

# Was ist neu in der Pathologie neuroendokriner Tumoren des Pankreas?

**Neuroendokrine Neoplasien des Pankreas (PanNEN) sind seltene Tumoren und machen etwa 1–2 % der im Pankreas gefundenen Neoplasien aus. Die Prävalenzrate wird mit 1/100.000 angegeben. In den letzten Jahren hat sich einiges bzgl. Klassifikation dieser Tumoren getan und es wurde eine neue UICC/AJCC-TNM-Stadieneinteilung (UICC Union internationale contre le cancer, AJCC American Joint Committee on Cancer) eingeführt. Letztere weicht von derjenigen ab, welche die European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) vorgeschlagen hatte, was zusammen mit der kurz danach völlig neu konzipier-**

**ten Klassifikation in der WHO zu Verwirrungen und Problemen führen kann. Auf dem Gebiet der morphologischen Diagnostik wurden einige neue immunhistochemische Marker eingeführt, an den prinzipiellen Abklärungsschritten sowie der Differenzialdiagnose von PanNEN hat sich aber nichts Wesentliches geändert. Auf molekularer Ebene wurden in den letzten Jahren basierend auf der Next-generation-sequencing-Technologie zahlreiche neue Erkenntnisse über PanNEN gewonnen, welche zusammen mit einer Kurzübersicht über Neuerungen in der Diagnostik zusammengefasst werden.**

## Diagnostik und Zuschnitt

In Angleichung an Tumoren anderer Organsysteme werden Neoplasien des Pankreas, welche einen neuroendokrinen Phänotyp zeigen, als neuroendokriner Pankreasneoplasien (PanNEN) bezeichnet. Ältere Bezeichnungen wie „endokrine Pankreastumoren“ oder „Inselzelltumoren“ (eine Bezeichnung, welche v. a. im englischen Sprachraum noch gerne verwendet wird) sind überholt, und Begriffe wie „Pankreaskarzinoid“ oder „APUDom des Pankreas“ sind obsolet. Die prinzipielle Einteilung in funktionell aktive und inaktive Tumoren ist weiterhin gültig. Funktionell aktive PanNEN ma-

**Tab. 1** Einteilung und Charakteristika der neuroendokrinen Pankreastumoren

Funktionell inaktive PanNEN (ohne hormonelle Symptomatik)				
	Häufigkeit	Geschlecht	Symptome	Malignitätsrate
Funktionell inaktiver Tumor	50–70 % der resezierten PanNEN	M = F	Keine hormonelle Symptomatik. Werden durch allgemeine Tumorsymptome und lokale Probleme (Tumormasse, Kompression, Pankreatitis etc.) symptomatisch. Immunhistochemisch oft Expression verschiedener Hormone (PP, Somatostatin, Glukagon und andere)	> 75 %
Funktionell aktive PanNEN (mit hormoneller Symptomatik)				
	Häufigkeit	Geschlecht	Syndrom	Malignitätsrate
Insulinom	40–70 %	M ≤ F	Persistierende hyperinulinämische Hypoglykämie	5–10 %
Gastrinom	10–20 %	M > F	Zollinger-Ellison-Syndrom <sup>a</sup>	60–90 %
VIPom	3 %	M ≤ F	Verner-Morrison-Syndrom <sup>b</sup>	80 %
Glukagonom	1 %	M ≤ F	Glukagonomsyndrom <sup>c</sup>	60 %
Somatostatinom	< 1 %	M < F	Somatostatinomsyndrom <sup>d</sup>	70 %
Kortikotropinom	Sehr selten	M < F	Ektopes Cushing-Syndrom <sup>e</sup>	Hoch
GHRFom	Sehr selten		Akromegalie	Hoch
Kalzitoninom	Sehr selten		Hyperkalzämie, Diarröh	Hoch?

PanNEN neuroendokrine Pankreasneoplasien.

<sup>a</sup>Multifokale, atypische, therapierefraktäre gastrointestinale Ulzera.

<sup>b</sup>VIPom-Syndrom: WDHHA (wässrige Diarröh, Hypochlorhydrie, Hypokaliämie, Anämie), pankreatogene Cholera.

<sup>c</sup>Nekrolytisches migratorisches Erythem, Glossitis, Mundwinkelrhagaden, milder Diabetes mellitus, Anämie, Gewichtsverlust.

<sup>d</sup>Diabetes mellitus, Steatorrhö, Cholelithiasis.

<sup>e</sup>10 % der ektopen Cushing-Syndrome sind durch PanNEN bedingt.

Hier steht eine Anzeige.



Pathologe 2015 · 36:220–228  
 DOI 10.1007/s00292-015-0023-1  
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

P. Komminoth · A. Perren

## Was ist neu in der Pathologie neuroendokriner Tumoren des Pankreas?

### Zusammenfassung

Die Diagnostik neuroendokriner Neoplasien des Pankreas (PanNEN) hat in den letzten Jahren v. a. im Bereich der WHO-Klassifikation, der TNM-Einteilung sowie der Gradierung Veränderungen erfahren. Zudem wurden einzelne neue diagnostische sowie prädiktive immunhistochemische Marker eingeführt. Die meisten Fortschritte wurden auf der Ebene der molekularen Pathogenese von PanNEN erzielt. Mittels „next generation sequencing“ wurden der „mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway“, Hypoxie, aber auch epigenetische Veränderungen als wichtige tumorigene Mechanismen identifiziert. Im vorliegenden Artikel werden die wichtigsten Entwicklungen in der morphologischen und immunhistochemischen Diagnostik von PanNEN und deren molekularer Hintergrund beleuchtet.

### Schlüsselwörter

Panreas · Neuroendokrines Karzinom (NEC) · Klassifikation · Genetik · Biomarker

## What is new in the pathology of pancreatic neuroendocrine tumors?

### Abstract

The diagnostics of pancreatic neuroendocrine tumors (PanNEN) have changed in recent years especially concerning the World Health Organization (WHO) classification, TNM staging and grading. Furthermore, some new prognostic and predictive immunohistochemical markers have been introduced. Most progress, however, has been made in the molecular pathogenesis of these neoplasms. Using next generation sequencing techniques, the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway, hypoxia and epigenetic changes were identified as key players in tumorigenesis. In this article the most important developments of morphological as well as immunohistochemical diagnostics together with the molecular background of PanNEN are summarized.

### Keywords

Pancreas · Neuroendocrine carcinoma · Classification · Genetics · Biomarkers

**Tab. 2** Charakteristika von Mikroadenomatosen des Pankreas

	Keimbahn-Gendefekt	Mikroadenomatose	Makrotumoren
MEN1-assoziierte Mikroadenomatose	<i>Menin</i> ; 11q13	Multiple Mikroadenome, oft multihormonal mit Glukagon- oder PP-Expression, seltener Somatostatin oder Insulin	Oft multihormonal mit Glukagon- oder PP-Expression, seltener Somatostatin oder Insulin
Insulinomatose	Nicht bekannt	Multiple Mikroadenome mit Expression von Insulin	Insulinome
Glukagon-Zell-Adenomatose	<i>Glukagonrezeptor</i> ; 17q25	Multiple Mikroadenome mit Expression von Glukagon	Glukagon-, selten PP-Expression
VHL-assoziierte Mikroadenomatose	<i>VHL</i> ; 3p25	Multiple Mikroadenome	Meist Somatostatin-Expression

*MEN1* multiple endokrine Neoplasie Typ 1, *VHL* von-Hippel-Lindau.

**Tab. 3** Vergleich der WHO-Klassifikation 2010 mit den früheren Klassifikationen (1980 und 2000/2004) für neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltrakts und des Pankreas

WHO 1980	WHO 2000/2004	WHO 2010
I- Carcinoid	1- Well differentiated endocrine tumor (WDET) <sup>a</sup> 2- Well differentiated endocrine carcinoma (WDEC) <sup>a</sup> 3- Poorly differentiated endocrine carcinoma/small cell carcinoma (PDEC)	1- NET G1 (carcinoid) <sup>b</sup> 2- NET G2 3- NEC (large cell or small cell type) <sup>b</sup>
II- Mucocarcinoid	4- Mixed exocrine-endocrine carcinoma (MEEC)	4- Mixed adenocarcinoid carcinoma (MANEC)
III- Mixed forms carcinoid-adenocarcinoma		
IV- Pseudotumor lesions	5- Tumor-like lesions (TLL)	5- Hyperplastic and preneoplastic lesions

*NET* neuroendokriner Tumor, *NEC* neuroendokrines Karzinom, *G* Gradierung.

<sup>a</sup>NET G2 ist nicht automatisch gleichbedeutend mit WDEC in der WHO-Klassifikation 2000/2004.

<sup>b</sup>Die Definition in Klammern wird für die ICD-O-Kodierung verwendet.

**Tab. 4** Gradierung basierend auf Mitosen/10 HPF und Proliferationsindex<sup>a</sup>

Grad	Mitosen (10 HPF)	Ki-67-Index (%)
G1	<2	≤2
G2	2–20	3–20
G3	>20	>20

Mitosen ausgezählt in mindestens 50 „high power fields“ (HPF = 2 mm<sup>2</sup>).

Ki-67-Index ermittelt mittels MIB-Antikörper; % von gezählten 500–2000 Zellen in „hot spot areas“.

<sup>a</sup>Falls die Gradierung zwischen gezählten Mitosen und dem Ki-67-Index nicht übereinstimmt, sollte der höhere Grad verwendet werden.

dar, während die übrigen in **Tab. 1** aufgeführten Entitäten selten sind oder Raritäten darstellen.

Funktionell inaktive PanNEN (ohne hormonelle Symptome) werden häufiger als früher diagnostiziert, was sehr wahrscheinlich auf die verbesserte Bilddiagnostik und angestiegenen Resektionsraten zurückzuführen ist. Ein in diesem Zusammenhang erst kürzlich realisiertes Problem ist die häufig gesehene Signalanreicherung im dorsalen Pankreaskopf (sogenannter PP-lobe) in der Somatostatinrezeptorbildgebung, was zu Fehldiagnosen eines PanNEN führen kann [1]. Funktionell inaktive PanNEN werden entweder zufällig entdeckt oder machen sich durch eine lokale Symptomatik bemerkbar.

Bei der postoperativen Diagnostik von Pankreasresektaten kommen die gleichen Zuschnittverfahren zur Anwendung wie beim exokrinen Pankreaskarzinom [17],

chen ca. 40–60 % aus und sind mit einem charakteristischen klinischen Syndrom assoziiert, welches durch die inadäquate Sekretion eines vom Tumor sezernierten Hormons bedingt ist (**Tab. 1**). Insulinome gefolgt von Gastrinomen stellen die häufigsten funktionell aktiven PanNEN

[31] und es gelten dieselben Regeln für die Gewebeentnahme zur histopathologische Aufarbeitung. Wie beim Adenokarzinom des Pankreas geht es darum, die TNM-relevanten Fragen beantworten und die kritischen Resekatränder identifizieren sowie beurteilen zu können.

Die histomorphologische Differenzialdiagnose der PanNEN beinhaltet v. a. das Azinuszellkarzinom und den solid-pseudopapillären Tumor [10]. Eine zusätzliche Schwierigkeit kann die Abgrenzung von wenig differenzierten neuroendokrinen Karzinomen (NEC, s. unten) und solid wachsenden duktalen Adenokarzinomen darstellen [3]. Gelegentlich stellen Metastasen (z. B. von Melanomen, Nierenzellkarzinomen), Pankreatoblastome oder andere seltene Tumoren des Pankreas eine diagnostische Herausforderung dar, welche durch die Verwendung geeigneter immunhistochemischer Antikörperpanels meist gelöst werden kann [9, 27].

In Pankreasresektaten (und Autopsiepräparaten) werden immer wieder neuroendokrine Mikrotumoren (in Umgebung von Neoplasien oder isoliert) gefunden, welche in ihrer Abgrenzung zu inselähnlichen Strukturen Schwierigkeiten bereiten können. Auf den PP-reichen dorsalen Lappen im Pankreaskopf wurde bereits hingewiesen [1, 11]. Auf die inselähnlichen Aggregate, welche v. a. im Zusammenhang mit einer chronischen Pankreatitis gesehen werden können, wird in dieser Übersicht nicht näher eingegangen. Ebenfalls nicht auf die diffuse Nesiidioblastose des Erwachsenenalters [12], welche klinisch ein differenzialdiagnostisches Problem bei der Abgrenzung zu einem Insulinom darstellt.

Mikrotumoren, welche funktionell inaktiv sind und mit einer Prävalenz von 0,4–1,5 % bei kompletter Aufarbeitung des Pankreas anlässlich einer Autopsie gefunden werden können, sind meist ein Zufallsbefund und exprimieren immunhistochemisch oft PP oder Glukagon. Sie werden nach WHO-Definition bei einem Durchmesser von < 5 mm Mikroadenome genannt. Sie verhalten sich klinisch benigne und erfordern keine weitere Therapie.

Liegen multiple Mikrotumoren vor, muss u. a. an folgende, z. T. erst kürz-

lich beschriebene Entitäten gedacht werden [11]:

- multiple-endokrine-Neoplasie-Typ 1(MEN1)-assozierte Mikroadenomatose,
- Insulinomatose,
- Glukagon-Zell-Adenomatose und
- von-Hippel-Lindau(VHL)-assozierte Mikroadenomatose.

Die Charakteristika dieser Entitäten sind in □ Tab. 2 zusammengefasst.

## Klassifikation

### WHO: wieder neue Namen?

Ein Ziel der neuen WHO-Klassifikation neuroendokriner Tumoren war es, die in der Klassifikation von 2000 und 2004 eingebrachten stadiumassoziierten Parameter (welche oft nur am Exzidat korrekt beurteilt werden konnten) herauszunehmen (da diese nun in der TNM-Stadieneinteilung eingeflossen sind) und die Klassifikation auch für Biopsiepräparate anwendbar zu machen. Ein weiteres Ziel war die universelle Anwendung in verschiedenen Organsystemen. Über die wichtigsten Neuerungen wurde bereits berichtet [15], ein Vergleich zu den früheren Klassifikationen ist in □ Tab. 3 dargestellt. Die neue WHO-Klassifikation, kombiniert mit der TNM-Stadieneinteilung (welche auch präoperativ verwendet werden kann), ermöglicht – wie bei den übrigen Neoplasien – eine verbesserte Risikostratifizierung von Patienten und eine differenzierte Therapieplanung.

Wie bei allen neuen Klassifikationen werden nach deren Publikation Vorschläge für Modifikationen berichtet. Eine beinhaltet die zusätzliche Einführung einer Kategorie NET G3, welche morphologisch als nicht klein- oder großzellig imponieren, aber mehr als 20 % MiB-1-positive Zellen aufweisen [30]. Bei strikter Anwendung der jetzt gültigen WHO-Klassifikation müssen diese Neoplasien als NEC klassifiziert werden. Es hat sich gezeigt, dass es v. a. während der Progression von NET G1 bzw. G2 zu einer Erhöhung des Proliferationsindexes über 20 % kommen kann [26]. Es kann in Zukunft Sinn machen, diese Neoplasien dann als NET G3 und nicht als NEC einzurordnen, aber die

genauen Kriterien hierfür sind noch nicht definiert.

### MiB1 – 2 oder 5 %?

Die von der European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) 2006 vorgeschlagene Gradierung neuroendokriner Neoplasien [20] wurde sowohl von der AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer/Union internationale contre le cancer) als auch von der WHO übernommen und hat sich bisher bewährt (□ Tab. 4). Sie ist in mehreren Arbeiten (auch über PanNEN) validiert worden und ermöglicht eine reproduzierbare Stratifizierung von Patienten in 3 Risikogruppen [19]. Einzelne Forschungsgruppen haben einen „cut-off“ von 5 % MiB1 zur Unterscheidung von G1- und G2-Tumoren bzw. besseren Stratifizierung von PanNEN vorgeschlagen [5, 22], was eventuell auf Differenzen der angewandten immunhistochemischen Methoden und deren Interpretation zurückzuführen ist. Es scheint, dass letzterem Problem zu wenig Beachtung geschenkt wird, zumal Therapieentscheide nicht nur bei neuroendokrinen Neoplasien in zunehmenden Masse auf den MiB1-Index abgestützt werden [18].

### ENETS oder AJCC/UICC-TNM

In der 6. Auflage der TNM-Klassifikation von Tumoren waren neuroendokrine Tumoren explizit ausgenommen, was in der Diagnostik dieser Tumoren immer wieder zu Problemen geführt hat. Die europäische Gesellschaft für neuroendokrine Tumoren (European Neuroendocrine Tumor Society, ENETS) hat deshalb die Initiative ergriffen, dies zu ändern und hat 2006 sowie 2007 die Resultate von 2 Arbeitstagungen in Frascati als Vorschläge für ein TNM-System inklusive Stadieneinteilung sowie Gradierung neuroendokriner Neoplasien (inkl. PanNEN) publiziert [20, 21]. Ein großer Teil dieser Empfehlungen wurde in der 7. TNM-Auflage der AJCC/UICC übernommen, nicht aber diejenigen für neuroendokrine Neoplasien des Pankreas und der Appendix (□ Tab. 5). Zudem wird im AJCC/UICC-System – anders als im vorgeschlagenen System der ENETS – für klein-/großzel-

## Schwerpunkt: Neuroendokrine Tumoren

**Tab. 5** Vergleich der ENETS-TNM und der 7. Version AJCC/UICC-TNM-Klassifikation sowie Stadieneinteilung für neuroendokrine Pankreastumoren

ENETS-TNM			AJCC/UICC-TNM				
<b>Tx</b>	Primärtumor kann nicht bestimmt werden		Primärtumor kann nicht bestimmt werden				
<b>T0</b>	Kein Primärtumor vorhanden		Kein Primärtumor vorhanden				
<b>T1</b>	Tumor auf das Pankreas begrenzt und < 2 cm		Tumor auf das Pankreas begrenzt und ≤ 2 cm				
<b>T2</b>	Tumor auf das Pankreas begrenzt und 2–4 cm		Tumor auf das Pankreas begrenzt und > 2 cm				
<b>T3</b>	Tumor auf das Pankreas begrenzt und > 4 cm, oder Invasion des Duodenums oder des Gallengangs		Tumor breitet sich jenseits des Pankreas aus, jedoch ohne Infiltration großer Gefäße (Truncus coeliacus, A. mesenterica superior)				
<b>T4</b>	Tumor infiltriert angrenzende Organe (Magen, Milz, Dickdarm, Nebenniere) oder die Wand großer Blutgefäße (Truncus coeliacus-Äste, A. mesenterica superior)		Tumor infiltriert große Gefäße (Truncus coeliacus, A. mesenterica superior)				
<b>Nx</b>	Regionäre Lymphknotenmetastasen können nicht bestimmt werden		Regionäre Lymphknotenmetastasen können nicht bestimmt werden				
<b>N0</b>	Keine regionären Lymphknotenmetastasen		Keine regionären Lymphknotenmetastasen				
<b>N1</b>	Regionäre Lymphknotenmetastasen		Regionäre Lymphknotenmetastasen				
<b>Mx</b>	Fernmetastasen können nicht bestimmt werden		Fernmetastasen können nicht bestimmt werden				
<b>M0</b>	Keine Fernmetastasen		Keine Fernmetastasen				
<b>M1</b>	Fernmetastasen		Fernmetastasen				
<b>Stadium I</b>	T1	N0	M0	Stadium IA	T1	N0	M0
<b>Stadium IIA</b>	T2	N0	M0	Stadium IB	T2	N0	M0
<b>Stadium IIB</b>	T3	N0	M0	Stadium IIA	T3	N0	M0
<b>Stadium IIIA</b>	T4	N0	M0	Stadium IIB	T1,T2,T3	N1	M0
<b>Stadium IIIB</b>	Jedes T	N1	M0	Stadium III	T4 jedes	N	M0
<b>Stadium IV</b>	Jedes T	Jedes N	M1	Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

ENETS European Neuroendocrine Tumor Society, AJCC/UICC American Joint Committee on Cancer/Union internationale contre le cancer.

lige neuroendokrine Karzinome das Staging entsprechend den Karzinomen des jeweiligen Organs gefordert [33]. Es wurde bereits im Beitrag von Klöppel et al. [13] auf die durch 2 parallel bestehende unterschiedliche TNM-Systeme resultierenden Probleme hingewiesen. In der Zwischenzeit sind einzelne Arbeiten erschienen, in welchen die prognostische Wertigkeit der 2 unterschiedlichen Klassifikationen miteinander verglichen wurden [19, 29]. In der von Rindi et al. [19] publizierten Studie, in welcher Überlebensdaten von 891 Patienten mit PanNEN aus 8 Zentren gesammelt wurden, konnten die Patienten mittels ENETS-Stadieneinteilung in 4 distinkte Risikogruppen stratifiziert werden, während mit dem AJCC/UICC-System die gleichen Patienten nur in 3 z. T. überlappenden Gruppen eingeteilt werden konnten. Es wird deshalb empfohlen, die von der ENETS vorgeschlagene Stadieneinteilung in der Diagnostik (weiter) zu verwenden, da sie bzgl. Überleben prognostisch aussagekräftiger ist als diejenige der AJCC/UICC.

## Molekularpathologie

Die ersten Erkenntnisse molekulare Veränderungen in PanNET betreffend stammen von familiären Tumorsyndromen. Bereits 1997 wurde das *MEN1*-Gen als Ursache der multiplen endokrinen Neoplasie Typ 1 erkannt. Patienten mit *VHL*-, *NFI*-, und *TSC2*-Keimbahnmutationen haben ebenfalls ein erhöhtes Risiko, an PanNET zu erkranken. Bei einem Teil der Patienten mit Glukagonomatose wurden homozygote Keimbahnmutationen im Glukagonrezeptor beschrieben [37]. Somatiche Mutationen in diesen Genen sind ebenfalls in sporadischen PanNET zu finden. Exomanalysen in sporadischen PanNET haben diese Mutationen bestätigt und zusätzlich Mutationen in weiteren mTOR-Signalkaskade-Genen (*PTEN*, *PIK3CA*) gefunden [8]. In dieser Analyse wurden auch somatische Mutationen in *DAXX* und *ATRX* entdeckt, der hier zugrundeliegende molekulare Mechanismus der Tumorentstehung ist noch nicht vollständig geklärt.

In sporadischen Insulinomen, und nur in diesem PanNET-Subtyp, finden

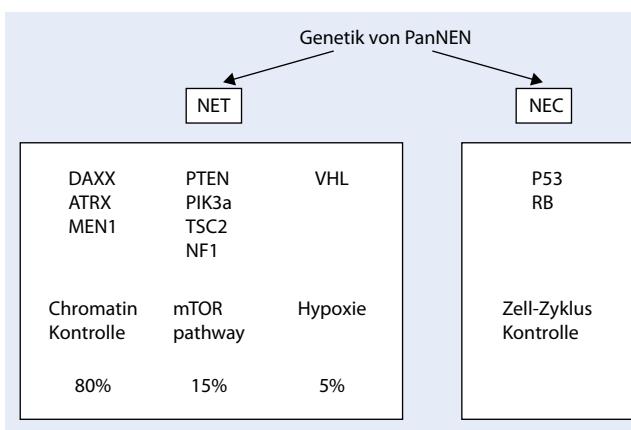
sich rekurrente T372R-Mutationen des *Ying-Yang(YY1)*-Gens auf dem Chromosom 14q23 [4]. Die Häufigkeiten und betroffenen Gene sind in **Abb. 1** dargestellt. In der überwiegenden Anzahl sporadischer PanNEN findet sich mindestens eine dieser hier beschriebenen Mutationen. Diese Mutationen sind jedoch auf gut differenzierte PanNET beschränkt, und auch Patienten mit Keimbahnmutationen der genannten Gene leiden an gutdifferenzierten NET G1 und NET G2, die wenig differenzierten NEC hingegen weisen häufig Mutationen in *P53* und *RB* auf [34], es scheint sich also um genetisch nicht verwandte Tumoren zu handeln.

## Mögliche molekulare Signaturen

Diese Mutationen, obwohl in einer Vielzahl von Genen auftretend, lassen sich in 3 große Gruppen einteilen.

### 1. Gruppe

In etwa 15 % der PanNET sind Gene der mTOR-Signalkaskade (*NFI*, *TSC2*, *PTEN*, *PIK3CA* [34]) und der Hypoxie (*VHL*) mutiert, welche zu einer konstitutiven



**Abb. 1** Mögliche Pathways, Häufigkeiten und involvierte Gene in der molekularen Pathogenese funktional inaktiver neuroendokriner Neoplasien des Pankreas (PanNEN)

Aktivierung dieser Kaskade führen könnten. *DAXX*, *ATRX* und *MEN1* sind alle in der Aufrechterhaltung der Chromatinstruktur involviert. *DAXX*- und *ATRX*-mutierte PanNET zeigen einen Telomerase-unabhängigen Mechanismus der Erhaltung der Telomerlänge („alternative lengthening of telomeres“, ALT [7]), dieser Phänotyp lässt sich durch eine Telomer-FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) erkennen (Abb. 2). Bei dieser Untersuchung lässt sich die stark variable Länge der Telomere durch unterschiedlich starke Telomer-FISH-Signale nachweisen, diese PanNET zeigen sogenannte „ultra-bright telomeres“.

## 2. Gruppe

In einer Serie von operierten PanNET zeigte sich eine starke Assoziation von *DAXX/ATRX*-Mutationen mit erhöhtem Metastaserisiko und somit mit Rezidiv- und Sterberisiko. Dasselbe trifft für den ALT-Phänotyp zu (Abb. 2). Eine erhöhte chromosomale Instabilität ist ein seit 2000 bekannter starker prognostischer Marker für PanNET [36], die sehr starke Korrelation dieses Phänotyps mit ALT legt hier eine kausale Korrelation nahe. Interessanterweise zeigen kleine PanNET mit *DAXX/ATRX*-Mutationen nicht immer einen ALT-Phänotyp, während bei großen PanNET und Metastasen von PanNET eine nahezu 100%ige Korrelation zwischen *DAXX/ATRX*-Mutationen und dem ALT-Phänotyp vorliegt [16]. Diese Beobachtungen suggerieren, dass es nach dem Auftreten von *DAXX/ATRX* Mutationen eine gewisse Zeit braucht, bis sich der ALT-Phänotyp manifestiert. Weshalb diese Tumoren einen schlechte-

ren Verlauf aufweisen, ist noch nicht geklärt, aber die Korrelation mit chromosomal Instabilität legt eine erhöhte intratumorale genetische Heterogenität nahe, welche die Entstehung aggressiverer Subklone begünstigt [16].

## 3. Gruppe

Die 3. Gruppe der PanNEC mit zugrundeliegenden *p53*- und *RB*-Mutationen ist durch eine viel höhere Mutationsrate im restlichen Genom assoziiert, wobei hier jedes Karzinom eine Vielzahl nicht rekurrent auftretender zusätzlicher Mutationen aufweist, was eine zielgerichtete Therapie in diesem Subtyp erschweren dürfte.

Der Nachweis einer der Mutationen hat noch keinen Einzug in den klinischen Alltag gefunden, da noch keine Korrelation mit Therapieansprechen detektiert werden konnte, hier sind aber in Zukunft Fortschritte zu erwarten.

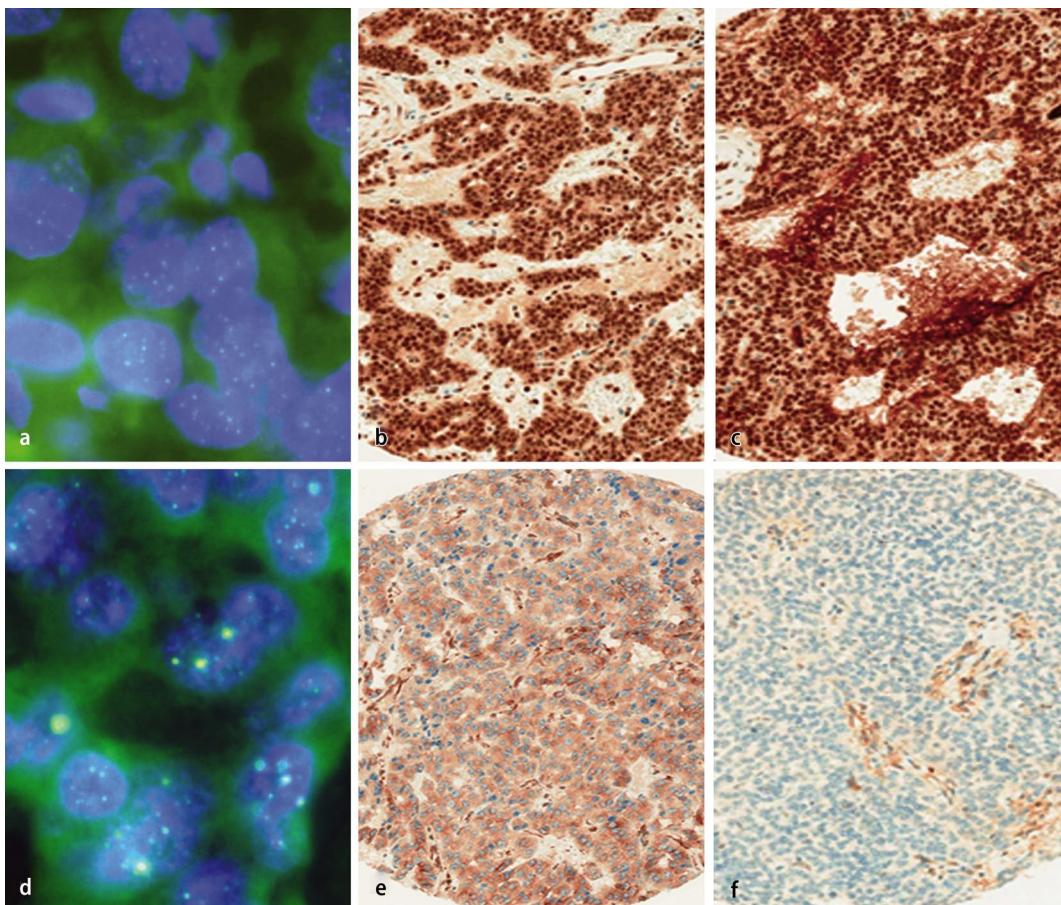
Auch auf epigenetischer Ebene scheint es unterschiedliche Gruppen von PanNET zu geben, und diese Unterschiede sind von prognostischer Relevanz [28].

## Biomarker

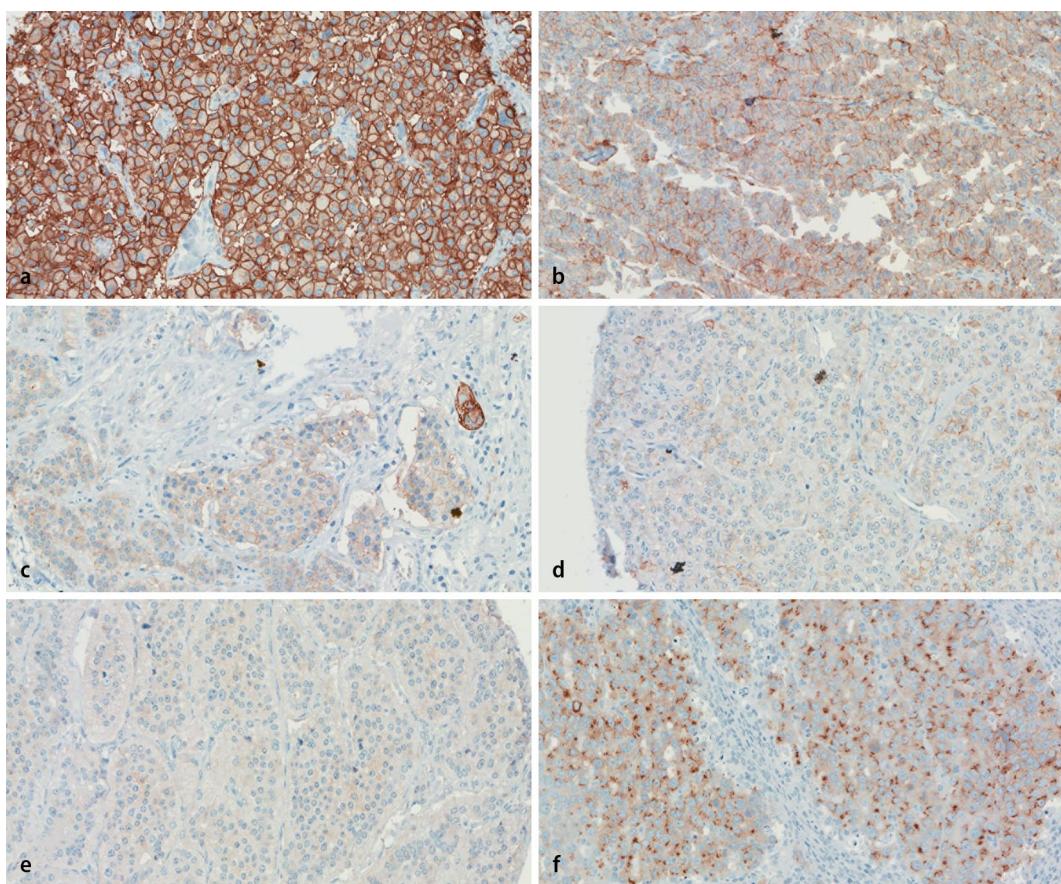
Als diagnostischer Biomarker ist am Tumorgewebe der Nachweis der neuroendokrinen Marker Synaptophysin und Chrmogranin A Standard. Der Einsatz von Ki-67 zur Bestimmung der Proliferationsrate als Basis des Gradings ist der wichtigste prognostische Biomarker [19] und ebenfalls immer indiziert.

Weitere prognostische Biomarker sind in der Literatur zahlreich beschrieben, für die meisten gibt es jedoch kontroverse Resultate oder nur eine einzige Studie

Hier steht eine Anzeige.



**Abb. 2** ▲ Neuroendokriner Pankreastumor (pan-NET) mit/ohne Mutation in entweder DAXX oder ATRX. a) Telomer-FISH (Vergrößerung 600:1) mit schwach leuchtenden Telomersignalen gleicher Intensität. b) DAXX-Immunhistochemie mit positivem nukleärem Signal in Tumorzellen, c) ATRX-Immunhistochemie mit positivem nukleärem Signal in Tumorzellen (DAB, Vergrößerung 400:1). d) Telomer-FISH (Vergrößerung 600:1) mit „ultrastarken“ Telomer- sowie sehr schwachen Signalen, ein Zeichen des ALT-Mechanismus. e) DAXX-Immunhistochemie mit negativem nukleärem Signal bei erhaltener interner Positivkontrolle in Stromazellen/Endothelzellen. f) ATRX-Immunhistochemie mit negativem nukleärem Signal in Tumorzellen bei erhaltener interner Positivkontrolle. *FISH* Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, *ALT* „alternative lengthening of telomeres“



**Abb. 3** ▲ Immunhistochemie SSTR2, Vergrößerung 200:1. a 3+ in 100 % der Tumorzellen, b 2+ in 100 % der Tumorzellen, c 1+ in 100 % der Tumorzellen. d 1+ in 10 % der Tumorzellen. e 0 negativ. f Internatisierter Rezeptor bei intraoperativer Sandostatingabe, positiv aber nicht gradiierbar. a, b, c und f sind geeignet für In-vivo-Somatostatintargeting. *SSTR2* Somatostatinrezeptor 2

[2]. Interessant erscheinen uns die Marker CK19 [23] und CA IX [6, 25]: PanNET mit einer Expression eines dieser Marker sind in mehreren Studien übereinstimmend mit einer schlechteren Prognose assoziiert. Aus Entwicklungsstudien ist bekannt, dass CK19 in Inselvorläuferzellen exprimiert ist, nicht in reifen Inselzellen, somit kann die Expression von CK19 in PanNET möglicherweise auf gewisse Stammzelleigenschaften („stemness“) in PanNET hinweisen. In einer Arbeit wurde die Kombination von CK19 mit der Expression von c-KIT, einem weiteren Marker für „stemness“ als noch schlechterer Prädiktor beschrieben [35]. Eine Expression des hypoxieinduzierten Proteins CA IX in einzelnen oder der Mehrzahl von Tumorzellen charakterisiert ebenfalls einen aggressiveren PanNET-Subtyp. Bei VHL-assoziierten PanNET stellt diese Expression ein Resultat der Mutation dar und somit einer Pseudohypoxie, während bei anderen PanNET die immunhistochemische Positivität Ausdruck einer echten intratumoralen Hypoxie darstellen könnte.

Wie in allen NET wird auch bei PanNEN der Somatostatinrezeptor 2 (SSTR2) als Diagnose- und Therapietarget eingesetzt. Dieser Rezeptor kann mit neuen monoklonalen Antikörpern sehr zuverlässig am Paraffingewebe immunhistochemisch nachgewiesen werden [14] und sollte heute Standard bei der histologischen Aufarbeitung sein. Empfohlen werden die Angabe der Intensität der Färbung (analog HER2/neu [32]) sowie die Ausdehnung der Positivität im Tumor (Abb. 3). Bei einer Intensität von 1+ in mehr als 10 % der Tumorzellen oder einer Färbung von 2+ oder 3+ ist von einer Eignung des Tumors für eine In-vivo-Somatostatinrezeptor-Targetingtherapie auszugehen [14]. Die Rolle der Stärke der SSTR-2-Expression in Bezug auf Indikation einer peptidvermittelten Radiorezeptorthерапie (PRRT) ist noch nicht geklärt, ebenso ist die biologische Rolle einer heterogenen Rezeptorexpression noch unklar.

In der Situation eines gutdifferenzierteren neuroendokrinen „carcinoma of unknown primary“ (CUP, meist in der Leber) ist die Expression von Isl1 ein guter Hinweis auf einen pankreatischen oder duodenalen Ursprung des Primärtumors,

ergänzt mit Cdx2 (ilealer Ursprung) und TTF1 (pulmonaler Ursprung oder medulläres Schilddrüsenkarzinom) ist hier ein zu empfehlendes immunhistochemisches Panel [24].

### Fazit für die Praxis

- Die Einteilung von PanNEN in funktionell inaktive und funktionell aktive Tumoren (mit einem entsprechenden klinischen Syndrom) ist weiterhin gültig.
- Das Vorliegen einer Mikroadenomatose des Pankreas (multiple neuroendokrine Tumoren < 5 mm) kann nicht nur bei MEN1 vorkommen, sondern auch bei einer Insulinomatose, Glukagon-Zell Adenomatose und beim von-Hippel-Lindau-Syndrom (VHL).
- Die WHO-Klassifikation von PanNEN wurde vereinfacht und der anderer Organsysteme angepasst.
- Die 2010 eingeführte TNM-Klassifikation der UICC/AJCC von PanNEN ist der von der ENETS vorgeschlagenen TNM-Klassifikation bzgl. Krankheitsstadieneinteilung unterlegen und es sollten deshalb beide in der Diagnose erwähnt werden.
- Die ENETS-Gradierung von PanNEN (welche von der WHO sowie UICC/AJCC übernommen wurde), hat sich bewährt und stratifiziert Patienten mit PanNEN in 3 Risikogruppen.
- Die molekulare Pathogenese der PanNEN konnte in den letzten Jahren weiter entschlüsselt werden. Neben MEN1-Mutationen wurden Alterationen in Genen der mTOR-Signalkaskade und im DAXX- sowie ATRX-Gen gefunden. In sporadischen Insulinomen finden sich rekurrente T372R-Mutationen des YY1-Gens auf dem Chromosom 14q23.
- Als wichtigster prognostischer immunhistochemischer Biomarker hat sich der Proliferationsmarker Ki-67 etabliert. CK19 und CA IX können als zusätzliche Marker hilfreich sein.
- Die Bestimmung der immunhistochemischen Expression von Somatostatinrezeptoren am Schnittpräparat gehört zum Standard bei der Aufarbeitung von PanNEN und ist ein wichtiger prädiktiver Marker.

Hier steht eine Anzeige.

- **Isl1 kann als immunhistochemischer Marker zur Eingrenzung pankreatischer sowie duodenaler neuroendokriner Primärtumoren eingesetzt werden.**

### Korrespondenzadressen



**Prof. Dr. P. Komminoth**

Institut für Pathologie,  
Stadtspital Triemli  
Birmensdorferstr. 497  
8063 Zürich  
paul.komminoth@  
triemli.zuerich.ch



**Prof. Dr. A. Perren**

Institut für Pathologie der  
Universität Bern  
Murtenstr. 31, Postfach 62  
3010 Bern  
aurel.perren@  
pathology.unibe.ch

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** P. Komminoth und A. Perren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

### Literatur

- Albers MB, Maurer E, Kloppel G et al (2014) Pancreatic polypeptide-rich islets in the posterior portion of the pancreatic head—a tumor mimic in somatostatin receptor scintigraphy. *Pancreas* 43:648–650
- Alkatout I, Friemel J, Sitek B et al (2015) Novel prognostic markers revealed by a proteomic approach separating benign from malignant insulinomas. *Mod Pathol* 28:69–79
- Basturk O, Tang L, Hruban RH et al (2014) Poorly differentiated neuroendocrine carcinomas of the pancreas: a clinicopathologic analysis of 44 cases. *Am J Surg Pathol* 38:437–447
- Cao Y, Gao Z, Li L et al (2013) Whole exome sequencing of insulinoma reveals recurrent T372R mutations in YY1. *Nat Commun* 4:2810
- Carliniante G, Baccarini P, Berretti D et al (2014) Ki-67 cytological index can distinguish well-differentiated from poorly differentiated pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative cytohistological study of 53 cases. *Virchows Arch* 465:49–55
- Couvelard A, O’Toole D, Turley H et al (2005) Microvascular density and hypoxia-inducible factor pathway in pancreatic endocrine tumours: negative correlation of microvascular density and VEGF expression with tumour progression. *Br J Cancer* 92:94–101
- Heaphy CM, De Wilde RF, Jiao Y et al (2011) Altered telomeres in tumors with ATRX and DAXX mutations. *Science* 333:425
- Jiao Y, Shi C, Edil BH et al (2011) DAXX/ATRX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors. *Science* 331:1199–1203
- Klimstra DS, Fukushima N, Hruban RH et al (2010) Diagnostic algorithms for tumours of the pancreas. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Hrsg) WHO classification of tumours of the digestive system. IARC, Lyon
- Kloppel G (2003) Tumors of the endocrine pancreas. *Pathologe* 24:265–271
- Kloppel G, Anlauf M, Perren A et al (2014) Hyperplasia to neoplasia sequence of duodenal and pancreatic neuroendocrine diseases and pseudo-hyperplasia of the PP-cells in the pancreas. *Endocr Pathol* 25:181–185
- Kloppel G, Anlauf M, Raffel A et al (2008) Adult diffuse neosidioblastosis: genetically or environmentally induced? *Hum Pathol* 39:3–8
- Kloppel G, Rindi G, Perren A et al (2010) The ENETS and UICCTNM classification of neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and the pancreas: comment. *Pathologe* 31:353–354
- Korner M, Waser B, Schonbrunn A et al (2012) Somatostatin receptor subtype 2A immunohistochemistry using a new monoclonal antibody selects tumors suitable for in vivo somatostatin receptor targeting. *Am J Surg Pathol* 36:242–252
- Luttges J (2011) What’s new? The 2010 WHO classification for tumors of the pancreas. *Pathologe* 32 (Suppl 2):332–336
- Marinoni I, Kurrer AS, Vassella E et al (2014) Loss of DAXX and ATRX are associated with chromosome instability and reduced survival of patients with pancreatic neuroendocrine tumors. *Gastroenterology* 146:453–460 e455
- Munding J, Luttges J, Esposito I et al (2014) Update of the S3 guidelines for pancreatic cancer. What is new for pathologists? *Pathologe* 35:509–518 (quiz 518–520)
- Oberg K (2012) Neuroendocrine tumors of the digestive tract: impact of new classifications and new agents on therapeutic approaches. *Curr Opin Oncol* 24:433–440
- Rindi G, Falconi M, Klersy C et al (2012) TNM staging of neoplasms of the endocrine pancreas: results from a large international cohort study. *J Natl Cancer Inst* 104:764–777
- Rindi G, Kloppel G, Ahlman H et al (2006) TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 449:395–401
- Rindi G, Kloppel G, Couvelard A et al (2007) TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 451:757–762
- Scarpa A, Mantovani W, Capelli P et al (2010) Pancreatic endocrine tumors: improved TNM staging and histopathological grading permit a clinically efficient prognostic stratification of patients. *Mod Pathol* 23:824–833
- Schmitt AM, Anlauf M, Rousson V et al (2007) WHO 2004 criteria and CK19 are reliable prognostic markers in pancreatic endocrine tumors. *Am J Surg Pathol* 31:1677–1682
- Schmitt AM, Riniker F, Anlauf M et al (2008) Islet 1 (Isl1) expression is a reliable marker for pancreatic endocrine tumors and their metastases. *Am J Surg Pathol* 32:420–425
- Schmitt AM, Schmid S, Rudolph T et al (2009) VHL inactivation is an important pathway for the development of malignant sporadic pancreatic endocrine tumors. *Endocr Relat Cancer* 16:1219–1227
- Singh S, Hallet J, Rowsell C et al (2014) Variability of Ki67 labeling index in multiple neuroendocrine tumors specimens over the course of the disease. *Eur J Surg Oncol* 40(11):1517–1522
- Sipos B, Kloppel G (2005) Acinar cell carcinomas and pancreaticoblastomas: related but not the same. *Pathologe* 26:37–40
- Stefanoli M, La Rosa S, Sahnane N et al (2014) Prognostic relevance of aberrant DNA methylation in g1 and g2 pancreatic neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology* 100:26–34
- Strosberg JR, Cheema A, Weber JM et al (2012) Relapse-free survival in patients with nonmetastatic, surgically resected pancreatic neuroendocrine tumors: an analysis of the AJCC and ENETS staging classifications. *Ann Surg* 256:321–325
- Velayoudom-Cephise FL, Duvillard P, Foucan L et al (2013) Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous? *Endocr Relat Cancer* 20:649–657
- Verbeke CS (2013) Resection margins in pancreatic cancer. *Pathologe* 34(Suppl 2):241–247
- Volante M, Brizzi MP, Faggiano A et al (2007) Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol* 20:1172–1182
- Wittekind C (2010) TNM 2010. What’s new? *Pathologe* 31(Suppl 2):153–160
- Yachida S, Vakiani E, White CM et al (2012) Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol* 36:173–184
- Zhang L, Smyrk TC, Oliveira AM et al (2009) KIT is an independent prognostic marker for pancreatic endocrine tumors: a finding derived from analysis of islet cell differentiation markers. *Am J Surg Pathol* 33:1562–1569
- Zhao J, Moch H, Scheidweiler AF et al (2001) Genomic imbalances in the progression of endocrine pancreatic tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 32:364–372
- Zhou C, Dhali D, Nissen NN et al (2009) Homozygous P86S mutation of the human glucagon receptor is associated with hyperglucagonemia, alpha cell hyperplasia, and islet cell tumor. *Pancreas* 38:941–946