

<b>Svensk Förening för Patologi – Svensk Förening för Cytologi</b>			
<b>Dokumentnamn:</b> CUP – cancer utan känd primärtumör			
<b>Framtagen av:</b> CUP KVA	<b>Utgåva:</b> 1.0	<b>Fastställt:</b> 2020-06-26	<b>Sidor:</b> 14

## **Inledning**

Cancer utan känd primärtumör, CUP, definieras som en metastatisk cancer där primärtumören inte går att fastställa trots adekvat utredning. CUP är förhållandevis vanligt och utgör 3-5 % av all cancer och omfattar cirka 1300 nya fall per år i Sverige. Medianåldern vid diagnos är 60-70 år och rökare är överrepresenterade. Prognosen är ofta dålig med en genomsnittsoverlevnad på ca 4-5 månader efter diagnos. Det finns definierade undergrupper med god prognos, och vissa patienter kan till och med botas. Dessa grupper och individer ska identifieras och behandlas.

Utredningen vid misstänkt CUP ska ske på ett strukturerat sätt, där den basala utredningen bör omfatta en grundlig anamnes och status, radiologisk utredning med DT thorax-buk samt ett adekvat vävnadsprov. Den fortsatta utredningsstrategin styrs av histopatologisk klassifikation, tumörens spridningssätt och symtom. Utredningen kräver ofta ett multidisciplinärt omhändertagande med kompetens från flera olika specialiteter. CUP kan leda till ett långdraget och påfrestande sökande efter möjlig primärtumör. Det är av stor vikt att de undersökningarna som kan och bör göras hela tiden ställs i relation till möjlig nytta för patienten.

KVA dokumentet är relaterat till Nationella vårdprogrammet som också innehåller standardiserat vårdförlopp (1). Vissa delar av texten är identiska i dessa dokument.

En relativt ny uppfattning om CUPs patogenes är att spridning av cancer stamceller kan förekomma till flera organ innan formering av en primärtumör. Enligt denna teori finns det fall av CUP, där det inte existerar någon primärtumör alls. Molekylär testning av tumörvävnad i en sådan situation och målstyrd behandling representerar ett rationellt alternativ till sökandet efter möjlig primärtumör i dessa fall (2).

## **I. Anvisningar för provtagarens hantering av provet**

Representativ histopatologisk biopsi eller cytologiskt prov av god kvalitet krävs för fullständig analys. För histologisk diagnostik är mellannålsbiopsier, helst flera, minst 14 G, alternativt excisionsbiopsi, önskvärt, med viabel tumörvävnad från tumörens periferi. Provet ska omedelbart fixeras i 10% buffrad formalin. Biopsier från olika lokaliteter skickas in i separata provtagningskärl. För cytologisk diagnostik är finnålsaspirat, inskickat i lämpligt fixativ för cellblockteknik, att föredra eftersom snitt från cellblock kan användas för specialanalys. Cytologiska utstryk kan användas vid lägsta kliniska ambitionsnivå (bekräftande av malignitet utan önskad tumörtyponing) eller som preliminär (i vissa omständigheter ”on-site”) bedömning av provets representativitet och karaktär, men även vidare diagnostik när andra provtagningsmetoder är svårt att genomföra. Cytologisk material är mycket lämpligt för molekulära analyser som kan ge tidigt i processen behandlingsstyrande information.

## II. Anamnestisk remissinformation

Goda remissuppgifter är väsentliga för patologens arbete.

- sjukhistoria
- eventuella riskfaktorer (t.ex. hereditet)
- aktuella symtom
- tumörens lokalisation och distribution
- relevanta labdata (tumörmarkörer)
- radiologiska fynd
- kliniskt misstänkta ursprungslokaler
- specifika kliniska frågeställningar och angivande av ambitionsnivå
  - enbart bekräftande diagnos av malignitet
  - immunhistokemisk primärtumörsökning
  - önskemål om extensiv molekylär primaritetsanalys och prediktiv testning
- remissen skall märkas som CUP fall.

## III. Utskärningsanvisningar

Det insända materialet vid CUP-frågeställning är oftast nålbiopsi. Mera sällan skickas resektat eller hela organ (till exempel lymfkörtel) in till laboratoriet. I sådana fall ska utskärningen följa anvisningar i motsvarande KVASt dokument.

## IV. Analyser

Primärtumörens lokalisation förblir okänd i 20–50 % av fallen, trots den extensiva kliniska och radiologiska utredning som CUP- patienterna oftast blir föremål för. Om primärtumören kan identifieras och patienten erbjudas en sedvanlig organbaserad antitumoral behandling får patienten bättre terapirespons och förlängd överlevnad. Traditionell histopatologisk analys tillsammans med modern immunhistokemi kan klargöra histogenes och primaritet i minst 70 % av fallen, och tekniken förbättras ständigt genom framtagandet av nya högspecifika antikroppar för bestämning av ursprungsvävnad. Ett kvarstående problem är lågt differentierade tumörer, heterogenicitet och tumörer med avvikande fenotyp. Med modern molekylärpatologisk analys kan man ytterligare öka andelen fall där primärtumören kan bestämmas. Vidare kan immunhistokemi, men särskilt molekylärpatologi, identifiera prognostiska och prediktiva faktorer i en stor andel av fallen. I de fall där primärtumörens lokalisation inte har kunnat fastställas och patienten avlider bör klinisk obduktion eftersträvas, även om man inte ens då alltid kan fastställa primärtumörens utgångspunkt med hundraprocentig säkerhet.

## V. Information i remissens svarsdelen

Svaret innehåller alltid provtyp och provets representativitet för biopserade organ och tumörvävnad, utförda analyser och dess resultat, tolkning av dessa resultat och differentialdiagnostiskt övervägande av mest sannolik primärlokalisering.

## **VI. Klassificering av tumören**

Se bilaga 1 och 2.

## **VII. Rekommendationer för utformning av svarstext**

Patologens utlåtande ska beskriva morfologiska och immunhistokemiska fynd och deras tolkning gällande sannolika primärtumörlokaliseringer. Sammanvägning av kliniska, radiologiska, morfologiska, immunhistokemiska och molekylärgenetiska fynd väntas ge det bästa resultatet. Specifika kliniska frågeställningar och angiven klinisk ambitionsnivå påverkar utformning av svarstext. Om enbart bekräftande diagnos av malignitet önskas, kan en kort beskrivning av den histologiska bilden vara tillräcklig, följd av ett klart formulerat PAD. Önskar kliniker en mer specifik immunhistokemisk primärtumörsökning bör beskrivningen vara detaljerad och innehålla tolkning av utförda immunhistokemiska analysresultat samt mest sannolika alternativ av primärlokalisering. Extensiv molekylär primaritetsanalys beställs ofta vid oligometastatisk CUP hos yngre patienter. Utformning av svarstext i sådana fall kräver ofta tillgång till molekylärpatologisk kompetens.

Svarstexten innehåller även resultat av prediktiv testning om den är utförd. Tumörvävnad testad för uttryck av östrogenreceptorer, HER2, KRAS, BRAF, EGFR osv. ska följa rekommendationer från motsvarande KVAST dokument.

## **VIII. Administrativt**

### **SNOMED-koder**

M80006 – metastas utan specifik morfologi

M81406 – metastatiskt adenocarcinom

M80706 – metastatisk skivepitelcancer

M82406 – metastatisk endokrin tumör

M81206 – metastatisk urotelcellscancer

? – metastatisk germinalcellstumör

## **Referenser**

1. Nationellt vårdprogram och standardiserad

[vårdförlopp](http://www.cancercentrum.se/samverkan/cancerdiagnoser/okand-primartumor/)<http://www.cancercentrum.se/samverkan/cancerdiagnoser/okand-primartumor/>

2. Kolling S et al. "Metastatic cancer of unknown primary or primary metastatic cancer"?  
Front Oncol 2020, 9:1546.

## IX. Övrigt

### Bilaga 1.

#### Histopatologisk / cytopatologisk diagnostik av CUP

##### Allmänt

Histologisk och immunhistologisk undersökning av mellannåls- och/eller grovnnålsbiopsier, endoskopiska eller kirurgiska biopsier har fördelar gentemot cytologisk undersökning av finnålsaspirat, men moderna cytologiska metoder (cellblock och immuncytologi) kan också ge goda resultat. Risken för tumörspridning är liten vid finnålsbiopsi men ökar vid större nåldiameter, flera stick och visceral tumör nära bukhinnan. Vid provtagningen eftersträvas atraumatisk teknik och koagulationsaspekter beaktas. Patologlaboratorierna ska använda kvalitetssäkrade metoder, knutna till automatisering och deltagande i extern kvalitetssäkring. Användning av immunmarkörer bör begränsas till ett antal väl beprövade sådana med känd sensitivitet och specificitet. Med ökat antal använda markörer minskar sannolikheten att de kombinerade resultaten ger diagnos. I dagens läge ger ingen markör och ingen kombination av markörer helt säkra resultat, men vissa markörer är mer specifika och bör vägleda i utredning och behandling. Tolkning av immunresultat och deras betydelse för sannolikheten av primärlokaliseringen kräver speciell kompetens. Många studier i ämnet är svåra att jämföra med varandra. Vid bedömningen vägs in epidemiologi, ålder och kön, sjukhistoria och riskfaktorer, kliniska och radiologiska fynd, vanligaste ursprung av metastaser i biopserade organ samt den fenotyp som kan förväntas i organets egna tumörer, specificitet och sensitivitet för använda markörer, intensitet och cellulär lokalisering av infärgningen, andelen färgade tumörceller. Tolkningen av immunhistokemin kan variera mellan olika markörer. Dock anses stark positivitet i > 50 % av tumörcellerna regelbundet vara positivt utfall, och 10 % är vanligast som nedre gränsvärde för positivitet. Morfologisk och immunmorfologisk primärtumörsökning bör grundas på ett systematiskt närmande, exempelvis enligt följande algoritm modifierad efter Oien (4) och reviderad efter Liu och Lin (5):

##### **1. Påvisa malignitet i biopsin - hög diagnostisk säkerhet:**

Bevisa att biopsin är representativ, innehåller nog viabel tumörvävnad för specialfärgningar och att tumören är malign. Morfologi räcker oftast.

##### **2. Klassa tumören som melanom, lymfom, sarkom eller carcinom - hög diagnostisk säkerhet.**

Morfologi kan användas för att upptäcka t.ex. keratinisering eller körtelformationer eller melanin i tumörceller, som avslöjar tumörens klasstillhörighet. Flera tumörmarkörer kan stödja och bekräfta bedömningen. Markörer med brett spektrum skall användas, se nedan. Lymfom, sarkom och melanom utreds och behandlas enligt motsvarande vårdprogram, och det finns i dag inga morfologiska metoder för att säkert spåra dessa tumörformers primärlokalisering.

**Melanommarkörer:** Sox-10 nukleär positivitet identifierar de flesta metastatiska maligna melanom med nära 100% sensitivitet och specificitet, men förekommer också i hudadnextumörer. S-100 har 97 % sensitivitet för melanom och 75-87 % specificitet (färgar också nervtumörer, fettceller, bröst och spottkörteltumörer, Langerhans-cells histiocytos, med flera). Melan-A har 75-92 % sensitivitet, 95 % specificitet för melanom (färgar också bl.a. vissa sarkom, granulosacellstumörer och binjurecancer). HMB45 har 75-90 % sensitivitet, 95 % specificitet för melanom, reagerar inte med lymfom och carcinom. Tyrosinas är ny markör med hög specificitet, 97-100 %. Mart-1 (melanom associerad antigen som känns igen av T celler) är en nyare markör med hög specificitet. Kombination av dessa markörer verifierar de allra flesta melanom, men sarcomatoida melanom kan vara negativa. Ytterst sällan uttrycker melanom cytokeratin och även endokrina markörer. Markörer för melanom uttrycks också av vissa icke melanocyttära tumörer.

**Lymfoida markörer:** LCA är en lymfoid markör med brett spektrum och hög sensitivitet och specificitet (särskilt om den kombineras med B- och T-cells markörer, som CD20 och CD3), som reagerar med de flesta låg- och höggradiga non-Hodgkin's lymfom men inte med carcinom, sarkom och melanom. Anaplastiskt storcelligt lymfom är dock negativt för LCA (färgas med ALK1 och CD30) liksom granulocytiskt sarkom (positivt för CD15, CD43, CD68, myeloperoxidas). Hodgkins lymfom har ofta typisk morfologi och immunprofil.

**Sarkom:** Sarkomens primärtumörer blir oftast uppenbara innan de spritt sig, och metastaser av sarkom i ett CUP-scenariot är ytterst sällsynta. Vanligare är en sarkomliknande metastas sarkomatoitt carcinom eller melanom. Metastatiskt sarkom är sällan positivt för pan-cytokeratin, i så fall fokalt och enbart i sin epiteloïda komponent. Epiteloïtt sarkom är cytokeratin-positiv, kan dock diagnosticeras pga INI-1 negativitet. Rhabdomyosarkom är ofta cytokeratin-positiv, uttrycker dock muskelmarkörer (till exempel desmin). Gastrointestinal stromal tumör (GIST) uttrycker cKIT (CD117) och DOG1, men cKIT kan uttryckas av flera sarkom, carcinom, germinalcellstumörer, Merkel cell cancer, thymomas och en del andra tumörer. Metastatiskt GIST är oftast DOG1-positiv. Notera att GIST sällan metastaserar utanför bukhåla/lever, men andra lokaler finns beskrivna. Leiomyosarkom kan också visa uttryck av cytokeratin. S-100 är positiv i vissa sarkom. Vimentin, som ofta används som mesenchymal markör, uttrycks av de flesta melanom och ofta även av carcinom. En tumör som är negativ för LCA, pan-cytokeratin och melanommarkörer men är positiv för vimentin är dock med stor sannolikhet ett sarkom.

**Epiteliala markörer:** Flertalet CUP är epiteliala tumörer, carcinom. Bredspektrum cytokeratinblandningar, så kallade pan-cytokeratinmarkörer, (en cocktail av både typ I, acidic, low molecular weight och typ II, basiska, high molecular weight cytokeratiner), till exempel AE1/3 eller MNF116, reagerar diffust och starkt med de allra flesta carcinom i nära 100 % av fallen.

### **3. Om tumören är malign och epitelial (carcinom), ska tumören klassas som germinalcellstumör, skivepitelcancer, urotelial cancer, neuroendokrin tumör, körtelbildande/inte körtelbildande adenocarcinom - måttlig till hög diagnostisk träffsäkerhet.**

De flesta metastatiska germinalcellstumörer hittas hos män med ursprungstumör i testis. Cirka 40 % av primära testistumörer är seminom, 20 % är embryonal cancer, resten är ofta blandtumörer. Tumörerna är ofta möjliga att bota, vilket gör deras diagnostisering av största vikt. Följer man algoritmen och tar med germinalcellstumörer i den, är differentialdiagnosen relativt lätt. Skivepitelcancer utgör 5-10 % av CUP och drabbar oftast regionala lymfkörtlar. Högt differentierade varianter känns oftast igen vid rutinhistologi. Lågt differentierade, spolcelliga och basaloida skivepitelcancer är svårare att diagnostisera. Neuroendokrina tumörer utgör cirka 5 % av CUP och har olika differentieringsgrad. Solida adenocarcinom liknar neuroendokrina tumörer men saknar diffus positivitet för deras markörer och ofta för vanliga adenocarcinommarkörer. Primära sådana tumörer i lever och binjure kan vara svåra att histologiskt skilja från metastaser.

**Germinalcellstumörer:** Markören OCT4 påvisas i seminom och embryonalt carcinom med nära 100 % sensitivitet och specificitet. SALL4 och LIN28 är utmärkta nyare bredspektrum markörer för germinalcellstumörer. Icke seminomatösa tumörer är positiva för pancytokeratin. Alla germinalcellstumörer med undantag av vissa yolk sac-tumörer är positiva för PLAP. Yolk sac-tumörer är istället positiva för AFP, tumörernas koriocarcinomatösa komponent med HCG. CD30 överuttrycks i embryonal cancer, men också i vissa lymfom.

**Skivepitelcancer:** Cytokeratin, p40 och p63 är inga högspecifika skivepitelmarkörer trots att de uttrycks i 80-90 % av skivepitelcancer. CK5/6 uttrycks också ofta i mesoteliom (90%). Metaplastisk och basal-like bröstcancer uttrycker CK5/6, CK14 och p63 vilka kan också uttryckas i 20 – 60% av spottkörteltumörer, urotelcellscancer, cancer med origo i ovarium och pankreas. Lungadenocarcinom kan uttrycka p63, men sällan CK5/6. p63 och p40 identifierar skivepitelcancer i lunga med hög sensitivitet, dock är p40 betydligt mer specifik i detta avseende (66% respektive 100%). Skivepitelcancer är oftast negativa för adenocarcinommarkörer. Det finns inga pålitliga markörer för att primärlokalisera skivepitelcancer. Möjlighet av primär cervixcancer finns dock om HPV infektion eller p16-uttryck kan påvisas i tumörcellerna. Likaså, metastas av orofaryngeal skivepitelcancer uttrycker ofta p16 och är HPV-positiv och påvisande av Epstein-Barr virus, EBV, kan också bidra till primärtumörsökning vid skivepitelcancer i huvud-hals regionen.

Metastas av skivepitelcancer med origo i thymus är CK5- och p40/p63-positiv, liksom metastas av skivepitelcancer oavsett ursprung. Uttryck av CD5, PAX8 och CD117 i tumören talar dock för metastas av just thymuscancer. Andra primära thymusmaligniteter, såsom NEC och LCNEC, visar samma immunprofil som vid annan origo.

**Urotelcellscancer** är vanligen CK7+ / CK20+ och uttrycker GATA3 i mer än 80% av fallen. Uroplakin II uttrycks av de flesta urotelcellscancer (och är mer sensitiv och mer specifik än uroplakin III).

**Neuroendokrina tumörer:** Chromogranin A och synaptophysin är högspecifika markörer, särskilt i kombination, men är mindre sensitiva eftersom de saknas i en del lågt differentierade neuroendokrina tumörer. CD56 och PGP9.5 är bredspektrummarkörer för neuroendokrin

fenotyp. Carcinom kan uttrycka fokal positivitet för dessa markörer, men sannolikheten att tumören verkligen är neuroendokrin ökar med ökad andel färgade celler. Endokrina tumörer kan vidare karakteriseras genom specifika produkter såsom insulin, glukagon med flera hormon-, eller andra specifika uttryck, som CK20 i Merkelcellstumör. Primärlokalisering i lunga kan spåras med hjälp av TTF1 som finns i 43 % av högt differentierade neuroendokrina tumörer och i 90 % av småcelliga lungcancer, men även i 50 % av småcelliga cancer av annat ursprung. CDX2 uttrycks i mer än hälften av neuroendokrina tumörer i tunntarm, appendix och kolon, SATB2 i mer än 75% av sådana tumörer med ursprung i colon och rektum, något färre i appendix, och mycket sällsynt i ventrikel, pankreas eller tunntarm. CDH17 (cadherin 17) är en nyare markör som uttrycks av tumörer i hela gastrointestinala kanalen. Cytokeratin 7 är typiskt negativ i de flesta colo-rectala tumörer. Cirka 60% av endokrina pankreastumörer uttrycker progesteronreceptorer, mer än 75% uttrycker PDX1.

**4. Adenocarcinom - varierande diagnostisk träffsäkerhet.** De flesta CUP är lumenbildande adenocarcinom och uttrycker "glandulära" cytokeratiner CK 8, 18, 19 och 7, till skillnad från skivepitelcancer. Vissa adenocarcinom har typisk morfologi i rutinfärgning så att erfarna patologer kan föreslå primaritets utan stöd av immunmarkörer. Immunfenotypning ökar träffsäkerheten och bör börja med kombination av CK20 och CK7 kompletterat med "organspecifika" markörer (Tabell 1).

#### **CK7-/20- adenocarcinom**

**Hepatocellulär cancer (HCC)** kan innehålla gallpigment, cytoplasmiska fettvakuoler eller Mallory hyalin; ARG1 är den mest specifika och sensitiva (>90%) markören för att identifiera både högt och lågt differentierad HCC. Glypican-3 är en nästan lika bra markör i detta avseende som dessutom inte uttrycks i benigna levertumörer och reaktiva leverförändringar. HepPar-1 (hepatocytantigen) identifierar HCC med 55-95 % sensitivitet och måttlig specificitet men kan även hittas i ventrikelcancer med flera tumörer. AFP (alfa-fetoprotein) färgar bara 20-32 % av HCC. Den typiska kanalikulära positiviteten i HCC för polyklonal CEA (70-80 % av fallen), CD10 (40-60 %) och CD13 (96 %) är nära hundra procentig specifik. TTF-1 (klon 8G7G3/1) visar cytoplasmiskt positivitet i HCC.

**Njurcancer (RCC).** Mer än 90 % av klarcelliga njurcancer är CK7- /20 -, men uttrycker bredspektrum - cytokeratiner och vimentin. PAX8, RCC markör och CD10 identifierar klarcellig njurcancer men med varierande specificitet, framför allt i lågt differentierade tumörer. För övriga typer av njurcancer, se relaterat KVAST dokument.

**Binjurebarkcancer** är också CK20-/CK7- och färgas av inhibin (70-100 %), Melan-A (50-100 %), Calretinin (90 %) och Mart-1 med hög specificitet. Av praktisk betydelse är att dessa markörer vanligen inte uttrycks av tumörer i näraliggande organ (lever och njure). Inhibin färgar dock också ovariella stromatumörer, Melan-A också melanom och angiomyolipom, och Calretinin också mesoteliom.

**Prostatacancer** är i de allra flesta fall CK7-/CK20-. Primär prostatacancer uttrycker PSA i 95-100% av fallen, och PSA är högspecifikt (upp till 99 %) men i sällsynta fall uttrycks även av bröst-, spottkörtel- och hudadnextumörer. Lågt differentierad prostatacancer kan förlora sin PSA-positivitet. I dessa fall kan NK3 homeobox-1, PAP eller p501s användas.

Den sällsynta **medullära varianten av koloncancer** är också CK7-/20- men kan identifieras med SATB2 och CDH17.

## **CK7+/20- adenocarcinom**

Lungadenocarcinom är oftast CK7+/CK20-. TTF-1 är en sensitiv och specifik markör som uttrycks i 70-90 % av icke-mucinöst lungadenocarcinom, 90 % av småcelliga cancer och i 40-50 % av storcelliga lungcancer, men sällan (i mindre än 10%) av skivepitelcancer. TTF-1 uttrycks i mer än 80 % av thyreoideatumörer, och förekommer fokalt i ett fåtal extrapulmonella adenocarcinom; fokal infärgning i gallgångscancer, endometrie-cancer, ovarialcancer, ventrikel-, kolon-, bröst-, cervix-, pancreas-, urotel- och hepatocellulär cancer har rapporterats. TTF-1 uttrycks i 30-50% av adenoidcystisk spottkörtelcancer. Napsin A är en markör som uttrycks i adenocarcinom i lunga med relativt hög sensitivitet och specificitet. Den är negativ i mesoteliom och brösttumörer, men färgar en tredjedel av RCC och gastrointestinala tumörer och klarcelliga gynekologiska carcinom, ffa ovariala carcinom. Lepidiskt adenocarcinom är ofta CK7+/CK20+ och TTF-1+. Vissa mucinösa/colloid adenocarcinom och enterisk-typ lungcancer är ofta CK7+/CK20+, cdx-2+, Napsin A- och TTF-1-. Den så kallade "SMARCA4-deficient cancer" har atypisk immunfenotyp och uttrycker HepPar-1 men inte TTF-1.

**Bröstcancer** är oftast CK7+/CK20-. Cirka 80 % av dem är ER-positiva. Gynekologiska adenocarcinom (ovarium, corpus) är ofta ER-positiva, men uttrycker också Ca125 och WT1. En liten andel adenocarcinom utanför bröst- och gynsfären är också ER-positiva (lunga, kolon, prostata, ventrikel). GCDFP (gross cystic disease fluid protein) uttrycks av 54-75 % av bröstcancer, inte sällan fokalt, med specificitet över 90 %, men påvisas också i en del spottkörteltumörer, hudadnextumörer, prostata- och lungtumörer. Mammoglobin färgar in mindre än hälften av bröstcancerarna och hittas också i ER-negativa tumörer. Spottkörteltumörer och corpuscancer kan dock också uttrycka mammoglobin. GATA3 är nyare markör som initialt har rapporterats färga in >90 av bröstcancer, men senare studier tyder på en något lägre sensitivitet; GATA3 färgar en hög andel uroteliala tumörer, tumörer i parathyroidea, cervix och spottkörtlar och förekommer också sällsynt i andra carcinom. GATA3 uttrycks av de flesta hudtumörer (såväl basaliom som skivepitelcancer och hudadnextumörer).

**Thyreoideacancer:** Follikulär och papillär cancer i thyreoidea uttrycker thyreoglobulin och TTF-1 i över 75 % av fallen. PAX8 är en nyare markör som är sensitiv och relativt specifik för follikulära och papillära thyreoideatumörer (uttrycks nästan av 100 % av dessa tumörer), men uttrycks även av RCC och gyn-tumörer. Papillär cancer uttrycker HBME-1 i de flesta fall. Medullär cancer är neuroendokrin och uttrycker calcitonin, chromogranin A, synaptophysin och ofta TTF-1, men sällan PAX8. Anaplastiska thyreoideacancer uttrycker mer sällan thyreoglobulin och TTF-1, men uttrycker PAX8 i cirka 70 % av fallen.

## **Gynekologisk cancer:**

Cervixadenocarcinom kan vanligen identifieras med hjälp av diffus p16-positivitet och HPV virusanalys samt CEA-positivitet, och negativitet för vimentin. En mindre grupp adenocarcinom i cervix är p16-negativ, men då ofta mucinösa och CEA-positiva.



Endometroid corpus- och ovariecancer (inkl. den ”seromucinösa” typen), å andra sidan, är oftast vimentin-positiv, negativ/ospecifikt infärgad för p16 och uttrycker ER och PAX8. Serös endometriecancer ofta är PAX8-positiv, p53 aberrant (helt positiva eller helt negativa), och oftast svagt infärgad eller negativ i ER, PGR och WT1.

Serösa tubo-ovariella adenocarcinom är vanligen CK7+/CK20- och uttrycker ofta ER och Ca125. Ca125 uttrycks också i endocervikala adenocarcinom (62 %), adenocarcinom med ursprung i pankreas och gallvägar (60 %) och lungadenocarcinom (25-40 %). PAX8 uttrycks i mer än 75 % gyn-tumörer, av Müllerskt ursprung, huvudsakligen från övre gyntrakten. Tubo-ovariella serösa tumörer uttrycker också WT1, en specifik markör som också påvisas i leukemier, melanom och mesoteliom, men mindre ofta i endometriet och inte/ytterst sällan i pankreas/gallgångstumörer, gastrointestinala eller brösttumörer. Klarcellig ovarial cancer uttrycker PAX8, pVHL, HNF1B, p501s och Napsin A och är negativa för ER och PGR. För mucinösa ovariala tumörer se nedan.

### **CK7-/20+ tumörer**

**Kolo-rektalcancer** är CK7-/CK20+ i cirka 90 % av fallen. SATB2 (special AT-rich sequencebinding protein 2) är mycket specifik och sensitiv markör för kolo-rektala tumörer, i kombination med CK20 identifieras >95% av dessa tumörer. En lika bra markör för kolo-rektala tumörer är cadherin 17 (CDH17) som uttrycks i tumörer från hela gastrointestinalkanalen, medan SATB2 är mer kolon-specifik. Kolo-rektal cancer har stark diffus positivitet för CDX2 i mer än 90 %. Lika stark diffus CDX2-infärgning ses i 64 % av mucinösa ovariala tumörer, i 20-30 % av gastro-esofageala adenocarcinom och i sällsynta adenocarcinom i urinblåsa. Ytterst sällan finns CDX2-positivitet i icke-gastrointestinala tumörer, men uttrycks av intestinalt differentierade tumörer med origo i främst lunga och ovarium.

Utöver tumörer i gastrointestinala kanalen hör **adenocarcinom i urinblåsa, Merkelcells-carcinom och småcellig spottkörtelcancer** också till CK7-/20+ gruppen.

### **CK7+/20+ tumörer**

**Mucinösa ovariala adenocarcinom** är oftast CK7+/CK20(+) och uttrycker CDX2 i 64 %, Ca125 i 20 %, mesothelin i 30 %. Invasiva mucinösa ovariala adenocarcinom är sällan ER positiva.

**Adenocarcinom i pankreas, gallblåsa och gallvägar** inklusive primära kolangiocarcinom i lever har nästan identisk immunfenotyp. De är oftast CK20+/CK7+ och är regelbundet CEA-positiva. Uttrycker de CDX2 är infärgningen vanligen fokal och svag till skillnad från den vid kolo-rektala tumörer. Duktalt adenocarcinom i pankreas kan numera identifieras mera specifikt med markörerna Maspin och placental S100 (S100P). Dessa tumörer är vanligen negativa för von Hippel-Lindau tumör supressor (pVHL) medan intrahepatiska kolangiocarcinom är pVHL-positiva. Detta är ett lovande sätt att särskilja primär kolangiocellulär levercancer och metastaser från pankreascancer. Primär kolangiocellulär levercancer är negativ för SATB2. Urotelcellscancer, cancer med ursprung i övre

gastrointestinala kanalen och tunntarm och enstaka (mucinösa) lungadenocarcinom hör också till CK7+/20+ gruppen.

Adenocarcinoma med identisk primaritet kan tillhöra olika CK20/CK7 kategorier, vilket ytterligare försvårar primärtumörsökningen med immunhistokemi. Ventrikelcancer är ett typiskt exempel som visar en relativt jämn fördelning av fallen mellan alla fyra kategorier. I övrigt liknar ventrikelcancer med sin immunfenotyp andra primärtumörer i övre gastrointestinala trakten genom att uttrycka CEA och CDH17, ofta CDX2, MUC1 och att vara SATB2-negativ.

## **5. Specialfall - varierande diagnostisk träffsäkerhet.**

Morfologiska egenskaper hos tumörer kan möjliggöra användning av mer riktade immunhistokemiska algoritmer. Ett exempel är signetringscellscancrar, som har sitt ursprung i bröst, ventrikel och kolon-rektum, och sällan i andra organ. ER-positivitet och CK20-negativitet talar för ursprung i bröst, ER-/CK20+ fenotyp för gastrointestinalt ursprung. Vid metastaser i pleura, peritoneum och perikard skall möjligheten av mesoteliom alltid beaktas. Lämpliga mesotelmarkörer är calretinin, CK5/6, mesothelin, WT1 och D2-40 och lämpliga epiteliala markörer, som vid mesoteliom utfaller negativt, är EP4, CEA, MOC31 med flera.

## **6. Bestämning av prediktiva markörer - hög diagnostik träffsäkerhet**

Parallellt med primärtumörsökningen bör man immunhistokemiskt bestämma relevanta prediktiva markörer som ER, HER-2 och vid sarkom CD117, liksom proliferationsmarkörer, främst Ki67, för terapibeslut. Vid detta skall laboratorierna följa KVASt-dokumentens rekommendationer.

Mera detaljer finns i referenser [4](#), [5](#), och [10](#). En hel volym av Archives of Pathology & Laboratory Medicine var dedikerad till CUP immunohistokemi 2015 ([9](#)).

## **Referenser till Bilaga 1**

1. Smith EH. Complications of percutaneous abdominal fine-needle biopsy. Review. Radiology, 1991;178:253-8
2. Stigliano R et al. Seeding following percutaneous diagnostic and therapeutic approaches for hepatocellular carcinoma. What is the risk and outcome? Seeding risk for percutaneous approach in HCC. Cancer Treat Rev 2007;33:437-47
3. Tot T. Cytokeratins 20 and 7 as biomarkers: usefulness in discriminating primary from metastatic adenocarcinoma. Eur J Cancer 2002;38:758-63
4. Oien KA. Pathologic evaluation of unknown primary cancer. Semin Oncol 2009;36:8-37
5. Lin F, Liu H: Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm / tumor of uncertain origin. Arch Pathol Lab Med 2014;138:1583-610

6. Magnusson et al. SATB2 in combination with cytokeratin 20 identifies over 95% of all colorectal carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2011;25:937-48
7. Tot T. The role of cytokeratins 20 and 7 and estrogen receptor analysis in separation of metastatic lobular carcinoma of the breast and metastatic signet ring cell carcinoma of the gastrointestinal tract. *APMIS* 2000;08:467-72
8. Ordonez NG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003;27:1031-51
9. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, volume January 2015
10. Conner JR et al. Metastatic Carcinoma of Unknown Primary: Diagnostic Approach Using Immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol* 2015;22:14967
11. Vrotsos E, Alexis J. Can SOX-10 or KBA.62 Replace S100 Protein in Immunohistochemical Evaluation of Sentinel Lymph Nodes for Metastatic Melanoma? *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 2016;24(1):26-29.
12. Mularz K et al. Specificity and sensitivity of INI-1 labelling in epithelioid sarcoma. *Pol J Pathol* 2012;3:179-83
13. Smith SC et al. Uroplakin II outperforms uroplakin III in diagnostically challenging settings. *Histopathology*. 2014;65(1):132-8.
14. Agaimy A et al. SMARCA4-deficient pulmonary adenocarcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular characteristics of a novel aggressive neoplasm with a consistent TTF1neg/CK7pos/HepPar-1pos immunophenotype. *Virchows Arch*. 2017;471(5):599-609.
15. Chen N, et al. Cytokeratin expression in malignant melanoma: potential application of in-situ hybridization analysis of mRNA. *Melanoma Research* 2009;19(2):87-93.
16. Carlander ALF, et al. Continuing rise in oropharyngeal cancer in a high HPV prevalence area: A Danish population-based study from 2011 to 2014. *Eur J Cancer* 2017;70:75-82.
17. Spence T, et al. HPV associated head and neck cancer. *Cancers (Basel)*. 2016 Aug; 8(8):75. doi:10.3390/cancers8080075
18. Cao D, et al. Expression of p16 in benign and malignant cystisk squamous lesions of the neck. *Hum Pathol* 2010;41:535-9.
19. LeeWY, et al. Epstein Barr Virus detection in neck metastases by in-situ hybridization in fine-needle aspiration cytologic studies: an aid for differentiating the primary site. *Head and Neck Journal for the Sciences and Specialities of the Head and Neck* 22 (2000).
20. Dacic S: Pros: the present classification of mucinous adenocarcinomas of the lung. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(2):230–3.

Tabell 1. Urval av användbara antikroppar vid mest vanliga primärtumörlokalisationer vid CUP (Modifierad efter referens 5)

Ursprungsorgan	Föreslagna markörer
Lunga, adenocarcinom	CK20-, CK7+, <b>TTF+</b> , <b>Napsin A+</b> , Gata3-, ER-
Bröst	CK20-, CK7+, TTF-, Napsin A-, <b>GATA3+</b> , <b>ER+</b>
Njure, klarcellig njurcancer	CK20-, CK7-, <b>PAX8+</b> , <b>CD10+</b> , <b>Vimentin+</b>
Prostata	CK20-, CK7-, <b>PSA+</b>
Lever, hepatocellulär cancer	CK20-, CK7-, <b>ARG1+</b> , Hepatocytantigen+, <b>CD10/pCEA+</b> (kanalikulärt)
Lever, cholangiocarcinom	CK20-/+, CK7+, CDH17+/-, CDX2+/-, <b>pVHL+</b> , <b>S100P-</b>
Pankreas ductal cancer	CK20+, CK7+, <b>Maspin+</b> , <b>S100P+</b> , <b>pVHL-</b> , CK17+/-
Pankreas acinar	CK20-/+, CK7+, <b>Glypican 3</b>
Pankreas endokrin	CK20-/+, CK7+, <b>PgR+</b> , PAX8+, CDH17+
Övre GI trakt	C20-/+, CK7-/+, <b>CDH17+</b> , <b>SATB2-</b> , <b>CDX2+/-</b> , CEA+
Nedre GI trakt	<b>CK20+</b> , <b>CK7-</b> , <b>CDH17+</b> , <b>SATB2+</b> , <b>CDX2+</b>
Thyroidea, follikulär och papillär cancer	CK20-, CK7+, <b>TTF1+</b> , <b>PAX8+</b> , <b>Thyreoglobulin+</b>
Salivary duct adenocarcinoma	CK20-, CK7+, <b>GATA3+</b> , <b>AR+</b> , GCDFP-15+
Thyroidea, medullär cancer	CK20-, CK7+, <b>TTF1+</b> , PAX8+/-, Thyreoglobulin +/-, <b>Calcitonin+</b>
Endocervical adenocancer	CK20-, CK7+, ER-, PAX8+/-, <b>p16+</b> , <b>HPV+</b> , <b>Vimentin-</b>
Endometrioid cancer	CK20-, CK7+, ER+, p16-, HPV-, <b>Vimentin+</b> , PAX8+
Ovarium, serös	CK20-, CK7+, ER+, PAX8+, <b>WT1+</b>
Ovarium clear cell	CK20-, CK7+, <b>pVHL+</b>
Ovarium mucinös	<b>CK20+/-</b> , CK7+, <b>Ca125+</b> , CDX2+/- <b>DPC4+</b>
Skivepitelcancer	CK20-, CK7-, p63+, GATA3-
Urotelcellscancer	<b>CK20+/-</b> , <b>CK7+</b> , <b>GATA3+</b> , p63+
Mesothel	CK20-/+, CK7+, <b>Calretinin+</b> , <b>WT1+</b> , D2-40+, CK5/6+

+ = positiv i >75% av fallen

+/- positiv i 50-75% av fallen

-/+ positiv i 25-50% av fallen

- positiv i < 25% av fallen

## BILAGA 2

### Patologisk diagnostik vid CUP / Molekylär diagnostik

Molekylärpatologisk karakterisering vid CUP

Molekylärpatologisk karakterisering vid CUP bör idag övervägas i ett flertal syften.

1. Molekylära diagnostiska markörer för fastställande av tumörtyp
2. Molekylär utredning av ursprungsorgan (Tissue of origin; TOO)
  - a. Expressionsanalys RT-PCR; microarray chips, NGS whole exome sequencing
  - b. miRNA
  - c. Whole genome & exome sequencing visar vävnadsspecifika molekylära mutations signaturer
3. Molekylär prognostisk testning
4. Molekylär prediktiv testning
5. Molekylär uppföljning av terapirespons
  - a. Rebiopsi vid progress, recidiv eller metastas
  - b. Liquid biopsy; CTC (Circulating Tumor Cells)

Vad gäller tillämpningen som tumördiagnostiska markörer kan ett flertal olika molekylärpatologiska tekniker tillämpas, såsom FISH, RT-PCR och Next Generation Sequencing (NGS) regelmässigt inom patologisk diagnostik och prognostik. Detta kan genomföras även i differentieringen mellan benigna och maligna tumörer med t.ex. ploidi-analys. Vissa molekylära analyser är diagnostiska, framför allt i hematologiska maligniteter, sarkom, malignt mesoteliom och även vissa epiteliala tumörer.

Det användningsområde som är direkt användbart i dagsläget är en extensiv molekylär karakterisering av tumörerna med avseende på specifika molekylära förändringar (punktmutationer, insertioner, deletioner, amplifikationer och andra genrearrangemang) med direkt prediktivt värde för modern målriktad behandling. Antalet dylika markörer och tillgängliga behandlingar i klinik och kliniska prövningar ökar snabbt.

### **Tissue of Origin vid CUP som utgångspunkt för terapi**

Traditionellt har patologins roll i sökandet efter primärtumör varit att lämna förslag på sannolik primärlokalisering så att sedan riktad radiologisk eller klinisk undersökning helst med biopsiverifikation kunnat entydigt fastställa tumörens primära utgångspunkt. Då detta inte alltid varit möjligt och då patienten ofta är för sjuk för att tillstånd och tid skall kunna medge ytterligare extensiv utredning har en del retrospektiva studier och någon prospektiv visat på behandlingseffekt med site-specific terapi enbart baserad på immun- och molekylärpatologisk karakterisering. Ju mer information vi kan utläsa från en tumör med kartläggande av DNA-förändringar i hela genomet, RNA expression, epigenetik och proteomik samt para ihop dessa "omics-data" med pathway pattern analys och

systembiologiskt synsätt desto bättre kan vi förvänta oss att den behandlingsstyrande informationen patologen kan bidra med blir. Utvecklingen sker nu mycket fort och patologdelen av detta vårdprogram bör därför genomgå tät revision.