

Forstadier til kreft i bukspyttkjertelen

Sammendrag

Bakgrunn. Adenokarsinom i bukspyttkjertelen er en relativt vanlig kreftsykdom med ekstremt dårlig prognose. Inntil nylig har studier av den naturlige kreftutviklingen i bukspyttkjertelen ikke vært mulig, men identifisering av kreftforstadier, pankreatiske intraepitelliale neoplasier (PanIN), har ført til bedre forståelse av trinnvise morfologiske og genetiske forandringer i utviklingen av invasiv kreft i dette organet.

Materiale og metode. Relevant litteratur fra perioden 1996–2005 ble funnet ved søk i databasen Medline med kombinert bruk av søkeordene «pancreas», «cancer», «PanIN» og «neoplasia». Sentrale oversikts- og originalartikler ble valgt ut og brukt som bakgrunn for en presentasjon av PanIN-modellen.

Fortolkning. Pankreatisk intraepitelliale neoplasie er nå etablert benevnelse på histologiske forstadier i kreftutvikling i bukspyttkjertelen. PanIN-grad I-III representerer trinnvise morfologiske forandringer i bukspyttkjertelens gangepitel, fra utvikling av tidlig neoplasie (PanIN-I og PanIN-II) til carcinoma in situ (PanIN-III), før invasiv kreft utvikles. I denne modellen blir molekylærbiolegiske forandringer, som aktivering av onkogener og inaktivering av tumorsuppressorgener, studert. Økt kunnskap om utvikling av pancreascancer kan åpne for forebygging, tidligere oppdagelse og nye behandlingsmåter og dermed gi håp om bedre prognose for pasientene.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Kjetil Søreide

ksoreide@mac.com
Avdeling for patologi
Stavanger universitetssjukehus
4068 Stavanger

Heike Immervoll Anders Molven

Avdeling for patologi
Haukeland Universitetssjukehus
og
Gades institutt
Universitetet i Bergen
5021 Bergen

Kreft i bukspyttkjertelen er den femte vanligste årsaken til kreftdødsfall i vestlige land. Årlig får rundt 600 nordmenn denne diagnosen, og nær 97% vil dø av sykdommen innen fem år. Kirurgi er eneste mulige kurative behandling, men kun 10–15% av pasientene er operable ved diagnosetidspunktet (1). Kjemoterapi og strålebehandling er tilgjengelig fortrinnsvis som palliativ behandling, og pasienter med avansert sykdom har en median overlevelse på rundt ni måneder. Årsaken til pancreascancer er uklar, men de sterkeste risikofaktorene er alder (median alder for debut er rundt 65 år), røyking og sykdomstilstander som diabetes og kronisk pankreatitt (1). Hos rundt 10% av pasientene med kreft i bukspyttkjertelen foreligger det en arvelig risiko, som for eksempel kimbanemutasjon i genene *BRCA2* (brystkreft og pancreaskreft), *CDKN2A* (malignt melanom og pancreaskreft), *STK11* (Peutz-Jeghers syndrom) eller *PRSSI* (arvelig kronisk pankreatitt) (1, 2). Begrensede behandlingsmuligheter og den dårlige prognosen har stimulert til forskning på de molekylærbiolegiske mekanismene som er involvert i kreftutvikling i bukspyttkjertelen (3). Kunnskap om de første biologiske forandringene kan gi mulighet for forebygging, tidlig oppdagelse og nye behandlingsmetoder for denne sykdommen (1, 3, 4).

Ved studier av kreft i eksokrine pancreas er det viktig å skille mellom ductalt adenokarsinom og andre, sjeldnere svulsttyper (tab 1), ofte med annen tumorbiologi og gjerne betydelig bedre prognose (2, 5–7). Også nevroendokrine svulster (f.eks. insulinomer) opptrer i bukspyttkjertelen. Disse må holdes atskilt på bakgrunn av særegne biologiske og kliniske kjennetegn. Den videre beskrivelse av kreft i bukspyttkjertelen vil omhandle ductalt adenokarsinom (fig 1).

Relativt nylig er forstadier til pancreas-

cancer, såkalte pankreatiske intraepitelliale neoplasier (PanIN), definert og karakterisert (3, 8–12). Trinnvise histologiske, genetiske og molekylærbiolegiske forandringer i bukspyttkjertelens gangepitel kan nå studeres ut fra denne modellen (13–22). Da selv små (< 1 cm) svulster i bukspyttkjertelen ofte metastaserer, vil tidlig oppdagelse og behandling av forstadiene kunne være en fremtidig vei til bedret prognose for denne kreftsykdommen. I artikkelen gis en generell oversikt over PanIN som forstadier til ductalt adenokarsinom i pancreas, og vi diskuterer noen av de vanligste genetiske forandringene som her er påvist.

Klassifisering av PanIN

Bukspyttkjertelen ligger retroperitonealt. Det gjør at klinisk undersøkelse, bildediagnostisk overvåking og eventuell biopsitaking er relativt krevende, sammenliknet med undersøkelse av organer som bryst og tykktarm. Dette er en medvirkende årsak til at mange pasienter har avansert sykdom på diagnosetidspunktet. Symptomene kan være stum icterus, vekttap, nyutviklet diabetes og ryggmerter. Begrenset diagnostisk tilgjengelighet kombinert med det raske forløpet av pancreaskreft gjør at det har vært vanskelig å følge den naturlige sykdomsutviklingen i organet fra normalt epitel via forstadier til invasiv og metastaserende kreft. Progredieringsmodeller og beskrivelse av kreftforstadier, som er kjent fra bl.a. tykktarm, cervix, prostata og endometrium, har dermed manglet for bukspyttkjertelen. Kasuistikker der pasienten var operert i bukspyttkjertelen for godartet sykdom og utviklet kreft mange år senere, la etter hvert grunnlag for forståelsen



Hovedbudskap

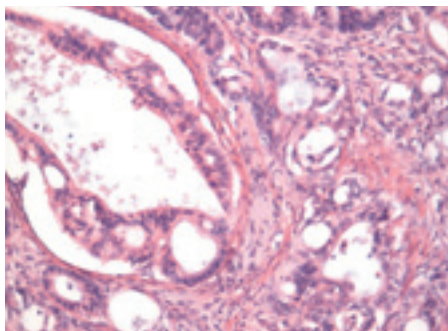
- Det er særdeles dårlig prognose ved ductalt adenokarsinom i bukspyttkjertelen, og den er ikke blitt signifikant bedre de siste tiår
- Pankreatisk intraepitelliale neoplasie (PanIN) er nå etablert betegnelse på histologiske forstadier i kreftutviklingen, med tre grader (PanIN-grad I-III)
- Trinnvise genetiske forandringer kartlegges i denne progredieringsmodellen. På sikt kan det gi mulighet for forebygging, tidligere oppdagelse og ny behandling ved kreft i bukspyttkjertelen

Tabell 1 Oversikt over ondartede svulster i eksokrine pancreas (modifisert etter WHO) (2)

Type	Andel (%)
Duktalt adenokarsinom	85–90
Serøse og mucinøse cystiske adenokarsinomer	2–5
Intraduktalt papillærmucinøst karsinom	1–3
Solid pseudopapillært karsinom	1–2
Acinærcellekarsinom	< 1
Pankreatoblastom	< 1
Andre	< 1

av at også når det gjelder dette organet, må det være forstadier som kan føre til kreftutvikling over tid (8, 23).

Nomenklatur for PanIN ble først foreslått i 1994 (24). Dette histologiske klassifiseringssystemet ble videreutviklet ved et konsensusmøte ved det amerikanske kreftinstituttet i 1999 (10), og den første offisielle ver-



Figur 1 Eksempel på histopatologisk bilde ved duktalt adenokarsinom i pancreas (hematoxylin-eosin-farging, forstørret 200 ganger)

sjonen ble publisert i 2001 (11). PanIN er nå en generelt akseptert terminologi som også er tatt inn i Verdens helseorganisasjons (WHO) beskrivelse av kreft i bukspyttkjertelen (tab 2) (2). I figur 2 gjengis typiske eksempler på PanIN-lesjoner. Et bildekartotek med eksempler på ulike typer lesjoner finnes på Internett (25). PanIN-lesjonene representerer et kontinuerlig spektrum fra tidlige neoplastiske forandringer til invasiv kreft. Figur 3 viser skjematiske hvordan gangepitelet i bukspyttkjertelen gradvis forandres som følge av endringer i molekylærbiologiske signalveier.

Molekylærbiologiske forandringer i PanIN

PanIN-klassifiseringen har lagt grunnlaget for kartlegging av trinnvise genetiske forandringer i bukspyttkjertelens gangepitel (19, 26–29) (fig 3). Utviklingsmønsteret følger de generelle kjennetegn for kreftceller, som beskrevet av Hanahan & Weinberg (30): Aktivering av onkogener, tap av tumorsuppressorgener, unngåelse av programmert celledød, ubegrenset celledeling, nydanning av blodkar og spredning ved invasjon og metastasering. Noen av disse mekanismene vil bli diskutert i den følgende beskrivelsen av progredieringsmodellen for kreft i bukspyttkjertelen.

Onkogener

Onkogener er vekstfremmende faktorer som stimulerer cellene til deling, og de synes å være tidlige aktører i kreftutviklingen. Karakteristisk for pancreascancer er at en aktiverende punktmutasjon i *KRAS* (*K-Ras*) kan påvises i om lag 90 % av tilfellene. Det er ingen andre humane svulster som fremviser en så høy andel av muterte onkogener i RAS-familien. Mutasjonene skjer tidlig i utvik-

lingsmodellen (20) (fig 3), og frekvensen øker fra henholdsvis 36 % i PanIN-I til nærmere 90 % i PanIN-III (31). *KRAS* er dessuten mutert i noen tilfeller av kronisk pankreatitt, særlig etter lengre sykehistorie, noe som understreker den assosierte risiko for kreftutvikling hos denne pasientgruppen (4, 31). Overuttrykking av den vekstregulerende reseptoren *ERBB2* (*Her-2/neu*) er også en tidlig hendelse, og finner sted i opp til 70 % av invasive svulster (15). Proliferasjonsmarkøren Ki-67 uttrykkes i økende grad i økende PanIN-stadium, som tegn på tiltakende celledelingsaktivitet.

Tumorsuppressorgener

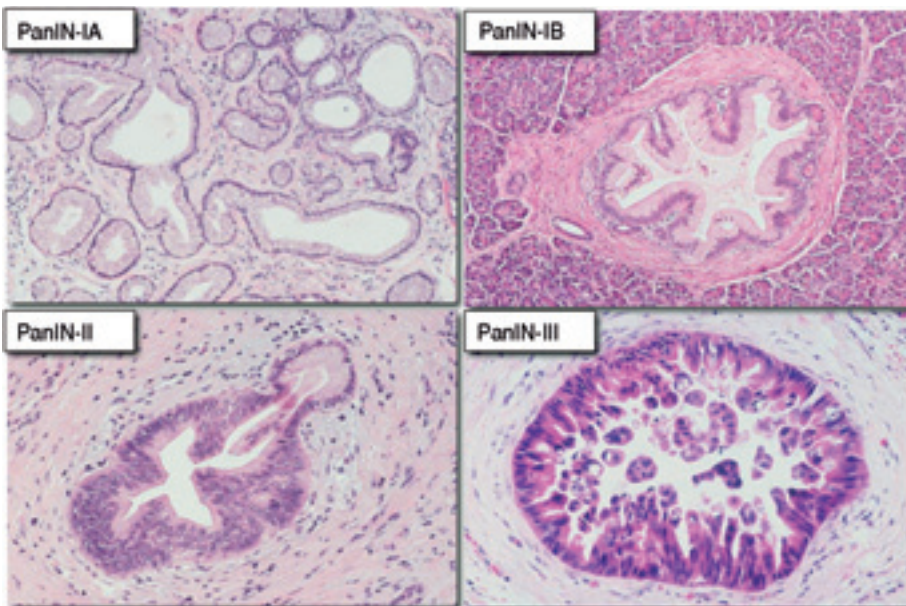
Som motvekt til onkogene skal normalt et panel av tumorsuppressorproteiner hindre cellen i å gå i celledeling, men de sistnevnte blir også påvirket i kreftutviklingen. Endret uttrykking av tumorsuppressorgener som *CDKN2A* (*p16*), *TP53* (*p53*), og *SMAD4* (*DPC4*) observeres med økende PanIN-grad samt i 40–70 % av invasive svulster (16, 32, 33) (fig 3). En musemodell har vist at *KRAS*-mutasjon utløser tidlige PanIN-forandringer, mens endringer i *CDKN2A* kreves for å drive cellene inn i et invasivt vekstmønster (34).

Telomerlengde og telomerase

Telomerer er repeterte DNA-sekvenser på endene av kromosomene. Lengden av telomerene forkortes vanligvis ved hver celledeling, og dette fører til at delingen stopper etter 30–40 celledelingscykluser. Telomerene fungerer som en kontrollmekanisme, et biologisk varselur som skal hindre ubegrenset celledeling. Kreftceller unnviker denne begrensningen ved aktivering av enzymet telomerase, som øker telomerlengden slik at cellen får et uendelig delingspotensial. Telomerlengden på kromosomene forkortes gradvis med økende PanIN-grad (14), noe som fører til ustabilitet i kromosomene og dermed gir økt risiko for andre genetiske forandringer. Telomerase aktiveres sent i utviklingen til invasivt karsinom.

Andre signalveier og markører

Med økende PanIN-grad ses en rekke andre molekylære forandringer. Listen inkluderer tap av *BRCA2* (22), noe som sannsynligvis svekker evnen til reparasjon av DNA-skader, og overuttrykking av syklooksygenase-2 (18), som påvirker celleveksten. Videre finner man endringer i proliferasjonsmarkøren topoisomerase-II- α , glykoproteinet MUC-1 og de epiteliale markørene mesotelin og prostatastamcelleantigen (PSCA) (29, 35, 36) (fig 3). Genet *SHH* er essensielt for den embryonale utviklingen av bukspyttkjertelen, men er også involvert i lavgradig og høygradig PanIN (17, 26). I tillegg er det funnet mange endrede gener med ukjent funksjon (19, 26–29). De vanligste molekylære endringene ved utvikling av duktalt adenokarsinom i bukspyttkjertelen er vist i figur 3.



Figur 2 Histopatologiske bilder ved ulike grader av pankreatisk intraepitelial neoplasia (PanIN). For beskrivelse se tabell 2. Bildene er gjengitt fra Johns Hopkins Pancreas Cancer Web (25) med tillatelse fra Ralph Hruban, Johns Hopkins University

Ulike signalveier ved svulster i pancreas

Forskjeller i genaktivitet mellom ulike typer kreftsvulster i bukspyttkjertelen (tab 1) viser at ductale adenokarsinomer følger en annen biologisk utvikling enn ikke-ductale primærsvulster (28, 36). Blant annet uttrykkes ofte glykoproteinet MUC-1 som et tegn på aggressiv tumorbiologi i PanIN og ductalt adenokarsinom, mens mucinøse svulster hovedsakelig uttrykker MUC-2. Ikke-ductale pancreassvulster innehar i stor grad avvikende kjernefarging av proteinet β -catenin, mens dette fenomenet nesten ikke forekommer i ductale adenokarsinomer (28).

Klinisk-patologiske trekk ved PanIN

PanIN-lesjoner gir vanligvis ingen symptomer hos pasientene, de er ikke makroskopisk synlige, og de påvises kun ved histopatologisk undersøkelse. Den direkte kliniske betydningen av PanIN-lesjoner i bukspyttkjertelen er derfor usikker, selv om utvikling av invasiv kreft er beskrevet (23). PanIN brukes hovedsakelig som et forskningsverktøy for å subklassifisere de ulike histologiske forstadier til kreftutvikling i pancreas.

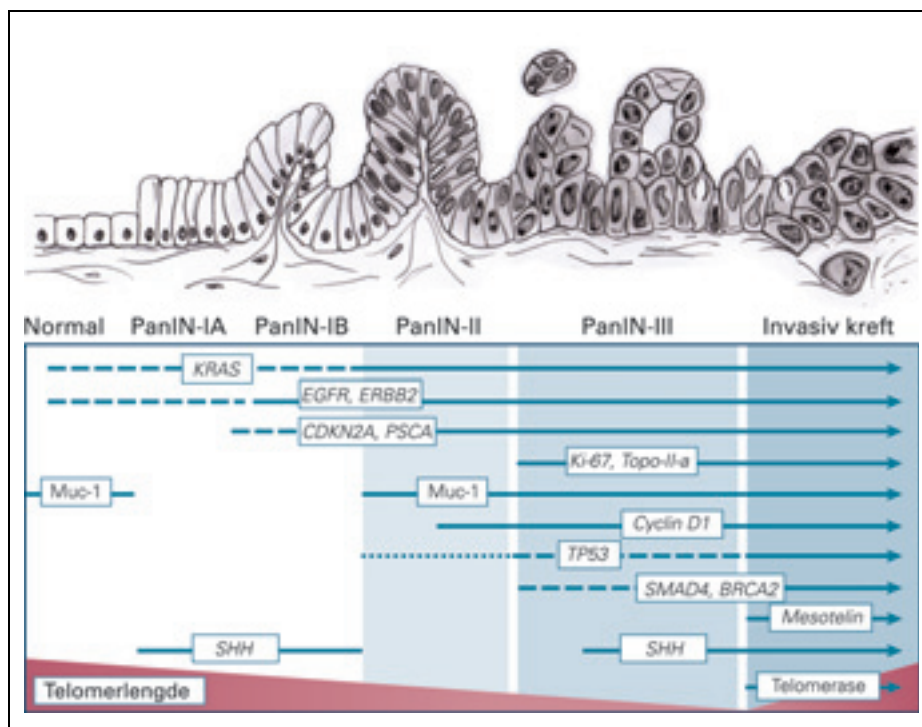
Da PanIN-III må betraktes som carcinoma in situ (tab 2) og er vist å gi kreftesidiv hos pasienter flere år etter operasjon (23), anbefales det at slike funn tas med i patologirapporten for pancreasresektat, særlig der hvor PanIN-III ligger nær opptil eller i reseksjonsranden. Slik rutine er innført i malbeskrivelsen ved de patologiske avdelinger i Bergen og Stavanger.

PanIN-lesjoner finnes ofte utbredt i pancreasresektater for vanlig ductalt adenokarsinom, men også ved kronisk pankreatitt (som predisponerer for utvikling av kreft) samt i andre primærsvulster i bukspyttkjertelen. Spesielt bør nevnes intraduktal papillær mucinøs neoplasi (IPMN), som er en nyere definert tumorentitet på pancreasområdet. Intraduktal papillær mucinøs neoplasi har likheter og kan forveksles med PanIN-lesjoner. Definisjonene av PanIN og intraduktal papillær mucinøs neoplasi er etablert gjennom konsensus (9), og de viktigste forskjellene er gjengitt i tabell 3.

Konklusjon

Bruk av molekylærbiologiske teknikker muliggjør kartlegging av den trinnvise genetiske utviklingen til ulike kreftformer. Ved kreft i bukspyttkjertelen er såkalte pankreatiske intraepiteliale neoplasier (PanIN) nå en akseptert progredieringsmodell. Videre forskning vil forhåpentligvis avdekke nye markører og kartlegge særegne genetiske egenskaper som kan bidra til forebygging, tidligere diagnose og nye behandlingsmåter for denne sykdommen (4, 26, 28).

Manuskriptet ble godkjent 8.12. 2005.



Figur 3 Progredieringsmodell for utvikling av ductalt adenokarsinom i pancreas via PanIN-forstadier. Pilene antyder ved hvilke stadier molekulære endringer opptrer. Modellen er modifisert etter Hruban og medarbeidere (12) med tillatelse fra American Association for Cancer Research (AACR). For mer detaljert beskrivelse henvises bl.a. til Bardeesy & DePinho (3) og Takaori og medarbeidere (8)

Tabell 2 Anbefalt terminologi for PanIN (etter WHO) (2)

PanIN-grad	Tidligere WHO-betegnelse	Beskrivelse ¹
PanIN-IA	Mucinøs cellehypertrofi	Flate; kubisk epitel med basale kjerner; rikelig supranukleært mucin; ingen/lite atypi
PanIN-IB	Duktal papillær hyperplasi, ev. adenomatoid ductal hyperplasi	Som IA, men mer papillære
PanIN-II	Som PanIN-IA og IB med moderat atypi	Som IB, men med økende cytologisk kjerneatypi, tap av kjernepolaritet
PanIN-III	Grov ductal atypi, carcinoma in situ	Atypiske kjerner; gjerne kribriform vekst; tidvis mitoser og luminal nekrose

¹ For mer detaljert beskrivelse se Hruban og medarbeidere (9, 11) samt figur 2 og figur 3

Tabell 3 Noen nyttige kjennetegn for å skille mellom PanIN og intraduktal papillær mucinøs neoplasi (IPMN). Gjengitt etter Hruban og medarbeidere (9)

	PanIN	IPMN
Kliniske funn	Asymptomatiske	Tumor. Ofte kliniske funn/smerter som ved kronisk pankreatitt
Makroskopisk synlig?	Nei	Ja Dilaterte gangstrukturer
Størrelse	Oftest dukter \leq 0,5 cm	Oftest 1–8 cm
Invasiv vekst?	Nei	Kan være invasive (ca. $1/3$)
Papillær struktur	Flate eller mikro-papillære	Hovedsakelig papillære
Mucinproduserende?	Nei	Ja
Immunhistokjemi	Ofte MUC-1-positive og MUC-2-negative	Ofte MUC-2-positive

Litteratur

1. Li D, Xie K, Wolff R et al. Pancreatic cancer. *Lancet* 2004; 363: 1049–57.
2. Klöppel G, Hruban R, Longnecker DS et al. Tumours of the exocrine pancreas. I: Hamilton S, Aaltonen L, red. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. Lyon: IARC Press, 2000: 219–51.
3. Bardeesy N, DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 897–909.
4. Yan L, McFaul C, Howes N et al. Molecular analysis to detect pancreatic ductal adenocarcinoma in high-risk groups. *Gastroenterology* 2005; 128: 2124–30.
5. Carpelan-Holmstrom M, Nordling S, Pukkala E et al. Does anyone survive pancreatic ductal adenocarcinoma? A nationwide study re-evaluating the data of the Finnish Cancer Registry. *Gut* 2005; 54: 385–7.
6. Tsiotos GG, Farnell MB, Sarr MG. Are the results of pancreatectomy for pancreatic cancer improving? *World J Surg* 1999; 23: 913–9.
7. Nitecki SS, Sarr MG, Colby TV et al. Long-term survival after resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas. Is it really improving? *Ann Surg* 1995; 221: 59–66.
8. Takaori K, Hruban RH, Maitra A et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia. *Pancreas* 2004; 28: 257–62.
9. Hruban RH, Takaori K, Klimstra DS et al. An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 977–87.
10. Kern S, Hruban R, Hollingsworth MA et al. A white paper: the product of a pancreas cancer think tank. *Cancer Res* 2001; 61: 4923–32.
11. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 579–86.
12. Hruban RH, Goggins M, Parsons J et al. Progression model for pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2969–72.
13. Wilentz RE, Iacobuzio-Donahue CA, Argani P et al. Loss of expression of Dpc4 in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence that DPC4 inactivation occurs late in neoplastic progression. *Cancer Res* 2000; 60: 2002–6.
14. van Heek NT, Meeker AK, Kern SE et al. Telomere shortening is nearly universal in pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Pathol* 2002; 161: 1541–7.
15. Tomaszewska R, Okon K, Nowak K et al. HER-2/Neu expression as a progression marker in pancreatic intraepithelial neoplasia. *Pol J Pathol* 1998; 49: 83–92.
16. Tomaszewska R, Karcz D, Stachura J. An immunohistochemical study of the expression of bcl-2 and p53 oncoproteins in pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* 1999; 26: 163–71.
17. Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW et al. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 2003; 425: 851–6.
18. Maitra A, Ashfaq R, Gunn CR et al. Cyclooxygenase 2 expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia: an immunohistochemical analysis with automated cellular imaging. *Am J Clin Pathol* 2002; 118: 194–201.
19. Maitra A, Adsay NV, Argani P et al. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Mod Pathol* 2003; 16: 902–12.
20. Luttgies J, Neumann S, Jesnowski R et al. Lack of apoptosis in PanIN-1 and PanIN-2 lesions associated with pancreatic ductal adenocarcinoma is not dependent on K-ras status. *Pancreas* 2003; 27: e57–62.
21. Klein WM, Hruban RH, Klein-Szanto AJ et al. Direct correlation between proliferative activity and dysplasia in pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN): additional evidence for a recently proposed model of progression. *Mod Pathol* 2002; 15: 441–7.
22. Goggins M, Hruban RH, Kern SE. BRCA2 is inactivated late in the development of pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence and implications. *Am J Pathol* 2000; 156: 1767–71.
23. Brat DJ, Lillemoe KD, Yeo CJ et al. Progression of pancreatic intraductal neoplasias to infiltrating adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 163–9.
24. Klimstra DS, Longnecker DS. K-ras mutations in pancreatic ductal proliferative lesions. *Am J Pathol* 1994; 145: 1547–50.
25. Johns Hopkins Pancreas Cancer Web: http://pathology.jhu.edu/n.web?EP=N&FL=PANCREAS_PANIN (12.10.2005).
26. Prasad NB, Biankin AV, Fukushima N et al. Gene expression profiles in pancreatic intraepithelial neoplasia reflect the effects of Hedgehog signaling on pancreatic ductal epithelial cells. *Cancer Res* 2005; 65: 1619–26.
27. Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Shen-Ong GL et al. Discovery of novel tumor markers of pancreatic cancer using global gene expression technology. *Am J Pathol* 2002; 160: 1239–49.
28. Cao D, Maitra A, Saavedra JA et al. Expression of novel markers of pancreatic ductal adenocarcinoma in pancreatic nonductal neoplasms: additional evidence of different genetic pathways. *Mod Pathol* 2005; 18: 752–61.
29. Argani P, Rosty C, Reiter RE et al. Discovery of new markers of cancer through serial analysis of gene expression: prostate stem cell antigen is overexpressed in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 4320–4.
30. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57–70.
31. Lohr M, Kloppel G, Maisonneuve P et al. Frequency of K-ras mutations in pancreatic intraductal neoplasias associated with pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a meta-analysis. *Neoplasia* 2005; 7: 17–23.
32. McCarthy DM, Brat DJ, Wilentz RE et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia and infiltrating adenocarcinoma: analysis of progression and recurrence by DPC4 immunohistochemical labeling. *Hum Pathol* 2001; 32: 638–42.
33. Hustinx SR, Leoni LM, Yeo CJ et al. Concordant loss of MTAP and p16/CDKN2A expression in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence of homozygous deletion in a noninvasive precursor lesion. *Mod Pathol* 2005; 18: 959–63.
34. Aguirre AJ, Bardeesy N, Sinha M et al. Activated Kras and Ink4a/Arf deficiency cooperate to produce metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev* 2003; 17: 3112–26.
35. Argani P, Iacobuzio-Donahue C, Ryu B et al. Mesothelin is overexpressed in the vast majority of ductal adenocarcinomas of the pancreas: identification of a new pancreatic cancer marker by serial analysis of gene expression (SAGE). *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3862–8.
36. Adsay NV, Merati K, Andea A et al. The dichotomy in the preinvasive neoplasia to invasive carcinoma sequence in the pancreas: differential expression of MUC1 and MUC2 supports the existence of two separate pathways of carcinogenesis. *Mod Pathol* 2002; 15: 1087–95.