Evaluation de 5 marqueurs diagnostiques sur 712 néoplasies neuroendocrines de 10 sites anatomiques

Maria Mamodaly
Hôpital Beaujon, Paris

CRI CENTRE de RECHERCHE sur l'INFLAMMATION

unity Addressing Unmet Needs through Innovation In hepaTology and gastroenterologY

Inserm

HÔPITAUX UNIVERSITAIRES PARIS NORD VAL DE SEINE Beaujon

INTRODUCTION

- Les néoplasies neuroendocrines (NEN) sont des tumeurs **ubiquitaires**

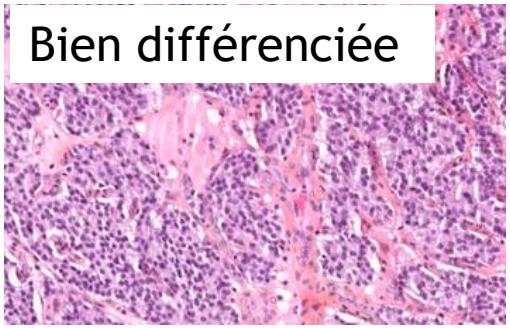
- Incidence faible mais prévalence élevée

  - Thymus < 1%
  - Broncho-pulmonaire 25,3%
  - Œsophage < 1%
  - Estomac 15%
  - Duodénum 4%
  - Pancréas 15%
  - Jéjunum – Iléon 15%
  - Caecum 2%
  - Appendice 15%
  - Colon 1%
  - Rectum 10%
  - Génito-urinaire

Modlin et al. Cancer 2003; 97:934

Classification des NEN selon la **différenciation** et la **prolifération**

Bien différenciée



Peu différenciée

INTRODUCTION

Le diagnostic morphologique de NEN peut être difficile:

- En cas de forme **peu différenciée**
- Dans certaines localisation où les **diagnostic différentiels** sont **multiples**, notamment dans le pancréas

→ Les critères **immunohistochimiques sont essentiels:** confirmation de la nature neuroendocrine de la tumeur par **1 à 2 marqueurs** (selon la localisation anatomique) **de différenciation** spécifiques :

- Marqueurs utilisés en routine: **Chromogranine A**, **Synaptophysine**, **CD56**
- Emergence de nouveaux marqueurs: **Chromogranine B**, **INSM1**

→ S'y ajoutent de nouvelles difficultés diagnostiques du fait:

- de la **moins bonne performance de certains clones** du même marqueur immunohistochimique (**chromogranine A, largement utilisée en routine**)
- de la **faible spécificité de certains marqueurs** (**synaptophysine**, **CD56**)

INTRODUCTION

Chromogranine A, tous les clones ne sont pas équivalents!

NordiQC

Assessment Run 53 2018

Chromogranin A (CGA)

7 études depuis 2003

https://www.nordiqc.org/

Participation

Number of laboratories registered for CGA, run 53	306
Number of laboratories returning slides	296 (97%)

Table 1. **Antibodies and assessment marks for CGA, run 53**

Concentrated antibodies	N	Vendor	Optimal	Good	Borderline	Poor	Suff.[1]	Suff. OPS[2]
mAb clone **5H7**	3	Leica	0	0	2	1	-	-
mAb clone **DAK-A3**	32	Dako/Agilent	1	3	19	9	13%	-
mAb clone **LK2H10**	1 2 1 40 3 1 7 1 2 1 1 19 2	Abcam Biogenex Bio SB Cell Marque Diagnostic Biosystem Hybritech Immunologic Invitrogen Millipore Monosan Progen Thermo Fisher Scientific Zytomed Systems GmbH	54	20	4	3	91%	97%
mAb clone **PHE5**	1	Unknown	0	0	0	1	-	-
mAb clones **LK2H10+PHE5**	8 1 11 1	Biocare Medical Invitrogen NeoMarkers Thermo Fisher Scientific	12	8	1	0	95%	94%
rmAb clone **SP12**	1	Thermo Fisher Scientific	0	0	0	1	-	-
pAb **A0430***	22	Dako/Agilent	5	11	3	3	73%	-
pAb **18-0094**	1	Invitrogen	0	0	1	0	-	-
pAb **RB-9003**	1	NeoMarkers	0	0	1	0	-	-

INTRODUCTION

Chromogranine A, tous les clones ne sont pas équivalents!

NordiQC

Assessment Run 53 2018

Chromogranin A (CGA)

7 études depuis 2003

https://www.nordiqc.org/

Participation

Number of laboratories registered for CGA, run 53	306
Number of laboratories returning slides	296 (97%)

2017, 33 centres en France

afAQap

ASSOCIATION FRANÇAISE D'ASSURANCE QUALITÉ EN ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Résultats similaires sur des néoplasies neuroendocrines pulmonaires

	1 1 19 2	Monosan Progen Thermo Fisher Scientific Zytomed Systems GmbH						
mAb clone **PHE5**	1	Unknown	0	0	0	1	-	-
mAb clones **LK2H10+PHE5**	8 1 11 1	Biocare Medical Invitrogen NeoMarkers Thermo Fisher Scientific	12	8	1	0	95%	94%
rmAb clone **SP12**	1	Thermo Fisher Scientific	0	0	0	1	-	-
pAb **A0430***	22	Dako/Agilent	5	11	3	3	73%	-
pAb **18-0094**	1	Invitrogen	0	0	1	0	-	-
pAb **RB-9003**	1	NeoMarkers	0	0	1	0	-	-

OBJECTIFS DE L'ETUDE

- Comparer la performance diagnostique des deux **clones** de la chromogranine A : **DAK- A3** et **LK2H10**

- Evaluer et comparer la performance diagnostique :

➢ Des « nouveaux marqueurs »: **Chromogranine B, INSM1**

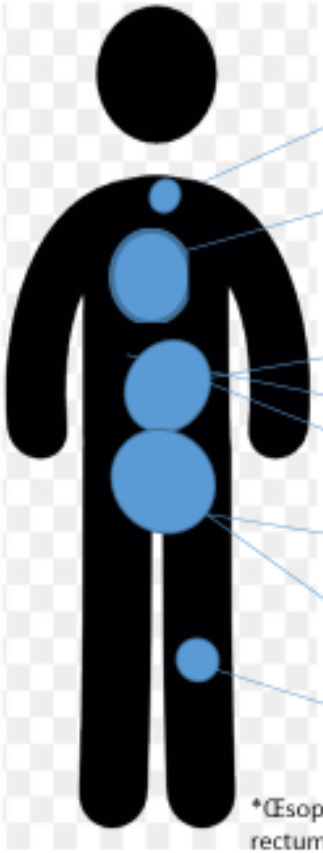
➢ Par rapport aux marqueurs immunohistochimiques utilisés en routine: **Chromogranine A, Synaptophysine, CD56**

Pour établir le diagnostic de néoplasie neuroendocrine de **10 sites anatomiques** (thymus, poumon, tractus digestif, peau, tractus génital)

MATERIEL & METHODE

1120 patients inclus

Néoplasies neuroendocrines n= 712

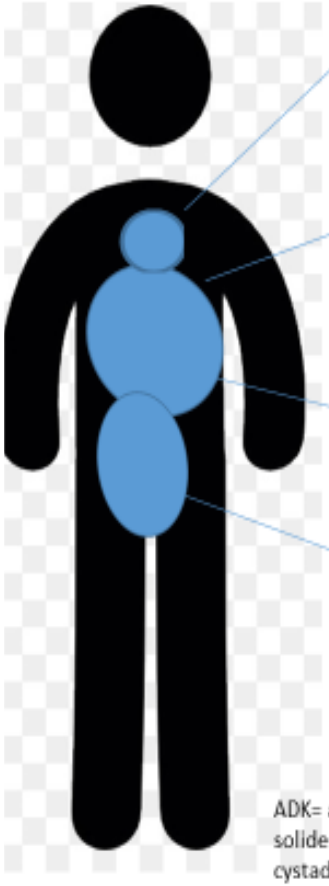


- Thymus n=11
- Poumon n=126
- Pancréas n=169
- Foie n= 40
- Métastases hépatiques n=81
- Autres NEN digestives* n=200
- Tractus génital** n=24
- Carcinomes de Merkel n=61

*Œsophage, duodénum, estomac, grêle, colon, rectum

** Vulve, col utérin, utérus, ovaire

Diagnostics différentiels n= 408



- Poumon
  - ADK n=33
  - EPI n=31
- Pancréas
  - ADK n=126
  - TSPP n=29
  - CCA n= 23
  - CS n=15
- Foie
  - CHC n=18
  - CK n=38
- Œsophage- Estomac- Colon - rectum
  - ADK n= 73
  - EPI (oesophage) n= 22

ADK= adénocarcinome- EPI: carcinome épidermoïde- TSPP: tumeurs solide et pseudo papillaire- CCA: carcinome à cellules acineuses- CS: cystadénome séreux- CHC: carcinome hépatocellulaire- CK: cholangiocarcinome

MATERIEL & METHODE

1120 patients inclus

Néoplasies neuroendocrines, n= 712

Thymus n=11

Autres NEN digestives* n=197

Tractus génital** n=20

Carcinomes de Merkel n=53

*Œsophage, duodénum, estomac, grêle, colon, rectum

** Vulve, col utérin, utérus, ovaire

Diagnostics différentiels, n= 408

Poumon

ADK n=33

EPI n=31

n=126

n=29

n= 23

=15

n=18

n=38

Œsophage- Estomac- Colon - rectum

ADK n= 73

EPI (oesophage) n= 22

ADK= adénocarcinome- EPI: carcinome épidermoïde- TSPP: tumeurs solide et pseudo papillaire- CCA: carcinome à cellules acineuses- CS: cystadénome séreux- CHC: carcinome hépatocellulaire- CK: cholangiocarcinome

Etude multicentrique:

- Hôpital Beaujon (Clichy)
- Hôpital Bichat (Paris)
- Institut Gustave Roussy (Villejuif)
- Hôpital Marie Lannelongue (Le Plessis Robinson)

MATERIEL & METHODE

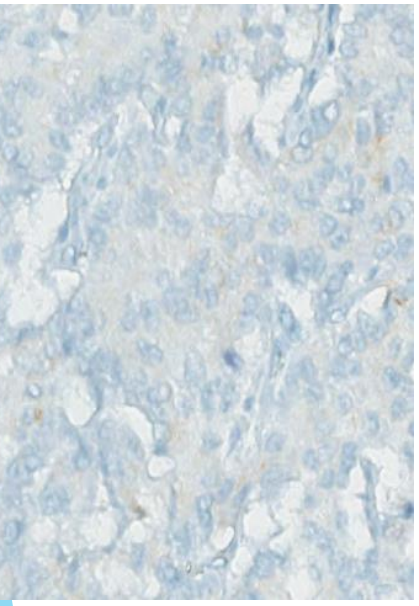
Les 5 marqueurs immunohistochimiques suivants ont été testés:

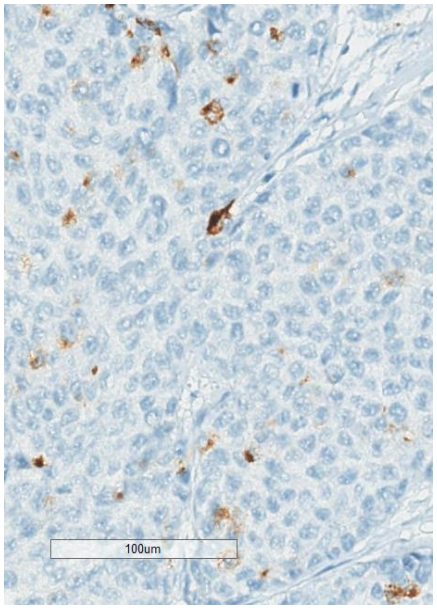
Marqueur	Clone	Marque	Dilution
Chromogranine A	LK2H10	Abcam	1/500
Chromogranine A	DAK- A3	DAKO	1/200
Synaptophysine	27G12	Novocastra	1/100
CD56	CD564	Novocastra	1/50
Chromogranine B	Poly	Novus	1/800
INSM1	A-8	Santa cruz	1/50 ov

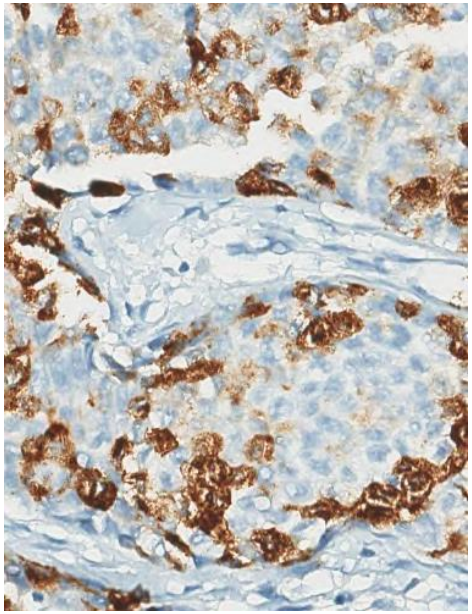
Double lecture immunohistochimique sur:
- **Biopsies**
- TMA (*Tissu Micro Array*, bloc multi-tissus) établi à partir de **pièces opératoires** (3 à 4 spots pour chaque patient)

MATERIEL & METHODE

Etablissement d'un score immunohistochimique pour chaque marqueur







Score 0: 0%* Score 1: < 10%* Score 2: 10 à 50%* Score 3: > 50%*

NEGATIF

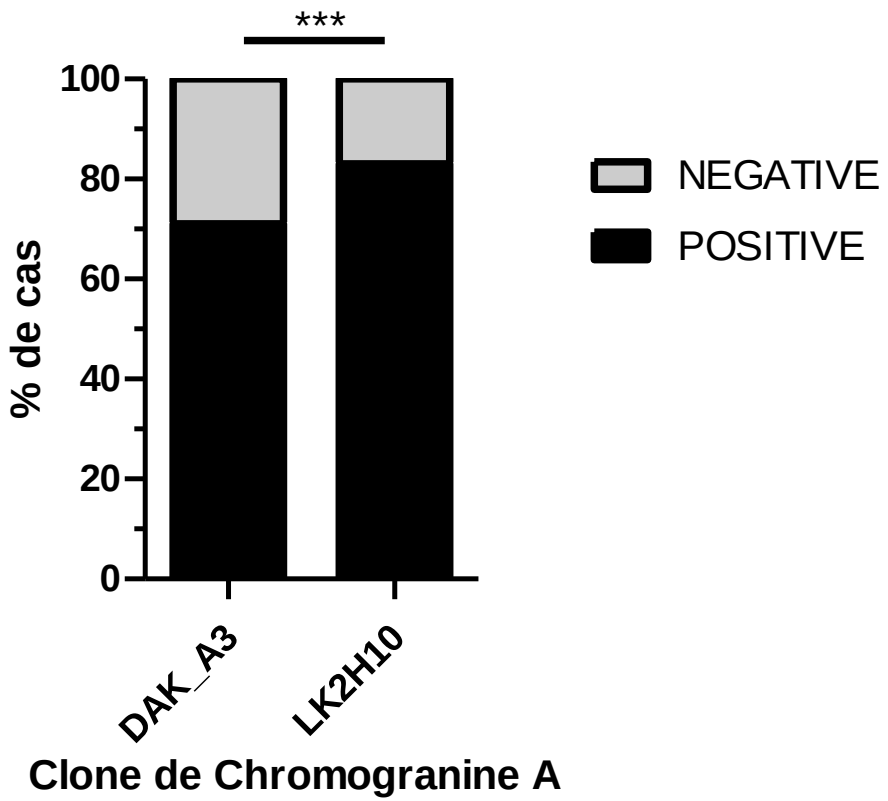
POSITIF

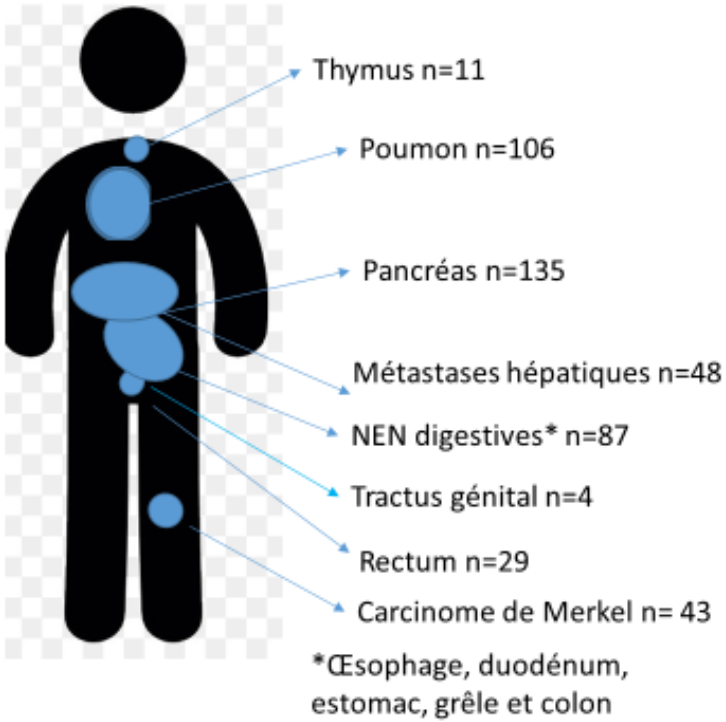
* Pourcentage de cellules tumorales marquées
Exemple du marquage par la chromogranine A, clone LK2H10, NEN pancréas, x 200

RESULTATS

Chromogranine A, les clones ne sont pas tous équivalents !

Néoplasies neuroendocrines n=463



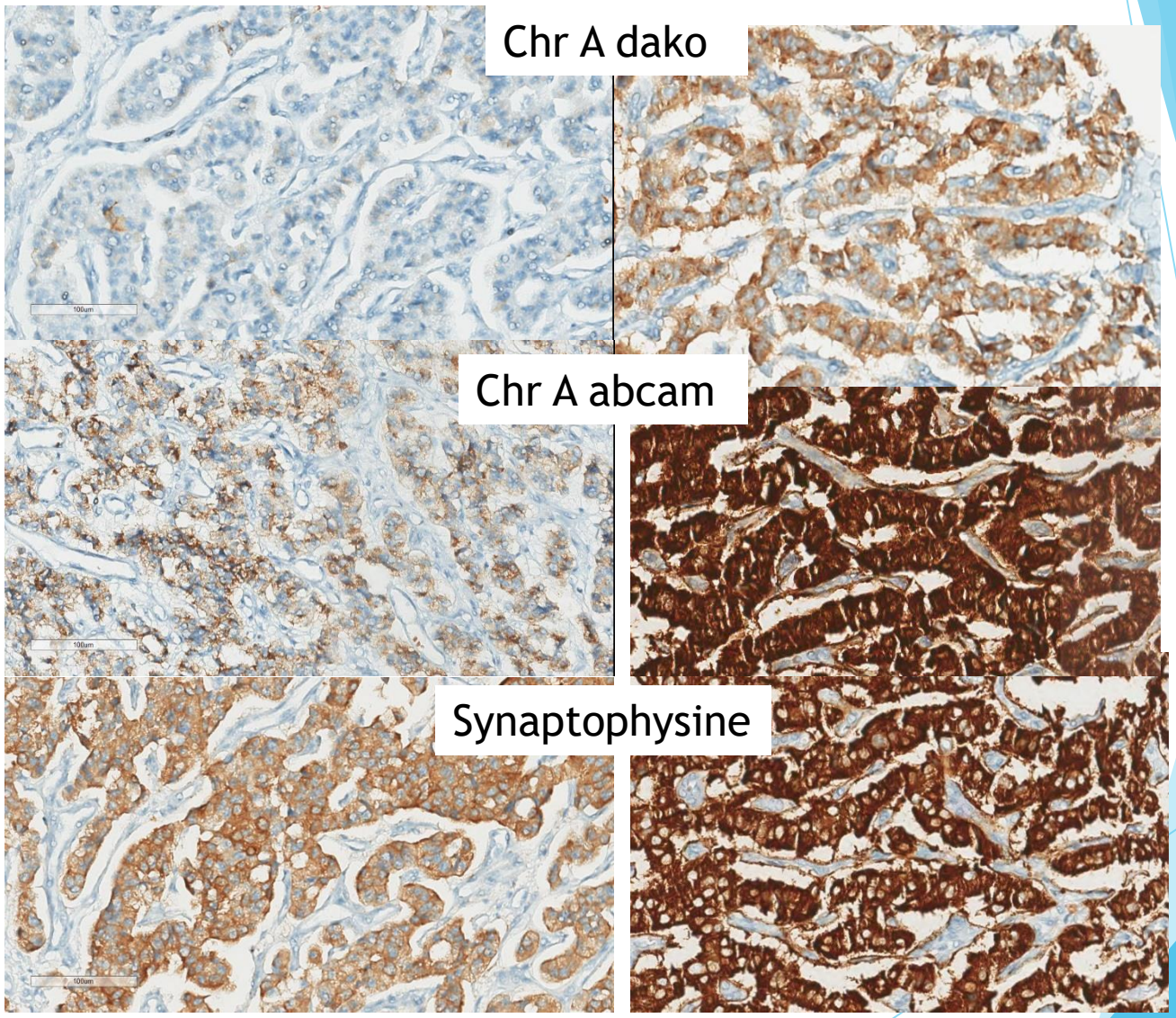


Sensibilité du clone **LK2H10 (83%)** > **DAK-A3 (71%)**

Marque Abcam

Chromogranine A, les clones ne sont pas tous équivalents !

RESULTATS



Deux cas de néoplasie neuroendocrine du pancréas, x200

RESULTATS

Chromogranine A, les clones ne sont pas tous équivalents !

Le clone **LK2H10** est **plus sensible** **(83%)** que le clone **DAK-A3 (71%)**

Le **contrôle positif** sur la lame doit être une coupe d'**appendice** et **non un fragment de tumeur neuroendocrine très positive** avec le clone chromogranine A « maison »

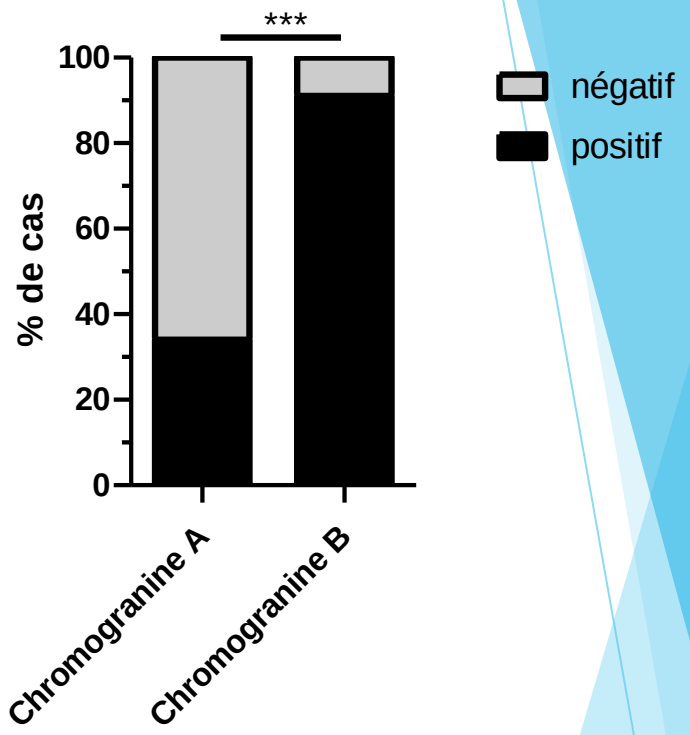
RESULTATS

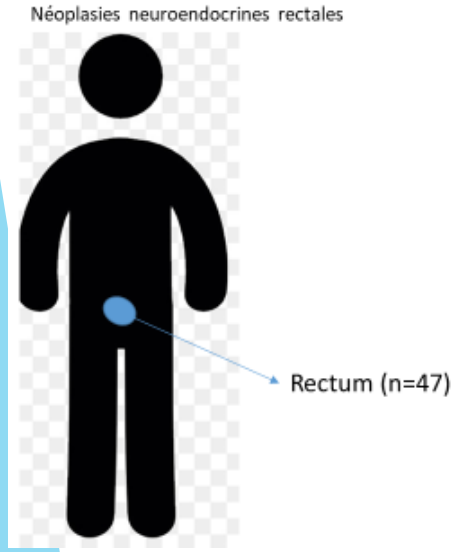
Chromogranine B dans les néoplasies neuroendocrines rectales: données connues…

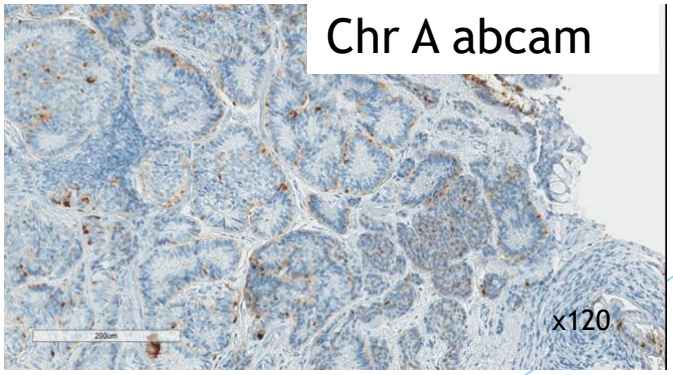
<u>Sensibilité</u>:
Chr A abcam = **34%**
Chr B = **91%**

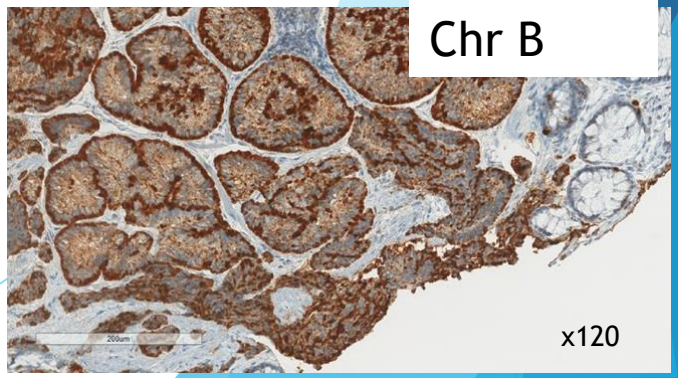
La chr B est plus sensible que la chr A dans le rectum

Néoplasies neuroendocrines rectales, n=47



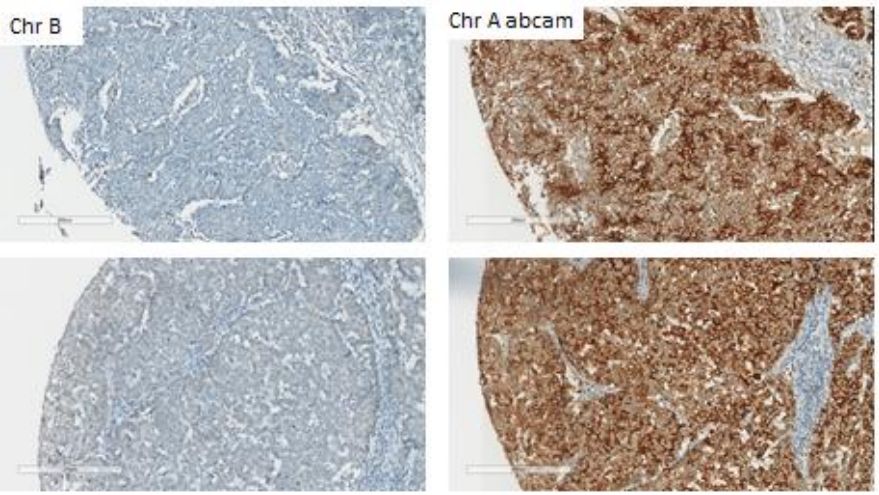




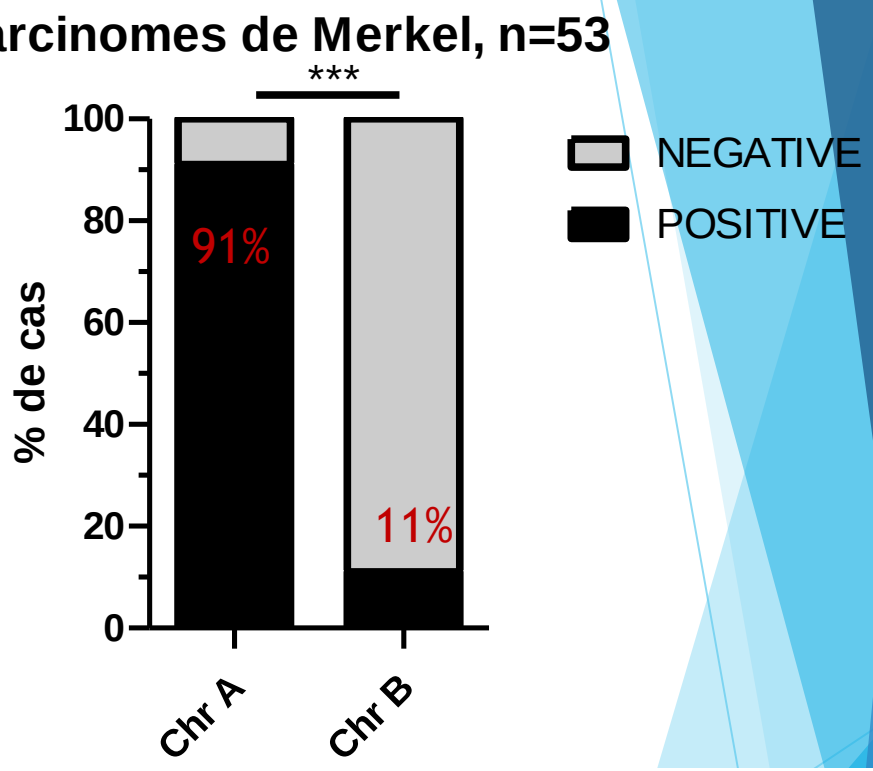


RESULTATS

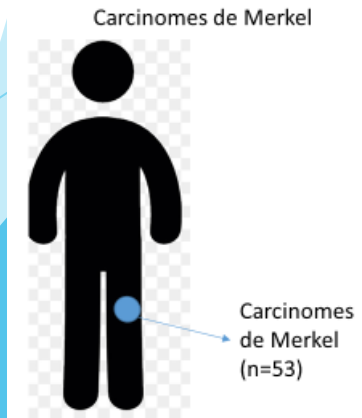
Chromogranine A versus chromogranine B dans les carcinomes de Merkel



Carcinome de Merkel, x120



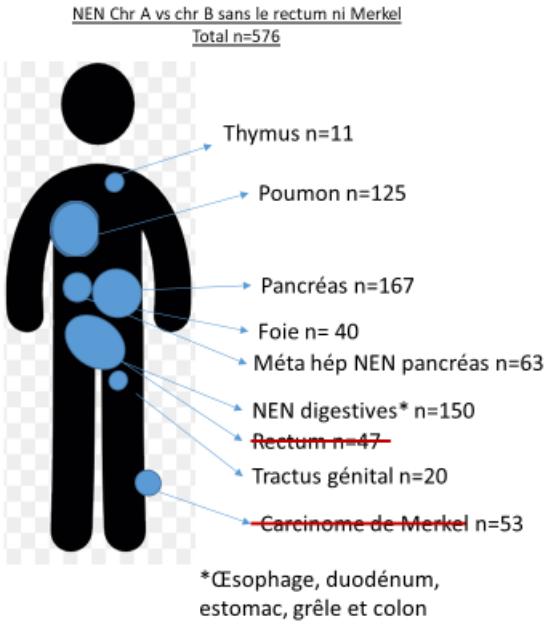
La chromogranine B est très peu exprimée dans les carcinomes de Merkel

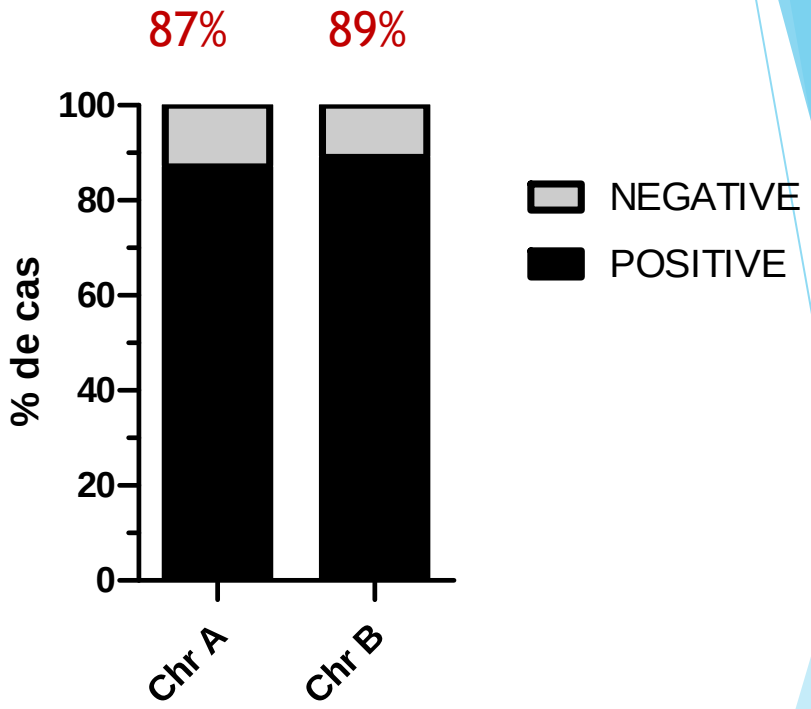


RESULTATS

La chromogranine B a-t-elle un intérêt en dehors des lésions digestives basses?

Néoplasies neuroendocrines (sauf rectum et Merkel), n=576



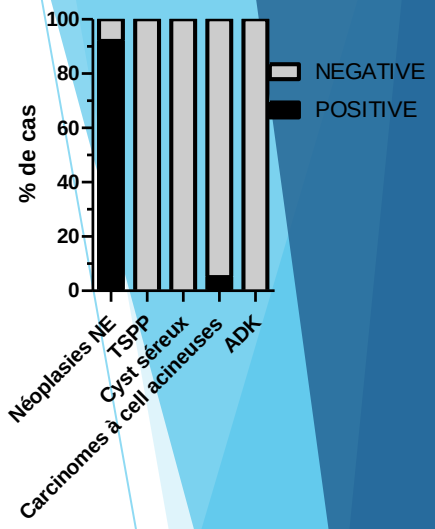


Les **chromogranines A et B** ont une sensibilité comparable en dehors des lésions digestives basses et cutanées

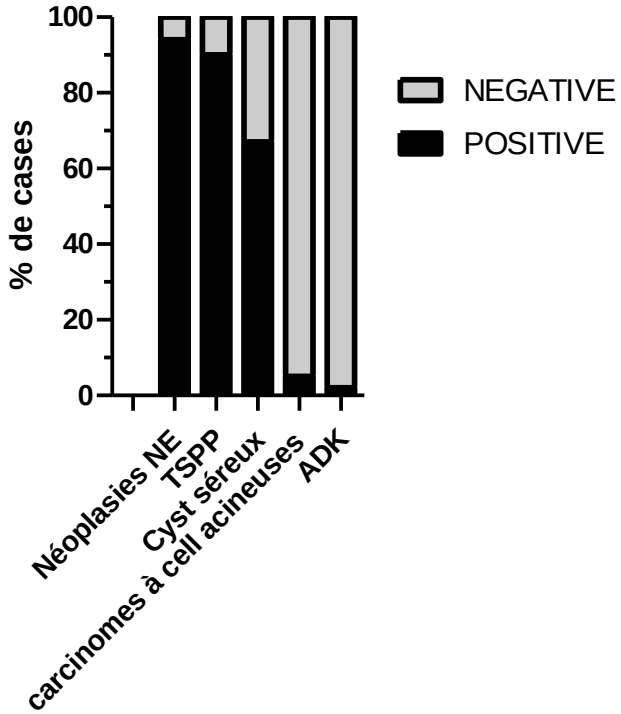
Spécificité de la Chromogranine B dans les lésions pancréatiques neuroendocrine-like?

RESULTATS

Expression de la Chr A dans le pancréas n=357



Expression de la Chr B dans le pancréas n=357



Sensibilité dans le pancréas

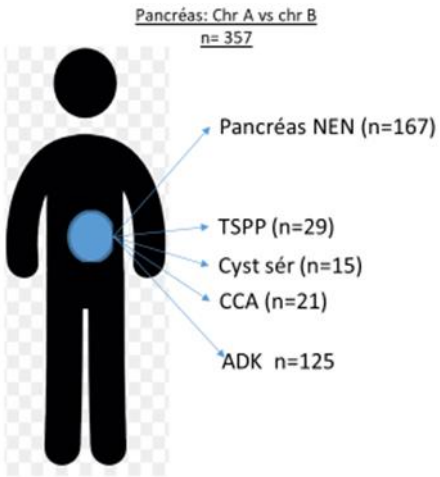
Chromogranine A:92 %

Chromogranine B: 94 %

Spécificité dans le pancréas

Chromogranine A: 99,5 %

Chromogranine B: 79,5 %

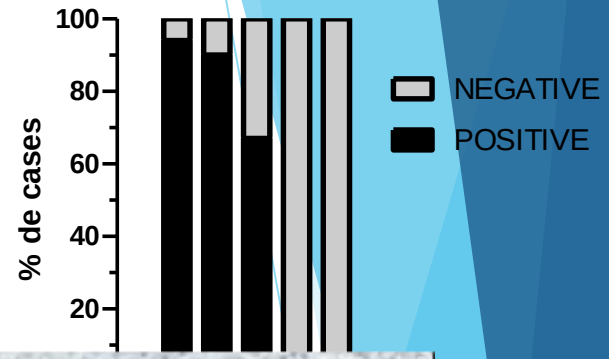


La chr B est **moins spécifique** dans les lésions **pancréatiques**

Spécificité de la Chromogranine B dans les lésions pancréatiques neuroendocrine like?

RESULTATS

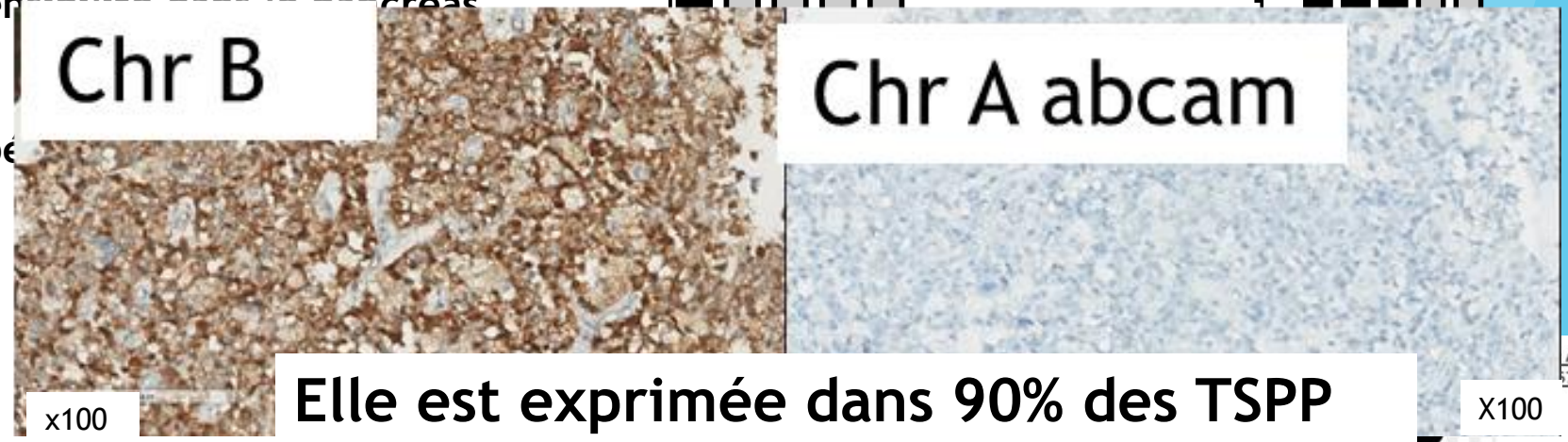
Expression de la Chr B dans le pancréas n=357



Expression de la Chr A dans le pancréas n=357

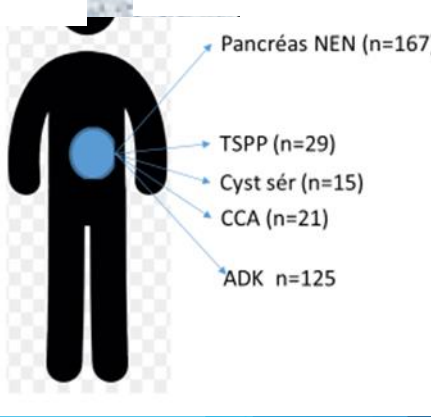
Sen

Spé



Elle est exprimée dans 90% des TSPP

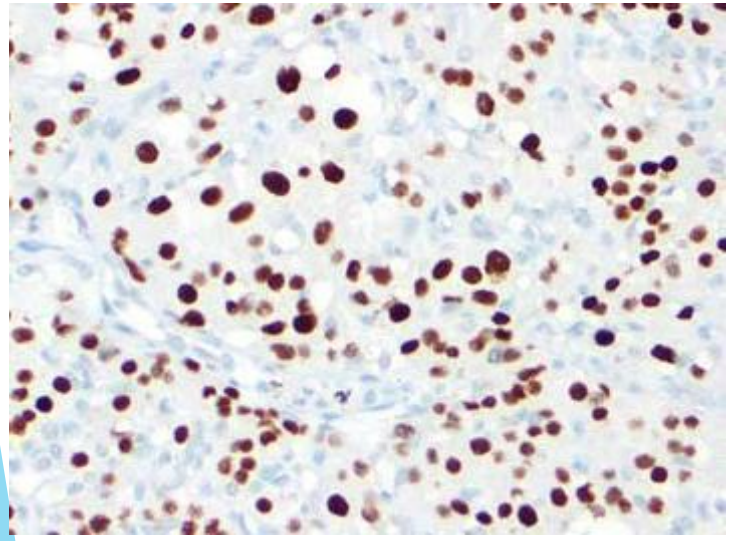
Carcinomes à



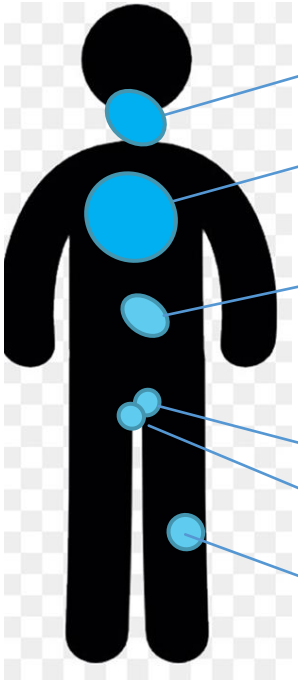
La chr B est **moins spécifique** dans les lésions **pancréatiques**

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine ?

Facteur de transcription (*Insulinoma Associated Protein 1*)
Localisation **nucléaire**
Exprimé :
- dans les tissus embryonnaires subissant une **différenciation neuroendocrine**
- dans le pancréas par les cellules endocrines des **îlots de Langerhans**
- dans l'estomac par les cellules **entérochromaffines**



Dans la littérature…



TNE ORL (n<100)

TNE poumon (n=346)

TNE pancréas (et métastases hépatiques) (n<50)

TNE col de l'utérus (n<50)

TNE prostate (n<50)

Carcinome de Merkel (n<50)

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine ?

Tumeurs de la cavité thoracique, n=267

Chromogranine A, clone LK2H10

TABLE 1. Expression of Neuroendocrine Markers

	n/N (%)				
Tumor	**INSM1**	**Synapto**	**Chromo**	**CD56**	**Any Traditional**
High-grade NE					
SCLC	37/39 (94.9)	24/39 (61.5)	19/39 (48.7)	21/30 (70)	29/39 (74.4)
LCNEC	21/23 (91.3)	14/23 (60.9)	11/23 (47.8)	14/23 (60.9)	18/23 (78.3)
Low-grade NE					
Atypical carcinoid	18/18 (100)	18/18 (100)	18/18 (100)	15/18 (83.3)	18/18 (100)
Typical carcinoid	23/23 (100)	23/23 (100)	23/23 (100)	18/18 (100)	23/23 (100)
Paraganglioma	8/8 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)
Non-NE					
ACA	2/61 (3.3)	4/61 (7.0)	1/61 (1.6)	3/61 (4.9)	8/61 (13.1)
SqCC	4/95 (4.2)	1/95 (1.1)	0/95 (0.0)	7/95 (7.4)	7/95 (7.4)

Chromo indicates chromogranin; NE, neuroendocrine; Synapto, syanptophysin.

Sensibilité

INSM1 (96.4%) **>> Chromogranine A** (71.2%) surtout dans les NEC

Spécificité

INSM1 (96.2%) ⇔ **Chromogranine A** (99.4%)

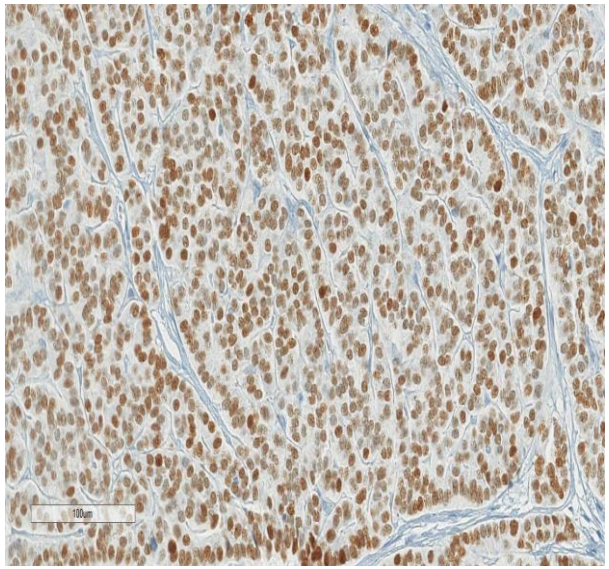
Rooper *et al. Am J Surg Pathol 2017*

RESULTATS

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine?

Sensibilité

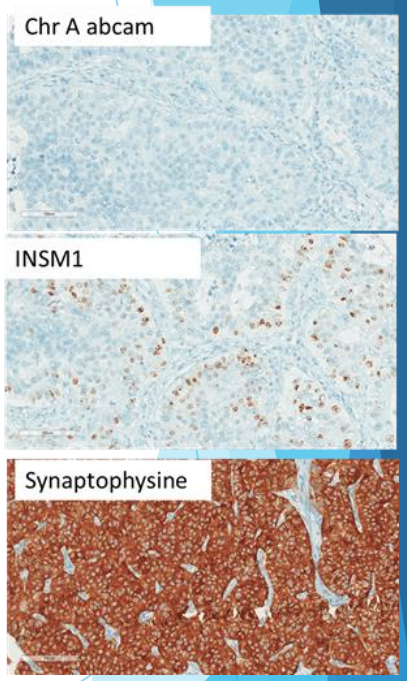
Lésions neuroendocrines toutes localisations/différentiation/grade, n=533



INSM1 dans une NEN colique, x200

INSM1 = 82%

Chr A ab = 83%



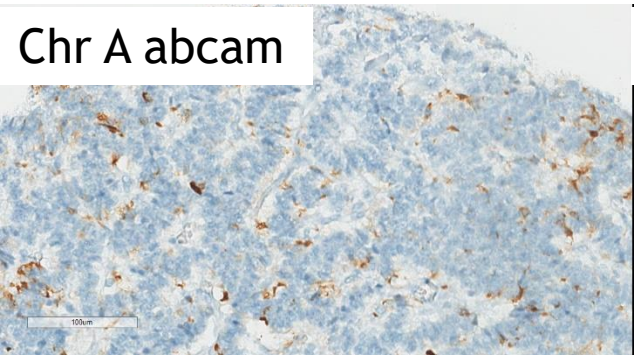
NEN pulmonaire, x200

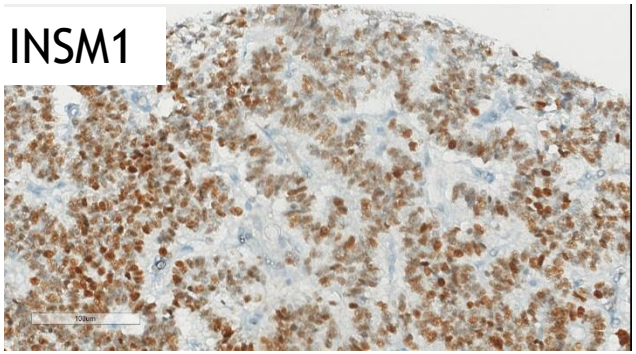
Synaptophysine= 93%

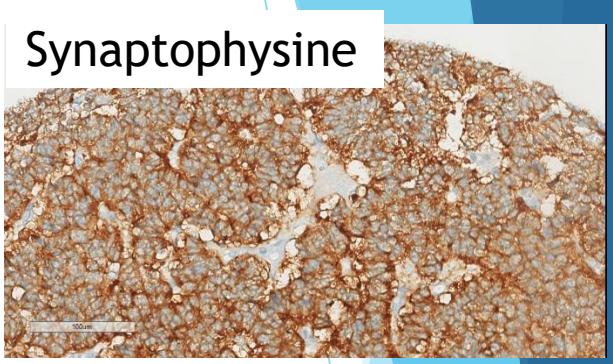
CD56 = 56%

RESULTATS

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine?







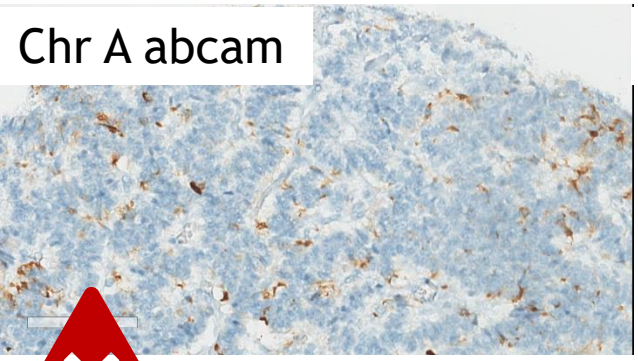
Néoplasie neuroendocrine du pancréas, x 200

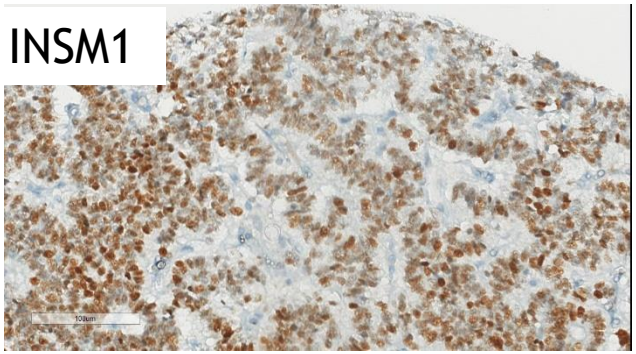
Tumeurs neuroendocrines toutes localisations, n=533

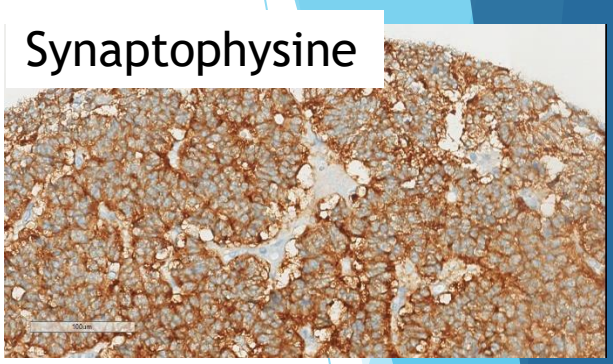
	CHROMO A +	CHROMO A-	TOTAL
INSM1+	386	50	436
INSM1-	69	28	97
TOTAL	455	78	533

INSM1 pourrait être un bon **marqueur complémentaire** dans les cas difficiles

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine?

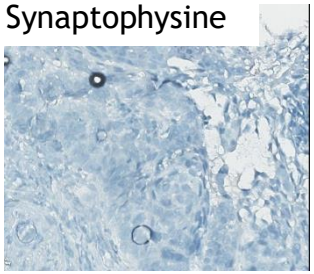


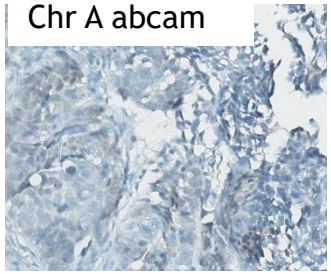


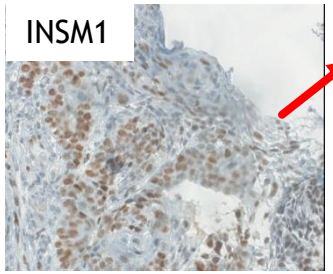


Néoplasie neuroendocrine du pancréas, x 200

Attention, INSM1 est **peu spécifique** dans l'**œsophage** où elle est exprimée dans les carcinomes épidermoïdes







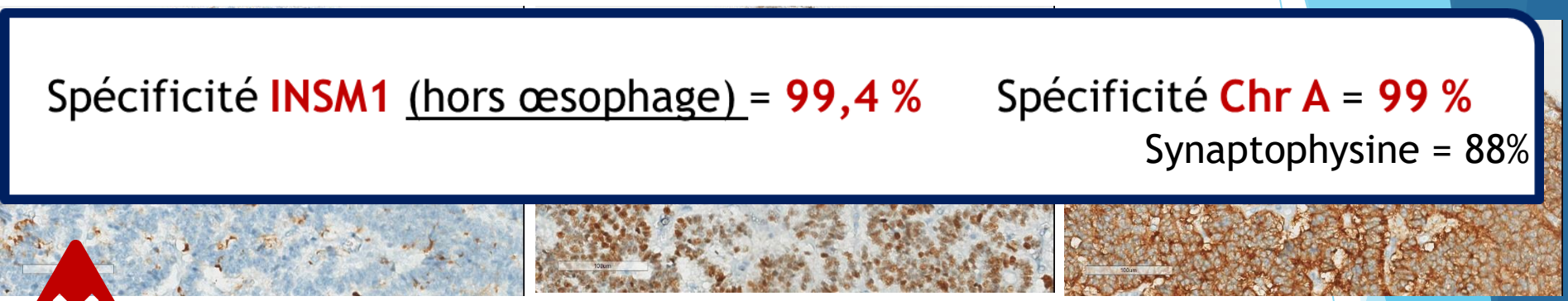
86% de cas INSM1+

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine?

Spécificité **INSM1** (hors œsophage) = **99,4 %**

Spécificité **Chr A** = **99 %**

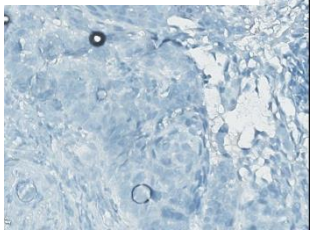
Synaptophysine = 88%



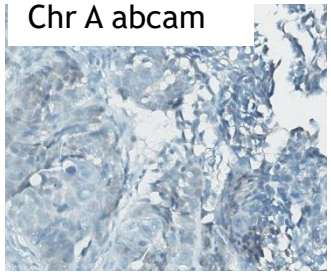
Néoplasie neuroendocrine du pancréas, x 200

Attention, INSM1 est **peu spécifique** dans l'**œsophage** où elle est exprimée dans les carcinomes épidermoïdes

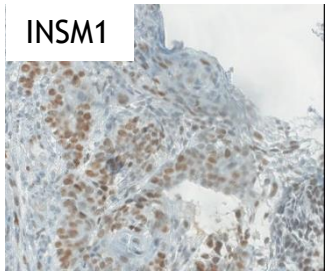
Synaptophysine



Chr A abcam



INSM1



35% de cas INSM1+

RESULTATS

INSM1, nouveau marqueur neuroendocrine?

Et selon le grade/différenciation ?

Néoplasies neuroendocrines, n=541

DIFFERENCIATION	GRADE	% NEN ChrA +	% NEN INSM1+
bien différencié	G1	91,67	81,07
	G2	91,07	83,33
	G3	83,33	82,14
peu différencié		55,43	83,19

Meilleur performance d'INSM1 dans les **tumeurs neuroendocrines peu différenciées**, toute localisations confondues

Take Home messages

Immunohistochimie dans les néoplasies neuroendocrines: des nouveautés ?

- **Chromogranine A**: se méfier du clone ! (sensibilité **LK2H10**>**DAK-A3**)

Nouveaux marqueurs:

- **Chromogranine B:** très sensible mais pas toujours très spécifique

- **INSM1:** très sensible et spécifique

Mise au point parfois plus ardue

Excellent marqueur complémentaire

Remerçiements

- Pr J. Cros, Dr D. Cazal Hatem, Dr N. Guedj, Pr V. Paradis *(Hôpital Beaujon)*

- Pr J.Y. Scoazec *(Institut Gustave Roussy)*

- Pr A. Couvelard, Pr A. Cazes, Dr M. Bucau, Dr L. Deschamps, Dr R. Chen *(Hôpital Bichat)*

- Dr V. Thomas De Montpreville *(Hôpital Marie Lannelongue)*