

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Kopf- und Neurozentrum,
Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer-, und Gesichtschirurgie

Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Martin Gosau

Diagnose, Differentialdiagnose und Prognose des Polymorphen Adenokarzinoms

Publikationspromotion

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Stella Isabel Clausen

Geboren in Hamburg

Hamburg 2022

(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 24.02.2023**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Franziska Büscheck

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Reinhard Friedrich

Inhaltsverzeichnis

I. Artikel	S. 4
II. Darstellung der Publikation	
1.0 Einleitung	S. 13
2.0 Material und Methoden	S. 15
2.1 Patienten der GSR-Kohorte	S. 15
2.2 Spezialuntersuchungen	S. 16
2.3 Statistische Methoden	S. 17
3.0 Ergebnisse	S. 17
3.1 Epidemiologie	S. 17
3.2 Lokalisation	S. 17
3.3 Tumortyp	S. 17
3.4 Primäre (Einsender-) Diagnose	S. 18
3.5 Spezialuntersuchungen	S. 18
3.6 Stadium	S. 18
3.7 Resultate der Verlaufskontrolle	S. 18
3.8 Vergleich CASG und PAP	S. 19
4.0 Diskussion	S. 19
5. Zusammenfassung	S. 22
6. Abstract	S. 23
7. Literaturverzeichnis	S. 24
III. Darstellung des Eigenanteils	S. 27
IV. Danksagung	S. 28
V. Lebenslauf	S. 29
VI. Eidesstattliche Erklärung	S. 30

Outcome of Ordinary Polymorphous Adenocarcinomas of the Salivary Glands in Comparison With Papillary and Cribriform Subtypes

STELLA CLAUSEN^{1#}, MARKUS FALK^{2#}, FLORIAN OESTERLING^{3#}, ANDRÉ FEHR⁴,
ANDREAS STANG^{3,5}, WERNER BOECKER⁶, STEFAN GESK⁷, STEFANIE SCHATZ², GÖRAN STENMAN⁴,
KATHARINA TIEMANN², THOMAS LOENING^{6*} and REINHARD E. FRIEDRICH^{1*}

¹Department of Oral and Craniomaxillofacial Surgery,
Eppendorf University Hospital, University of Hamburg, Hamburg, Germany;

²Institute for Hematopathology, Hamburg, Germany;

³Cancer Registry North Rhine-Westphalia, Bochum, Germany;

⁴Sahlgrenska Center for Cancer Research, Department of Pathology,
University of Gothenburg, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg, Sweden;

⁵Institute of Medical Informatics, Biometry and Epidemiology (IMIBE), University Hospital Essen, Essen, Germany;

⁶Gerhard Seifert Reference-Center - Hansepathnet, Hamburg, Germany;

⁷Institute for Tumor Genetics North, Kiel, Germany

Abstract. *Background/Aim:* Polymorphous adenocarcinoma (PAC) is a low-grade salivary gland malignancy in contrast to variants with papillary (PAP) or cribriform (CASG) architecture and confers the second most common malignancy of minor salivary glands. Our study aimed to identify prognostic factors and to evaluate histomorphological and molecular diagnostic criteria of PACs. *Patients and Methods:* A series of 155 PACs, including 10 PAPs and 12 CASGs from the population-based Cancer Registry of North Rhine-Westphalia (LKR-NRW) and the Hamburg Salivary Gland Reference Centre (HRC) were analyzed. *Results:* One fifth of the tumors were located in the major salivary glands and PACs/CASGs invariably lacked p40 expression. Fifty-two percent of PACs showed a PRKD1 E710D mutation. Ordinary PACs had a disease-specific 10-year survival probability of 97% compared to 90% when combining PAPs and CASGs. T-stage at diagnosis was a prognostic factor with 98% for stages T1/T2 versus 75% for T3/T4. *Conclusion:* Diagnostic

algorithms for the PAC/CASG spectrum of tumors need to be improved and should include molecular markers.

Polymorphous adenocarcinoma (PAC) constitutes 26% of all carcinomas of the minor salivary glands and is the second most frequent malignancy after mucoepidermoid carcinoma (1-3). Women are affected twice as often as men with more than 70% of the patients being between 50 and 70 years of age (4, 5). The predominant localization is the palate, but PAC may also occur at other sites of minor salivary glands, and less frequently also in the major salivary glands (4, 6). For long, the tumor was considered as a low-grade salivary gland malignancy with an overall recurrence rate of 19.1%, and a survival rate of 97.6% (7, 8). Although a focal papillary component was considered to be a diagnostic hallmark (9, 10), a more pronounced papillary component was suggested to indicate a more aggressive behavior (11). Subsequently, cribriform adenocarcinomas of the tongue, later also recognized at other sites, were described and suggested to be a variant of PAC (designated cribriform adenocarcinoma of salivary glands or CASG) based on both morphology and clinical outcome (4, 12). In the fourth edition of the World Health Organization (WHO, 2017) classification of tumors, both the papillary subtype and CASG were considered as variants of PAC. Apart from diagnostic problems related to this broad definition by WHO, the consistent immunohistochemical finding of an almost invariable lack of p40 staining will possibly be an important diagnostic marker of PAC. In addition to histopathology,

[#]These Authors contributed equally to the present study.

^{*}These Authors contributed equally to the present study.

Correspondence to: Dr. Markus Falk, Institute for Hematopathology, Fangdieckstr. 75 A, 22547 Hamburg, Germany. Tel: +49 040707085262, e-mail: falk@hp-hamburg.de

Key Words: Salivary gland tumor, polymorphous adenocarcinoma, polymorphous low-grade adenocarcinoma, PRKD1, cribriform adenocarcinoma of salivary glands, molecular diagnostics.

molecular biomarkers for PAC and CASG (13-15) may help to exclude adenoid cystic carcinoma (11, 16) and pleomorphic adenoma (17).

In the present study, we surveyed PACs from the population-based North Rhine Westphalia Cancer Registry (LKR-NRW) and from the Hamburg Salivary Gland Reference Center (HRC). The two main objectives of this study were to 1) investigate the influence of tumor size, tumor subtype (PAC vs. PAP/CASG) and sex on overall and disease-specific survival and 2) to study immunohistochemical and molecular markers of PACs and their subtypes, and how they might aid in the diagnosis of this challenging group of heterogeneous cancers.

Patients and Methods

Patient material.

The LKR-NRW cohort. The population-based cancer registry of LKR-NRW in Germany, represents the largest population-based cancer registry in Germany covering a population of 18.1 million inhabitants. Cancer registry data are primarily based on pathological reporting, with an estimated completeness of cancer registrations in 2016 of more than 90% (18). We retrospectively identified 83 PACs diagnosed between 2006 and 2018, morphologically coded as 8525/3, 9 PACs with >50% papillary component (designated PAP) coded as 8260/3, and 10 CASGs coded as 8201/3. All were topographically coded as C00-C09 (malignant neoplasms of minor salivary glands, the parotid gland, and unspecified major salivary glands) according to the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O-3). The final population-based cohort thus included 102 patients. An ethics approval was not necessary for this cohort as all analyses of individual patient data were conducted by LKR-NRW staff.

The HRC cohort. Fifty-four cases classified as PAC during 2007 to 2021 were identified in the HRC archive, including 1 patient with a >50% papillary component (PAP) and two with a >50% cribriform component (CASG). Clinical information for all 54 patients were retrieved from the medical records at HRC or from the pathologist primarily in charge of the patient. Survival data were available from 17 of these cases. All 54 cases were thoroughly worked up for diagnostic reasons. Moreover, the use of archived diagnostic left-over tissues for research purposes has been approved by local laws (HmbKHG, §12.1) and the local Ethics Commission Hamburg (PV5412), and carried out in compliance with the Helsinki Declaration.

Histologic reevaluation.

The LKR-NRW cohort. The diagnostic validity of this cohort was established by on-site review of full-text reports by an expert pathologist (TL). For 13 of the patients with missing reports, the diagnosis of PAC or variants thereof was submitted to the LKR-NRW by experienced pathologists, mainly from larger academic institutions with their own internal system for 2nd opinions.

The HRC cohort. Altogether, 54 patients with PAC were sent to HRC for review by expert pathologists (TL & WB). All specimens were analyzed by standard immunohistochemistry (*e.g.*, CK-5/6, CK-7, Calponin, p40, p63, sm-Actin, S100, MIB-1) with special focus on the expression of p40 (8, 19-23). Cases with a papillary or cribriform

architecture and with special characteristics of their invasive phenotype, *e.g.*, lymphovascular and perineural invasion or infiltration of adjacent bone tissue were documented separately. After excluding PACs with inadequate tissue material, 31 patients were suitable for *PRKD1*-testing, *MYB*-FISH, and *HMGA2/PLAG1* analyses. The samples underwent direct Sanger sequencing for the presence of the *PRKD1* point mutation E710D. PCR and sequencing primers were modified from Weinreb *et al.* (16); forward: 5'-TCTTGGC CTTTAACT GGTAG-3' and reverse: 5'-GTGACAAGATG CTACATGGAAG-3'. Patients with *PRKD1* wildtype were subjected to *MYB*-FISH analysis to further exclude the possibility of adenoid cystic carcinoma, and to *HMGA2*- and *PLAG1*-immunohistochemistry to rule out pleomorphic adenoma (24).

MYB-FISH was carried out using probe D-5088-100-OG (MetaSystems Probes GMBH) according to the manufacturer's specifications (25). *HMGA2* and *PLAG1* immunohistochemistry was performed semiautomated on the BOND III platform (Leica Biosystems) using antibodies against *HMGA2* (clone D1A7, 1:1,000 dilution Cell Signaling) and *PLAG1* (clone 3B7, 1:100 dilution, Cell Signaling).

Statistical methods. Seventeen HRC patients with follow-up information and 102 LKR-NRW patients were jointly analyzed using Kaplan–Meier estimation to increase the statistical power. Although regionally distinct cohorts were combined for analysis, they did not differ in terms of diagnostic criteria or therapeutic (surgical) approach. One patient was shared by both the HRC and LKR-NRW databases and was only included once in the analysis. Three separate stratified analyses were conducted: (i) comparison between PAC (n=97) and PAP/CASG (n=21), (ii) comparison between tumors with low pT-stage at diagnosis (pT1 or pT2, n=45), high pT-stage (>pT2, n=11) and missing pT-stage (n=46) and (iii) comparison of sex-specific survival (42 males and 76 females). Survival differences in the stratified analyses were expressed as absolute differences in time-point survival at 10 years of follow-up with 95% confidence intervals. Both, overall survival, and disease-specific survival (causes of death with ICD-10 codes between C00 and C09 were considered disease-specific) were computed for each comparison. The overall survival time of LKR-NRW patients was defined as the time from the date of diagnosis until the date of death from any cause. Survival times were right-censored on December 31, 2020 or at the date of death from competing causes of death (only in disease-specific analysis). There was complete vital status follow-up using record linkage of cancer records with mortality and cause-of-death data supplied by the state office for data processing and statistics of North Rhine-Westphalia. The survival time of HRC patients was right-censored at the last available follow-up where the patient was still alive.

Results

Clinical characteristics of patients in the LKR-NRW and HRC cohorts. The pooled LKR-NRW and HRC cohorts comprised 155 patients of which 133 (85.8%) were ordinary PACs, 12 (7.7%) were CASGs, and 10 (6.4%) belonged to the PAP subtype. The sex and median age of the patients at first diagnosis are shown in Table I. Thirty-two (20.6%) tumors were located in the major salivary glands and the remaining 123 (79.4%) intraoral tumors were primarily

Table I. Clinicopathologic characteristics of PACs of the HRC and LKR-NRW cohorts (including one duplicate case, which was included in both cohorts). Percentages have been rounded and may not reach 100.

	HRC Overall n=54 (%)*	HRC Follow-up n=17 (%)*	LKR-NRW n=102 (%)*
Year of diagnosis	2007-2021	2007-2020	2006-2018
Age (years)			
Mean/median (range)	64.5/61 (13-87)	60.35/61 (22-87)	64.4/64 (12-90)
≤18	1 (2)	0 (0)	1 (1)
19-30	1 (2)	1 (6)	4 (4)
31-49	8 (15)	3 (18)	16 (16)
≥50	44 (81)	13 (76)	81 (79)
Gender			
Male	14 (26)	4 (24)	38 (37)
Female	40 (74)	13 (76)	64 (63)
Primary site			
Major gland	4 (7)	0 (0)	28 (27)
Minor gland	50 (93)	17 (100)	74 (73)
Tumor subtype			
PAC	51 (94)	15 (88)	83 (81)
CASG	2 (4)	1 (6)	10 (10)
PAP	1 (2)	1 (6)	9 (9)
Perineural invasion			
Yes	20 (37.0)		N.d.
No	34 (63.0)		N.d.
PRKD1 mutation			
Positive	16 (52)	5 (29)	
Negative	15 (48)	5 (29)	
N.d.	23 (43)	7 (41)	102 (100.0)
pT-stage			
Low stage (pT1/pT2)	44 (81)	14 (82)	45 (44)
High stage (>pT2)	3 (6)	2 (12)	11 (11)
pTX	8 (15)	1 (6)	46 (45)
pN-stage			
pN0	3 (6)	3 (18)	39 (38)
pN1	1 (2)	1 (6)	2 (2)
pN2	0 (0)	0 (0)	3 (3)
pNX	50 (93)	13 (76)	58 (57)
M-stage			
M0	2 (4)	2 (12)	34 (33)
M1	1 (2)	1 (6)	1 (1)
MX	51 (94)	14 (82)	67 (66)
R-status			
R0	7 (13.0)	2 (12)	
R1	32 (59)	12 (71)	
RX	15 (28)	3 (18)	102 (100.0)
Second tumor	2 (4)	2 (12)	
Deaths			
Tumor-related	0	0	4 (4)
Unrelated death	2 (4)	2 (2)	18 (18)

PAC: Polymorphous adenocarcinoma; PAP: papillary adenocarcinoma; CASG: cribriform adenocarcinoma; LKR-NRW: Registry of North Rhine-Westphalia; HRC: Hamburg Salivary Gland Reference Centre. *Column percentages.

located in the hard and soft palate (63/40.1%). There were 88 patients (56.8%) with low-stage disease at the time of diagnosis (pT1/pT2) and 14 (9%) with high-stage disease (>pT2). Fifty-three cases (34.2%) lacked information about tumor size. Six cases (3.9%) had confirmed lymph node

metastases at the time of diagnosis (pN1=3; pN2=3), including two CASGs and one ordinary PAC. Furthermore, 42 patients (27.1%) were free of lymph node metastases, whereas 107 (69%) were reported as NX. Only two patients (1.3%), one with PAP and one with CASG, had distant

Table II. Sex-specific distributions of prognostic characteristics in the pooled LKR-NRW and HRC cohorts.

	Men n=42(%)*	Women n=76 (%)*	Total n=118 (%)*
Age (years)			
mean/median (range)	61.4/65.5 (12-87)	62.6/64 (22-90)	62.2/64 (12-90)
≤18	1 (2)	0 (0)	1 (1)
19-30	2 (5)	3 (4)	5 (4)
31-49	5 (12)	14 (18)	19 (16)
≥50	34 (81)	59 (78)	93 (79)
Tumor subtype			
PAC	35 (83)	62 (82)	97 (82)
CASG	4 (10)	7 (9)	11 (9)
PAP	3 (7)	7 (9)	10 (8)
pT-stage			
Low stage (pT1/pT2)	19 (45)	39 (51)	58 (49)
High stage (>pT2)	6 (14)	7 (9)	13 (11)
pTX	17 (40)	30 (39)	47 (40)
pN-stage			
pN0	18 (43)	24 (32)	42 (36)
pN+	3 (7)	3 (4)	6 (5)
pNX	21 (50)	49 (64)	70 (59)
M-stage			
M0	14 (33)	22 (29)	36 (31)
M1	1 (2)	1 (1)	2 (2)
MX	27 (64)	53 (70)	80 (68)

PAC: Polymorphous adenocarcinoma; PAP: papillary adenocarcinoma; CASG: cribriform adenocarcinoma; LKR-NRW: Registry of North Rhine-Westphalia; HRC: Hamburg Salivary Gland Reference Centre. *Column percentages.

metastases. Thirty-six patients (23.2%) had no evidence of distant metastases at diagnosis (M0), and for 117 patients (75.5%) M-stage was reported as MX. The sex-specific distributions of prognostic tumor characteristics are presented in Table II. The age and tumor subtype distributions were very similar for men and women, 14% of men presented with a high T-stage at diagnosis compared to 9% of women. Lymph-node metastases were present in 7.1% of men and 3.9% of women and distant metastasis in 2.4% and 1.3%, respectively.

Although details about the surgical treatment of the tumors were documented for all patients, complete clinical information on the therapeutic management was only available for the HRC cohort. Only individual patients with high-stage disease underwent concurrent neck dissection and/or received adjuvant radiotherapy. While in seven (12.0%) patients with PAC/PAP/CASG complete removal of the tumor was unequivocally confirmed (R0), 32 (59.3%) patients showed tumor residues at the margins (R1). In the remaining 15 (27.8%) patients from minor salivary glands (almost invariably removed in multiple fragments to preserve anatomical and functional structures), the resection margins were uncertain and reported as RX. Recurrences occurred in only two PAC patients and both of them recovered from disease after repeated surgery.

Survival analysis of the LKR-NRW and HRC cohorts. Out of 118 patients in the pooled survival analysis of the HRC and LKR-NRW cohorts, 24 patients died from any cause during the follow-up period (19 PACs, 1 PAP, and 4 CASGs). In four of these, the salivary gland tumor was the reported cause of death (2 PACs and 2 CASGs). Three out of the four patients in the disease-specific analysis had stage pT3 or pT4 disease. The remaining tumor-related death occurred in a patient diagnosed with a pT1 PAC of the parotid gland. None of the tumor-related deaths occurred in patients with known distant metastases. The results of the survival analysis are presented in Figure 1. The 10-year disease-specific Kaplan–Meier survival estimate for the entire cohort was 96% (95%CI=92-100). When stratified for histological subtype, survival was shorter in the PAP/CASG subgroups compared to ordinary PACs. The 10-year survival probabilities were 97% (95%CI=94-100) for PAC patients and 90% (95%CI=78-100) for PAP/CASG patients resulting in an absolute difference in 10-year survival of 7% (95%CI=-8-23). The low pT-stage (stages T1+T2) group had a 10-year survival probability of 98% (95%CI=93-100), whereas the high pT-stage group had a 10-year survival probability of 75% (95%CI=54-100). The absolute survival difference at 10 years was 22% (95%CI=-11-55) for this comparison. There were no tumor-related deaths in patients with missing T-stage. Sex-specific

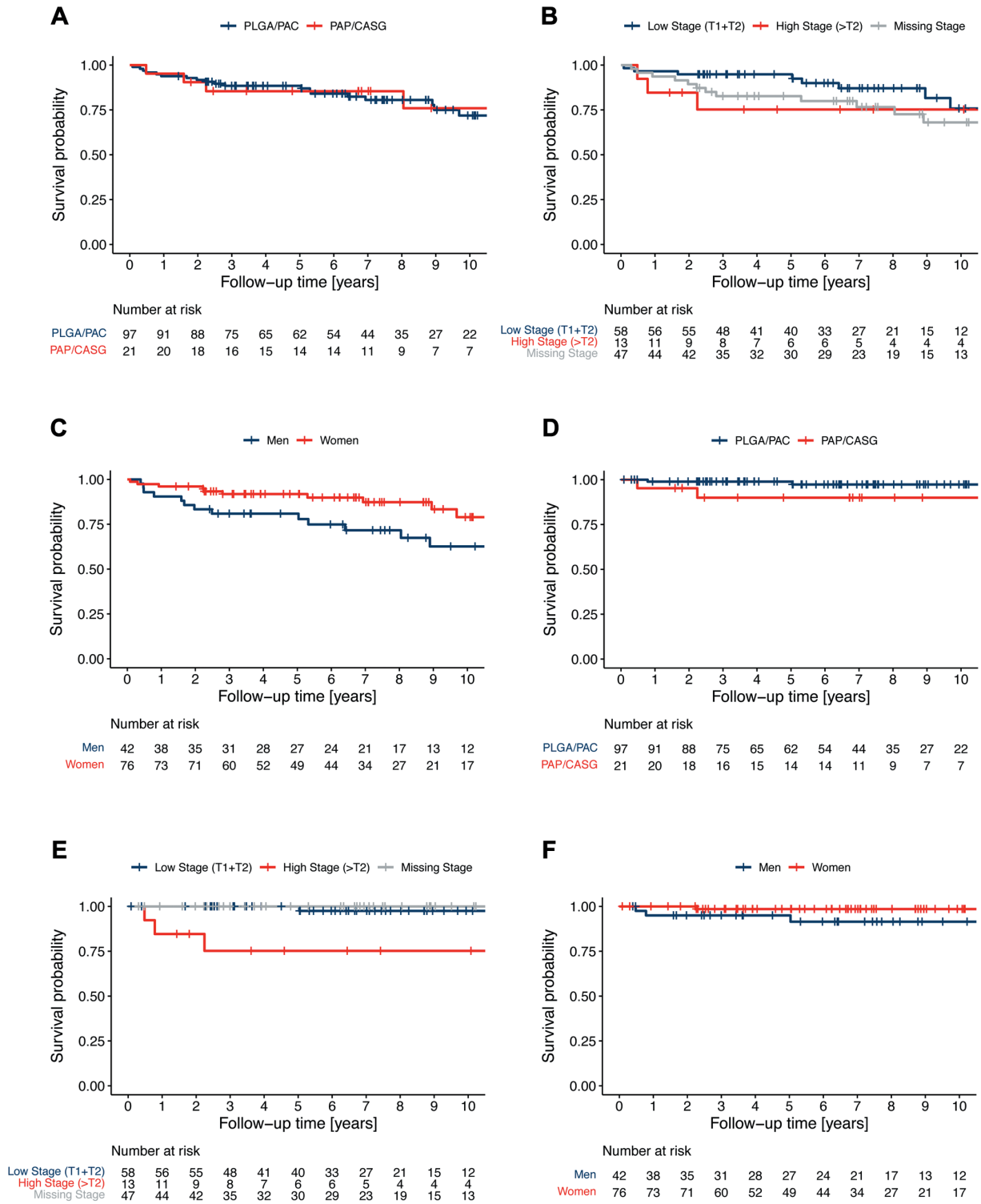


Figure 1. Overall (A – C) and disease-specific (D – F) Kaplan–Meier survival curves of the pooled LKR-NRW and HRC cohorts (n=118). PAC: Polymorphous adenocarcinoma; PAP: papillary adenocarcinoma; CASG: cribriform adenocarcinoma; LKR-NRW: Registry of North Rhine-Westphalia; HRC: Hamburg Salivary Gland Reference Centre.

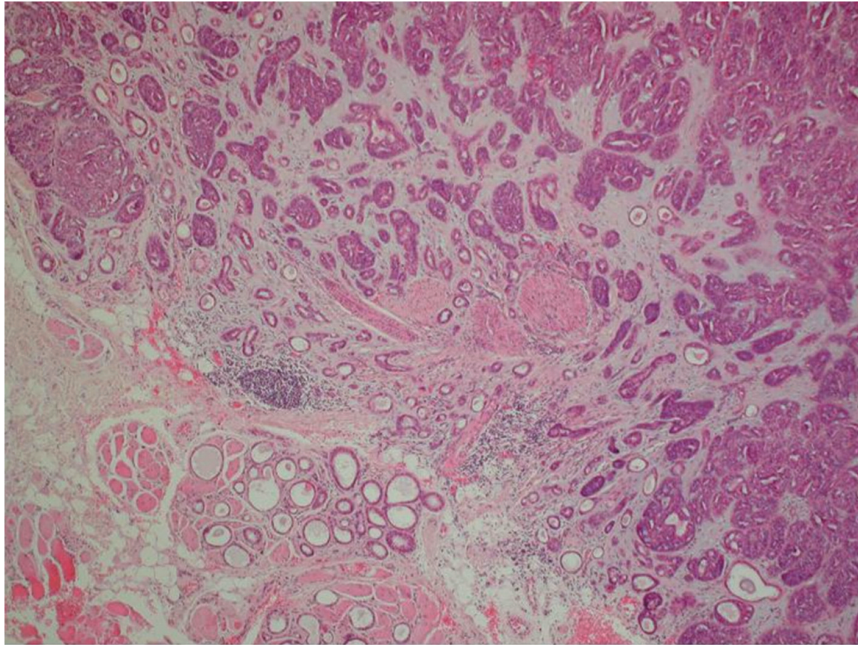


Figure 2. Overview of a *PRKD1*-positive polymorphous adenocarcinoma with clearly invasive and "scirrhous" growth pattern. H&E, $\times 100$.

survival curves showed a more favorable prognosis for women with PAC. The 10-year disease-specific survival probability was 99% (95%CI=96-100) in women compared to 92% (95%CI=83-100) in men with a 10-year survival difference of 7% (95%CI=-4-18).

Diagnostic considerations based on the 2nd opinion cases from the HRC cohort. Out of the 54 patients in the HRC cohort, only 18 (33.3%) were initially diagnosed as PAC by the referring pathologist. When reinvestigated by expert pathologists (TL & WB), lymphovascular and/or perineural invasion was discovered in 20 (37%) PACs and bone invasion in one patient (Table I). While our immunohistochemical panel recognized PAC with a myoepithelial component, these markers did not provide conclusive diagnostic information. However, the p40 staining helped to exclude several of the diagnoses, the most common being adenoid cystic carcinoma (23.5% - 8/34) and pleomorphic adenoma (17.7%-6/34). To obtain further evidence in support of the diagnosis, we analyzed 31 cases with sufficient DNA available for the presence of the *PRKD1* E710D hotspot point mutation typical of PAC (Figure 2). More than half of the tumors (51.6% - 16/31) had the E710D point mutation. None of the remaining 15 *PRKD1* wild type tumors had *MYB*-rearrangements or expressed *HMGA2* and/or *PLAG1* oncoproteins, thus further strengthening the diagnosis of PAC.

Discussion

Here, we present a clinical and epidemiological survey of 155 PACs and papillary/cribriform variants of PAC from the population-based LKR-NRW cancer registry and the HRC reference center. PAC is the second most frequent intraoral malignant salivary tumor after mucoepidermoid carcinoma (3, 4, 26, 27), which is in line with the present and our previous study (28). The LKR-NRW and HRC PAC cohorts were very similar with regard to *e.g.*, the age pattern, the female predominance, and the excess of ordinary PACs (> 90%). Notably, one fifth of the ordinary PACs were located in the parotid gland or in other major salivary glands. This contrasts with findings of another population-based study of 460 PAC patients, in which only 9.3% of tumors were located in major salivary glands (29). Similar observations were also made for CASGs. This peculiar variant of PAC was first discovered at the base of the tongue, and initially named cribriform adenocarcinoma of the tongue, and was later found also at other intraoral sites (30, 31). Only one larger series of 69 PACs and CASGs described two cases of CASG in the parotid gland (8). To our knowledge, there are no previous accounts of CASGs in other major salivary glands. In the present study, four of the 11 CASGs were in the parotid gland and one in the submandibular gland. Michal *et al.* (32) have argued that due to their unique location and tendency to present with early metastases,

cribriform adenocarcinomas of the tongue should be considered as a separate entity, rather than as part of the PAC spectrum. They also suggested that some metastases in patients with PAC are likely to be due to misclassification of cribriform adenocarcinomas of the tongue as PAC. Others have proposed that it is the location at the base of the tongue with its “rich lymphatic network” that predispose patients with PAC of the tongue to metastasize early, independently of histological/biological differences between PAC and CASG (33). Interestingly, the tumors of both patients with CASG in our study who died of disease were located in the parotid gland and presented with lymph node metastases at the time of diagnosis. This finding argues against the hypothesis that it is merely the location at the base of the tongue that facilitates metastatic spread of CASG.

The number of cases with a predominant papillary architecture in this study was very limited. Even after pooling of the LKR-NRW and HRC cohorts, only ten cases were identified. None of the patients had lymph node or distant metastasis, and none of the PAP patients died of the tumor during the follow-up period.

Considering the diagnostic challenges associated with PAC and its variants (4, 33, 34), it is not surprising that only 33.3% of the patients included in the present study were primarily submitted to the HRC as PAC. Lack of p40 expression or at least low p40 expression by immunohistochemistry (35), was a useful tool to differentiate between PAC and in particular adenoid cystic carcinomas and pleomorphic adenomas. The same was true also for the lack of HMGA2 or PLAG1 staining and rearrangements of *MYB* (4, 11, 36-38). Notably, of both diagnostic and pathogenetic importance are recent discoveries of partly similar molecular pathways in PAC and CASG (13-15). Thus, >70% of PACs show *PRKD1* E710D hotspot mutations, located within the catalytic loop of the kinase domain, whereas gene fusions involving *PRKD1*, *PRKD2* or *PRKD3* genes are frequent in CASG, including an *ARID1A-PRKD1* fusion in 20% of the cases (4, 8, 34, 39). Although only 52% of PACs in the HRC series had *PRKD1* mutations, the finding confirmed the PAC diagnosis in nine patients initially diagnosed as adenoid cystic carcinomas and monomorphic/pleomorphic adenomas.

With a disease-specific 10-year survival probability of 97%, the pooled survival analysis for the two cohorts confirmed previous findings of a favorable prognosis for patients with ordinary PAC. In previous long-term follow-up studies of PAC, a more aggressive behavior and development of regional or distant metastasis have been attributed to the PAP variant with a predominantly papillary architecture (5). In the present study, 2 of 4 patients that died of their disease had ordinary PACs and the other two CASGs. Thus, even without any disease-specific deaths in the PAP subgroup, which was assumed to be a chance finding, disease-specific 10-year survival was reduced to 90% in PAP/CASG. This

contrasts with findings of other case series, in which CASG was not a predictor of worse survival (30, 40).

In fact, and in line with the findings of Mimica *et al.* (40), pT-stage at diagnosis (pT1/pT2 vs. pT3/pT4) appeared to be the strongest predictor of prognosis with a 10-year survival probability of 98% in patients with low-stage versus 75% in patients with a high-stage disease (including one pT4 patient with bone invasion). This was independent from tumor subtype, invasive growth patterns (*e.g.*, perineural/lymphovascular spreading), and R-status. Sex-specific survival revealed a slightly more favorable prognosis in women with PAC compared to men. This finding is in accordance with the somewhat larger percentage of high-stage tumors and tumors with lymphonodal spread that we observed in men. However, the interpretability of these subgroup analyses is limited by very small numbers of events, and consequently wide confidence intervals around the Kaplan–Meier estimates, underscoring the need for larger sample sizes in future studies. A notable result of the Kaplan–Meier analysis was that no further disease-specific (*i.e.*, salivary gland cancer as the cause of death) deaths occurred, once patients had survived for five years after diagnosis. This suggests a relatively early metastatic spread as the primary mechanism of tumor-related mortality in PAC patients, rather than local recurrences, which would more likely unfold over longer periods of time, or late metastases. Our results further emphasize that early detection is crucial for improved clinical management and survival of patients with PACs.

A limitation of cancer registry studies is the lack of histological reevaluation of tumors due to privacy regulations. This may be a potential source of misclassification of tumors, especially in PAP and CASG, which can be difficult to distinguish from ordinary PAC. However, in contrast to most German cancer registries, full-text pathology reports were available for the majority of patients in our LKR-NRW cohort and were critically reviewed by an expert pathologist.

A strength of this study is the large sample size for this rare tumor entity. With 155 patients after pooling of the LKR-NRW and HRC cohorts, this is one of the largest published case series on PAC to date. Mortality follow-up for LKR-NRW patients was performed by linking death certificates, official mortality statistics, and cancer registry records, leading to a complete mortality follow-up while avoiding the problem of incomplete responses associated with an active follow-up.

In summary, our findings show that lack of p40 staining and assessment of *PRKD1/2/3* mutation/fusion status are useful tools in the differential diagnosis of PAC, CASG, and other mimics. In the PAP/CASG subgroup, the 10-year survival probability was clearly reduced compared to that in PAC. For the latter group negative prognostic factors included tumor size at diagnosis. Female patients with PAC showed superior survival compared to male patients.

Additional studies are, however, needed to clarify the biologic and pathogenetic relationships between PAC and CASG and to identify molecular targets for development of new therapeutic strategies for these patients.

Conflicts of Interest

All Authors do not declare any conflicts of interest in relation to this study.

Authors' Contributions

Study concept: Thomas Löning, Reinhard E. Friedrich; Study design: Thomas Löning, Reinhard E. Friedrich; Data acquisition: Stella Clausen, Florian Oesterling, Andreas Stang, Stefan Gesk, Werner Böcker; Quality control of data and algorithm: Stella Clausen, Florian Oesterling, Andreas Stang; Data analysis and interpretation: Stella Clausen, Stefanie Schatz, Markus Falk, Stefan Gesk; Statistical analysis: Stella Clausen, Florian Oesterling, Andreas Stang; Manuscript preparation: Stella Clausen, Markus Falk, Florian Oesterling, Thomas Löning; Manuscript editing: André Fehr, Andreas Stang, Werner Böcker, Göran Stenman, Katharina Tiemann, Thomas Löning, Reinhard E. Friedrich.

References

- Evans HL and Batsakis JG: Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary glands. A study of 14 cases of a distinctive neoplasm. *Cancer* 53(4): 935-942, 1984. PMID: 6692293. DOI: 10.1002/1097-0142(19840215)53:4<935::aid-cncr2820530420>3.0.co;2-v
- Freedman PD and Lumerman H: Lobular carcinoma of intraoral minor salivary gland origin. Report of twelve cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 56(2): 157-166, 1983. PMID: 6578478. DOI: 10.1016/0030-4220(83)90282-7
- Waldron CA, el-Mofty SK and Gnepp DR: Tumors of the intraoral minor salivary glands: a demographic and histologic study of 426 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 66(3): 323-333, 1988. PMID: 2845326. DOI: 10.1016/0030-4220(88)90240-x
- El-Naggar AK, Chan JKC, Rubin Grandis J, Takata T, Slootweg PJ and International Agency for Research on Cancer: Who classification of head and neck tumours. Lyon, France, IARC Publications, 2017.
- Evans HL and Luna MA: Polymorphous low-grade adenocarcinoma: a study of 40 cases with long-term follow up and an evaluation of the importance of papillary areas. *Am J Surg Pathol* 24(10): 1319-1328, 2000. PMID: 11023093. DOI: 10.1097/0000478-200010000-00001
- Elhakim MT, Breinholt H, Godballe C, Andersen LJ, Primdahl H, Kristensen CA and Bjørndal K: Polymorphous low-grade adenocarcinoma: A Danish national study. *Oral Oncol* 55: 6-10, 2016. PMID: 27016011. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2016.02.005
- Castle JT, Thompson LD, Frommelt RA, Wenig BM and Kessler HP: Polymorphous low grade adenocarcinoma: a clinicopathologic study of 164 cases. *Cancer* 86(2): 207-219, 1999. PMID: 10421256.
- Xu B, Aneja A, Ghossein R and Katabi N: Predictors of outcome in the phenotypic spectrum of polymorphous low-grade adenocarcinoma (PLGA) and cribriform adenocarcinoma of salivary gland (CASG): a retrospective study of 69 patients. *Am J Surg Pathol* 40(11): 1526-1537, 2016. PMID: 27454943. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000705
- Ellis GL and Auclair PL: Tumors of the salivary glands, atlas of tumor pathology: Third series, fascicle 17. Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1996.
- Bishop JA: Tumors of the salivary glands. 5th edition. American Registry of Pathology, 2021.
- Persson F, Fehr A, Sundelin K, Schulte B, Löning T and Stenman G: Studies of genomic imbalances and the MYB-NFIB gene fusion in polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck. *Int J Oncol* 40(1): 80-84, 2012. PMID: 21901247. DOI: 10.3892/ijo.2011.1190
- Vander Poorten V, Triantafyllou A, Skálová A, Stenman G, Bishop JA, Hauben E, Hunt JL, Hellquist H, Feys S, De Bree R, Mäkitie AA, Quer M, Strojjan P, Guntinas-Lichius O, Rinaldo A and Ferlito A: Polymorphous adenocarcinoma of the salivary glands: reappraisal and update. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 275(7): 1681-1695, 2018. PMID: 29761209. DOI: 10.1007/s00405-018-4985-5
- Weinreb I, Piscuoglio S, Martelotto LG, Waggott D, Ng CK, Perez-Ordóñez B, Harding NJ, Alfaro J, Chu KC, Viale A, Fusco N, da Cruz Paula A, Marchio C, Sakr RA, Lim R, Thompson LD, Chiosea SI, Seethala RR, Skalova A, Stelow EB, Fonseca I, Assaad A, How C, Wang J, de Borja R, Chan-Seng-Yue M, Howlett CJ, Nichols AC, Wen YH, Katabi N, Buchner N, Mullen L, Kislinger T, Wouters BG, Liu FF, Norton L, McPherson JD, Rubin BP, Clarke BA, Weigelt B, Boutros PC and Reis-Filho JS: Hotspot activating PRKD1 somatic mutations in polymorphous low-grade adenocarcinomas of the salivary glands. *Nat Genet* 46(11): 1166-1169, 2014. PMID: 25240283. DOI: 10.1038/ng.3096
- Andreassen S, Melchior LC, Kiss K, Bishop JA, Høgdall E, Grauslund M, Wessel I, Homøe P and Agander TK: The PRKD1 E710D hotspot mutation is highly specific in separating polymorphous adenocarcinoma of the palate from adenoid cystic carcinoma and pleomorphic adenoma on FNA. *Cancer Cytopathol* 126(4): 275-281, 2018. PMID: 29266837. DOI: 10.1002/cncy.21959
- Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, Sun Y, Jacobsen A, Sinha R, Larsson E, Cerami E, Sander C and Schultz N: Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal* 6(269): p11, 2013. PMID: 23550210. DOI: 10.1126/scisignal.2004088
- Darling MR, Schneider JW and Phillips VM: Polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma: a review and comparison of immunohistochemical markers. *Oral Oncol* 38(7): 641-645, 2002. PMID: 12167416. DOI: 10.1016/s1368-8375(02)00003-9
- Fehr A, Bullerdiek J, Jaekel T and Löning T: Molecular characterization of salivary gland carcinomas. *In: Salivary Gland Cancer - From Diagnosis to Tailored Treatment*. Springer International Publishing, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-02958-6_2
- Robert Koch Institut: Krebs in Deutschland 2015/2016. Available at: <https://edoc.rki.de/handle/176904/6012.3> [Last accessed on January 19, 2022]
- Prasad ML, Barbacioru CC, Rawal YB, Husein O and Wen P: Hierarchical cluster analysis of myoepithelial/basal cell markers in adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma. *Mod Pathol* 21(2): 105-114, 2008. PMID: 18084258. DOI: 10.1038/modpathol.3800983

- 20 Saghraevanian N, Mohtasham N and Jafarzadeh H: Comparison of immunohistochemical markers between adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma. *J Oral Sci* 51(4): 509-514, 2009. PMID: 20032601. DOI: 10.2334/josn.51.509
- 21 Ravi M, Boaz K, Natarajan S, Lewis A, Prasad M and Yellapurkar S: Expression of α -smooth muscle actin in benign and malignant salivary gland tumors: An immunohistochemical study. *Indian J Pathol Microbiol* 61(4): 479-484, 2018. PMID: 30303133. DOI: 10.4103/IJPM.IJPM_482_17
- 22 Beltran D, Faquin WC, Gallagher G and August M: Selective immunohistochemical comparison of polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 64(3): 415-423, 2006. PMID: 16487803. DOI: 10.1016/j.joms.2005.11.027
- 23 Schwarz S, Müller M, Ettl T, Stockmann P, Zenk J and Agaimy A: Morphological heterogeneity of oral salivary gland carcinomas: a clinicopathologic study of 41 cases with long term follow-up emphasizing the overlapping spectrum of adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 4(4): 336-348, 2011. PMID: 21577319.
- 24 Piscuoglio S, Fusco N, Ng CK, Martelotto LG, da Cruz Paula A, Katabi N, Rubin BP, Skálová A, Weinreb I, Weigelt B and Reis-Filho JS: Lack of PRKD2 and PRKD3 kinase domain somatic mutations in PRKD1 wild-type classic polymorphous low-grade adenocarcinomas of the salivary gland. *Histopathology* 68(7): 1055-1062, 2016. PMID: 26426580. DOI: 10.1111/his.12883
- 25 Garcia-Reyero J, Martinez Magunacelaya N, Gonzalez de Villambrosia S, Gomez Mediavilla A, Urquieta Lam M, Insunza A, Tonda R, Beltran S, Gut M, Gonzalez A and Montes-Moreno S: Diagnostic value of bone marrow core biopsy patterns in lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinaemia and description of its mutational profiles by targeted NGS. *J Clin Pathol* 73(9): 571-577, 2020. PMID: 31980558. DOI: 10.1136/jclinpath-2019-206282
- 26 Wang XD, Meng LJ, Hou TT, Zheng C and Huang SH: Frequency and distribution pattern of minor salivary gland tumors in a northeastern Chinese population: a retrospective study of 485 patients. *J Oral Maxillofac Surg* 73(1): 81-91, 2015. PMID: 25511958. DOI: 10.1016/j.joms.2014.08.019
- 27 Paleri V, Robinson M and Bradley P: Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 16(2): 163-169, 2008. PMID: 18327037. DOI: 10.1097/MOO.0b013e3282f70441
- 28 Fehr A, Werenicz S, Trocchi P, Falk M, Friedrich RE, Stammeler A, Stang A, Oesterling F, Khil L, Stenman G, Böcker W, Tiemann K and Lönig T: Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands revisited with special reference to histologic grading and CRT1/3-MAML2 genotyping. *Virchows Arch* 479(5): 975-985, 2021. PMID: 34231055. DOI: 10.1007/s00428-021-03146-x
- 29 Patel TD, Vazquez A, Marchiano E, Park RC, Baredes S and Eloy JA: Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck: A population-based study of 460 cases. *Laryngoscope* 125(7): 1644-1649, 2015. PMID: 25877006. DOI: 10.1002/lary.25266
- 30 Michal M, Skálová A, Simpson RH, Raslan WF, Curík R, Leivo I and Mukensnábl P: Cribriform adenocarcinoma of the tongue: a hitherto unrecognized type of adenocarcinoma characteristically occurring in the tongue. *Histopathology* 35(6): 495-501, 1999. PMID: 10583573. DOI: 10.1046/j.1365-2559.1999.00792.x
- 31 Skalova A, Sima R, Kaspirkova-Nemcova J, Simpson RH, Elmberger G, Leivo I, Di Palma S, Jirasek T, Gnepp DR, Weinreb I, Perez-Ordoñez B, Mukensnabl P, Rychly B, Hrabal P and Michal M: Cribriform adenocarcinoma of minor salivary gland origin principally affecting the tongue: characterization of new entity. *Am J Surg Pathol* 35(8): 1168-1176, 2011. PMID: 21716087. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31821e1f54
- 32 Michal M, Kacerovska D and Kazakov DV: Cribriform adenocarcinoma of the tongue and minor salivary glands: a review. *Head Neck Pathol* 7(Suppl 1): S3-S11, 2013. PMID: 23821209. DOI: 10.1007/s12105-013-0457-9
- 33 Seethala RR, Johnson JT, Barnes EL and Myers EN: Polymorphous low-grade adenocarcinoma: the University of Pittsburgh experience. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 136(4): 385-392, 2010. PMID: 20403856. DOI: 10.1001/archoto.2010.39
- 34 Xu B, Barbieri AL, Bishop JA, Chiose SI, Dogan S, Di Palma S, Faquin WC, Ghossein R, Hyrcza M, Jo VY, Lewis JS Jr, Lozada JR, Michal M, Pareja FG, Perez-Ordóñez B, Prasad ML, Purgina B, Reis-Filho JS, Scognamiglio T, Sebastiao APM, Seethala RR, Skálová A, Smith SM, Tekkeşin MS, Thompson LDR, Wasseman JK, Wenig BM, Weinreb I and Katabi N: Histologic classification and molecular signature of polymorphous adenocarcinoma (PAC) and cribriform adenocarcinoma of salivary gland (CASG): an international interobserver study. *Am J Surg Pathol* 44(4): 545-552, 2020. PMID: 31917707. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001431
- 35 Rooper L, Sharma R and Bishop JA: Polymorphous low grade adenocarcinoma has a consistent p63+/p40- immunophenotype that helps distinguish it from adenoid cystic carcinoma and cellular pleomorphic adenoma. *Head Neck Pathol* 9(1): 79-84, 2015. PMID: 24969705. DOI: 10.1007/s12105-014-0554-4
- 36 Persson F, Andrén Y, Winnes M, Wedell B, Nordkvist A, Gudnadottir G, Dahlenfors R, Sjögren H, Mark J and Stenman G: High-resolution genomic profiling of adenomas and carcinomas of the salivary glands reveals amplification, rearrangement, and fusion of HMGA2. *Genes Chromosomes Cancer* 48(1): 69-82, 2009. PMID: 18828159. DOI: 10.1002/gcc.20619
- 37 Mito JK, Jo VY, Chiose SI, Dal Cin P and Krane JF: HMGA2 is a specific immunohistochemical marker for pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma. *Histopathology* 71(4): 511-521, 2017. PMID: 28463429. DOI: 10.1111/his.13246
- 38 Teixeira LN, Janner ÉC, Teixeira T, Passador-Santos F, Martinez EF, Demasi APD, de Araújo NS and de Araújo VC: Comparison of p63/p40 expression with myoepithelial markers in minor salivary gland tumors. *Int J Surg Pathol* 27(4): 360-371, 2019. PMID: 30482064. DOI: 10.1177/1066896918813678
- 39 Seethala RR and Stenman G: Update from the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumours: Tumors of the salivary gland. *Head Neck Pathol* 11(1): 55-67, 2017. PMID: 28247227. DOI: 10.1007/s12105-017-0795-0
- 40 Mimica X, Katabi N, McGill MR, Hay A, Zaroni DK, Shah JP, Wong RJ, Cohen MA, Patel SG and Ganly I: Polymorphous adenocarcinoma of salivary glands. *Oral Oncol* 95: 52-58, 2019. PMID: 31345394. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.06.002

Received December 20, 2021

Revised January 17, 2022

Accepted January 19, 2022

II. Darstellung der Publikation

1.0 Einleitung

Nach Erstbeschreibung durch Freedman und Lumerman 1983 als lobuläres Karzinom wurde die für diese Studie untersuchte Tumorerkrankung der kleinen Speicheldrüsen im selben Jahr durch Batsakis et al. in terminales Gangkarzinom umbenannt (1, 2). Gemeint war jeweils eine Neoplasie mit zwar polymorphen Baumustern, jedoch uniformem Zell- und Kernbild, die trotz infiltrativen Wachstums ein indolentes Verhalten aufweist, d.h. selten Rezidive oder gar Metastasen hervorruft (1, 2).

Der 1984 publizierte Vorschlag von Evans und Batsakis (3), den Tumor als polymorphes low grade Adenokarzinom (PLGA) zu benennen und als eigenständige Tumorentität auszuweisen, wurde in nachfolgenden Publikationen und schließlich in der Klassifikation der WHO (**World Health Organisation**) von 1991 übernommen (4-9). Zuvor wurden aber auch bereits PLGA-Varianten, speziell eine Subgruppe mit prominenter papillärer Komponente („low-grade papillary adenocarcinoma“=LGPA/„papillary adenocarcinoma“=PAP) und aggressiverem klinischem Verlauf, einschließlich lokaler und distanter Metastasierung, sowie tumorbedingter Todesfälle diskutiert (10-12). Evans und Batsakis sprachen sich dafür aus, dass das LGPA eine Untergruppe des PLGAs darstellt und erhielten 1991 Unterstützung von der WHO (3, 9). Spätere, zunächst nur im Bereich der Zunge beschriebene Tumorvarianten mit einer prädominanten kribriformen Komponente („cribriform adenocarcinomas of tongue“=CAT), führten zu weiteren kontroversen Debatten über deren Zugehörigkeit zu den PLGAs, respektive ihrer tumorbiologischen Eigenständigkeit als Neoplasien mit aggressiverem Verlauf und höherem Metastasierungspotential (13). Nach der WHO (2005, 2017) werden die jetzt als kribriforme Adenokarzinome benannten Neoplasien der Speicheldrüsen („cribriform adenocarcinomas of salivary glands“=CASG) weiterhin unter die PLGAs subsumiert (14-16). Diese Entscheidung ergab sich aus morphologischen und molekularen Überschneidungen der genannten „Varianten“ und dem, trotz der erhöhten Rate an Lymphknotenmetastasen, insgesamt günstigen Gesamtüberleben. 2017 wurde allerdings die Terminologie der gesamten Tumorgruppe insoweit geändert, als dass das Präfix „low-grade“ entfällt. Danach soll in Zukunft die Bezeichnung polymorphes Adenokarzinom (PAC) verwendet werden.

Das PAC ist in 60% der Fälle im Gaumen anzutreffen. Des Weiteren können aber auch andere kleine Speicheldrüsen der Mundschleimhaut, seltener die drei großen, jeweils paarig angelegten Speicheldrüsen oder sogar die Tränendrüsen, betroffen sein (14, 17).

PAC haben im Durchschnitt einen Durchmesser von 2,1 cm und werden als feste, umschriebene Knötchen ohne Kapsel beschrieben. Der Tumor ist durch zytologische Einheitlichkeit, histologische Diversität und infiltratives Wachstum gekennzeichnet (14, 18, 19). Dieses betrifft häufig Nerven sowie sogar den Knochen bei Tumoren des Gaumens oder der Mandibula.

Die Zellen des PAC sind klein bis mittelgroß und einheitlich geformt. Auffällig sind die farblosen, ovalen, nur dezent hyperchromatischen Nuclei mit vereinzelt Nucleolen. Mitosen sowie Nekrosen sind im PAC selten. Ein besonderes Merkmal des PAC ist die strukturelle Variabilität der Tumormorphologie (14, 17, 20). Diese beinhaltet lobuläre (schießscharten-ähnliche), trabekuläre, mikrozystische, kribriforme und papilläre Baumuster. Kribriforme Formationen können sogar denen adenoidzystischer Karzinome ähneln und konventionell-mikroskopisch eine Unterscheidung erschweren

(14, 17, 21). Immunhistochemisch hilfreich sind hierbei unterschiedliche Expressionsmuster für p63 und p40. Diese werden z.B. in den meist aggressiver wachsenden, adenoidzystischen Karzinomen koexprimiert, währenddessen PAC zwar positiv für p63, jedoch negativ für p40 sein sollten (14, 22, 23). Molekular zeichnet das PAC und seine Varianten eine Mutation der PRKD-Gene aus (17, 21, 24).

Klinisch ist es entscheidend, das PAC von anderen Tumorerkrankungen, darunter einerseits den gutartigen pleomorphen Adenomen (PA), andererseits etwa den o.g. adenoidzystischen Karzinomen (ACC), abzugrenzen.

Die Behandlung der PAC besteht nämlich zumeist ausschließlich aus der Exzision in sano. Nur in den wenigen Fällen mit klinisch positiven Lymphknoten wird eine „Neck Dissection“ durchgeführt. Ebenso selten erfolgt eine additive Strahlentherapie (25-27).

Vor dem Hintergrund der o.g. diagnostischen Fehlerquellen bei gerade dieser Tumorerkrankung und den daraus resultierenden klinischen Unsicherheiten wurde diese wissenschaftliche Arbeit als Fallkontrollstudie konzipiert. Sie sollte

1. immunhistochemische und molekulare Resultate (differential-) diagnostisch validieren,
2. diese mit zugehörigen, individuellen Krankheitsverläufen korrelieren und
3. daraus in Kombination mit Daten des Landeskrebsregisters Nordrhein-Westfalen (NRW) eine Verbesserung der Verlaufsbeurteilung ableiten.

2.0 Material und Methoden

Das zwischen 2006 und 2021 an das Gerhard-Seifert-Referenzzentrum (GSR) zur Zweitmeinung geschickte Tumormaterial (total: n=1634 Tumorfälle) wurde im Rahmen dieser Studie überprüft. Dabei wurden 54 PAC identifiziert, für die personenbezogene, z.T. auch klinikbezogene Angaben der Einsender aus Pathologieinstituten vorrangig deutschsprachiger Länder, Objektträger mit histochemischen (**H**ämatoxin-**E**osin- (HE), **P**eriodic **A**cid **S**chiff- (PAS) und Alcianblau-Färbung) und immunhistochemischen Standardfärbungen (CK-5/6, CK-7, Calponin, p40, p63, sm-Actin, S100, Mib-1) sowie Paraffinblöcke zur Verfügung standen.

2.1 Patienten der GSR-Kohorte

Bei allen 54 Patienten wurde also zwischen 2006 und 2021 die Diagnose PAC gestellt, woraus sich potenzielle Beobachtungszeiträume von bis zu fünfzehn Jahren ergaben. Für eine Verlaufskontrolle wurde am 27.11.2017 ein positives Ethikvotum (PV5412) eingeholt. Damit konnten die oben genannten Einsendern, behandelnden Ärzten und Patienten folgende Fragen gestellt werden:

1. Liegen aktuell Tumorerkrankungen vor?
2. Besteht ein vorausgegangenes oder ein aktuelles Rezidiv-Ereignis?
3. Ist der Patient am PAC verstorben?
4. Ist der Betroffene aus anderer Ursache verstorben?
5. Ist ein Tumorstadium definierbar?

Tabelle 1: TNM-Klassifikation und R-Klassifikation

T-Status	
T0	Kein Hinweis auf einen Primärtumor
T1	Tumor maximal 2 cm, ohne extraparenchymales Wachstum
T2	Tumor über 2 cm, maximal 4 cm, ohne extraparenchymales Wachstum
T3	Tumor über 4 cm oder/und Tumor extraparenchymales Wachstum
T4	T4a Infiltration von Haut, Unterkiefer, äußeren Gehörgang oder N. facialis
	T4b Infiltration von Schädelbasis, Proc. pterygoideus, oder Tumorwachstum um A. carotis interna
Tx	Tumor kann nicht beurteilt werden
N-Status	
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Solitäre, ipsilaterale Metastase, maximal 3 cm

N2	N2a	Solitäre, ipsilaterale Metastase über 3 cm, maximal 6 cm
	N2b	Mehrere Metastasen, ipsilateral, keine über 6 cm
	N2c	Bilaterale oder kontralaterale Metastasen, keine über 6 cm
N3	N3a	Metastase über 6 cm
	N3b	Ausdehnung bis in die Supraklavikulargrube
Nx		Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
M-Status		
M1		Fernmetastasen
M0		Kein Hinweis auf Fernmetastasen
Mx		Vorliegen von Fernmetastasen nicht beurteilbar
R-Status		
R0		Kein Residualtumor. Patient vollständig tumorfrei
R1		Mikroskopischer Residualtumor
R2	R2a	Makroskopischer Residualtumor, mikroskopisch nicht bestätigt
	R2b	Makroskopischer Residualtumor, mikroskopisch bestätigt
Rx		Vorhandensein eines Residualtumors kann nicht beurteilt werden

„pT“ steht jeweils für einen histopathologisch beurteilten Primärtumor.

„pN“ steht jeweils für einen histopathologisch beurteilten regionären Lymphknoten.

2.2 Spezialuntersuchungen

Alle 54 Fälle wurden konventionell-mikroskopisch reevaluiert. Dabei wurden Besonderheiten wie Nervenscheideninfiltration oder Lymphgewebeeinfiltration sowie Knocheninvasion gegebenenfalls nachdokumentiert. Gegenstand der Reevaluation war auch die oben genannte Standardimmunhistochemie. Der Fokus lag dabei aber auf der Prüfung einer Restriktion der p40-Expressionen. Im Übrigen erfolgten spezielle DNA- und Proteinanalysen. Aufgrund von hauptsächlich Entnahme- und/oder Fixations-bedingter Gewebeartefakte eigneten sich allerdings nur 31/54 Fälle für PRKD1-, MYB- und HMGA1/PLAG1-Nachuntersuchungen. Dabei wurden PRKD1-Punktmutationen (E710D) mittels Sanger-Sequenzierung ermittelt. Fälle mit einem PRKD1-Wildtyp wurden dann zusätzlich mittels MYB-FISH (D-5088-100-OG (MetaSystems Probes GMBH) zum Ausschluss eines ACC und mit HMGA2- und PLAG1-Immunhistochemie zum Ausschluss eines PA untersucht. Die HMGA2 und PLAG1 Immunhistochemie wurde halbautomatisch auf der BOND II Plattform (Leica Biosystems) unter Verwendung von Antikörpern gegen HMGA2 (clone D1A7, 1:1000 dilution, Cell Signaling) und PLAG1 (clone 3B7, 1:100 dilution, Cell Signaling) durchgeführt.

2.3 Statistische Methoden

Für die GSR-Kohorte haben wir das kumulative, progressionsfreie 5-Jahres-Überleben geschätzt und entsprechende Standardfehler einbezogen. Als Überlebenszeit haben wir das Zeitintervall zwischen Datum der Erstdiagnose sowie Datum des Wiederauftretens der Krankheit berechnet. Patienten ohne ein Krankheitsrezidiv wurden am Todestag oder Datum des letzten Kontrollbesuches rechtszensiert.

Für die statistische Auswertung standen uns zusätzlich 102 PAC-Fälle des Krebsregisters aus NRW zur Verfügung. Für die aus GSR-Kohorte und NRW-Kohorte zusammengefügte Gruppe berechneten wir geschlechtsstratifizierte, altersstandardisierte Inzidenzraten nach Kalenderjahr, einschließlich des entsprechenden Standardfehlers. Darüber hinaus schätzten wir die relative 5-Jahres-Überlebensrate nach Tumortyp (d.h. „gewöhnliche“ PAC vs. PAP/CASG) mithilfe der Periodenanalyse.

3.0 Ergebnisse

Die eingeholten Daten dieser Fallkontrollstudie für „gewöhnliche“ PAC und der Varianten (PAP/CASG) machten zum einen den Vergleich nach Geschlecht, Alter und Lokalisation möglich, und zum anderen einen Vergleich nach Überleben, Rezidiv und Sterblichkeit bzw. „Dead of Disease“ (DOD). Des Weiteren wurden die vom Einsender bestimmten (Differential-) Diagnosen gelistet, und die Ergebnisse für PRKD1-/MYB-Genstatus und p40-/HMGA1-/PLAG1-Expression ausgewertet. Alle Patienten wurden mit einer chirurgischen Resektion des Primärtumors behandelt. In den meisten Fällen wurde keine zusätzliche Therapie benötigt. Nur wenige Patienten mit einer High-Stage-Erkrankung bekamen zusätzlich eine Hals-Dissektion und/oder adjuvante Radiotherapie.

3.1 Epidemiologie

Die untersuchten GSR-Patienten hatten ein Männer-Frauen-Verhältnis von 2,8:1. Das mittlere Alter aller Patienten lag bei 64,5 Jahren. Das mittlere Alter bei Frauen lag mit 62 Jahren etwas über dem der Männer mit 58,8 Jahren. 81 Prozent der Patienten waren bei Erstdiagnose über 50 Jahre alt. Auffällig ist, dass nur je ein Patient unter 18 Jahren und ein Patient unter 30 Jahren mit einem polymorphen Adenokarzinom diagnostiziert wurden.

3.2 Lokalisation

Von dem Tumor betroffen waren zu 93% (50 Fälle) die kleinen Speicheldrüsen. Unter diesen befanden sich 33 (61,11%) am harten sowie weichen Gaumen. Andere Lokalisationen waren in drei Fällen die Oberlippe, in zwei Fällen die Unterlippe. In 12 Fällen war die Lokalisation der kleinen Speicheldrüsen unklar (=Mundschleimhaut, Not Otherwise Specified (NOS)). In vier Fällen (7,41%) war die Glandula parotis betroffen. In 20 Fällen (37%) wurde eine lymphovaskuläre und/oder eine Nervenscheideninfiltration festgestellt.

3.3 Tumortyp

Zwischen 2006 und 2021 wurden im GSR 54 Fälle als PAC diagnostiziert. Von diesen Fällen wurde einer als PAP klassifiziert, mit einer papillären Komponente von über

50%, und zwei als CASG klassifiziert, mit kribriformen Komponenten von über 50%.

3.4 Primäre (Einsender-) Diagnose

Von den 54 im GSR reevaluierten PAC wurden nur 18 (33,3%) vom Einsendepathologen primär als PAC ausgewiesen. In 34 Fällen wich die Initialdiagnose davon ab. In zwei Fällen wurde keine Diagnose übermittelt. Von den 34 Initialdiagnosen wurde in 8 Fällen (23,5%) vom Einsender ein ACC und in 6 Fällen (17,7%) ein PA vermutet.

3.5 Spezialuntersuchungen

Alle im GSR verifizierten PAC wiesen eine Restriktion der p40-Expressionen auf. 31 Fälle mit adäquatem Gewebematerial konnten unter anderem auf die Punktmutation PRKD1 E710D analysiert werden, das heißt zugleich, dass 23/54 Fälle (43%) aus Zusatzuntersuchungen ausschieden. Immerhin wiesen 16/31 der untersuchten Fälle (61,6%) eine PRKD1-E710D-Punktmutation auf. Des Weiteren wiesen alle PRKD1-Wildtyp-Fälle keine MYB-Translokationen sowie keine HMGA2/PLAG1-Proteinexpressionen auf, sodass das Vorliegen eines adenoidzystischen Karzinoms oder gar eines pleomorphen Adenoms zusätzlich ausgeschlossen werden konnte.

3.6 Stadium

Von 54 Patienten wurden 44 der Tumore (T) als solche im niedrigen Stadium (pT1/pT2) und nur drei als Tumore im hohen Stadium (> pT2) klassifiziert. Sieben Patienten konnten aufgrund fehlenden Materials zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht klassifiziert werden. Regionale Halsmetastasen (pN1) wurden nur bei einem Patienten diagnostiziert. Bei drei Patienten konnten regionale Halsmetastasen ausgeschlossen werden (pN0). Für 50 Patienten war ein N-Stadium nicht klassifizierbar (NX). Metastasen (M1) wurden bei einem Patienten nachgewiesen, bei zwei Patienten konnten sie ausgeschlossen werden (M0). Bei 51 Patienten war eine Klassifizierung der Metastasen nicht möglich (MX). Bei 32 Patienten wurden Tumorreste an den Rändern entdeckt (R1). Diese stammten alle aus den kleinen Speicheldrüsen. Bei 7 Patienten konnten Tumorreste ausgeschlossen werden (R0). Unter diesen R0-Fällen stammten vier aus den großen Speicheldrüsen und drei aus den kleinen Speicheldrüsen. Für 15 Patienten wurden Zweifel über den Randstatus erhoben und dieser somit als RX eingestuft. (RX).

3.7 Resultate der Verlaufskontrolle

Für 17 von 54 Patienten konnten Follow-up-Daten erhoben werden. Bei zwei von 17 Patienten trat ein Lokalrezidiv auf, einmal im selben Jahr nach Erstdiagnose und Tumorresektion und einmal 3 Jahre danach. In unserer Kohorte wurden keine tumorbedingten Todesfälle gemeldet, und nur zwei Patienten starben an nicht tumorbedingten Ursachen. Zwei von 17 Patienten entwickelten einen distanten Zweittumor.

Die beiden genannten Rezidive wurden bei pT1-Tumorerkrankungen ohne lymphonodale oder distante Metastasen festgestellt. Ein Tumor wies besagte PRKD1-E710D-Punktmutation auf, der 3 Jahre später rezidivierende Tumor erwies sich als PRKD1-Wildtyp-Fall. Keiner der beiden wies eine papilläre oder kribriforme

Komponente auf.

3.8 Vergleich CASG, PAP hinsichtlich T-, N- und M-Status sowie der histologischen Beurteilung der Resektionsgrenzen (n.d. = nicht dokumentiert)

Tabelle 2: Vergleich CASG und PAP

Fall mit >50% papillärer Komponente	pT3	N1	M1	R1	Kein Rezidiv	n.d.
Fall 1 mit >50% kribriformer Komponente	pT1	N0	M0	R1	Rezidivstatus unklar	PRKD1-E710D-Punktmutation
Fall 2 mit >50% kribriformer Komponente	pT1	N0	M0	Rx	Rezidivstatus unklar	PRKD1-Wildtyp

In unserer Kohorte fanden wir in zwei Fällen eine kribriforme Komponente von über 50% und in einem Fall eine papilläre Komponente von über 50% auf. Alle drei Tumore waren am Gaumen lokalisiert. Auffällig ist, dass der Tumor mit erhöhter papillärer Komponente als einziger dieser Kohorte positiven Lymphknotenbefall sowie Fernmetastasen aufweist. Mit einer pT3 Einstufung zählt er auch zu den wenigen High-Stage-Fällen dieser Kohorte. Bei den kribriformen Tumoren handelt es sich jeweils um pT1 Tumore mit einem PRKD1-E710D-Punktmutations-Fall und einen PRKD1-Wildtyp-Fall. Die Ränder wiesen beim papillären Tumor sowie einen der kribriformen Tumore noch Tumorreste an den Rändern auf (R1). Der kribriforme PRKD1-Wildtyp-Fall wurde aufgrund von Zweifeln über tumorfreie Resektionsgrenzen als RX eingestuft.

4.0 Diskussion

Nach der aktuellen Klassifikation der **World Health Organisation (WHO)** ist die Diversität der Tumorentitäten bei Speicheldrüsentumoren, bei besonders niedriger Inzidenz, so hoch wie bei keiner anderen Tumorerkrankung. Unter anderen gehören dazu das polymorphe Adenokarzinom (PAC), das adenoidzystische Karzinom (ACC), das Mukoepidermoidkarzinom (MEC) und das pleomorphe Adenom (PA). Das PAC ist ein maligner epithelialer Tumor der Speicheldrüsen und der zweithäufigste intraorale maligne Tumor dieser Neoplasien (3, 28). Das PAC zeichnet sich durch architektonische Vielfalt, zytologische Uniformität und indolentes klinisches Verhalten aus (14). Insgesamt weisen PAC lokale Rezidiv-Raten von 10–33% und regionale Metastasen von 9–15% auf. Fernmetastasen und krankheitsbedingter Tod sind selten (14, 18, 19, 29).

Anders als in der Literatur beschrieben, waren die Glandulae parotis mit 7,41% (4 Fälle) recht häufig betroffen (14, 20, 30). Die Lokalisation der Tumore war in unserer Studie mit 61,11% am Gaumen jedoch wieder typisch für PAC (20, 25). Zwei Tumore dehnten sich zudem direkt in die benachbarten Gewebe aus (pT4) (25). Lokalisiert

waren beide Tumore im Gaumen. Es wurden zwei lokale Rezidive (12,5%) festgestellt, jeweils ein PRKD1-Wildtyp-Fall und ein p.E710D-positives, gewöhnliches PAC. Damit liegen wir im Durchschnitt, der in der aktuellen Literatur vertreten wird. Eigentlich wird CASG ein höheres Rezidiv-Risiko zugesprochen als gewöhnlichen PAC (20). Dies konnten wir in der GSR-Kohorte aber nicht nachweisen. Durch das aggressivere Verhalten von CASG im Vergleich zu PAC wird sogar über die Eigenständigkeit von CASG als Entität diskutiert (20). Beide der Tumore, mit einer kribriformen Komponente von über 50%, waren am Gaumen lokalisiert. Dies widerspricht wiederum der für CASG so typischen Lokalisation im Zungenboden (16). Der Tumor mit einer papillären Komponente von über 50% befand sich ebenfalls am Gaumen. Bei diesem wurden Fernmetastasen sowie ein regionaler Lymphknotenbefall festgestellt. Untypisch ist für das PAC, dessen Alter in 70% der Fälle zwischen 50 und 70 Jahren bei Erstdiagnose liegt, dass ein Tumor bei einer erst 13-Jährigen auftrat (14). Mit einem Frauen-Männer-Verhältnis von 2,8:1 liegen wir etwas über dem Durchschnitt, der eher bei 2:1 liegt (14, 20, 25).

Die Diagnosestellung für das PAC ist besonders anspruchsvoll (21). Dies spiegelt sich besonders häufig in den nicht korrekten Primärdiagnosen, die das GSR erhält, wider. Nur in 18 Fällen (33,3%) diagnostizierten die einsendenden Pathologen korrekt ein PAC. In den anderen Fällen wurden häufig ACC oder PA vermutet. Ausschlaggebend für diese diagnostische Schwierigkeit ist die enorme strukturelle und zelluläre Heterogenität der Speicheldrüsentumore.

Um die herausfordernde Diagnosestellung des PAC in einer Gruppe von heterogenen Karzinomen zu erleichtern, untersuchten wir diagnostische Marker (immunhistochemische und molekulare) für das PAC. Die Unterscheidung zwischen PAC und ACC ist aufgrund des wesentlich indolenteren klinischen Verhaltens des PAC von besonderer Wichtigkeit.

Der Antikörper p40 ist eine Isoform von p63 und wurde kürzlich als potentieller Marker für myoepitheliale Zellen erkannt (22). Ein immunhistochemisches Panel mit p40/p63 könnte hilfreich sein, um myoepitheliale Komponenten darzustellen. Mit diesem Panel würden sich bei einem ACC und einem PA Expressionen von p40 sowie p63 darstellen lassen (p40+/p63+). Das PAC besitzt jedoch keine myoepitheliale Komponente und würde somit keine oder nur wenig Expression von p40 aufweisen (p40-/p63+).

Fehlende p40-Expression oder zumindest niedrige p40-Expression wären somit ein nützliches Werkzeug, um zwischen PAC und insbesondere ACC und PA zu unterscheiden (22, 23). Dies hätte in 14 zusätzlichen Fällen zu einer richtigen Primärdiagnose unserer Einsender führen können, da diese ursprünglich als ACC oder PA eingestuft wurden.

Eine PRKD1-Mutation ist typisch für PAC. Diese PRKD1-p.E710D-Veränderung befindet sich innerhalb der katalytischen Schleife der Kinasedomäne und wird als aktivierend und onkogen beschrieben. PRKD1-E710D-Mutationen sind weitgehend auf klassische PAC beschränkt, wobei nur etwa 10% der Tumore vom CASG-Typ diese Mutation aufweisen (23). In neusten Studien werden hingegen Umlagerungen von PRKD1-3, einschließlich ARID1A-PRKD1- und DDX3X-PRKD1-Genfusionen, in ~80% der Fälle mit CASG-Morphologie und in weniger als 10% der Fälle mit klassischer PAC-Morphologie beobachtet (28). Zudem zeigen >70% der PAC PRKD1-E710D-Hotspot-Mutationen, die sich innerhalb der katalytischen Schleife der Kinasedomäne befinden. (15, 17, 21, 29). Die molekularen Marker, speziell für CASG, konnten in dieser Studie leider nicht näher bearbeitet werden. Somit sind zusätzliche

Studien erforderlich, um die biologischen und pathogenetischen Beziehungen zwischen PAC und CASG zu klären und molekulare Ziele für die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien für diese Patienten zu identifizieren.

In 16 Fällen wurde in unserer Studie eine PRKD1-E710D-Punktmutation nachgewiesen. 63% (34/54) der PAC, die an das Gerhard-Seifert-Referenzzentrum geschickt wurden, wurden ursprünglich als Nicht-PAC diagnostiziert. In 26,5% (9/34) dieser Tumoren wurde eine PRKD1-E710D-Punktmutation nachgewiesen und hätte daher die anfängliche Diagnose bereits in Richtung PAC führen können.

Das ACC ist durch wiederkehrende Chromosomentranslokationen, die zu potenten onkogenen Genfusionen (MYB-NFIB-Fusionen) führen, gekennzeichnet. Diese Fusion wurde bisher nur beim ACC nachgewiesen. Für das PAC sind bisher keine onkogenen Genfusionen bekannt (21). Daher ist die MYB-NFIB-Fusion ein weiterer nützlicher diagnostischer Biomarker zur Diagnosestellung des ACC. In dieser Studie haben wir die Fälle, die keine PRKD1-E710D-Punktmutation aufwiesen, mittels MYB-FISH getestet, um die Differentialdiagnose des ACC zusätzlich durch fehlende MYB-NFIB Fusionen auszuschließen. Keiner dieser getesteten Tumore wies eine entsprechende Fusion auf.

Das PA hingegen wird durch wiederkehrende chromosomale Umgruppierungen der PLAG1- und HMGA2-Gene klassifiziert. Es gibt bisher fünf identifizierte PLAG1- und HMGA2-enthaltende Fusionsgene, die alle tumorspezifisch sind. Diese können somit als diagnostische Marker für PA verwendet werden und eignen sich auch zur Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren (31-35). Wir untersuchten die Fälle, die keine PRKD1-E710D-Punktmutation aufwiesen, mit Antikörpern gegen jeweils PLAG1 und HMGA2, um die Differentialdiagnose des PA zusätzlich auszuschließen. Keiner dieser getesteten Tumore wies entsprechende Onkoproteine auf.

Mit nur 17 Follow-up-Fällen in der GSR-Kohorte ist es schwierig, valide Aussagen zu treffen. Es wurde aber in dieser Kohorte festgestellt, dass auch PAC ohne hohen kribriformen oder papillären Anteil lokal rezidivieren können, wie in dieser Kohorte in zwei Fällen.

Um statistisch validere Aussagen zu treffen, haben wir die GSR-Kohorte mit der LKR-NRW-Kohorte zusammengelegt.

Von den 188 Patienten beider Kohorten sind 20 Patienten verstorben, ohne dass der Speicheldrüsentumor verantwortlich war. In vier Fällen waren die Speicheldrüsentumore als Todesursache benannt. Zwei davon wurden als CASG und zwei als gewöhnliches PAC eingestuft. Drei der vier Patienten hatten einen Tumor im Stadium pT3 oder pT4. Der verbleibende tumorbedingte Tod trat bei einem Patienten auf, bei dem ein pT1-PAC der Ohrspeicheldrüse diagnostiziert wurde. Keiner dieser vier Patienten wies hingegen Metastasen auf. Für die gesamte Kohorte ergab sich somit ein 10-Jahres-Überleben von 96%. Für Patienten, die an einer PAC-Tumor-Variante ohne erhöhten papillären oder kribriformen Anteil erkrankt sind, ist das 10-Jahres-Überleben mit 97% etwas höher. Bei Patienten mit einem CASG/PAP Tumor ist das 10-Jahres-Überleben mit 90% deutlich geringer. Einen noch deutlicheren Unterschied wiesen Low-Stage-Tumore (pT1 und pT2) mit einem 10-Jahres-Überleben von 98% im Vergleich zu High-Stage-Tumoren (pT3 und pT4) mit einem 10-Jahres-Überleben von 75% auf.

Ungewöhnlich ist, dass wir ein DOD bei einem Low-Stage-PAC (pT1) diagnostizieren konnten sowie seine Lokalisation in der Glandula parotis.

In der PAP/CASG-Subgruppe war die 10-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit im Vergleich zu PAC somit deutlich reduziert. Für diese Subgruppe umfassten negative Prognosefaktoren vor allem die Tumorgröße zum Zeitpunkt der Diagnose.

5.0 Zusammenfassung

In Anbetracht der diagnostischen Herausforderungen im Zusammenhang mit PAC und seinen Varianten überrascht es nicht, dass nur 33,3 % der in die GSR-Kohorte eingeschlossenen Fälle primär als PAC eingesandt wurden, und somit 63 % (34/54) initial nicht korrekt diagnostiziert wurden. Dabei rief die nahezu obligate Restriktion der p40-Expression bereits Zweifel an der Primärdiagnose hervor. Des Weiteren wurden in 52 % der Tumore mit adäquatem Gewebematerial eine PRKD1-E710D-Punktmutation und bei PAC mit PRKD1-Wildtyp keine MYB-Translokation oder HMGA2/PLAG1-Proteinexpressionen nachgewiesen. Immerhin konnte so die PAC-Diagnose bei 14 Patienten, bei denen ursprünglich ACC und PA diagnostiziert worden waren, gesichert werden.

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse

1. die differentialdiagnostische Bedeutung der o.g. Marker,
2. das überraschende Vorkommen von PAC auch in großen Speicheldrüsen,
3. eine zwar seltene, aber potenziell zu beachtende Mortalität selbst bei „gewöhnlichen“ und Low-Stage PAC und
4. die insgesamt zwar günstige Prognose der PAC, mit Ausnahme von Todesfällen bei CASG der großen Speicheldrüsen.

6.0 Abstract

Background/Aim:

Polymorphous adenocarcinoma (PAC) is a low-grade salivary gland malignancy in contrast to variants with papillary (PAP) or cribriform (CASG) architecture and confers the second most common malignancy of minor salivary glands. Our study aimed to identify prognostic factors and to evaluate histomorphological and molecular diagnostic criteria of PACs.

Patients and Methods:

A series of 155 PACs, including 10 PAPs and 12 CASGs from the population-based Cancer Registry of North Rhine-Westphalia (LKR-NRW) and the Hamburg Salivary Gland Reference Centre (HRC) were analyzed.

Results:

One fifth of the tumors were located in the major salivary glands and PACS/CASGS invariably lacked p40 expression. Fifty-two percent of PACs showed a *PRKD1* E710D mutation. Ordinary PACs had a disease-specific 10-year survival probability of 97% compared to 90% when combining PAPs and CASGs. T-stage at diagnosis was a prognostic factor with 98% for stages T1/T2 *versus* 75% for T3/T4.

Conclusion:

Diagnostic algorithms for the PAC/CASG spectrum of tumors need to be improved and should include molecular markers.

7.0 Literaturverzeichnis

1. Freedman PD, Lumerman H. Lobular carcinoma of intraoral minor salivary gland origin. Report of twelve cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983;56(2):157-66.
2. Batsakis JG, Pinkston GR, Luna MA, Byers RM, Sciubba JJ, Tillery GW. Adenocarcinomas of the oral cavity: a clinicopathologic study of terminal duct carcinomas. *J Laryngol Otol.* 1983;97(9):825-35.
3. Evans HL, Batsakis JG. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary glands. A study of 14 cases of a distinctive neoplasm. *Cancer.* 1984;53(4):935-42.
4. Mitchell DA, Eveson JW, Ord RA. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary glands--a report of three cases. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1989;27(6):494-500.
5. Wenig BM, Harpaz N, DelBridge C. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of seromucous glands of the nasopharynx. A report of a case and a discussion of the morphologic and immunohistochemical features. *Am J Clin Pathol.* 1989;92(1):104-9.
6. Regezi JA, Zarbo RJ, Stewart JC, Courtney RM. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary gland. A comparative histologic and immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991;71(4):469-75.
7. Nicolatou O, Kakarantza-Angelopoulou E, Angelopoulos AP, Anagnostopoulou S. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the palate: report of a case with electron microscopy. *J Oral Maxillofac Surg.* 1988;46(11):1008-13.
8. Gnepp DR, Chen JC, Warren C. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of minor salivary gland. An immunohistochemical and clinicopathologic study. *Am J Surg Pathol.* 1988;12(6):461-8.
9. Seifert G, Brocheriou C, Cardesa A, Eveson JW. WHO international histological classification of tumours. Tentative histological classification of salivary gland tumours. *Pathol Res Pract.* 1990;186(5):555-81.
10. Allen MS, Jr., Fitz-Hugh GS, Marsh WL, Jr. Low-grade papillary adenocarcinoma of the palate. *Cancer.* 1974;33(1):153-8.
11. Mills SE, Garland TA, Allen MS, Jr. Low-grade papillary adenocarcinoma of palatal salivary gland origin. *Am J Surg Pathol.* 1984;8(5):367-74.
12. Slootweg PJ, Muller H. Low-grade adenocarcinoma of the oral cavity. A comparison between the terminal duct and the papillary type. *J Craniomaxillofac Surg.* 1987;15(6):359-64.
13. Michal M, Skálová A, Simpson RH, Raslan WF, Curík R, Leivo I, et al. Cribriform adenocarcinoma of the tongue: a hitherto unrecognized type of adenocarcinoma characteristically occurring in the tongue. *Histopathology.* 1999;35(6):495-501.
14. El-Naggar AK, Chan JKC, Rubin Grandis J, Takata T, Slootweg PJ, International Agency for Research on Cancer. WHO classification of head and neck tumours 2017. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2017.
15. Hernandez-Prera JC. Historical evolution of the polymorphous adenocarcinoma. *Head Neck Pathol.* 2019;13(3):415-22.
16. Seethala RR, Stenman G. Update from the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumours: Tumors of the salivary gland. *Head Neck Pathol.* 2017;11(1):55-67.
17. Paleri V, Robinson M, Bradley P. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;16(2):163-9.

18. Evans HL, Luna MA. Polymorphous low-grade adenocarcinoma: a study of 40 cases with long-term follow up and an evaluation of the importance of papillary areas. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(10):1319-28.
19. Castle JT, Thompson LD, Frommelt RA, Wenig BM, Kessler HP. Polymorphous low grade adenocarcinoma: a clinicopathologic study of 164 cases. *Cancer.* 1999;86(2):207-19.
20. Xu B, Aneja A, Ghossein R, Katabi N. Predictors of outcome in the phenotypic spectrum of polymorphous low-grade adenocarcinoma (PLGA) and cribriform adenocarcinoma of salivary gland (CASG): A retrospective study of 69 patients. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(11):1526-37.
21. Persson F, Fehr A, Sundelin K, Schulte B, Loning T, Stenman G. Studies of genomic imbalances and the MYB-NFIB gene fusion in polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck. *Int J Oncol.* 2012;40(1):80-4.
22. Rooper L, Sharma R, Bishop JA. Polymorphous low grade adenocarcinoma has a consistent p63+/p40- immunophenotype that helps distinguish it from adenoid cystic carcinoma and cellular pleomorphic adenoma. *Head Neck Pathol.* 2015;9(1):79-84.
23. Teixeira LN, Janner EC, Teixeira T, Passador-Santos F, Martinez EF, Demasi APD, et al. Comparison of p63/p40 expression with myoepithelial markers in minor salivary gland tumors. *Int J Surg Pathol.* 2019;27(4):360-71.
24. Weinreb I, Piscuoglio S, Martelotto LG, Waggott D, Ng CK, Perez-Ordóñez B, et al. Hotspot activating PRKD1 somatic mutations in polymorphous low-grade adenocarcinomas of the salivary glands. *Nat Genet.* 2014;46(11):1166-9.
25. Patel TD, Vazquez A, Marchiano E, Park RC, Baredes S, Eloy JA. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck: A population-based study of 460 cases. *Laryngoscope.* 2015;125(7):1644-9.
26. Kimple AJ, Austin GK, Shah RN, Welch CM, Funkhouser WK, Zanation AM, et al. Polymorphous low-grade adenocarcinoma: a case series and determination of recurrence. *Laryngoscope.* 2014;124(12):2714-9.
27. Vander Poorten V, Triantafyllou A, Skalova A, Stenman G, Bishop JA, Hauben E, et al. Polymorphous adenocarcinoma of the salivary glands: reappraisal and update. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2018;275(7):1681-95.
28. Waldron CA, el-Mofty SK, Gnepp DR. Tumors of the intraoral minor salivary glands: a demographic and histologic study of 426 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988;66(3):323-33.
29. Seethala RR, Johnson JT, Barnes EL, Myers EN. Polymorphous low-grade adenocarcinoma: the University of Pittsburgh experience. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;136(4):385-92.
30. Mimica X, Katabi N, McGill MR, Hay A, Zanoni DK, Shah JP, et al. Polymorphous adenocarcinoma of salivary glands. *Oral Oncol.* 2019;95:52-8.
31. Barca I, Mignogna C, Donato G, Cristofaro MG. Expression of PLAG1, HMGA1 and HMGA2 in minor salivary glands tumours. *Gland Surg.* 2021;10(5):1609-17.
32. Afshari MK, Fehr A, Nevado PT, Andersson MK, Stenman G. Activation of PLAG1 and HMGA2 by gene fusions involving the transcriptional regulator gene NFIB. *Genes Chromosomes Cancer.* 2020;59(11):652-60.
33. Mito JK, Jo VY, Chiosea SI, Dal Cin P, Krane JF. HMGA2 is a specific immunohistochemical marker for pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma. *Histopathology.* 2017;71(4):511-21.
34. Andreasen S, von Holstein SL, Homoe P, Heegaard S. Recurrent rearrangements of the PLAG1 and HMGA2 genes in lacrimal gland pleomorphic

adenoma and carcinoma ex pleomorphic adenoma. *Acta Ophthalmol.* 2018;96(7):e768-e71.

35. Persson F, Andren Y, Winnes M, Wedell B, Nordkvist A, Gudnadottir G, et al. High-resolution genomic profiling of adenomas and carcinomas of the salivary glands reveals amplification, rearrangement, and fusion of HMGA2. *Genes Chromosomes Cancer.* 2009;48(1):69-82.

III. Darstellung des Eigenanteils:

- *Literaturrecherche*
- *Sammeln, Sortieren und Auswerten der PAC-Fälle aus der Datenbank des Gerhard- Seifert-Referenzzentrums (n = 54)*
- *Statistischen Analyse der Daten des GSR*
- *Mitarbeit am Antrag auf klinisches Studienvorhaben bei der Hamburger Ärztekammer, positives Ethikvotum am 27. 11. 2017*
- *Datenerhebung: Telefon- oder Schriftkontakt mit Einsendern bzw. Pathologen, behandelnden Ärzten und schließlich mit dem Patienten selbst*
- *Systematische Reevaluation des klinischen Verlaufs und Berechnung der klinischen Daten*
- *Beteiligung an der Erstellung des Manuskriptes*

Anteil der Co-Autoren:

- *Immunhistochemische Färbungen*
- *Spezialuntersuchungen PRKD1 Mutationen*
- *Einstufung der PAC, PAP, CASG*
- *Datenbankakquisition, Datenbankgenerierung und statistische Analyse*
- *Erstellen des Manuskriptes*
- *Studiendesign, Studienkoordination und fachliche Revision des Manuskriptes*

IV. Danksagung

Mein Dank gilt zunächst meinem Doktorvater, Herrn Professor Friedrich, bei dem ich mich insbesondere für die immerwährende Unterstützung, die sehr gute Betreuung und die vielen förderlichen Ratschläge bedanken möchte. Auch für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich herzlich bedanken.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Professor Löning für seinen fachlichen Rat, die Hilfe bei Problemlösungen jeglicher Art sowie den maßgeblichen Einsatz für die Publikation der Arbeit.

Ich bedanke mich auch herzlich bei allen, die ihren Beitrag zu der erfolgreichen Publikation geleistet haben, allen voran Herrn Dr. Markus Falk und Herrn Florian Oesterling für die nette Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt nicht zuletzt meinen Eltern Katrin und Gerhard, meinen Geschwistern Henry, Gloria und Victor, und meinen Freunden, die mich während meiner gesamten Ausbildung unterstützten und mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite standen und mir somit die notwendige Ruhe und Sicherheit für die Erstellung dieser Arbeit gaben. Meinem Freund Lennart danke ich dafür, dass er immer für mich da ist und für seine Unterstützung in allen Lebenslagen, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

V. Lebenslauf

Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

VI. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: 