

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Pathologie

Prof. Dr. med. Guido Sauter

Prävalenz der MUC6 Expression in humanen Tumoren

Dissertation

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

vorgelegt von:

Sebastian Johann August Schließer
aus Gießen

Hamburg 2022

(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)

**Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am:
22.12.2022**

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

Prüfungsausschuss, die Vorsitzende: Prof. Dr. Harriet Wikman-Kocher

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Guido Sauter

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	4
1.1 Allgemein.....	4
1.2 Muzine.....	8
1.3 MUC6.....	12
2. Material und Methoden.....	22
2.1 Tissue-Micro-Array Methode.....	22
2.2 Multi-Tumor-Array.....	26
2.3 Immunhistochemie (IHC).....	27
2.4 Statistik.....	28
3. Ergebnisse.....	32
3.1 Technische Aspekte.....	32
3.2 MUC6 Expression in Tumoren.....	32
4. Diskussion.....	50
5. Zusammenfassung.....	57
6. Conclusion.....	58
7. Literaturverzeichnis.....	59
8. Abbildungsverzeichnis.....	70
9. Tabellenverzeichnis.....	74
10. Abkürzungsverzeichnis.....	75
11. Danksagung.....	76
12. Lebenslauf.....	77
13. Eidesstattliche Versicherung.....	78

1. Einleitung

1.1 Allgemein

Krebserkrankungen sind in Deutschland hinter Herz-/Kreislaufkrankungen die zweithäufigste Todesursache. Bei etwa einem Viertel aller Verstorbenen kann die Ursache auf ein Krebsleiden zurückgeführt werden. (Statistisches Bundesamt 2021)

In Deutschland werden jährlich ca. 480.000 Krebsdiagnosen gestellt. (Abbildung 1)

Fast die Hälfte aller Menschen erkranken im Laufe ihres Lebens mindestens einmal an einer Krebserkrankung. Die Therapie von Krebserkrankungen führt zur Heilung von ca. 50% aller Patienten und auch bei denjenigen, welche letztlich an den Folgen ihrer Tumorerkrankung versterben, führt eine angemessene Therapie häufig zu einer teils deutlichen Lebensverlängerung, auch unter guter Lebensqualität. (Robert Koch Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2019)

Inzidenz	2015		2016		Prognose für 2020	
	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer
Neuerkrankungen	235.410	259.320	233.570	258.520	242.260	267.520
rohe Erkrankungsrate ¹	567,1	645,5	559,6	636,7	582,8	661,3
standardisierte Erkrankungsrate ^{1,2}	353,0	430,4	348,3	422,9	354,0	414,3
mittleres Erkrankungsalter ³	69	70	69	70		
Mortalität	2015		2016		2017	
	Frauen	Männer	Frauen	Männer	Frauen	Männer
Sterbefälle	103.071	122.452	105.219	124.608	104.077	122.603
rohe Sterberate ¹	248,3	304,8	252,1	306,9	248,5	300,7
standardisierte Sterberate ^{1,2}	124,2	189,1	125,1	188,3	123,0	181,4
mittleres Sterbealter ³	76	74	76	75	76	75
Prävalenz und Überlebensraten			5 Jahre		10 Jahre	
			Frauen	Männer	Frauen	Männer
Prävalenz			824.800	840.200	1.444.100	1.437.300
absolute Überlebensrate (2015–2016) ⁴			58	50	47	38
relative Überlebensrate (2015–2016) ⁴			65	59	61	54

¹ je 100.000 Personen ² altersstandardisiert nach alter Europabevölkerung ³ Median ⁴ in Prozent (niedrigster und höchster Wert der einbezogenen Bundesländer)

Abbildung 1. Übersicht wichtiger epidemiologischer Maßzahlen für Deutschland. Quelle: Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12.Ausgabe. Robert-Koch Institut. Berlin 2019. [Online im Internet.] URL: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf?__blob=publicationFile [Stand: 26.01.2022, 18:15].

Die Therapie von Krebserkrankungen ist unabhängig von der Art des Tumors prinzipiell immer ähnlich. Der Tumor wird am Ort seiner Entstehung, wenn möglich entfernt, oder durch Bestrahlung zerstört. Falls es zu einer systemischen Ausbreitung des Tumors kommt, wird der Tumor mit verschiedenen Arten einer

Chemotherapie systemisch behandelt. Generell gilt, dass das Ausmaß der Therapie mit dem Risiko korreliert, von der Therapie auch einen Schaden beziehungsweise relevante Nebenwirkungen zu erleiden. Je größer das Ausmaß eines chirurgischen Eingriffes ist, desto höher ist das Letalitätsrisiko und die Wahrscheinlichkeit einer Lebensqualitätseinschränkung. Bei einer Radiotherapie kommt es je nach Intensität der Strahlung und je nach Größe des Bestrahlungsfeldes zu nicht gewollten Schäden an gesunden Geweben. Diese bestehen aus akuten Strahlungsreaktionen wie Gewebenekrosen oder Entzündungen, aber auch in der Entstehung neuer Tumoren als Spätkomplikation (Baskar et al. 2012). Auch systemische medikamentöse Therapien bringen, wenn sie zum Einsatz kommen, ein erhebliches Risiko mit sich, dass die Patienten akute Nebenwirkungen aufweisen. Selbst bei erfolgreich durchgeführten Chemotherapien ist das Risiko einer Zweitneoplasie vermehrt (Azim Jr et al. 2011). Für den einzelnen Krebspatienten ist es deswegen entscheidend, dass eine Therapie optimal gewählt wird. Es gilt, alle notwendigen therapeutischen Maßnahmen zu ergreifen, aber unnötige Therapien wegen des damit verbundenen Morbiditätsrisikos zu vermeiden.

Der präzisen Diagnose des Pathologen kommt bei der Therapiewahl eine entscheidende Bedeutung zu. Im Wesentlichen diagnostiziert der Pathologe bei einer Tumorerkrankung den Ursprungsort des Tumors und den histologischen Typ. Die Bestimmung des Ursprungsortes ist meistens unproblematisch, da die Tumoren in über 90 Prozent der Fälle am Ort ihrer Entstehung primär diagnostiziert werden. Die Zuordnung eines Tumors zu seinem Entstehungsort ist in diesem Fall nicht zuletzt durch den möglichen Nachweis von Vorläuferläsionen in der Tumorumgebung verhältnismäßig einfach zu führen. Die häufigsten Lokalisationen von Primärtumoren in Deutschland sind in Abbildung 2 dargestellt. Neben dem Ursprungsorgan entscheidet der histologische Tumortyp meistens über die zu wählende Therapie. Die meisten Neoplasien des Menschen sind epithelialen Ursprungs (Karzinome). Daneben kommen hämatologische Neoplasien, Keimzelltumoren oder mesenchymale Tumoren (Sarkome) vor (Cooper 2000).

Die genaue Bestimmung des histologischen Typs entscheidet maßgeblich über die Auswahl geeigneter Chemotherapien. Beispielsweise ist die histologische Unterscheidung zwischen Plattenepithelkarzinomen und Nicht-Plattenepithelkarzinomen (Adeno- und großzelliges Karzinom) beim Nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC) von ausgewiesener Bedeutung. Patienten mit einem

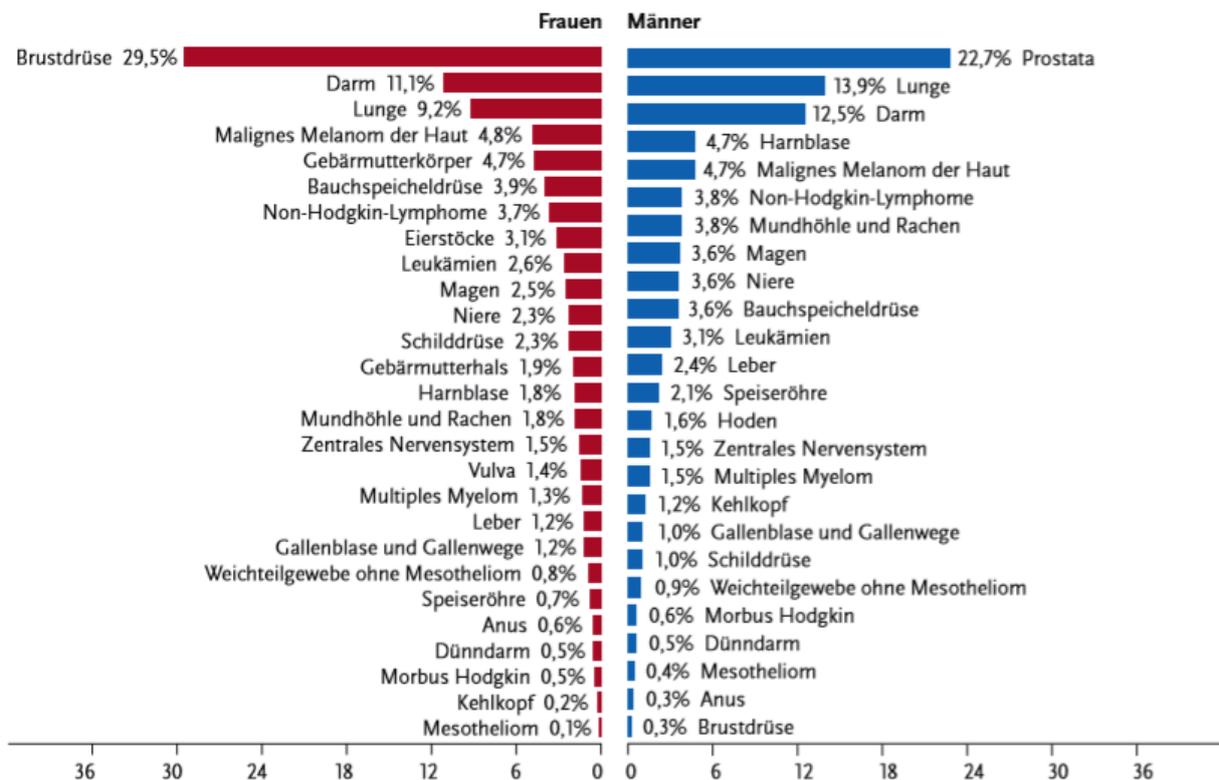


Abbildung 2. Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2016. Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V. Krebs in Deutschland für 2015/2016, 12. Ausgabe, Robert-Koch Institut, Berlin 2019. [Online im Internet.] URL: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf?__blob=publicationFile [Stand: 26.01.2022, 18:20].

Nicht-Plattenepithelkarzinom zeigten unter der Kombinationstherapie Pemetrexed/Cisplatin im Vergleich zu Gemcitabin/Cisplatin ein längeres Überleben. Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom hingegen wiesen mit der Kombination Pemetrexed/Cisplatin im Vergleich zu Gemcitabin/Cisplatin ein kürzeres Überleben auf. (Scagliotti et al. 2008) Die meisten Prostatakarzinome sind Adenokarzinome, welche - wenn eine systemische Therapie notwendig wird - meist zunächst mit Medikamenten beeinflusst werden, die den Androgenrezeptor angreifen (Heinlein und Chang 2004). Circa ein Prozent der Prostatakarzinome sind kleinzellige neuroendokrine Karzinome, die primär eine zytotoxische Chemotherapie nötig machen (Li und Wang 2016).

Die Tumorklassifikation ist für den Pathologen vor allem dann schwierig, wenn primär eine Metastase eines Tumors diagnostiziert wird oder wenn eine kleine, möglicherweise nicht optimal erhaltene Biopsie zu beurteilen ist. Um in solchen diagnostisch anspruchsvollen Situationen die richtige Diagnose zu stellen, werden

häufig Hilfsmethoden wie eine immunhistochemische Untersuchung eingesetzt. Bei immunhistochemischen Untersuchungen werden in einem Gewebe vorhandene Proteine durch spezifische Antikörper, welche sich gegen diese Proteine richten, sichtbar gemacht. Zu diesem Zweck werden Antikörper verwendet, welche tierischen Ursprungs sind. In den meisten Fällen handelt es sich um Maus-Antikörper, die sich gegen spezifische humane Proteine richten. Die Antikörper werden auf das Gewebe aufgebracht und binden sich an die Zielproteine. Mit Sekundärantikörpern, welche sich gegen Mausantikörper richten und mit einem Visualisierungssystem verbunden sind, können gebundene proteinspezifische Antikörper am Gewebeschnitt sichtbar gemacht werden. (Mulisch 2014)

Für die Zuordnung eines Tumors zu einem bestimmten Ursprungsorgan werden im Optimalfall gewebspezifische Proteine genutzt, welche ausschließlich in einem bestimmten Gewebetyp vorkommen. Exemplarische Beispiele hierfür sind das Prostata-spezifische-Antigen (PSA), welches ausschließlich in Prostataepithelzellen gebildet wird (Stenman et al. 1999) oder Thyreoglobulin (TG), welches ausschließlich in Thyreozyten der Schilddrüse produziert wird (Van-Herle 1979). Mittels Antikörper gegen PSA oder TG kann ein Tumorausprung aus der Prostata oder der Schilddrüse im Falle eines positiven Nachweises dieser Proteine bewiesen werden. Viele weitere diagnostische Antikörper werden zu Klärung eines Tumorausprungs verwendet, auch wenn diese nicht komplett spezifisch für eine bestimmte Neoplasie sind. Thyroidaler Transkriptionsfaktor 1 (TTF1) ist ein Marker, welcher zum Nachweis von Lungenkarzinomen eingesetzt wird (Park et al. 2007). Das Protein wird aber auch im Schilddrüsengewebe oder in kleinzellig-neuroendokrinen Neoplasien exprimiert (Lee H et al. 2018, Ordóñez 2012). GATA 3 ist ein Protein, das beispielsweise in urothelialen Tumoren, aber auch beim Mammakarzinom positiv wird (Liu et al. 2012a). PAX 8 (Paired box gene 8) wird typischerweise in Neoplasien des weiblichen Genitaltraktes und der Niere exprimiert, seltener ist es bei einer größeren Zahl anderer Tumoren nachweisbar (Ozcan et al. 2011). Diese nicht ganz spezifischen diagnostischen Antikörper werden typischerweise in Kombination eingesetzt, sodass in der Zusammenschau der Befunde mehrerer Antikörper mit hoher Wahrscheinlichkeit ein bestimmter Tumorausprung vorausgesagt werden kann. Auch Muzine sind für die Zuordnung von Tumoren zu einem bestimmten Ursprungsorgan von potenziellem Interesse.

1.2 Muzine

Muzine (MUC) sind schwere langkettige Glykoproteine. Zusammen mit den Komponenten Wasser, Lipiden, Salzen und freien Proteinen bilden sie eine die Epitheloberfläche überziehende Schleimschicht. (Lamont 1992, Corfield et al. 2001) Ihre Funktion erfüllen Muzine in verschiedener Organsysteme. Zu den größten Organsystemen, in denen Muzine vorkommen, zählen das respiratorische System, das Verdauungssystem und das reproduktive System. (Abbildung 3)

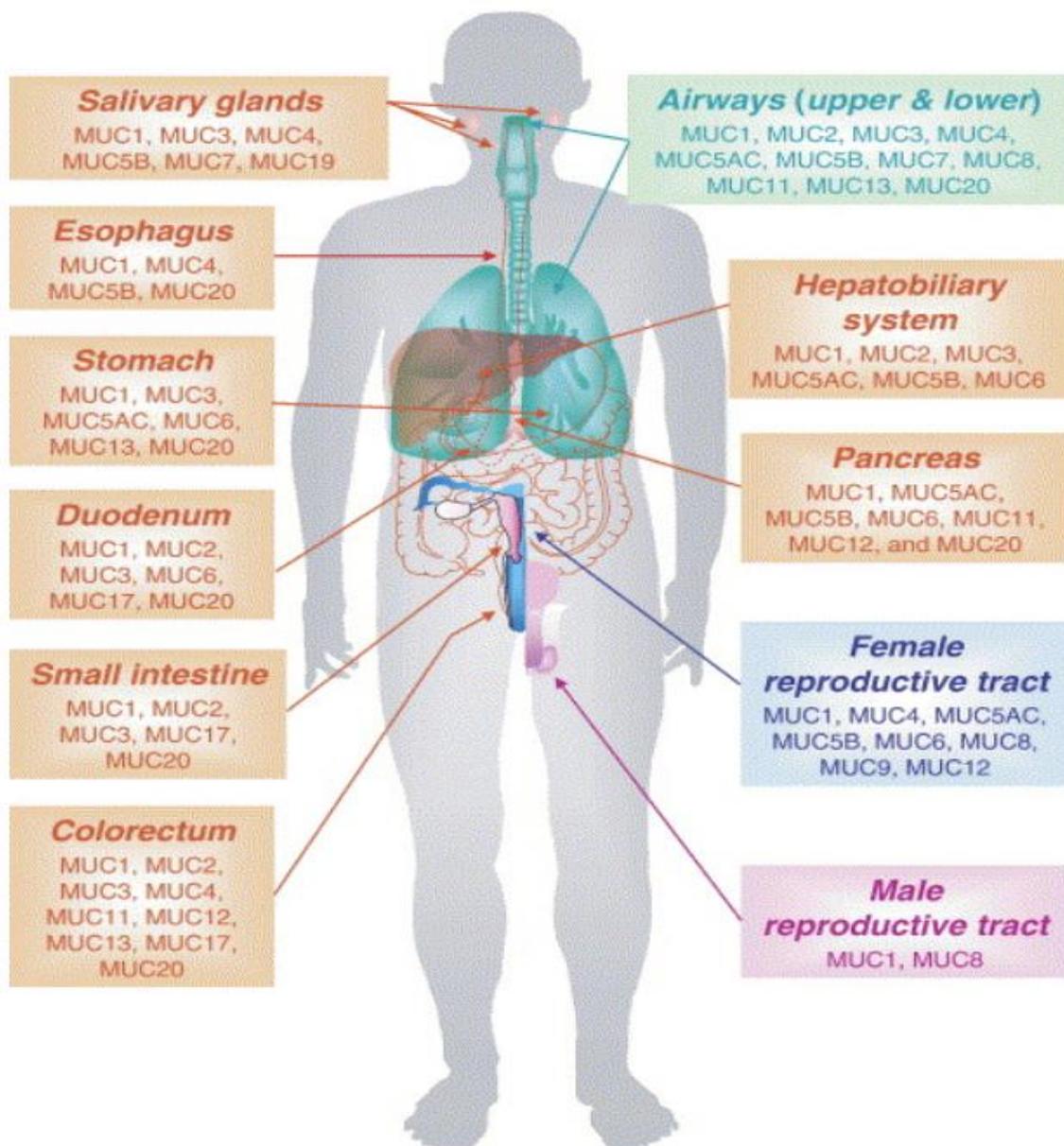


Abbildung 3. Muzinvorkommen im menschlichen Körper. Quelle: Andrianifahanana M et al. (2006) Regulation of mucin expression: Mechanistic aspects and implications for cancer and inflammatory diseases. *Biochim Biophys Acta*. 1765(2):189-222.

Aber auch im Ohr, im Auge, in der Brustdrüse oder im Harnwegssystem kommen unterschiedliche Muzine vor. (Forstner 1978, Andrianifahanana et al. 2006)

Die physiologische Hauptfunktion von Muzinen besteht in der Bildung einer mukosalen Barriere zum Schutz der Zelloberfläche vor mechanischen und chemischen Reizen. Darüber hinaus sind Muzine für die Lubrikation und Hydratation der Epitheloberfläche bedeutend und beteiligen sich an der Aufrechterhaltung der zellulären Homöostase. Somit tragen sie maßgeblich am zellulären Überleben in Umgebungen mit ständig schwankenden Umweltbedingungen bei. (Slomiany BL und Slomiany A 1991, Lamont 1992). Weitere spezialisierte Funktionen von Muzinen werden beschrieben, wie etwa bei der Regulierung des Transportes gelöster Stoffe, der Anlagerung kommensaler und pathogener Bakterien, der Leukozyten-Adhäsion, der zellulären Regeneration, Differenzierung und Integration, sowie bei diversen Signalwegen und dem programmierten Zelltod (Hollingsworth und Swanson 2004, Baruch et al. 1999, Carraway et al. 2000).

Das gemeinsame Kennzeichen aller Muzine ist ein auf den codierenden Genen liegender Abschnitt mit variabler Sequenzwiederholung (VNTR, „variable-number-tandem-repeat“), welcher für die sich wiederholenden Aminosäuresequenzen Prolin, Threonin und Serin (sog. PTS-Domänen der Muzine) codiert. Die Länge der jeweiligen Sequenzwiederholungen variiert zwischen den Muzinen und dient als mögliches Unterscheidungsmerkmal. (Gendler und Spicer 1995, Moniaux 2001)

An den PTS-Domänen werden die Muzine im Golgi-Apparat glykosyliert, in dem O-N-Acetylgalactosamine (O-GalNAc) an die Hydroxy-Gruppen der Aminosäuren Threonin und Serin gehängt werden (Van den Steen et al. 1998). Diese O-Glykosylierungen sind für die strukturellen und funktionellen Eigenschaften der Muzine von enormer Bedeutung, denn die Polysaccharide sind an bestimmten Liganden-Rezeptor-Interaktionen beteiligt (McDermott et al. 2001), besitzen hygroskopische (wasseranziehende) Eigenschaften und sind in der Lage kleine Moleküle und Proteine zu binden (Carlstedt et al. 1985). Die Zuckerketten machen insgesamt bis zu 80% der Muzinmasse aus und sind entscheidend für die rheologischen und viskoelastischen Eigenschaften des Schleims (Corfield et al. 2001). Nach aktuellem Stand gibt es 21 verschiedene Muzine (MUC1-MUC21) (Corfield 2018) und nach ihrer biologischen Funktion werden sie in zwei Gruppen eingeteilt: Sekretorische Muzine und Membrangebundene Muzine. (Abbildung 4)

Table 1. The Mucin (MUC) Gene Family.

MUC Gene	Chromosome	Tandem Repeat Size	N-Terminal Signal Sequence	Gastrointestinal Tract Location
<i>Membrane Associated Mucins</i>				
MUC1	1q21	20	✓	Stomach, duodenum, ileum, colon
MUC3A/B	7q22	17	✓	Small intestine, colon
MUC4	3q29	16	✓	Small intestine, colon
MUC12	7q22	28	✓	Colon
MUC13	3q21.2	27	✓	Small intestine, colon
MUC15	11p14.3	none	✓	Small intestine, colon
MUC16	19p13.2	156	✓	Not expressed
MUC17	7q22	59	✓	Stomach, duodenum, colon
MUC20	3q29	18	✓	Colon
MUC21	6p21	15	✓	Colon
<i>Secreted gel-forming mucins</i>				
MUC2	11p15.5	23	✓	Jejunum, ileum, colon
MUC5AC	11p15.5	8	✓	Stomach
MUC5B	11p15.5	29	✓	Salivary glands
MUC6	11p15.5	169	✓	Stomach, ileum
MUC19	12q12	19	✓	No reports for GI tract
<i>Secreted non gel-forming mucins</i>				
MUC7	4q13-q21	23	✓	Salivary glands
MUC8	12q24.3	13/41	✓	Not expressed
MUC9	1p13	15	✓	Not expressed

The chromosome location, size of the tandem repeat domain, confirmation of an N-terminal sequence, and expression pattern in the gastrointestinal tract are shown.

Abbildung 4. Darstellung der Muzingene. Aufgeführt ist die Einteilung in membranöse und sekretorische Muzine. Quelle: Corfield A.P. (2018) The Interaction of the Gut Microbiota with the Mucus Barrier in Health and Disease in Human. Microorganisms. 6(3):78.

Die sekretorischen Muzine werden weiter in Gel- formende Muzine und nicht-Gel- formende Muzine unterteilt und von Becherzellen oder submukosalen Drüsen sezerniert (Ho et al. 1995). Die Gel-formenden-sekretorischen Muzine MUC2, MUC5AC, MUC5B und MUC6 werden gemeinsam von einem Gen Cluster auf Chromosom 11p15 codiert (Pigny et al. 1996). Strukturell zeichnet sich die Gruppe der sekretorischen Muzine durch Cystein-reiche Regionen („Cystine Knot“) und D-Domänen aus (Perez-Vilar und Hill 1999). Diese Domänen haben große Ähnlichkeiten zu den vergleichbaren Domänen auf dem von-Willebrand-Faktor (vWF) (Gum Jr et al. 1994). Die Cystein-Domänen dienen der Dimerisierung im rauen endoplasmatischen Retikulum (Asker et al. 1998), die D-Domänen ermöglichen die anschließende Oligomerisierung zwischen den Molekülen via Disulfidbrücken (Offner et al. 1998).

Die membrangebundenen Muzine bestehen aus drei Hauptkomponenten (Johansson 2013): Einer extrazellulären Domäne mit der zentralen Tandem-Repeat (TR) Region, einer transmembranen Domäne und einer zytoplasmatischen Domäne. Die extrazelluläre Domäne bildet durch Glykosylierung der Tandem-Repeat Region die Glycocalyx (Abbildung 5). Memembrangebundenen-Muzine können untereinander nicht oligomerisieren (Gum Jr et al. 2002).

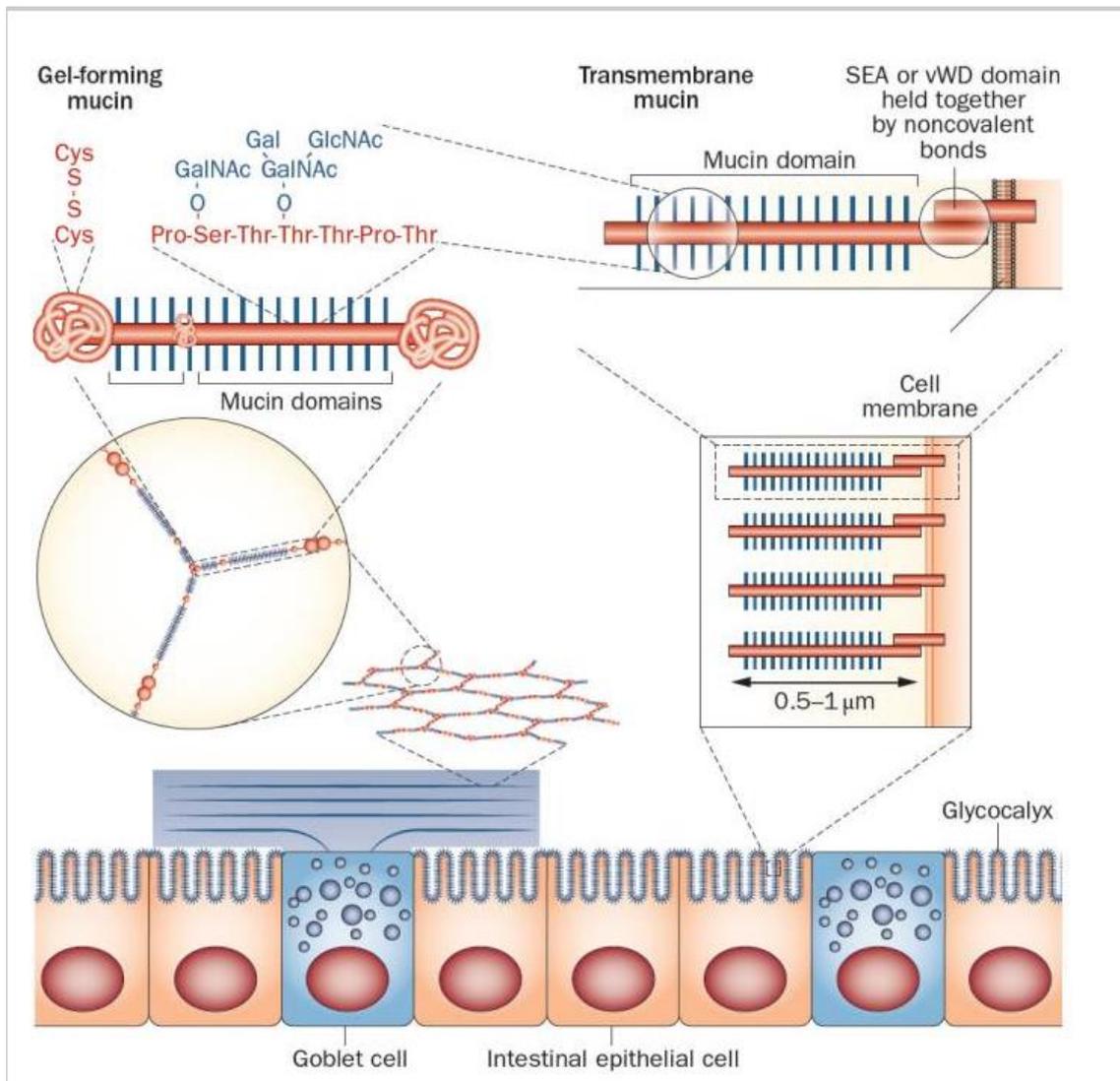


Abbildung 5. Schematische Darstellung eines Gel-formenden Muzins, gebildet von einer Becherzelle (links) und eines Membran-gebundenen Muzins, welches in einem Enterozyten verankert ist (rechts). An den Aminosäuren Serin und Threonin sind Zuckerketten angehängt. Quelle: Johansson M. E. V. et al. (2013) *The gastrointestinal mucus system in health and disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 10(6):352-61.

Schon seit längerem werden Muzine mit der Pathogenese von Karzinomen, insbesondere von Adenokarzinomen, in Verbindung gebracht und es wird davon ausgegangen, dass sich Tumoren die Funktionen von Muzinen für Invasion, Wachstum, Metastasierung und Überleben zu Nutze machen können (Devine und McKenzie 1992, Kufe 2009). Mit Hilfe von immunhistochemischen Untersuchungen konnten bestimmte Tumor-Assoziierte-Antigene (TAA's) auf den Muzinen nachgewiesen werden. Bei den TAA's handelt es sich um Oligosaccharidstrukturen, von denen die meisten Blut Gruppen Antigene darstellen. (Goldenberg et al. 1975, Hollingsworth und Swanson 2004)

In der Diagnostik von Tumoren werden heutzutage routinemäßig Antikörper eingesetzt, welche die TAA's von Muzinen erkennen. Die prominentesten Beispiele sind der monoklonale Antikörper (mAB) C19-9 zur Diagnostik des Kolorektalen- und pankreatischen Adenokarzinoms (Magnani et al. 1983) oder der mAB OC125 zur Erkennung des CA125 Antigens beim Ovarialkarzinom (Bast et al. 2002).

1.3 MUC6

MUC6 ist ein Muzin aus dem Magen, das von der Arbeitsgruppe Toribara et al. (1993) durch Isolation und Sequenzierung der korrespondierenden cDNA entdeckt wurde. Mit 507 Basenpaaren (169 Aminosäuren) besitzt MUC6 die längste Tandem-Repeat-Domäne (TR) aller bekannten Muzine. 63% der Aminosäuren bestehen aus Threonin (30%), Serin (18%) und Prolin (15%), was einer typischen Verteilung bei Muzinmolekülen entspricht. An der Hydroxy-Gruppe dieser Aminosäuren findet im Golgi-Apparat analog zu den anderen Muzinen die Glykosylierung statt. (Toribara et al. 1993, Gendler und Spicer 1995) Zusammen mit den sekretorischen Muzinen MUC2, MUC5AC und MUC5B ist das MUC6 Gen auf Chromosom 11q15 lokalisiert (Pigny et al. 1996) und umfasst insgesamt 33 Exons (Rousseau et al. 2004). Die größte MUC6 Anreicherung ist im Magen vorzufinden (Bartman et al. 1998). Dort wird es von den schleimbildenden Zellen des Corpus und von den Pylorusdrüsen im Antrum gebildet. Im Duodenum wird es durch die Brunnerdrüsen sezerniert. Des Weiteren findet sich eine Expression von MUC6 vor allem in der Gallenblase, in Teilen des Pankreas sowie in männlichen und weiblichen Reproduktionsorganen (Bartman et al. 1998). (Abbildung 6)

Table I—MUC6 secretory mucin mRNA and protein expression determined by *in vitro* hybridization and immunohistochemistry

Tissue	<i>In situ</i> hybridization Labelling intensity		Immunohistochemistry Labelling intensity	
Minor salivary gland	–	(n=4)	–	(n=5)
Submaxillary glands	–	(n=5)	–	(n=5)
Nasopharynx	nd		–	(n=6)
Thyroid	nd		–	(n=5)
Parotid	nd		±	(n=3)
Oesophagus	nd		–	(n=4)
Bronchus				
Surface epithelium	–	(n=8)	–	(n=10)
Glands	–	(n=8)	–	(n=10)
Breast	nd		–	(n=2)
Cardia				
Surface epithelium	–	(n=1)	–	(n=10)
Cardiac glands	+	(n=1)	+	(n=10)
Fundus				
Surface epithelium	–	(n=6)	–	(n=10)
Fundic neck cells	+	(n=6)	+++	(n=10)
Fundic gland cells	–	(n=6)	–	(n=10)
Antrum				
Surface epithelium	–	(n=6)	–	(n=10)
Pyloric glands	+++	(n=6)	+++	(n=10)
Duodenum				
Surface epithelium	–	(n=7)	–	(n=5)
Brunner's glands	++	(n=7)	+++	(n=5)
Jejunum				
Villous epithelium	–	(n=3)	±	(n=5)
Crypt epithelium	–	(n=3)	–	(n=5)
Ileum				
Villous epithelium	–	(n=5)	±	(n=5)
Crypt epithelium	–	(n=5)	–	(n=5)
Colon				
Surface epithelium	–	(n=10)	–	(n=10)
Crypt epithelium	–	(n=10)	–	(n=10)
Kidney	nd		–	(n=4)
Gall bladder				
Surface epithelium	–	(n=10)	–	(n=10)
Glands	+++	(n=10)	+++	(n=10)
Common bile duct				
Epithelium	nd		+	(n=3)
Periductular gland	nd		++	(n=3)
Pancreas				
Acini	–	(n=1)	–	(n=6)
Centroacinar cells	+	(n=1)	++	(n=6)
Ducts	+	(n=1)	+	(n=6)
Bladder	nd		–	(n=5)
Prostate glands	–	(n=2)	–	(n=5)
Seminal vesicles	nd		+++	(n=4)
Endocervix glands	+	(n=9) or –(n=2)	+	(n=1) or –(n=4)
Endometrium	nd		+	(n=3) or –(n=6)
Skin	nd		–	(n=6)

nd=not determined.

Abbildung 6. Immunhistochemie und *in situ* Hybridization zum Nachweis von MUC6 im menschlichen Körper. Quelle: Bartman A. E. et al. (1998) The MUC6 secretory mucin gene is expressed in a wide variety of epithelial tissues. *J Pathol.* 186(4):398-405.

Im Magen erfüllt MUC6 eine bedeutsame Funktion, denn zusammen mit dem Mucin MUC5AC, welches von den Foveolarzellen („surface mucous cells“) aus Corpus und Antrum gebildet wird (Ho et al. 1995), ist es an der Bildung einer effektiven schleimigen Schutzbarriere beteiligt. Eine Schädigung der Magenschleimhaut durch exogene Toxine, Verdauungsenzyme oder Magensäure kann dadurch verhindert werden. (Corfield 2001, Ho et al. 2004)

Über den gesamten Gastrointestinaltrakt hinweg besteht der Schleim aus zwei Schichten (Forstner 1994). Man unterscheidet eine feste Schleimschicht („firmly adherent mucus layer“), die den Epithelzellen direkt aufliegt, von einer losen, darüber liegenden Schleimschicht („loosely adherent mucus layer“), die sich durch leichtes Saugen entfernen lässt. Abbildung 7 zeigt eine Dickemessung der losen und festen Schleimschicht entlang des Gastrointestinaltraktes auf Grundlage eines Ratten-in-vivo Modells von Atuma et al. (2001).

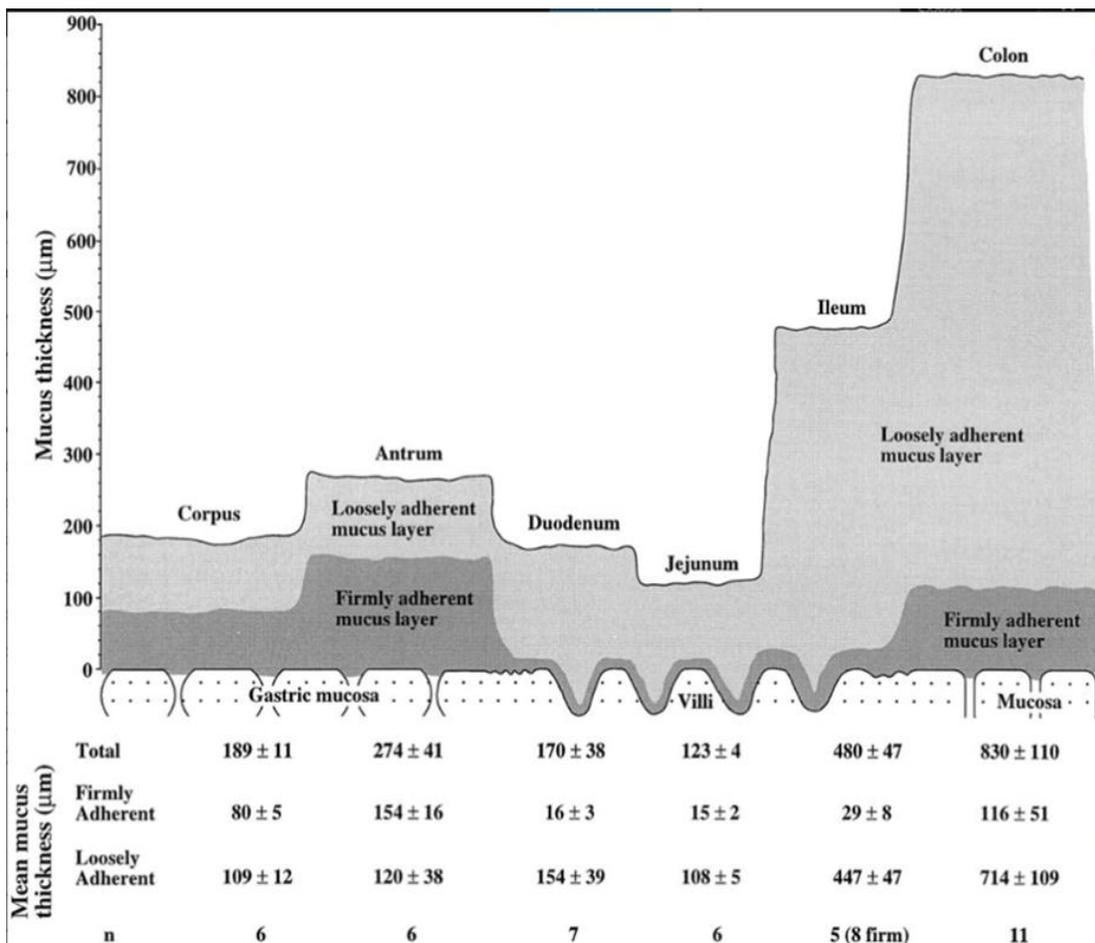


Abbildung 7. Dickemessung der festen und losen Schleimschicht entlang des Gastrointestinaltraktes. Quelle: Atuma C. et al. (2001) The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 280(5): G922-9.

Im Magen besteht die feste Schleimschicht aus den aufeinander geschichteten Muzinen MUC6 und MUC5AC. Dabei liegen beide Muzine separat voneinander vor und sind nicht miteinander verbunden. (Ho et al. 2004)

Wie bereits beschrieben schützen die Magenmuzine MUC6 und MUC5AC die Magenschleimhaut vor der aggressiven Magensäure. Der dahinterstehende Mechanismus wurde von der Arbeitsgruppe Bhaskar et al. (1992) genauer untersucht. So fungiert die Schleimschicht als eine Art selektive Diffusionsbarriere für die Magensäure (HCL). Durch die Oligosaccharid-Seitenketten der Muzine werden die von dem Oberflächenepithel sezernierten Bikarbonat-Ionen in der Schleimschicht gehalten. Auf diese Weise entsteht ein pH-Gradient mit einem pH-Wert von sechs bis sieben an der epithelialen Oberfläche (bedingt durch die Bikarbonat-Ionen) und einem nach luminal sinkenden pH-Wert, bis zu einem pH-Wert von zwei im Lumen des Magens. Die Untersuchungen hatten ergeben, dass ab einem pH-Wert größer vier kleine Kanäle, sogenannte „fingering patterns“, in der Schleimschicht entstehen. Durch diese Kanäle kann die Magensäure die Schleimschicht Richtung Magenlumen passieren. Bei pH-Werten kleiner vier bilden sich diese Kanäle jedoch nicht mehr aus, sodass die Magensäure nicht zurück Richtung Schleimhaut gelangt und somit ein schädigender Kontakt verhindert wird. (Bhaskar et al. 1992)

Verschiedene pathologische Zustände gehen mit einer veränderten MUC6 Expression in den Geweben einher. Bei der chronisch entzündlichen Darmerkrankung Morbus Crohn wurde eine Hochregulierung der gastrischen Muzine MUC6 und MUC5AC in der an die Ulzera angrenzenden Iluemschleimhaut nachgewiesen. Diese Beobachtung ließ vermuten, dass die beiden Muzine möglicherweise neben ihrer protektiven Funktion auch an der Heilung des beschädigten Epithels beteiligt seien. (Buisine et al. 2001)

Eine andere Studie wies eine Hochregulierung von MUC6 bei Helicobacter Pylori (HPy) Infektionen der Magenschleimhaut nach, sodass eine antibiotische Funktion von MUC6 vermutet wurde (Matsuzwa et al. 2003). Tatsächlich konnte nachgewiesen werden, dass die an MUC6 gekoppelten o-Glykane das Wachstum von HPy durch Schädigung der Zellwand hemmen können. Dabei ist der Mechanismus mit dem von Beta-Laktam Inhibitoren vergleichbar. Aus diesem Grund gelingt es HPy nur selten, sich in den tieferen Schichten anzusiedeln, wo MUC6 von den spezialisierten Drüsenzellen gebildet wird. (Kawakubo et al. 2004)

Die MUC6-Immunohistochemie ist in der Pathologie bereits heute ein Hilfsmittel, um zwischen verschiedenen Gewebetypen oder Tumorentitäten zu unterscheiden. So zeigt die gastrische Metaplasie beim Barrett Ösophagus eine hohe Expression an MUC5AC im Oberflächenepithel und von MUC5AC und MUC6 in den Drüsenstrukturen. Die intestinale Metaplasie geht hingegen nur mit einer MUC2 Expression der Becherzellen einher. (Arul et al. 2000, Reis et al. 1999, Khor et al. 2012, Tsukashita et al. 2001)

Bei Pankreasneoplasien wird die MUC6 Immunhistochemie in einem Panel mit weiteren diagnostischen Markern wie MUC5AC oder CK20 angewandt, um zwischen den verschiedenen Ausprägungen intraduktal papillär-muzinöser Neoplasien (IPMN) zu differenzieren und um diese von intraduktal tubulo-papillären Neoplasien (ITPN) und intraduktal onkozytisch-papillären Neoplasien (IOPN) zu unterscheiden. (Abbildung 8)

Table 10.01 Immunohistochemical profile of intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN), intraductal oncocytic papillary neoplasm (IOPN), and intraductal tubulopapillary neoplasm (ITPN)

	CK7/CK8/CK18/CK19	CK20	EMA (MUC1)	MUC2	MUC5AC	MUC6	CDX2
IPMN							
Gastric	+	-	-	-	+	-/+	-
Pancreatobiliary	+	-	+	-	+	+	-
Intestinal	+	+	-	+	+	-	+
IOPN	+	+ in goblet cells	+	+ in goblet cells	+	+	+ in goblet cells
ITPN	+	-	+	-	-	+	-

Abbildung 8. Anwendung von MUC6 in einem diagnostischen Panel. Quelle: WHO Classification of Tumours Editorial Board (2019) WHO Classification of Tumours. 5th Edition. Digestive System Tumours. Kapitel 10. Seite 313.

Beim Gebärmutterhalskrebs ist das Adenokarzinom deutlich seltener als das Plattenepithelkarzinom, seine Inzidenz ist aber steigend (Smith et al. 2000). 90% der Adenokarzinome werden durch eine HPV-Infektion verursacht (Pirog et al. 2014). Von den restlichen 10%, die nicht auf Grundlage einer HPV-Infektion hervorgehen, kommt das gastrische Adenokarzinom am häufigsten vor und wird von der WHO als muzinöses Adenokarzinom klassifiziert. Die gastrischen immunhistochemischen Marker MUC6 und HIK1083 zeigen sich bei dieser Entität positiv. (Talia und McCluggage 2018)

Auch beim Kolorektalen Karzinom versprach man sich anhand des Muzin-expressionsmusters eine diagnostische Differenzierung zwischen benignen und malignen Vorläuferläsionen. Schätzungsweise 15-20% aller Kolorektalen

Karzinome entwickeln sich aus serratierten Polypen (IJspeert et al. 2015) und nach der WHO-Klassifikation von 2010 gliedert man die heterogene Gruppe serratierter Polypen in hyperplastische Polypen (HP), gezackte stiellose Adenome/Polypen (SSA/P) und traditionell serratierte Adenome (TSA) (Rex 2012). Während HP als eine benigne Form gelten (Aust und Baretton 2010), sind SSA/P oftmals mit dem synchronen oder metachronen Auftreten von Karzinomen assoziiert (Li et al. 2009, Lazarus et al. 2005). Aus diesem Grund ist es von hoher diagnostischer Bedeutung, diese beiden Läsionen voneinander zu unterscheiden (Sandmeier et al. 2007). Die Untersuchungen von Owens et al. (2008) kamen zu dem Ergebnis, dass MUC6 ausschließlich in SSA/P, nicht jedoch in HP, exprimiert wird und somit MUC6 als diagnostischer Marker zur Unterscheidung dieser Adenomtypen geeignet sei. Jedoch kam eine spätere Studie zu einem völlig anderen Ergebnis, mit einer MUC6 Expression von bis zu 60% in HP (Gibson et al. 2011). Aufgrund dieser diskrepanten Ergebnisse ist MUC6 nach heutigem Stand kein geeigneter diagnostischer Marker zur Unterscheidung serratierter Polypen (Krishn et al. 2017).

Eine Dysregulation der Muzinexpression (Überexpression, Unterexpression oder ektope Expression) sowie eine veränderte Muzinglykosylierung sind Faktoren, die in Tumoren häufig beobachtet werden und möglicherweise zur Tumorentstehung und zum Tumorwachstum beitragen (Hollingsworth und Swanson 2004, Kufe 2009). Aus diesem Grund gibt es zahlreiche immunhistochemische Studien, welche das Muzinexpressionmuster in verschiedenen Tumorentitäten, für diagnostische als auch für prognostische Zwecke, untersucht haben.

Beim Pankreaskarzinom scheint eine MUC6 Überexpression vorwiegend in der frühen Phase der Karzinogenese bedeutend zu sein. So zeigten Studien eine Hochregulierung von MUC6 oder der MUC6 mRNA in intraepithelialen Neoplasien des Pankreas (PanIN Läsionen). PanIN-A und PanIN-B Läsionen zeigten dabei die höchste MUC6 Expression, in Adenokarzinomen fiel die MUC6 Expression dagegen deutlich ab. (Kim et al. 2002, Nagata et al. 2007)

Beim Kolonkarzinom kommt es gehäuft zu einer MUC5AC und MUC6 Expression (Betge et al. 2016, Walsh et al. 2013), wobei dieser Zusammenhang insbesondere bei Tumoren des serratierten Entstehungswegs („serrated pathway“) zu beobachten ist (Kim et al. 2015).

Die genaue Rolle und Funktion von MUC6 in der Tumorbiologie ist noch nicht genau verstanden. Generell gilt eine MUC6 Expression aber als tumorprotektiv. In einer umfangreichen funktionellen Studie von Leir et al. (2011) wurde rekombinierte MUC6 cDNA sowie die separierten C- und N-terminalen MUC6 Domänen in Tumorzellreihen von Pankreas, Colon und Mamma eingebracht. Tatsächlich zeigten die Ergebnisse, dass MUC6 die Tumorzellen an der Invasion durch die Basalmembran hindert und somit einer Tumorprogression entgegenwirkt. (Leir et al. 2011) Die Ergebnisse dieser Studie gehen mit den Beobachtungen einher, dass Tumoren mit einer niedrigen MUC6 Expression oft eine schlechtere Prognose aufweisen als Tumoren mit einer hohen MUC6 Expression. Derartige Beobachtungen wurden beispielsweise bei Karzinomen von Ovar (Wang und El-Bahrawy 2015), Brust (Matsukita et al 2003), Magen (Zheng et al. 2006), Ösophagus (Burjonrappa et al. 2007), Kolon (Betge et al. 2016), Pankreas (Sierzega 2016) und den Gallengängen (Park et al. 2009, Aishima et al. 2006) gemacht. Zumindest beim Brustkrebs gibt es aber auch eine Studie, die eine MUC6 Expression mit einem schlechteren Überleben in Verbindung bringt (Do et al. 2013).

Die existierende Information zur Häufigkeit der MUC6 Expression in verschiedenen Tumorarten ist allerdings in vielen Aspekten divergent (Abbildung 9). So reichen die Angaben zur MUC6 Positivität in der bestehenden Literatur beim Adenokarzinom des Ösophagus von 7 bis 85 Prozent (Gulmann et al. 2003, Mochizuki, et al. 2017), beim Cholangiozellulären Karzinom von 4 bis 93 Prozent (Mall et al. 2010, Sasaki et al. 1998), beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas von 24 bis 64 Prozent (Lee MJ et al. 2003, Sierzega et al. 2016), beim Adenokarzinom der Cervix von 20 bis 100 Prozent (Wada et al. 2017, Lu et al. 2019) und beim lobulären Mammakarzinom von 0 bis 92 Prozent (Kasashima et al. 2007, Bolòs et al. 1998). Die Ursache für die diskrepante Literatur dürfte in der Verwendung unterschiedlicher Antikörper und Färbeprotokolle liegen. Insgesamt macht die Divergenz der bestehenden Studien die Einschätzung einer möglichen diagnostischen Bedeutung von MUC6 unmöglich. Um die diagnostische Nutzbarkeit von Antikörpern gegen MUC6 besser einschätzen zu können, untersuchten wir in dieser Studie mehr als 3000 Tumoren, darunter bis zu 50 Exemplare von 83 verschiedenen Tumortypen und Subtypen unter standardisierten Bedingungen. Dabei sollte eine Rangliste der Häufigkeit der MUC6 Expression in verschiedenen menschlichen Tumoren erstellt werden.

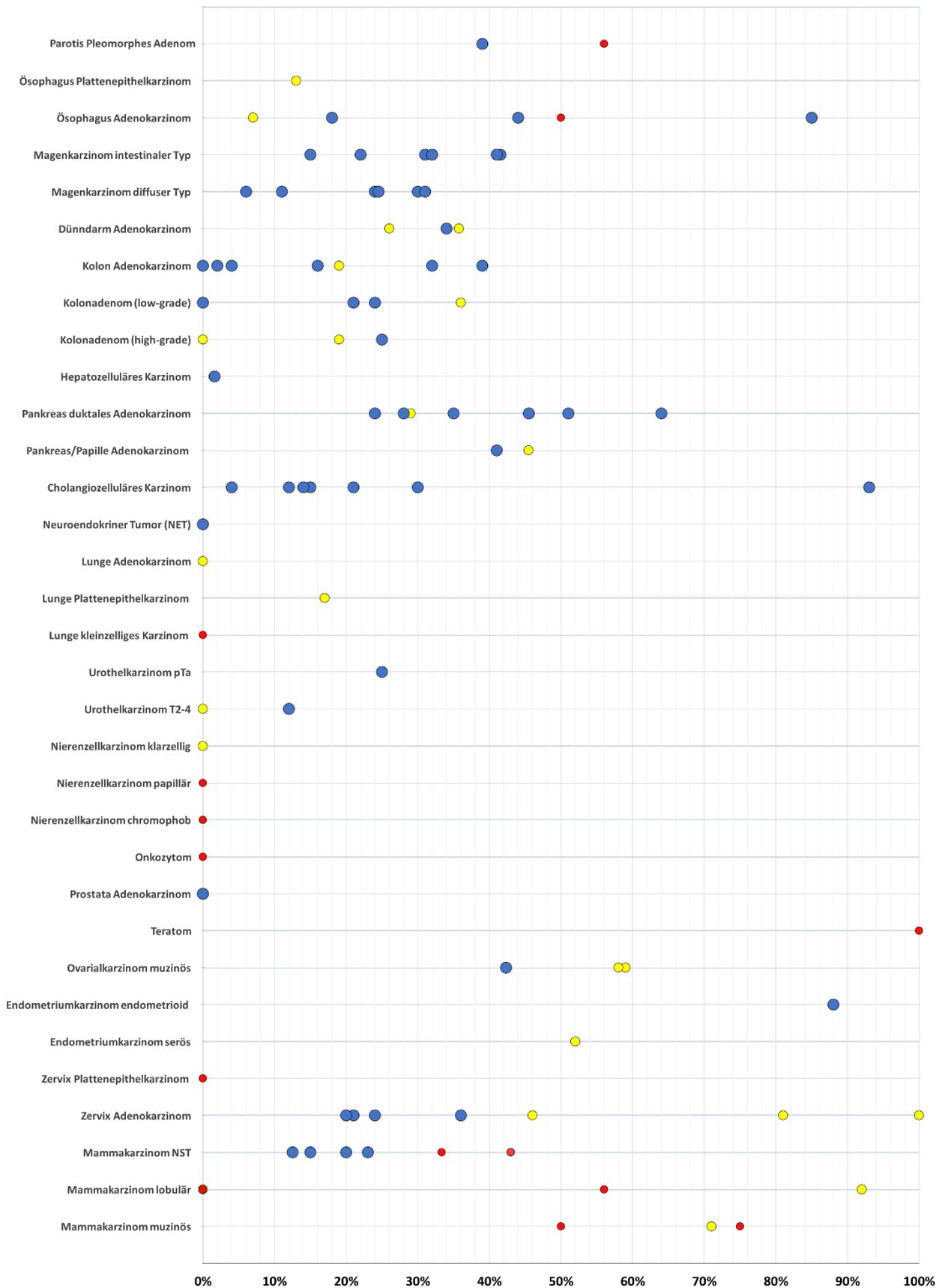


Abbildung 9: MUC6 Positivität: Studienergebnisse verschiedener Tumorentitäten.

Literaturverweise zu den Daten aus Abbildung 9:

Mammakarzinom muzinös: 50% (Ohashi et al. 2016), 71% (Matsukita et al. 2003), 75% (Bartosch et al. 2015).

Mammakarzinom lobulär: 0% (Bartosch et al. 2015), 56% (Ohashi et al. 2016), 92% (de Bolòs et al. 1998).

Mammakarzinom nicht-spezifischer Typ (NST): 12.5 % (Do et al. 2013), 15% (Matsukita et al. 2003), 20% (Rakha et al. 2005), 23% (Pereira et al. 2001), 33.3% (Ohashi et al. 2016), 43% (Bartosch et al. 2015).

Zervix Adenokarzinom: 20% (Wada et al. 2017), 21% (Kojima et al. 2007), 24% (Stolnicu et al. 2018), 36% (Mikami et al. 2004), 46% (Stolnicu 2018), 100% (Lu et al. 2019).

Zervix Plattenepithelkarzinom: 0 % (Tsuji et al. 2011).

Endometriumkarzinom serös: 52% (Hodgson et al. 2019).

Endometriumkarzinom endometrioid: 88% (Hodgson et al. 2019).

Ovarialkarzinom muzinös: 42.3% (Hirabayashi et al. 2008), 59% (Wang et al. 2014), 58% (Wang et al. 2015).

Teratom: 0% (Mall et al. 2007).

Prostata Adenokarzinom: 0% (Leroy et al. 2003).

Onkozytom: 0% (Leroy et al. 2002).

Nierenzellkarzinom chromophob: (Leroy et al. 2002).

Nierenzellkarzinom papillär: (Leroy et al. 2002).

Nierenzellkarzinom klarzellig: (Leroy et al. 2002).

Urothelkarzinom T2-4: 0% (Lopez-Beltran et al. 2010), 12% (Stojnev et al. 2014).

Urothelkarzinom pTa: 25% (Stojnev et al. 2014).

Lunge kleinzelliges Karzinom: 0% (López-Ferrer et al. 2001).

Lunge Plattenepithelkarzinom: 17% (López-Ferrer et al. 2001).

Lunge Adenokarzinom: 0% (López-Ferrer et al. 2001).

Neuroendokriner Tumor: 0% (Domori et al. 2014).

Cholangiozelluläres Karzinom: 4% (Mall et al. 2010), 12% intrahepatisch (Lee MJ et al. 2003), 14% (Park et al. 2009), 15% (Park et al. 2009), 21% (Aishima et al. 2006), 30% extrahepatisch (Lee MJ et al. 2003), 93% (Sasaki et al. 1998).

Pankreas / Papille Adenokarzinom: 41% (Lee et al. 2003), 45.5% (Gürbüz und Klöppel 2004).

Pankreas duktales Adenokarzinom: 24% (Lee MJ et al. 2003), 28% (Liu et al. 2012b), 29% (Park et al. 2009), 35% (Kim et al. 2002), 45.5% (Jinfeng et al. 2003), 51% (Remmers et al. 2013), 64% (Sierzega et al. 2016).

Hepatozelluläres Karzinom: 1.6% (Lee MJ et al. 2003).

Kolonadenom (high-grade): 0% (Kim et al. 2015), 19% (Bartman et al. 1999), 25% (Molaei et al. 2010).

Kolonadenom (low-grade): 0% (Kim et al. 2015), 21% milde Dysplasie (Bartman et al. 1999), 24% (Molaei et al. 2010), 36% moderate Dysplasie (Bartman et al. 1999).

Kolon Adenokarzinom: 0% (Sylvester et al. 2001), 2% (Matsuda et al. 2010), 4% (Lee MJ et al. 2003), 16% (Iwaya et al. 2019), 19% (Krishn et al. 2016), 32% (Betge et al. 2016), 39% (Walsh et al. 2013).

Dünndarm Adenokarzinom: 26% (Lee MJ et al. 2003), 34% (Xue et al. 2017), 35.7% (Gürbüz und Klöppel 2004).

Magenkarzinom diffuser Typ: 6% (Gulmann et al. 2003), 11% (Lee HS et al. 2001), 24% (Machado et al. 2000), 24.5% (Gürbüz et al. 2002), 30% (Reis et al. 2000), 31% (Zheng et al. 2006).

Magenkarzinom intestinaler Typ: 15% (Lee HS et al. 2001), 22% (Gulmann et al. 2003), 31% (Reis et al. 2000), 32% (Gürbüz et al. 2002), 41% (Zheng et al. 2006), 41.5% (Machado et al. 2000).

Ösophagus Adenokarzinom: 7% (Gulmann et al. 2003), 18% gastroösophagealer Übergang (Gulmann et al. 2003), 44% (Chlumská et al. 2018), 50% (Arul et al. 2000), 85% (Mochizuki et al. 2017).

Ösophagus Plattenepithelkarzinom: 13% (Mochizuki et al. 2017).

Parotis Pleomorphes Adenom: 39% (Mahomed 2011), 56% (Hamada et al. 2004).

2. Material und Methoden

2.1 Tissue-Micro-Array Methode

Die Tissue-Micro-Array (TMA) Methode erlaubt eine miniaturisierte Hochdurchsatzuntersuchung von Geweben (Kononen et al. 1998). Die Methode basiert auf der Zusammenführung von Gewebezylindern aus bis zu 600 verschiedenen Tumoren in einem einzigen Paraffinblock. Zu diesem Zweck werden aus repräsentativen Tumorarealen von zahlreichen verschiedenen Tumoren jeweils ein 0.6mm im Durchmesser messender Gewebezylinder entnommen. Diese Gewebezylinder werden dann an vorher definierten Koordinaten in einen leeren Paraffinblock eingebracht. Um die Einbringung von Tumorgewebe zu ermöglichen, werden in diesen Empfängerblöcken im Vorfeld mit einem Bohrer Löcher hergestellt, welche an exakt definierten Koordinaten lokalisiert sind. Jeder einzelnen Koordinate wird dann ein bestimmter Primärtumor zugeordnet. Die Struktur eines typischen UKE (Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) TMA-Blocks ist in Abbildung 10 dargestellt.

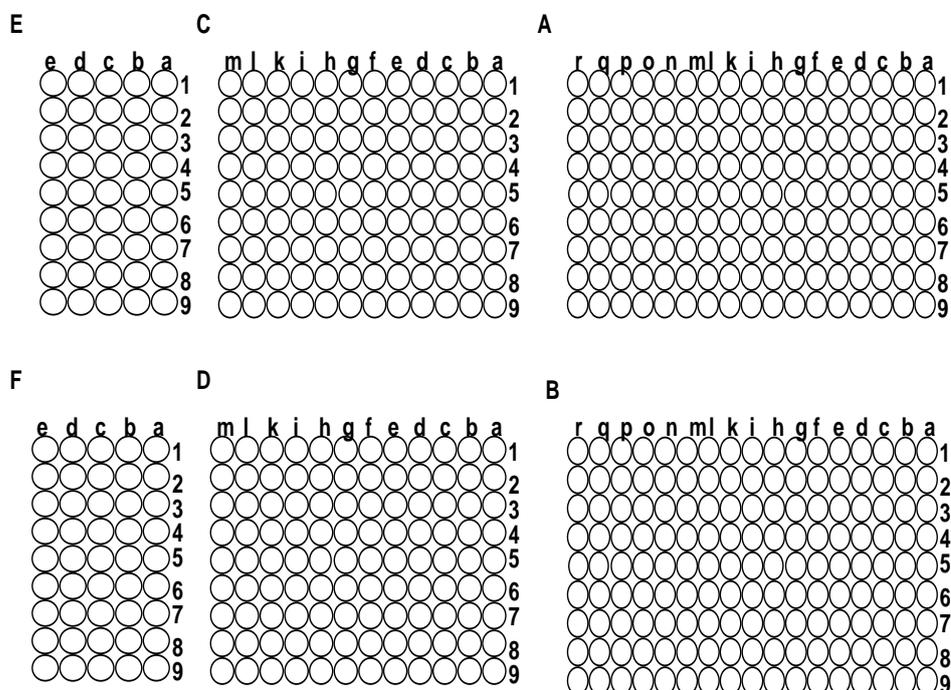


Abbildung 10. Schematische Darstellung des Koordinatensystems eines im UKE gebauten TMA-Blocks. Jede Koordinate („Spot“) wird einer definierten Gewebeprobe zugeordnet. Zur besseren Orientierung bei der Auswertung am Mikroskop haben die Sektionen A/B, C/D und E/F eine unterschiedliche Größe. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

Im Folgenden sind die wichtigsten Arbeitsschritte zur Herstellung eines Tissue-Micro-Array`s veranschaulicht aufgeführt:



Abbildung 11. Pathologisches Archiv des UKE`s.
Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

1. Archivarbeit

Durch die interne Datenbank werden für den TMA geeignete Patientenproben ermittelt.

Die HE-gefärbten Schnitte sowie die dazugehörigen Gewebelöcke werden aus dem Archiv herausgesucht.



Abbildung 12. Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbte Gewebeschnitte mit eingezeichneter Tumorföäche und der dazu passende Gewebelöck. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

2. Tumoreinzeichnung

Die Tumorföäche wird unter mikroskopischer Sicht von einem Pathologen eingezeichnet. Ist die Tumorföäche zu klein (rechts), ist der Schnitt für die weitere Verarbeitung unbrauchbar.

3. Abgleich

Durch einen optischen Abgleich wird sichergestellt, dass der richtige Gewebelöck vorliegt. Legt man Schnitt und Block übereinander, lässt sich die Tumorföäche auf den Block projizieren und somit der mögliche Stanzbereich identifizieren.

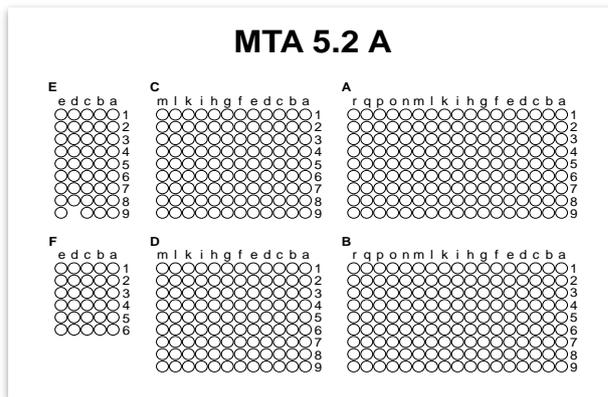


Abbildung 13. Koordinatensystem des Multi-Tumor-Array 5.2. Block A. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

4. Datenfile und Koordinatensystem

Es wird exakt geplant, an welcher Koordinate des TMA welche Gewebeprobe eingestanzt wird.

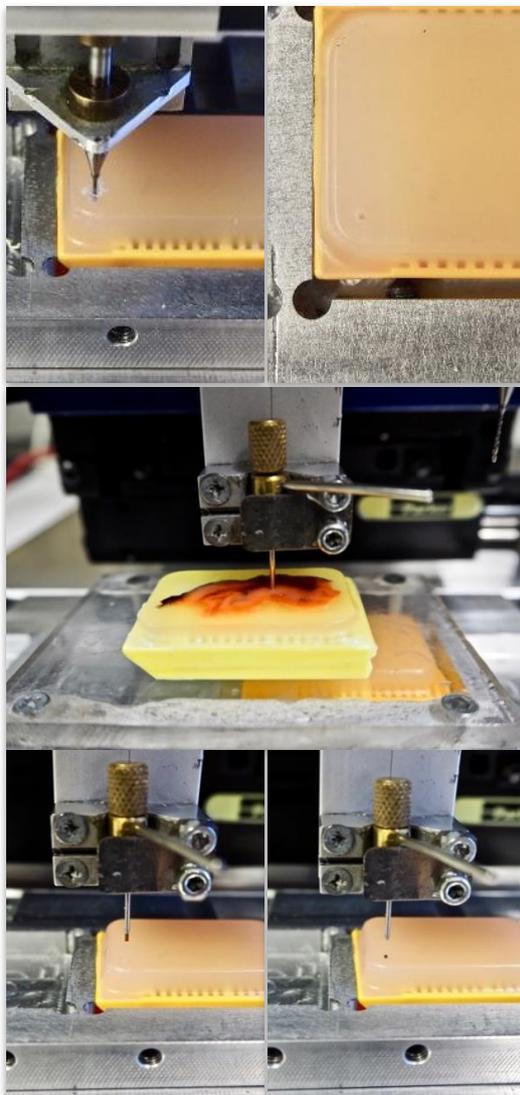


Abbildung 14. Bohrer und Stanznadel. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

5. Bohrung

Mit einem 0,6 mm Bohrer wird ein 3mm tiefes Loch in den leeren Empfängerblock gebohrt.

6. Stanzen

Der Gewebeblock wird positioniert. Anschließend wird die Stanznadel mit einem 0,6mm Holzylinder in den Tumorbereich des Gewebeblockes geführt.

7. Gewebe einbringen

Das Tumorgewebe wird aus der Stanznadel in das vorgebohrte Loch (Schritt 5) des Empfängerblocks eingebracht.

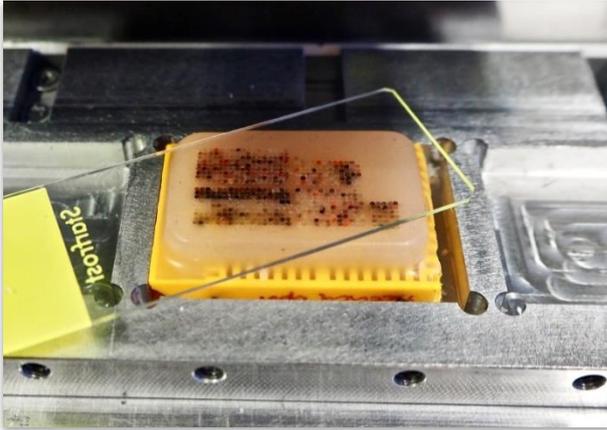


Abbildung 15. Gestanzter Gewebeblock mit darüberliegendem Objektträger. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

8. Fertigstellung

Die Arbeitsschritte werden wiederholt, bis der TMA fertig gestanzt ist. Damit keine Fehler unterlaufen, ist ein ständiger Abgleich der Koordinaten mit dem Datenfile erforderlich.

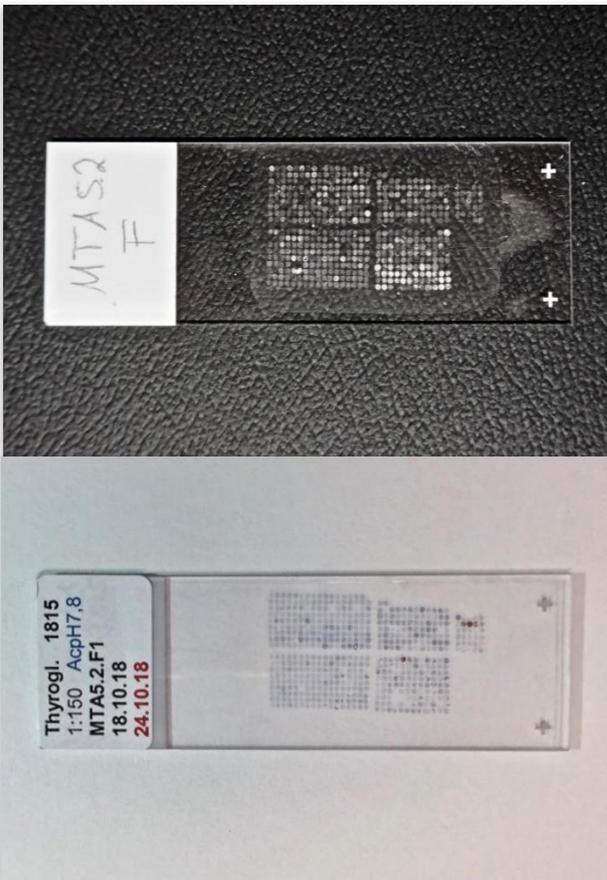


Abbildung 16. Schnitt ohne Färbung (oben) und Schnitt mit immunhistochemischer Färbung (unten). Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

9. Leerschnitt

Vom fertigen TMA-Block wird eine 4µm dicke Scheibe geschnitten und auf einen Objektträger gebracht. Ohne Färbung wird dieser als Leerschnitt bezeichnet.

10. Färbung

Der Leerschnitt wird nach einem bestimmten Färbeprotokoll, abhängig vom verwendeten Antikörper, immunhistochemisch gefärbt. In diesem Beispiel wurde der Antikörper Thyreoglobulin verwendet.

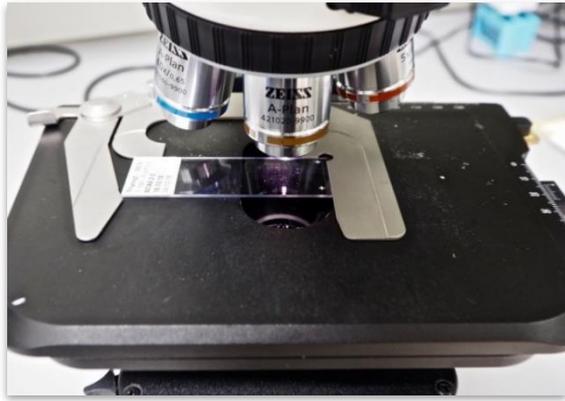


Abbildung 17. Mikroskopische Auswertung.
Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.

11. Auswertung

Unter dem Mikroskop wird von einem Pathologen jeder einzelne Spot analysiert und nach vorgegebenen Kriterien ausgewertet.

Ein TMA-Block besteht normalerweise aus sechs Sektoren, welche mit den Großbuchstaben A-F gekennzeichnet sind. Zur Sicherstellung der Orientierung sind die Sektoren unterschiedlich groß. Die Zeilen eines Sektors werden mit Zahlen, die Spalten mit Kleinbuchstaben definiert. TMA sind hervorragend geeignet, um in kurzer Zeit eine große Menge an Tumoren mit molekularen in-situ-Methoden zu untersuchen (Kononen et al. 1998). Darüber hinaus eignen sich TMA optimal für die Pseudanonymisierung und Anonymisierung von Patientengewebe. Patientenidentifizierungsmerkmale sind lediglich für die Herstellung von TMA Blöcken notwendig. Danach können Patienten identifizierende Merkmale wie Biopsienummern entweder verschlüsselt werden (Pseudonymisierung) oder permanent gelöscht werden (Anonymisierung). Nachdem bei der Herstellung von TMA meistens zwischen 2 und 8 Replikatblöcke hergestellt werden, kann ein einmal hergestellter TMA über viele Jahre hinweg genutzt werden.

2.2 Multi-Tumor-Array

Der für diese Studie genutzte Multi-Tumor-Array (MTA) wurde bereits früher hergestellt. Der MTA besteht aus sieben verschiedenen Blöcken (A-G), welche 3449 Tumoren und jeweils eine Standard-Kontrollsektion enthalten. Die Kontrollsektion F beinhaltet Normalgewebe von Haut, Niere, Prostata, Gehirn, Colon, Herz, Pankreas und Schilddrüse. Die genaue Zusammensetzung des MTA ist in Tabelle 1 dargestellt. Abbildung 18 zeigt eine Übersicht über einen HE-Schnitt

des C-Blocks dieses MTA. Abbildung 19 zeigt schematisch die Tumorzusammensetzung desselben Blocks in den einzelnen Sektoren.

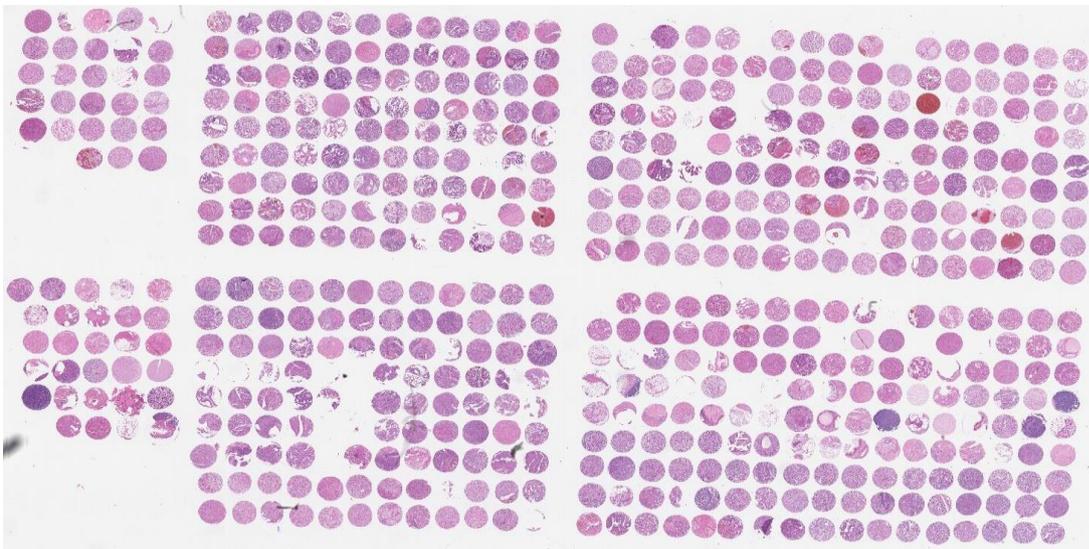


Abbildung 18. HE-Schnitt des C-Blocks mit den Sektoren A-F.

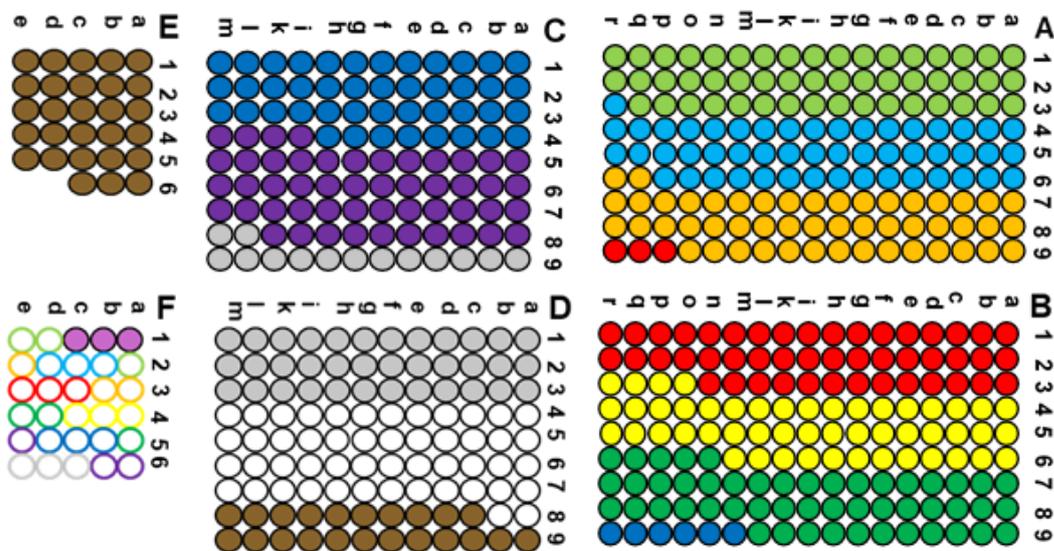


Abbildung 19. MTA5.2. Schematische Darstellung des C-Blocks mit den Sektoren A-F unter farblicher Kennzeichnung der verschiedenen Tumorentitäten (A-E). Sektor F beinhaltet Normalgewebe. Nierekarzinom chromophob, Nierekarzinom papillär, Nierekarzinom klarzellig, Onkozytom, Teratom, Seminom, Embryonales Hodenkarzinom, Dottersacktumor, Urothelkarzinom T2-4, Urothelkarzinom pTa, Nebennierenrindenadenom.

2.3 Immunhistochemie (IHC)

Für die Durchführung der immunhistochemischen Untersuchung wurden von den sieben TMA Blöcken des MTA an einem Tag 2,5 µm dicke Schnitte hergestellt,

welche am Folgetag immunhistochemisch gefärbt wurden. Die Schnitte wurden entparaffiniert und danach einer hitzeinduzierten Epitop-Demaskierungsprozedur unterzogen. Zu diesem Zweck wurden die Präparate für 5min in einem Autoklav bei 121 Grad in einem pH 7,8 Puffer erhitzt. Nach Abkühlung wurde der MUC6 Antikörper (BioSB #BSB6171) für eine Stunde bei 37 Grad in einem Brutschrank inkubiert. Die Färbereaktion wurde danach mit dem Envision-Kit (Dako, Glostrup/ Dänemark) für 30min bei 37 Grad visualisiert. Danach wurde eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin durchgeführt. Die Auswertung der Präparate erfolgte durch einen Pathologen (Professor G. Sauter) an einem Tag. Für jeden Gewebespot wurden der prozentuale Anteil gefärbter Tumorzellen und die Färbeintensität registriert. Die Färbeintensität wurde in 4 Stufen geschätzt (0 bis 3). Sämtliche Tumorproben wurden danach aufgrund des prozentualen Anteils positiver Zellen und der Färbeintensität nach einem vordefinierten System in die Kategorien negativ, schwach positiv, mäßig stark positiv, stark positiv eingeteilt. Die verwendeten Kriterien sind in Abbildung 20 dargestellt.

Score	Definition
Negative	Intensity 0
Weak positivity	Intensity 1 in $\leq 70\%$ of tumor cells or Intensity 2 in $\leq 30\%$ of tumor cells
Moderate positivity	Intensity 1 in $> 70\%$ of tumor cells or Intensity 2 in $> 30\%$ but $\leq 70\%$ of tumor cells or Intensity 3 in $\leq 30\%$ of tumor cells
Strong positivity	Intensity 2 in $> 70\%$ of tumor cells Intensity 3 in $> 30\%$ of tumor cells

Abbildung 20. Kriterien für die Bewertung der Färbeintensität.
Quelle: Simon R, Mirlacher M und Sauter G (2010) Immunohistochemical analysis of tissue microarrays. *Methods Mol Biol.* 664:113-26.

2.4 Statistik

Für die Darstellung der Befunde wurden ausschließlich deskriptive Werte verwendet. Statistische Unterschiede wurden nicht berechnet. Der Verzicht auf die Bestimmung von p-Werten ist bei der Evaluation von Antikörpern wie in dieser Studie allgemein üblich. (Simon et al. 2004, Tsourlakis et al. 2015, Bonk et al. 2019)

Tabelle 1. Zusammensetzung des Multi-Tumor-Arrays 5.2 (MTA5.2).

	Entität	n auf TMA	Block	Lokalisation
Tumoren der Haut	Pilomatrixom	35	G	B 4f - B 6f
	Basaliom	48	E	A 3r – A 6n
	Benigner Naevus	29	E	A 9l - B 2e
	Haut Plattenepithelkarzinom	50	E	A 1a - A 3q
	Malignes Melanom	48	E	A 6o - A 9k
	Merkellzellkarzinom	46	G	B 9r - C 4i
Atemwegstumoren	Larynx Plattenepithelkarzinom	50	F	B 7b - B 9r
	Mundboden Plattenepithelkarzinom	50	F	B 4c - B 7a
	Lunge Plattenepithelkarzinom	50	A	A 3q - A 6o
	Bronchialkarzinom großzellig	31	A	A 9o - B 2k
	Lunge Adenokarzinom	50	A	A 6p - A 9n
	Lunge bronchioalveoläres Karzinom	6	A	B 2p - B 3c
	Lunge kleinzelliges Karzinom	20	A	B 2l - B 2o
	Malignes Mesotheliom	48	G	B 1i - B 4e
	Parotis Pleomorphes Adenom	50	F	C 1a - C 5b
	Parotis Warthin Tumor	49	F	C 5c - C 9c
	Speicheldrüse Basalzelladenom	15	F	B 3e - B 4b
Gynäkologische Tumoren	Vagina Plattenepithelkarzinom	48	B	D 9k - E 9e
	Vulva Plattenepithelkarzinom	50	B	C 6d - D 1e
	Zervix Plattenepithelkarzinom	50	B	D 5h - D 9i
	Zervix Adenokarzinom	50	B	D 1f - D 5g
	Endometriumkarzinom endometrioid	50	B	B 7p - C 2a
	Endometriumkarzinom serös	50	B	C 2b - C 6c
	Uterus Stromasarkom	12	F	A 6q - A 7k
	Karzinom	48	F	A 7l - B 1i
	Ovarialkarzinom endometrioid	37	B	A 3b - A 5d
	Ovarialkarzinom serös	50	B	A 5e - A 8c
	Ovarialkarzinom muzinös	26	B	A 1k - A 3a

	Entität	n auf TMA	Block	Lokalisation
	Brennertumor	9	B	A 1a - A 1i
	Mammakarzinom NST	46	A	D 9k - E 9c
	Mammakarzinom lobulär	43	B / A	A 8d – B 1l / E 9e
	Mammakarzinom medullär	15	B	B 2r - B 3o
	Mammakarzinom tubulär	18	B	B 3p - B 4p
	Mammakarzinom muzinös	22	B	B 1m - B 2q
	Phylloider Tumor der Mamma	50	B	B 4q - B 7o
Gastrointestinale Tumoren	Colonadenom, low grade	50	D	B 2h - B 5f
	Colonadenom, high grade	50	D	B 5g - B 8e
	Colon Adenokarzinom	50	A	C 7m - D 3a
	Dünndarm Adenokarzinom	10	D	C 6m - C 7i
	Magenkarzinom diffuser Typ	50	A	B 9a - C 3i
	Magenkarzinom intestinaler Typ	50	A	C 3k - C 7l
	Ösophagus Adenokarzinom	50	A	B 6b - B 8r
	Ösophagus Plattenepithelkarzinom	49	A	B 3d - B 6a
	Analkanal Plattenepithelkarzinom	50	D	B 8f - C 2i
	Cholangiozelluläres Karzinom	50	D	A 3r - A 6p
	Hepatozelluläres Karzinom	50	D	A 1a - A 3q
	Pankreas duktales Adenokarzinom	50	A	D 3b - D 7c
	Pankreas/Papille Adenokarzinom	30	A	D 7d - D 9i
	Pankreas Neuroendokriner Tumor	49	D	C 7k - D 2l
Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	50	D	C 2k - C 6l	
Urogenitale Tumoren	Urothelkarzinom pTa	50	C	D 4a - D 8b
	Urothelkarzinom T2-4	50	C	C 8l - D 3m
	Harnblasenkarzinom kleinzellig	18	G	C 6c - C 7h
	Nierenzellkarzinom klarzellig	50	C	A 6q - A 9o
	Nierenzellkarzinom papillär	50	C	A 3r - A 6p
	Nierenzellkarzinom chromophob	50	C	A 1a - A 3q
	Onkozytom	50	C	A 9p - B 3n

	Entität	n auf TMA	Block	Lokalisation
	Prostatakarzinom	49	A	A 1a - A 3p
	Prostatakarzinom kleinzellig	17	G	C 4k - C 6b
	Seminom	50	C	B 6n - B 9l
	embryonales Karzinom (Hoden)	50	C	B 9m - C 4h
	Dottersacktumor	50	C	C 4i - C 8k
	Teratom	50	C	B 3o - B 6m
Endokrine Tumoren	Schilddrüsenadenom	50	E	B 2f - B 5d
	Schilddrüsenkarzinom papillär	50	E	B 8c - C 2f
	Schilddrüsenkarzinom follikulär	49	E	B 5e - B 8b
	Schilddrüsenkarzinom medullär	50	E	C 2g - C 6h
	Schilddrüsenkarzinom anaplastisch	26	E	C 6i - C 8k
	Nebennieren-Adenom	50	C	D 8c - E 6c
	Nebennieren-Karzinom	26	D	A 9p - B 2g
	Phäochromozytom	50	D	A 6q - A 9o
	Neuroendokriner Tumor (NET)	50	D	D 2m - D 7a
Hämato- logische Neoplasien	Hodgkin-Lymphom	45	F	D 4e - D 8b
	Non Hodgkin-Lymphom	48	F	C 9d - D 4d
	Thymom	29	F	B 1k - B 3d
Weich- gewebs- tumoren	Riesenzell-Sehnenscheiden Tumor	45	G	B 6g - B 8r
	Granularzelltumor	30	G	A 1a - A 2n
	Leiomyom	50	F	A 1a - A 3q
	Leiomyosarkom	49	F	A 3r - A 6p
	Liposarkom	49	G	A 6c - A 8r
	Angiosarkom	32	G	A 2o - A 4l
Knochen- tumoren	Osteosarkom	25	G	A 9a - B 1h
	Chondrosarkom	25	G	A 4m - A 6b

3. Ergebnisse

3.1 Technische Aspekte

Von insgesamt 3449 untersuchten Tumoren waren 2362 auswertbar. Gründe für nicht auswertbare Fälle waren das Fehlen von Gewebeproben an den entsprechenden Koordinaten oder der fehlende Nachweis eindeutiger Tumorzellen auf den gefärbten Gewebeschnitten.

3.2 MUC6 Expression in Tumoren

Die Untersuchung ergab eine positive MUC6 Anfärbung in 141 von 3449 untersuchten Tumoren (6%). Von 2362 auswertbaren Tumoren waren 2221 negativ (94%), 67 schwach positiv (2.8%), 38 mäßig stark positiv (1.6%) und 36 (1.5%) stark positiv. Repräsentative Bilder von MUC6 positiven und negativen Tumoren sind in den folgenden Abbildungen 21 bis 45 dargestellt.

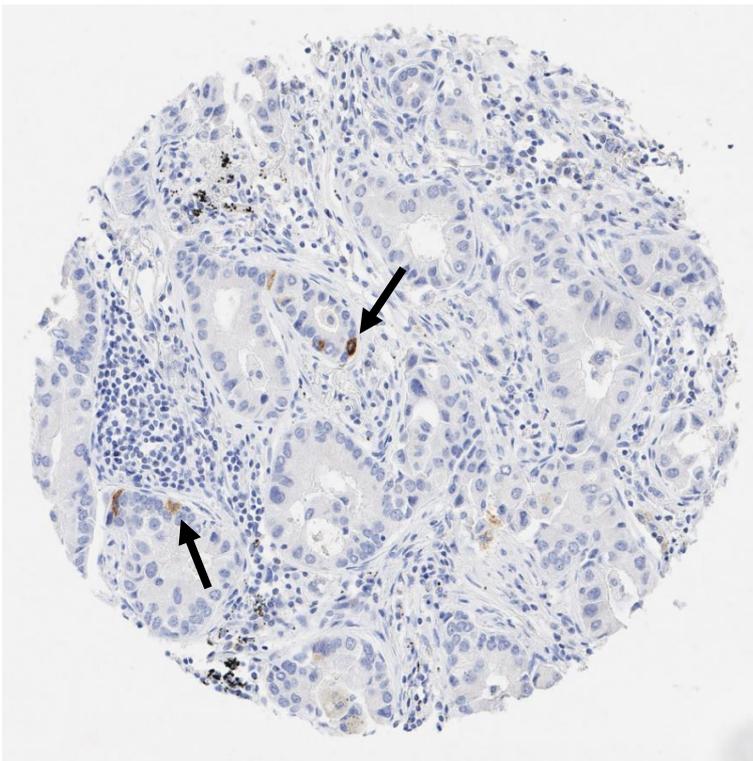


Abbildung 21. Adenokarzinom der Lunge mit kräftiger MUC6 Anfärbung einzelner Zellen (siehe Pfeile).

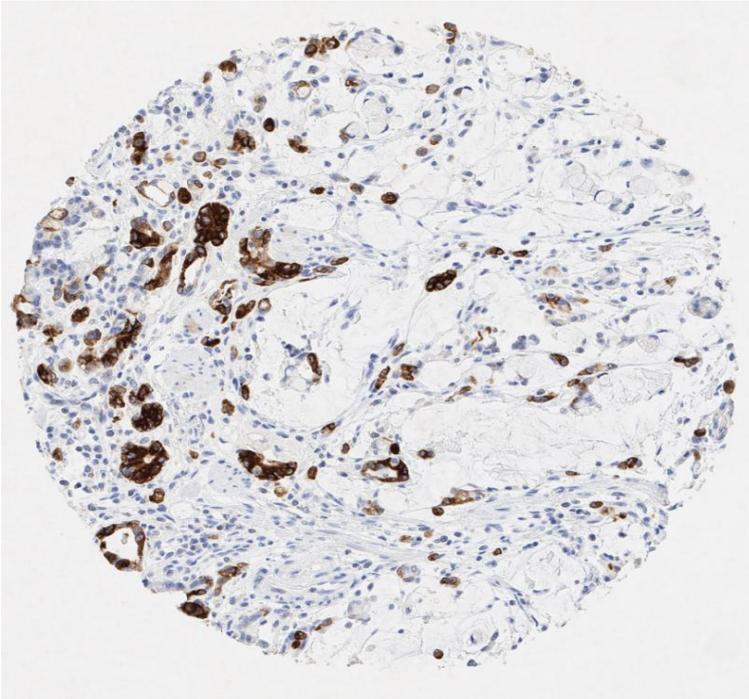


Abbildung 22. Magenkarzinom mit kräftiger diffuser MUC6 Färbung.

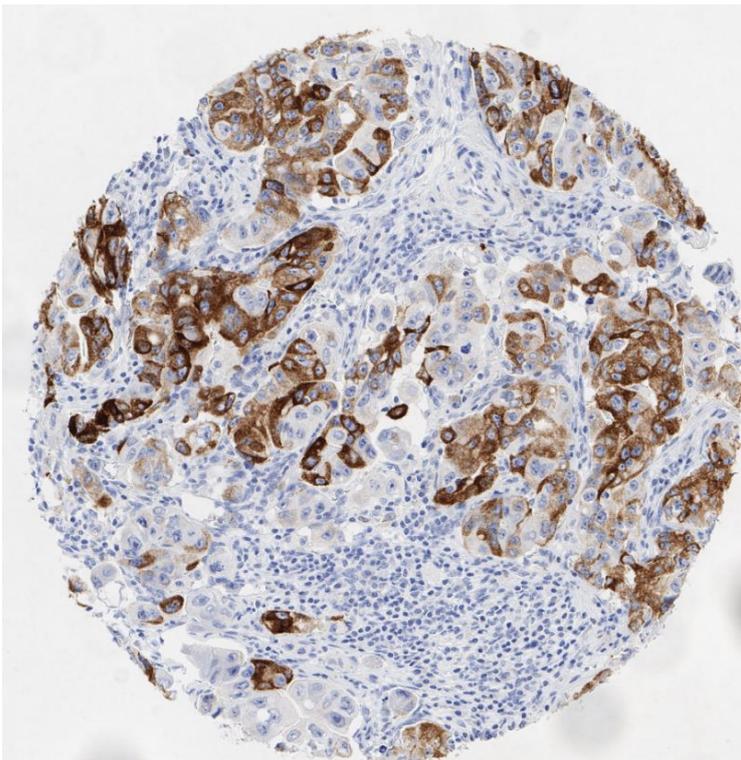


Abbildung 23. Magenkarzinom (diffus) mit heterogenem MUC6 Muster. Unterschiedlich stark gefärbte Zellen in einem Mosaikmuster.

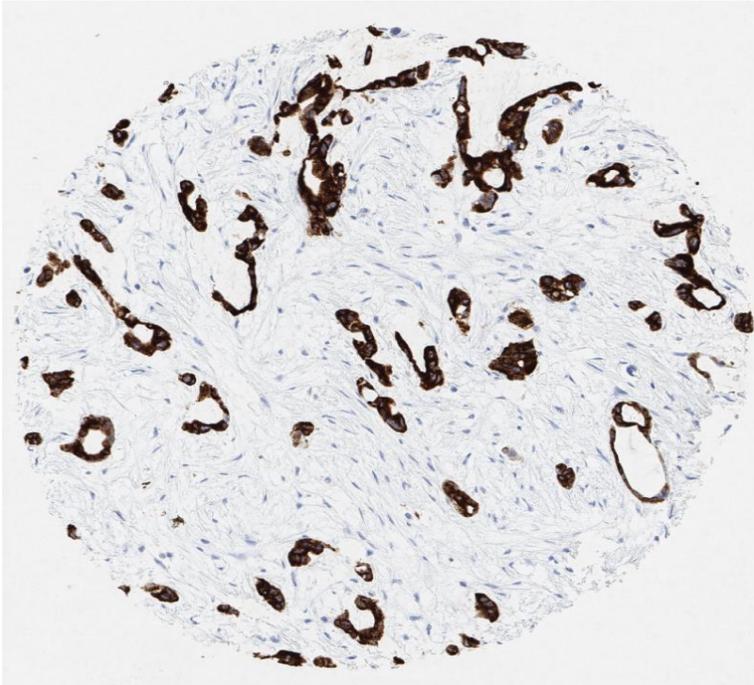


Abbildung 24. Kräftige MUC6 Anfärbung in 100% der Tumorzellen eines Cholangiozellulären Karzinoms der Leber.

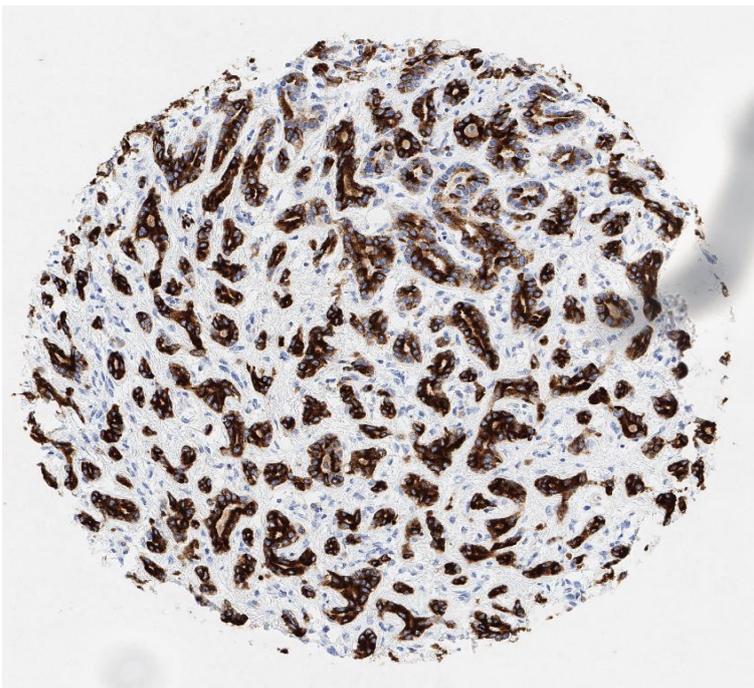


Abbildung 25. Cholangiozelluläres Karzinom mit sehr kräftiger MUC6 Anfärbung sämtlicher Tumorzellen.

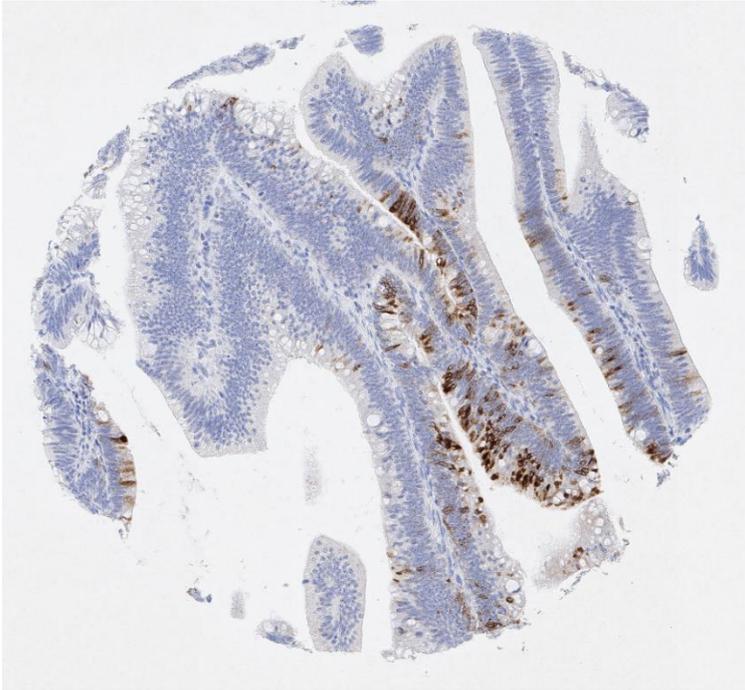


Abbildung 26. Kolonadenom (high-grade) mit fokal akzentuierter MUC6 Anfärbung in einem Teil der Tumorzellen (circa 10%, Mosaikmuster).

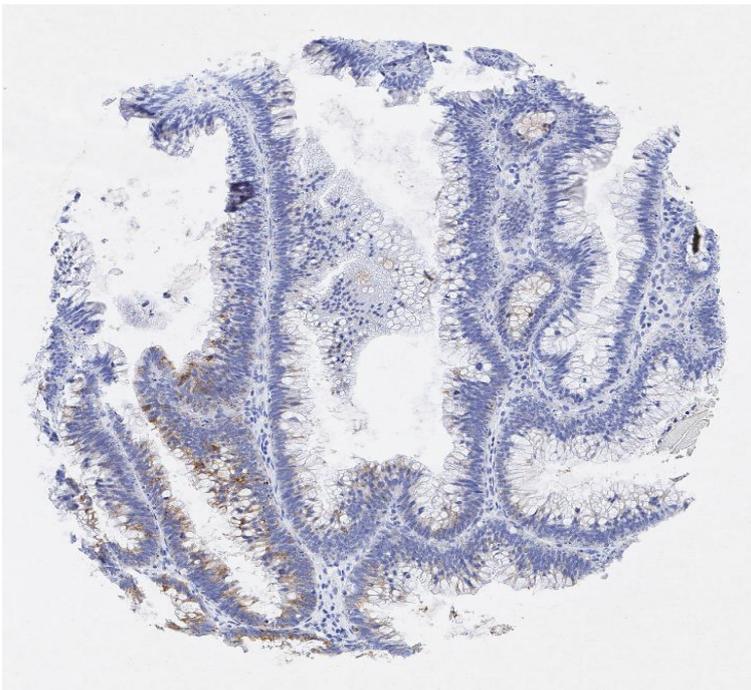


Abbildung 27. Kolonkarzinom (high-grade) mit fokal schwacher zytoplasmatischer MUC6 Positivität (circa 10% der Tumorzellen).

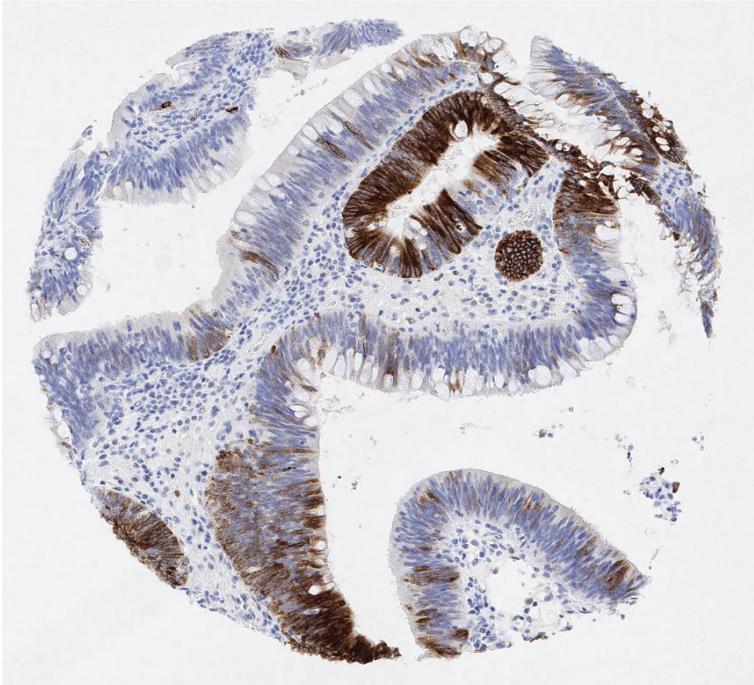


Abbildung 28. Kolonadenom (high-grade) mit fokal kräftiger MUC6 Anfärbung (circa 30% der Tumorzellen).

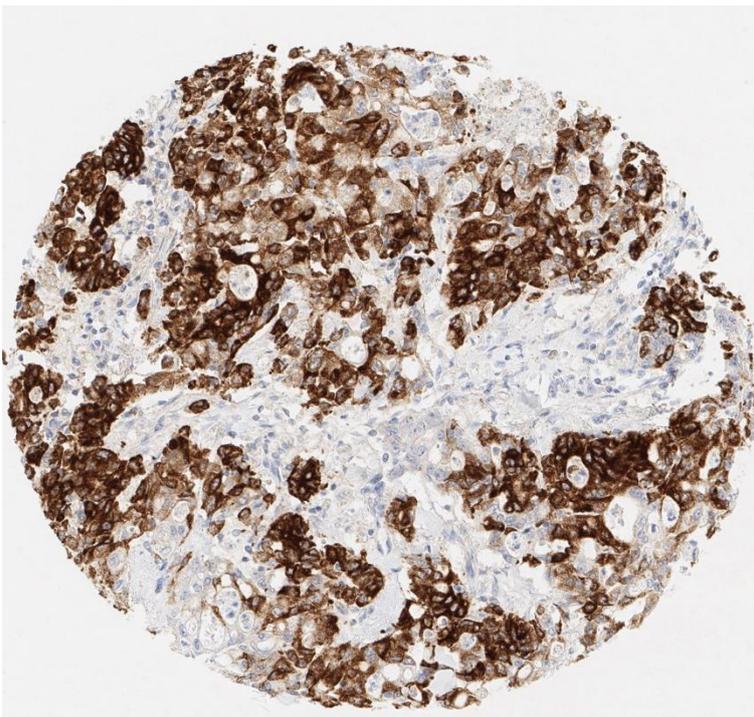


Abbildung 29. Kräftige diffuse MUC6 Positivität in einem Adenokarzinom des Kolons.

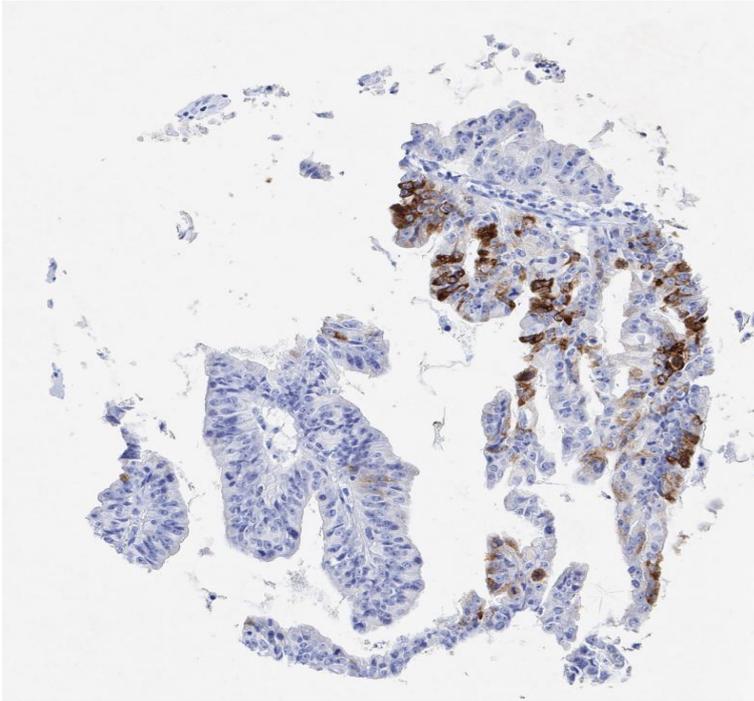


Abbildung 30. Muzinöses Ovarialkarzinom mit kräftiger MUC6 Anfärbung in circa 10% der Tumorzellen (Mosaikmuster).

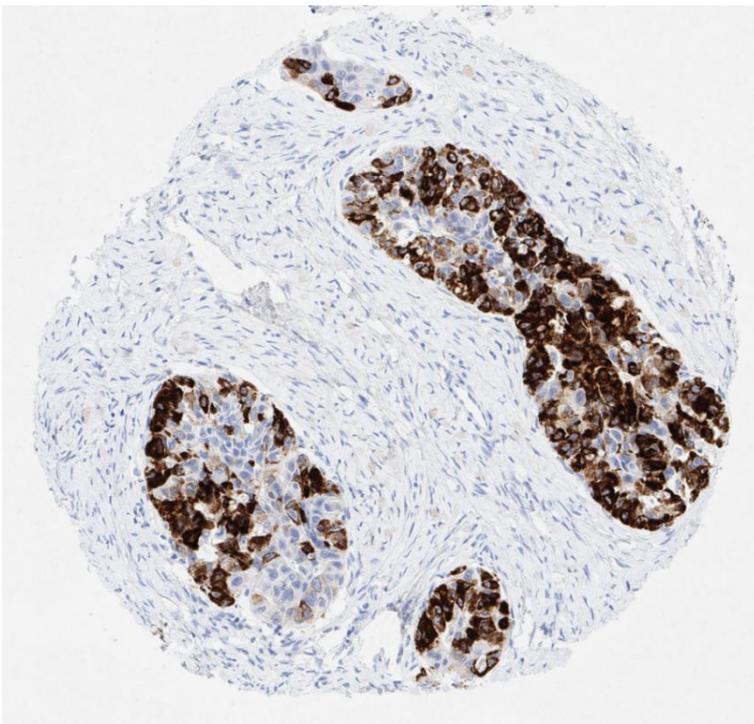


Abbildung 31. Seröses Ovarialkarzinom mit sehr kräftiger MUC6 Anfärbung in circa 50% der Zellen (Mosaikmuster).

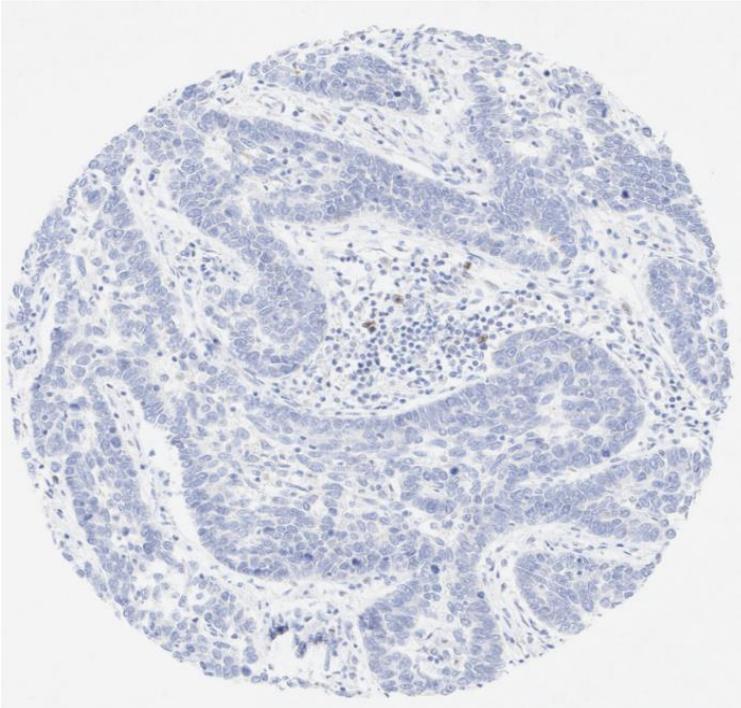


Abbildung 32. Adenokarzinom der Zervix ohne nachweisbare MUC6 Positivität (MUC6 negativ).

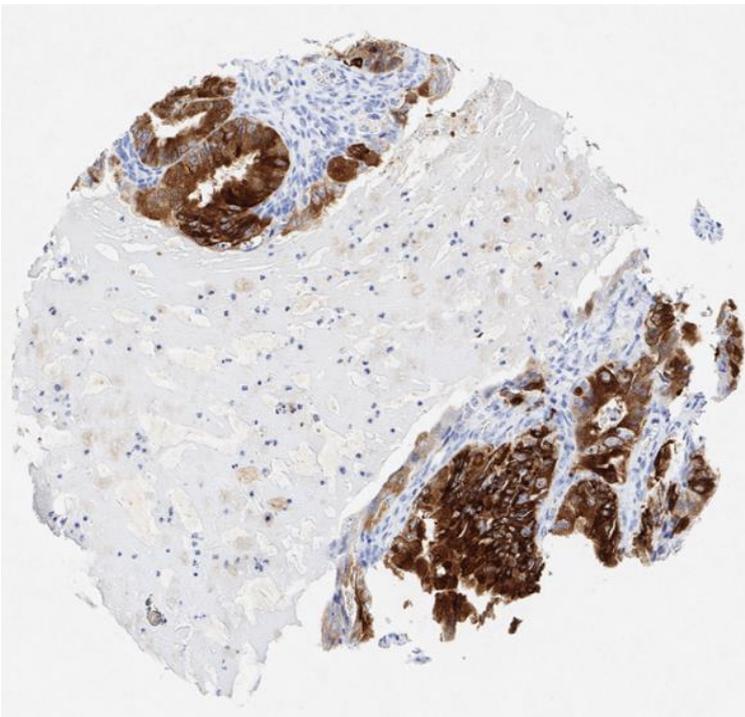


Abbildung 33. Endometrioides Ovariakarzinom mit diffuser zytoplasmatischer MUC6 Färbung.

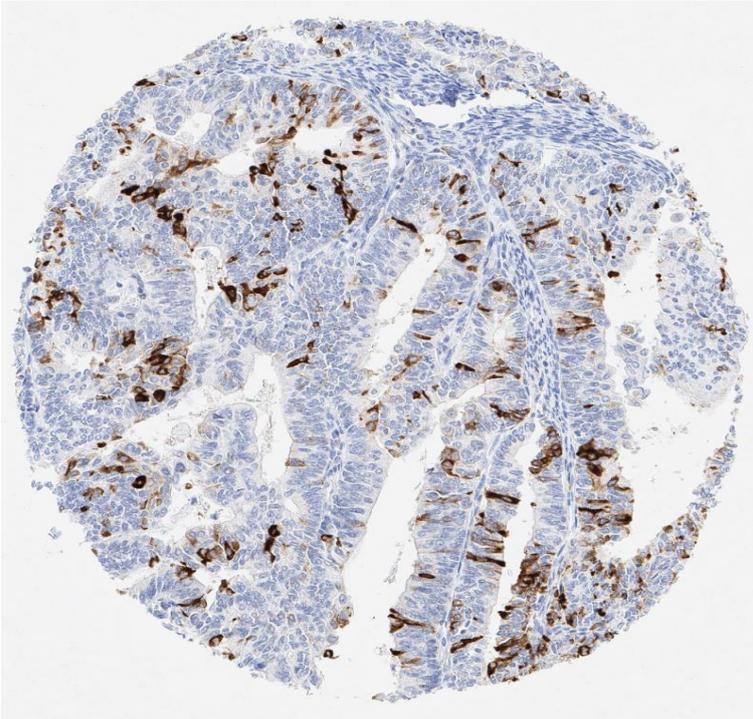


Abbildung 34. Adenokarzinom der Zervix mit kräftiger MUC6 Färbung in 5-10% der Tumorzellen (Mosaikmuster).

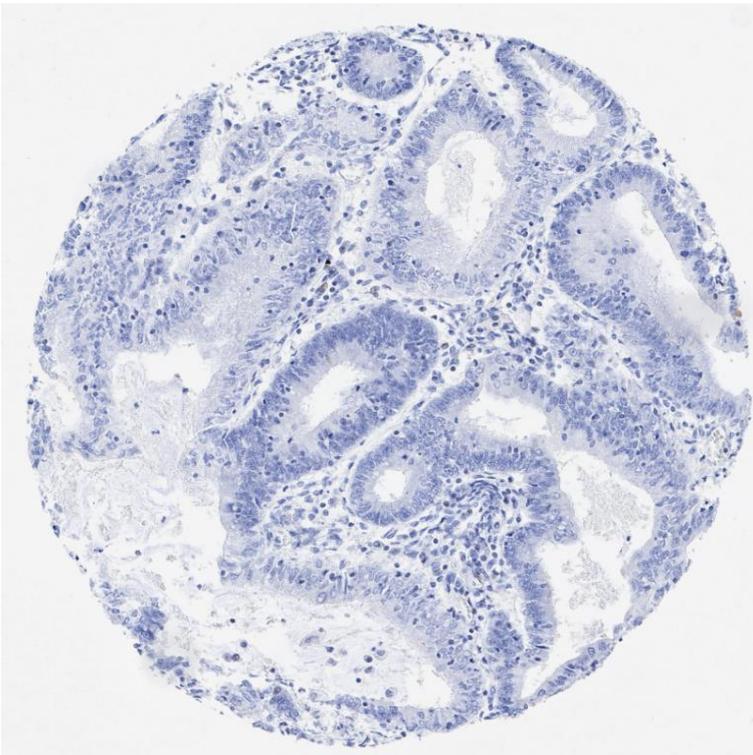


Abbildung 35. Endometrioides Endometriumkarzinom ohne erkennbare MUC6 Expression (MUC6 negativ).

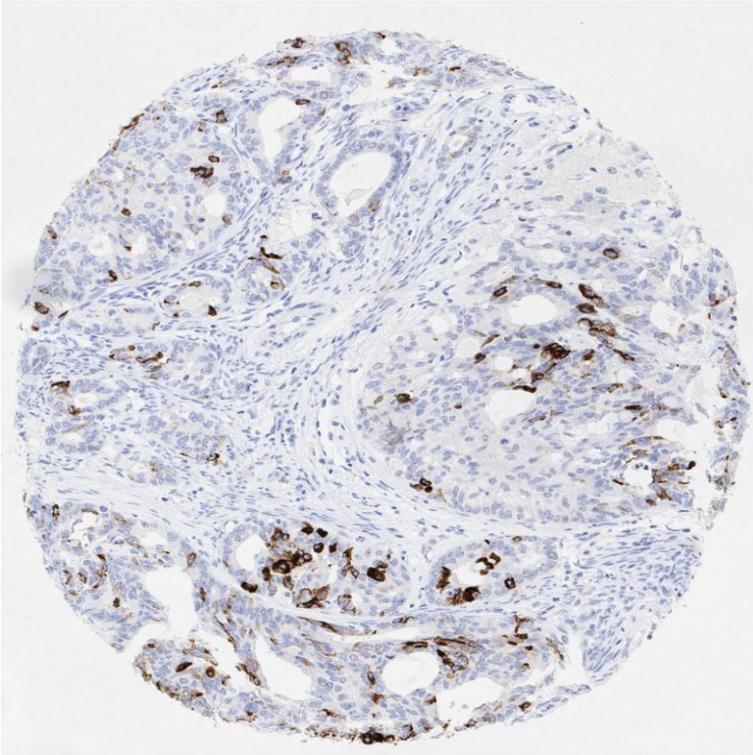


Abbildung 36. Endometrioides Endometriumkarzinom mit kräftiger MUC6 Anfärbung in circa 5-10% der Tumorzellen (Mosaikmuster).

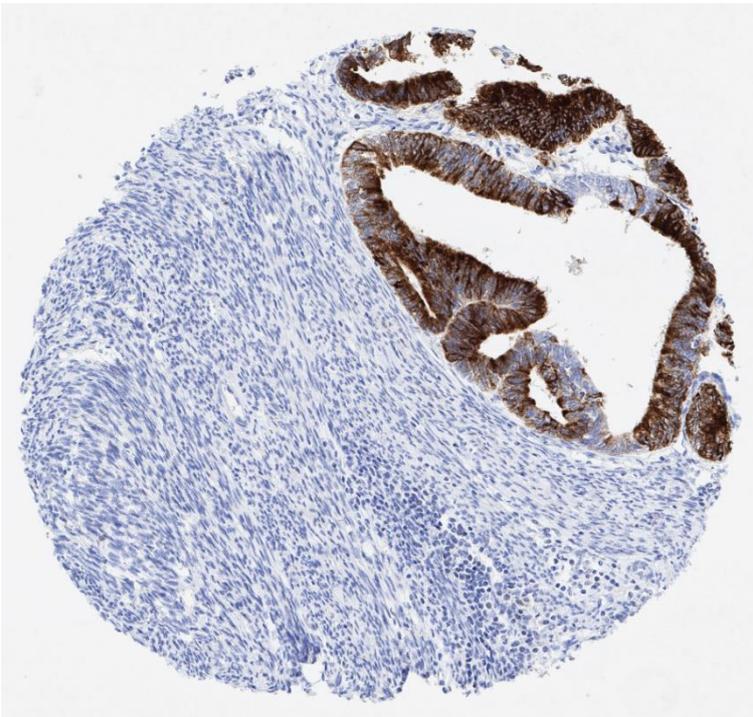


Abbildung 37. Endometrioides Endometriumkarziom mit kräftiger zytoplasmatischer MUC6 Positivität in 95% der Tumorzellen.

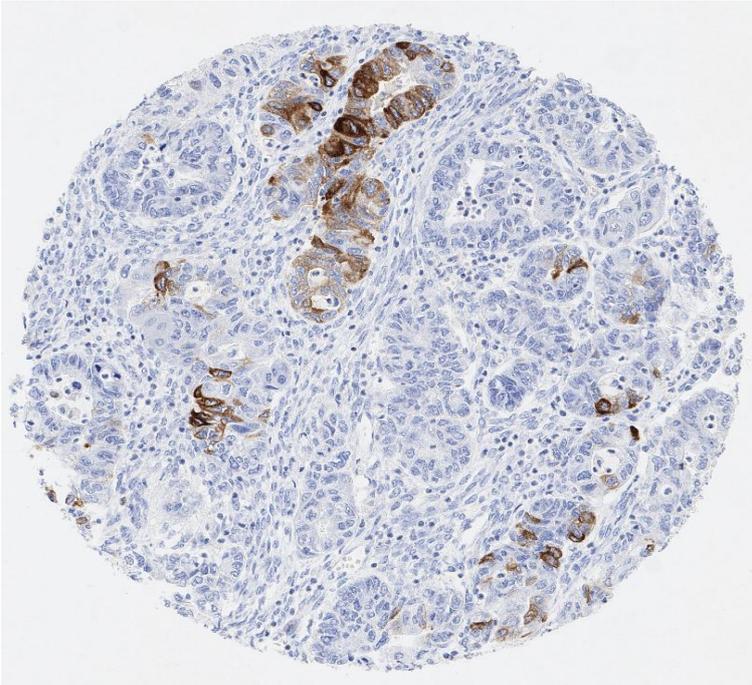


Abbildung 38. MUC6 Positivität in einem malignen müllerschen Misch tumor (circa 10% der epithelialen Tumorzellen).

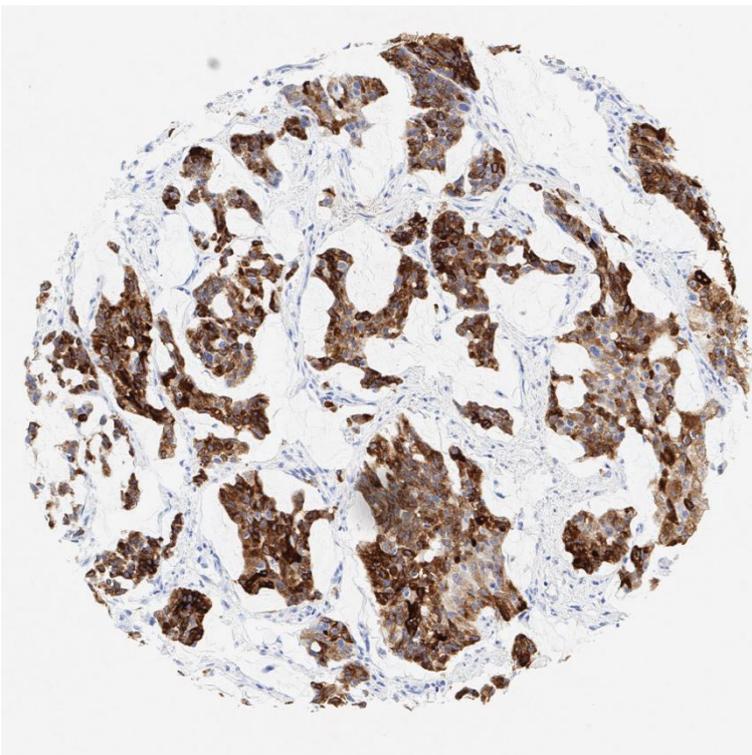


Abbildung 39. Urothelkarzinom der Harnblase (mindestens pT2) mit kräftiger diffuser Positivität.

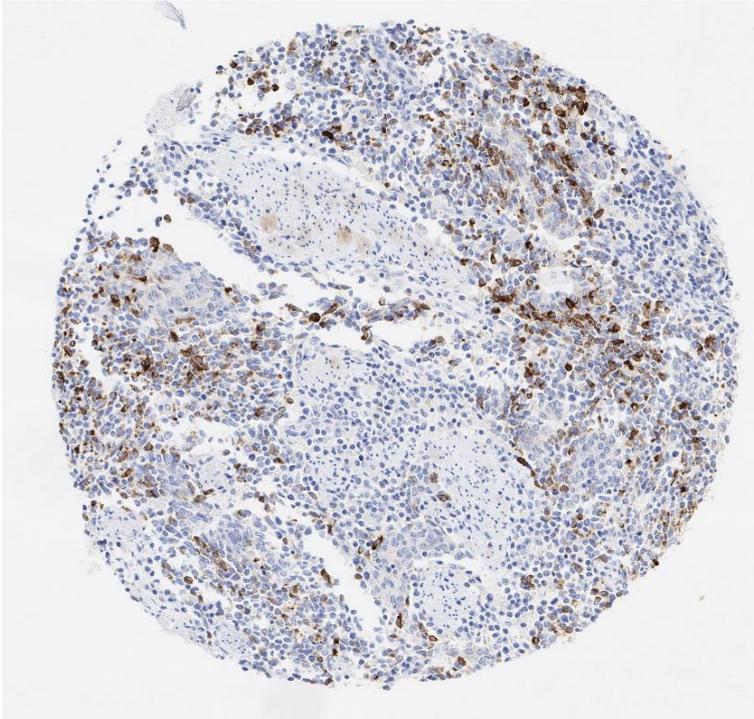


Abbildung 40. Fokale MUC6 Anfärbung in einem kleinzelligen Karzinom der Harnblase (Positivität in circa 10-20% der Tumorzellen).

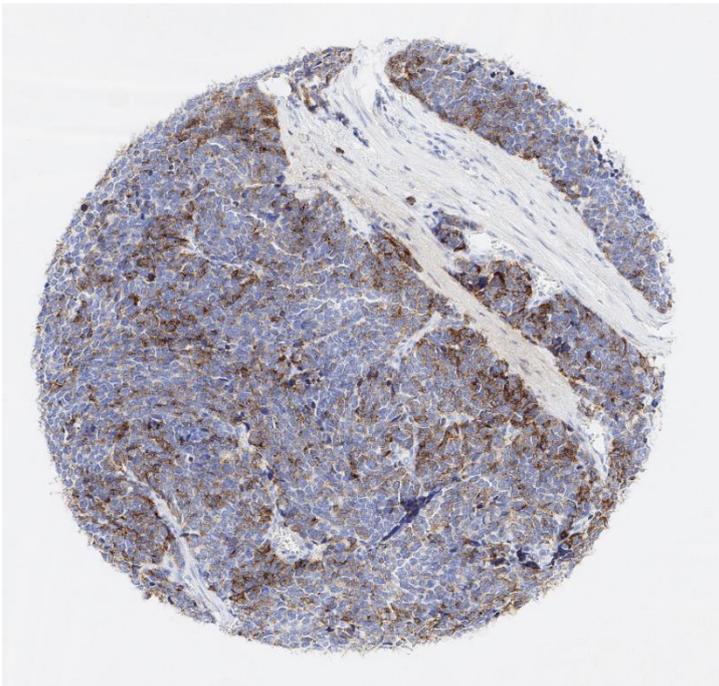


Abbildung 41. Schwach bis mäßig starke MUC6 Expression in 30-50% der Tumorzellen eines kleinzelligen Prostatakarzinoms.

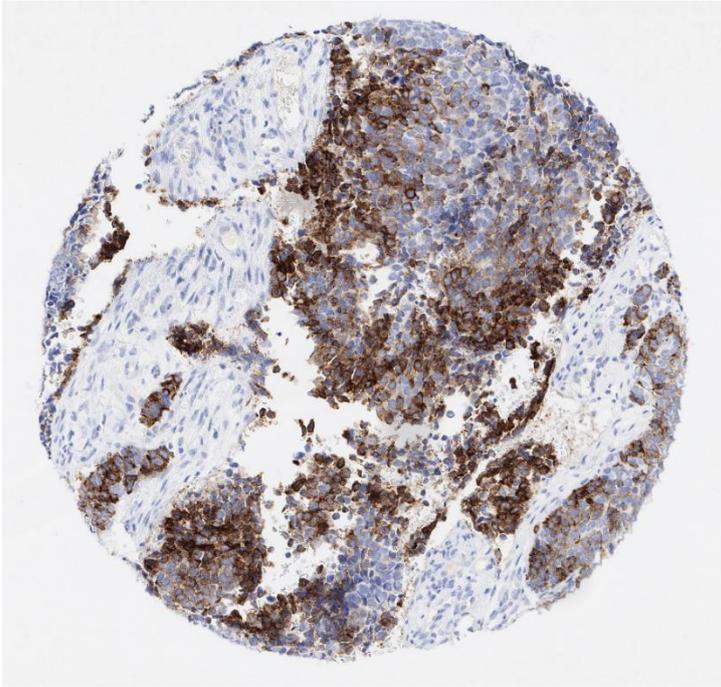


Abbildung 42. Kleinzelliges Prostatakarzinom mit MUC6 Positivität in ca. 50% der Tumorzellen (teilweise kräftig).

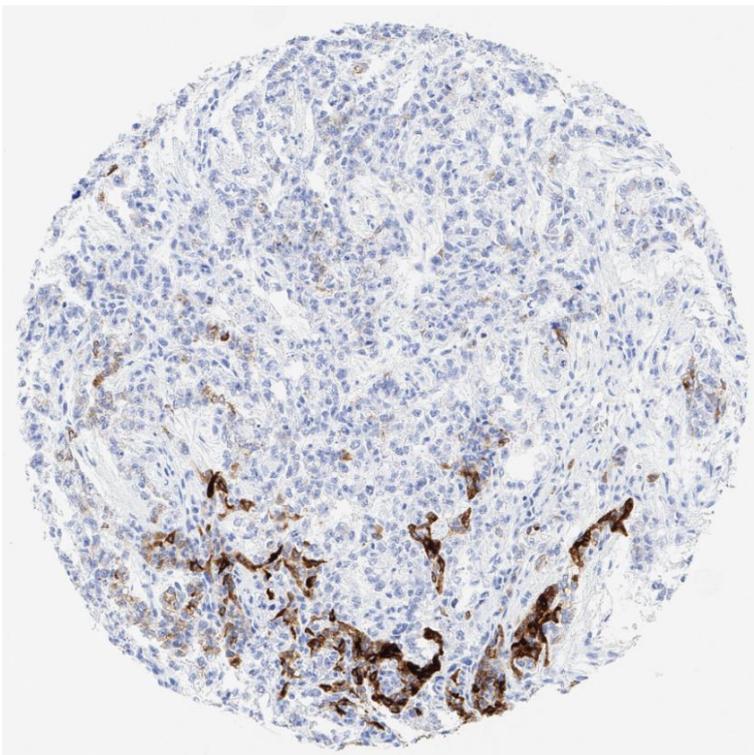


Abbildung 43. Dottersacktumor des Hodens mit fokaler MUC6 Anfärbung (circa 10% der Tumorzellen).

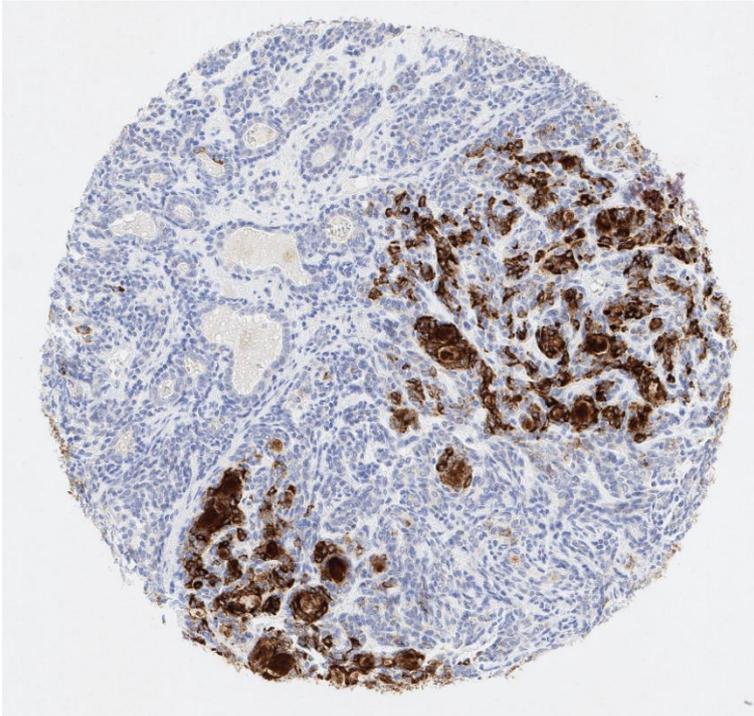


Abbildung 44. Fokal ausgeprägte MUC6 Expression in einem Basalzelladenom.

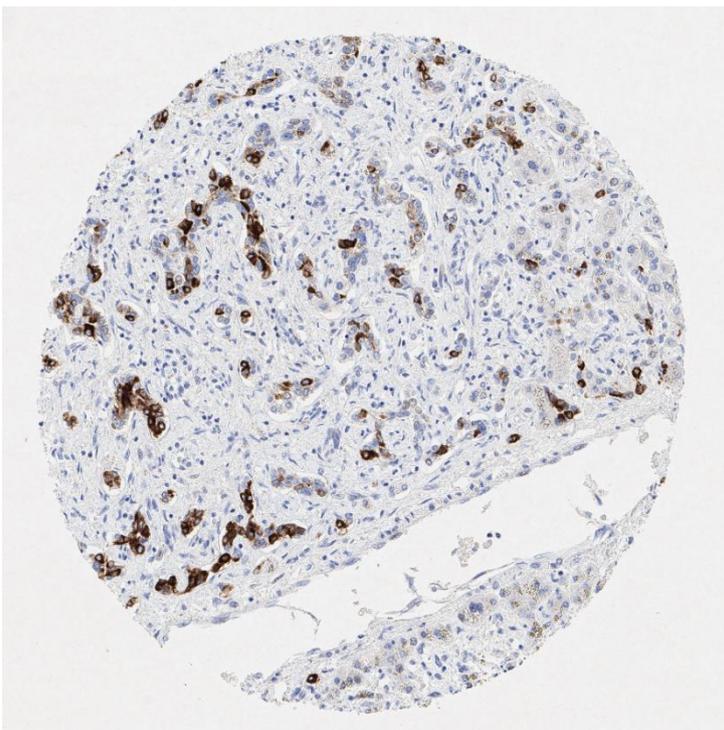


Abbildung 45. Angiosarkom mit teilweise kräftiger MUC6 Expression der Tumorzellen (circa 30% der Tumorzellen).

Auffällig waren die unterschiedlich anzutreffenden Färbemuster. Bei vielen Tumoren fand sich eine diffuse, zytoplasmatische Anfärbung der gesamten Tumormasse. Bei anderen Tumoren war die Anfärbung nur fokal erkennbar. Bei vielen Tumoren fand sich eine kräftige Anfärbung einer kleinen bis mäßig großen Subpopulation von Tumorzellen (meist 1-30%), wobei die positiven Tumorzellen nicht zusammenlagen, sondern diffus verteilt im Tumor vorkamen. Die meist regelmäßige, organoide Anordnung der positiven Tumorzellen entspricht einem mosaikartigen Bild (Mosaikmuster). Die Ergebnisse sind für die einzelnen Tumortypen und Subtypen in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2. Ergebnisse der MTA5.2 MUC6 Färbung.

	Entität	n auf TMA	n analysierbar	(-) %	(+) %	(++) %	(+++) %	+ ges. %
Hauttumoren	Pilomatrixom	35	26	96,2	3,8	0,0	0,0	3,8
	Basaliom	48	42	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Benigner Naevus	29	23	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Haut Plattenepithelkarzinom	50	44	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Malignes Melanom	48	43	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Merkellzellkarzinom	46	43	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Atemwegstumoren	Larynx Plattenepithelkarzinom	50	37	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mundboden Plattenepithelkarzinom	50	42	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Lunge Plattenepithelkarzinom	50	18	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Bronchialkarzinom großzellig	31	13	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Lunge Adenokarzinom	50	22	95,5	4,5	0,0	0,0	4,5
	Lunge bronchioalveoläres Karzinom	6	5	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Lunge kleinzelliges Karzinom	20	15	86,7	0,0	13,3	0,0	13,3
	Malignes Mesotheliom	48	32	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Parotis Pleomorphes Adenom	50	24	75,0	25,0	0,0	0,0	25,0
	Parotis Warthin Tumor	49	33	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Speicheldrüse Basalzelladenom	15	13	69,2	23,1	7,7	0,0	30,8

	Entität	n auf TMA	n analysierbar	(-) %	(+) %	(++) %	(+++) %	+ ges. %
Gynäkologische Tumoren	Vagina Plattenepithelkarzinom	48	12	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Vulva Plattenepithelkarzinom	50	21	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Zervix Plattenepithelkarzinom	50	27	96,3	3,7	0,0	0,0	3,7
	Zervix Adenokarzinom	50	41	65,9	9,8	12,2	12,2	34,1
	Endometriumkarzinom endometrioid	50	38	76,3	10,5	7,9	5,3	23,7
	Endometriumkarzinom serös	50	18	88,9	11,1	0,0	0,0	11,1
	Uterus Stromasarkom	12	11	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Karzinom	48	45	82,2	6,7	11,1	0,0	17,8
	Ovarialkarzinom endometrioid	37	15	73,3	13,3	6,7	6,7	26,7
	Ovarialkarzinom serös	50	32	84,4	6,3	3,1	6,3	15,6
	Ovarialkarzinom muzinös	26	13	84,6	7,7	7,7	0,0	15,4
	Brennertumor	9	6	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mammakarzinom NST	46	15	86,7	0,0	6,7	6,7	13,3
	Mammakarzinom lobulär	43	24	66,7	25,0	4,2	4,2	33,3
	Mammakarzinom medullär	15	11	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mammakarzinom tubulär	18	9	88,9	11,1	0,0	0,0	11,1
	Mammakarzinom muzinös	22	16	62,5	12,5	12,5	12,5	37,5
	Mammakarzinom phylloid	50	22	72,7	13,6	9,1	4,5	27,3
Gastrointestinale Tumoren	Colonadenom, low grade	50	34	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Colonadenom, high grade	50	44	93,2	4,5	2,3	0,0	6,8
	Colon Adenokarzinom	50	14	92,9	0,0	0,0	7,1	7,1
	Dünndarm Adenokarzinom	10	8	75,0	0,0	12,5	12,5	25,0
	Magenkarzinom diffuser Typ	50	23	78,3	8,7	0,0	13,0	21,7
	Magenkarzinom intestinaler Typ	50	21	81,0	14,3	0,0	4,8	19,0
	Ösophagus Adenokarzinom	50	16	75,0	0,0	12,5	12,5	25,0
	Ösophagus Plattenepithelkarzinom	49	13	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Analkanal Plattenepithelkarzinom	50	33	97,0	3,0	0,0	0,0	3,0
	Cholangiozelluläres Karzinom	50	39	76,9	7,7	5,1	10,3	23,1

	Entität	n auf TMA	n analysierbar	(-) %	(+) %	(++) %	(+++) %	+ ges. %
	Hepatozelluläres Karzinom	50	46	97,8	2,2	0,0	0,0	2,2
	Pankreas duktales Adenokarzinom	50	15	93,3	0,0	0,0	6,7	6,7
	Pankreas/Papille Adenokarzinom	30	10	80,0	0,0	10,0	10,0	20,0
	Pankreas Neuroendokriner Tumor	49	37	91,9	5,4	2,7	0,0	8,1
	Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	50	42	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Urogenitale Tumoren	Urothelkarzinom pTa	50	39	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Urothelkarzinom T2-4	50	41	87,8	9,8	0,0	2,4	12,2
	Harnblasenkarzinom kleinzellig	18	17	70,6	17,6	11,8	0,0	29,4
	Nierenzellkarzinom klarzellig	50	47	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nierenzellkarzinom papillär	50	41	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nierenzellkarzinom chromophob	50	46	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Onkozytom	50	43	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Prostatakarzinom	49	34	97,1	0,0	2,9	0,0	2,9
	Prostatakarzinom kleinzellig	17	13	61,5	0,0	7,7	30,8	38,5
	Seminom	50	48	97,9	2,1	0,0	0,0	2,1
	embryonales Karzinom (Hoden)	50	41	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Dottersacktumor	50	39	94,9	2,6	2,6	0,0	5,1
	Teratom	50	22	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Endokrine Tumoren	Schilddrüsenadenom	50	46	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Schilddrüsenkarzinom papillär	50	48	97,9	0,0	0,0	2,1	2,1
	Schilddrüsenkarzinom follikulär	49	41	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Schilddrüsenkarzinom medullär	50	40	97,5	2,5	0,0	0,0	2,5
	Schilddrüsenkarzinom anaplastisch	26	22	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nebennieren-Adenom	50	45	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nebennieren-Karzinom	26	18	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Phäochromozytom	50	46	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Neuroendokriner Tumor (NET)	50	36	97,2	2,8	0,0	0,0	2,8

	Entität	n auf TMA	n analysierbar	(-) %	(+) %	(++) %	(+++) %	+ ges. %
Hämatologische Tumoren	Hodgkin-Lymphom	45	28	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Non Hodgkin-Lymphom	48	30	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Thymom	29	24	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Weichgewebstumoren	Riesenzell-Sehnenscheiden Tumor	45	41	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Granularzelltumor	30	22	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Leiomyom	50	36	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Leiomyosarkom	49	43	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Liposarkom	49	31	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Angiosarkom	32	25	96,0	0,0	0,0	4,0	4,0
Knochen tumoren	Osteosarkom	25	18	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Chondrosarkom	25	5	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Insgesamt lag bei 40 von 83 untersuchten Tumortypen und Subtypen in mindestens einem Fall eine MUC6 Positivität vor. In 20 der untersuchten Tumortypen und Subtypen fand sich in mindestens einem Fall eine starke MUC6 Expression. Eine Sortierung der untersuchten Tumortypen nach der Häufigkeit einer MUC6 Positivität ist in Tabelle 3 dargestellt. Zu den an den häufigsten positiven Tumoren gehören im wesentlichen Adenokarzinome verschiedener Ursprungsorgane, aber unerwarteter Weise auch kleinzellige Karzinome von Harnblase oder Prostata.

Tabelle 3. Ergebnisse MTA 5.2: Rangliste MUC6 positiver Tumortypen.

	Tumortyp	N auf TMA	N analysierbar	Positiv %
1	Prostatakarzinom kleinzellig	17	13	38,5
2	Mammakarzinom muzinös	22	16	37,5
3	Zervix Adenokarzinom	50	41	34,1
4	Mammakarzinom lobulär	43	24	33,3
5	Speicheldrüse Basalzelladenom	15	13	30,8
6	Harnblasenkarzinom kleinzellig	18	17	29,4
7	Mammakarzinom phylloid	50	22	27,3
8	Ovarialkarzinom endometrioid	37	15	26,7

	Tumortyp	N auf TMA	N analysierbar	Positiv %
9	Parotis Pleomorphes Adenom	50	24	25,0
10	Dünndarm Adenokarzinom	10	8	25,0
11	Ösophagus Adenokarzinom	50	16	25,0
12	Endometriumkarzinom endometrioid	50	38	23,7
13	Cholangiozelluläres Karzinom	50	39	23,1
14	Magenkarzinom diffuser Typ	50	23	21,7
15	Pankreas/Papille Adenokarzinom	30	10	20,0
16	Magenkarzinom intestinaler Typ	50	21	19,0
17	Karziносarkom	48	45	17,8
18	Ovarialkarzinom serös	50	32	15,6
19	Ovarialkarzinom muzinös	26	13	15,4
20	Lunge kleinzelliges Karzinom	20	5	13,3
21	Mammakarzinom NST	46	15	13,3
22	Urothelkarzinom T2-4	50	41	12,2
23	Endometriumkarzinom serös	50	18	11,1
24	Mammakarzinom tubulär	18	9	11,1
25	Pankreas Neuroendokriner Tumor	49	37	8,1
26	Colon Adenokarzinom	50	14	7,1
27	Colonadenom, high grade	50	44	6,8
28	Pankreas duktales Adenokarzinom	50	15	6,7
29	Dottersacktumor	50	39	5,1
30	Lunge Adenokarzinom	50	22	4,5
31	Angiosarkom	32	25	4,0
32	Pilomatrixom	35	26	3,8
33	Zervix Plattenepithelkarzinom	50	27	3,7
34	Analkanal Plattenepithelkarzinom	50	33	3,0
35	Prostatakarzinom	49	34	2,9
36	Neuroendokriner Tumor (NET)	50	36	2,8
37	Schilddrüsenkarzinom medullär	50	40	2,5
38	Hepatozelluläres Karzinom	50	46	2,2
39	Seminom	50	48	2,1
40	Schilddrüsenkarzinom papillär	50	48	2,1

4. Diskussion

In dieser Studie wurden 83 verschiedene Tumortypen und Subtypen auf die Expression von MUC6 untersucht. Insgesamt 50 dieser Tumortypen waren bisher noch nie auf die Expression von MUC6 untersucht worden. Bei einigen dieser Tumorarten ist dies verständlich, denn bei mesenchymalen Tumoren, bei hämatologischen Neoplasien so wie auch bei Plattenepithelkarzinomen ist grundsätzlich nicht mit einer Schleimbildung zu rechnen. Die Liste, der in unserer Studie erstmals untersuchten Neoplasien umfasst aber auch einige Tumorarten, welche in der Differenzialdiagnose von Adenokarzinomen vorkommen, wie beispielsweise Schilddrüsentumoren, maligne Mesotheliome, broncheoalveoläre Lungenkarzinome, großzellige Bronchuskarzinome, Kazinosarkome und auch endometroide oder seriöse Ovarialkarzinome. Eine MUC6 Expression fand sich in 40 von 83 untersuchten Tumortypen, darunter waren auch 16 Entitäten, bei denen früher noch nie eine MUC6 Expression berichtet worden war. Die in dieser Studie erstmals untersuchten Tumorentitäten sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4. Erstmals auf MUC6 untersuchte Tumorentitäten.

	Entitäten	positiv %
1	Prostatakarzinom kleinzellig	38,5
2	Speicheldrüse Basalzelladenom	30,8
3	Harnblasenkarzinom kleinzellig	29,4
4	Mammakarzinom phylloid	27,3
5	Ovarialkarzinom endometrioid	26,7
6	Karzinom Sarkom	17,8
7	Ovarialkarzinom serös	15,6
8	Mammakarzinom tubulär	11,1
9	Pankreas Neuroendokriner Tumor	8,1
10	Dottersacktumor	5,1
11	Angiosarkom	4,0
12	Pilomatrixom	3,8
13	Analkanal Plattenepithelkarzinom	3,0
14	Schilddrüsenkarzinom medullär	2,5
15	Seminom	2,1
16	Schilddrüsenkarzinom papillär	2,1
17	Basaliom	0,0
18	Benigner Naevus	0,0

	Entitäten	positiv %
19	Haut Plattenepithelkarzinom	0,0
20	Malignes Melanom	0,0
21	Merkellzellkarzinom	0,0
22	Larynx Plattenepithelkarzinom	0,0
23	Mundboden Plattenepithelkarzinom	0,0
24	Bronchialkarzinom großzellig	0,0
25	Lunge bronchioalveoläres Karzinom	0,0
26	Malignes Mesotheliom	0,0
27	Parotis Warthin Tumor	0,0
28	Vagina Plattenepithelkarzinom	0,0
29	Vulva Plattenepithelkarzinom	0,0
30	Uterus Stromasarkom	0,0
31	Brennertumor	0,0
32	Mammakarzinom medullär	0,0
33	Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	0,0
34	embryonales Karzinom (Hoden)	0,0
35	Schilddrüsenadenom	0,0
36	Schilddrüsenkarzinom folliculär	0,0
37	Schilddrüsenkarzinom anaplastisch	0,0
38	Nebennieren-Adenom	0,0
39	Nebennieren-Karzinom	0,0
40	Phäochromozytom	0,0
41	Hodgkin-Lymphom	0,0
42	Non Hodgkin-Lymphom	0,0
43	Thymom	0,0
44	Riesenzell-Sehnenscheiden Tumor	0,0
45	Granularzelltumor	0,0
46	Leiomyom	0,0
47	Leiomyosarkom	0,0
48	Liposarkom	0,0
49	Osteosarkom	0,0
50	Chondrosarkom	0,0

Die besonders herausstechenden, bisher noch nicht als MUC6 positiv identifizierten Tumortypen, sind kleinzellige Karzinome von Prostata und Harnblase, seröse und endometroide Ovarialkarzinome, neuroendokrine Tumoren des Pankreas und

testikuläre Dottersacktumoren. Hervorzuheben ist, dass auch ein Sarkom (Angiosarkom), ein Plattenepithelkarzinom des Analkanals, ein medulläres Schilddrüsenkarzinom, ein Seminom und ein papilläres Schilddrüsenkarzinom eine MUC6 Anfärbung zeigten. All dies sind Tumorarten, bei denen man konzeptionell keine Schleimbildung erwarten würde. Dass bei keinem der untersuchten Tumortypen eine MUC6 Positivität in häufiger als 40% der Fälle zu beobachten war macht deutlich, dass die MUC6 Immunhistochemie, wenn das Ergebnis negativ ausfällt, keine Tumorentität ausschließen kann. Interessant ist allerdings die Tatsache, dass bei vielen wichtigen Tumorarten wie bei Adenokarzinomen der Zervix, dem Mammakarzinom, Ovarialkarzinomen, Ösophaguskarzinomen, Magenkarzinomen, Pankreaskarzinomen oder Urothelkarzinomen in einem relevanten Anteil der Tumoren (>10%) eine MUC6 Positivität zu beobachten ist. Daraus ergibt sich die Frage, ob sich MUC6 positive Tumoren von MUC6 negativen Tumoren klinisch unterscheiden und möglicherweise eine unterschiedliche Prognose oder ein verändertes Ansprechen auf Therapien aufweisen könnten. Die prognostische Bedeutung der MUC6 Expression ist bei einigen dieser Tumorarten schon früher untersucht worden und obwohl die untersuchten Tumorkollektive meist relativ klein waren hatten die meisten Studien übereinstimmend postuliert, dass die Expression von MUC6 mit einer eher günstigeren Prognose assoziiert war (Zheng et al. 2006, Wang und El-Bahrawy 2015, Betge et al. 2016, Sierzega et al. 2016, Krishn et al. 2017, Aust und Baretton 2010, Aishima et al. 2006, Matsukita et al. 2003, Park et al. 2009, Honjo et al. 2018). Da die Prognoseabschätzung bei vielen Tumorarten relevant ist und wesentlich dazu beiträgt, ob eine adjuvante Chemotherapie nach erfolgter Operation durchgeführt wird, wäre es sinnvoll, die prognostische Bedeutung der MUC6 Expression an größeren Tumorkollektiven weiter zu erforschen. Dabei wäre es insbesondere interessant, die klinische Bedeutung des bei vielen Tumoren beobachteten „Mosaikmusters“ zu klären und zu evaluieren, ob die MUC6 Expression auch mit dem Ansprechen der Tumoren auf bestimmte Arten von Chemotherapien in Zusammenhang stehen könnte. Da Schleimbildung dazu dienen kann, Zellen vor toxischen Substanzen zu schützen (Khanvilkar et al. 2001, Rao et al. 2016), könnte auch die MUC6 Expression Tumorzellen gegenüber bestimmten zytotoxischen Wirkstoffen unempfindlich machen.

Die lange Liste von Tumorarten, welche in unserer Studie immer MUC6 negativ waren, ist von diagnostischem Interesse, denn aufgrund unserer Daten würde eine MUC6 Expression diese Neoplasien als Ursprungstumoren einer Metastase unbekannter Herkunft ausschließen. Für die verschiedenen Nierentumoren, welche in unserer Studie untersucht wurden (Onkozytom, chromophobes Nierenzellkarzinom, papilläres Nierenzellkarzinom, klarzelliges Nierenzellkarzinom) gibt es sogar mindestens eine frühere Untersuchung, welche ebenfalls keine MUC6 Positivität in diesen Tumoren nachweisen konnte (Leroy et al. 2002). Das Evidenzniveau einer sicheren MUC6 Negativität ist somit für Nierentumoren aktuell besonders hoch. Hervorzuheben ist aber, dass bei 16 MUC6 positiven Tumorentitäten eine Positivität in <10% gefunden wurde und bei 11 unserer positiven Tumortypen in <5%. Bei der in unserer Studie untersuchten Fallzahl pro Tumorentität von N=50 kann das Vorliegen von sporadischen positiven Fällen somit nicht sicher ausgeschlossen werden. Frühere Untersuchungen größerer Tumorkollektive mittels TMA haben immer wieder gezeigt, dass molekulare Veränderungen zumindest sporadisch in fast jedem Tumortyp auftreten können. Eine Untersuchung von 15531 Prostatakarzinomen in einem TMA Format hatte in 42 Fällen den immunhistochemischen Nachweis einer IDH1-Mutation ergeben, was einer Häufigkeit von 0,3% entsprach (Hinsch et al. 2018). In einer Untersuchung an 1654 Mammakarzinomen war in 43 Fällen (2.6%) eine c-kit (CD117) Positivität nachgewiesen worden (Simon et al. 2004). In kürzlichen Studien am Institut für Pathologie am UKE hatten Untersuchungen von Mismatch-repair Proteinen einen Verlust von einzelnen Mismatch-repair Proteinen beim Harnblasenkarzinom (Fraune et al. 2020a), dem fortgeschrittenen Prostatakarzinom (Fraune et al. 2020b) und in Pankreaskarzinomen (Fraune et al. 2020c) zwischen 1,1% und 3,5% ergeben. Es wäre somit anzunehmen, dass die Untersuchung deutlich größerer Kollektive auf die Expression von MUC6 auch bei einigen der bisher als negativ klassifizierten Entitäten seltenerweise zum Nachweis einer MUC6 Expression führen würde.

Der wichtigste Befund der vorliegenden Studie ist eine Einordnung der relativen Bedeutung der MUC6 Expression in verschiedenen Tumorarten. Diese Befunde sind als Rangliste der MUC6 Positivität in Tabelle 3 dargestellt. Die Darstellung der eigenen Befunde in Kombination mit den Daten der früheren Literatur (Abbildung 46) zeigt die Bedeutung der vorliegenden Untersuchung deutlich auf.



Abbildung 46. MUC6 Positivität: Studienergebnisse und Ergebnisse des Multi-Tumor-Arrays 5.2.

Ohne die Daten dieser Studie wäre es aufgrund der Literatur außerordentlich schwierig, die relative Bedeutung der MUC6 Expression in verschiedenen Tumortypen abzuschätzen.

Diskrepante Ergebnisse kommen bei immunhistochemischen Studien, welche ein bestimmtes Protein bei einem bestimmten Tumortyp untersuchen, mit großer Regelmäßigkeit vor. Ähnliche Diskrepanzen wie für MUC6 gibt es beispielsweise auch für PAX8 (Fraune In Press) oder MUC5AC (Mahnken 2021), welche beide in kürzlichen Studien in einem ähnlichen Untersuchungsansatz von der UKE Arbeitsgruppe systematisch analysiert worden waren. Als Erklärungsansätze werden meist unterschiedliche Färbeprotokolle und unterschiedliche Antikörper diskutiert. Insbesondere die Wahl der Antikörper ist für immunhistochemische Untersuchungen von zentraler Bedeutung. Generell sind Antikörper weniger spezifisch als viele Anwender dieser Reagenzien glauben möchten. Die Herstellung von Antikörpern ist in keiner Weise standardisiert. Die Entstehung von monoklonalen und polyklonalen Antikörpern hängt von der Immunantwort eines Labortieres ab. Diese ist individuell und unterschiedliche Tiere generieren gegen das gleiche Protein unterschiedliche Antikörper.

Viele auf dem Markt verfügbare Antikörper sind qualitativ ungenügend. Im Rahmen des „Human Protein Atlas Projektes“ hatten Berglund et al. (2008) festgestellt, dass die Antikörperherstellung in Labortieren nur in 49% der Fälle zu spezifischen Antikörpern führt. In der gleichen Studie hatten die Autoren auch bei kommerziell erhältlichen Antikörpern eine vergleichbare Quote von Produkten gefunden, welche den Validationsprozess nicht erfolgreich bestehen konnten. Bradbury et al. (2015) quantifizierten das Antikörperproblem in einer Studie von 2015 der Gestalt, dass weltweit circa 800 Millionen US-Dollar jährlich für schlecht funktionierende Antikörper ausgegeben würden und sich allein in den USA der Schaden durch letztlich nicht reproduzierbare immunhistochemische Ergebnisse jährlich auf bis zu 350 Millionen US-Dollar belaufe (Bradbury und Plückthun 2015). So hatten beispielsweise mehrere Arbeitsgruppen einen Mechanismus untersucht, nachdem Erythropoetin den Erythropoetin-Rezeptor in Tumorzellen aktivieren könne (Elliot 2006, Kirkeby 2007, Laugsch 2008, Miller 2019). Im Nachhinein zeigte sich, dass nur einer von vier Erythropoetin-Rezeptor Antikörper, der in diesen Studien verwendet wurde, tatsächlich den Erythropoetin-Rezeptor erkannte und dass auch dieser für immunhistochemische Untersuchungen an Formalin fixiertem Gewebe

nicht tauglich war (Elliott 2016). Die Validierung von Antikörpern ist deswegen grundsätzlich von zentraler Bedeutung. Die TMA Methode ist hierfür hervorragend geeignet. Die Untersuchung einer sehr großen Zahl von verschiedenen Geweben klärt für den in dieser Studie verwendeten Antikörper eindeutig die mögliche diagnostische Bedeutung. Selbst wenn der Antikörper nicht spezifisch MUC6 binden würde, zeigen unsere Daten immerhin, unter welchen Umständen der Antikörper bei welchen Tumoren in welcher Häufigkeit eine Färbung erzielt. Der Anwender dieses Antikörpers kann aufgrund einer umfassenden Studie wie der vorliegenden die Eigenschaften seines diagnostischen Antikörpers genau beurteilen. Es wäre zu fordern, dass diagnostische Antikörper grundsätzlich an einer sehr großen Zahl von Geweben validiert werden müssen, bevor sie für diagnostische Zwecke verwendet werden. Die TMA Methode erlaubt es derartige Untersuchungen zu niedrigen Kosten durchzuführen. Die gleichzeitige Untersuchung von hunderten von Geweben auf einem einzigen Objektträger minimiert die Reagenzienkosten und die für die Untersuchung nötige „Manpower“. Die relativ geringe Gewebemenge, welche pro Tumor in einem TMA zur Untersuchung kommt, wird als mögliche Schwachstelle der TMA Technik interpretiert, doch ist die kleine Gewebemenge pro Tumor für die Austestung von Reagenzien ein wesentlicher Vorteil. Dies gilt insbesondere dann, wenn mehrere Reagenzien oder Färbeprotokolle miteinander verglichen werden, denn die Färbereaktionen können an exakt definierten Stellen eines Tumors an weitgehend identischen Zellpopulationen miteinander verglichen werden.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass MUC6 in zahlreichen verschiedenen Tumoren exprimiert wird, wobei eine Expression nicht nur in Adenokarzinomen, sondern in verschiedenen anderen Tumortypen wie beispielsweise kleinzelligen Karzinomen gefunden werden kann. Da eine MUC6 Expression bei keiner einzigen Tumorentität in mehr als 40% der Fälle zu beobachten ist, kann eine negative MUC6 Färbereaktion keinen einzigen Tumortyp diagnostisch ausschließen. Da aber auch wichtige Tumortypen wie beispielsweise die verschiedenen Nierentumoren nie eine MUC6 Expression zeigten, kann der positive Ausfall einer MUC6 Inkubation immerhin diese Tumorentitäten mit hoher Sicherheit differenzialdiagnostisch ausschließen. Für die Zukunft wird es von besonderem Interesse sein, die prognostische Bedeutung der MUC6 Expression in verschiedenen Tumorarten weiter zu klären.

5. Zusammenfassung

MUC6 ist ein von verschiedenen epithelialen Geweben gebildetes Muzin, das physiologisch vor allem in der Magenmukosa auftritt. MUC6 wird von verschiedenen Tumorarten exprimiert und der immunhistochemische Nachweis wurde als diagnostisches Kriterium und als Prognosemarker vorgeschlagen. Ziel der vorliegenden Studie war die Klärung der diagnostischen Bedeutung der MUC6 Expression bei der Unterscheidung verschiedener Tumorentitäten. Zu diesem Zweck wurde ein Multi-Tumor-Tissue Microarray, bestehend aus 3449 Tumoren von 83 verschiedenen Tumortypen und Subtypen, immunhistochemisch mit einem Antikörper gegen MUC6 untersucht.

Eine MUC6 Expression fand sich in 40 von 83 verschiedenen Tumortypen, bei 20 von 83 Tumortypen war in mindestens einem Fall eine kräftige MUC6 Expression nachweisbar. Zu den am häufigsten MUC6 positiven Tumorarten gehörten das kleinzellige Prostatakarzinom (38.5%), das muzinöse Mammakarzinom (37.5%), das Adenokarzinom der Cervix (34.1%), das lobuläre Mammakarzinom (33.3%), das Basalzelladenom der Speicheldrüse (30.8%), kleinzellige Harnblasenkarzinome (29.4%), endometroide Ovarialkarzinome (26.7%), Adenokarzinome des Ösophagus (25%), endometroide Endometriumkarzinome (23.7%), cholangiozelluläre Karzinome (23.1%), Magenkarzinome vom diffusen Typ (21.7%) sowie Magenkarzinome vom intestinalen Typ (19%). Zu den klinisch relevanten, gänzlich MUC6 negativen Tumoren, gehörten Maligne Melanome (n=48), Plattenepithelkarzinome der Lunge (n=50), des Larynx (n=50) und der Vulva (n=50), alle untersuchten Nierenzellkarzinomtypen (n=200), follikuläre Schilddrüsenkarzinome (n=49), Mesotheliome (n=48) und embryonale Hodenkarzinome (n=50).

Die verhältnismäßig geringe Häufigkeit der MUC6 Expression in Tumortypen, bei denen eine MUC6 Expression beobachtet werden kann (<40%), limitiert die diagnostische Anwendung der MUC6 Expression in der Differenzialdiagnose von unklaren Primärtumoren. Da MUC6 bei vielen wichtigen Tumorarten nie oder „fast nie“ auftritt, kann MUC6 in diagnostischen Panels zum Ausschluss von bestimmten Entitäten genutzt werden. Die vorliegende Studie ist die erste, welche systematisch die Expression von MUC6 unter standardisierten Bedingungen in einer Großzahl verschiedener Tumoren untersucht. Derartige Studien sind für die Klärung der diagnostischen Relevanz eines individuellen Antikörpers unerlässlich.

6. Conclusion

The secreted mucin MUC6 is physiologically expressed in gastric mucosa cells. It is aberrantly expressed during the progression of several human cancers and its immunohistochemical detection was proposed to serve as a marker for diagnosis and prognosis. The aim of this study was to clarify the diagnostic relevance of MUC6 expression in the differentiation of various tumor types. For this purpose, a multi-tumor-array consisting of 3449 tumors from 83 different tumor types and subtypes was immunohistochemically stained with the MUC6 antibody.

MUC6 expression was present in 40 out of 83 tumor types and in 20 out of 83 tumor types there was at least one case with a strong MUC6 expression. A high amount of MUC6 positive cases was seen in small-cell prostate carcinoma (38.5%), mucinous breast cancer (37.5%), salivary gland adenoma (30.8%), cervical adenocarcinoma (34.1%), lobular breast cancer (33.3%), small-cell carcinoma of the bladder (29.4%), endometrioid ovarian cancer (26.7%), esophageal adenocarcinoma (25%), endometrioid endometrial cancer (23.7%), cholangiocarcinoma (23.1%) and gastric cancer of diffuse type (21.7%) as well as gastric cancer of intestinal type (19%). Completely MUC6 negative entities included malignant melanomas (n=48), squamous-cell carcinoma of the lung (n=50), the larynx (n=50) and the vulva (n=50), all types of renal cell carcinoma (n=200), follicular thyroid cancer (n=49), mesothelioma (n=48) and testicular embryonal carcinoma (n=50).

The relative low prevalence of MUC6 positive cases (<40%) among the MUC6 positive tumor types limits the application of MUC6 as a differentiation marker for cancers of unknown primary. The fact that MUC6 is always absent (respectively mostly absent) in various relevant cancers allows its use in a diagnostic panel. Our current study is the first systemic analysis of MUC6 expression in a huge number of different cancers under standard laboratory conditions. Studies like this are essential to clarify the diagnostic benefit of individual antibodies.

7. Literaturverzeichnis

- Aishima S**, Kuroda Y, Nishihara Y, Taguchi K, Taketomi A, Maehara Y, Tsuneyoshi M (2006) Gastric mucin phenotype defines tumour progression and prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma: gastric foveolar type is associated with aggressive tumour behaviour. *Histopathology*. 49(1):35-44.
- Andrianifahanana M**, Moniaux N, Batra SK (2006) Regulation of mucin expression: mechanistic aspects and implications for cancer and inflammatory diseases. *Biochim Biophys Acta*. 1765(2):189-222.
- Arul GS**, Moorghen M, Myerscough N, Alderson DA, Spicer RD, Corfield AP (2000) Mucin gene expression in Barrett's oesophagus: an in situ hybridisation and immunohistochemical study. *Gut*. 47(6):753-61.
- Asker N**, Axelsson MA, Olofsson SO, Hansson GC (1998) Human MUC5AC mucin dimerizes in the rough endoplasmic reticulum, similarly to the MUC2 mucin. *Biochem J*. 335 (Pt 2)(Pt 2):381-7.
- Atuma C**, Strugala V, Allen A, Holm L. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo (2001) *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 280(5):G922-9.
- Aust DE**, Baretton GB; Members of the Working Group GI-Pathology of the German Society of Pathology (2010) Serrated polyps of the colon and rectum (hyperplastic polyps, sessile serrated adenomas, traditional serrated adenomas, and mixed polyps)-proposal for diagnostic criteria. *Virchows Arch*. 457(3):291-7.
- Azim HA Jr**, de Azambuja E, Colozza M, Bines J, Piccart MJ (2011) Long-term toxic effects of adjuvant chemotherapy in breast cancer. *Ann Oncol*. 22(9):1939-1947.
- Bartosch C**, Mendes N, Rios E, Rodrigues M, Eloy C, Reis CA, Amendoeira I (2015) Morphological features and mucin expression profile of breast carcinomas with signet-ring cell differentiation. *Pathol Res Pract*. 211(8):588-95.
- Bartman AE**, Buisine MP, Aubert JP, Niehans GA, Toribara NW, Kim YS, Kelly EJ, Crabtree JE, Ho SB (1998) The MUC6 secretory mucin gene is expressed in a wide variety of epithelial tissues. *J Pathol*. 186(4):398-405.
- Bartman AE**, Sanderson SJ, Ewing SL, Niehans GA, Wiehr CL, Evans MK, Ho SB (1999) Aberrant expression of MUC5AC and MUC6 gastric mucin genes in colorectal polyps. *Int J Cancer*. 80(2):210-8.
- Baruch A**, Hartmann M, Yoeli M, Adereth Y, Greenstein S, Stadler Y, Skornik Y, Zaretsky J, Smorodinsky NI, Keydar I, Wreschner DH (1999) The breast cancer-associated MUC1 gene generates both a receptor and its cognate binding protein. *Cancer Res*. 59(7):1552-61.
- Baskar R**, Lee KA, Yeo R und Yeoh KW (2012) Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. *Int J Med Sci*. 9(3):193–199.
- Bast RC Jr**, Urban N, Shridhar V, Smith D, Zhang Z, Skates S, Lu K, Liu J, Fishman D, Mills G (2002) Early detection of ovarian cancer: promise and reality. *Cancer Treat Res*. 107:61-97.
- Berglund L**, Björling E, Oksvold P, Fagerberg L, Asplund A, Szigartyo CA, Persson A, Ottosson J, Wernérus H, Nilsson P, Lundberg E, Sivertsson A, Navani S, Wester K, Kampf C, Hober S, Pontén F, Uhlén M (2008) A genecentric Human Protein Atlas for expression profiles based on antibodies. *Mol Cell Proteomics*. 7(10):2019-27.

- Betge J**, Schneider NI, Harbaum L, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Ebert MP, Langner C (2016) MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance. *Virchows Arch.* 469(3):255-65.
- Bhaskar KR**, Garik P, Turner BS, Bradley JD, Bansil R, Stanley HE, LaMont JT (1992) Viscous fingering of HCl through gastric mucin. *Nature.* 360(6403):458-61.
- de Bolòs C**, Gumà M, Barranco C, Garrido M, Kim YS, Real FX (1998) MUC6 expression in breast tissues and cultured cells: abnormal expression in tumors and regulation by steroid hormones. *Int J Cancer.* 77(2):193-9.
- Bonk S**, Kluth M, Hube-Magg C, Polonski A, Soekeland G, Makropidi-Fraune G, Möller-Koop C, Witt M, Luebke AM, Hinsch A, Burandt E, Steurer S, Clauditz TS, Schlomm T, Perez D, Graefen M, Heinzer H, Huland H, Izbicki JR, Wilczak W, Minner S, Sauter G, Simon R (2019) Prognostic and diagnostic role of PSA immunohistochemistry: A tissue microarray study on 21,000 normal and cancerous tissues. *Oncotarget.* 10(52):5439-5453.
- Bradbury A**, Plückthun A (2015) Reproducibility: Standardize antibodies used in research. *Nature.* 518(7537):27-9.
- Buisine MP**, Desreumaux P, Leteurtre E, Copin MC, Colombel JF, Porchet N, Aubert JP (2001) Mucin gene expression in intestinal epithelial cells in Crohn's disease. *Gut.* 49(4):544-51.
- Burjonrappa SC**, Reddimasu S, Nawaz Z, Gao X, Sharma P, Loggie B (2007) Mucin expression profile in Barrett's, dysplasia, adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Indian J Cancer.* 44(1):1-5.
- Carlstedt I**, Sheehan JK, Corfield AP, Gallagher JT (1985) Mucous glycoproteins: a gel of a problem. *Essays Biochem.* 20:40-76.
- Carraway KL**, Price-Schiavi SA, Komatsu M, Idris N, Perez A, Li P, Jepson S, Zhu X, Carvajal ME, Carraway CA (2000) Multiple facets of sialomucin complex/MUC4, a membrane mucin and erbb2 ligand, in tumors and tissues (Y2K update). *Front Biosci.* 5:D95-D107.
- Chlumská A**, Mukenšnabl P, Waloschek T, Zámečník M (2018) Esophageal dysplasia and adenocarcinoma: a study with double immunostaining for intestinal and gastric markers. *Cesk Patol.* 54(2):81-85.
- Cooper GM** (2000) *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates. *The Development and Causes of Cancer*. [Online im Internet.] URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>. [Stand: 20.02.2022, 16:15].
- Corfield AP** (2018) The Interaction of the Gut Microbiota with the Mucus Barrier in Health and Disease in Human. *Microorganisms.* 6(3):78.
- Corfield AP**, Carroll D, Myerscough N, Probert CS (2001) Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. *Front Biosci.* 6:D1321-57.
- Devine PL**, McKenzie IF (1992) Mucins: structure, function, and associations with malignancy. *Bioessays.* 14(9):619-25.
- Do SI**, Kim K, Kim DH, Chae SW, Park YL, Park CH, Sohn JH (2013) Associations between the Expression of Mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) and Clinicopathologic Parameters of Human Breast Ductal Carcinomas. *J Breast Cancer.* 16(2):152-8.
- Domori K**, Nishikura K, Ajioka Y, Aoyagi Y (2014) Mucin phenotype expression of gastric neuroendocrine neoplasms: analysis of histopathology and carcinogenesis. *Gastric Cancer.* 17(2):263-72.

- Elliott S**, Busse L, Bass MB, Lu H, Sarosi I, Sinclair AM, Spahr C, Um M, Van G, Begley CG (2006) Anti-Epo receptor antibodies do not predict Epo receptor expression. *Blood*. 107(5):1892-5.
- Elliott S** (2016) Bad Science: Cause and Consequence. *J Pharm Sci*. 105(4):1358-61.
- Forstner JF** (1978) Intestinal mucins in health and disease. *Digestion*. 17(3):234-63.
- Forstner JF** and Forstner GG. Gastrointestinal mucus. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract* (3rd ed.), edited by Johnson LR. New York: Raven, 1994, p. 1255–1284.
- Fraune C**, Burandt E, Simon R, Hube-Magg C, Makrypidi-Fraune G, Kluth M, Büscheck F, Höflmayer D, Blessin NC, Mandelkow T, Li W, Perez D, Izbicki JR, Wilczak W, Sauter G, Schrader J, Neipp M, Mofid H, Daniels T, Isbert C, Clauditz TS, Steurer S (2020c) MMR Deficiency is Homogeneous in Pancreatic Carcinoma and Associated with High Density of Cd8-Positive Lymphocytes. *Ann Surg Oncol*. 27(10):3997-4006.
- Fraune C** (In Press). Differential expression profile of PAX8 among various tumor types and non-neoplastic tissue.
- Fraune C**, Simon R, Höflmayer D, Möller K, Dum D, Büscheck F, Hube-Magg C, Makrypidi-Fraune G, Kluth M, Hinsch A, Burandt E, Clauditz TS, Wilczak W, Sauter G, Steurer S (2020b) High homogeneity of mismatch repair deficiency in advanced prostate cancer. *Virchows Arch*. 476(5):745-752.
- Fraune C**, Simon R, Hube-Magg C, Makrypidi-Fraune G, Kähler C, Kluth M, Höflmayer D, Büscheck F, Dum D, Luebke AM, Burandt E, Clauditz TS, Wilczak W, Sauter G, Steurer S (2020a) MMR deficiency in urothelial carcinoma of the bladder presents with temporal and spatial homogeneity throughout the tumor mass. *Urol Oncol*. 38(5):488-495.
- Gendler SJ**, Spicer AP (1995) Epithelial mucin genes. *Annu Rev Physiol*. 57:607-34.
- Gibson JA**, Hahn HP, Shahsafaei A, Odze RD (2011) MUC expression in hyperplastic and serrated colonic polyps: lack of specificity of MUC6. *Am J Surg Pathol*. 35(5):742-9.
- Goldenberg DM**, Pegram CA, Vazquez JJ (1975) Identification of a colon-specific antigen (CSA) in normal and neoplastic tissues. *J Immunol*. 114(3):1008-13.
- Gulmann C**, Counihan I, Grace A, Patchett S, Leen E, Leader M, Kay E (2003) Cytokeratin 7/20 and mucin expression patterns in oesophageal, cardia and distal gastric adenocarcinomas. *Histopathology*. 43(5):453-61.
- Gum JR Jr**, Crawley SC, Hicks JW, Szymkowski DE, Kim Y (2002) MUC17, a novel membrane-tethered mucin. *Biochem Biophys Res Commun*. 291(3):466-75.
- Gum JR Jr**, Hicks JW, Toribara NW, Siddiki B, Kim YS (1994) Molecular cloning of human intestinal mucin (MUC2) cDNA. Identification of the amino terminus and overall sequence similarity to prepro-von Willebrand factor. *J Biol Chem*. 269(4):2440-6.
- Gürbüz Y**, Kahlke V, Klöppel G (2002) How do gastric carcinoma classification systems relate to mucin expression patterns? An immunohistochemical analysis in a series of advanced gastric carcinomas. *Virchows Arch*. 440(5):505-11.
- Gürbüz Y**, Klöppel G (2004) Differentiation pathways in duodenal and ampullary carcinomas: a comparative study on mucin and trefoil peptide expression, including gastric and colon carcinomas. *Virchows Arch*. 444(6):536-41.

- Hamada T**, Matsukita S, Goto M, Kitajima S, Batra SK, Irimura T, Sueyoshi K, Sugihara K, Yonezawa S (2004) Mucin expression in pleomorphic adenoma of salivary gland: a potential role for MUC1 as a marker to predict recurrence. *J Clin Pathol.* 57(8):813-21.
- Heinlein CA** und Chang C (2004) Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr Rev.* 25(2):276-308.
- Hinsch A**, Brolund M, Hube-Magg C, Kluth M, Simon R, Möller-Koop C, Sauter G, Steurer S, Luebke A, Angerer A, Wittmer C, Neubauer E, Göbel C, Büscheck F, Minner S, Wilczak W, Schlomm T, Jacobsen F, Clauditz TS, Krech T, Tsourlakis MC, Schroeder C (2018) Immunohistochemically detected IDH1^{R132H} mutation is rare and mostly heterogeneous in prostate cancer. *World J Urol.* 36(6):877-882.
- Hirabayashi K**, Yasuda M, Kajiwara H, Itoh J, Miyazawa M, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Mikami M, Osamura RY (2008) Alterations in mucin expression in ovarian mucinous tumors: immunohistochemical analysis of MUC2, MUC5AC, MUC6, and CD10 expression. *Acta Histochem Cytochem.* 41(2):15-21.
- Ho SB**, Robertson AM, Shekels LL, Lyftogt CT, Niehans GA, Toribara NW (1995) Expression cloning of gastric mucin complementary DNA and localization of mucin gene expression. *Gastroenterology.* 109(3):735-47.
- Ho SB**, Takamura K, Anway R, Shekels LL, Toribara NW, Ota H (2004) The adherent gastric mucous layer is composed of alternating layers of MUC5AC and MUC6 mucin proteins. *Dig Dis Sci.* 49(10):1598-606.
- Hodgson A**, Parra-Herran C, Mirkovic J (2019) Immunohistochemical expression of HIK1083 and MUC6 in endometrial carcinomas. *Histopathology.* 75(4):552-558.
- Hollingsworth MA**, Swanson BJ (2004) Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer.* 4(1):45-60.
- Honjo K**, Hiraki T, Higashi M, Noguchi H, Nomoto M, Yoshimura T, Batra SK, Yonezawa S, Semba I, Nakamura N, Tanimoto A, Yamada S (2018) Immunohistochemical expression profiles of mucin antigens in salivary gland mucoepidermoid carcinoma: MUC4- and MUC6-negative expression predicts a shortened survival in the early postoperative phase. *Histol Histopathol.* 33(2):201-213.
- IJspeert JE**, Vermeulen L, Meijer GA, Dekker E (2015) Serrated neoplasia-role in colorectal carcinogenesis and clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 12(7):401-9.
- Iwaya M**, Ota H, Tateishi Y, Nakajima T, Riddell R, Conner JR (2019) Colitis-associated colorectal adenocarcinomas are frequently associated with non-intestinal mucin profiles and loss of SATB2 expression. *Mod Pathol.* 32(6):884-892.
- Jinfeng M**, Kimura W, Hirai I, Sakurai F, Moriya T, Mizutani M (2003) Expression of MUC5AC and MUC6 in invasive ductal carcinoma of the pancreas and relationship with prognosis. *Int J Gastrointest Cancer.* 34(1):9-18.
- Johansson ME**, Sjövall H, Hansson GC (2013) The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 10(6):352-61.
- Kasashima S**, Kawashima A, Zen Y, Ozaki S, Kobayashi M, Tsujibata A, Minato H (2007) Expression of aberrant mucins in lobular carcinoma with histiocytoid feature of the breast. *Virchows Arch.* 450(4):397-403.

- Kawakubo M**, Ito Y, Okimura Y, Kobayashi M, Sakura K, Kasama S, Fukuda MN, Fukuda M, Katsuyama T, Nakayama J (2004) Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. *Science*. 305(5686):1003-6.
- Khanvilkar K**, Donovan MD, Flanagan DR (2001) Drug transfer through mucus. *Adv Drug Deliv Rev*. 48(2-3):173-93.
- Khor TS**, Alfaro EE, Ooi EM, Li Y, Srivastava A, Fujita H, Park Y, Kumarasinghe MP, Lauwers GY (2012) Divergent expression of MUC5AC, MUC6, MUC2, CD10, and CDX-2 in dysplasia and intramucosal adenocarcinomas with intestinal and foveolar morphology: is this evidence of distinct gastric and intestinal pathways to carcinogenesis in Barrett Esophagus. *Am J Surg Pathol*. 36(3):331-42.
- Kim GE**, Bae HI, Park HU, Kuan SF, Crawley SC, Ho JJ, Kim YS (2002) Aberrant expression of MUC5AC and MUC6 gastric mucins and sialyl Tn antigen in intraepithelial neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology*. 123(4):1052-60.
- Kim JH**, Kim KJ, Rhee YY, Bae JM, Cho NY, Lee HS, Kang GH (2015) Gastric-type expression signature in serrated pathway-associated colorectal tumors. *Hum Pathol*. 46(5):643-56.
- Kirkeby A**, van Beek J, Nielsen J, Leist M, Helboe L (2007) Functional and immunochemical characterisation of different antibodies against the erythropoietin receptor. *J Neurosci Methods*. 164(1):50-8.
- Kojima A**, Mikami Y, Sudo T, Yamaguchi S, Kusanagi Y, Ito M, Nishimura R (2007) Gastric morphology and immunophenotype predict poor outcome in mucinous adenocarcinoma of the uterine cervix. *Am J Surg Pathol*. 31(5):664-72.
- Kononen J**, Bubendorf L, Kallioniemi A, Bärklund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP (1998) Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med*. 4(7):844-7.
- Krishn SR**, Kaur S, Smith LM, Johansson SL, Jain M, Patel A, Gautam SK, Hollingsworth MA, Mandel U, Clausen H, Lo WC, Fan WT, Manne U, Batra SK (2016) Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: Prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer. *Cancer Lett*. 374(2):304-14.
- Krishn SR**, Kaur S, Sheinin YM, Smith LM, Gautam SK, Patel A, Jain M, Juvvignunta V, Pai P, Lazenby AJ, Roy HK, Batra SK (2017) Mucins and associated O-glycans based immunoprofile for stratification of colorectal polyps: clinical implication for improved colon surveillance. *Oncotarget*. 8(4):7025-7038.
- Kufe DW** (2009) Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat Rev Cancer*. 9(12):874-85.
- Lamont JT** (1992) Mucus: the front line of intestinal mucosal defense. *Ann N Y Acad Sci*. 664:190-201.
- Laugsch M**, Metzen E, Svensson T, Depping R, Jelkmann W (2008). Lack of functional erythropoietin receptors of cancer cell lines. *Int J Cancer*. 122(5):1005-11.
- Lazarus R**, Junttila OE, Karttunen TJ, Mäkinen MJ (2005) The risk of metachronous neoplasia in patients with serrated adenoma. *Am J Clin Pathol*. 123(3):349-59.

- Lee H**, Fu Z, Koo BH, Sheehan CE, Young GQ, Lin J, Patil DT, Yang Z (2018) The expression of TTF1, CDX2 and ISL1 in 74 poorly differentiated neuroendocrine carcinomas. *Ann Diagn Pathol.* 37:30-34.
- Lee HS**, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH (2001) MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. *Cancer.* 92(6):1427-34.
- Lee MJ**, Lee HS, Kim WH, Choi Y, Yang M (2003) Expression of mucins and cytokeratins in primary carcinomas of the digestive system. *Mod Pathol.* 16(5):403-10.
- Leir SH**, Harris A (2011) MUC6 mucin expression inhibits tumor cell invasion. *Exp Cell Res.* 317(17):2408-19.
- Leroy X**, Copin MC, Devisme L, Buisine MP, Aubert JP, Gosselin B, Porchet N (2002) Expression of human mucin genes in normal kidney and renal cell carcinoma. *Histopathology.* 40(5):450-7.
- Leroy X**, Ballereau C, Villers A, Saint F, Aubert S, Gosselin B, Porchet N, Copin MC (2003) MUC6 is a marker of seminal vesicle-ejaculatory duct epithelium and is useful for the differential diagnosis with prostate adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 27(4):519-21.
- Li D**, Jin C, McCulloch C, Kakar S, Berger BM, Imperiale TF, Terdiman JP (2009) Association of large serrated polyps with synchronous advanced colorectal neoplasia. *Am J Gastroenterol.* 104(3):695-702.
- Liu H**, Shi J, Anandan V, Wang HL, Diehl D, Blansfield J, Gerhard G, Lin F (2012b) Reevaluation and identification of the best immunohistochemical panel (pVHL, Masp1, S100P, IMP-3) for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Arch Pathol Lab Med.* 136(6):601-9.
- Liu H**, Shi J, Wilkerson ML, Lin F (2012a) Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 138(1):57-64.
- Li J und Wang Z** (2016) The pathology of unusual subtypes of prostate cancer. *Chin J Cancer Res.* 28(1):130-43.
- López-Ferrer A**, Curull V, Barranco C, Garrido M, Lloreta J, Real FX, de Bolós C (2001) Mucins as differentiation markers in bronchial epithelium. Squamous cell carcinoma and adenocarcinoma display similar expression patterns. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 24(1):22-29.
- Lopez-Beltran A**, Montironi R, Blanca A, Cheng L (2010) Invasive micropapillary urothelial carcinoma of the bladder. *Hum Pathol.* 41(8):1159-64.
- Lu S**, Shen D, Zhao Y, Kang N, Wang X (2019) Primary endocervical gastric-type adenocarcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 23 cases. *Diagn Pathol.* 14(1):72.
- Machado JC**, Nogueira AM, Carneiro F, Reis CA, Sobrinho-Simões M (2000) Gastric carcinoma exhibits distinct types of cell differentiation: an immunohistochemical study of trefoil peptides (TFF1 and TFF2) and mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6). *J Pathol.* 190(4):437-43.
- Magnani JL**, Steplewski Z, Koprowski H, Ginsburg V (1983) Identification of the gastrointestinal and pancreatic cancer-associated antigen detected by monoclonal antibody 19-9 in the sera of patients as a mucin. *Cancer Res.* 43(11):5489-92.
- Mahnken M** (2021) Immunhistochemische Bestimmung der Muc5AC Expression auf über 3400 menschlichen Tumoren und dessen Bedeutung für die klinische Praxis. Medizinische Dissertation. Universität Hamburg.

- Mahomed F** (2011) Recent advances in mucin immunohistochemistry in salivary gland tumors and head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 47(9):797-803.
- Mall AS**, Tyler M, Lotz Z, Davidson A, Rodrigues J, van der Watt G, Kahn D, Govender D (2007) The characterisation of mucin in a mature ovarian teratoma occurring in an eight year old patient. *Int J Med Sci.* 4(2):115-23.
- Mall AS**, Tyler MG, Ho SB, Krige JE, Kahn D, Spearman W, Myer L, Govender D (2010) The expression of MUC mucin in cholangiocarcinoma. *Pathol Res Pract.* 206(12):805-9.
- Matsuda M**, Sentani K, Noguchi T, Hinoi T, Okajima M, Matsusaki K, Sakamoto N, Anami K, Naito Y, Oue N, Yasui W (2010) Immunohistochemical analysis of colorectal cancer with gastric phenotype: claudin-18 is associated with poor prognosis. *Pathol Int.* 60(10):673-80.
- Matsukita S**, Nomoto M, Kitajima S, Tanaka S, Goto M, Irimura T, Kim YS, Sato E, Yonezawa S. (2003) Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6) in mucinous carcinoma of the breast: comparison with invasive ductal carcinoma. *Histopathology.* 42(1):26-36.
- Matsuzwa M**, Ota H, Hayama M, Zhang MX, Sano K, Honda T, Ueno I, Akamatsu T, Nakayama J (2003) Helicobacter pylori infection up-regulates gland mucous cell-type mucins in gastric pyloric mucosa. *Helicobacter.* 8(6):594-600.
- McDermott KM**, Crocker PR, Harris A, Burdick MD, Hinoda Y, Hayashi T, Imai K, Hollingsworth MA (2001) Overexpression of MUC1 reconfigures the binding properties of tumor cells. *Int J Cancer.* 94(6):783-91.
- Mikami Y**, Kiyokawa T, Hata S, Fujiwara K, Moriya T, Sasano H, Manabe T, Akahira J, Ito K, Tase T, Yaegashi N, Sato I, Tateno H, Naganuma H (2004) Gastrointestinal immunophenotype in adenocarcinomas of the uterine cervix and related glandular lesions: a possible link between lobular endocervical glandular hyperplasia/pyloric gland metaplasia and adenoma malignum. *Mod Pathol.* 17(8):962-72.
- Miller CP**, Lowe KA, Valliant-Saunders K, Kaiser JF, Mattern D, Urban N, Henke M, Blau CA (2009) Evaluating erythropoietin-associated tumor progression using archival tissues from a phase III clinical trial. *Stem Cells.* 27(9):2353-61.
- Mochizuki K**, Kondo T, Oishi N, Tahara I, Inoue T, Kasai K, Nakazawa T, Katoh R (2017) Esophagogastric Junction Carcinomas - Discriminating Histological Types Through Immunohistochemistry. *Anticancer Res.* 37(12):6855-6861.
- Molaei M**, Mansoori BK, Mashayekhi R, Vahedi M, Pourhoseingholi MA, Fatemi SR, Zali MR (2010) Mucins in neoplastic spectrum of colorectal polyps: can they provide predictions. *BMC Cancer.* 10:537.
- Moniaux N**, Escande F, Porchet N, Aubert JP, Batra SK (2001) Structural organization and classification of the human mucin genes. *Front Biosci.* 6:D1192-206.
- Mulisch M** (2014) Verfahren der Immunlokalisation. Ein Überblick. Springer Spektrum. Wiesbaden. Kapitel 3. Seite 11.
- Nagata K**, Horinouchi M, Saitou M, Higashi M, Nomoto M, Goto M, Yonezawa S (2007) Mucin expression profile in pancreatic cancer and the precursor lesions. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 14(3):243-54.
- Offner GD**, Nunes DP, Keates AC, Afdhal NH, Troxler RF (1998) The amino-terminal sequence of MUC5B contains conserved multifunctional D

- domains: implications for tissue-specific mucin functions. *Biochem Biophys Res Commun.* 251(1):350-5.
- Ohashi R**, Hayama A, Yanagihara K, Yamashita K, Sakatani T, Takei H, Naito Z (2016) Prognostic significance of mucin expression profiles in breast carcinoma with signet ring cells: a clinicopathological study. *Diagn Pathol.* 11(1):131.
- Ordóñez NG** (2012) Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 20(5):429-44.
- Owens SR**, Chiosea SI, Kuan SF (2008) Selective expression of gastric mucin MUC6 in colonic sessile serrated adenoma but not in hyperplastic polyp aids in morphological diagnosis of serrated polyps. *Mod Pathol.* 21(6):660-9.
- Ozcan A**, Shen SS, Hamilton C, Anjana K, Coffey D, Krishnan B, Truong LD (2011) PAX 8 expression in non-neoplastic tissues, primary tumors, and metastatic tumors: a comprehensive immunohistochemical study. *Mod Pathol.* 24(6):751-64.
- Park SY**, Kim BH, Kim JH, Lee S, Kang GH (2007) Panels of immunohistochemical markers help determine primary sites of metastatic adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 131(10):1561-7.
- Park SY**, Roh SJ, Kim YN, Kim SZ, Park HS, Jang KY, Chung MJ, Kang MJ, Lee DG, Moon WS (2009) Expression of MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 in cholangiocarcinoma: prognostic impact. *Oncol Rep.* 22(3):649-57.
- Pereira MB**, Dias AJ, Reis CA, Schmitt FC (2001) Immunohistochemical study of the expression of MUC5AC and MUC6 in breast carcinomas and adjacent breast tissues. *J Clin Pathol.* 54(3):210-3.
- Perez-Vilar J**, Hill RL (1999) The structure and assembly of secreted mucins. *J Biol Chem.* 274(45):31751-4.
- Pigny P**, Guyonnet-Duperat V, Hill AS, Pratt WS, Galiegue-Zouitina S, d'Hooge MC, Laine A, Van-Seuningen I, Degand P, Gum JR, Kim YS, Swallow DM, Aubert JP, Porchet N (1996) Human mucin genes assigned to 11p15.5: identification and organization of a cluster of genes. *Genomics.* 38(3):340-52.
- Pirog EC**, Lloveras B, Molijn A, Tous S, Guimerà N, Alejo M, Clavero O, Klaustermeier J, Jenkins D, Quint WG, Xavier Bosch F, Alemany L, de Sanjosé S; RIS HPV TT study group (2014) HPV prevalence and genotypes in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma, a worldwide analysis of 760 cases. *Mod Pathol.* 27(12):1559-67.
- Rakha EA**, Boyce RW, Abd El-Rehim D, Kurien T, Green AR, Paish EC, Robertson JF, Ellis IO (2005) Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC and MUC6) and their prognostic significance in human breast cancer. *Mod Pathol.* 18(10):1295-304.
- Ramos-Vara JA** (2017) Principles and Methods of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol.* 1641:115-128.
- Rao CV**, Janakiram NB, Mohammed A (2017) Molecular Pathways: Mucins and Drug Delivery in Cancer. *Clin Cancer Res.* 23(6):1373-1378.
- Reis CA**, David L, Correa P, Carneiro F, de Bolós C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simões M (1999) Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. *Cancer Res.* 59(5):1003-7.

- Reis CA**, David L, Carvalho F, Mandel U, de Bolós C, Mirgorodskaya E, Clausen H, Sobrinho-Simões M (2000) Immunohistochemical study of the expression of MUC6 mucin and co-expression of other secreted mucins (MUC5AC and MUC2) in human gastric carcinomas. *J Histochem Cytochem.* 48(3):377-88.
- Remmers N**, Anderson JM, Linde EM, DiMaio DJ, Lazenby AJ, Wandall HH, Mandel U, Clausen H, Yu F, Hollingsworth MA (2013) Aberrant expression of mucin core proteins and o-linked glycans associated with progression of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 19(8):1981-93.
- Rex DK**, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, Burt RW, Goldblum JR, Guillem JG, Kahi CJ, Kalady MF, O'Brien MJ, Odze RD, Ogino S (2012) Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol.* 107: 1315-1329.
- Robert Koch-Institut** und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12. Ausgabe. Berlin 2019.[Online im Internet.] URL: <https://edoc.rki.de/handle/176904/6012.3>. [Stand: 20.02.2022, 15:15].
- Rousseau K**, Byrne C, Kim YS, Gum JR, Swallow DM, Toribara NW (2004) The complete genomic organization of the human MUC6 and MUC2 mucin genes. *Genomics.* 83(5):936-9.
- Sandmeier D**, Seelentag W, Bouzourene H (2007) Serrated polyps of the colorectum: is sessile serrated adenoma distinguishable from hyperplastic polyp in a daily practice? *Virchows Arch.* 450(6):613-8.
- Sasaki M**, Nakanuma Y, Ho SB, Kim YS (1998) Cholangiocarcinomas arising in cirrhosis and combined hepatocellular-cholangiocellular carcinomas share apomucin profiles. *Am J Clin Pathol.* 109(3):302-8.
- Scagliotti GV**, Parikh P, von Pawel J, Biesma B, Vansteenkiste J, Manegold C, Serwatowski P, Gatzemeier U, Digumarti R, Zukin M, Lee JS, Mellempgaard A, Park K, Patil S, Rolski J, Goksel T, de Marinis F, Simms L, Sugarman KP, Gandara D (2008) Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 26(21):3543-51.
- Sierzega M**, Młynarski D, Tomaszewska R, Kulig J (2016) Semiquantitative immunohistochemistry for mucin (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, and MUC6) profiling of pancreatic ductal cell adenocarcinoma improves diagnostic and prognostic performance. *Histopathology.* 69(4):582-91.
- Simon R**, Panussis S, Maurer R, Spichtin H, Glatz K, Tapia C, Mirlacher M, Ruffe A, Torhorst J, Sauter G (2004) KIT (CD117)-positive breast cancers are infrequent and lack KIT gene mutations. *Clin Cancer Res.* 10(1 Pt 1):178-83.
- Simon R**, Mirlacher M, Sauter G (2010) Immunohistochemical analysis of tissue microarrays. *Methods Mol Biol.* 664:113-26.
- Slomiany BL**, Slomiany A (1991) Role of mucus in gastric mucosal protection. *J Physiol Pharmacol.* 42(2):147-61.
- Smith HO**, Tiffany MF, Qualls CR, Key CR (2000) The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States--a 24-year population-based study. *Gynecol Oncol.* 78(2):97-105.
- Statistisches Bundesamt.** Todesursachenstatistik 2020 .[Online im Internet.] URL:https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2021/11/PD21_505_23211.html. [Stand: 26.02.2022, 10:15].

- Stenman UH**, Leinonen J, Zhang WM, Finne P (1999) Prostate-specific antigen. *Semin Cancer Biol.* 9(2):83-93.
- Stojnev S**, Ristic-Petrovic A, Velickovic LJ, Krstic M, Bogdanovic D, Khanh do T, Ristic A, Conic I, Stefanovic V (2014) Prognostic significance of mucin expression in urothelial bladder cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 7(8):4945-58.
- Stolnicu S**, Barsan I, Hoang L, Patel P, Chiriboga L, Terinte C, Pesci A, Aviel-Ronen S, Kiyokawa T, Alvarado-Cabrero I, Pike MC, Oliva E, Park KJ, Soslow RA (2018) Diagnostic Algorithmic Proposal Based on Comprehensive Immunohistochemical Evaluation of 297 Invasive Endocervical Adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol.* 42(8):989-1000.
- Sylvester PA**, Myerscough N, Warren BF, Carlstedt I, Corfield AP, Durdey P, Thomas MG (2001) Differential expression of the chromosome 11 mucin genes in colorectal cancer. *J Pathol.* 195(3):327-35.
- Talia KL**, McCluggage WG (2018) The developing spectrum of gastric-type cervical glandular lesions. *Pathology.* 50(2):122-133.
- Toribara NW**, Robertson AM, Ho SB, Kuo WL, Gum E, Hicks JW, Gum JR Jr, Byrd JC, Siddiki B, Kim YS (1993) Human gastric mucin. Identification of a unique species by expression cloning. *J Biol Chem.* 268(8):5879-85.
- Tsourlakis MC**, Klein F, Kluth M, Quaas A, Graefen M, Haese A, Simon R, Sauter G, Schlomm T, Minner S (2015) PSMA expression is highly homogenous in primary prostate cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 23(6):449-55.
- Tsuji T**, Togami S, Nomoto M, Higashi M, Fukukura Y, Kamio M, Yonezawa S, Douchi T (2011) Uterine cervical carcinomas associated with lobular endocervical glandular hyperplasia. *Histopathology.* 59(1):55-62.
- Tsukashita S**, Kushima R, Bamba M, Sugihara H, Hattori T (2001) MUC gene expression and histogenesis of adenocarcinoma of the stomach. *Int J Cancer.* 94(2):166-70.
- Van-Herle AJ**, Vassart G, Dumont JE (1979) Control of thyroglobulin synthesis and secretion. (First of two parts). *N Engl J Med.* 301(5):239-49.
- Van den Steen P**, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G (1998) Concepts and principles of O-linked glycosylation. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 33(3):151-208.
- Wada T**, Ohishi Y, Kaku T, Aman M, Imamura H, Yasutake N, Sonoda K, Kato K, Oda Y (2017) Endocervical Adenocarcinoma With Morphologic Features of Both Usual and Gastric Types: Clinicopathologic and Immunohistochemical Analyses and High-risk HPV Detection by In Situ Hybridization. *Am J Surg Pathol.* 41(5):696-705.
- Walsh MD**, Clendenning M, Williamson E, Pearson SA, Walters RJ, Nagler B, Packenas D, Win AK, Hopper JL, Jenkins MA, Haydon AM, Rosty C, English DR, Giles GG, McGuckin MA, Young JP, Buchanan DD (2013) Expression of MUC2, MUC5AC, MUC5B, and MUC6 mucins in colorectal cancers and their association with the CpG island methylator phenotype. *Mod Pathol.* 26(12):1642-56.
- Wang J**, El-Bahrawy MA (2014) Expression profile of mucins in ovarian mucinous tumors: distinguishing primary ovarian from metastatic tumors. *Int J Gynecol Pathol.* 33(2):166-75.
- Wang J**, El-Bahrawy M (2015) Expression profile of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) in ovarian mucinous tumours: changes in expression from benign to malignant tumours. *Histopathology.* 66(4):529-35.

WHO Classification of Tumours Editorial Board (2019) WHO Classification of Tumours. 5th Edition. Digestive System Tumours. World Health Organization. Kapitel 10. Seite 313.

Xue Y, Vanoli A, Balci S, Reid MM, Saka B, Bagci P, Memis B, Choi H, Ohike N, Tajiri T, Muraki T, Quigley B, El-Rayes BF, Shaib W, Kooby D, Sarmiento J, Maithel SK, Knight JH, Goodman M, Krasinskas AM, Adsay V (2017) Non-ampullary-duodenal carcinomas: clinicopathologic analysis of 47 cases and comparison with ampullary and pancreatic adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 30(2):255-266.

Zheng H, Takahashi H, Nakajima T, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Tsuneyama K, Takano Y. (2006) MUC6 down-regulation correlates with gastric carcinoma progression and a poor prognosis: an immunohistochemical study with tissue microarrays. *J Cancer Res Clin Oncol.* 132(12):817-23.

8. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1. Übersicht wichtiger epidemiologischer Maßzahlen für Deutschland. Quelle: Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12.Ausgabe. Robert-Koch Institut. Berlin 2019. [Online im Internet.] URL: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf?__blob=publicationFile [Stand: 26.01.2022,18:15]. 4
- Abbildung 2. Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2016. Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V. Krebs in Deutschland für 2015/2016, 12. Ausgabe, Robert-Koch Institut, Berlin 2019. [Online im Internet.] URL: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf?__blob=publicationFile [Stand: 26.01.2022,18:20]. 6
- Abbildung 3. Muzinvorkommen im menschlichen Körper. Quelle: Andrianifahanana M et al. (2006) Regulation of mucin expression: Mechanistic aspects and implications for cancer and inflammatory diseases. *Biochim Biophys Acta.* 1765(2):189-222. 8
- Abbildung 4. Darstellung der Muzingene. Aufgeführt ist die Einteilung in membranöse und sekretorische Muzine. Quelle: Corfield A.P. (2018) The Interaction of the Gut Microbiota with the Mucus Barrier in Health and Disease in Human. *Microorganisms.* 6(3):78. 10
- Abbildung 5. Schematische Darstellung eines Gel-formenden-Muzins, gebildet von einer Becherzelle und eines Membran-gebundenen-Muzins, welches in den Enterozyten verankert ist. An den Aminosäuren Serin und Threonin sind Zuckerketten angehängt. Quelle: Johansson M. E. V. et al. (2013) The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 10(6):352-61. 11
- Abbildung 6. Immunhistochemie und in situ Hybridization zum Nachweis von MUC6 im menschlichen Körper. Quelle: Bartman A. E. et al. (1998) The MUC6 secretory mucin gene is expressed in a wide variety of epithelial tissues. *J Pathol.* 186(4):398-405. 13
- Abbildung 7. Dickemessung der festen und losen Schleimschicht entlang des Gastrointestinaltraktes. Quelle: Atuma C. et al. (2001) The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 280(5): G922-9. 14
- Abbildung 8. Anwendung von MUC6 in einem diagnostischen Panel. Quelle: WHO Classification of Tumours Editorial Board (2019) WHO Classification of Tumours. 5th Edition. Digestive System Tumours. Kapitel 10. Seite 313. 16

Abbildung 9: MUC6 Positivität: Studienergebnisse verschiedener Tumorentitäten.	19
Abbildung 10. Schematische Darstellung des Koordinatensystems eines im UKE gebauten TMA-Blocks. Jede Koordinate („Spot“) wird einer definierten Gewebeprobe zugeordnet. Zur besseren Orientierung bei der Auswertung am Mikroskop haben die Sektionen A/B, C/D und E/F eine unterschiedliche Größe. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.	22
Abbildung 11. Pathologisches Archiv des UKE`s. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.	23
Abbildung 12. Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbte Gewebeschnitte mit eingezeichnete Tumorfläche und der dazu passende Gewebe-block. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.	23
Abbildung 13. Koordinatensystem des Multi-Tumor-Array 5.2. Block A. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.	24
Abbildung 14. Bohrer und Stanznadel. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.	24
Abbildung 15. Gestanzter Gewebekblock mit darüberliegendem Objektträger. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.	25
Abbildung 16. Schnitt ohne Färbung (oben) und Schnitt mit immunhistochemischer Färbung (unten). Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.....	25
Abbildung 17. Mikroskopische Analyse der Färbung. Quelle: Fotoarchiv des Instituts für Pathologie.....	26
Abbildung 18. HE-Schnitt des C-Blocks mit den Sektoren A-F.....	27
Abbildung 19. MTA5.2. Schematische Darstellung des C-Blocks mit den Sektoren A-F unter farblicher Kennzeichnung der verschiedenen Tumorentitäten (A-E). Sektor F beinhaltet Normalgewebe. Nierekarzinom chromophob, Nierekarzinom papillär, Nierekarzinom klarzellig, Onkozytom, Teratom, Seminom, Embryonales Hodenkarzinom, Dottersacktumor, Urothelkarzinom T2-4, Urothelkarzinom pTa, Nebennierenrindenadenom.....	27
Abbildung 20. Kriterien für die Bewertung der Färbeintensität. Quelle: Simon R, Mirlacher M und Sauter G (2010) Immunohisto-chemical analysis of tissue microarrays. Methods Mol Biol. 664:113-26.	28
Abbildung 21. Adenokarzinom der Lunge mit kräftiger MUC6 Anfärbung einzelner Zellen (siehe Pfeile).....	32
Abbildung 22. Magenkarzinom mit kräftiger diffuser MUC6 Färbung.	33
Abbildung 23. Magenkarzinom (diffus) mit heterogenem MUC6 Muster. Unterschiedlich stark gefärbte Zellen in einem Mosaikmuster.....	33

Abbildung 24. Kräftige MUC6 Anfärbung in 100% der Tumorzellen eines Cholangiozellulären Karzinoms der Leber.....	34
Abbildung 25. Cholangiozelluläres Karzinom mit sehr kräftiger MUC6 Anfärbung sämtlicher Tumorzellen.	34
Abbildung 26. Kolonadenom (high-grade) mit fokal akzentuierter MUC6 Anfärbung in einem Teil der Tumorzellen (circa 10%, Mosaikmuster).....	35
Abbildung 27. Kolonkarzinom (high-grade) mit fokal schwacher zytoplasmatischer MUC6 Positivität (circa 10% der Tumorzellen).	35
Abbildung 28. Kolonadenom (high-grade) mit fokal kräftiger MUC6 Anfärbung (circa 30% der Tumorzellen).	36
Abbildung 29. Kräftige diffuse MUC6 Positivität in einem Adenokarzinom des Kolons.	36
Abbildung 30. Muzinöses Ovarialkarzinom mit kräftiger MUC6 Anfärbung in circa 10% der Tumorzellen (Mosaikmuster).....	37
Abbildung 31. Seröses Ovarialkarzinom mit sehr kräftiger MUC6 Anfärbung in circa 50% der Zellen (Mosaikmuster).	37
Abbildung 32. Adenokarzinom der Zervix ohne nachweisbare MUC6 Positivität (MUC6 negativ).	38
Abbildung 33. Endometroides Ovarialkarzinom mit diffuser zytoplasmatischer MUC6 Färbung.....	38
Abbildung 34. Adenokarzinom der Zervix mit kräftiger MUC6 Färbung in 5-10% der Tumorzellen (Mosaikmuster).....	39
Abbildung 35. Endometroides Endometriumkarzinom ohne erkennbare MUC6 Expression (MUC6 negativ).....	39
Abbildung 36. Endometroides Endometriumkarzinom mit kräftiger MUC6 Anfärbung in circa 5-10% der Tumorzellen (Mosaikmuster).....	40
Abbildung 37. Endometroides Endometriumkarziom mit kräftiger zytoplasmatischer MUC6 Positivität in 95% der Tumorzellen.	40
Abbildung 38. MUC6 Positivität in einem malignen müllerschen Mischttumor (circa 10% der epithialen Tumorzellen).	41
Abbildung 39. Urothelkarzinom der Harnblase (mindestens pT2) mit kräftiger diffuser Positivität.	41
Abbildung 40. Fokale MUC6 Anfärbung in einem kleinzelligen Karzinom der Harnblase (Positivität in circa 10-20% der Tumorzellen).....	42
Abbildung 41. Schwach bis mäßig starke MUC6 Expression in 30-50% der Tumorzellen eines kleinzelligen Prostatakarzinoms.	42

Abbildung 42. Kleinzelliges Prostatakarzinom mit MUC6 Positivität in ca. 50% der Tumorzellen (teilweise kräftig).....	43
Abbildung 43. Dottersacktumor des Hodens mit fokaler MUC6 Anfärbung (circa 10% der Tumorzellen).	43
Abbildung 44. Fokal ausgeprägte MUC6 Expression in einem Basalzelladenom.	44
Abbildung 45. Angiosarkom mit teilweise kräftiger MUC6 Expression der Tumorzellen (circa 30% der Tumorzellen).....	44
Abbildung 46. MUC6 Positivität: Studienergebnisse und Ergebnisse des Multi-Tumor-Arrays 5.2.	54

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung des Multi-Tumor-Arrays 5.2 (MTA5.2)	29 - 31
Tabelle 2: Ergebnisse der MTA5.2 MUC6 Färbung.	45 - 48
Tabelle 3: Ergebnisse MTA 5.2: Rangliste MUC6 positiver Tumortypen.	48 - 49
Tabelle 4: Erstmals auf MUC6 untersuchte Tumorentitäten.	51 - 52

10. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
HE	Hämatoxylin-Eosin
HP	Hyperplastischer Polyp
HPV	Humane Papillomaviren
HPy	Helicobacter Pylori
IHC	Immunhistochemie
MTA	Multi-Tumor-Array
MUC	Muzine
NSCLC	Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
O-GalNAc	O-N-Acetylgalactosamine
PanIN	Intraepitheliale Neoplasie des Pankreas
PAX8	Paired box gene 8
PTS-Domäne	Prolin-Threonin-Serin-Domäne
SSA/P	Gezackte stiellose Adenome/Polypen
TAA	Tumor-assoziiertes-Antigen
TG	Thyreoglobulin
TMA	Tissue-Micro-Array
TSA	Traditionell serratierte Adenome
TTF1	Thyroidaler Transkriptionsfaktor 1
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

11. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Professor Sauter für die wunderbare Möglichkeit bedanken, diese Arbeit an seinem Institut realisiert haben zu können. Von Beginn an stand er mir mit seinem enormen Erfahrungsschatz zur Seite und war jederzeit für Fragen oder kurze Besprechungen ansprechbar. Außerdem hat er mir das Angebot unterbreitet, an den täglichen uropathologischen Fallbesprechungen teilzunehmen. Diese lehrreichen und interessanten Besprechungen haben mein Verständnis über die Denk- und Arbeitsweise eines Pathologen enorm gefördert.

Des Weiteren bin ich dem gesamten Team des pathologischen Instituts für die stets konstruktive und effiziente Zusammenarbeit zu großem Dank verpflichtet. Namentlich hervorheben möchte ich Frau Witt und Dr. Simon. Sie waren bei organisatorischen und fachlichen Fragen außerordentlich hilfsbereit und haben einen wertvollen Beitrag zum Erfolg dieser Arbeit geleistet.

Bei den anderen Doktoranden und Doktorandinnen möchte ich mich für die gegenseitige Unterstützung und die vielen lustigen Momente bedanken. Trotz des enormen Arbeitspensums und der vielen Stunden im Doktorandenbüro, manchmal bis spät in die Nacht, ist der Spaß nie zu kurz gekommen.

Zuletzt geht ein großes Dankeschön an meine Familie, allen voran an meinen Vater. Ohne die unbändige moralische und finanzielle Unterstützung über die gesamten Semester hinweg, hätte ich diese Etappe niemals bewerkstelligen können. Danke, dass ihr mir den Rücken freigehalten habt und mir eine so schöne Studentenzzeit ermöglicht habt.

12. Lebenslauf

Persönliche Daten

Vor- und Nachname: Sebastian Johann August Schließer
Geburtsdatum/-ort: 30.03.1994 in Gießen
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch
Eltern: Dr. med. Georg C. Schließer
Dr. rer. nat. Petra H. Schließer
Mobiltelefon: +49(0)176-64753821
E-Mail Adresse: s.schliesser@outlook.de
Anschrift: Schwenckestraße 7 20257 Hamburg

Bildungsweg

06/2013 Abitur an der Liebigsschule, Gießen
10/2014 – 12/2021 Studium der Humanmedizin am
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
03/2016 *1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)*
10/2020 *2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)*
12/2021 *3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: sehr gut)*
09/2017-07/2018 Erasmus-Studienjahr an der Nova Medical School
in Lissabon, Portugal
11/2020 Anzeige des Beginns einer wissenschaftlichen
Arbeit zum Zwecke der Promotion
Arbeitstitel der Dissertation: „Prävalenz der MUC6
Expression in humanen Tumoren“

Nebentätigkeiten

08/2016-02/2020 Werkstudent, Clinical Trial Center (CTC) North GmbH &
Co. KG, Hamburg
03/2020 bis 12/2021 Werkstudent, Klinik für Intensivmedizin (UKE)

13. 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: