen on yhä enemmän molekyylibiologian ymmärtämistä diagnostisten tulosten tulkimisesta hoidon aloittamiseen ja hoitovasteen arvioimiseen. Hoitoketjujen merkitys ja monialainen yhteistyö korostuvat entisestään. ■

ELISA LAPPI-BLANCO, LT, patologian erikoislääkäri
OYS

KAISA SALMENKIVI, dosentti, ylilääkäri patologian erikoislääkäri
HUSLAB Patologia

SOILI KYTÖLÄ, dosentti, sairaalageneetikko
HUSLAB Genetiikka

JUHA KONONEN, LT, syöpätauteihin erikoistuva lääkäri
KSSH/TAYS

SIDONNAISUUDET

Elisa Lappi-Blanco: Luentopalkkio (Eli Lilly Finland), koulutus/kongressikuluja yrityksen tuella (Eli Lilly Finland, Pfizer)

Kaisa Salmenkivi: Ei sidonnaisuuksia

Soili Kytölä: Luentopalkkio (Roche, AstraZeneca)

Juha Kononen: Apuraha (Roche, Amgen), asiantuntijapalkkio (GSK), luentopalkkio (GSK, Amgen, Celgene, Merck, Sanofi), patentti (NIH), lisenssitulo tai tekijänpalkkio (NIH), koulutus/kongressikuluja yrityksen tuella (Novartis, GSK, Roche, Amgen)

Ydinasiat

- ▶ Lääkärit tarvitsevat molekyylibiologista osaamista sekä diagnostiikassa että syöpäpotilaiden hoidossa.
- ▶ Keuhkosyöpien diagnostiikkaan kuuluu molekyylibiologisia tutkimuksia, joiden perusteella suunnitellaan yksilöityjä syöpähoitoja.
- ▶ Adenokarsinoomista ja muista ei-pienisoluisista, ei-levyepiteeliperäisistä keuhkosyövistä tutkitaan *EGFR*-geenin mutaatio ja *ALK*-geenialueen uudelleenjärjestymä.
- ▶ Nopea tekninen kehitys mahdollistaa vaativankin diagnostiikan osana rutiinimaista laboratoriotointia.

KIRJALLISUUTTA

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144:646–74.
2. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG, toim. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 4. painos. Lyon: IARC, WHO 2015.
3. Cheng L, Alexander RE, MacLennan GT, ym. Molecular pathology of lung cancer: key to personalized medicine. *Mod Pathol* 2012;25:347–69.
4. Le DT, Uram JN, Wang H, ym. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372:2509–20.
5. Jänne PA, Engelman JA, Johnson BE. Epidermal growth factor receptor mutations in non-small-cell lung cancer: implications for treatment and tumor biology. *J Clin Oncol* 2005;23:3227–34.
6. Soda M, Choi YL, Enomoto M, ym. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561–6.
7. Salmenkivi K, Knuutila A. Ei-pienisoluisen keuhkosyövän ALK-diagnostiikka. *Duodecim* 2014;130:701–4.
8. Schildhaus HU, Deml KF, Schmitz K, ym. Chromogenic in situ hybridization is a reliable assay for detection of ALK rearrangements in adenocarcinomas of the lung. *Mod Pathol* 2013;26:1468–77.
9. Thunnissen E, Bubendorf L, Dietel M, ym. EML4-ALK testing in non-small cell carcinomas of the lung: a review with recommendations. *Virchows Arch* 2012; 461:245–57.
10. Kim L, Tsao MS. Tumour tissue sampling for lung cancer management in the era of personalised therapy: what is good enough for molecular testing? *Eur Respir J* 2014;44:1011–22.
11. Wang Y, Waters J, Leung ML, ym. Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature* 2014;512:155–60.
12. Isomursu A, Kononen J, Kuopio T. Verenkierron solunulkoinen DNA syövän merkkiaineena. *Duodecim* 2015;131:424–32.
13. Tuononen K, Mäki-Nevala S, Sarhadi VK, ym. Comparison of targeted next-generation sequencing (NGS) and real-time PCR in the detection of EGFR, KRAS, and BRAF mutations on formalin-fixed, paraffin-embedded tumor material of non-small cell lung carcinoma – superiority of NGS. *Genes Chromosomes Cancer* 2013;52:503–11.

SUMMARY

Molecular pathologic diagnosis of lung cancer requires basic knowledge also from clinicians

Besides histological classification of lung cancers, molecular biological examination of tumors is part of modern diagnostics of lung cancers, and cancer therapies are based on molecular biological diagnosis. Current laboratory technique enables the examination of many mutations as part of standard routine diagnosis, necessitating functional multidisciplinary collaboration, with the pathologist playing a central role in the handling of the specimens. In the future, especially pathologists, pulmonary specialists and oncologists are expected to need a good command of molecular biological data on lung cancer, but basic knowledge will be required also from other physicians working with lung cancer patients.