

Pathologie 2024 · 45:35–41
<https://doi.org/10.1007/s00292-023-01276-4>
 Angenommen: 11. Oktober 2023
 Online publiziert: 4. Januar 2024
 © The Author(s) 2024

Schwerpunktherausgebende
 Irene Esposito, Düsseldorf
 Aurel Perren, Bern



Praktische Anwendung von Immunhistochemie in pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien

Tipps und Pitfalls

Konstantin Bräutigam¹ · Aziz Chouchane¹ · Björn Konukiewitz² · Aurel Perren¹

¹ Institut für Gewebemedizin und Pathologie, Universität Bern, Bern, Schweiz

² Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Deutschland

In diesem Beitrag

- Immunhistochemische Marker neuroendokriner Differenzierung
- Proliferationsindex „Ki67“
- Somatostatinrezeptor 2A (SSTR2A)
- p53 und Rb1
- DAXX/ATRX und Menin
- Bedeutung von Transkriptionsfaktoren
- Relevanz der Hormone
- Immunhistochemische Tricks bei Pitfalls
 NET G3 versus NEC • NEC vs. MiNEN
 vs. Adenokarzinom mit neuroendokriner Differenzierung • Anwendung von Molekularpathologie in pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien

Konstantin Bräutigam und Aziz Chouchane teilen die Erstautorenschaft, Björn Konukiewitz und Aurel Perren die Letztautorenschaft.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Zusammenfassung

Pankreatische neuroendokrine Neoplasien (PanNEN) sind eher selten. Die Morphologie hilft in der Zusammenschau mit der Immunhistochemie bei der Typisierung und weiteren Einteilung des jeweiligen Tumortyps. Je nach Tumorstadium und Differentialdiagnose variiert das diagnostische Panel. Die vorliegende Arbeit fasst die obligaten diagnostischen, prognostischen und prädiktiven Marker bei PanNEN zusammen.

Marker der Wahl zum Nachweis eines neuroendokrinen Phänotyps sind Synaptophysin, Chromogranin A sowie INSM1. Die Proliferationsfraktion Ki67 ist zur Graduierung unabdingbar, während p53 und Rb1 in der Abgrenzung zum neuroendokrinen Karzinom (NEC) helfen können. Transkriptionsfaktoren, wie beispielsweise CDX2, TTF-1, Islet-1 geben Hinweise auf die Lokalisation eines Primarius in der Cancer-of-unknown-primary(CUP)-Situation. Die DAXX/ATRX-Immunhistochemie hat vor allem prognostischen Wert. Molekularpathologische Untersuchungen haben bisher einen geringen Stellenwert in der Diagnostik der PanNEN.

Wichtiger Fallstrick in der Routinediagnostik ist das breite Spektrum an Differentialdiagnosen, welche neuroendokrine Neoplasien imitieren. Ein erweitertes immunhistochemisches Panel ist im Zweifelsfall empfohlen.

Schlüsselwörter

Neuroendokrin · Immunhistochemie · PanNET · Pankreas · Fallstricke

Immunhistochemische Marker neuroendokriner Differenzierung

Gut und schlecht differenzierte pankreatische neuroendokrine Neoplasien (PanNEN) zeichnen sich durch die Expression der neuroendokrinen Marker Synaptophysin, Chromogranin A und INSM1 aus. Gut differenzierte PanNEN sind meist stark und durchgehend positiv für Synaptophysin, Chromogranin A und INSM1 (Abb. 1). Die Expression der neuroendokrinen Marker nimmt in schlecht differenzierten PanNEN ab. Chromogranin A

ist häufig negativ, INSM1 und Synaptophysin können nur sehr fokal exprimiert sein [1]. Es gibt noch weitere Marker, die den neuroendokrinen Phänotyp erkennen, aber nicht spezifisch (CD56) oder schwierig einzustellen sind (NSE). Daher sollten sie nicht für die Diagnose neuroendokriner Neoplasien verwendet werden. Zudem können neuroendokrine Marker in konventionellen Adenokarzinomen exprimiert sein. Gemischte neuroendokrine-neuroendokrine Neoplasien können erst dann diagnostiziert werden, wenn auch eine typische, morphologisch distink-

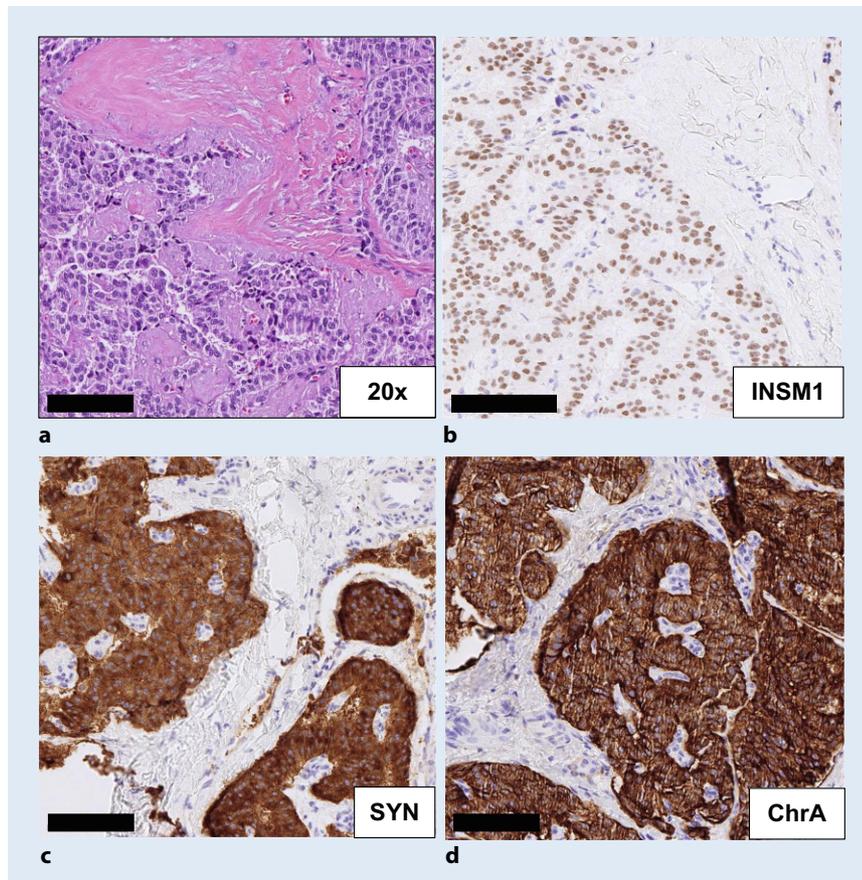


Abb. 1 ▲ Marker neuroendokriner Differenzierung, hier am Beispiel eines Insulinoms, G1. **a** HE-Färbung, Vergr. 20:1. **b** INSM1-Immunhistochemie. **c** Synaptophysin-Immunhistochemie. **d** Chromogranin-A-Immunhistochemie. **a-d** Maßstab im Einsatz: 100 µm

te Komponente konventionell histologisch erkennbar ist [2–4].

Proliferationsindex „Ki67“

Die Proliferationsfraktion Ki67 (Ki67) ist ein seit Langem etablierter Biomarker zur Gradierung pankreatischer neuroendokriner Neoplasien [5]. Wichtige Cut-offs sind 3 % und 20 %. Die Quantifizierung mittels Auszählung auf einem Ausdruck ist verlässlich und kostengünstig [6].

Ki67 wird im „Hotspot“ (mind. 500 Zellen) gezählt (Abb. 2) und kann auf Schnittpräparaten heterogen sein [7]. Eine PHH3-Immunhistochemie detektiert Mitosefiguren und ist weniger gut untersucht als Mitosefiguren in der HE-Färbung oder Ki67. Gastroenteropankreatische neuroendokrine Karzinome (NEC), G3, zeigen bei einem Ki67 < 55 % ein reduziertes Ansprechen auf platinbasierte Therapie [8].

Somatostatinrezeptor 2A (SSTR2A)

Neuroendokrine Tumoren können Somatostatinrezeptoren (SSTR) exprimieren, die diagnostisch, prognostisch [9] und therapeutisch als Zielmoleküle relevant sind [10]. Somatostatinanaloga werden an radioaktive Isotope gekoppelt und binden so an SSTR (interne Peptidradiorrezeptortherapie).

Der Nachweis von SSTR2A erfolgt immunhistochemisch. Die Expression ist membranär, allerdings heterogen und teils deutlich fixierungsabhängig (Cave: Fixierungsgradient als Artefakt, Abb. 2; [11]). Endothel kann als interne Positivkontrolle genutzt werden. Nichtfunktionelle pankreatische neuroendokrine Tumoren (PanNET) zeigen häufig eine starke Expression, während Insulinome häufig negativ sind. Eine Intensitätseinteilung in 3 Stufen hat sich bewährt (Abb. 2). Die Intensität und der prozentuale Anteil positiver Zellen (> 10 % membranäre Positivität) korrelieren

mit der realen Rezeptordichte [12]. Zu beachten ist eine dosisabhängige SSTR2-Internalisierung bei Pankreasoperationen unter Einsatz von Somatostatinanaloga, bspw. Octreotid [13]. Dies ist nicht zu verwechseln mit einer schwachen Expression von SSTR2A.

p53 und Rb1

In der differentialdiagnostischen Abgrenzung von NET G3 zu NEC haben sich die beiden Marker p53 und Rb1 als hilfreich erwiesen. *RB1* und *TP53* sind Tumorsuppressorgene, die in PanNET ganz überwiegend einen Wildtypstatus aufweisen und in bis zu 70 % der NEC alteriert sein können (Abb. 3). Das Expressionsmuster von Rb1 gilt im Falle eines kompletten nukleären Verlustes als pathologisch, die Endothelien der intratumoralen Blutgefäße dienen als interne Positivkontrolle. Dieser Rb1-Verlust ist häufig epigenetisch induziert. Ein Rb1-Verlust kann einen prädiktiven Wert für eine platinbasierte Therapie haben [14].

Die Interpretation des Expressionsmusters von p53 ist komplexer. Hier sind sowohl der komplette nukleäre Verlust als auch die nukleäre Überexpression pathologisch und mit inaktivierender Mutation vergesellschaftet. Allerdings muss man in einigen Fällen zum einen zur Abgrenzung eines kompletten nukleären Verlustes positive Tumorzellkerne regelrecht suchen, zum anderen existiert kein verlässlicher *Cut-off* zur Definition einer nukleären Überexpression, was in einigen Fällen zu diagnostischer Unsicherheit führen kann. Eine starke nukleäre Expression von p53 in mehr als 20 % der Tumorzellen korreliert gut mit einer *TP53*-Mutation. Die pathologische Expression von Rb1 und p53 ist ein indirekter Hinweis auf eine Genalteration, der Mutationsstatus ist allerdings nicht vorhersagbar, da auch Veränderungen der Genkopienzahl und epigenetische Regulationen eine entscheidende Rolle spielen. Die definitive Einordnung von NET G3 und NEC muss allerdings in erster Linie aufgrund histologischer Wachstumsmuster erfolgen, da auch wenige NET G3 eine pathologische Expression von p53 (10 %) und Rb1 (selten) zeigen können [1, 3, 15, 16].

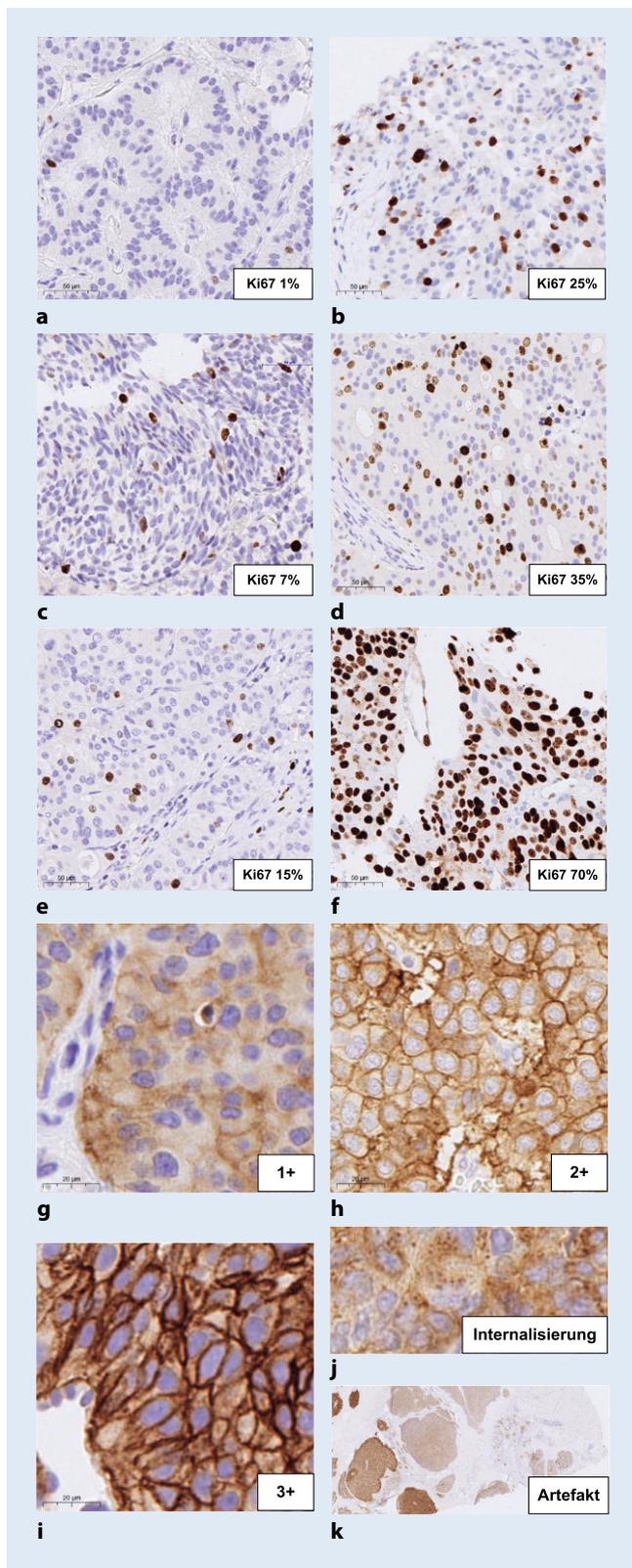


Abb. 2 ◀ a-f Beispiele für die prozentuale Proliferationsfraktion Ki67. g-i Dreistufige Intensitätseinteilung der Expression des Somatostatinrezeptors 2A (SSTR2A). Dazu Beispiele einer Rezeptorinternalisierung (j) sowie ein Artefaktmuster (k; Fixierungsgradient)

DAXX/ATRX und Menin

DAXX und ATRX codieren für Proteine, die die genomische Stabilität unterstützen, insbesondere in den Telomerregionen des Genoms. Somatische Mutationen in diesen Genen schließen sich gegenseitig aus und führen zu alternativer Telomerverlängerung (ALT). DAXX- und ATRX-Mutationen treten meist erst in größeren (> 2 cm) PanNET auf und sind ein Progressionsmechanismus.

Immunohistochemisch ist der nukleäre Expressionsverlust eines dieser Proteine mit einer schlechteren Prognose und einer höheren Rezidivrate bei PanNET assoziiert [15]. Endothel, Stroma oder Immunzellen können als interne Kontrollen verwendet werden, um falsch negative Befunde zu vermeiden.

MEN1-Mutationen sind die häufigsten Mutationen bei PanNET, nicht nur im Rahmen genetischer Syndrome, sondern auch bei sporadischen Tumoren. Der immunohistochemische Verlust der Menin-Expression, der auch im Zellkern zu beobachten ist, kann die Diagnose unterstützen. MEN1-Mutationen sind nicht mit schlechterer Prognose assoziiert.

Bedeutung von Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktoren helfen bei der Bestimmung des Ursprungs einer neuroendokrinen Neoplasie. Islet-1 ist spezifisch für einen pankreatischen Primarius (kann im Duodenum oder Rektum ebenfalls positiv sein) [17, 18]. PDX1 und ARX als Transkriptionsfaktoren für β - und α -Zellen können im Zweifel einen pankreatischen Ursprung weiter erhärten (wie auch ein Expressionsverlust von DAXX/ATRX). Während „thyroid transcription factor 1“ (TTF-1) in erster Linie einen pulmonalen oder thyreoidalen (medulläres Schilddrüsenkarzinom) Ursprung anzeigt, deutet CDX2 auf einen gastroenteropankreatischen Primarius. PITX2 wurde kürzlich als nützlicher Adjunkt für neuroendokrine Primaries des Mitteldarms beschrieben [19]. Falls es sich bei dem Primarius um ein neuroendokrines Karzinom handelt, sind diese Transkriptionsfaktoren nicht aussagekräftig.

Eine Erweiterung der diagnostischen Immunhistochemie ist insbesondere bei

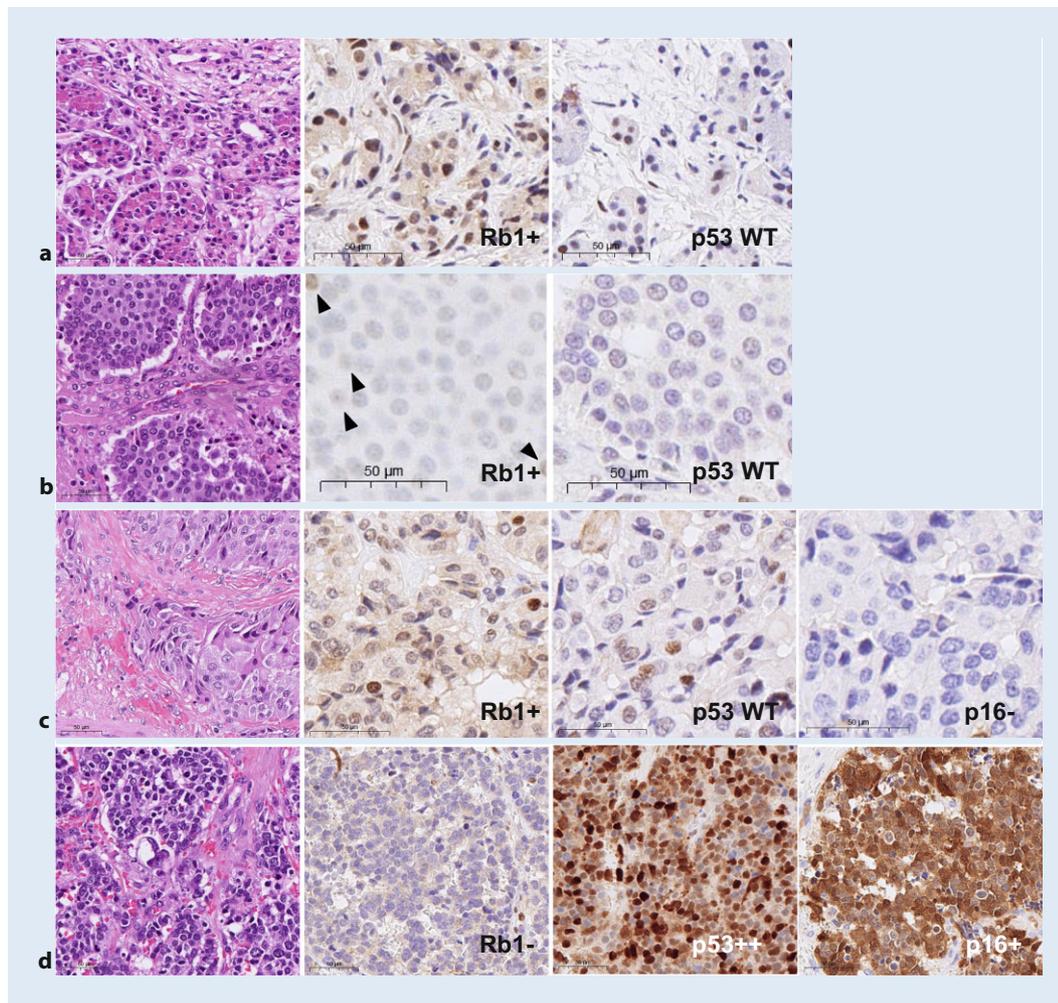


Abb. 3 ◀ Expressionsmuster von Rb1, p53 und p16 in neuroendokrinen Tumoren G3 und neuroendokrinen Karzinomen des Pankreas. **a, b** NET G3 mit erhaltenem Rb1 sowie p53-Wildtypmuster, teils mit schwacher Expression (**b**, Pfeilspitzen: erhaltene Rb1-Expression). **c** Erhaltene Rb1-Expression sowie p53-Wildtyp in einem neuroendokrinen Karzinom (NEC). **d** NEC mit Rb1-Verlust, aberrantem p53 sowie starker p16-Expression. WT Wildtyp, + erhalten/exprimiert, ++ aberrante Expression, - Verlust

zweifelhafter Morphologie und klinisch-bildgeberischer Korrelation geboten. Dies gilt speziell für Differentialdiagnosen, welche eine neuroendokrine Morphologie imitieren (siehe **Tab. 1** sowie Beitrag im vorliegenden Themenheft).

Relevanz der Hormone

PanNETs können eine Vielzahl unterschiedlicher Peptidhormone produzieren, die neben den Hormonen der Langerhans-Inseln (Insulin, Glukagon, Somatostatin, pankreatisches Polypeptid) auch ektope Hormone einschließen (z.B. Serotonin, Gastrin, VIP, ACTH). In einigen Fällen ist die Hormonproduktion mit einem klinischen Syndrom assoziiert. Dann werden die Tumoren nach ihrem produzierten Hormon benannt (u.a. Insulinom, Glukagonom, Gastrinom). Für die Routinediagnostik primärer PanNET ist der immunhistochemische Hormonnachweis nur in Ausnahmefällen relevant, da hormonaktive PanNET meist eine charakteristische hormonspezifische Klinik (Flush, Diarrhö, u.a.) zeigen, die den klinischen Kolleg*innen in Kombination mit laborchemischen Hinweisen in der Regel genügen. In der metastatischen Situation kann der immunhistochemische Nachweis von Peptidhormonen bei unbekanntem Primarius differentialdiagnostisch allerdings in vielen Fällen hilfreich sein [3, 20].

Immunhistochemische Tricks bei Pitfalls

Immunhistochemische Tricks bei Pitfalls

NET G3 versus NEC

Die Unterscheidung zwischen NET G3 und NEC ist für die Wahl der Systemtherapie und die Prognose entscheidend. NET G3 entstehen im Pankreas häufiger als in anderen Organen des Gastrointestinaltrakts. Sowohl Histomorphologie,

immunhistochemische und molekulare Untersuchungen als auch klinische Geschichte helfen bei der Unterscheidung ([14, 21]; **Abb. 4**, **Tab. 2**). Bei einem NET in der Vorgeschichte ist Vorsicht bei der Diagnosestellung eines NEC angebracht. In der seltenen Situation einer Transformation schlagen wir eine Bezeichnung als NET G3 mit „NEC-artigen Eigenschaften“, die klinische Bedeutung ist noch nicht geklärt, vor.

NEC vs. MiNEN vs. Adenokarzinom mit neuroendokriner Differenzierung

Die Histomorphologie ist entscheidend für die Unterscheidung zwischen NEC, gemischten neuroendokrinen Neoplasien (MiNEN) und Adenokarzinomen mit neuroendokriner Differenzierung (ADNE).

Morphologische Adenokarzinome, die diffus Synaptophysin exprimieren, sind

Tab. 1 Diagnostische Fragestellungen und deren Immunhistochemie	
Fragestellung	Immunhistochemische Marker
Neuroendokrine Neoplasie?	Chromogranin A, CK, INSM1, Synaptophysin
DD Neuroendokrines Karzinom	DAXX/ATRX/MEN1, p16, p53, Rb1
Ursprung der neuroendokrinen Neoplasie	CDX2, DAXX/ATRX, Islet-1, TTF-1, PITX2, (ARX, PDX1)
MiNEN	BCL10, CA19.9, CEA, EMA, MUC1, Trypsin, ggf. weitere
Solid-pseudopapilläre Neoplasie (SPN)	β -Catenin, Chromogranin A, CK
Metastase klarzelliges Nierenzellkarzinom	Chromogranin A, RCC (Islet-1/PAX8 können positiv sein)
Paragangliom	Zytokeratin negativ, GATA3
Azinuszellkarzinom	BCL10, Trypsin
Adrenokortikales Karzinom	SF1
CK Zytokeratin, DD Differentialdiagnose, MiNEN gemischt neuroendokrin-nichtneuroendokrine Neoplasien, PAX8 „paired box gene 8“, RCC „renal cell carcinoma“, SF1 „steroidogenic factor 1“	

Tab. 2 Morphologisch-immunhistochemische Unterscheidungskriterien pankreatischer neuroendokriner Tumor (NET), G3 versus neuroendokrines Karzinom (NEC)		
	NET G3	NEC
Wachstumsmuster	Organoid	Expansive solide/kribriiforme Areale
Stroma	Hyalinisiert	Desmoplastisch
Kapilläre Gefäße	Eng mit Nestern assoziiert	Entfernt von Gefäßen
Nekrose	Fehlend oder punktförmig	Geografisch
Synaptophysin/ Chromogranin A	Homogen stark	Fleckförmig
p53	Pathologisch in 10 %	Pathologisch in 50 %
Rb1-Verlust	< 5 %	70 %
p16-Überexpression	Nicht vorhanden	70 % stark positiv (Achtung Zervix bei HPV)
Verlust DAXX/ATRX/MEN1	70 % von PanNET, in anderen NET weniger relevant	< 10 %
Ki-67	Häufig < 55 %	Häufig > 55 %
PanNET pankreatische neuroendokrine Tumoren		

im Kolon gut untersucht und als ADNE beschrieben. Sie kommen selten auch im Pankreas vor. Neben der morphologisch erkennbaren drüsigen Komponente kann der fehlende Nachweis einer relevanten Expression von Chromogranin A und INSM1 helfen. Da zur Diagnose eines MiNEN mindestens 30% beider Komponenten vorliegen müssen, empfehlen wir bei Biopsaten eine beschreibende Diagnose einer gemischten Neoplasie (Adenokarzinom und großzelliges NEC) mit Kommentierung, dass formell 30% notwendig sind. Das gemischte azinär-neuroendokrine Karzinom als Subtyp einer MiNEN wird insbesondere als metastatische Läsion nicht selten als NET G3 verkannt.

Anwendung von Molekularpathologie in pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien

Molekulare Schlüsselalterationen in pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien sind *MEN1*-Mutationen als initierende Veränderung sowie *DAXX*- oder *ATRX*-Mutationen im Rahmen der Progression [22]. Eine Anwendung von *DAXX/ATRX*-Immunhistochemie hat sich als prognostischer Marker zusätzlich zu Ki67 bewährt. Die immunhistochemische Untersuchung von Menin sowie die Anwendung der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung zur Detektion alternativer Telomerverlängerung (ALT) haben bislang keinen Eingang in die Routine gefunden. Next Generation Sequencing (NGS) kann in Einzelfällen zur Unterscheidung von NET G3 versus

NEC bei inkonklusiver Morphologie und Immunhistochemie hilfreich sein, da NEC genetische Alterationen aufweisen können, die dem pankreatischen duktalem Adenokarzinom näherstehen.

In kolorektalen neuroendokrinen Neoplasien wurden Mikrosatelliteninstabilität sowie *BRAF*-Mutationen [23, 24] als therapeutisch relevant beschrieben. In PanNEN dagegen gibt es diesbezüglich keine klare Datenlage. Mausmodelle zeigen bei pankreatischen neuroendokrinen Tumoren verschiedene molekularpathologische Subtypen mit heterogenem metabolischen Profil und unterschiedlicher biologischer Aggression [25]. Reproduzierbare Indikatormoleküle für diese Subtypen sind bisher nicht publiziert.

Fazit für die Praxis

- Synaptophysin, Chromogranin A und Insulinoma-assoziiertes Protein 1 (INSM1) sind etablierte Marker zur Determinierung einer neuroendokrinen Neoplasie.
- Die Proliferationsfraktion Ki67 ist unerlässlich zur WHO-konformen Graduierung pankreatischer neuroendokriner Neoplasien und hat eine hohe prognostische Bedeutung.
- Somatostatinrezeptoren sind potenzielle therapeutische Targets und können immunhistochemisch detektiert werden.
- p53 und Rb1 helfen häufig in der Differenzierung zwischen pankreatischen neuroendokrinen Tumoren (PanNET) G3 und neuroendokrinen Karzinomen (NEC). Morphologische Kriterien sind obligat zu beachten.
- Die Differentialdiagnose zur pankreatischen neuroendokrinen Neoplasie ist breit. Immunhistochemische Untersuchungen helfen in der Typisierung.
- Molekularpathologische Untersuchungen haben aktuell einen geringen diagnostischen Stellenwert.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Aurel Perren
Institut für Gewebemedizin und Pathologie,
Universität Bern
Murtenstr. 31, 3008 Bern, Schweiz
aurel.perren@unibe.ch

Funding. Open access funding provided by University of Bern

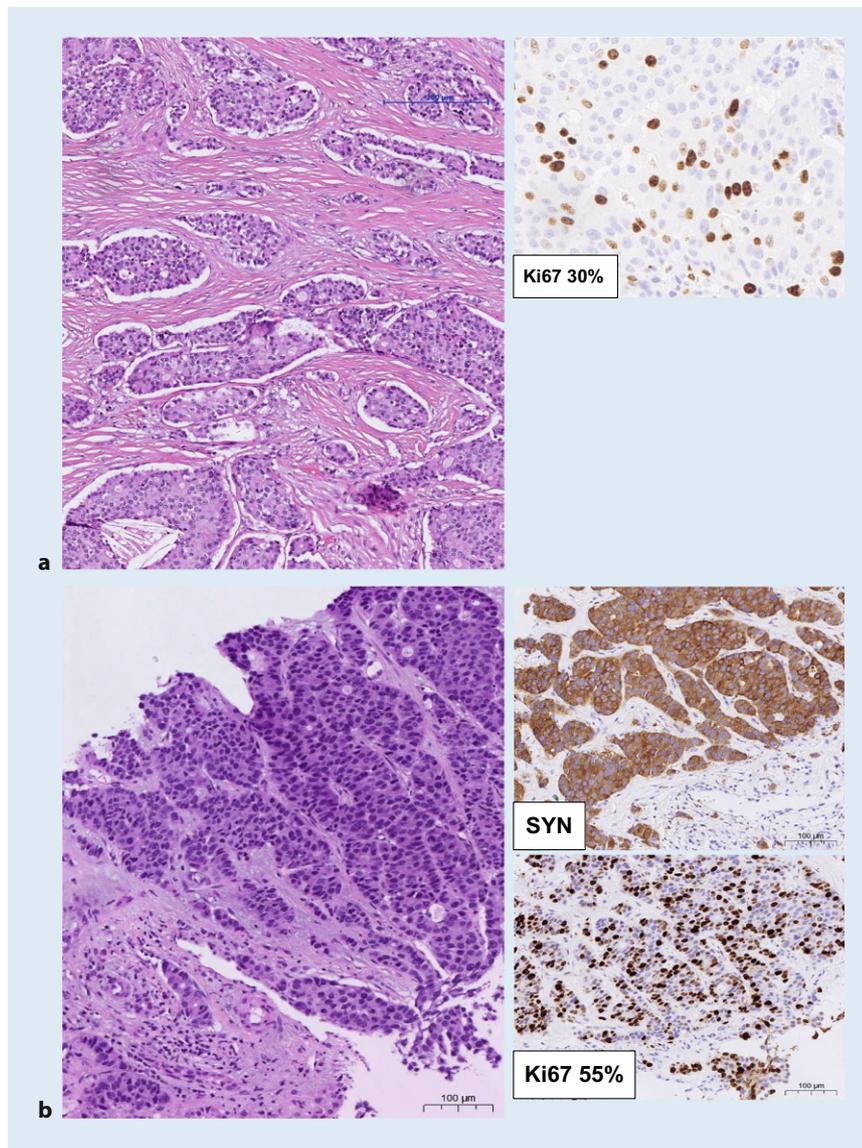


Abb. 4 ▲ Konventionell-morphologische Unterschiede zwischen pankreatischem neuroendokrinen Tumor (NET) G3 versus neuroendokrines Karzinom (NEC). **a** NET G3 mit Ki67 25–30 %, organoide Wachstumsmuster und eher hyalinem Stroma. **b** NEC mit Ki67 > 50 %, solidem Wachstum sowie desmoplastischem Stroma ohne angrenzende Mikrogefäße. SYN Synaptophysin

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. K. Bräutigam, A. Chouchane, B. Konukiewitz und A. Perren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz

beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

- Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P et al (2020) The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology* 76(2):182–188
- Litmeyer AS, Konukiewitz B, Kasajima A, Foersch S, Schickanz F, Schmitt M et al (2023) High expression of insulinoma-associated protein 1 (INSM1) distinguishes colorectal mixed and pure neuroendocrine carcinomas from conventional adenocarcinomas with diffuse expression of synaptophysin. *J Pathol Clin Res.* <https://doi.org/10.1002/cjp.2.339>
- Konukiewitz B, Jesinghaus M, Kasajima A, Klöppel G (2022) Neuroendocrine neoplasms of the pancreas: diagnosis and pitfalls. *Virchows Arch* 480(2):247–257
- Konukiewitz B, Kasajima A, Schmitt M, Schwamborn K, Groll T, Schickanz F et al (2021) Neuroendocrine differentiation in conventional colorectal adenocarcinomas: incidental finding or prognostic biomarker? *Cancers* 13(20):5111
- Pelosi G, Bresaola E, Bogina G, Pasini F, Rodella S, Castelli P et al (1996) Endocrine tumors of the pancreas: Ki-67 immunoreactivity on paraffin sections is an independent predictor for malignancy: A comparative study with proliferating-cell nuclear antigen and progesterone receptor protein immunostaining, mitotic index, and other clinicopathologic variables. *Hum Pathol* 27(11):1124–1134
- Reid MD, Bagci P, Ohike N, Saka B, Erbarut Seven I, Dursun N et al (2015) Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Mod Pathol* 28(5):686–694
- Sobecki M, Mrouj K, Colinge J, Gerbe F, Jay P, Krasinska L et al (2017) Cell-cycle regulation accounts for variability in Ki-67 expression levels. *Cancer Res* 77(10):2722–2734
- Sorbye H, Welin S, Langer SW, Vestermark LW, Holt N, Osterlund P et al (2013) Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3): The NORDIC NEC study. *Ann Oncol* 24(1):152–160
- Nielsen K, Binderup T, Langer SW, Kjaer A, Knigge P, Grøndahl V et al (2020) P53, Somatostatin receptor 2a and Chromogranin A immunostaining as prognostic markers in high grade gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Bmc Cancer* 20(1):27
- Caplin ME, Pavel M, Ćwikła JB, Phan AT, Raderer M, Sedláčková E et al (2016) Anti-tumour effects of lanreotide for pancreatic and intestinal neuroendocrine tumours: the CLARINET open-label extension study. *Endocr Relat Cancer* 23(3):191–199
- Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, Rosa SL, Rapa I, Ferrero 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(11):1172–1182
- Körner M, Waser B, Schonbrunn A, Perren A, Reubi JC (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(2):242
- Reubi JC, Waser B, Cescato R, Gloor B, Stettler C, Christ E (2010) Internalized somatostatin receptor subtype 2 in neuroendocrine tumors of octreo-

- tide-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 95(5):2343–2350
14. Venizelos A, Elvebakken H, Perren A, Nikolaienko O, Deng W, Lothe IMB et al (2022) The molecular characteristics of high-grade gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Endocr Relat Cancer* 29(1):1–14
 15. Konukiewitz B, Schlitter AM, Jesinghaus M, Pfister D, Steiger K, Segler A et al (2017) Somatostatin receptor expression related to TP53 and RB1 alterations in pancreatic and extrapancreatic neuroendocrine neoplasms with a Ki67-index above 20. *Mod Pathol* 30(4):587–598
 16. Kasajima A, Konukiewitz B, Schlitter AM, Weichert W, Klöppel G (2022) An analysis of 130 neuroendocrine tumors G3 regarding prevalence, origin, metastasis, and diagnostic features. *Virchows Arch* 480(2):359–368
 17. Graham RP, Shrestha B, Caron BL, Smyrk TC, Grogg KL, Lloyd RV et al (2013) Islet-1 is a sensitive but not entirely specific marker for pancreatic neuroendocrine neoplasms and their metastases. *Am J Surg Pathol* 37(3):399
 18. Schmitt AM, Riniker F, Anlauf M, Schmid S, Soltermann A, Moch H et al (2008) Islet 1 (Isl1) Expression is a Reliable Marker for Pancreatic Endocrine Tumors and Their Metastases. *Am J Surg Pathol* 32(3):420
 19. Soukup J, Manethova M, Faistova H, Krbal L, Vitovcova B, Hornychova H et al (2022) Pitx2 is a useful marker of midgut-derived neuroendocrine tumours—an immunohistochemical study of 224 cases. *Histopathology* 81(6):799–807
 20. Konukiewitz B, von Hornstein M, Jesinghaus M, Steiger K, Weichert W, Detlefsen S et al (2020) Pancreatic neuroendocrine tumors with somatostatin expression and paraganglioma-like features. *Hum Pathol* 102:79–87
 21. Elvebakken H, Perren A, Scoazec JY, Tang LH, Federspiel B, Klimstra DS et al (2021) A consensus-developed morphological re-evaluation of 196 high-grade gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms and its clinical correlations. *Neuroendocrinology* 111(9):883–894
 22. Jiao Y, Shi C, Edil BH, de Wilde RF, Klimstra DS, Maitra A et al (2011) DAXX/ATRX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors. *Science* 331(6021):1199–1203
 23. Klempner SJ, Gershenhorn B, Tran P, Lee TK, Erlander MG, Gowen K et al (2016) BRAFV600E mutations in high-grade colorectal neuroendocrine tumors May predict responsiveness to BRAF-MEK combination therapy. *Cancer Discov* 6(6):594–600
 24. Sahnane N, Furlan D, Monti M, Romualdi C, Vanoli A, Vicari E et al (2015) Microsatellite unstable gastrointestinal neuroendocrine carcinomas: a new clinicopathologic entity. *Endocr Relat Cancer* 22(1):35–45
 25. Sadanandam A, Wullschlegler S, Lyssiotis CA, Grötzinger C, Barbi S, Bersani S et al (2015) A cross-species analysis in pancreatic neuroendocrine tumors reveals molecular subtypes with distinctive clinical, metastatic, developmental, and metabolic characteristics. *Cancer Discov* 5(12):1296–1313

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Practical application of immunohistochemistry in pancreatic neuroendocrine neoplasms. Tips and pitfalls

Pancreatic neuroendocrine neoplasms (PanNEN) are rather rare entities. Morphology, combined with immunohistochemistry, allows typing and grading, thereby leading therapeutic decisions. Depending on tumor stage and differential diagnosis, a broad diagnostic panel may be required. The present work summarizes the minimal diagnostic, prognostic, and predictive markers in PanNEN.

Markers of choice for defining a neuroendocrine phenotype are synaptophysin, chromogranin A, and INSM1. The proliferation fraction Ki67 is indispensable for grading, while p53 and Rb1 can help in the differentiation from neuroendocrine carcinoma (NEC). Transcription factors, such as cdx2, TTF-1, and Islet-1, can indicate the site of a primary tumor in the setting of a cancer of unknown primary (CUP). DAXX/ATRX immunohistochemistry has mainly prognostic value. Molecular pathology studies currently have little practical value in the diagnosis of PanNEN.

An important pitfall in routine diagnostics is the wide spectrum of differential diagnoses mimicking neuroendocrine neoplasms. An expanded immunohistochemical panel is strongly recommended in case of doubt.

Keywords

Neuroendocrine · Immunohistochemistry · PanNET · Pancreas · Pitfalls