

«Мастер-классы по нейроэндокринным опухолям»
10-12 мая 2016, Москва



Медицинское Общество по Лечению Нейроэндокринных Опухолей

СОВРЕМЕННАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ НЭО

Делекторская Вера Владимировна

Классификация НЭО. Ключевые моменты

- НЭО могут иметь любую локализацию. Диагноз ставится на основе характерной морфологии и ИГХ экспрессии НЭ маркеров.
- Морфологическая классификация НЭО претерпела заметные изменения в последние десятилетия благодаря новому пониманию биологического поведения, гистологических характеристик, генетических особенностей этих новообразований.
- Многие аспекты классификационных систем остаются запутанными и противоречивыми, что связано с разнообразием НЭО, функциональными особенностями и органо-специфическими различиями.
- Достигнуты значительные успехи в стандартизации подходов к классификации ГЭП НЭО; Системы, разработанные для других органов, таких как легкие и тимус, используют другую терминологию и классификационные критерии.
- Молекулярно-генетические исследования не только помогли установить взаимосвязь между различными типами НЭО, но и выявить потенциальные терапевтические мишени.

Современная морфологическая классификация НЭО

1. Нейроэндокринная (НЭ) клетка. Что общего, в чем различия?
2. НЭ новообразования (НЭО/НЭР). Что общего, в чем различия?
3. Классификации НЭО на основе морфологии и ИГХ анализа;
4. Терминология/градация НЭО с учетом критериев ВОЗ (WHO):
 - НЭО пищеварительной системы
 - НЭО бронхолегочной системы
 - НЭО тимуса и других редких локализаций

Нейроэндокринная клетка

Что общего



В чем различия



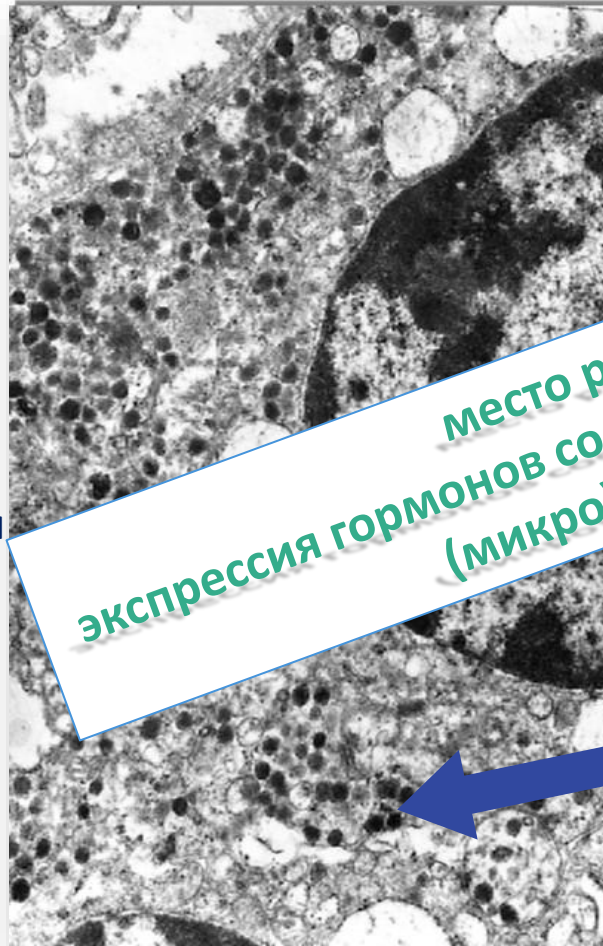
Нейроэндокринная клетка. Распределение

Формируют эндокринные органы

- аденогипофиз
- паратиреоидные железы
- островки ПЖ
- параганглии / мозговое вещество надпочечника

Диссеминированные клетки

- кишечные НЭ клетки
- гортань-бронхи-тимус
- щитовидная железа (С клетки)
- клетки Меркеля
- урогенитальные НЭ клетки

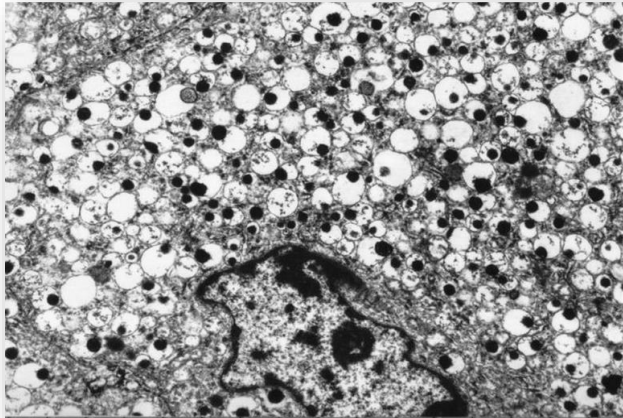


место развития
экспрессия гормонов соответственно локализации
(микро)окружение



Нейроэндокринная клетка. Происхождение

Нейроэктодермальное:

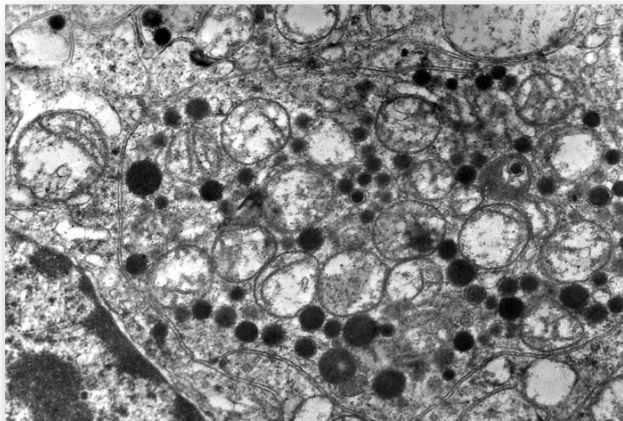


- клетки параганглиев
- ольфакторные клетки

“Неэпителиальные”
СК-негативные

- клетки Меркеля
- тиреоидные С клетки
- паратиреоидные клетки

Энтеродермальное :



- кишечные / панкреатические клетки
- клетки гортани / трахеи / бронхов
- урогенитальные клетки

Нейроэндокринные опухоли

Что общего



В чем различия



Какие опухоли являются нейроэндокринными?



Нейрогенные структуры

Ганглионеврома */**
Нейробластома */**
Параганглиома */**

Диффузная нейроэндокринная система

ГЭП НЭ новообразования*
Карциноиды легкого, КНЭР, МРЛ*
Рак кожи из клеток Меркеля**
Другие локализации**

Эндокринные железы

Аденома/рак гипофиза*
Аденома/рак паращитов. желез*
Медуллярный рак щитов. железы*
Феохромоцитома*

* Digestive system (WHO 2010)
Endocrine organs (WHO 2004)
Lung, Pleura, Thymus, Heart (WHO 2015)
Head and Neck (WHO 2005)

** Brest (WHO 2012)
Female reproductive organs (WHO 2014)
Skin (WHO 2005)
Urinary System and Male Genital Organs (WHO 2016)

Эпителиальные НЭ новообразования

Что общего



В чем различия



Классификация. Степень дифференцировки

Два фундаментально различных типа

Высокодифференцированные НЭ новообразования (часто)

Гастроэнтеропанкреатическая система: 70%

Респираторный тракт: 25%

Другая первичная локализация: 5%
яичники, молочная железа...

Низкодифференцированные НЭ новообразования (редко)

Респираторный тракт : 80%

Гастроэнтеропанкреатическая система: 10%

Другая первичная локализация: 10%
мочевой пузырь, кожа...

Высокодифференцированные НЭН

- Органоидный тип строения
- Однотипные клетки
- Гранулярный хроматин и отсутствие ядрышек

- НЭО G1 / G2
- экспрессия гормонов
- гормональные синдромы
- наследственные синдромы
- генетические отличия от НЭР
- не связаны с курением, вирусной инфекцией

Низкодифференцированные НЭН

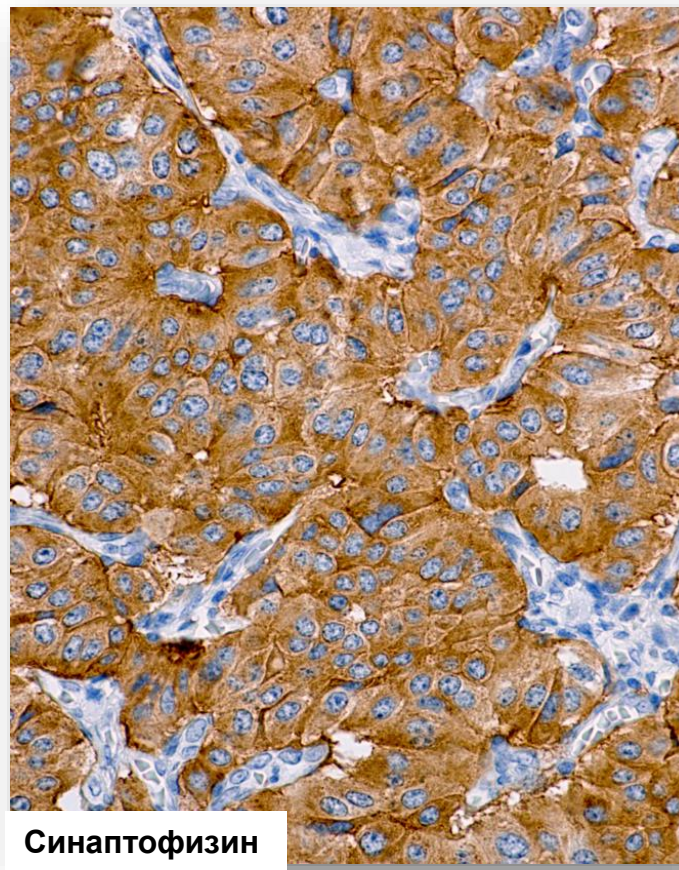
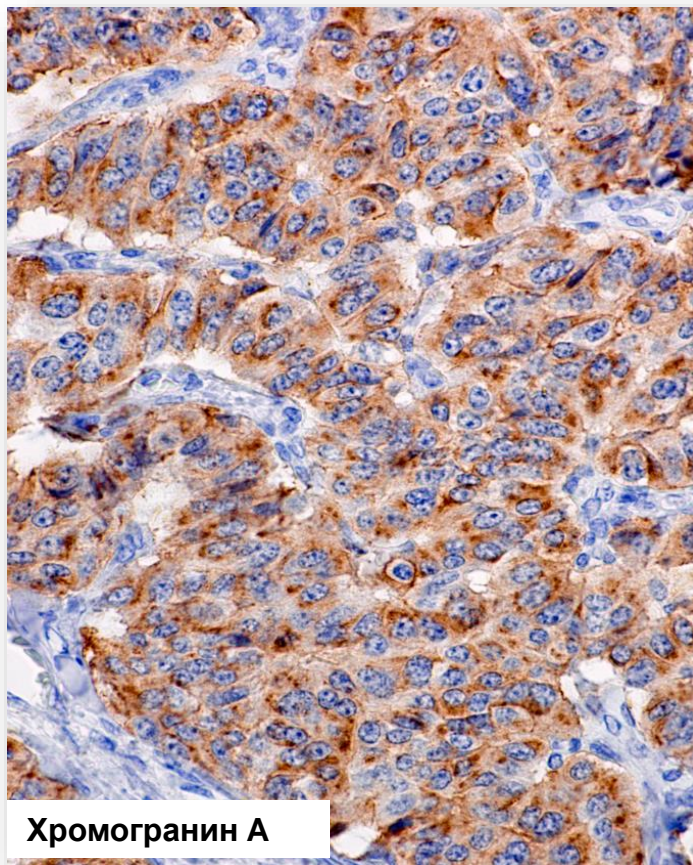
- Солидный тип роста
- Обширные некрозы
- Высокая митотическая активность

- НЭР G3
- нет экспрессии гормонов
- нет гормональных синдромов
- нет наследственных синдромов
- генетика: мутации *p53* и *rb*
- связаны с курением, вирусной инфекцией

Классификация НЭО. Клеточный иммунофенотип

Панель ИГХ маркеров для диагностики НЭО :

PanCK AE1/AE3, LMWCK (CK8, 18, CAM5.2), CgA, Syn, CD56, Ki-67



Общие нейроэндокринные маркеры

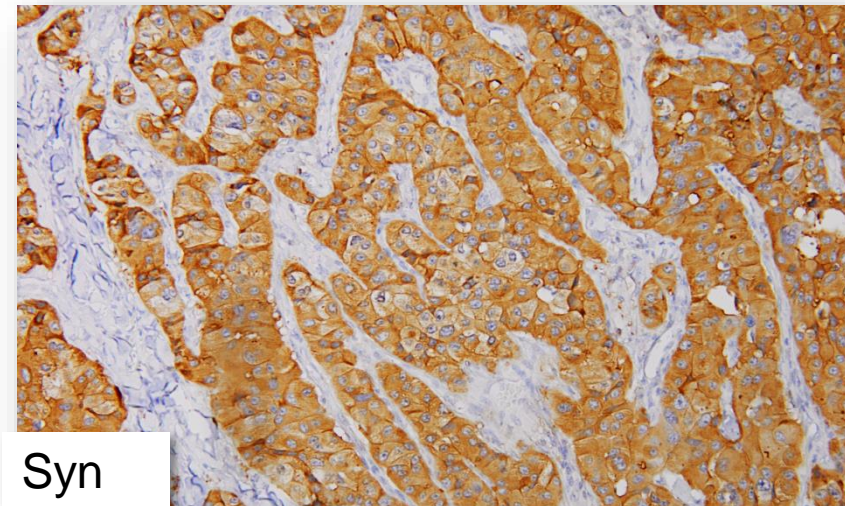
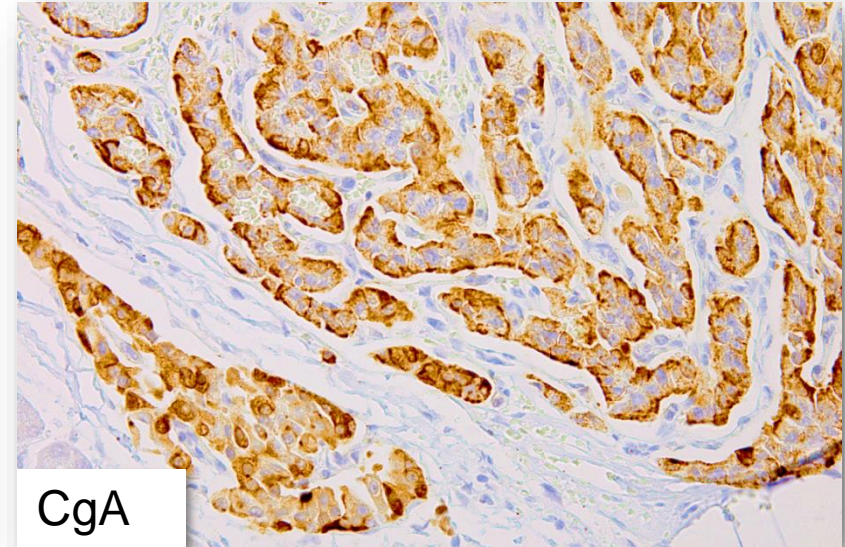
НЭО/карциноид. Клеточный иммунофенотип

Хромогранин А (CgA)

Определяется в гранулах большинства НЭО (~90%), как функционирующих, так и нефункционирующих. CgA может не определяться в некоторых НЭО толстой кишки и аппендикса, которые исходно секретируют CgB, и в низкодифференцированных опухолях.

Синаптофизин (Syn)

Экспрессируется независимо от наличия секреторных гранул. Помогает при идентификации низкодифференцированных и содержащих мало гранул НЭО, при которых может отсутствовать экспрессия CgA. Экспрессия не ограничивается нейроэндокринными клетками.



Классификация НЭО. Гормональный статус опухоли

Иммуногистохимическое исследование функционирующих и нефункционирующих НЭО

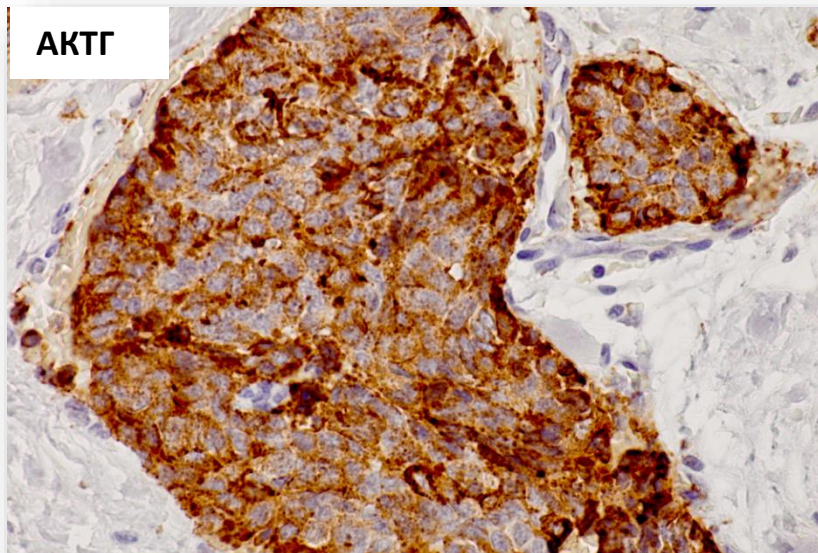
● Гормоны

- ✦ Инсулин
- ✦ Гастрин
- ✦ Серотонин
- ✦ АКТГ

calcitonin, bombesin, insulin, glucagon, somatostatin, gastrin, pancreatic polypeptide (PP), vasoactive intestinal peptide (VIP), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), serotonin, ... *Новые: ghrelin, cortistatin, obestatin, secretagogin*

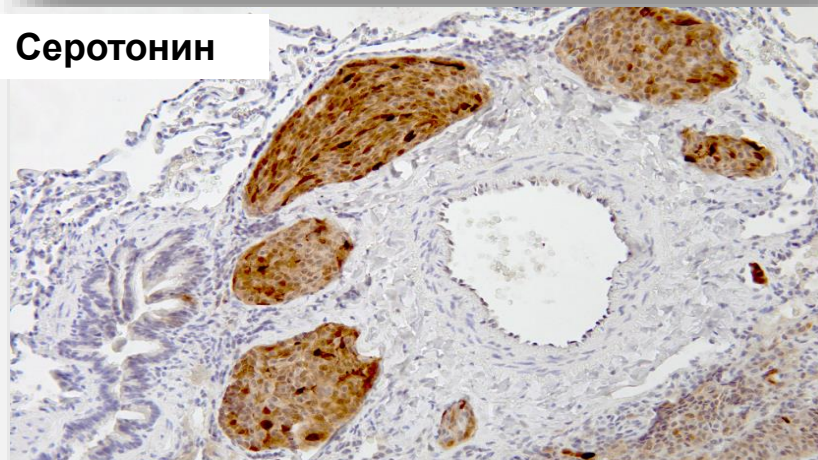
Орган, Функциональный статус

АКТГ



Функционирующий атипичный карциноид тимуса

Серотонин



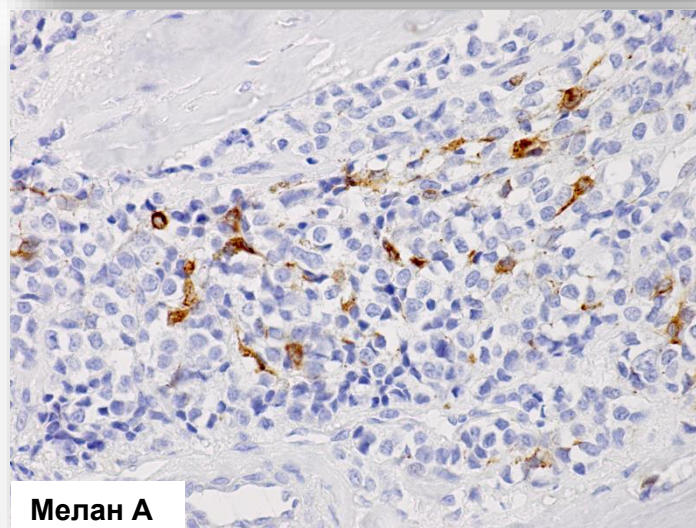
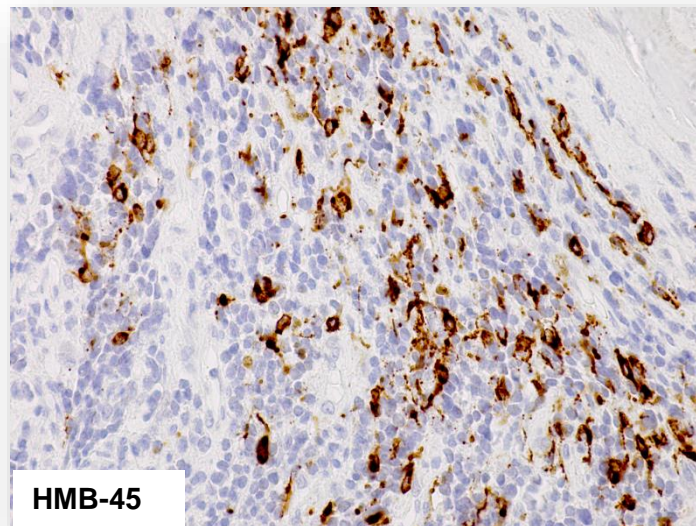
Нефункционирующий типичный карциноид легкого

НЭО/Карциноид. Редкие гистологические варианты

- Веретенноклеточный
- Пигментный
- Онкоцитарный
- Муцинозный
- Светлоклеточный
- С многоядерными клетками
- С гиалинизацией стромы
- С амилоидоподобной стромой
- Ангиоматоидный
- С саркоматозными изменениями
- По типу медуллярной карциномы щитовидной железы (кальцитонин)
- С формированием кости, амилоида, псаммомных тел

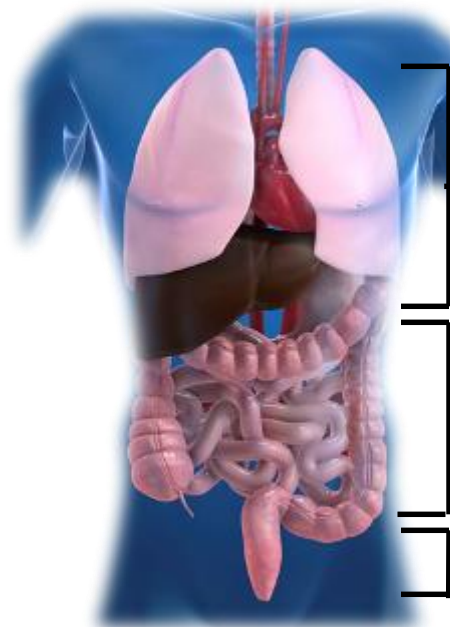
Не все что выглядит как НЭО это
НЭО (АКР ПЖ, СППО)

Пигментный карциноид тимуса



Классификация НЭО. Место развития первичной опухоли

Метастазы НЭО без выявленного первичного очага



Foregut

- Тимус
- Пищевод
- Легкие
- Желудок
- Поджелудочная железа
- 12-перстная кишка

Midgut

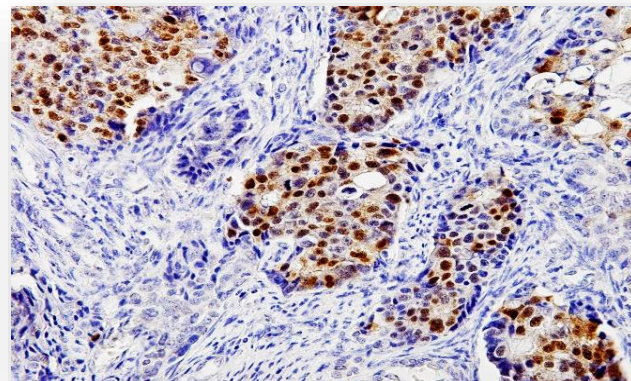
- Аппендикс
- Подвздошная кишка
- Слепая кишка
- Восходящая кишка

Hindgut

- Дистальные отделы ободочной кишки
- Прямая кишка

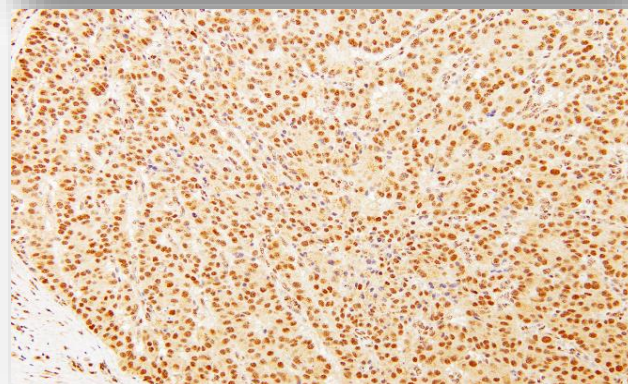
TTF-1

Легкое



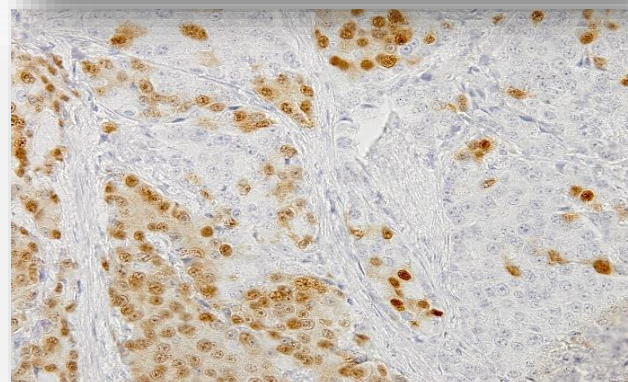
**Isl-1
PDX-1
PAX-6**

Поджелудочная железа



CDX-2

Тубулярные отделы ЖКТ



Транскрипционные факторы:
CDX-2; TTF-1; ISL-1; PDX-1; PAX-6, NESP55

Не работают в МКР !!!

НЭР. Клеточный иммунофенотип

Эпителиальные маркеры

- Общие цитокератины (АЕ1/3)
- Низкомолекулярные цитокератины (САМ 5.2, СК8, СК18)

Нейроэндокринные маркеры

- CD 56 (NCAM)
- Synaptophysin
- Chromogranin A

CgA +

Syn +

• НЭО

CgA -

Syn +

CD56 +

• НЭР

CgA -

Syn -

CD56 +

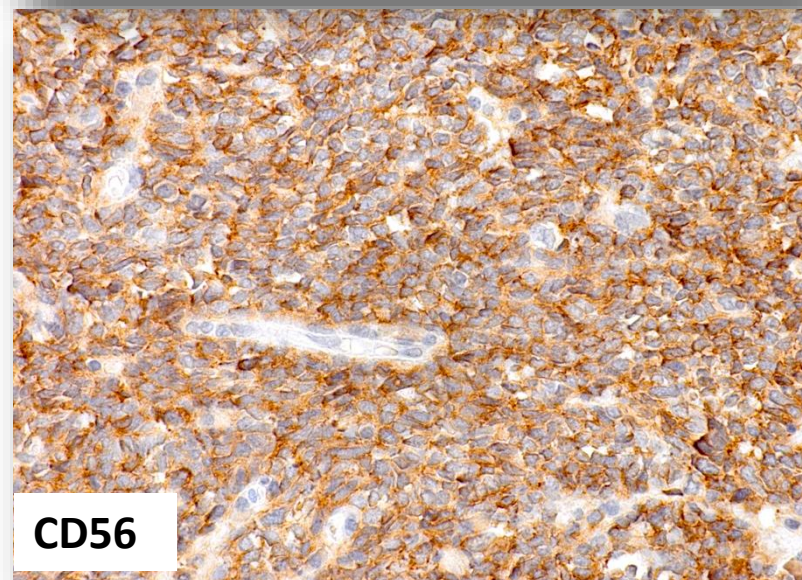
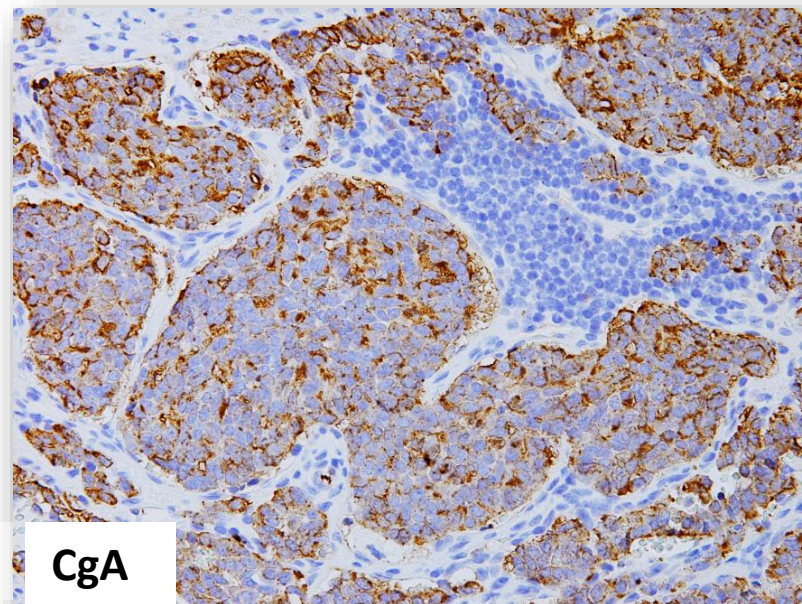
• НЭР?

НЭ клетка

НЭ новообразования

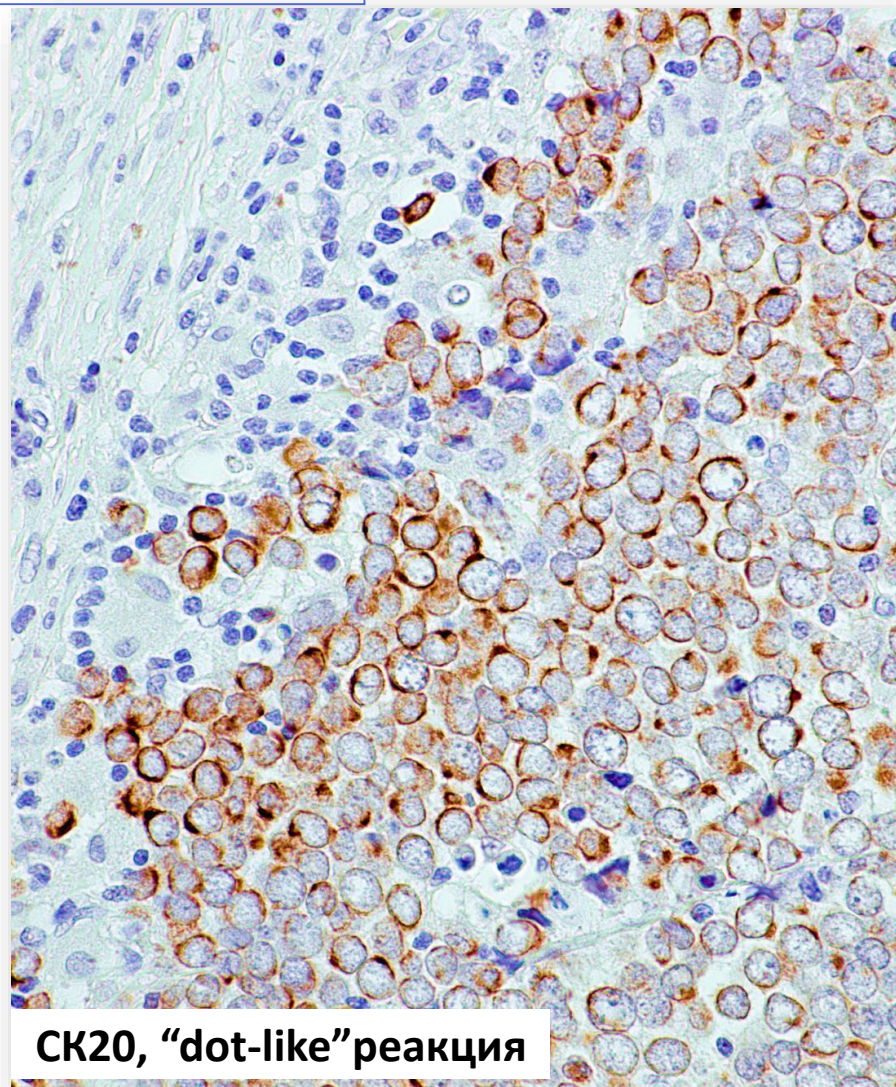
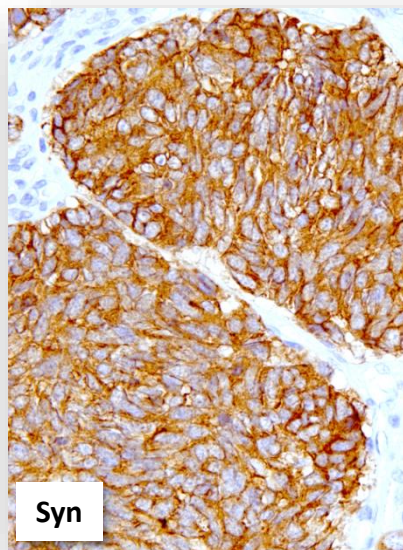
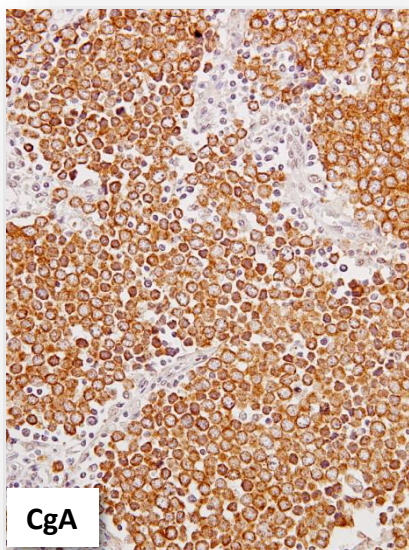
Морфология/ИГХ

Классификация



НЭР. Особые варианты. Рак из клеток Меркеля

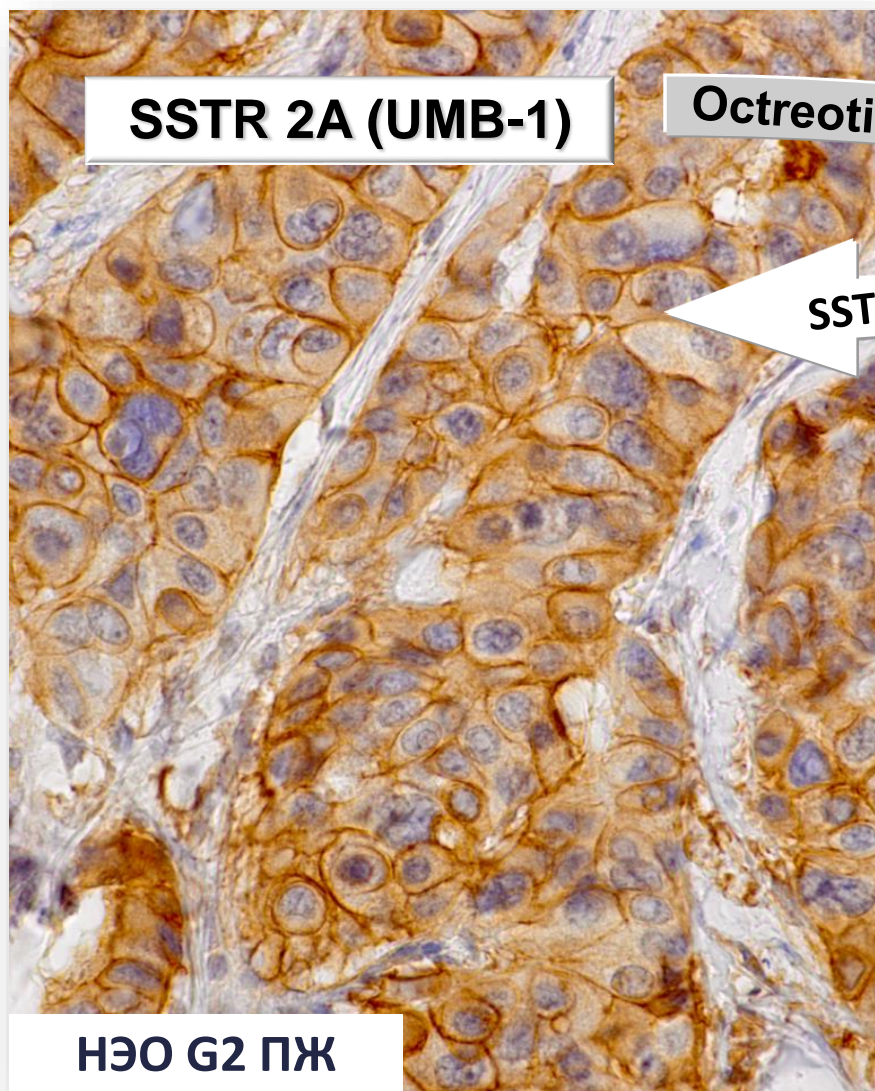
Нейроэндокринный рак кожи CK20+



Мелкокруглоклеточные опухоли

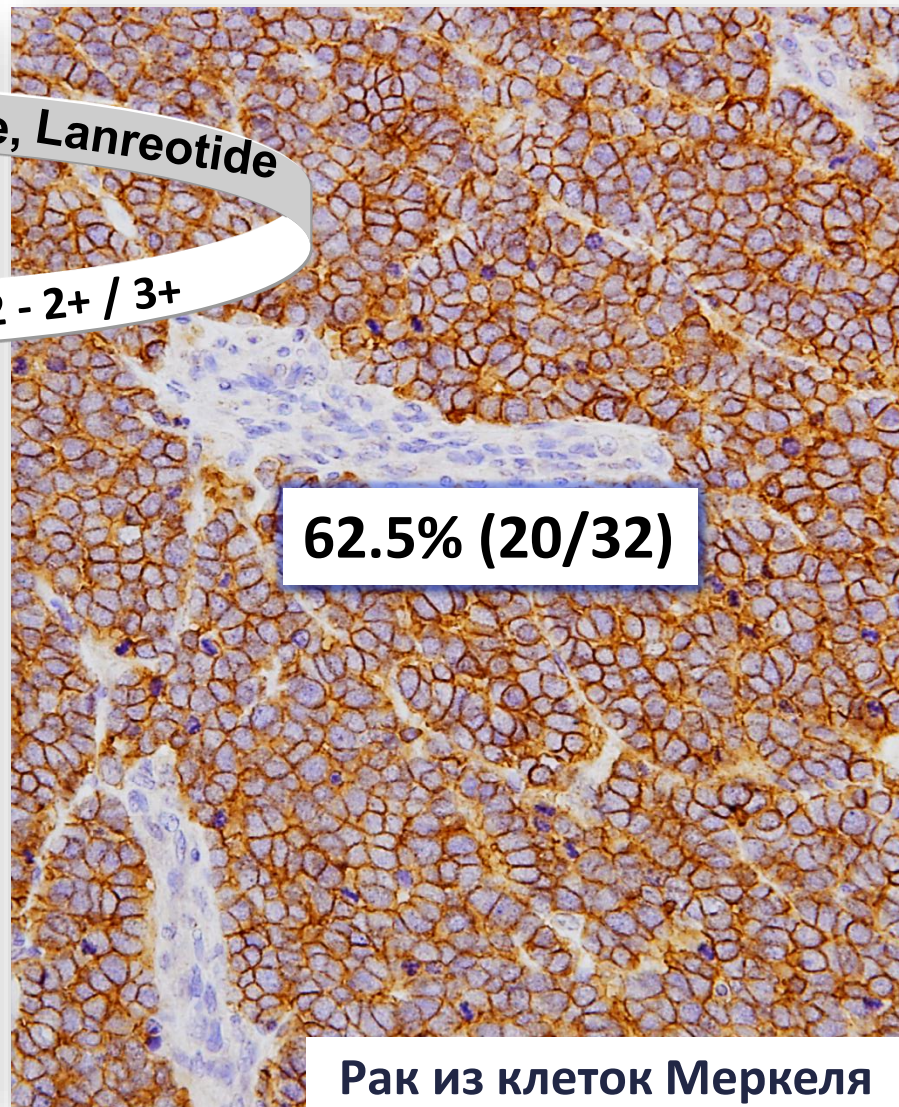
Лимфома	CD45+ CD20 +
PNET	CD 99 +
Меланома	S100 + HMB 45+

Предсказательные маркеры НЭО



Octreotide, Lanreotide

SSTR2 - 2+ / 3+



mTOR; MGMT; p53/Rb; TS; IGF1-R; P16; Cyclin D1; VEGF/VEGFR2; Hedgehog pathway

НЭ клетка

НЭ новообразования

Морфология/ИГХ

Классификация

Классификация, терминология, градация

Что общего



В чем различия



НЭН ЖКТ и ПЖ - WHO 2010. Основные категории

- **Нейроэндокринная опухоль, Grade 1 или 2**

- НЭО, G1 (“карциноид”)

- НЭО, G2



- **Нейроэндокринный рак, Grade 3**

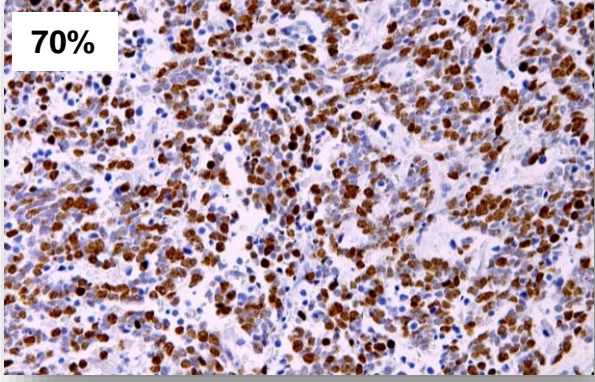
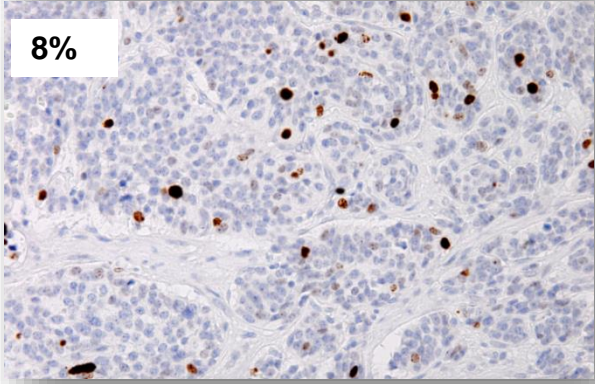
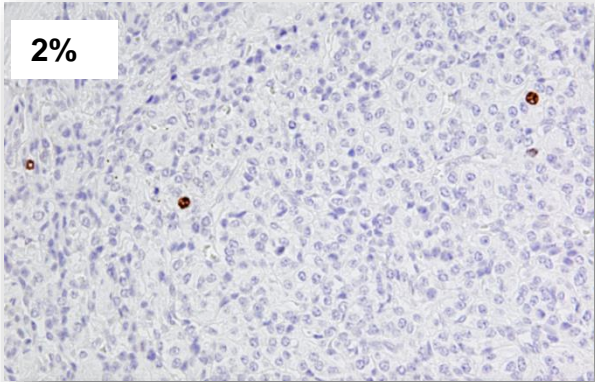
- НЭР, G3, мелкоклеточный тип

- НЭР, G3, крупноклеточный тип

Диагностика НЭО проводится на основе критериев WHO 2010; ENETS и AJCC разработали системы TNM стадирования и определения Grade опухоли

Bosman FT, et al. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. Lyon, France: IARC Press; 2010.

Классификация НЭО. Степень злокачественности НЭО ЖКТ и ПЖ



Система определения Grade (ENETS/WHO/AJCC)

Grade	Митозы (10 HPF)	Индекс Ki-67 (%)
G1	<2	≤2
G2	2-20	3-20
G3	>20	>20

HPF- high power field = 2mm², 40 полей зрения в областях наибольшей митотической активности
 Ki67 (MIB-1): % при учете 2000 клеток в областях наибольшей пролиферативной активности

Virchows Archiv. 2006; 2007, Rindi G, et al. JNCI 2012, Rindi et al.

TNM классификация UICC/AJCC (7 редакция, 2009)

Специфическая система стадирования

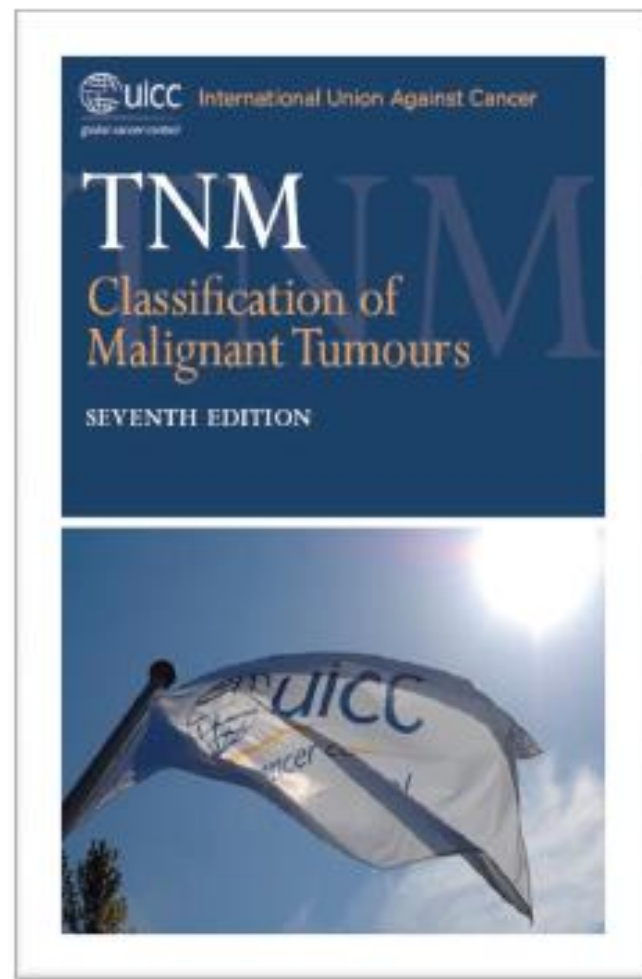
- **Высокодифференцированные НЭО ЖКТ**

Стадирование не отличается от опухолей аналогичных анатомических локализаций

- Низкодифференцированные НЭО ЖКТ
- НЭО ПЖ (высоко- и низкодифференцированные)

Значительные отличия от предложений ENETS

- **Аппендикс**
- **Поджелудочная железа**



1. Rindi G, et al. *Virchows Archiv*. 2006;449:395-401.
2. Rindi G, et al. *Virchows Archiv*. 2007;451:757-762.
3. Sobin, et al. *TNM Classification of Malignant Tumours*. Wiley-Blackwell. 7th Edition; 2009.

НЭО ЖКТ и ПЖ. Классификация WHO 2010

ВОЗ 2010

- **1. НЭО G1**
 - **2. НЭО G2**
 - **3. НЭР G3**
- **+ TNM Стадия**

Основные категории НЭ новообразований ЖКТ и ПЖ

Bosman FT, et al. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. Lyon, France: IARC Press; 2010.

Как оценить риск прогрессии НЭО?

Характер заболевания?

Тип НЭО/НЭР

WHO 2010

структура & ИГХ

Агрессивность?

Grade 1-2-3

ENETS/UICC

пролиферация (МИ&Ki67)

Распространенность?

Стадия I-II-III-IV

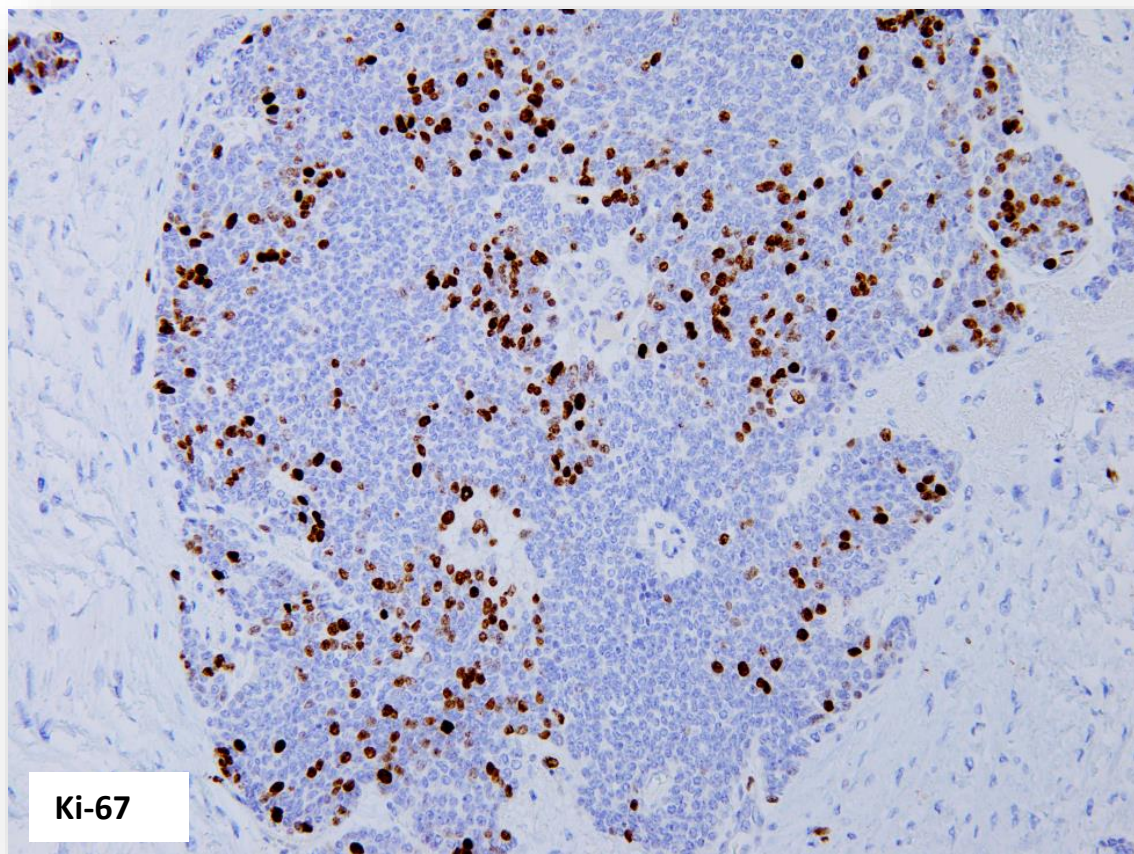
TNM

размер & инвазия

Все три этапа диагностики обеспечивают взаимодополняющую информацию и являются обязательными

Пролиферативная активность – изменчивый параметр

- ✓ G1 или G2 – пороговые уровни Ki-67 для разграничения категорий.
- ✓ Внедрение категорий по Grade (G2) с учетом локализации опухоли.
- ✓ G2 – слишком большая и разнородная группа. Необходимость дополнительного деления на подтипы?



Индекс Ki-67 (%)
Пороговые уровни



Первичные опухоли
и метастазы НЭО

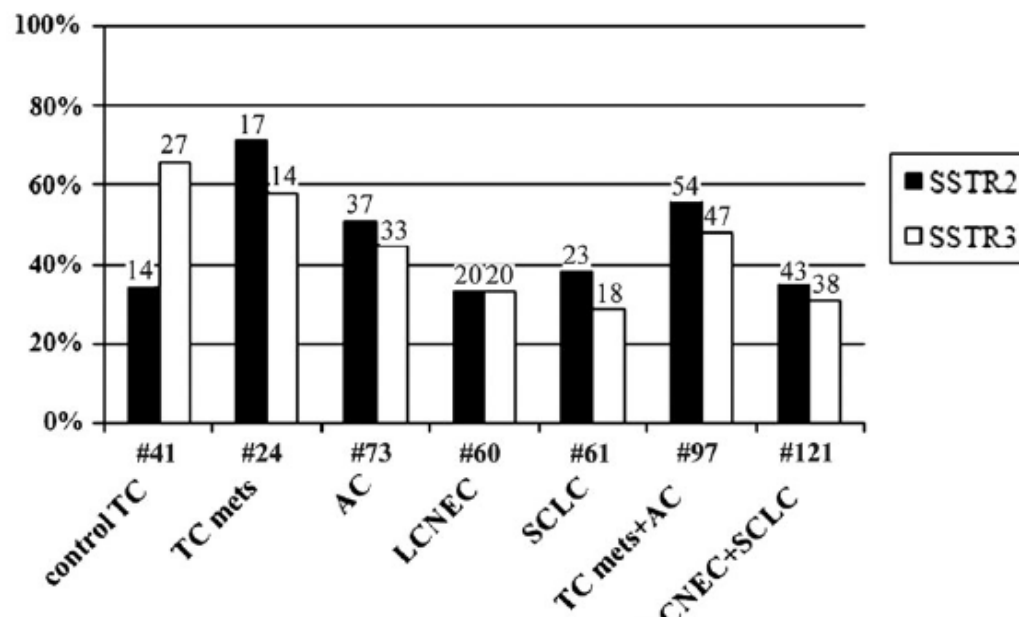
Классификация. Гетерогенность в группах НЭО и НЭР

НЭО отличаются

- Гистологическая модель роста
- Гормональная продукция
- Проллиферативная активность
- Метастатическое поведение

НЭР отличаются

- Экспрессия SSTR
- Экспрессия PR
- TP53



Somatostatin receptor tissue distribution in lung neuroendocrine tumours: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 218 'clinically aggressive' cases *Annals of Oncology* 21: 548–555, 2010

L. Righi^{1*}, M. Volante¹, V. Tavaglione¹, A. Billè², L. Daniele³, T. Angusti⁴, F. Inzani⁵, G. Pelosi⁶, G. Rindi⁵ & M. Papotti¹

Yachida S. et al. 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.* 2012 Feb;36(2):173-84.

Классификация. Гетерогенность категории G3

ВД морфология

Ki-67 > 20% (в основном < 55%)

НД морфология

20% < Ki-67 < 55%

НД морфология

Ki-67 > 55%

La Rosa, Hum Pathol 2011
Velayoudom-Cephise, ERC 2013
Basturk, Mod Pathol 2013
Agaimy, Mod Pathol 2013
Hijioka, J Gastroenterol 2014

Sorbye, Ann Oncol 2013
La Rosa, Endocr Pathol 2014

Sorbye, Ann Oncol 2013
La Rosa, Endocr Pathol 2014

Более благоприятный прогноз



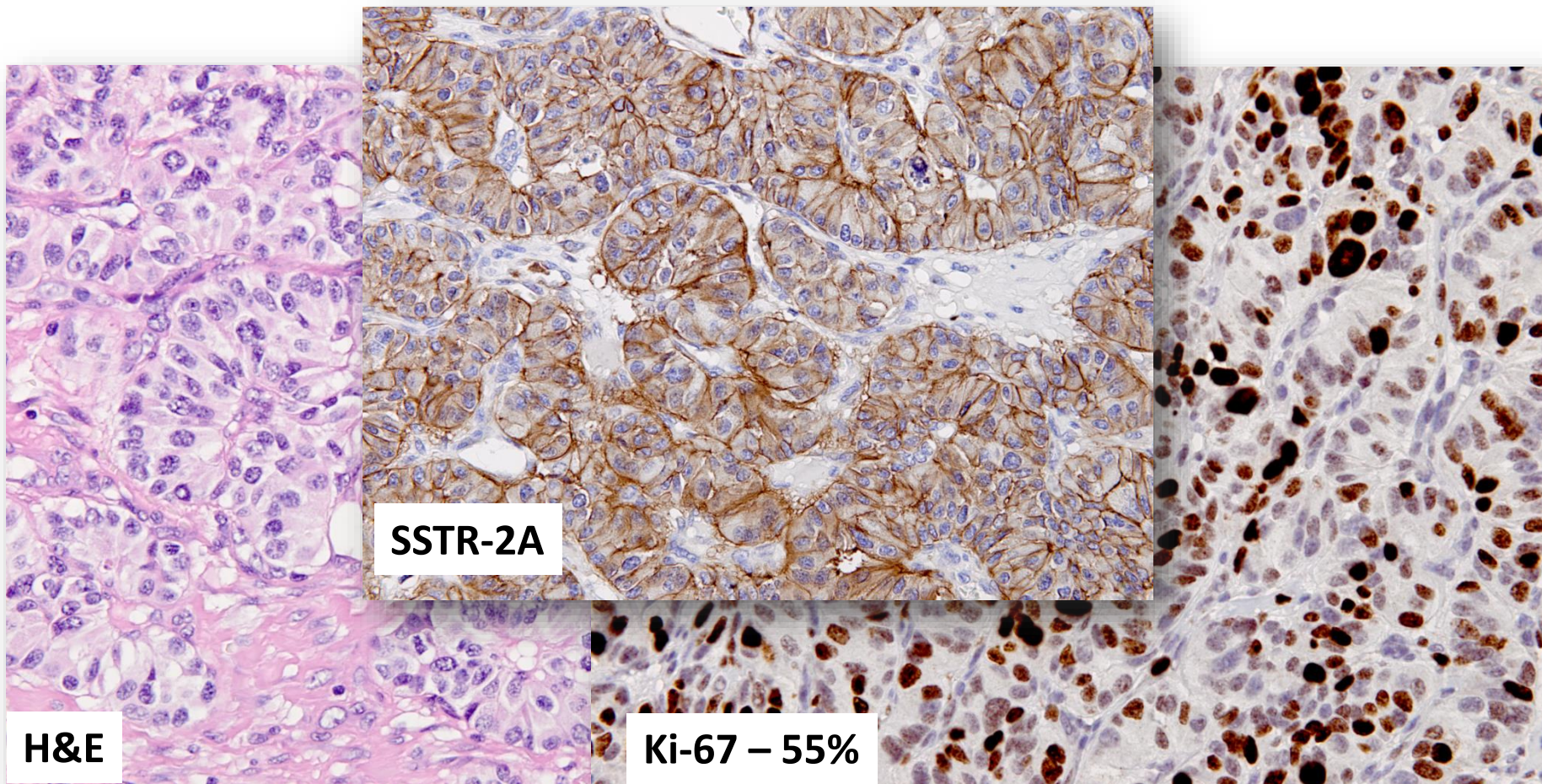
“не отвечают на платиносодержащую терапию”

Плохой прогноз

- ✓ Дифференцировка не всегда зависит от высокого уровня Ki-67
- ✓ Низкодифференцированные опухоли имеют худшую выживаемость
- ✓ ИП > 55% или низкая дифференцировка – лучший ответ на платиносодержащую терапию

Морфология vs пролиферация

НЭО ПЖ G3? НЭР ПЖ?



НЭН ЖКТ и ПЖ - WHO 2010. Основные категории

- **Нейроэндокринная опухоль, Grade 1 или 2**

- НЭО, G1 (“карциноид”)
- НЭО, G2
- **НЭО, G3 (Consensus guidelines 2016)**



- **Нейроэндокринный рак, Grade 3**

- НЭР, G3, мелкоклеточный тип
- НЭР, G3, крупноклеточный тип

Пересмотр критериев классификации WHO 2010

Tang LH, et al., Well-Differentiated Neuroendocrine Tumors with a Morphologically Apparent High-Grade Component: A Pathway Distinct from Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinomas. Clin Cancer Res. 2016 Feb 15;22(4):1011-7.

Классификация НЭО. Что такое НЭО G3?

- Относительно редкие опухоли

- Чаще всего – первичные НЭО ПЖ

- Обычно присутствует комбинированный компонент

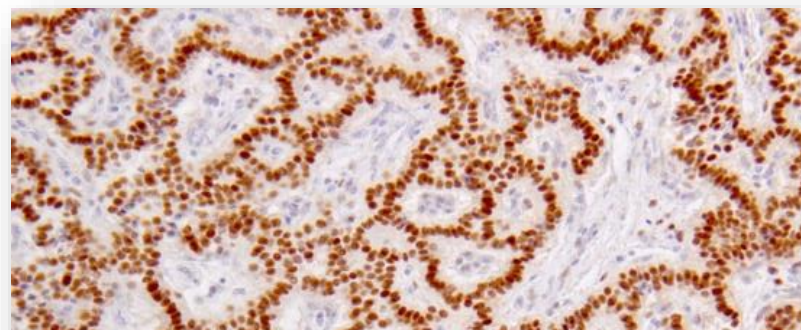
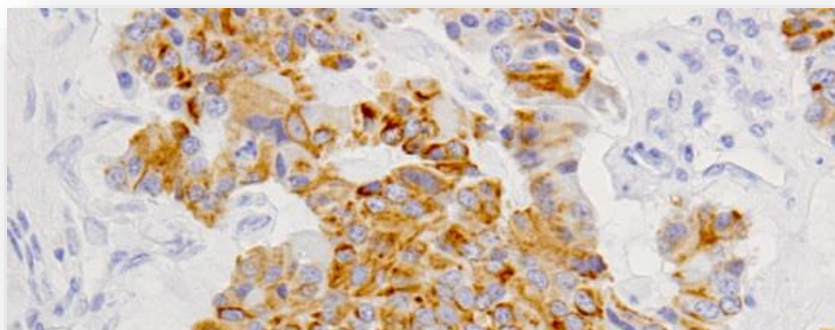
- Отсутствуют метастазы, характерные для НЭР

- Наличие гистологической информации может дать направление правильной диагностики

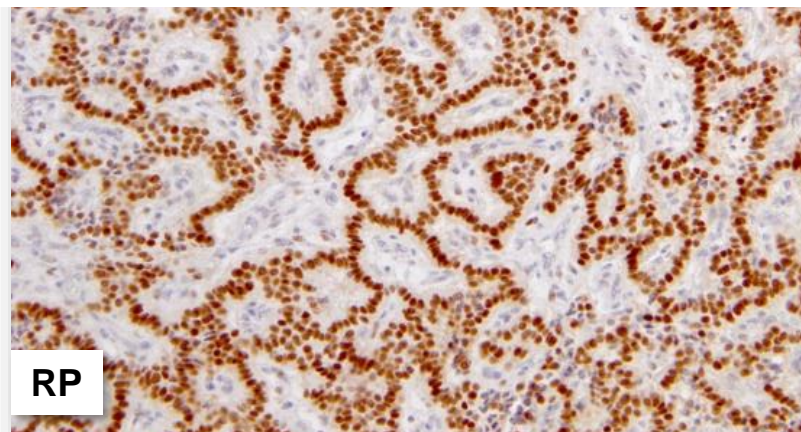
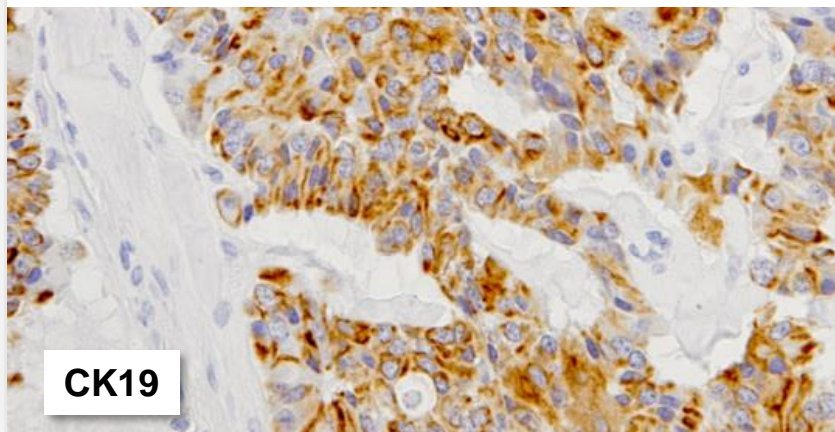


Tang LH, et al., Well-Differentiated Neuroendocrine Tumors with a Morphologically Apparent High-Grade Component: A Pathway Distinct from Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2016 Feb 15;22(4):1011-7.

Прогностические маркеры НЭО (не только Ki-67!)



Комплекс ремоделирования хроматина
ATRX (α thalassemia/mental retardation syndrome X-linked)/
DAXX (death-domain-associated protein)
статус в НЭО ПЖ



Цитокератин 19 (СК19); Рецепторы прогестерона (RP), КИТ (CD 117); p53; hASH-1

НЭ клетка

НЭ новообразования

Морфолгия/ИГХ

Классификация

НЭО легкого - WHO 2004/2015. Основные категории

- Карциноидные опухоли

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид



- Низкодифференцированные НЭО

- Мелкоклеточный рак легкого
- Крупноклеточный нейроэндокринный рак

Диагностика НЭО проводится на основе критериев WHO/IASLC 2015 и системы TNM стадирования AJCC

Нейроэндокринные опухоли легкого

2004 WHO

Карциноидные опухоли

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

2015 WHO

Нейроэндокринные опухоли

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

- МРЛ
 - Комбинированный МРЛ

- КНЭР
 - Комбинированный КНЭР

WHO (World Health Organization) –
Всемирная Организация здравоохранения

IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) –
Международная ассоциация по изучению рака легкого

Крупноклеточный рак: переоценка на основе ИГХ и молекулярных исследований

Table 1. Use of immunohistochemistry to reclassify morphologic large-cell carcinoma^a

Reference	# of cases	Immunohistochemistry panel	Other studies	# reclassified as ADC	# reclassified as SQC	# unclassified
Monica <i>et al.</i> [12]	54	DSC3, TTF-1	N/A	24 (44%)	26 (48%)	4 (8%)
Barbareschi <i>et al.</i> [51]	56	TTF-1, p63, CK5, CK7, Napsin A, p40, DSC3	miR205 and miR21 profiling	19 (34%) with IHC alone 37 (66%) with IHC and miRNA profile	14 (25%) with IHC alone 19 (34%) with IHC and miRNA profile	23 (41%) with IHC alone 0 with IHC and miRNA profile
Rekhtman <i>et al.</i> [11 ^{***}]	102	TTF-1, p40	N/A	62 (61%) ^b	20 (20%)	20 (20%)
Rossi <i>et al.</i> [52 [■]]	74	TTF-1, p63, CK5/6, CK7, Napsin A, p40, DSC3, chromogranin, synaptophysin, CD56	N/A	40 (80%)	6 (12%)	4 (8%)

Soll L.M. *Curr Opin Pulm Med.* 2014; 20(4):324-331

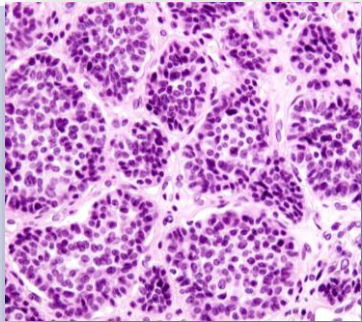
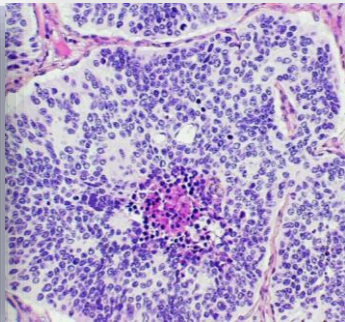
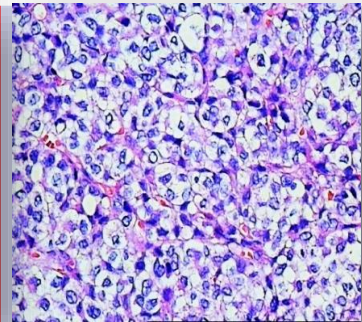
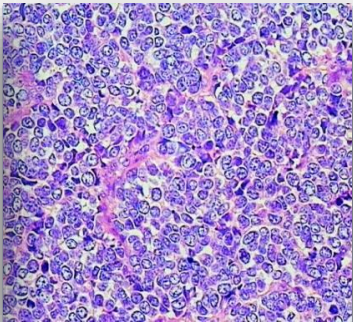
Large-cell carcinoma of the lung: a diagnostic category redefined by immunohistochemistry and genomics
Lynette M. Sholl *Curr Opin Pulm Med* 2014, 20:324-331

ADC
55%

SCC
26%


Null
19%

Основные категории НЭО легкого – WHO 2015

Критерии	ТК	АК	КНЭР	МКР
Морфология				
Митозы X 2 мм ²	0 - 1	2-10	> 10 (~ 70)	> 10 (~ 80)
Некрозы	нет	нет/фокальные	да/обширные	да/обширные
Ki-67%	до 5%	до 20%	40-80%	50-100%

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx, A., Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon: IARC; 2015

Дифференциальная диагностика НЭО легкого – WHO/IARC 2015

Критерий	ТК	АК	КНЭР	МРЛ
Митозы x 2 мм ²	0-1	2-10	>10 (сред. 70)	>10 (сред. 80)
Некрозы	нет	нет/фокальные	да	да
Индекс Ki-67	< 5%	< 20%	 40-80%	50-100%
TTF-1	-	-	+ (50%)	+ (85%)
Syn/CgA	+	+	+ (80-90%)	+ (80-90%)
CD56	+	+	+ (80-90%)	+ (80-90%)
Не-НЭ компонент	нет	нет	иногда	иногда

Нейроэндокринная морфология

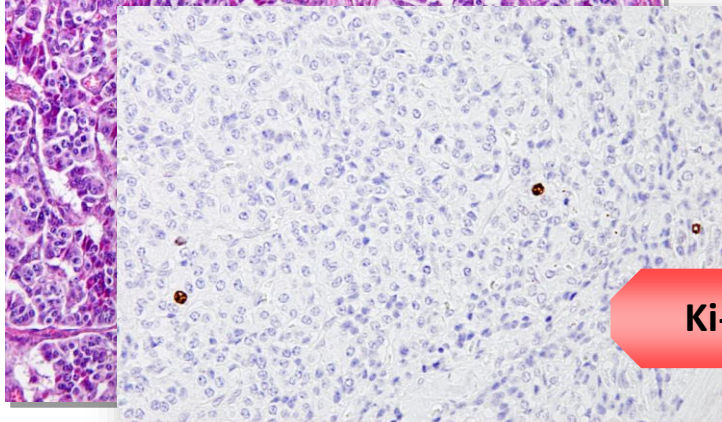
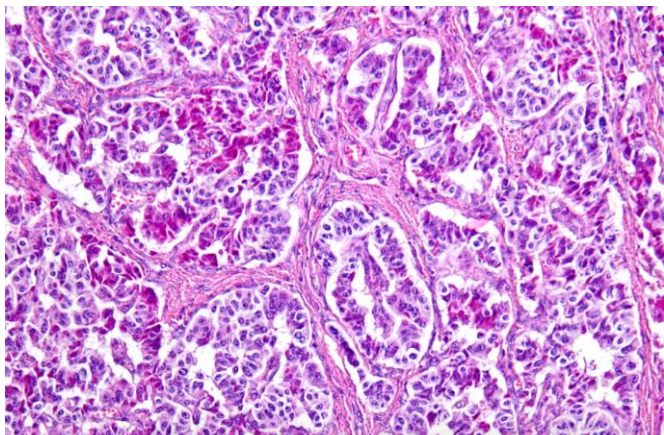
Table 1.16 Differential diagnosis of neuroendocrine tumours based on clinicopathological characteristics

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx, A., Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon: IARC; 2015

Карциноидные опухоли

Типичный карциноид

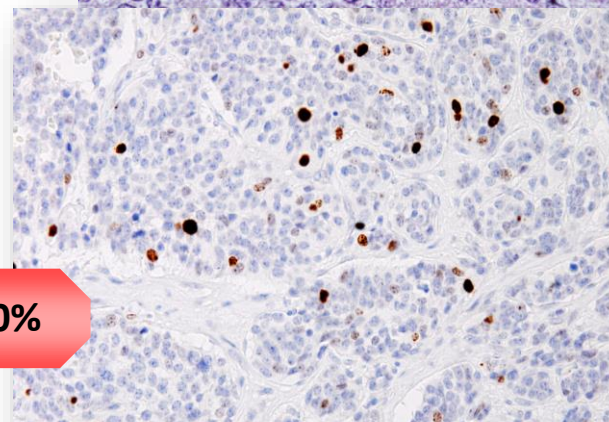
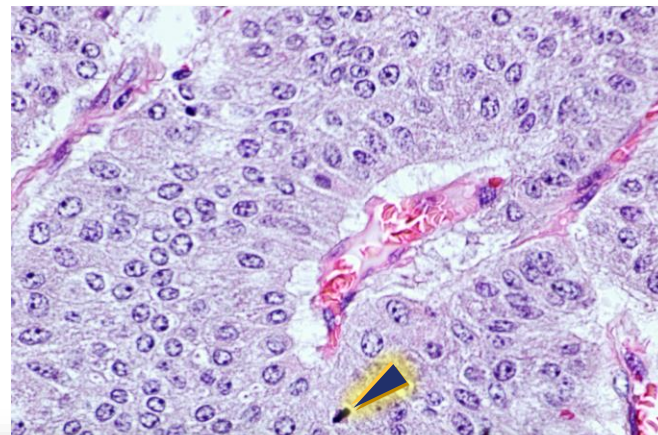
- ▶ **< 2 митозов / 2 мм²**
и
- ▶ **Нет некрозов**
- ▶ **Индекс Кі-67 до 5% (2.5 – 5.8%)**



Кі-67 < 20%

Атипичный карциноид

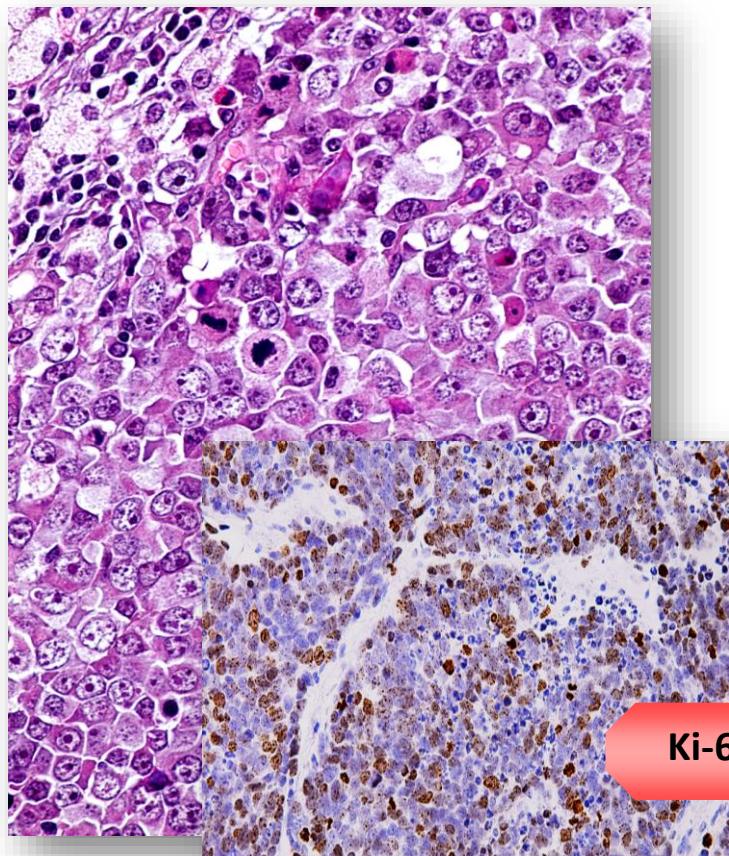
- ▶ **2-10 митозов / 2 мм²**
и/или
- ▶ **Фокусы некрозов**
- ▶ **Индекс Кі-67 до 20%**



Низкодифференцированный НЭР

КНЭР

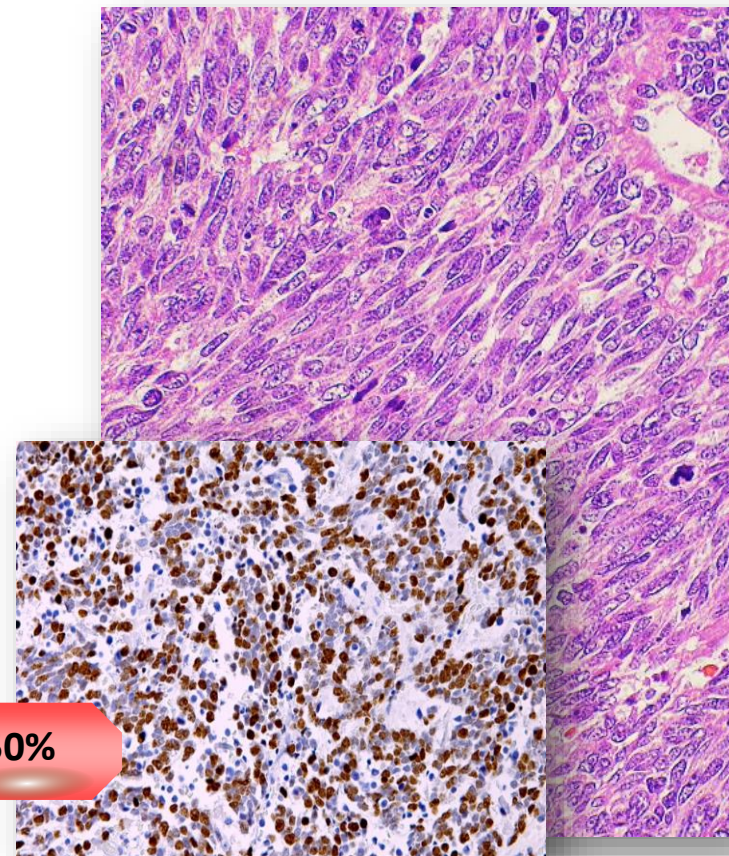
- ▶ > 10 митозов / 2 мм²
(в среднем – 70)
- ▶ Обширные некрозы
- ▶ **Индекс Кi-67 40 - 80%**



Ki-67 > 50%

МРЛ

- ▶ > 10 митозов / 2 мм²
(в среднем – 80)
- ▶ Обширные некрозы
- ▶ **Индекс Кi-67 50 - 100%**



НЭО тимуса - WHO 2004/2015. Основные категории

- Высокодифференцированные НЭО

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

морфологически,

иммуногистохимически,
соответствующим категориям в легких и ЖКТ

- Низкодифференцированные НЭО

- Мелкоклеточный карциноид
- Крупноклеточный карциноид
- Мелкоклеточный нейроэндокринный рак

НЭО редких
ультраструктурно аналогичны

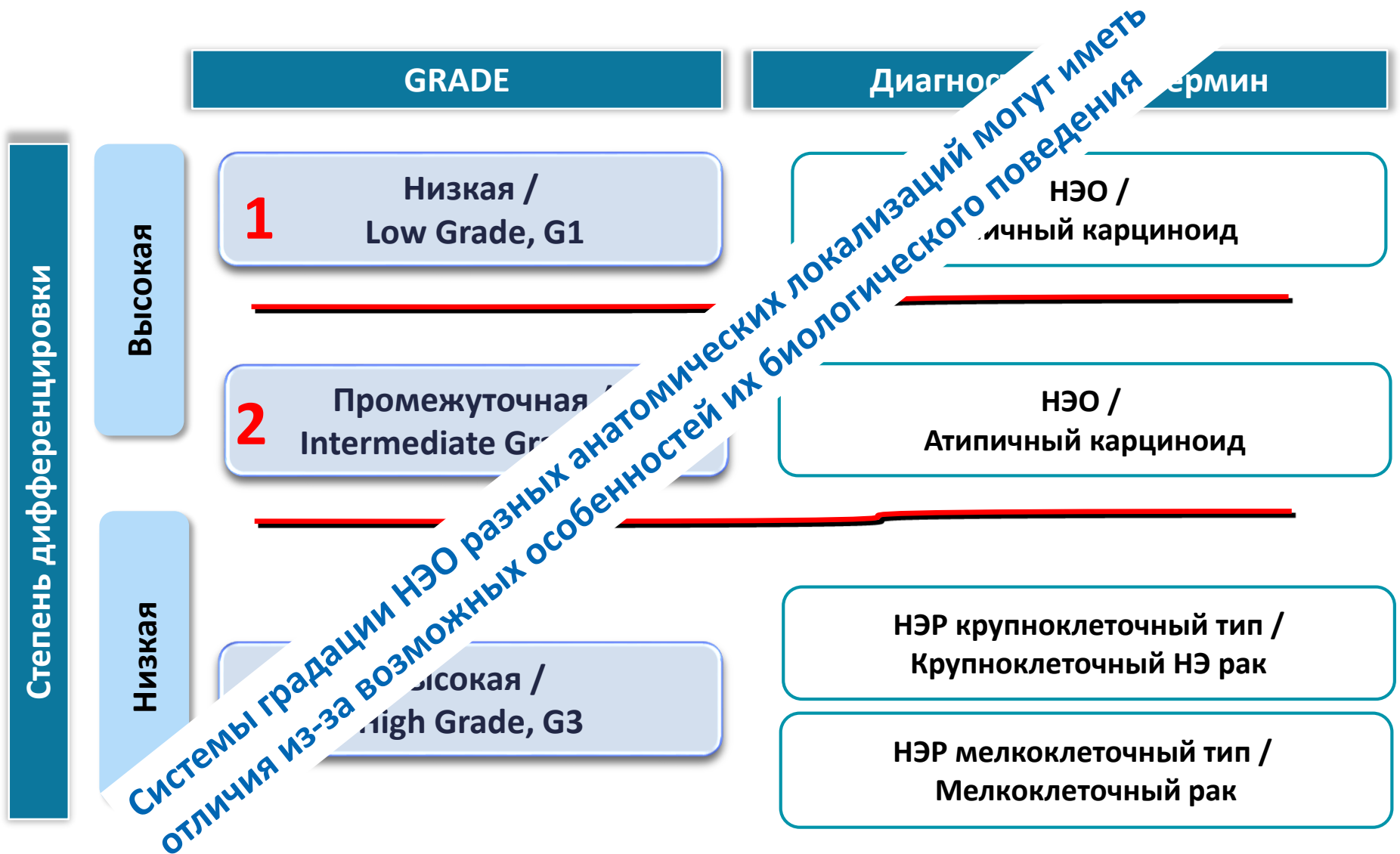
локализаций

Лечение опухоли непосредственно зависит от типа НЭН (места возникновения!), степени злокачественности (Grade) и стадии

Система градации НЭ новообразований разной локализации

- **НЭ опухоли внутригрудной локализации (легкое/тимус):**
 - Некрозы / Митозы
 - Индекс Ki-67 – включен в систему градации WHO 2015 (пороговые уровни уточняются)
- **Гастроэнтеропанкреатические НЭ новообразования:**
 - Митотическая активность
 - Индекс Ki-67
 - Grade базируется на наиболее высоком из этих параметров
 - Некрозы не являются частью системы градации
- **Дальнейшее подразделение для диагностики низкодифференцированного НЭ рака:**
 - На основе клеточных характеристик (мелко- vs крупноклеточный тип)
 - Присутствие любых комбинированных / смешанных элементов не-нейроэндокринного рака, таких как аденокарцинома или плоскоклеточный рак

Классификация. Спектр НЭО разной локализации



Современная морфологическая классификация НЭО. Заключение

- Морфология различает большие группы высоко- и низкодифференцированных НЭО, которые могут развиваться в любых органах и демонстрируют различное биологическое поведение;
- Пролиферация способствует подразделению между и внутри групп и определяет различия в потенциале злокачественности НЭО;
- Grade определяется на основе морфологии (дифференцировки) и оценки пролиферативной активности (митозы + Ki-67);
- Основанная на пролиферации трехуровневая система градации является клинически значимой для НЭО легкого и ГЭП системы, независимо от терминологии;
- Трехуровневая система градации НЭО предлагается для всех органов, однако пороговые уровни Ki-67 могут иметь отличия;
- Молекулярно-биологические особенности опухолей требуют дальнейшего исследования для более точного выделения типов НЭО.



Спасибо за внимание!

«Мастер-классы по НЭО»

10-12 мая 2016, Москва,

РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ

115478 Москва, Каширское шоссе 23/2