

# Diagnostik af neuroendokrine tumorer i mave-tarm-kanalen

Jens F. Rehfeld, Lennart Friis-Hansen, Jens Peter Gøtze, Linda Hilsted & Finn Cilius Nielsen

Neuroendokrine tumorerers incidens er lav. Men da de vokser langsomt og skal følges længe, er antallet af patienter med tumorer betydeligt. Samtidig frembyder patienterne ofte en kalejdoskopisk, individuel symptomatologi, der medfører udfordringer i forhold til diagnostik, behandling og resurser. Neuroendokrine tumorer udgår fra ekto- eller endodermale celler i næsten alle organer, dog særlig hyppigt fra mave-tarm-kanal og pancreas. Tumorerne har derfor i takt med udviklingen i diagnostik og behandling tiltrukket sig opmærksomhed. I det følgende beskrives status for biokemisk/molekylærgenetisk diagnostik af neuroendokrine tumorpatienter.

## TUMORGENER

Nogle neuroendokrine tumorer er familiære. Kortlægningstudier har derfor gennem det seneste tiår identificeret gener, som disponerer for tumorerne (Tabel 1). Den overvejende del af de arvelige neuroendokrine tumorer i pancreas og mave-tarm-kanalen ses ved mutationer i multipel endokrin neoplasie type 1 (MEN1)-genet. MEN1 koder for kerneproteinet menin, der binder sig til protoonkogenet JUN-D [1]. Samtidig er menin en del af histonmetyltransferase-komplekset, der kontrollerer kromatinstrukturen. Menin regulerer på den måde mange gener, herunder dem, der koder for cyclinafhængige kinaseinhibitorer, som er centrale i celleproliferationen. Prævalensen af MEN1-mutationer er 1-2 pr. 100.000, og to tredjedele heraf udvikler neuroendokrine tumorer i pancreas og mave-tarm-kanalen [2]. De fleste er gastrinomer og insulinomer, mens en lille del er vipomer, glukagonomer, somatostatinomer og »nonfunktionelle« tumorer. MEN1 er et tumorsuppressorgen, og MEN1-syndromet arves dominant. Ved sekventering af MEN1 kan heterozygote genbærere identificeres og undersøges. Nogle få patienter uden MEN1-mutationer har mutationer i genet for cyclindependent kinaseinhibitor 1B, protein 27 og *kinesin-related protein 1*. Det syndrom kaldes nu MEN4 [3].

Von Hippel Lindaus syndrom, der skyldes mutationer i von Hippel Lindau (VHL)-genet, omfatter også neuroendokrine tumorer [4]. Foruden hæmangioblastomer i centralnervesystemet, renale karcinomer og fækromocytomer udvikler mange patienter

neuroendokrine tumorer i pancreas. VHL-ekspression hæmmer hypoksiinduceret celleproliferation og angiogenese, og som MEN1 er VHL et tumorsuppressorgen. Da mutationsbærere kan udvikle tumorer i tidlig alder, påbegyndes screening tidligt. Det indebærer som regel oftalmoskopi, abdominal computertomografi, magnetisk resonans-skanning af hjernen samt måling af metanefriner.

To relaterede syndromer er neurofibromatose og tuberøs sklerose, der skyldes mutationer i generne for neurofibromatose type 1 (NF1), tuberøs sklerose type 1 (TSC1) eller tuberøs sklerose type 2 (TSC2) [5, 6]. NF1-mutationsbærere kan ud over neurofibromer udvikle intestinale karcinoider og duodenale somatostatiner. NF1-ekspression hæmmer aktiviteten af *mammalian target of rapamycin* (mTOR), som spiller en væsentlig rolle ved mange andre tumorer. Det har derfor været foreslået, at NF1-afhængige tumorer bør

## STATUSARTIKEL

Rigshospitalet, Klinisk Biokemisk Afdeling, og Københavns Universitet, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet

TABEL 1

Hyppige genforandringer i sporadiske og familiære neuroendokrine tumorer.

Gen	Syndrom/tumor	Tumorlokalisering
MEN1	MEN1	Tyndtarm og pancreas
CDKN1B P27/KIP1	MEN4 (ligner MEN1, men uden mutation i MEN1)	Tyndtarm og pancreas
VHL	VHL	Pancreas
SDH, B, C og D	Paragangliomer og fækromocytomer	Tynd- og tyktarm
p53		Hele mave-tarm-kanalen
LOH 18/18q	Karcinoidsyndrom	Tyndtarm
X-kromosom LOH	Karcinoidsyndrom	Pancreas
TSC1 og TSC2	Endokrin pancreastumor	Pancreas

Forkortelser: se boks.

## ! FORKORTELSER

5-HIAA = 5-hydroxyindol-acetat  
 CDKN = *cyclindependent kinaseinhibitor*  
 cGa = chromogranin A  
 ELISA = *enzyme-linked immunosorbent assay*  
 GRF = *growth hormone releasing factor*  
 KIP1 = *kinesin-related protein*  
 LOH = *loss of heterozygosity*  
 MEN1 = multipel endokrin neoplasie type 1  
 mTOR = *mammalian target of rapamycin*

NF1 = neurofibromatose type 1  
 p27 = protein 27  
 p53 = protein 53  
 RIA = radioimmunanalyse  
 RNA = ribonukleinsyre  
 SDH = succinatdehydrogenase  
 TSC = Tuberøs sklerose  
 VHL = von Hippel-Lindau

behandles med mTOR-hæmmere. Patienter med tuberøs sklerose får samme slags tumorer, og TSC2-inaktivering giver desuden hyperplasi af d-cellerne i pancreas. Endelig er der hos enkelte med familier forekomst af karcinoider fundet mutationer i generne for succinat dehydrogenase i subunit B, C eller D [7].

Der er i forhold til den detaljerede viden om genetiske ændringer ved en række almindelige maligne tumorer kun sparsomt kendskab til sporadiske neuroendokrine tumorer genændringer. MEN1 spiller også her en rolle, da 25% af tumorerne har tab af MEN1. Ligeledes findes der *deleted in pancreatic carcinoma, locus 4/small male abnormalities-mothers against decapentaplegic homologue* (SMAD4)-mutationer i 20% af de neuroendokrine tumorer i pancreas. SMAD4 er et tumorsuppressorgen, som også spiller en rolle ved udviklingen af ventrikeltumor. SMAD4 findes på kromosom 18q, som ofte er tabt i neuroendokrine tumorceller. Ud over disse loci forekommer alleltab hyppigt på kromosom 1p, 1q, 3p, 11q, 22q og store dele af X-kromosomet. Men det vides ikke, hvilke der har kausal betydning.

### TUMORPROTEINER

Graniner (chromogranin A og B og secretograniner (II-VI)) er en familie af sure proteiner, der hovedsageligt udtrykkes i neuroendokrine celler [8, 9] (Figur 1). Det er karakteristisk, at graninerne indeholder talrige proteolytiske spaltningsteder og hertil svarende fragmenter i væv og i blod [8]. Graniner kan påvises i alle neuroendokrine tumorer, og forekomsten i de enkelte tumortyper svarer til ekspresionen i de celler, hvorfra tumorerne er udgået.

Især chromogranin A (CgA) har fundet an-



### FAKTABOKS

Neuroendokrine tumorer i pancreas og mave-tarm-kanalen diagnosticeres med stigende hyppighed. De frembyder ofte en kompleks symptomatologi.

Til diagnostik, lokalisering og behandlingskontrol findes der nu adskillige metoder til identificering og måling af relevante gener, proteiner og peptider.

Genundersøgelse udføres ved familier forekomst, f.eks. multipel endokrin neoplasie type-1 (MEN1)-genet ved multipel endokrin neoplasie af type 1. Andre »nye« tumorgener har også vist betydning, og flere findes til stadighed.

Blandt tumorproteiner har især chromogranin A fået betydning. Pålidelig måling kræver immunanalyse med veldefineret specificitet pga. proteinets størrelse og udtalte fragmentering.

Mange peptidhormoner udtrykkes i tumorerne og giver karakteristisk symptomatologi. Undertiden kræves også måling af forstadier til de aktive peptider (proinsulin, progastrin mv.).

De biokemiske markører har bidraget afgørende til bedre/tidlig diagnostik og klassificering af nye tumorsyndromer.

vendelse som markør ved diagnose, stadietdeling og behandlingskontrol af neuroendokrine pancreas-tumorer og tyndtarmskarcinoider [9-11]. Til plas-mamålinger anvendes radioimmunanalyse (RIA) eller *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Men spaltningen af CgA kan variere betydeligt selv i en given tumortype. Det er derfor afgørende, at CgA-analyserne har en velkarakteriseret sekvens-specificitet.

Mange af de publicerede CgA-analyser er baseret på antistoffer mod oprenset CgA eller fragmenter heraf. Disse antistoffers sekvensspecificitet såvel som analysernes diagnostiske nøjagtighed har været utilstrækkeligt belyst. Ved anvendelse af korte, syntetiske peptider – svarende til sekvensen ved udvalgte spaltningsteder – har det i stedet været muligt at opbygge et bibliotek af veldefinerede CgA-analyser med stor diagnostisk følsomhed [11, 12].

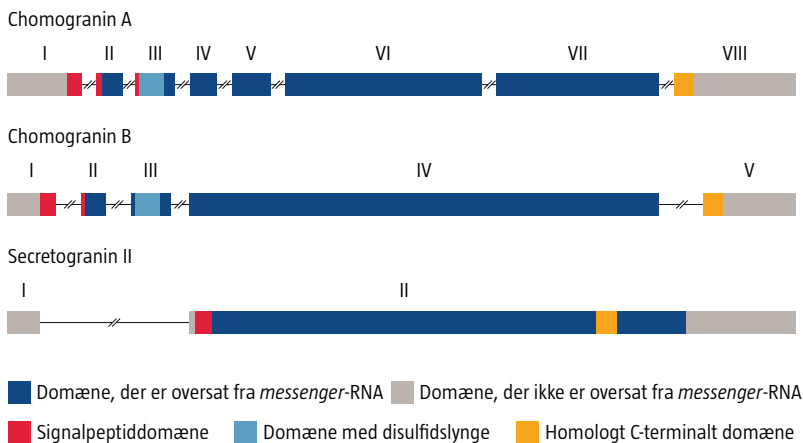
En god tumormarkør skal vise recidiv tidligt. Ved diagnostik og kontrol af tyndtarmskarcinoider skulle patienterne tidligere levere døgnurin til måling af 5-hydroxyindol-acetat. Men patientkompliansen var ofte lav og den samlede måleusikkerhed stor. I forhold hertil har plasma-CgA-måling mange fordele. De bedste CgA-analyser frembyder således en væsentligt højere diagnostisk nøjagtighed end gængse tumor-markører.

### TUMORPEPTIDER

Neuroendokrine tumorer secernerer peptidhormoner (Tabel 2). Til diagnostik, lokalisering og behandlingskontrol har man derfor anvendt måling af pep-

FIGUR 1

Generne for tumorproteinerne chromogranin A, chromogranin B og secretogranin II. Kilde: [9].



Forkortelser: se boks.

tider i plasma. Ved insulinomer, gastrinomer og vipomer svarer de øgede koncentrationer i plasma til symptomer som hypoglykæmi, svær ulcussygdom og vandige diarreer. Men ofte er sammenhængen mere kompleks. Øget sekretion af nogle hormonale peptider kan endda være uden specifikke symptomer.

Til måling anvendes immunanalyser som RIA eller ELISA. Med monospecifikke antistoffer kan målingerne udføres med høj analyseteknisk og diagnostisk specificitet. Ud fra den samlede viden om peptidhormoners struktur, ekspression og sekretion fra tumorer kan man nu designe immunanalyser med adækvat diagnostisk følsomhed og specificitet [13-15]. To forhold spiller her en særlig rolle: Som grænser indgår peptidhormoner i familier med strukturel beslægtethed mellem medlemmerne. Det er derfor nødvendigt, at antistoffer er rettet mod den del af strukturen, der er karakteristisk for det enkelte hormon. Det andet forhold er, at tumorceller ofte er mindre effektive til at modne biosyntetiske forstadier. Det betyder, at tumorceller undertiden frisætter beskedne mængder aktivt hormon og store mængder inaktive forstadier [13-15]. I den situation kan den diagnostiske følsomhed og specificitet øges ved at måle niveauet af prohormoner [13-15].

Måling af neuroendokrine peptider og graniner supplerer hinanden. En række tumorer er karakteriseret ved øget sekretion af et enkelt hormon (gastrinomer, glukagonomer, insulinomer, somatostatino-mer, vipomer mv.). I de tilfælde er måling af det enkelte hormon tilstrækkeligt. Ofte er neuroendokrine tumorer imidlertid blandingstumorer, der producerer flere hormoner. Blandingstumorer er ofte domineret af et hormon, men fænotypen kan ændre sig i takt med tumorvækst og metastasering, så andre hormoner dominerer. I de tilfælde er graninmåling bedst til at vurdere tumorbyrden [9-12].

Endelig er der neuroendokrine tumorer i pancreas og mave-tarm-kanalen, hvis peptidprodukt ikke kendes. Det gælder f.eks. tarmkarcinoider, tumorer der udgår fra ventriklens *enterochromafine-like* celler og »nonfunktionelle« tumorer i pancreas eller andet endokrint væv. Her må diagnostik, forløb og behandling kontrolleres med graniner [9-12]. Nogle »nonfunktionelle« tumorer secererer peptider som calcitonin, ghrelin, neurotensin, pankreatisk polypeptid eller somatostatin [10] (Tabel 2). Men peptiderne giver muligvis pga. nedregulering af receptorerne i de tilfælde ikke symptomer. Andre tumorer er »nonfunktionelle«, fordi de producerer inaktive prohormoner [13, 15].

## KONKLUDERENDE DISKUSSION

For fyrré år siden lærte man som læge, at man skulle



TABEL 2

Neurohormonale peptider i neuroendokrine tumorer.

Peptidsystem	Tumor/tumorsyndrom	Hyppest lokaliserings af primærtumor
Adrenokortikotrop hormon	Cushings syndrom	Hypofyse, lunge, pancreas
Calcitonin	Nonfunktionel tumor	Pancreas
Gastrin	Gastrinom/Zollinger-Ellisons syndrom	Pancreas, duodenum
Ghrelin	Nonfunktionel tumor	Pancreas
Glukagon	Glukagonomsyndrom	Pancreas
GRF	GRFom/akromegali	Lunge, pancreas, jejunum
Insulin	Insulinom	Pancreas
Neurotensin	Nonfunktionel tumor	Pancreas
Pankreatisk polypeptid	Nonfunktionel tumor	Pancreas
Parathyroidea-hormonrelateret peptid	Hyperkalcæmi	Pancreas
Somatostatin	Somatostatino-mer	Pancreas, duodenum, jejunum
Vasoaktivt intestinalt polypeptid	Vipom/Werner-Morrisons syndrom	Pancreas, perifere nervesystem

Forkortelser: se boks.

forvente højst at se en eller to patienter med neuroendokrine tumorsyndromer. Tumorernes blev dengang opfattet som ekstremt sjældne. Den opfattelse ændredes i 1970'erne og 1980'erne med følsomme analysemetoder til diagnosticering af gastrointestinale og pankreatiske hormoner. Samtidig blev nye tumorsyndromer opdaget (vipomer, glukagonomer, somatostatino-mer mv.). I 1980'erne og 1990'erne indførtes graniner som markører også for tumorer uden kendt hormonprodukt og specifik symptomatologi [9, 12]. Det seneste årti har bevidnet molekylærgenetisk udredning af neuroendokrine tumorsyndromer. Samtidig er cellebiologien nu på sporet af de molekylære mekanismer bag tumorernes udvikling, hvilket alt i alt er en revolutionerende udvikling.

Den store gevinst er, at næsten alle neuroendokrine tumorer i dag kan diagnosticeres og dermed behandles så tidligt, at svær sygdom i vidt omfang forebygges, og letaliteten reduceres. Behandling og forebyggelse kræver imidlertid viden om tumorernes brogede natur og erfaring med de enkelte analyser. Der er triste eksempler på svigtende diagnostik pga. utilstrækkelig indsigt i tumorbiologi og analyseteknik [15]. Tumorernes relative sjældenhed og den krævede erfaring med rationel teknologi er derfor argumenter for en centralisering af diagnostikken.

**KORRESPONDANCE:** Jens. F. Rehfeld, Klinisk Biokemisk Afdeling (KB3014), Rigshospitalet, 2100 København Ø.

E-mail: jens.f.rehfeld@rh.regionh.dk

**ANTAGET:** 22. november 2009

**FØRST PÅ NETTET:** 5. juli 2010

**INTERESSEKONFLIKTER:** Ingen

## LITTERATUR

- Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P et al. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science* 1997;276:404-7.
- Jäger AC, Friis-Hansen L, Hansen TVO et al. Characteristics of the Danish families with multiple endocrine neoplasia type 1. *Mol Cell Endocrinol* 2006;249:123-32.
- Pellegata NS, Quintanilla-Martinez L, Siggelkow H et al. Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:15558-63.
- Lott ST, Chandler DS, Curley SA et al. High frequency loss of heterozygosity in von Hippel-Lindau (VHL)-associated and sporadic pancreatic islet cell tumors: evidence for a stepwise mechanism for malignant conversion in VHL tumorigenesis. *Cancer Res* 2002;62:1952-5.
- Garbrecht N, Anlauf M, Schmitt A et al. Somatostatin-producing neuroendocrine tumors of the duodenum and pancreas: incidence, types, biological behavior, association with inherited syndromes, and functional activity. *Endocr Relat Cancer* 2008;15:229-41.
- Eledrisi MS, Stuart CA, Alshanti M. Insulinoma in a patient with tuberous sclerosis: Is there an association? *Endocr Pract* 2002;8:109-12.
- Anlauf M, Garbrecht N, Baurfeld J et al. Hereditary neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Virchows Arch* 2007;451(suppl.1):S29-38.
- Helle KB. The granin family of uniquely acidic proteins of the diffuse neuroendocrine system: comparative and functional aspects. *Biol Rev* 2004;79:769-94.
- Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. *N Engl J Med* 2003;348:1134-49.
- Metz DC, Jensen RT. Gastrointestinal neuroendocrine tumors: pancreatic endocrine tumors. *Gastroenterology* 2008;135:1469-92.
- Børjglum T, Rehfeld JF, Drivsholm LB et al. Processing-independent quantitation of chromogranin A in plasma from patients with neuroendocrine tumors and small-cell lung carcinomas. *Clin Chem* 2007;53:438-46.
- Jensen TB, Hilsted L, Rehfeld JF. Library of sequence-specific radioimmunoassays for human chromogranin A. *Clin Chem* 1999;45:549-60.
- Rehfeld JF. Processing of precursors of gastroenteropancreatic hormones: diagnostic significance. *J Mol Med* 1998;76:338-45.
- Rehfeld JF, Goetze JP. The posttranslational phase of gene expression: New possibilities in molecular diagnosis. *Curr Mol Med* 2003;3:25-38.
- Rehfeld JF. The art of measuring gastrin in plasma: A dwindling diagnostic discipline? *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68:353-61.

## Kolorektal cancerudvikling ved colitis ulcerosa

Jane Kallesøe<sup>1</sup>, Ebbe Langholz<sup>2</sup>, Morten Frisch<sup>3</sup>, Jacob Tveiten Bjerrum<sup>1</sup> & Ole Haagen Nielsen<sup>1</sup>

### STATUSARTIKEL

1) Herlev Hospital, Medicinsk Sektion, Gastroenheden,  
2) Gentofte Hospital, Medicinsk Afdeling F, og  
3) Statens Serum Institut, Afdeling for Epidemiologisk Forskning

I udlandet anbefales det til patienter, som har haft colitis ulcerosa (UC) i mere end 8-10 år, at blive koloskoperet årligt eller mindst hvert tredje år [1, 2]. Dette skyldes, at UC i udenlandske studier er blevet associeret med en øget risiko for udvikling af kolorektalcancer (KRC) (**Figur 1**). Spørgsmålet er imidlertid, om der foreligger evidens for, at man i Danmark bør koloskopere UC-patienter i henhold til de udenlandske retningslinjer.

### COLITIS ULCEROSA

UC er en kronisk betændelsestilstand i kolonslimhindens mukosa og submukosa. Ætiologien er stadig ukendt. Udbredelsen i tarmen er varierende fra blot at være lokaliseret til rektum (*hæmorrhagisk proctitis*) til at inddrage hele kolon (*pancolitis*). Sygdommen debuterer i form af diarreer tilblandet blod eller blodigt slim. Hos en stor del (10-25%) af patienterne ses tillige ekstraintestinale manifestationer, eksempelvis arthritis, iridocyclitis, erythema nodosum, anæmi og primær skleroserende kolangitis. Sygdommen er kronisk og præget af skiftevis aktive og inaktive perioder [3].

Incidensen af UC er stigende i Danmark – i dag ca. 13 pr. 100.000 indbyggere/år hos begge køn [4]. Hyppigst debuterer UC i aldersgruppen 15-30 år, men den kan opstå i alle aldre.

I Danmark benyttes en relativt aggressiv behandlingsmodel med daglig administration af 5-aminosalicylsyre (5-ASA)-præparater til alle UC-patienter, også dem i remission [5]. Præparatet hæmmer prostaglandin- og leukotriensyntesen i tyktarmens la-

mina mucosae, men besidder tillige en række andre antiinflammatoriske egenskaber [5]. Eftersom der er en sammenhæng mellem inflammationsgraden og KRC-risikoen hos UC-patienter, reducerer 5-ASA-præparater muligvis denne risiko [6-8].

### KOLOREKTALCANCER

Ca. 98% af alle maligne tumorer i kolon er adenocarcinomer, og langt de fleste opstår sporadisk. I Danmark er livstidsincidensen for KRC omkring 5% med ca. 60 nye tilfælde pr. 100.000 personår [9]. Behandlingsmulighederne er imidlertid gode med nyere kombinerede kirurgiske og onkologiske terapiformer [10].

### COLITIS ULCEROSA SOM DISPONERENDE FAKTOR FOR KOLOREKTAL CANCER

UC er forbundet med en øget risiko for KRC i stort set alle udenlandske opgørelser. WHO har udarbejdet generelle retningslinjer for overvågning af UC-patienter [11]. Efterfølgende er der i USA udarbejdet standardiserede kliniske retningslinjer for behandling og overvågning af UC-patienter med henblik på tidlig KRC-detektion: Efter 8-10 år med UC skal patienten koloskoperes første gang. Ved et negativt fund bør patienten atter koloskoperes 1-2 år senere. Ved endnu et negativt fund bør patienten blive koloskoperet med 1-3 års intervaller indtil 20 år efter diagnosen, hvorefter koloskopiundersøgelserne igen skal foretages med kun 1-2 års mellemrum. Ved hver undersøgelse bør der udtages minimum 30 biopsier [2]. Også *European Crohn's and Colitis Organisation* har