

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Pathologie

Direktor: Prof. Dr. Guido Sauter

Expression von CDH17 in menschlichen Tumoren und Normalgeweben:

Eine Tissue-Micro-Array-Studie an 14.948 Tumoren

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Ramesh Pushpadevan

aus Hamburg

Hamburg 2024

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 27.11.2024

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Thilo Hackert

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Guido Sauter

Inhalt

1. Einleitung.....	5
1.1 Cadherin Superfamilie	5
1.2 Hintergrund	7
1.3 Struktur	8
1.4 Funktion und Expression im Normalgewebe.....	11
1.5 Pathologie.....	13
1.6 Mögliche Pathophysiologie von CDH17.....	18
1.7 Potential von CDH17 in Diagnostik und Therapie.....	19
1.8 Zielsetzung	21
2. Material und Methoden.....	22
2.1 Tissue-Micro-Array-Technik.....	22
2.2 TMAs für die Cadherin 17-Studie.....	28
2.3 Immunhistochemie.....	35
2.4 Immunhistochemische Färbung.....	43
2.5 Statistik	44
3. Ergebnisse	45
3.1 Technische Aspekte	45
3.2 Cadherin 17 im Normalgewebe	45
3.3 Cadherin 17 in Tumoren	51
3.4 Vergleich mit CK20 und SATB2.....	69
4. Diskussion	72
5. Zusammenfassung.....	82
6. English Summary	83
7. Abkürzungsverzeichnis	84
8. Literaturverzeichnis	86
9. Danksagung	105
10. Lebenslauf.....	106

11. Eidesstattliche Erklärung.....	107
------------------------------------	-----

1. Einleitung

1.1 Cadherin Superfamilie

Cadherin 17 ist ein transmembranes Glykoprotein, das der Cadherin-Superfamilie angehört. Bei diesen handelt es sich um Zelladhäsionsproteine, die in Abhängigkeit von der extrazellulären Kalziumkonzentration den physischen Kontakt zwischen zwei benachbarten Zellen vermitteln können (Takeichi 1977; Yoshida und Takeichi 1982; Takeichi 1988; Takeichi 2018). Dieser Prozess erfolgt dabei in der Regel durch die homophile Dimerisierung (Nagar et al. 1996; Shapiro et al. 1995a) von zwei gleichen Cadherinproteinen an zwei benachbarten Zellen. Neben der Zelladhäsion können Cadherine eine Vielzahl von anderen Funktionen wahrnehmen (Vleminckx und Kemler 1999), wie beispielsweise die Einflussnahme auf Embryogenese (Nose und Takeichi 1986), Zelldifferenzierung (Fiorino und Harrison 2016), Zellproliferation (Stockinger et al. 2001) oder Zellpolarität (McNeill et al. 1990). Das Aufgabenspektrum ist insgesamt dabei sehr breit und divers.

Hinsichtlich ihrer Struktur kann man Cadherine in drei Abschnitte unterteilen: So haben sie einen c-terminalen intrazellulären, einen transmembranen und einen n-terminalen extrazellulären Bereich (Hatta et al. 1988). Da über 100 verschiedene Vertreter der Cadherin-Superfamilie beim Menschen bekannt sind (Brasch et al. 2012), existiert bezüglich der drei Proteinabschnitte ein gewisser Variationsspielraum. Anhand der Anzahl der extrazellulären Domäne, der Konservierung von Aminosäuresequenzen und anderen Parametern lassen sich die einzelnen Cadherinverteiler zu verschiedenen Subfamilien zusammenfassen.

Eine dieser Subfamilien ist die Gruppe der klassischen Cadherine. Sie sind an der Bildung von „Adherens Junctions“, einer Form des Zell-Zell-Kontakts, beteiligt. Essenziell für ihre Zelladhäsionsfunktion ist hierbei ihre Verankerung im Zytoskelett über ihre interzelluläre Domäne (Ozawa und Kemler 1998). Über Catenine, die als Verbindungsstücke fungieren (Ozawa et al. 1989), sind sie mit Aktin, einem Bestandteil des Zytoskeletts verbunden (Hirano et al. 1987; Ozawa et al. 1990). Der bekannteste Vertreter dieser Subfamilie ist CDH1, auch E-Cadherin genannt. Die Benennung der klassischen Cadherine erfolgt nach dem Gewebe, in dem sie zuerst entdeckt worden sind. So bezieht sich der Name E-Cadherin auf die Tatsache, dass dieses im Epithel entdeckt worden ist. Eine weitere wichtige Subfamilie

sind die desmosomalen Cadherine, die, wie ihr Name bereits impliziert, an der Bildung von Desmosomen, einer weiteren Form des Zell-Zell-Kontakts, beteiligt sind. Analog zu den klassischen Cadherinen sind auch die desmosomalen Cadherine mit dem Zytoskelett der Zelle verankert. In diesem Fall sind die Cadherine mit Intermediärfilamenten anstelle von Aktin verbunden (Franke et al. 1992). Ein berühmter Vertreter der desmosomalen Cadherine ist Desmoglein. Die nächste wichtige Subgruppe innerhalb der Superfamilie ist die Gruppe der Protocadherine. Sie umfassen den Großteil der Cadherin-Superfamilie und haben bezüglich ihrer Funktion eine enge Assoziation mit dem Gehirn bzw. Nervensystem (Sano et al. 1993; Kohmura et al. 1998). Eine im Gegensatz zu den Protocadherinen sehr kleine Fraktion sind die 7-D-Cadherine. Von dieser Subgruppe sind nur CDH16/KSP-Cadherin und CDH17/LI-Cadherin (Berndorff et al. 1994) bekannt (Wendeler et al. 2006; Thomson et al. 1995). Im Gegensatz zu klassischen Cadherinen, welche 5 extrazelluläre Domänen besitzen, haben CDH16 und CDH17 gemäß dem Namen ihrer Fraktion 2 zusätzliche extrazelluläre Domänen (Wendeler et al. 2006; Berndorff et al. 1994; Kreft et al. 1997; Thomson et al. 1995). Abbildung 1 zeigt eine Übersicht über die verschiedenen Subfamilien der Cadherin-Superfamilie.

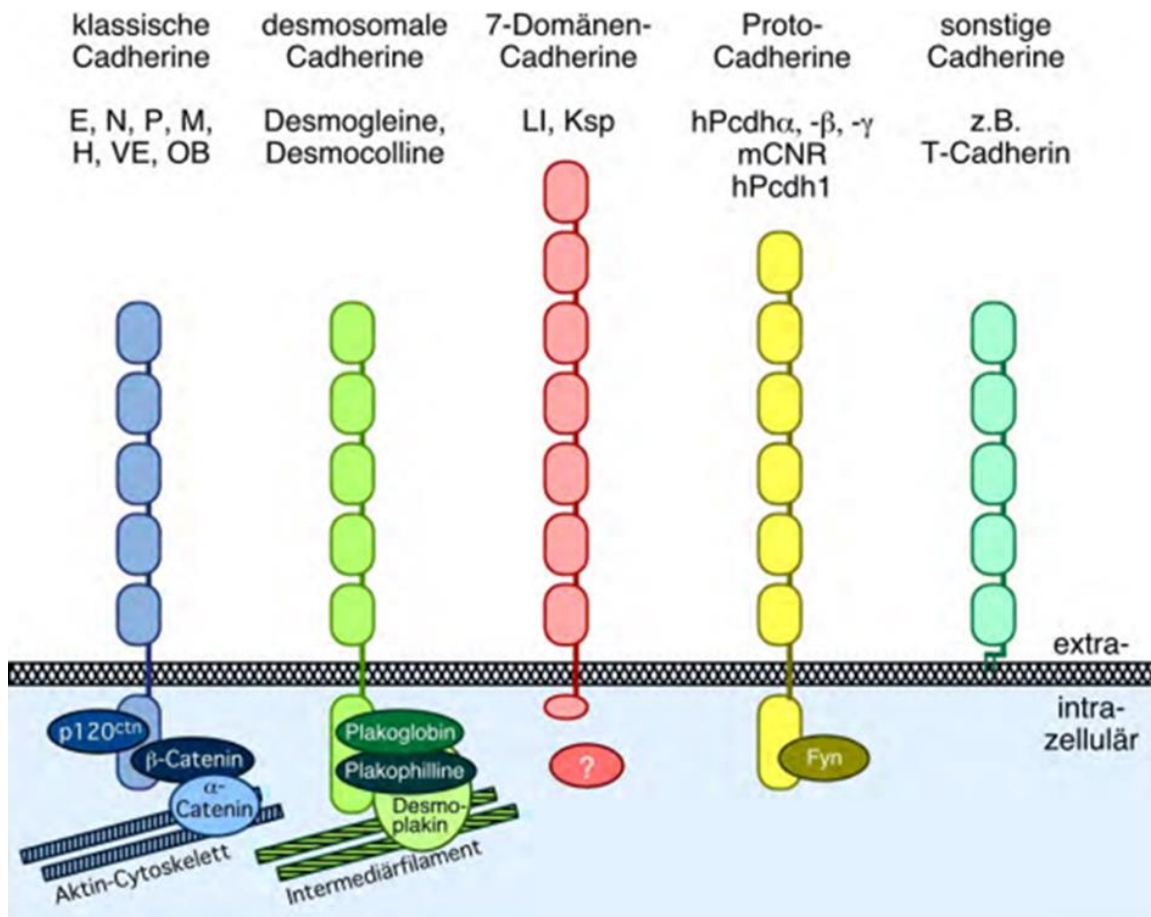


Abbildung 1: Unterschiedlichen Cadherin-Gruppen: Klassische Cadherine binden über Catenine Aktin, während desmosomale Cadherine über Verbindungsproteine Intermediärfilamente binden. Quelle: (Geßner 2015).

1.2 Hintergrund

CDH17 ist ein Genprodukt aus dem gleichnamigen CDH17-Gen, welches auf dem 8. Chromosom auf q22.1 (Kremmidiotis et al. 1998) lokalisiert ist. Das Gen umfasst 90142 Basenpaare und aus diesem können je nach Quelle 4-5 unterschiedlich gespleißte Transkripte entstehen (Church et al. 2011; Gene: CDH17 (ENSG00000079112) - Summary - Homo_sapiens - GRCh37 Archive browser 108 2023; CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas 2022; Cunningham et al. 2022). Die molekulare Masse der daraus resultierenden Proteine kann je nach Transkript, aus dem sie translatiert worden sind, zwischen 92,2 kDa und 16,6 kDa variieren (Church et al. 2011; Gene: CDH17 (ENSG00000079112) - Summary - Homo_sapiens - GRCh37 Archive browser 108 2023; CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas 2022; Cunningham et al. 2022). Das aus dem „Haupt-Transkript“ CDH17-201 hervorgehende CDH17 Protein umfasst 832 Aminosäuren und weist als posttranslationale Modifikation Glykosylier-

rungen an den Stellen Asn149, Asn184, Asn250, Asn419, Asn456, Asn546, Asn587, and Asn722 auf (CDH17 - Cadherin-17 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt 2023; UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023 2023; Cummins et al. 2022; Fukuda et al. 2021; Sayers et al. 2022; Cunningham et al. 2022).

In der Literatur ist CDH17 unter den alternativen Namen HPT-1 (Dantzig et al. 1994), LI-Cadherin und BILL-Cadherin bekannt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass CDH17 hinsichtlich seiner Entdeckungsgeschichte erstmals in der Leber und im Gastrointestinaltrakt von Ratten nachgewiesen wurde (Berndorff et al. 1994). Basierend auf dieser Tatsache entstand der Name Liver-Intestine-Cadherin (kurz: Li-Cadherin) (Berndorff et al. 1994). Später hatte man entdecken können, dass Li-Cadherin ebenfalls in der murinen Milz von B-Lymphozyten exprimiert wird und Auswirkung auf deren Differenzierung und Überlebenszeit hatte (Ohnishi et al. 2000; Ohnishi et al. 2005; Funakoshi et al. 2015). Folglich entstand mit BILL-Cadherin ein zweiter alternativer Name, auch wenn die Rolle von Cadherin 17 im menschlichen Immunsystem weiterhin unschlüssig bleibt.

1.3 Struktur

Cadherin 17 lässt sich ähnlich wie andere Mitglieder der Cadherin Superfamilie in einen intrazellulären, transmembranen und extrazellulären Bereich unterteilen. CDH17 weist jedoch mehrere strukturelle Besonderheiten auf.

Die intrazelluläre Domäne von CDH17 ist beispielsweise beträchtlich kürzer und umfasst eine Sequenz von 18-25 Aminosäuren (Berndorff et al. 1994; Wendeler et al. 2006; Jung et al. 2004). Damit entspricht sie ungefähr 11%-16% der Größe der intrazellulären Domänen (ca. 150-160 Aminosäuren lang (Hatta et al. 1988) von klassischen Cadherinen (Jung et al. 2004). Der intrazelluläre Bereich ist außerdem hinsichtlich seiner Aminosäuresequenz zwischen den unterschiedlichen Vertretern der klassischen Cadherinen am stärksten konserviert (Hatta et al. 1988). Die intrazelluläre Domäne von CDH17 zeigt zu diesen jedoch keine Sequenzhomologie (Berndorff et al. 1994). Dies kann funktionelle Gründe haben. Während bei klassischen Cadherinen die intrazelluläre Domäne essenziell für die Zelladhäsion ist (Ozawa und Kemler 1998), konnten Studien zeigen, dass die intrazelluläre Domäne von CDH17 für die Zelladhäsionsfunktion keine Relevanz zu haben scheint und

diese auch keine Bindung mit Cateninen oder Elementen des Zytoskeletts eingeht (Kreft et al. 1997).

Der extrazelluläre Bereich von CDH17 wiederum setzt sich aus 7 Domänen bzw. Repeats (auch EC genannt) zusammen, womit CDH17 2 Domänen mehr besitzt als klassische Cadherine (Berndorff et al. 1994; Kreft et al. 1997). Es wurde vorgeschlagen, dass die zwei zusätzlichen Domänen durch Genduplikationen entstanden seien (Jung et al. 2004). Jung et al entdeckte nämlich, dass bei CDH17 die Repeats 1-2 auf genomischer Ebene und hinsichtlich der Aminosäuresequenz Ähnlichkeiten mit den Repeats 3-4 sowie den ersten beiden Repeats von klassischen Cadherinen aufweisen. Ferner konnte man eine Homologie zwischen den Repeats 3-7 von CDH17 und den Repeats 1-5 von klassischen Cadherinen beobachten. Folglich, so vermutet es Jung et al, muss CDH17 durch partielle Gendublikation aus einem Vorläufercadherin mit 5 Repeats entstanden sein (Jung et al. 2004; Geßner 2015).

Die extrazelluläre Domäne von Cadherinen besteht normalerweise aus 7 Beta-Strängen, die zusammen ein „Greek-Key“-Motiv bilden (Overduin et al. 1995; Shapiro et al. 1995b). Über den ersten am N-Terminus befindenden Repeat (EC1), der über einen Tryptophanrest verfügt (Boggon et al. 2002; Shapiro et al. 1995a), erfolgt die Dimerisierung über das sogenannte „Strand-swap“-Manöver (Shapiro et al. 1995a). Hierbei interagieren die auf EC1 befindenden Tryptophanreste von den beiden Cadherinen mit einer ebenfalls auf EC1 befindenden dazu komplementären hydrophoben Bindungstasche des jeweils anderen Cadherins (Shapiro et al. 1995a). Es kommt folglich zu einem „Tausch“ von Strängen zwischen den jeweiligen EC1-Domänen von den beiden Cadherinen (Shapiro et al. 1995a). Zwischen den Repeats befinden sich Bindungsstellen für Calcium, an denen jeweils 3 Calciumionen binden können (Nagar et al. 1996). Die Bindung von Calcium stärkt hierbei das Gesamtkonstrukt (Nagar et al. 1996).

Bei Cadherin 17 gibt es strukturelle Unterschiede, aufgrund dessen dieses kein Strand-swap-Manöver durchführen kann (Gray und Sotomayor 2021). So ist EC1 bei CDH17 um ein Beta-Strang länger und besitzt den für die Dimerisierung essentiellen und bei klassischen Cadherinen konservierten Tryptophanrest nicht (Gray und Sotomayor 2021). Außerdem beinhaltet der EC2-Repeat von CDH17 in seiner Sekundärstruktur eine zusätzliche Alpha-Helix (Gray und Sotomayor 2021)

und besitzt in der Übergangsregion zu EC3 keine Bindungsstellen für Calcium (Gray und Sotomayor 2021). Diese strukturellen Gegebenheiten führen dazu, dass der Dimerisierungsprozess von CDH17 von der konventionellen Form abweicht (Gray und Sotomayor 2021).

Obwohl CDH17 und CDH16 zu derselben Subfamilie gehören und mehrere strukturelle Gemeinsamkeiten aufweisen, ähneln sie sich hinsichtlich ihrer Aminosäuresequenz nur zu 30%, während die Ähnlichkeit zwischen Vertretern der klassischen Cadherine ca. 50% beträgt (Geßner 2015). Zwischen CDH17 und CDH16 ist der transmembrane Bereich am stärksten konserviert mit einer Sequenzähnlichkeit von 58% (Geßner 2015).

Insgesamt ist überraschend anzumerken, dass trotz der strukturellen Gemeinsamkeiten mit CDH16 auf der einen Seite und der Unterschiede mit den klassischen Cadherinen auf der anderen Seite, CDH17 bezüglich seiner Aminosäuresequenz letzteren immer noch zu 28% ähnlich ist (Geßner 2015). Eine detaillierte Darstellung der Sequenzähnlichkeiten zwischen den einzelnen Domänen ist in Abbildung 2 zu sehen.

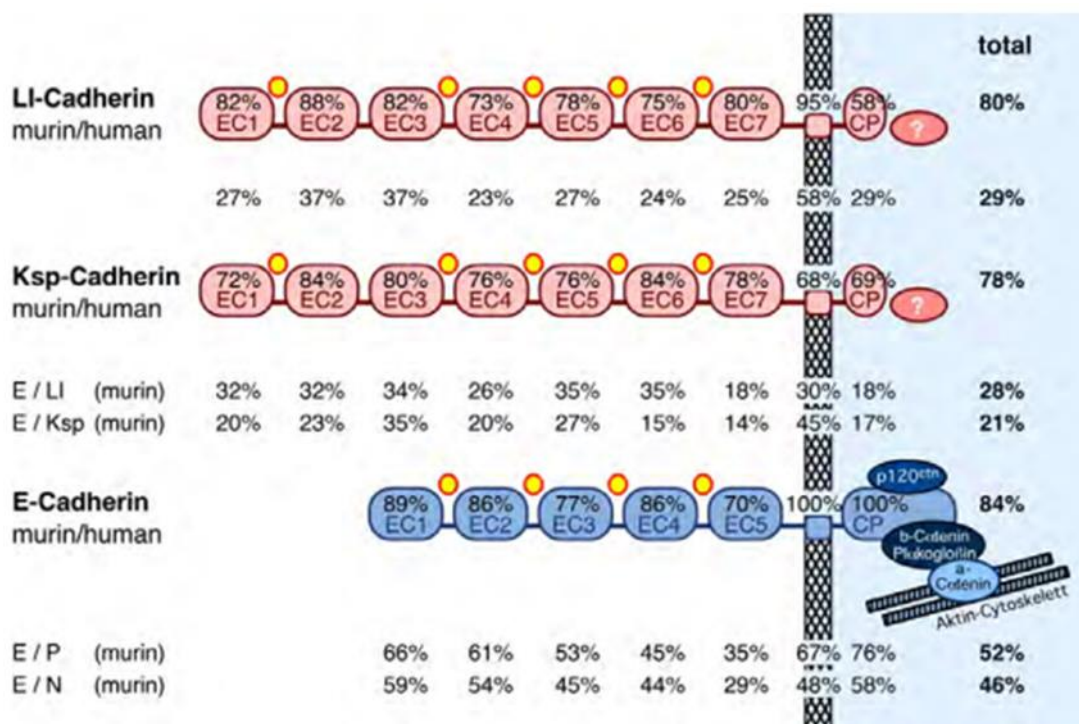


Abbildung 2: Ausmaße der Aminosäurekonservierung zwischen den einzelnen Domänen von Li- und Ksp-Cadherin (CDH16). Zum einen werden die humanen Varianten mit den murinen vergli-

chen und zum anderen werden die unterschiedlichen Cadherinvarianten miteinander verglichen. Darüber hinaus werden beide Proteine auch mit E-Cadherin verglichen. Quelle: (Geßner 2015).

1.4 Funktion und Expression im Normalgewebe

Der Human Protein Atlas beschreibt im Normalgewebe vor allem eine CDH17-Expression im Dünndarm, Kolon, Rektum und Appendix nachweisen. Des Weiteren wird in einem weitaus geringerem Ausmaß ebenfalls eine Expression in glatten Muskelzellen, Milz, Gallenblase und im Magen angezeigt (CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas 2022) (Abbildung 3).

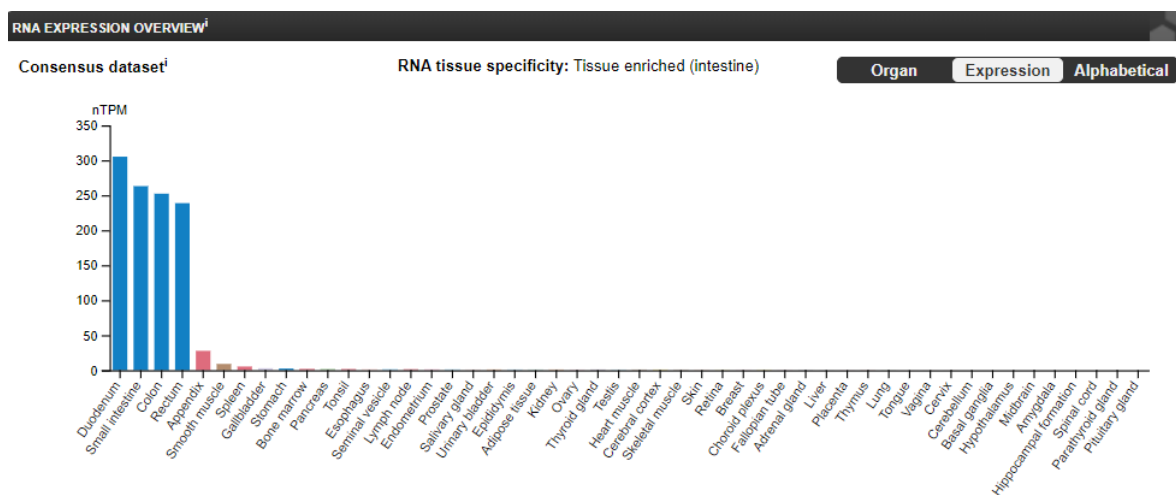


Abbildung 3: RNA-Expression von CDH17 im Normalgewebe. Quelle: (CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas 2022)

Fraglich ist hinsichtlich der niedrigen CDH17-RNA-Expression, ob sich diese auch in eine tatsächliche Proteinexpression im Magen übersetzen lässt. So gibt es beispielsweise Studien, die keine Expression von CDH17 im Magen nachweisen konnten (Dong et al. 2007; Grötzinger et al. 2001). Interessant bei den Ergebnissen des Human-Protein-Atlas ist außerdem, dass trotz der Tatsache, dass CDH17 bzw. LI-Cadherin erstmals in der Leber von Ratten entdeckt worden ist, keine CDH17-Expression in der menschlichen Leber nachgewiesen werden konnte (CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas 2022; Wong et al. 2003).

Als Zelladhäsionsprotein erfüllt CDH17 seine Funktion auf der basolateralen Seite der Zellmembran, wo es sich aber nicht an der Bildung von komplexen Adhäsionsverbindungen wie „Adherens Junctions“ oder Desmosomen beteiligt (Angres et al. 2001), sondern unabhängig, jedoch supportiv zu diesen Verbindungen die Zel-

adhäsion zwischen zwei benachbarten Zellen stärken und damit die Gewebintegrität gewährleisten (Berndorff et al. 1994; Kreft et al. 1997) (Abbildung 4).

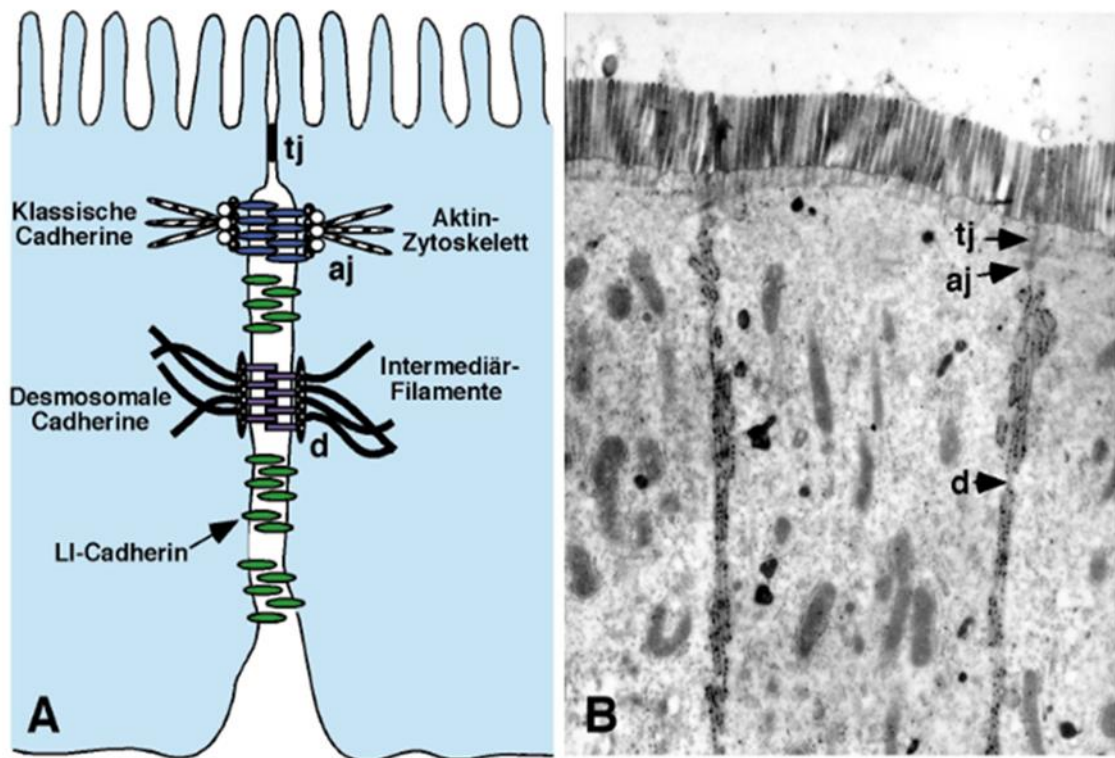


Abbildung 4 A: Expression von Li-Cadherin an der basolateralen Membran von Geweben und die vom Zytoskelett unabhängige homophile Dimerisierung. B: Elektronenmikroskopische Darstellung von der Li-Cadherin Expression. Adaptiert von (Vangala 2014). Ursprüngliche Quelle: (Wendeler 2004).

Zudem ist CDH17 scheinbar auch an der Regulation des Wassertransports beteiligt, indem es die intestinale Kluft zwischen benachbarten Epithelzellen moduliert (Weth et al. 2017; Ahl et al. 2011). Eine weitere Funktion von CDH17, welches auch als Human-Peptide-Transporter-1 bekannt ist (CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas 2022) die protonenabhängige Peptidresorption bzw. die Resorption von peptidähnlichen Arzneimitteln wie Betalaktamantibiotika oder ACE-Hemmern im Gastrointestinaltrakt (Dantzig et al. 1994). Obwohl die Namen BILL-Cadherin und LI-Cadherin eine Expression in der Leber und im Immunsystem implizieren, konnte dies beim Menschen in den korrespondierenden Organen bisher noch nicht nachgewiesen werden. Ein weiterer Punkt, der noch näher untersucht werden muss, ist die Einflussnahme von Cadherin 17 auf Signalkaskaden der Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Apoptose im physiologischen Zustand. Es konnte zwar nachgewiesen werden, dass CDH17 im Tumorgewebe beispielsweise den WNT-Pathway aktiviert (Liu et al. 2009), jedoch kann

te dieselbe Wirkung bislang nicht im Normalgewebe eruiert werden, welches Rückschlüsse auf eine mögliche Funktion als Regulator für Zellproliferation oder Zelldifferenzierung erlauben könnte.

1.5 Pathologie

Hinsichtlich der Expression von Cadherin 17 in Tumoren beschreiben die Daten vom The Cancer Genome Atlas (TCGA) eine RNA-Expression vor allem in Karzinomen von Darm, Magen und Pankreas (National Cancer Institute 2023) (Abbildung 5).

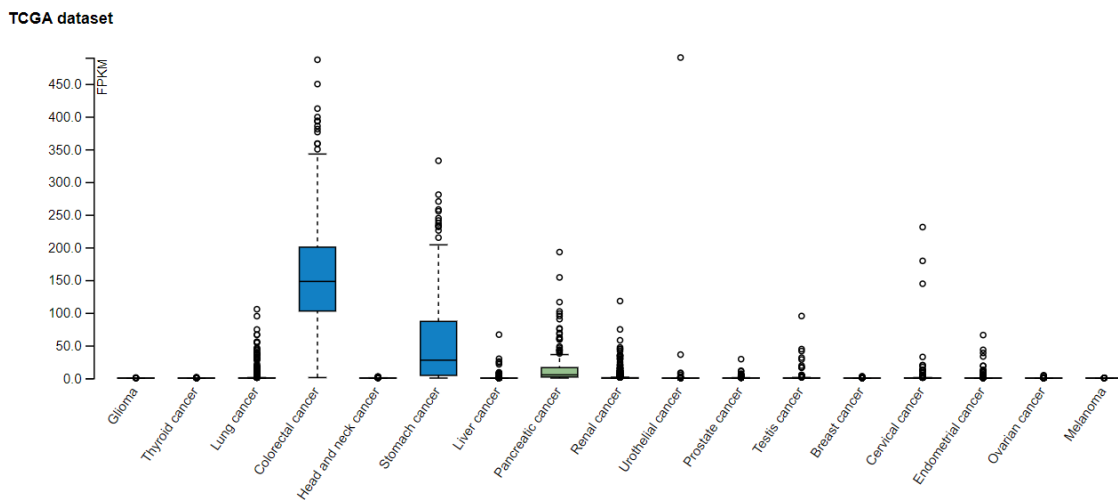


Abbildung 5: RNA-Expression von CDH17 (in fpkm; fragments per kilobase of exon per million mapped fragments) in verschiedenen Karzinomen. Die hier vorliegenden Daten wurden vom TCGA Research Network (National Cancer Institute 2023) generiert. Quelle der Abbildung: (CDH17 transcriptomics data - The Human Protein Atlas 2023)

Diverse immunohistochemische Studien hatten eine CDH17-Expression ebenfalls hauptsächlich in Tumoren aus dem Verdauungstrakt nachweisen können. Die Expression beschränkte sich dabei aber nicht nur auf epitheliale Tumoren. So fand sich eine CDH17-Positivität neben kolorektalen Karzinomen (74,10%-100%) (Bian et al. 2017; Panarelli et al. 2012), Adenokarzinomen des Ösophagus (38,70%-82%) (Altree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012), Adenokarzinomen des Magens ((Ge et al. 2008; Ota et al. 2021), Pankreaskarzinomen (18%-100%) (Lin et al. 2014a; Panarelli et al. 2012), hepatozellulären Karzinomen (0%-72%) (Su et al. 2008; Wong et al. 2003) auch bei neuroendokrinen Neoplasien (12%-100%) (Panarelli et al. 2012; Snow et al. 2015).

Des Weiteren gab es Arbeiten, die wie von der TCGA-Gruppe eine CDH17 Expression in Tumoren des weiblichen Geschlechtstrakts detektieren konnten (Alt-

ree-Tacha et al. 2017; Huang et al. 2012). Es ist daher auffällig, dass die Positivitätsraten zwischen den Studien bei manchen Entitäten teilweise sehr stark variieren.

Eine detaillierte graphische Darstellung der Ergebnisse einer Literaturliteraturanalyse zur CDH17 Expression in Tumoren ist in Abbildung 6 dargestellt. Die dazugehörigen Literaturverweise zu den untersuchten Tumorentitäten sind in Tabelle 1 aufgelistet.



Abbildung 6: Literaturdaten zur Häufigkeit der CDH17-Expression in Tumoren: Roter Punkt: Probenzahl n: 1-10; gelber Punkt: Probenzahl n: 11-25; grüner Punkt: Probenzahl n: >26, x: durchschnittliche Positivitätsrate.

Tabelle 1: Literaturverweise zu den Daten aus Abbildung 6

Literaturverweise zu den einzelnen Punkten in Abbildung x	
Adenokarzinom der Lunge	(Ma et al. 2019; Altree-Tacha et al. 2017; Brandler et al. 2015; Lin et al. 2014a)
Adenokarzinom der Prostata	(Altree-Tacha et al. 2017; Brandler et al. 2015; Lin et al. 2014a)
Adenokarzinom der Zervix	(Asaka et al. 2020; Lin et al. 2014a)
Adenokarzinom des Kolons	(Ma et al. 2019; Bian et al. 2017; Altree-Tacha et al. 2017; Brandler et al. 2015; Lin et al. 2014a; Panarelli et al. 2012; Rao et al. 2013)
Adenokarzinom des Ösophagus	(Altree-Tacha et al. 2017; Mokrowiecka et al. 2013; Lin et al. 2014a)
Cholangiozelluläres Karzinom	(Zheng et al. 2021; Su et al. 2008; Panarelli et al. 2012; Altree-Tacha et al. 2017)
Chromophobes Nierenzellkarzinom	(Lin et al. 2014a)
Duktales Adenokarzinom des Pankreas	(Ma et al. 2019; Altree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012; Su et al. 2008; Takamura et al. 2003)
Endometrioides Ovarialkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Huang et al. 2012)
Endometriumkarzinom (nicht weiter spezifiziert)	(Ma et al. 2019; Brandler et al. 2015; Altree-Tacha et al. 2017; Lin et al. 2014a)
Epithloides Mesethliom	(Lin et al. 2014a)
Follikuläres Schilddrüsenkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Lin et al. 2014a)
Gastrointestinaler Tumor des Stromas (GIST)	(Lin et al. 2014a)
Hepatozelluläres Karzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012; Ding et al. 2009; Wong et al. 2003; Su et al. 2008)
Klarzelliges Nierenzellkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017)
Klarzelliges Ovarialkarzinom	(Huang et al. 2012)
Kleinzelliges Lungenkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Lin et al. 2014a)
Magenkarzinom (diffuser Typ)	(Lee et al. 2010; Ge et al. 2008)
Magenkarzinom (gemischter Typ)	(Lee et al. 2010; Ge et al. 2008)
Magenkarzinom (intestinaler Typ)	(Ge et al. 2008; Lee et al. 2010; Tu et al. 2016)
Magenkarzinom (nicht weiter spezifiziert)	(Ota et al. 2021; Lopes et al. 2020; Ma et al. 2019; Altree-Tacha et al. 2017; Tu et al. 2016; Lin et al. 2014a; Qiu et al. 2013; Ryu et al. 2012; Panarelli et al. 2012; Sakamoto et al. 2012; Wang et al. 2012; Su et al. 2008; Dong et al. 2008; Park et al. 2007; Ito et al. 2005; Ko et al. 2005)
Malignes Melanom	(Lin et al. 2014a)
Mammakarzinom	(Ma et al. 2019; Altree-Tacha et al. 2017; Brandler et al. 2015; Lin et al. 2014a)
Medulläres Schilddrüsenkarzinom	(Lin et al. 2014a)
Muzinöses Ovarialkarzinom	(Huang et al. 2012; Altree-Tacha et al. 2017)
Nebennierenadenom	(Lin et al. 2014a)
Neuroendokriner Tumor der Appendix (NET)	(Snow et al. 2015)
Neuroendokriner Tumor der Lunge (NET)	(Snow et al. 2015)
Neuroendokriner Tumor des Ileums (NET)	(Snow et al. 2015)
Neuroendokriner Tumor des Kolorektums (NET)	(Snow et al. 2015)
Neuroendokriner Tumor des Pankreas (NET)	(Panarelli et al. 2012; Johnson et al. 2015; Snow et al. 2015)
Onkozytom	(Lin et al. 2014a)
Ovarialkarzinom (nicht weiter spezifiziert)	(Brandler et al. 2015; Ma et al. 2019; Lin et al. 2014a)
Pankreatisches ampulläres Karzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Brandler et al. 2015; Lin et al. 2014a)
Papilläres Nierenzellkarzinom	(Lin et al. 2014a)
Papilläres Schilddrüsenkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Lin et al. 2014a)
Phaeochromozytom	(Lin et al. 2014a)
Plattenepithelkarzinom der Lunge	(Lin et al. 2014a; Altree-Tacha et al. 2017)

Plattenepithelkarzinom des Ösophagus	(Altree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012)
Schilddrüsenadenom	(Lin et al. 2014a)
Seminom	(Altree-Tacha et al. 2017)
Seröses Ovarialkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Huang et al. 2012)
Urothelkarzinom	(Altree-Tacha et al. 2017; Rao et al. 2013)

Mehrere Arbeiten haben untersucht, welchen Einfluss CDH17 in Tumoren auf die Prognose hat und inwiefern eine Expression mit molekularen oder histopathologischen Tumorparametern korreliert.

So hat Li et al. in In-vitro-Versuchen mit Zelllinien von Magenkarzinomen eine Überexpression von CDH17 gefunden und diese Überexpression war mit einer verstärkten Lymphknotenmetastasierung assoziiert (Li et al. 2017a). Als Li et al. das CDH17 ausgeschaltet hatte, war die Proliferationsrate verringert und die Apoptoserate erhöht (Li et al. 2017a). Auch Lee et al. fanden eine Überexpression von CDH17 in Magenkarzinomen (Lee et al. 2010). Besonders war in dieser Arbeit, dass Patienten, deren Tumor in einem niedrigen Stadium war und keine befallenen Lymphknoten hatten, einen statistisch signifikanten Überlebensvorteil hatten, wenn die Tumoren CDH17 exprimierten im Vergleich zu Patienten mit CDH17 negativen Tumoren im gleichen Stadium (Lee et al. 2010). Mit fortschreitendem Tumorstadium verschwand jedoch der Überlebensvorteil (Lee et al. 2010). Ito et al. hingegen fand eine verstärkte Expression von CDH17 in fortgeschritteneren Stadien als in anfänglichen Stadien und stellte einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer schlechteren Prognose und einer erhöhten CDH17-Expression fest (Ito et al. 2005).

Andere Arbeitsgruppen konnten beim Magenkarzinom eine enge Korrelation zwischen einer Überexpression von CDH17 und einer Lymphknotenmetastasierung (Ko et al. 2004; Ge et al. 2008), einer Lymphgefäßinvasion (Wang et al. 2012), dem Tumorstadium (Wang et al. 2012; Ge et al. 2008), der Tumorgröße (Tu et al. 2016) und einer Fernmetastasierung (Tu et al. 2016) konstatieren.

Allerdings gab es auch Arbeitsgruppen, die einen für die Patienten positiven Zusammenhang zwischen Tumorparametern und einer CDH17 Expression fanden. So war eine CDH17-Negativität bzw. reduzierte CDH17-Expression beim Magenkarzinom mit einer geringeren Überlebenszeit (Lopes et al. 2020) und einer häufigeren Lymphknotenmetastasierung (Lopes et al. 2020; Park et al. 2007) verbunden.

Die Arbeitsgruppe Meng et al konnte hingegen beim Magenkarzinom keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der CDH17-Expression und molekularen sowie histopathologischen Tumorparametern wie Überlebenszeit oder Lymphknotenmetastasierung erkennen (Meng et al. 2015).

Beim kolorektalen Karzinom konnten mehrere Arbeitsgruppen eine Herunterregulation von CDH17 in einem Teil der Fälle nachweisen und diese verminderte Expression von CDH17 war unter anderem mit einer geringeren Differenzierung (Kwak et al. 2007; Varghese et al. 2007), einem höheren Tumorstadium (Takamura et al. 2004), Lymphgefäßinvasion (Takamura et al. 2004), Lymphknotenmetastasierung (Takamura et al. 2004) und einer schlechteren Überlebenszeit (Kwak et al. 2007; Wang et al. 2020) verbunden.

Beim hepatozellulären Karzinom scheint laut der aktuellen Studienlage eine Überexpression von CDH17 mit für die Patienten schlechten Tumorparametern zu korrelieren. So war CDH17 je nach Studie mit einem höheren Tumorstadium (Kmeid et al. 2021), einer Mikrogefäßinvasion (Ding et al. 2009), einer Lymphknotenmetastasierung (Fan et al. 2011; Lee et al. 2017), einer schlechteren Überlebenszeit (Ding et al. 2009), einem kürzen remissionsfreien Überlebensintervall (Ding et al. 2009) assoziiert.

Bezüglich des cholangiozellulären Karzinoms kamen zwei Arbeitsgruppen zu gegensätzlichen Ergebnissen. So stand bei der Arbeitsgruppe Takamura et al eine CDH17-Negativität in cholangiozellulären Karzinomen im Zusammenhang mit einer stärkeren Angiogenese, geringeren Differenzierung und einer insgesamt schlechteren Überlebenszeit (Takamura et al. 2010). Im Kontrast dazu korrelierte eine Überexpression von CDH17 bei der Arbeitsgruppe Zheng et al mit einer schlechteren Überlebenszeit und einem kürzeren remissionsfreien Überlebensintervall (Zheng et al. 2021).

Die Arbeitsgruppe Huang et al konnte bei Ovarialkarzinomen eine Hochregulierung von CDH17 nachweisen und diese korrelierte mit Tumorwachstum und einer schlechteren Prognose (Huang et al. 2012).

1.6 Mögliche Pathophysiologie von CDH17

Es ist nach wie vor ungeklärt, ob CDH17 ein potenzielles Proto-Onkogenprotein oder ein Tumorsuppressor ist. So scheint eine Herunterregulierung von CDH17 mit einer stärkeren Lymphknotenmetastasierung, einer hämatogenen Metastasierung und einem höherem Tumorstadium bei kolorektalen Karzinomen zu korrelieren (Takamura et al. 2004; Kwak et al. 2007), während bei anderen Tumorentitäten der gegenteilige Fall (Zheng et al. 2021; Fan et al. 2011; Ding et al. 2009; Kmeid et al. 2021; Lee et al. 2017; Huang et al. 2012) zu zutreffen scheint. Studien konnten zeigen, dass CDH17 potenziell mehrere Interaktionspartner hat, die bei der Onkogenese eine Rolle spielen könnten. So konnten Arbeiten zeigen, dass CDH17 den NF- κ B-Pathway aktiviert, über welchen es die MMP2 und MMP9-Expression bei Magenkarzinomen beeinflusst und mit einer stärkeren Anzahl von Blut- sowie Lymphgefäßen korreliert (Wang et al. 2013; Jiang et al. 2019). Eine Suppression von CDH17 hingegen hatte dann eine Suppression der Proliferation, Migration und Invasion von Magenkarzinomen zur Folge (Jiang et al. 2019). Bei kolorektalen Karzinomen konnte man wiederum eine Interaktion mit verschiedenen Catenin wie α -, β -, und p120-Catenin nachweisen (Bartolomé et al. 2014a; Bartolomé et al. 2014b). Ein weiterer kritischer Interaktionspartner scheint α 2 β 1 Integrin zu sein, da die Interaktion mit diesem bei Zelllinien von kolorektalen Metastasen mit einer verstärkten Adhäsion und stärkeren Proliferation verbunden war (Bartolomé et al. 2014a; Bartolomé et al. 2014b). Über das sogenannte RGD-Motiv kann CDH17 nämlich diesen binden und eine pro-metastastische Wirkung entfalten (Bartolomé et al. 2014a; Bartolomé et al. 2014b). Eine Arbeit konnte zeigen, dass kolorektale Lebermetastasen eine verstärkte Koexpression von CDH17 und α 2 β 1 Integrin aufweisen und ebenfalls den Schluss einer Prometastatischen Wirkung auf Grundlage dieser Interaktion nahelegen (Yoshimura et al. 2009). Abbildung 7 zeigt eine Übersicht über potenzielle Interaktionspartner für CDH17.

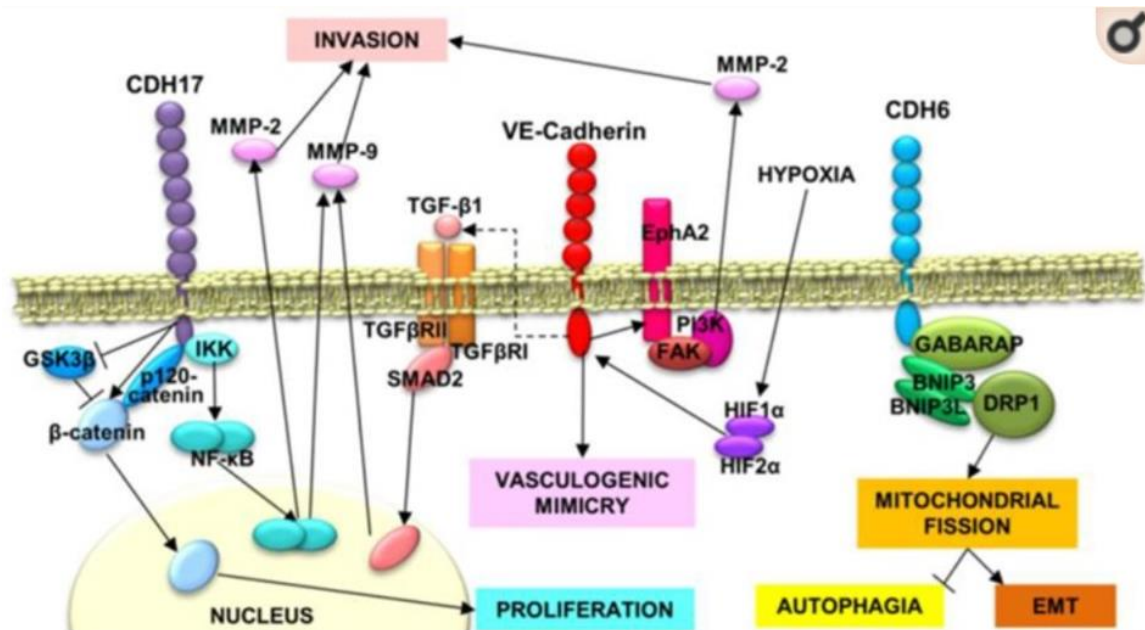


Abbildung 7: Mögliche Pathophysiologie und Interaktionspartner von CDH17, die die Entstehung von Tumoren und Metastasen begünstigen könnten. Quelle der Abbildung: (Casal und Bartolomé 2018).

1.7 Potential von CDH17 in Diagnostik und Therapie

Das diagnostische Potential von CDH17 in der Diagnostik scheint sich vor allem in der Diskriminierung von Metastasen kolorektaler Karzinome von Metastasen anderen Ursprungs oder von Primärtumoren anderer Organe zu zeigen. So konnte Vangala im Jahre 2014 entdecken, dass Metastasen, die aus CDH17 positiven kolorektalen Karzinomen entstammen, CDH17 weiterhin exprimieren. In seiner Arbeit waren 95% aller untersuchten primären kolorektalen Karzinome, über 85% aller kolorektalen Lungenmetastasen sowie 100% der kolorektalen Lebermetastasen Li-Cadherin positiv. Im Vergleich dazu exprimierten nur 7,4% der Lungenadenokarzinome und keines der hepatozellulären Karzinome CDH17. Für die Unterscheidung von kolorektalen Lungenmetastasen und Lungenadenokarzinomen anhand der Li-Cadherinexpression ergab sich hierbei eine Sensitivität von 88,9% und eine Spezifität von 92,6% (Vangala 2014).

Auch andere Studien fanden, dass CDH17 ein guter Marker für Adenokarzinome des Verdauungssystems ist (Su et al. 2008) und sensitiver für diese ist als CDX2 (Panarelli et al. 2012). Im Panel mit CDX2 und GPA33 ist es besonders hilfreich bei der Identifizierung von Patienten mit einer guten Prognose beim Magenkarzinom (Lopes et al. 2020). Außerdem scheint CDH17 bei Magenkarzinomen ein sensitiverer Marker zu sein als CK20 und CDX2 (Altree-Tacha et al. 2017). Beim

duktalen Pankreaskarzinom wurde es bereits von Kuhlmann et al. als relevanter Marker validiert (Kuhlmann et al. 2017) und Zheng et al. konnte zeigen, dass CDH17 beim cholangiozellulären Karzinom besser dafür geeignet sein könnte, die Überlebenszeit zu antizipieren als CA-19-9 (Zheng et al. 2021). Ein anderes Gebiet, wo CDH17 diagnostisches Potential zeigt, ist bei der Validierung von histologischen Subtypen von mit HPV assoziierten endozervikalen Adenokarzinomen. Gemeinsam mit PAX8 und CLDN18 als Panel erhöht es die diagnostische Präzision und den prognostischen Wert von histologischen Klassifikationen, welches vor allem bei der Identifikation des gastrischen Immunophänotyps vom Zervixkarzinom eine Rolle spielt (Asaka et al. 2020; Asaka et al. 2021).

Hinsichtlich des therapeutischen Potentials gibt es bereits Ansätze, in denen CDH17 eine Rolle spielen könnte. So ist die Aktivierung von TRAIL2 ein therapeutisches Konzept beim Kolonkarzinom, das aktuell untersucht wird. Es kann die Apoptose einleiten und Tumorwachstum inhibieren. Mithilfe eines tetravalenten bispezifischen Antikörpers, der sowohl TRAIL2 als auch CDH17 aktiviert, kann die Tumorprogression inhibiert werden. Dies funktioniert jedoch nur bei CDH17 positiven Tumorzellen. Bei CDH17 negativen Tumorzellen erreicht die Potenz nur ein Tausendstel davon (García-Martínez et al. 2021).

Ein weiterer Ansatz, bei welchem CDH17 relevant sein könnte, ist die photodynamische Therapie. So hat beispielsweise Lum et al. den Photosensitizer IR700 mit CDH17-Antikörpern konjugiert, damit dieser von CDH17 positiven Zelle aufgenommen werden kann, damit diese zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies anregen. Dies führt zum Zelltod von eben jenen Tumoren (Lum et al. 2020).

Ferner konnte die Arbeitsgruppe Liu et al. zeigen, dass eine Inhibition von L1-Cadherin die Wirkung von Cisplatin in Tumorzelllinien von Magenkarzinomen stark erhöht (Liu et al. 2018). Bei Pankreaskarzinomen konnte eine andere im nachfolgenden Jahr in vivo bei Mäusen und in vitro bei Tumor-Zelllinien nachgewiesen werden, dass eine Inhibition von CDH17 zu einer gesteigerten Caspase-3 Aktivität führt, was wiederum mit einem langsameren Tumorwachstum sowie einer längeren Überlebenszeit einherging (Liu et al. 2019b). Zusammenfassend kann man hier folglich anmerken, dass eine direkte Inhibition von CDH17 das Potential besitzt zum einen die Zytostatika-Sensitivität von Tumoren zu erhöhen und zum anderen auch direkt tumor-suppressiv zu wirken.

Das RGD-Motiv von CDH17 könnte ebenfalls ein relevantes Target für die Tumorthherapie in der Zukunft darstellen (Casal und Bartolomé 2019; Bartolomé et al. 2018). Über das RGD-Motiv können CDH17 und andere Cadherine $\alpha 2\beta 1$ -Integrin aktivieren (Bartolomé et al. 2014a), um Metastasen sowie Tumorwachstum zu begünstigen. Antikörper, die diese Interaktion blockieren, konnten bei Zelllinien von kolorektalen Karzinomen, Pankreas- und Mammakarzinomen sowie Melanomen, diese in ihrer Onkogenese stark einschränken (Bartolomé et al. 2018).

1.8 Zielsetzung

Die in der Literatur existierenden Daten zur Expression von CDH17 in Tumoren ist teilweise widersprüchlich. Unter Verwendung der Immunhistochemie haben verschiedene Autoren bisher 43 verschiedene Tumortypen untersucht. Die in den einzelnen Entitäten beobachteten CDH17 Positivitäten variieren aber teilweise erheblich. Beispielsweise variierte die Zahl der CDH17-positiven Fällen bei dukta- len Adenokarzinomen des Pankreas von 9%-100% (Ma et al. 2019; Panarelli et al. 2012), bei hepatozellulären Karzinomen von 0%-72% (Su et al. 2008; Wong et al. 2003), bei serösen Karzinomen des Ovars von 6%-76% (Altree-Tacha et al. 2017; Huang et al. 2012), bei endometrioiden Karzinomen des Ovars von 29%-89% (Altree-Tacha et al. 2017; Huang et al. 2012), bei Adenokarzinomen des Magen von 16%–93 % (Ge et al. 2008; Ota et al. 2021), bei Adenokarzinomen des Ösophagus von 39%-82% (Altree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012) und bei kolorek- talen Karzinomen von 74%-100% (Ma et al. 2019; Panarelli et al. 2012). Diese widersprüchlichen Daten sind sehr wahrscheinlich durch die verschiedene Ver- wendung unterschiedlicher Antikörper, verschiedener Färbeprotokolle und vonei- nander abweichenden Kriterien für die Definition CDH17-positiver Tumoren in den einzelnen Studien.

Um die Häufigkeit der CDH17 Expression in Tumoren und die mögliche diagnosti- sche Nützlichkeit der immunhistochemischen CDH17 Bestimmung besser verste- hen zu können, bedarf es einer Studie, bei der eine große Zahl von Tumoren ver- schiedener Tumorentitäten nach einem hoch standardisierten Verfahren analysiert werden. Um diese Forderung zu erfüllen, wurden in dieser Studie mehr als 14948 Tumorgewebeproben von 150 verschiedenen Tumortypen und Subtypen sowie 76 verschiedenen Kategorien von Normalgeweben immunhistochemisch in einem Tissue-Microarray-Format untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Tissue-Micro-Array-Technik

Die Tissue-Microarray (TMA) Methode ist ein 1998 erstmals beschriebenes Verfahren zur Optimierung von Gewebeuntersuchungen mittels in situ Methoden (Kononen et al. 1998). Das Verfahren ermöglicht die gleichzeitige Untersuchung von mehr als 600 Tumoren auf einem einzigen Objektträger (Simon und Sauter 2003). Tissue-Microarray-Blöcke enthalten zylindrische Gewebefragmente von interessierenden Geweben, wie beispielsweise Tumoren, welche in einer definierten Anordnung senkrecht in den Paraffinblock eingebracht wurden. Mit Mikrotomen können von diesen TMA-Blöcken Schnitte angefertigt werden, welche dann auf einen Objektträger gebracht werden. Mit der Färbung eines solchen Schnittes mit einer molekularen In-situ-Methode, wie beispielsweise Immunhistochemie, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder RNA-in-situ-Hybridisierung werden gleichzeitig 600 Fälle gefärbt, was zu einer massiven Beschleunigung von molekularen Gewebeuntersuchungen führt (Simon et al. 2004).

Die wesentlichste Limitierung der TMA-Methode ist der hohe Aufwand, der für die Herstellung der TMA-Blöcke erforderlich ist. Die Herstellung von TMA-Blöcken beinhaltet 5 wesentliche Arbeitsschritte. Diese sind die Identifikation von geeigneten Tumoren, die histologische Evaluation potenziell geeigneter Fälle, die TMA-Planung, die TMA-Herstellung und die Erstellung eines TMA-Datenfiles.

A. Identifikation von geeigneten Tumoren

Zur Identifikation potenziell geeigneter Tumoren müssen zunächst existierende Datenbanken durchforstet werden. Am UKE geschieht dies in der Regel durch eine Volltextsuche im Pathologieinformationssystem. Hier wird nach interessierenden Tumortypen gesucht. Die so gefundenen Fälle werden dann zunächst aufgrund der ursprünglichen Pathologieberichte auf Eignung überprüft. Als geeignet empfunden werden große Tumoren mit eindeutiger Diagnose und fehlenden Hinweisen auf ausgedehnte Tumornekrosen oder ausgedehnte regressive Tumorveränderungen nach Therapie. Ausgeschlossen werden zu diesem Zeitpunkt auch kleine Gewebeproben, welche zum Beispiel durch Stanzbiopsien oder Zangenbiopsien gewonnen wurden.

B. Histologische Evaluation potenziell geeigneter Fälle

Von den potenziell geeigneten Fällen werden alle Schnitte herausgesucht und von einem Pathologen auf Brauchbarkeit überprüft. Das Kriterium für den Einschluss eines Falles in eine TMA-Studie ist eine Tumorfläche von mindestens einem 1 cm² auf einem Schnitt. HE-Schnitte, welche diesem Kriterium gerecht werden, werden von einem Pathologen ausgewählt, welcher im Anschluss das stanzbare Tumorgewebe mit einem Filzstift markiert. Dabei wird das Tumorgewebe exakt an seiner Außengrenze umfahren. Von den so identifizierten Schnitten werden in der Folge die dazu gehörigen Paraffinblöcke aus einem anderen Archiv herausgesucht und von einer erfahrenen MTA auf Eignung für die TMA-Herstellung überprüft. Kriterium für die Eignung ist eine Blockdicke/-tiefe von mindestens 2mm. Die Verwendung möglichst dicker Gewebeblöcke ist wichtig, weil die Blockdicke die Länge der entnommenen Gewebezylinder definiert und damit einen Einfluss darauf hat, wie viele Gewebeschnitte von einem TMA-Block entnommen werden können mit einer brauchbaren Anzahl von darauf enthaltenen Gewebeproben.

C. TMA-Planung

Nachdem nun feststeht, von welchen als initial geeignete Kandidaten identifizierten Tumoren tatsächlich stanzbare Tumorblöcke vorliegen, wird festgelegt, an welcher Position jeder einzelne Tumor in dem TMA eingebracht werden soll. Die hierfür verwendete TMA-Organisation ist in allen TMA-Blöcken am UKE gleich. Die TMA-Blöcke bestehen aus sechs Sektoren, bezeichnet mit Großbuchstaben A-F. Diese Sektoren sind unterschiedlich groß und asymmetrisch angeordnet, um eine eindeutige Orientierung am TMA zu ermöglichen, auch dann, wenn der hergestellte Schnitt aus Versehen „verdreht“ auf dem dafür vorgesehenen Objektträger aufgebracht wurde. Die 9 Zeilen der Sektoren werden mit Zahlen von 1-9, die Spalten mit Kleinbuchstaben von a bis maximal r versehen. Abbildung 8 zeigt den Aufbau eines UKE-TMAs schematisch.

UKE-TMA

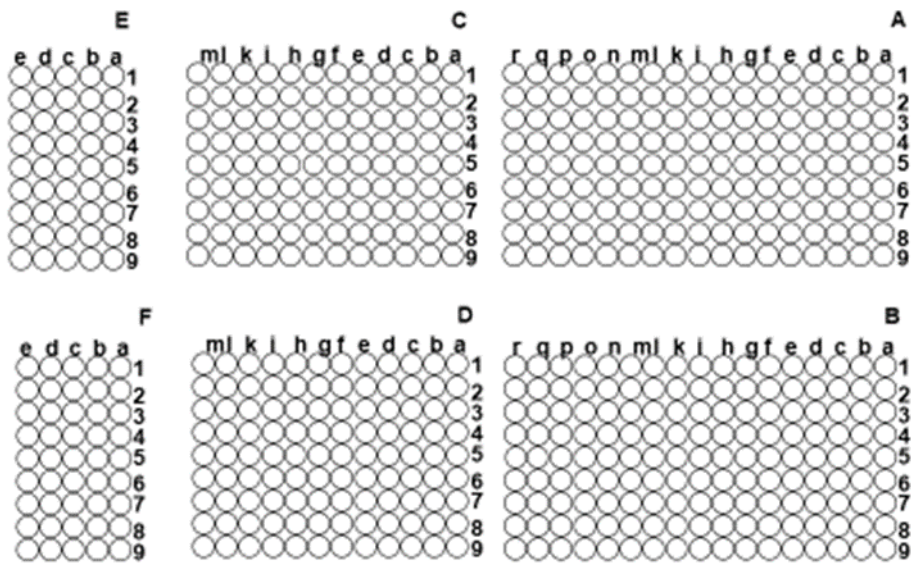


Abbildung 8: Schematischer Aufbau eines UKE-TMA.

Die für den TMA geeigneten Schnitte und Blöcke werden in der vorgesehenen Reihenfolge von A1a bis F9e sortiert und vor einem Tissue-Arrayer in Position gebracht.

D. TMA-Herstellung

Die Herstellung von UKE-TMA-Blöcken erfolgt durch einen von Mitarbeitern der Pathologie entwickelten halbautomatischen Gewebe-Arrayer (Martina und Christian Mirlacher). Die wesentlichen Elemente des Arrayers sind in den Abbildungen 9 bis 18 dargestellt.

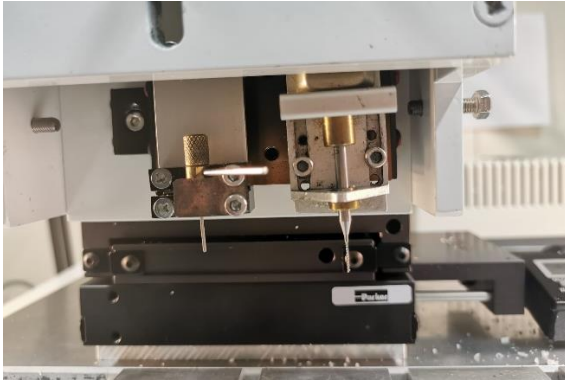


Abbildung 9: Stanz- und Bohreinrichtung.

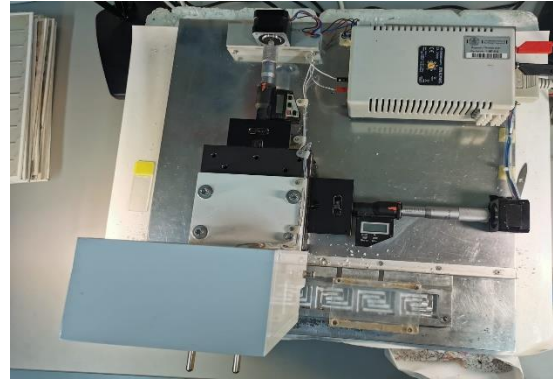


Abbildung 10: Übersicht über die Elektronik.



Abbildung 11: Elektrischer Schrittmotor.

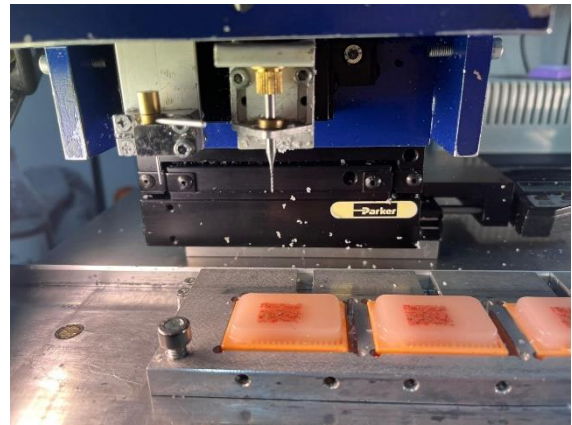


Abbildung 12: Einstellung des Geräts auf Bohrmodus.

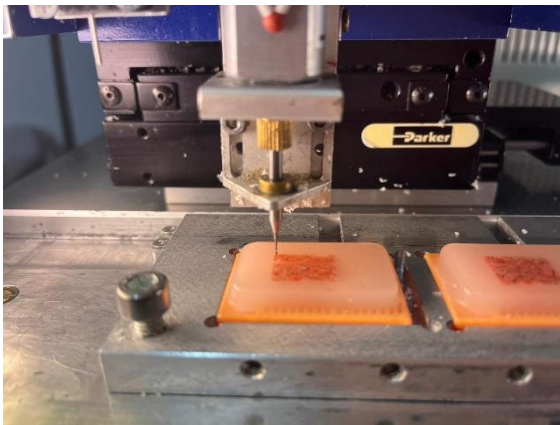


Abbildung 13: Im Empfängerblock wird ein Loch gebohrt.

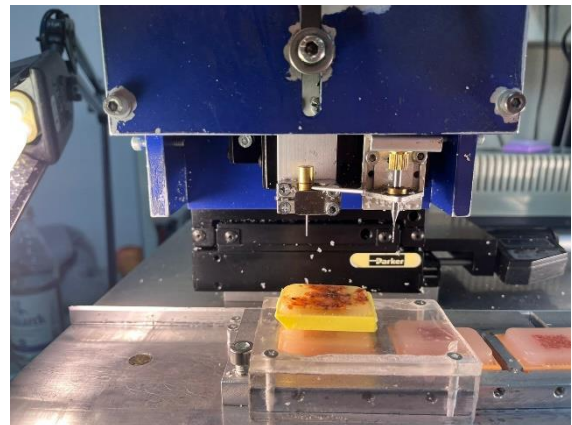


Abbildung 14: Wechsel zur Hohlzahn. Der Spenderblock wird auf einem Minipodest in unmittelbare Nähe zur Nadel gebracht.

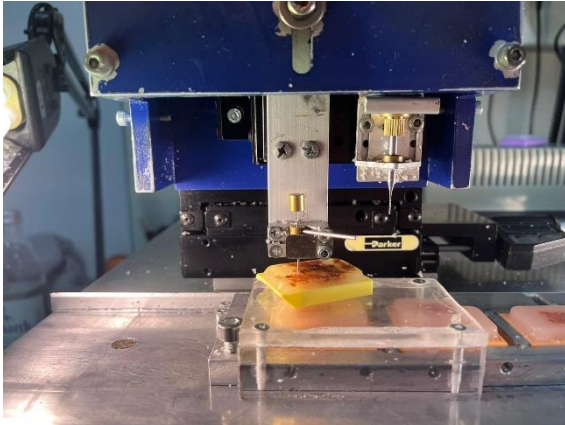


Abbildung 15: Vom Spenderblock wird Gewebe entnommen

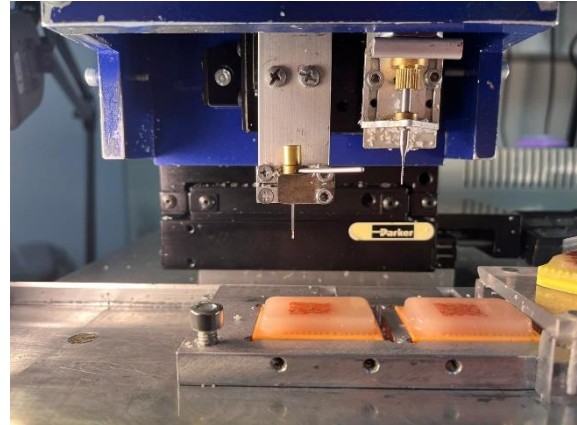


Abbildung 16: Wechsel zum Empfängerblock.

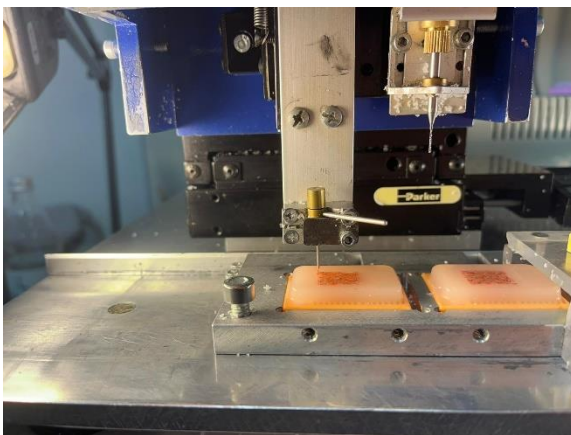


Abbildung 17: Ein Empfängerblock erhält das entnommene Gewebe.

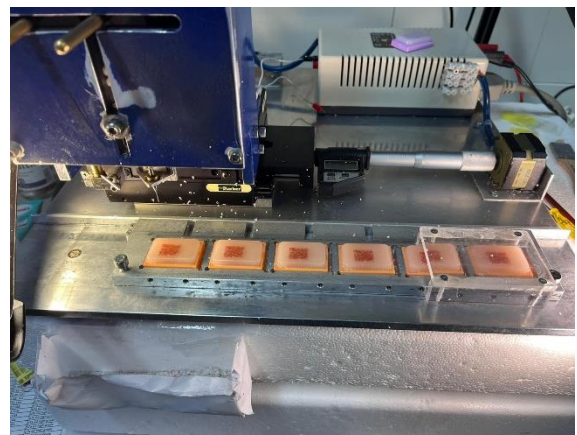


Abbildung 18: Zusätzlich erhalten 5 weitere Replikatempfängerblöcke das entnommene Gewebe.

Diese beinhalten eine Umschaltvorrichtung, welche es ermöglicht, an einer absolut identischen Position wahlweise entweder einen Bohrer (zur Herstellung von Löchern im TMA-Empfängerblock) oder eine Hohlzylinder (zur Entnahme von Gewebeylindern aus einem Spenderblock) zum Einsatz zu bringen, ein kleines Podest zum Schutz des TMA-Empfängerblocks während der Gewebeentnahme aus dem Spenderblock, einen Mehrfachblockhalter zur parallelen Herstellung von bis zu 6 Replikaten eines TMAs und einen elektrischen Schrittmotor, welcher die Stanz-/Bohreinrichtung automatisch von einer TMA-Position zur nächsten transportiert. Die TMA-Herstellung beginnt mit der Herstellung eines 0,6 mm messenden Loches im Empfängerparaffinblocks an Position A1a. Hierfür wird ein elektrischer Bohrer mit einem äußeren Durchmesser von 0,06 mm verwendet. Danach wird der Empfängerblock mit dem Podest abgedeckt und die Umschaltvorrichtung von Bohren auf Stanzen umgeschaltet. Mit einem Hohlzylinder mit einem inneren Durchmesser von 0,6 mm wird dann von dem auf dem Podest liegenden ersten

Spenderblock ein Gewebezylinder entnommen. Durch Abgleich der Blockoberfläche mit der Tumormarkierung auf dem korrespondierenden HE-Schnitt (Abbildung 19) wird es ermöglicht, den Tumor im Gewebekblock zu treffen.



Abbildung 19: Block und der dazugehörige Schnitt, bei dem die Tumoren mit einem Filzstift markiert worden sind.

Nach Entfernung vom Podest und Spenderblock wird das zylindrische Tumorge-webefragment in das vorgestanzte Loch in Position A1a eingebracht. Dabei wird für das Ausstoßen der Zylinder ein Stahldraht verwendet. Danach wird der Mehr-fachblockhalter auf Position 2 gebracht und es wird ein zweiter leerer Paraffinemp-fängerblock an Position A1a angebohrt. Anschließend wird unter Verwendung von Podest und Hohnadel aus dem gleichen Spenderblock ein weiterer Tumorzylinder entnommen. Dabei wird darauf geachtet, dass die Entnahmestelle in unmittelbarer Nachbarschaft der ersten Entnahmestelle liegt. Dies sorgt dafür, dass sich die Replikate eines TMA-Blocks im Falle heterogener Tumoren so wenig wie möglich voneinander unterscheiden. Der Prozess wird dann wiederholt, bis alle 6 Replikate des Mehrfachblockhalters gefüllt sind. Durch die Verwendung eines zweiten Mehr-fachblockhalters könnten gleichzeitig 7-12 Replikate hergestellt werden. Sind alle Replikate aufgefüllt, wird der elektrische Schrittmotor betätigt und die Stanz-/Bohreinrichtung verschiebt sich auf Position A1b. Dann wird der gleiche Prozess, wie vorher beschrieben, durchgeführt und wiederholt, bis die gesamte Tumorserie abgearbeitet ist oder der TMA-Block an Position F9e vollständig aufgefüllt wurde.

E. TMA-Datenfile

Nach der Fertigstellung eines TMAs können die für die Herstellung benötigten Bi-opsienummern, welche für die Zuordnung von Schnitten zu ihren Blöcken unver-zichtbar sind, aus dem TMA-File entfernt werden. Dies ist deswegen notwendig, da über diese Patientennummern, wenn es einem Hacker gelänge in das Patholo-gieinformatiksystem einzudringen, die Klarnamen der Patienten einzusehen wä-ren. Unter allen verfügbaren histopathologischen und molekularen Daten sowie Verlaufsdaten, mit denen Gewebeproben über die individuelle TMA-Koordinate

verbunden sind, wird die Biopsienummer auch nicht mehr benötigt. So kann durch Ausblendung der Blockidentifikationsnummer eine Pseudoanonymisierung oder durch permanente Löschung sogar eine Anonymisierung erzielt werden. Tabelle 2 zeigt einen Ausschnitt aus einem so hergestellten TMA-File.

Tabelle 2: Prinzipieller Aufbau eines TMA-Datenfiles. Hier in diesem Beispiel handelt es sich um den TMA COL.11.2A. Namen sind bereits rausgelöscht worden (Anonymisierung)

Array Name	Koordinate	Alter bei Entnahme	Geschlecht	Tumorentität	pT	pN	pM	L	R
COL11.2 A	A5b	79	F	Colon-CA (A-denokarzinome)	3	2	0	1	0
COL11.2 A	A5c	80	F	Colon-CA (A-denokarzinome)	2	2	0	1	0
COL11.2 A	A5d	54	F	Colon-CA (A-denokarzinome)	4	2	1	1	0
COL11.2 A	A5e	49	M	Colon-CA (A-denokarzinome)	3	2	0	1	0

2.2 TMAs für die Cadherin 17-Studie

Für die Cadherin 17-Studie wurde ein Normalgewebe-TMA und ein Set von mehreren Tumorgewebe-TMAs verwendet. Der Normalgewebe-TMA enthielt insgesamt 608 Normalgewebeproben, wobei jeweils 8 Proben von 76 verschiedenen Gewebekategorien vorlagen. Alle 8 Gruppen einer Gewebekategorie stammten

von unterschiedlichen Individuen. Die Zusammensetzung des Normalgewebe-TMAs ist in Tabelle 3 gezeigt

Tabelle 3: Zusammensetzung vom Normalgewebe-TMA.

Reihenfolge	Organ	Reihenfolge	Organ
1	Endothel, Aorta	39	Rektum, Mukosa
2	Media, Aorta	40	Gallenblase, Epithel
3	Herz	41	Leber
4	Muskulatur, quergestreift	42	Pankreas
5	Zunge, Muskulatur	43	Parotis
6	Uterus, Myometrium	44	Glandula submandibularis
7	Appendix, Muskel	45	Glandula sublingualis
8	Ösophagus, Muskel	46	Knochenmark
9	Magen, Muskel	47	Duodenum, Gll. duodenales
10	Ileum, Muskel	48	Niere, Kortex
11	Colon descendens, Muskel	49	Niere, Mark
12	Nierenbecken, Muskel	50	Prostata
13	Harnblase, Muskel	51	Gll. vesiculosa
14	Penis, Corpus spongiosum	52	Epididymis
15	Ovar, Stroma	53	Hoden
16	Fett	54	Bronchus, Mukosa
17	Haut	55	Bronchus, Drüsen
18	Haut, Haarfollikel und Talgdrüse	56	Sinus paranasales
19	Lippe, orale Mukosa	57	Lunge
20	Mundhöhle	58	Brust
21	Tonsille, Oberflächenepithel	59	Endozervix
22	Analkanal, Haut	60	Endometrium, Proliferation
23	Analkanal, Übergang Mukosa	61	Endometrium, Sekretion
24	Ektozervix	62	Eileiter, Mukosa
25	Ösophagus, Plattenepithel	63	Plazenta frühe, Dezidua
26	Urothel (Nierenbecken)	64	Ovar, Corpus Luteum
27	Urothel (Harnblase)	65	Ovar, folliculäre Zyste
28	Reife Plazenta, Amnion	66	Frühe Plazenta
29	Lymphknoten	67	Reife Plazenta
30	Milz	68	Nebenniere
31	Thymus	69	Nebenschilddrüse
32	Tonsille	70	Schilddrüse
33	Magen, Antrum	71	Cerebellum, Cortex (Stratum moleculare)
34	Magen, Corpus	72	Cerebellum, Substantia grisea
35	Duodenum, Mukosa	73	Cerebrum, grau
36	Ileum, Mukosa	74	Cerebrum, weiß
37	Appendix, Mukosa	75	Hypophyse, Hinterlappen, Infundibulum
38	Colon descendens, Mukosa	76	Hypophyse, Vorderlappen

Das Tumor-TMA Patientenkollektiv bestand aus 18131 Tumoren von insgesamt 150 verschiedenen Tumortypen oder Subtypen. Die genaue Zusammensetzung des Tumor-TMAs ist in Tabelle 4 dargestellt. Detaillierte Angaben zur histopathologischen und molekularen Parametern lagen von 2351 Kolonkarzinomen, 598 Pankreaskarzinomen und 327 Magenkarzinomen vor. Bei der Mehrzahl der unter-

suchten Tumoren lagen aus früheren Studien außerdem auch Daten zur Expression von Zytokeratin-20 und SATB2 vor (Dum et al. 2022a; Dum et al. 2022b).

Tabelle 4 Genaue Zusammensetzung der Tumor-TMAs

Tumorgruppe	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)
Tumoren der Haut	Pilomatrixom	35
	Basalzellkarzinom	88
	Benigner Nävus	29
	Plattenepithelkarzinom der Haut	90
	Malignes Melanom	46
	Malignes Melanom mit Lymphknotenmetastasierung	86
	Merkelzellkarzinom	46
Tumoren des Kopfs und des Nackens	Plattenepithelkarzinom des Larynx	109
	Plattenepithelkarzinom des Pharynx	60
	Orales Plattenepithelkarzinom des Mundboden	130
	Pleomorphes Adenom der Parotisdrüse	50
	Warhintumor der Parotis	104
	Adenokarzinom, NOS (Papilläres Zystadenokarzinom)	14
	Speicheldrüsenkarzinom des Ausführungsgangs	15
	Azinuszellkarzinom der Speicheldrüse	181
	Adenokarzinom NOS der Speicheldrüse	109
	Adenoides zystisches Karzinom der Speicheldrüse	180
	Basalzelladenokarzinom der Speicheldrüse	25
	Basalzelladenom der Speicheldrüse	101
	Epitheliales-myoeitheliales Karzinom der Speicheldrüse	53
	Mucoepidermoides Karzinom der Speicheldrüse	343
	Myoeitheliales Karzinom der Speicheldrüse	21
	Myoeitheliom der Speicheldrüse	11
	Onkozytäres Karzinom der Speicheldrüse	12

	Polymorphes Adenokarzinom, low grade (Speicheldrüse)	41
	Pleomorphes Adenom der Speicheldrüse	53
Tumoren der Lunge, der Pleura und des Thymus	Adenokarzinom der Lunge	246
	Plattenepithelkarzinom der Lunge	130
	Kleinzelliges Karzinom der Lunge	20
	Epitheloides Mesotheliom	39
	Mesotheliom, sonstige	76
	Thymom	29
Tumoren des weiblichen Genitaltrakts	Plattenepithelkarzinom der Vagina	78
	Plattenepithelkarzinom der Vulva	130
	Plattenepithelkarzinom der Zervix	128
	Adenokarzinom der Zervix	21
	Endometrioides Endometriumkarzinom	236
	Seröses Endometriumkarzinom	82
	Karzinom des Uterus	48
	Endometriumkarzinom, high grade, G3	13
	Klarzelliges Endometriumkarzinom	8
	Endometrioides Ovarialkarzinom	110
	Seröses Ovarialkarzinom	559
	Muzinöses Ovarialkarzinom	96
	Klarzelliges Ovarialkarzinom	50
	Karzinom des Ovars	47
	Granulosazelltumor des Ovars	37
	Leydigzelltumor des Ovars	4
	Sertolizelltumor des Ovars	1
	Sertoli-Leydigzelltumor des Ovars	3
	Steroidzelltumor des Ovars	3
	Brenner-Tumor	41
Tumoren der Brust	Invasives Mammakarzinom (NST)	545
	Lobuläres Mammakarzinom	193
	Medulläres Mammakarzinom	23
	Tubuläres Mammakarzinom	20
	Muzinöses Mammakarzinom	29
	Phylloider Brusttumor	50

Tumoren des Verdauungstrakts	Adenomatöser Polyp, low-grade Dysplasie	50
	Adenomatöser Polyp, high-grade Dysplasie	50
	Adenokarzinom des Kolons	2532
	Adenokarzinom des Magens, diffuser Typ	226
	Adenokarzinom des Magens, intestinaler Typ	224
	Adenokarzinom des Magens, gemischter Typ	62
	Adenokarzinom des Ösophagus	133
	Plattenepithelkarzinom des Ösophagus	125
	Plattenepithelkarzinom des Analkanals	89
	Cholangiozelluläres Karzinom	50
	Adenokarzinom der Gallenblase	31
	Klatskintumor der Gallenblase	41
	Hepatozelluläres Karzinom	300
	Duktales Adenokarzinom des Pankreas	662
	Pankreatisch ampulläres Karzinom	119
	Azinuszellkarzinom des Pankreas	16
	Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	50
	Tumoren der Harnwege	Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 low grade
Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 high grade		141
Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G3		219
Urothelkarzinom, pT2-4 G3		1318
Plattenepithelkarzinom der Blase		22
Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Blase		23
Sarkomatoides Urothelkarzinom		25
Urothelkarzinom (Nierenbecken)		62
Klarzelliges Nierenzellkarzinom		1287
Papilläres Nierenzellkarzinom		368
Klarzelliges (tubuläres) papilläres Nierenzellkarzinom		26
Chromophobes Nierenzellkarzinom		170
Onkozytom		257

Tumoren der männlichen Genitalorgane	Adenokarzinom der Prostata, Gleason 3+3	83
	Adenokarzinom der Prostata, Gleason 4+4	80
	Adenokarzinom der Prostata, Gleason 5+5	85
	Adenokarzinom der Prostata (Rekurrenz)	258
	Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Prostata	19
	Seminom	621
	Embryonales Karzinom des Hodens	50
	Leydigzelltumor des Hodens	30
	Sertolizelltumor des Hodens	2
	Keimstrang-Stromatumor des Hodens	1
	Spermatozytischer Tumor des Hodens	1
	Dottersacktumor	50
	Teratom	50
	Plattenepithelkarzinom des Penis	80
Tumoren der endokrinen Organe und neuroendokrine Tumoren/Karzinome	Schilddrüsenadenom	113
	Papilläres Schilddrüsenkarzinom	391
	Follikuläres Schilddrüsenkarzinom	154
	Medulläres Schilddrüsenkarzinom	111
	Nebenschilddrüsenadenom	43
	Anaplastisches Schilddrüsenkarzinom	45
	Nebennierenadenom	50
	Nebennierenkarzinom	26
	Phaeochromocytom	50
	Appendix, neuroendokriner Tumor (NET)	22
	Kolorektum, neuroendokriner Tumor (NET)	12
	Ileum, neuroendokriner Tumor (NET)	49
	Lunge, neuroendokriner Tumor (NET)	19
	Pankreas, neuroendokriner Tumor (NET)	97
	Kolon/Rektum, neuroendokrines Karzinom (NEC)	12
	Gallenblase, neuroendokrines Karzinom (NEC)	4
	Pankreas, neuroendokrines Karzinom (NEC)	14

Tumoren des hämatopoetischen und lymphatischen Systems	Hodgkin-Lymphom	103
	Kleines lymphatisches Lymphom, B-cell Typ (B-SLL/B-CLL)	50
	Diffuses großes B-Zell Lymphom (DLBCL)	113
	Follikuläres Lymphom	88
	T- Zell Non Hodgkin Lymphom	25
	Mantelzell-Lymphom	18
	Marginalzonen-Lymphom	16
	Diffuses großes B-Zell-Lymphom (DLBCL) im Hoden	16
	Burkitt-Lymphom	5
Tumoren des Weichteilgewebes und des Knochens	Tenosynoviales Riesenzelltumor	45
	Granularzelltumor	53
	Leiomyom	50
	Leiomyosarkom	87
	Liposarkom	132
	Maligner peripherer Nerven-scheidentumor (MPNST)	13
	Myofibrosarkom	26
	Angiosarkom	73
	Angiomyolipom	91
	Dermatofibrosarkom protuberans	21
	Ganglioneurom	14
	Kaposi-Sarkom	8
	Neurofibrom	117
	Sarkom, nicht weiter spezifiziert (NOS)	74
	Paragangliom	41
	Ewing Sarkom	23
	Rhabdomyosarkom	6
	Schwannom	121
	Synovialsarkom	12
	Osteosarkom	43
	Chondrosarkom	38
Rhabdoider Tumor	5	
Summe	18131	

2.3 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ist ein zentrales Verfahren der diagnostischen Pathologie. Es ermöglicht die Visualisierung von spezifischen Proteinen an Gewebeschnitten. Zu diesem Zweck kommen Antikörper zur Anwendung, welche für ein interessierendes Protein spezifisch sind. Diese Antikörper stammen in der Regel aus Laborieren, meist Maus, Kaninchen oder Ratte. Da die Antikörper farblos sind, kann eine erfolgreiche Bindung eines diagnostischen Antikörpers an sein Zielprotein nur indirekt nachgewiesen werden. Hierfür werden sogenannte Sekundärantikörper verwendet, welche aus einer anderen Tierspezies stammen und gegen den F_c -Teil von Antikörpern der Spezies gerichtet sind, die zu dem Primärantikörper passen. Diese Sekundärantikörper können auf verschiedene Weisen mit Detektionssystemen verbunden sein, welche eine Visualisierung der Antikörperbindung am Schnittpräparat erlauben und über verschiedene Verfahren auch eine erhebliche Verstärkung der Signale ermöglichen. Das Prinzip der Antigen-Antikörper-Bindung auf Gewebeschnitten ist in Abbildung 20 dargestellt. Verschiedene Konzepte für die Visualisierung und Amplifizierung von Antigen-Antikörper-Bindungen sind in den Abbildungen 21-27 dargestellt.

Hinsichtlich der Visualisierung und Amplifizierung gibt es verschiedene Konzepte. Im Wesentlichen unterscheidet man hierbei zwischen der direkten und indirekten Methode. Bei der direkten Methode (Abbildung 20) wird der für ein Zielantigen spezifische Primärantikörper direkt mit einem Enzym konjugiert, welches bei Substratgabe eine Farbreaktion auslöst (IHC Sample Visualization 2022). Als Enzyme kommen hierbei entweder alkalische Phosphatase oder Peroxidase in Frage (Hantschke und Palmedo 2015).

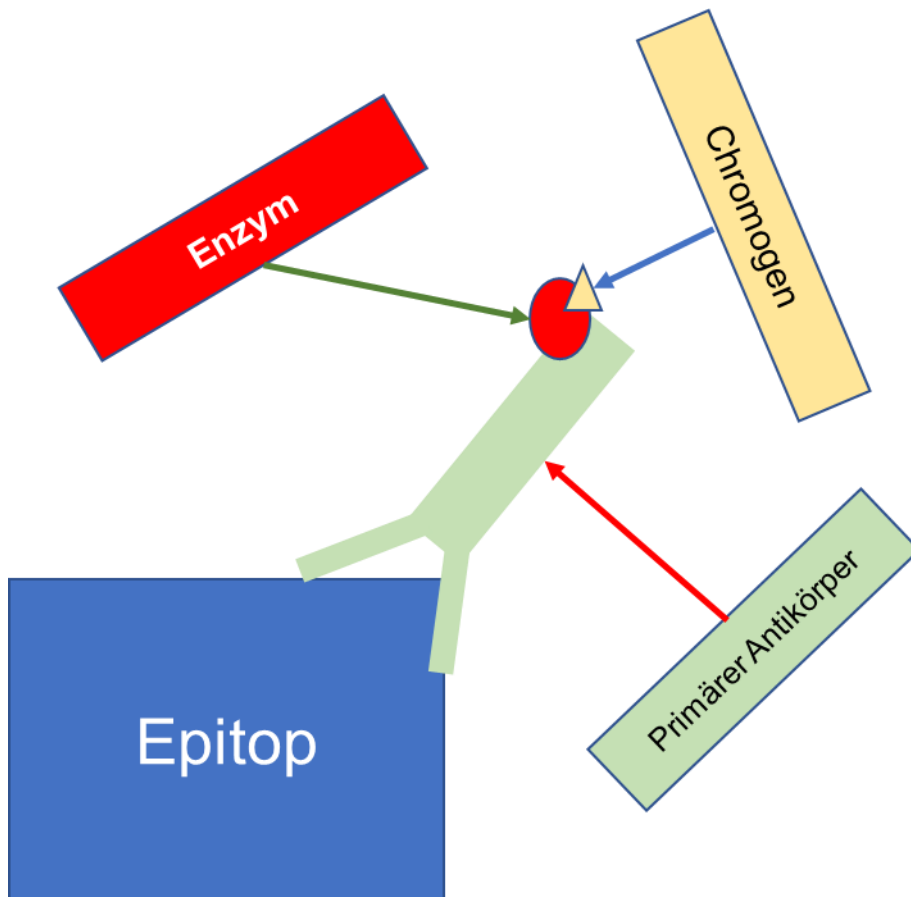


Abbildung 20: Direkte Methode zur Antikörpervisualisierung: Epitop wird vom Primärantikörper gebunden, der mit einem Enzym gekoppelt ist, das eine Farbreaktion katalysieren kann. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

Die zweite Möglichkeit, um Antigene zu visualisieren, ist die indirekte Methode (Abbildung 21), welche mehrere Unterformen hat. Bei der konventionellen Form sind die Farbenzyme nicht an dem Primärantikörper konjugiert, sondern an einem Sekundärantikörper, der den F_c-Teil des Primärantikörpers bindet (Hantschke und Palmedo 2015). Ein großer Vorteil der indirekten Methode gegenüber der konventionellen direkten Methode ist die höhere Sensitivität, da sich mehrere Sekundärantikörper an einen Primärantikörper binden können (Direct vs indirect immunofluorescence | Abcam 2022). Diese Sensitivität der indirekten Methode lässt sich sogar noch weiter verbessern durch die zusätzliche Gabe eines Tertiärantikörpers im Sinne einer doppelt indirekten Methode (Abbildung 22) (Hantschke und Palmedo 2015).

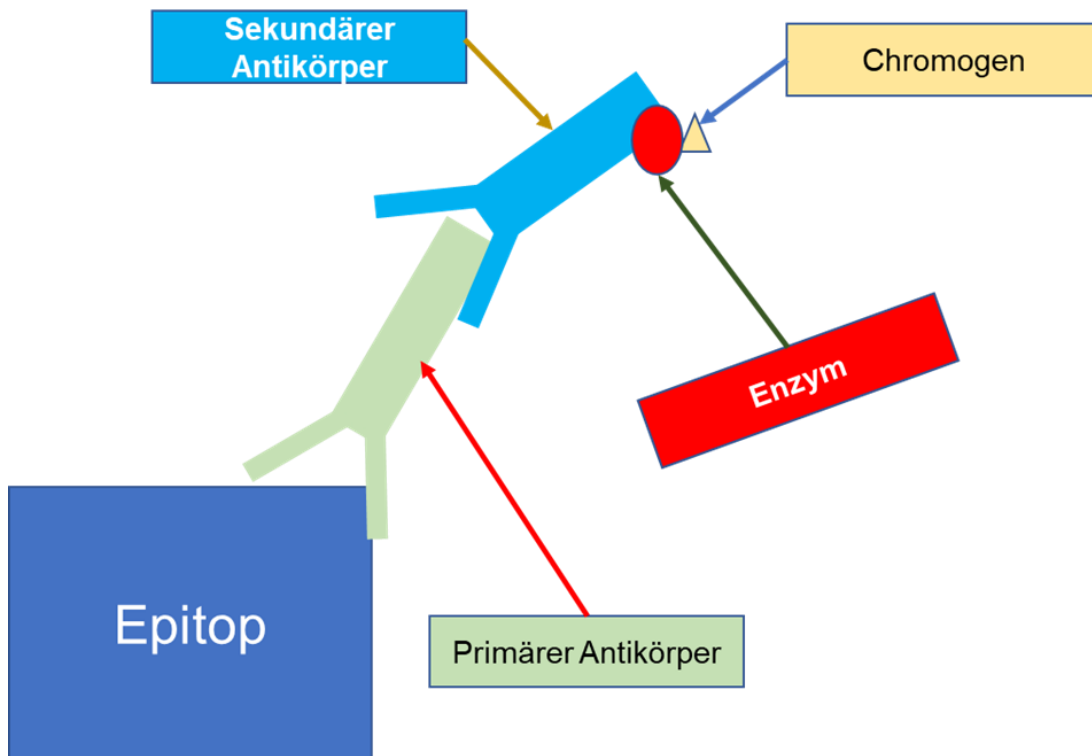


Abbildung 21; Indirekte Methode zur Antikörpervisualisierung: Primärantikörper wird von einem Sekundärantikörper gebunden. Anstelle des Primärantikörpers ist dieser mit dem Enzym konjugiert. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

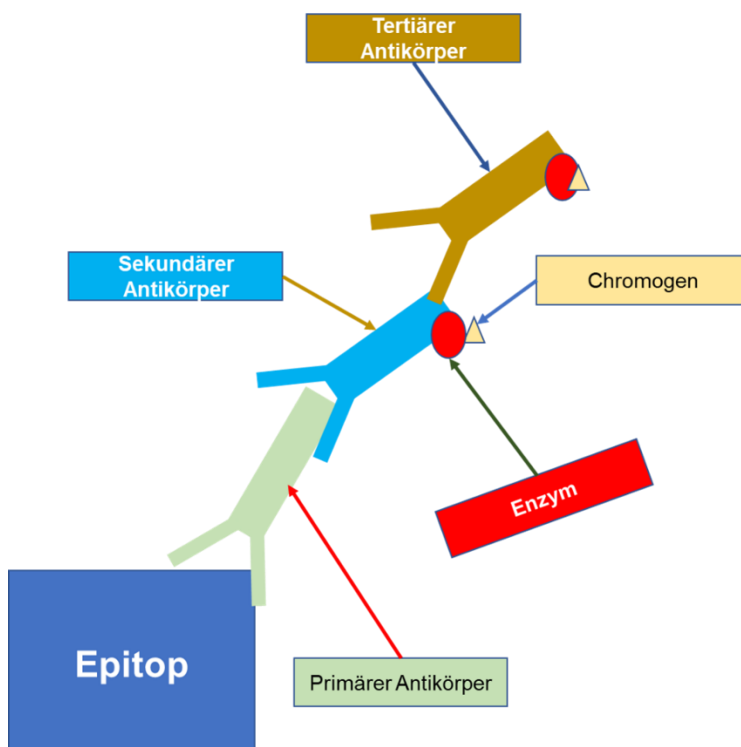


Abbildung 22: Doppelt indirekte Methode zur Antikörpervisualisierung: Zusätzliche Gabe eines tertiären Antikörpers. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

Ferner muss nicht jeder neue Primärantikörper zeit- und kostenaufwändig mit einem Farbenzym konjugiert werden, sondern man kann anstelle dessen standardi-

sierte Sekundärantikörper verwenden. Der Nachteil der indirekten Methode sind potenzielle unspezifische Kreuzreaktion sowie eine stärkere Hintergrundfärbung (Direct vs indirect immunofluorescence | Abcam 2022; Hantschke und Palmedo 2015).

Neben den konventionellen Formen der direkten sowie der indirekten Methode existieren noch weitere Unterformen. So kann man beispielsweise bei der indirekten Form biotinylierte Sekundärantikörper verwenden, die mit einer hohen Bindungsaffinität Avidin-Biotin-Enzymkomplexe (Abbildung 23) oder Streptavidin-Enzymkomplexe (Abbildung 24) (Hantschke und Palmedo 2015). Vorteile dieser Variation sind die vergleichsweise sehr einfache Produktion von biotinylierten Sekundärantikörpern, die bis zu 150 Biotinmoleküle tragen können, sowie die bei dieser Methode erzielten hohen Signalwerte (Hantschke und Palmedo 2015).

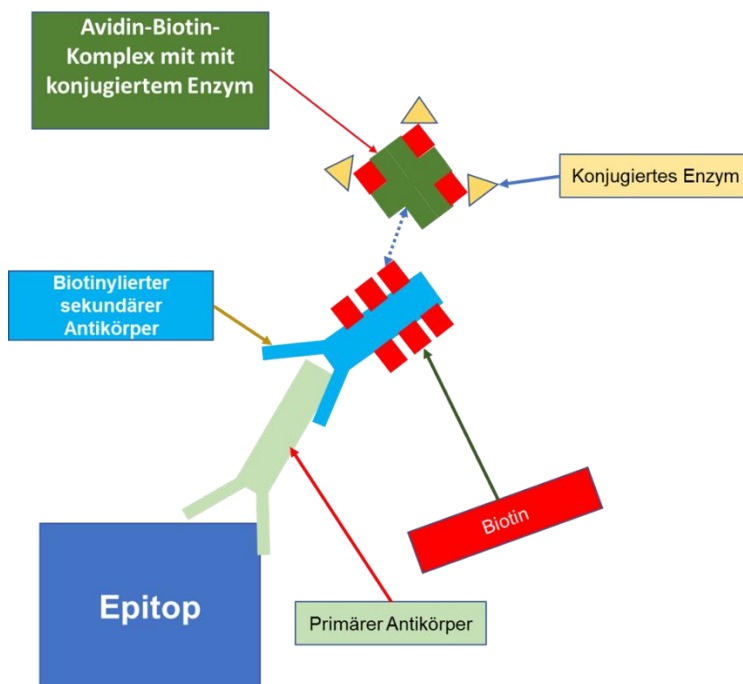


Abbildung 23; Avidin-Biotin-Methode zur Antikörpervisualisierung: Bindung eines Komplexes aus Avidin, Biotin und Enzymen an einen biotinylierten Sekundärantikörper. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

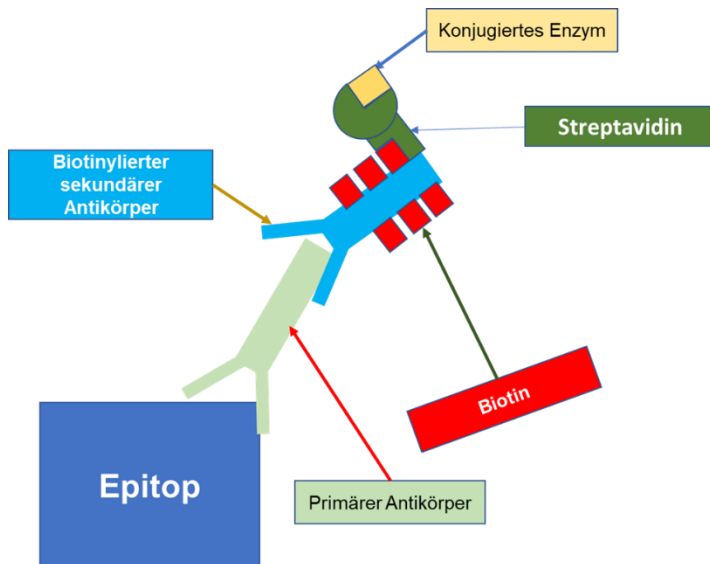


Abbildung 24: Streptavidin-Methode zur Antikörpervisualisierung: Bindung eines Streptavidin-Enzym-Komplexes an einen biotinylierten Sekundärantikörper. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

Weitere alternative Verfahren sind die EPOS-Methode und die PAP bzw. APAAP-Methode. Bei der EPOS-Methode (Abbildung 25), auch Enhanced-Polymer-One-Step-Staining genannt, wird von sogenannten Dextranpolymeren Gebrauch gemacht (Hantschke und Palmedo 2015). Diese kettenartigen Makromoleküle sind mit zahlreichen Farbenzymen und Primärantikörpern konjugiert. Da diese Polymere das Antigen direkt binden, gehört dieses Verfahren zu den direkten Visualisierungsverfahren. Jedoch ist es auch hier möglich die Polymere mit Sekundärantikörpern anstelle von Primärantikörpern zu konjugieren (Abbildung 26) (Hantschke und Palmedo 2015).

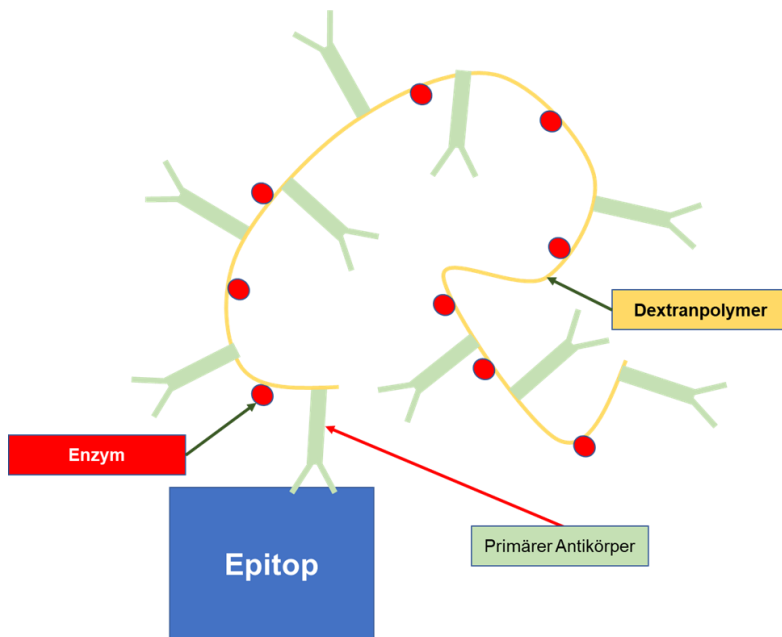


Abbildung 25: EPOS-Methode zur Antikörpervisualisierung: Nutzung von Dextranpolymeren, die mit Primärantikörpern und Enzymen konjugiert sind. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

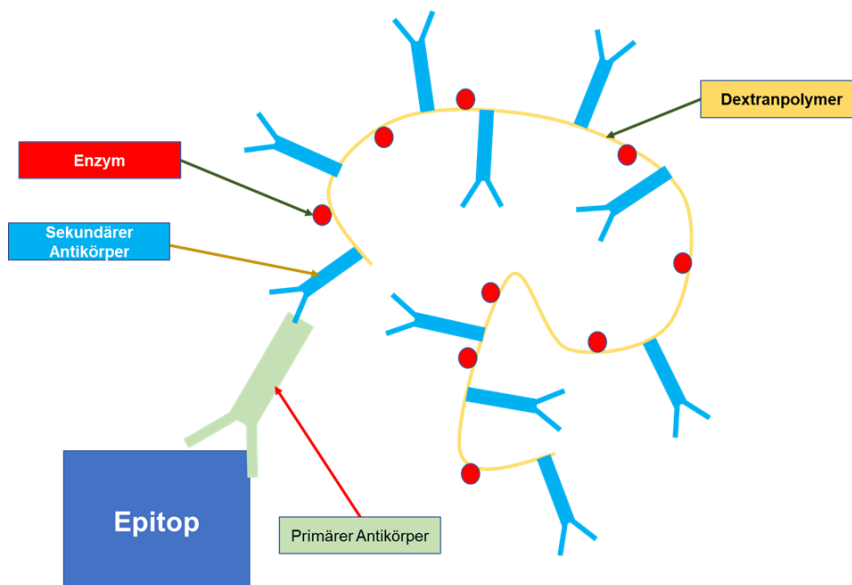


Abbildung 26: Variation der EPOS-Methode zur Antikörpervisualisierung: Nutzung von Dextranpolymeren, die anstelle von Primärantikörpern mit Sekundärantikörpern konjugiert sind. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

Die andere Methode, die PAP- bzw. APAAP-Methode (Abbildung 27), beinhaltet wiederum die Nutzung von sogenannten Enzym-Antikörper-Komplexen, die über einen Brückenantikörper mit dem Primärantikörper verbunden sind (Hantschke und Palmedo 2015). Der Brückenantikörper bindet über seinen F_{ab} -Teil den F_c -Teil von dem Primärantikörper und dem Antikörper, der mit dem Farbenzym einen Komplex bildet (Hantschke und Palmedo 2015). Damit dies möglich sein kann, ist

es wichtig, dass sowohl die komplexbildenden Antikörper als auch die Primärantikörper aus derselben Spezies stammen. Bezüglich der Namensgebung der Methode ist hierbei zu erwähnen, dass man je nachdem, ob der Enzym-Antikörperkomplex Peroxidase oder Alkalische Phosphatase enthält, von der PAP(Peroxidase-Anti-Peroxidase) - oder APAAP(Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase) -Methode spricht (Hantschke und Palmedo 2015).

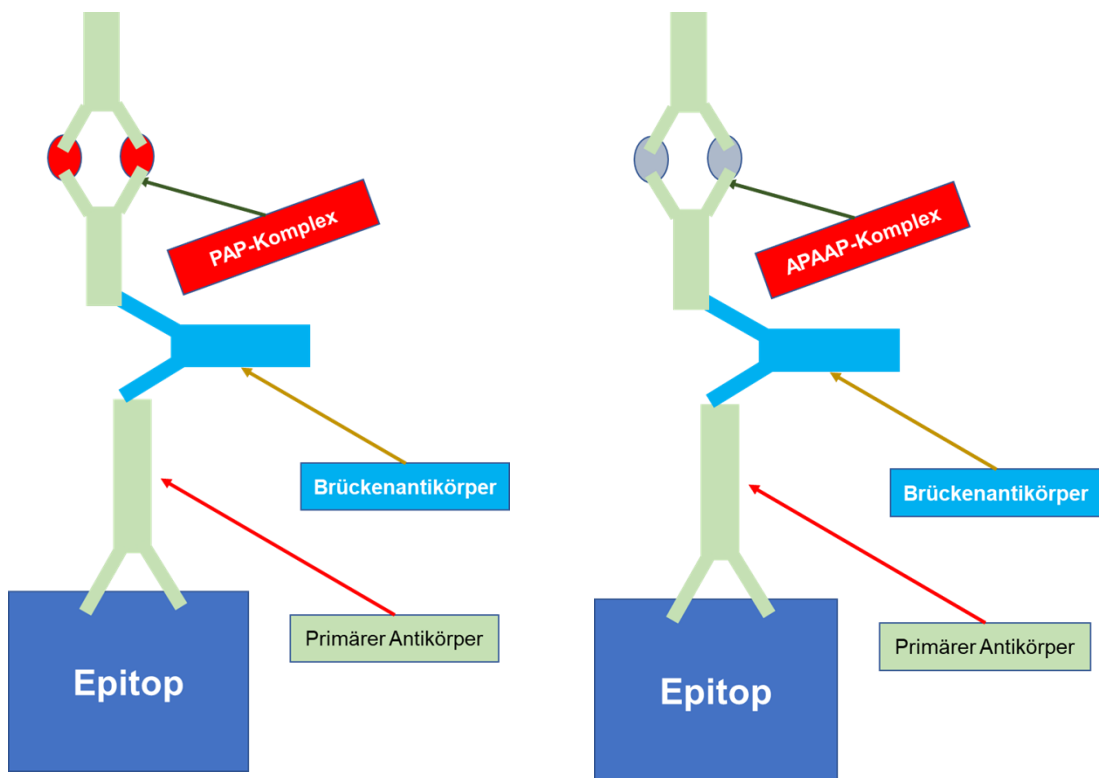


Abbildung 27: PAP / APAAP-Methode zur Antikörpervisualisierung: Bindung eines solchen Komplexes einen Primärantikörper über einen sogenannten Brückenantikörper. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

Das Prinzip der Immunhistochemie erscheint einfach und nachvollziehbar, doch ist die Methode in der klinischen Routine und im Forschungsalltag mit zwei substantiellen Problemen behaftet. Diese sind:

Erstens: Die verfügbaren Antikörper gegen ein Zielprotein reflektieren die gesamte Bandbreite einer physiologischen Immunreaktion und da jedes Versuchstier nach Beimpfung mit einem diagnostisch relevanten Protein tausende verschiedene Antikörper gegen das gleiche Protein herstellt, gibt es zwischen Antikörpern verschiedener Anbieter gegen ein bestimmtes interessierendes Zielprotein praktisch immer signifikante Unterschiede. Die Unterschiede betreffen die Spezifität der Antigen-Antikörper-Bindung, die Signal-to-noise-Ratio, die Tendenz unspezifischen Hintergrund zu bilden und die für den Antikörper optimalen Färbeprotokolle. Fär-

bungen, die mit zwei verschiedenen Antikörpern in zwei unterschiedlichen Laboren erzielt wurden, sind deswegen kaum miteinander vergleichbar.

Zweitens: Die Zielproteine einer immunhistochemischen Färbung sind in der diagnostischen Pathologie praktisch immer formalinfixiert. Die Formalinfixierung führt zu einem Crosslinking (Vernetzung) von Proteinen untereinander und mit DNA-Strukturen (Hoffman et al. 2015). Aus diesem Grund können im nativen Zustand normalerweise zugängliche Epitope vernetzt und damit nicht mehr zugänglich gemacht werden (Werner et al. 2000). Es entstehen auch neue Epitope, welche Ursache einer Kreuzreaktion sein können. Das Verfahren der hitzeinduzierten Epitop-Demaskierung (Heat induced epitope retrieval, HIER) stellt ein Verfahren zur Verfügung, welches dieses Crosslinking zumindest teilweise aufhebt und für viele Antikörper eine immunhistochemische Färbung formalinfixierter Gewebeschnitte ermöglicht (Ezaki 1996). Da aber nicht davon ausgegangen werden kann, dass die Proteine, welche zuerst formalinfixiert sind und dann im Rahmen der Epitop-Demaskierung bei 120 Grad Celsius gekocht werden, sich gleich verhalten wie unfixierte Proteine, müssen Antikörper für die Immunhistochemie speziell validiert werden. Die internationale Arbeitsgruppe für die Antikörpervalidierung (IWGAV) vertritt die Ansicht, dass eine derartige Validierung nur durch zwei Methoden möglich sei, entweder durch den Vergleich der Immunhistochemiebefunde mit Expressionsdaten, die durch eine andere Methode erhoben wurden oder aber durch den Vergleich der Färbeergebnisse mit den Färbeergebnissen eines zweiten unabhängigen Antikörpers (Uhlen et al. 2016).

2.4 Immunhistochemische Färbung

Der erste Schritt des immunhistochemischen Färbeprotokolls ist die Vorbereitung. Bei dieser werden die Schnitte zunächst mit Xylol entparaffiniert, bevor sie anschließend rehydriert werden mit einer absteigenden Alkoholreihe bis hin zu destilliertem Wasser. Im nächsten Schritt werden im Rahmen der Vorbehandlung die Schnitte mit der Dako-Target Retrieval Solution (Agilent, CA, USA; #S2367) für 5 min bei 121°Grad Celsius autoklaviert. Im Anschluss werden die Schnitte zweimal mit destilliertem Wasser und einmal für 5 min mit TBS-T Puffer gespült. Die gespülten Schnitte werden danach im dritten Schritt in einer feuchten Kammer ausgelegt, wo dann die endogene Peroxidase-Aktivität mithilfe der Dako Peroxidase Blocking Solution (Agilent, CA, USA; #52023) für 10 Minuten blockiert wird, bevor erneut mit TBS-T Puffer in 3 Zyklen à 5min gespült wird. Im vierten Schritt wird der primäre Antikörper spezifisch für das CDH17 Protein (Maus, monoklonal, MSVA-517M, MS Validated Antibodies, Hamburg, Deutschland) in einer Verdünnung von 1 zu 150 gegeben und mit diesem werden die Schnitte für 60min bei einer Temperatur von 37° C inkubiert. Nach einem erneuten Spülvorgang mit TBS-T Puffer werden die gebundenen Antikörper mit dem the-EnVisionKit (Agilent, CA, USA; #K5007) visualisiert. Dieser Prozess wird bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt und nimmt 30min in Anspruch. Auf einen letzten Spülvorgang folgend werden die Schnitte dann mit Hämalaun gegengefärbt. Eine genaue tabellarische Darstellung des Färbeprotokolls ist in Tabelle 5 zu finden. Im Sinne der Antikörpervalidierung wurde der Normalgewebe-TMA zusätzlich mit dem Referenzantikörper EPR3996 vom Hersteller Abcam bei einer Verdünnung von 1:150 bei einem ansonsten gleichbleibenden Färbeprotokoll immunhistochemisch untersucht.

Tabelle 5: Tabellarische Darstellung des Färbeprotokolls

Vorbereitung der Objektträger	<ul style="list-style-type: none"> → Herstellung von 2,5 µm Schnitten → Schnitte über Nacht bei 60°C im Brutschrank → Entparaffinierung der Schnitte mit Xylol und bis zu destilliertem Wasser absteigender Alkoholreihe
Vorbehandlung	<ul style="list-style-type: none"> → Schnitte werden im entsprechenden TEC-Puffer (pH 7,8) für 5 Minuten bei 121°C autoklaviert → zweimaliges Spülen mit destilliertem Wasser → einmaliges Spülen mit TBS-T Puffer à 5 Min
Peroxidaseblock	<ul style="list-style-type: none"> → Schnitte in feuchter Kammer auslegen → Behandlung mit einer Peroxidase-Blocking-Solution (#S2023) RTU für 10 Minuten → dreimaliges Spülen mit TBS-T Puffer für 5 Minuten
Antikörperinkubation	<ul style="list-style-type: none"> → 1:150 verdünnter Primärantikörper (MSVA 517-M) bzw. 1:150 verdünnter Referenzantikörper ERP3996 zur Validierung wird gegeben; Inkubationsdauer: 60 Min bei 37°C → dreimaliges Spülen à 5 Minuten mit TBS-T Puffer → Inkubation mit Sekundärantikörper via EnVision mouse/rabbit (#K5007) → dreimaliges Spülen à 5 Minuten mit TBS-T Puffer
Visualisierung	<ul style="list-style-type: none"> → Behandlung mit DAB Chromogen (#5007) für 10min bei Raumtemperatur und anschließendem Spülen mit destilliertem Wasser → Gegenfärbung mit Hämatoxylin für 3 Minuten und anschließendem Bläuen mithilfe von Leitungswasser → Dehydrierung mit aufsteigender Alkoholreihe bis Xylol → Abschließendes Eindecken der behandelten Schnitte

Für Tumorgewebe wurde die Prozentzahl an Cadherin 17 positiven Zellen geschätzt und die Färbeintensität semi-quantitativ erfasst (0, 1+, 2+, 3+). Für die statistische Analyse wurden die Färberesultate in 4 Gruppen kategorisiert: Negativ: Keine Färbung; schwach: Färbeintensität 1+ in $\leq 70\%$ aller Zellen oder Färbeintensität von 2+ in $\leq 30\%$ aller Tumorzellen, mäßig: Färbeintensität von 1+ in $>70\%$ aller Tumorzellen, Färbeintensität von 2+ in $> 30\%$ aber in $\leq 70\%$ aller Zellen oder Färbeintensität von 3+ in $\leq 30\%$ aller Tumor Zellen; kräftig: Färbeintensität von 2+ in $> 70\%$ aller Zellen oder Färbeintensität von 3+ in $> 30\%$ aller Tumorzellen.

2.5 Statistik

Statistische Berechnungen wurden mit der JMP 16 Software (SAS Institut Inc. NC, USA) exekutiert. Kontingenztabellen und Chi Quadrat- Tests wurden mit der Fragestellung einer eventuellen signifikanten Assoziation zwischen einer CDH17-Anfärbung sowie dem Tumorphänotyp durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Technische Aspekte

Von 18131 Tumoren waren 14948 auswertbar (82,44 Prozent). Ursachen für nicht interpretierbare Gewebeproben waren entweder das Fehlen von Gewebematerial einzelner Tumoren auf den TMA-Schnitten oder aber das Fehlen von eindeutigen Tumorzellen in den Gewebespots. Von allen 76 Normalgewebekategorien waren mindestens vier Gewebeproben auswertbar, sodass alle Zelltypen dieser Gewebe bewertet werden konnten.

3.2 Cadherin 17 im Normalgewebe

Eine starke membranöse, vorwiegend basolaterale CDH17-Immunfärbung fand sich in allen epithelialen Zellen des Dünndarms, des Kolorektums und der Appendix. Eine mäßig starke CDH17-Färbung fand sich auch in oberflächlichen Epithelzellen des Übergangsepithels des Analkanals und der Gallenblase. Im Gegensatz dazu waren intrahepatische Gallengänge entweder CDH17-negativ oder wiesen lediglich eine schwache fokale Färbung auf. Eine kräftige CDH17-Anfärbung fand sich auch in den Epithelzellen der Ausführungsgänge des Pankreas, während die Schaltstücke („intercalated ducts“) CDH17-negativ waren. In einzelnen Fällen fand sich fokal eine membranöse CDH17 Anfärbung einzelner Endometriumdrüsen oder von einzelnen Endometriumzellen. Eine schwache bis mäßiggradige membranöse CDH17-Positivität fand sich auch in einzelnen inflammatorischen Zellen, welche einem Unterkollektiv dendritischen Zellen entsprechen dürfte und meist mit epithelialen Zellschichten vergesellschaftet waren. Repräsentative Bilder von Normalgewebefunden mit dem MSVA-517M sind in den Abbildungen 28-35 gezeigt. Der Vergleich des MSVA-517M Antikörpers mit dem Referenzantikörper EPR3996 zur Validierung ist in Abbildung 36 gezeigt. Eine CDH17-Färbung war nicht nachweisbar in Sklettmuskulatur, Herzmuskulatur, glatter Muskulatur, Myometrium des Uterus, Fettgewebe, Haut, Mundschleimhaut der Lippe, Oberflächenepithel der Mundhöhle und der Mandeln, Ektozervix, Plattenepithel der Speiseröhre, Niere, Urothel des Nierenbeckens und der Harnblase, Dezidua, Plazenta, Thymus, Ohrspeicheldrüse, submandibulären sowie sublingualen Drüsen, respiratorischen Epithelien, Prostata, Samenblase, Hoden, Nebenhoden, Brust, Eierstock, Gebärmutterhals, Eileiter, Nebenniere, Nebenschilddrüse, Hypophyse und Gehirn.

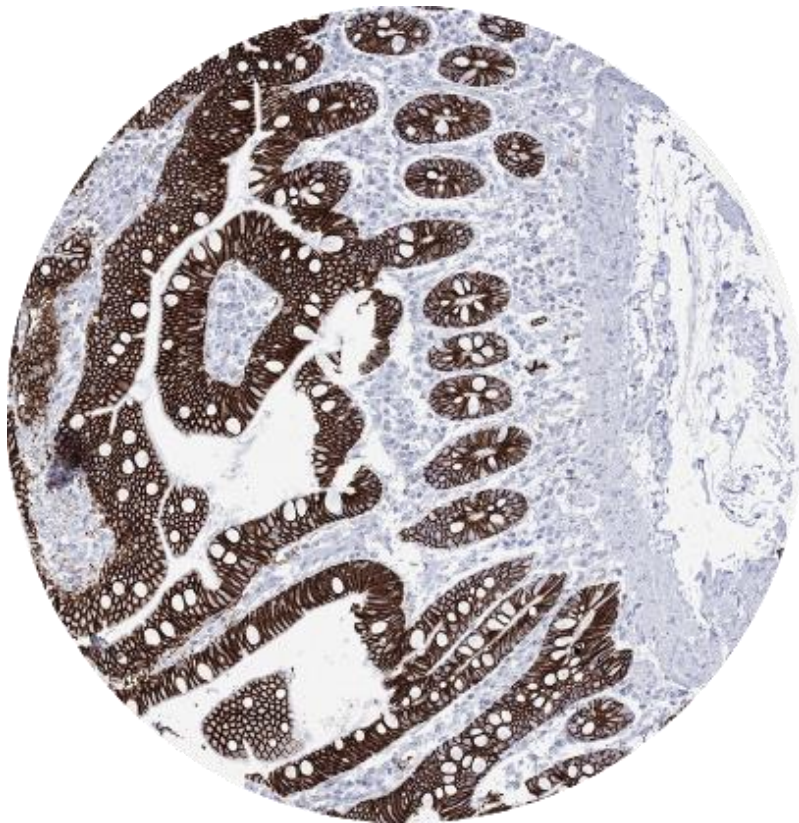


Abbildung 28: Kräftige, vor allem membranöse Anfärbung des Ileums.

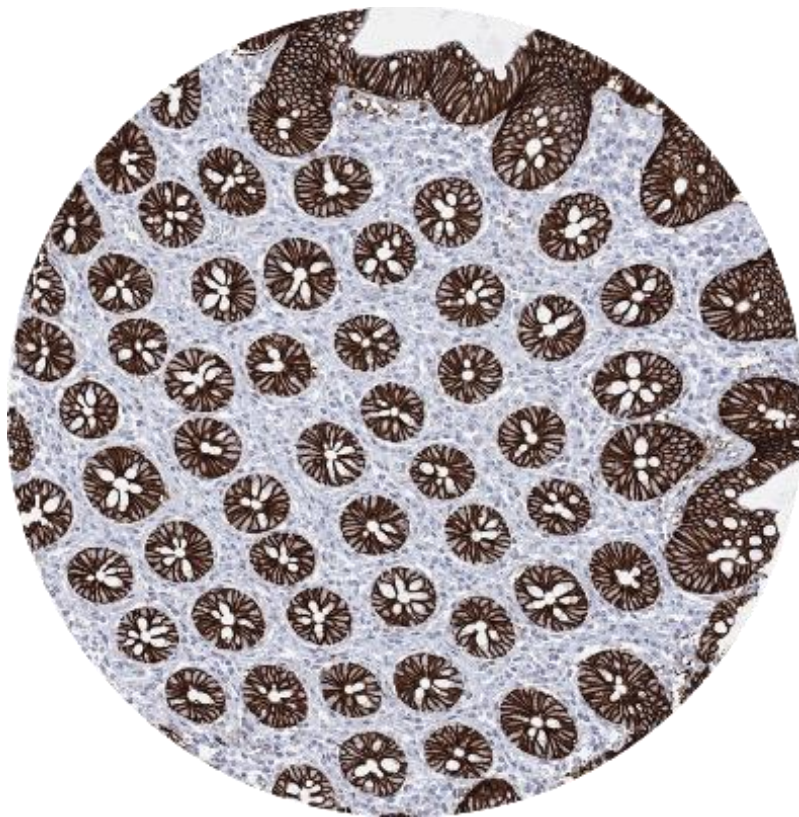


Abbildung 29: Kräftige membranöse Anfärbung des Kolons

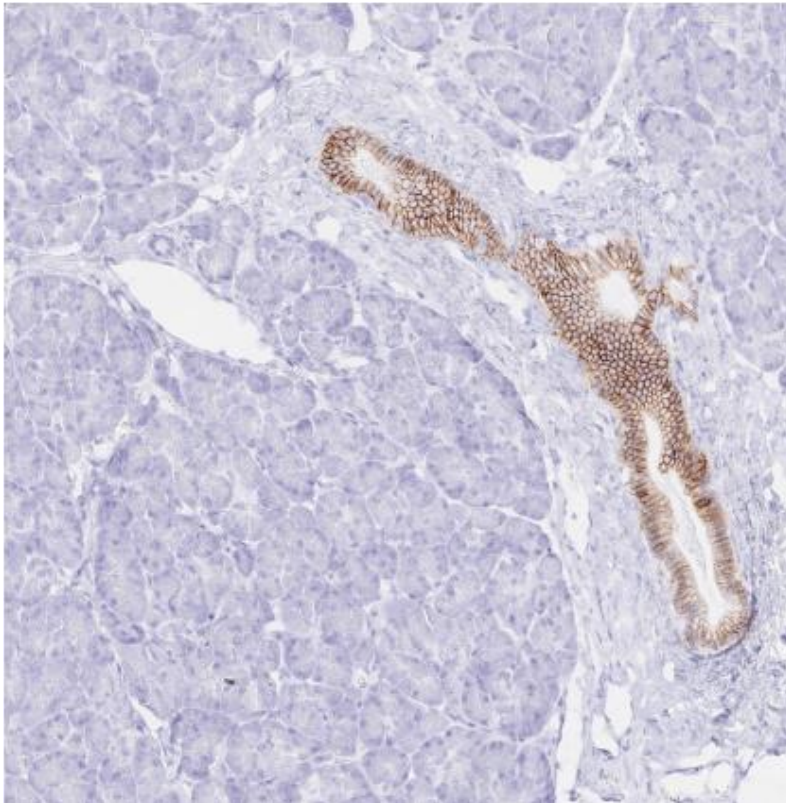


Abbildung 30: Mäßig starke membranöse Immunfärbung vom pankreatischen Ausführungsgang

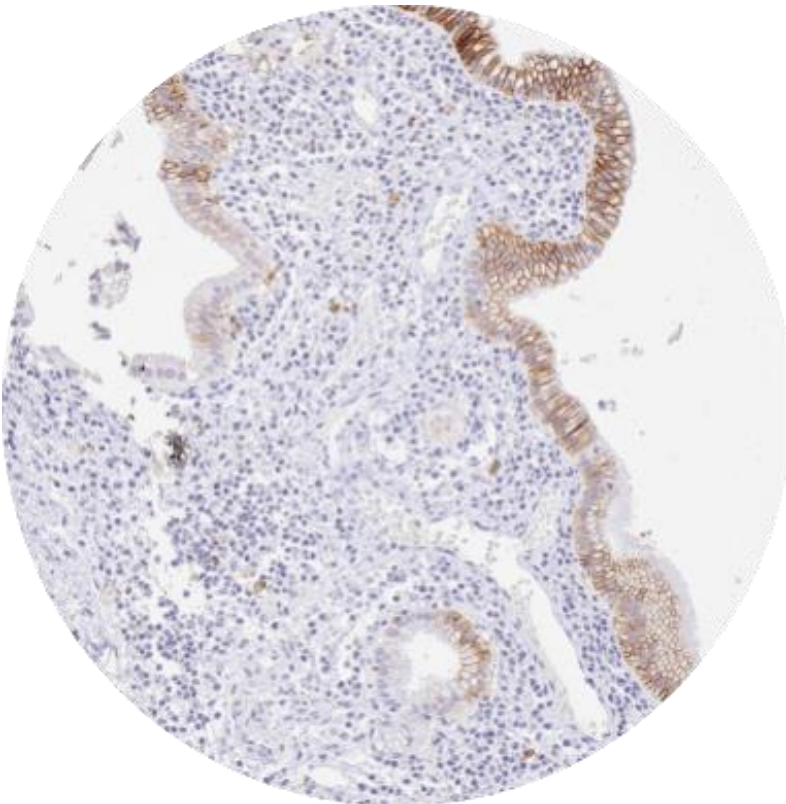


Abbildung 31: Mäßig starke Anfärbung des Gallenblasenepithels

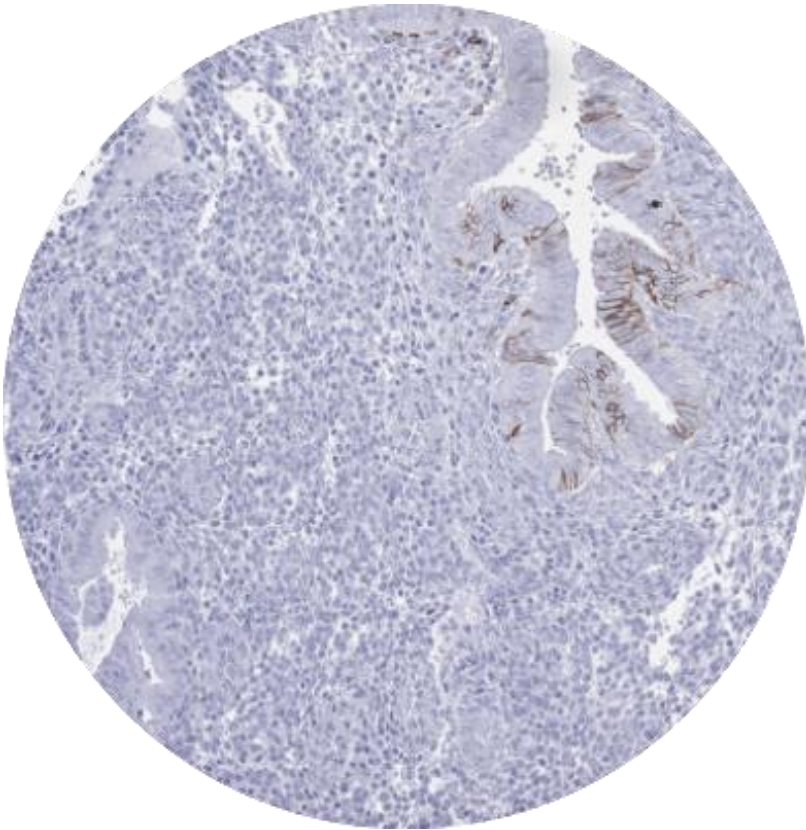


Abbildung 32: Fokal schwache Anfärbung des Endometriums

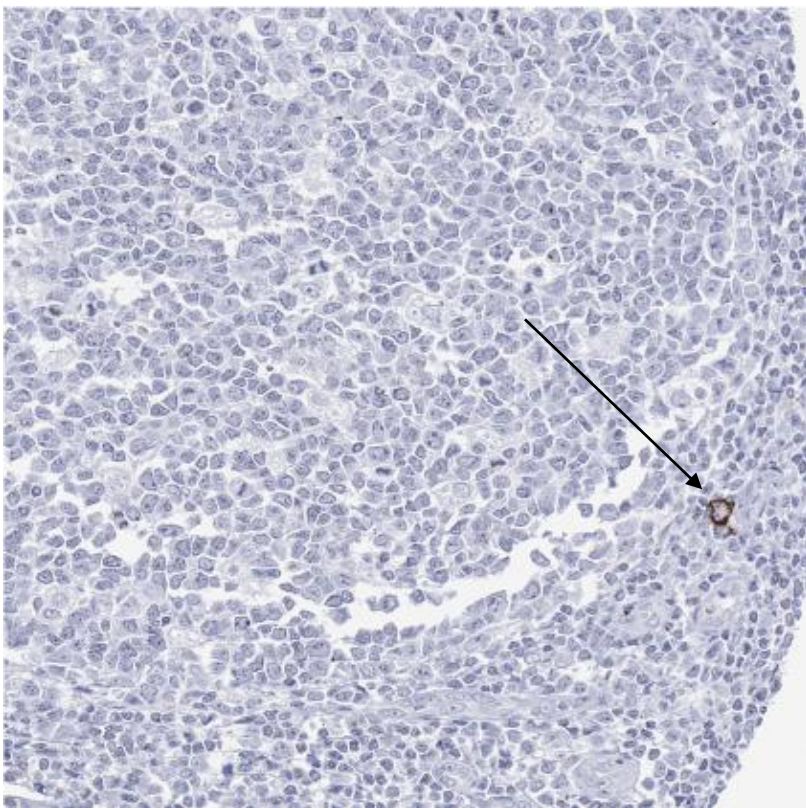


Abbildung 33: Fokal schwache Anfärbung von vereinzelt mit Epithelzellen assoziierten Entzündungszellen.

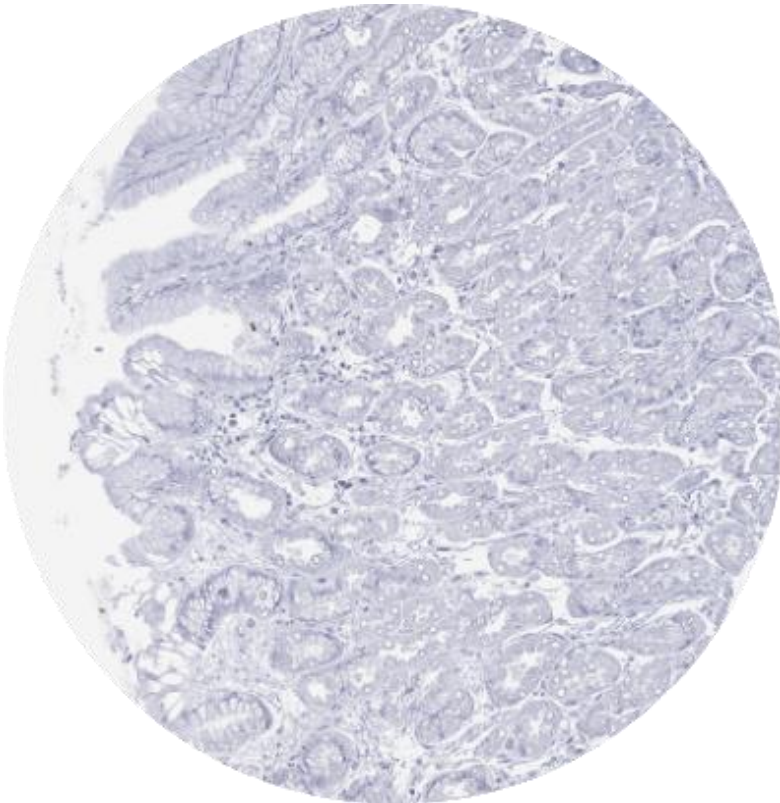


Abbildung 34: Eine CDH17-Färbung ist im Magen nicht nachweisbar

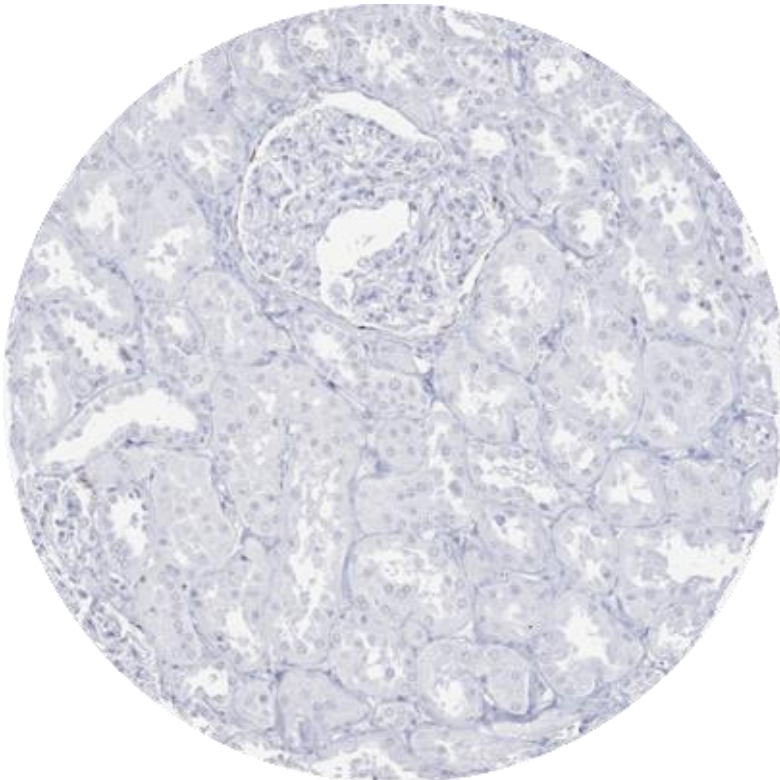


Abbildung 35: Keine CDH-17-Anfärbung in der Niere.

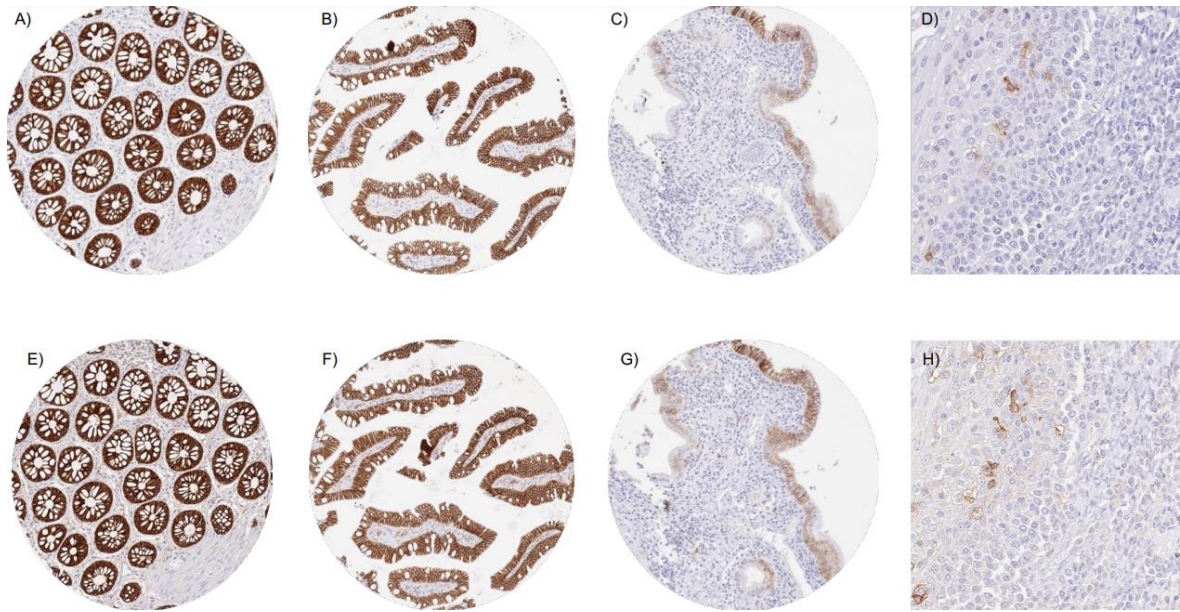


Abbildung 36: Gegenüberstellung vom Antikörper MSVA-517M (obere Reihe) und vom Referenzantikörper EPR3996 (untere Reihe) in den Organen Kolon (A und E), Ileum (B und F), Gallenblase (C und G) und Tonsille (D und H). Die Immunfärbungen des MSVA-517M-Antikörpers wurden durch den Referenzantikörper bestätigt.

3.3 Cadherin 17 in Tumoren

Eine CDH17 Immunfärbung war in 2917 (19,5%) der 14984 auswertbaren Tumoren nachweisbar. Darüber fanden sich 485 (3,24%) mit schwacher, 453 (3,02%) mit mäßiger und 1917 (13,23%) mit starker CDH17 Färbung. Insgesamt fand sich in 53 (35,33 %) der 150 untersuchten Tumorkategorien mindestens ein Fall mit nachweisbarer CDH17 Positivität. In 26 (17,3%) der 150 untersuchten Tumorkategorien fand sich mindestens ein Fall mit einer starken CDH17 Positivität. Die erhobenen CDH17 Befunde sind in Tabelle 6 organsystematisch dargestellt. Tabelle 7 und Abbildung 37 zeigen eine Rangliste der Tumorkategorien nach der Häufigkeit und Intensität der CDH17 Färbung. Repräsentative Bilder von CDH17-positiven Tumoren sind in den Abbildungen 38-45 gezeigt.

Tabelle 6: CDH17 Färbung in humanen Tumoren.

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren der Haut	Pilomatrixom	35	24	100,0	0,0	0,0	0,0
	Basalzellkarzinom	88	75	100,0	0,0	0,0	0,0
	Benigner Nävus	29	29	100,0	0,0	0,0	0,0
	Plattenepithelkarzinom der Haut	90	87	100,0	0,0	0,0	0,0
	Malignes Melanom	46	45	100,0	0,0	0,0	0,0
	Malignes Melanom mit Lymphknotenmetastasierung	86	76	100,0	0,0	0,0	0,0
	Merkelzellkarzinom	46	41	100,0	0,0	0,0	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren des Kopfs und des Nackens	Plattenepithelkarzinom des Larynx	109	104	99,0	1,0	0,0	0,0
	Plattenepithelkarzinom des Pharynx	60	58	98,3	1,7	0,0	0,0
	Orales Plattenepithelkarzinom des Mundboden	130	127	100,0	0,0	0,0	0,0
	Pleomorphes Adenom der Parotisdrüse	50	48	100,0	0,0	0,0	0,0
	Warthintumor der Parotis	104	99	99,0	1,0	0,0	0,0
	Adenokarzinom, NOS (Papilläres Zystadenokarzinom)	14	12	91,7	0,0	8,3	0,0
	Speicheldrüsenkarzinom des Ausführungsgang	15	14	92,9	7,1	0,0	0,0
	Azinuszellkarzinom der Speicheldrüse	181	139	98,6	1,4	0,0	0,0
	Adenokarzinom NOS der Speicheldrüse	109	66	95,5	0,0	1,5	3,0
	Adenoides zystisches Karzinom der Speicheldrüse	180	90	100,0	0,0	0,0	0,0
	Basalzellenkarzinom der Speicheldrüse	25	25	100,0	0,0	0,0	0,0
	Basalzellenom der Speicheldrüse	101	97	100,0	0,0	0,0	0,0
	Epitheliales-myoepitheliales Karzinom der Speicheldrüse	53	53	100,0	0,0	0,0	0,0
	Mucoepidermoides Karzinom der Speicheldrüse	343	329	99,7	0,3	0,0	0,0
	Myoepitheliales Karzinom der Speicheldrüse	21	21	100,0	0,0	0,0	0,0
	Myoepitheliom der Speicheldrüse	11	11	100,0	0,0	0,0	0,0
	Onkozytäres Karzinom der Speicheldrüse	12	12	100,0	0,0	0,0	0,0
	Polymorphes Adenokarzinom, low grade (Speicheldrüse)	41	38	100,0	0,0	0,0	0,0
	Pleomorphes Adenom der Speicheldrüse	53	41	100,0	0,0	0,0	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren der Lunge, der Pleura und des Thymus	Adenokarzinom der Lunge	246	182	90,1	5,5	3,3	1,1
	Plattenepithelkarzinom der Lunge	130	72	100,0	0,0	0,0	0,0
	Kleinzelliges Karzinom der Lunge	20	14	100,0	0,0	0,0	0,0
	Epitheloides Mesotheliom	39	33	100,0	0,0	0,0	0,0
	Mesotheliom, sonstige	76	61	100,0	0,0	0,0	0,0
	Thymom	29	28	100,0	0,0	0,0	0,0
Tumoren des weiblichen Genitaltrakts	Plattenepithelkarzinom der Vagina	78	70	100,0	0,0	0,0	0,0
	Plattenepithelkarzinom der Vulva	130	126	100,0	0,0	0,0	0,0
	Plattenepithelkarzinom der Zervix	128	125	99,2	0,0	0,8	0,0
	Adenokarzinom der Zervix	21	19	47,4	31,6	21,1	0,0
	Endometrioides Endometriumkarzinom	236	203	97,0	2,5	0,5	0,0
	Seröses Endometriumkarzinom	82	68	91,2	8,8	0,0	0,0
	Karzinom des Uterus	48	34	100,0	0,0	0,0	0,0
	Endometriumkarzinom, high grade, G3	13	12	100,0	0,0	0,0	0,0
	Klarzelliges Endometriumkarzinom	8	7	100,0	0,0	0,0	0,0
	Endometrioides Ovarialkarzinom	110	86	93,0	1,2	0,0	5,8
	Seröses Ovarialkarzinom	559	520	99,8	0,2	0,0	0,0
	Muzinöses Ovarialkarzinom	96	72	38,9	19,4	11,1	30,6
	Klarzelliges Ovarialkarzinom	50	42	97,6	2,4	0,0	0,0
	Karzinom des Ovars	47	35	97,1	2,9	0,0	0,0
	Granulosazelltumor des Ovars	37	35	100,0	0,0	0,0	0,0
	Leydigzelltumor des Ovars	4	4	100,0	0,0	0,0	0,0
	Sertolizelltumor des Ovars	1	1	100,0	0,0	0,0	0,0
	Sertoli-Leydigzelltumor des Ovars	3	3	100,0	0,0	0,0	0,0
	Steroidzelltumor des Ovars	3	3	100,0	0,0	0,0	0,0
	Brenner-Tumor	41	38	100,0	0,0	0,0	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren der Brust	Invasives Mammakarzinom (NST)	545	427	100,0	0,0	0,0	0,0
	Lobuläres Mammakarzinom	193	158	100,0	0,0	0,0	0,0
	Medulläres Mammakarzinom	23	22	100,0	0,0	0,0	0,0
	Tubuläres Mammakarzinom	20	20	100,0	0,0	0,0	0,0
	Muzinöses Mammakarzinom	29	28	100,0	0,0	0,0	0,0
	Phylloider Brusttumor	50	49	100,0	0,0	0,0	0,0
Tumoren des Verdauungstrakts	Adenomatöser Polyp, low-grade Dysplasie	50	50	0,0	2,0	8,0	90,0
	Adenomatöser Polyp, high-grade Dysplasie	50	47	0,0	2,1	8,5	89,4
	Adenokarzinom des Kolons	2532	2035	1,9	4,6	12,8	80,7
	Adenokarzinom des Magens, diffuser Typ	226	164	57,3	8,5	20,7	13,4
	Adenokarzinom des Magens, intestinaler Typ	224	159	38,4	20,8	12,6	28,3
	Adenokarzinom des Magens, gemischer Typ	62	57	52,6	19,3	14,0	14,0
	Adenokarzinom des Ösophagus	133	77	51,9	28,6	10,4	9,1
	Plattenepithelkarzinom des Ösophagus	125	64	100,0	0,0	0,0	0,0
	Plattenepithelkarzinom des Analkanals	89	81	100,0	0,0	0,0	0,0
	Cholangiozelluläres Karzinom	50	49	75,5	18,4	4,1	2,0
	Adenokarzinom der Gallenblase	31	31	54,8	29,0	9,7	6,5
	Klatskintumor der Gallenblase	41	39	82,1	10,3	5,1	2,6
	Hepatozelluläres Karzinom	300	289	88,2	8,7	1,4	1,7
	Duktales Adenokarzinom des Pankreas	662	452	59,5	26,1	10,0	4,4
	Pankreatisch-ampulläres Karzinom	119	63	30,2	25,4	19,0	25,4
	Azinuszellkarzinom des Pankreas	16	14	71,4	21,4	7,1	0,0
	Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	50	48	100,0	0,0	0,0	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren der Harnwege	Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 low grade	177	154	99,4	0,6	0,0	0,0
	Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 high grade	141	124	100,0	0,0	0,0	0,0
	Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G3	219	181	99,4	0,6	0,0	0,0
	Urothelkarzinom, pT2-4 G3	1318	619	99,4	0,3	0,0	0,3
	Plattenepithelkarzinom der Blase	22	21	100,0	0,0	0,0	0,0
	Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Blase	23	23	100,0	0,0	0,0	0,0
	Sarkomatoides Urothelkarzinom	25	24	100,0	0,0	0,0	0,0
	Urothelkarzinom (Nierenbecken)	62	59	100,0	0,0	0,0	0,0
	Klarzelliges Nierenzellkarzinom	1287	1202	99,4	0,5	0,1	0,0
	Papilläres Nierenzellkarzinom	368	334	97,3	1,2	0,9	0,6
	Klarzelliges (tubuläres) papilläres Nierenzellkarzinom	26	25	100,0	0,0	0,0	0,0
	Chromophobes Nierenzellkarzinom	170	136	100,0	0,0	0,0	0,0
	Onkozytom	257	219	99,5	0,5	0,0	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren der männlichen Genitalorgane	Adenokarzinom der Prostata, Gleason 3+3	83	82	100,0	0,0	0,0	0,0
	Adenokarzinom der Prostata, Gleason 4+4	80	72	97,2	1,4	1,4	0,0
	Adenokarzinom der Prostata, Gleason 5+5	85	81	90,1	9,9	0,0	0,0
	Adenokarzinom der Prostata (Rekurrenz)	258	252	93,3	5,2	0,8	0,8
	Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Prostata	19	18	94,4	5,6	0,0	0,0
	Seminom	621	516	100,0	0,0	0,0	0,0
	Embryonales Karzinom des Hodens	50	28	96,4	0,0	3,6	0,0
	Leydigzelltumor des Hodens	30	28	100,0	0,0	0,0	0,0
	Sertolizelltumor des Hodens	2	2	100,0	0,0	0,0	0,0
	Keimstrang-Stromatumor des Hodens	1	1	100,0	0,0	0,0	0,0
	Spermatozytischer Tumor des Hodens	1	1	100,0	0,0	0,0	0,0
	Dottersacktumor	50	35	94,3	2,9	2,9	0,0
	Teratom	50	25	100,0	0,0	0,0	0,0
	Plattenepithelkarzinom des Penis	80	70	100,0	0,0	0,0	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren der endokrinen Organe und neuroendokrine Tumoren/Karzinome	Schilddrüsenadenom	113	112	100,0	0,0	0,0	0,0
	Papilläres Schilddrüsenkarzinom	391	380	100,0	0,0	0,0	0,0
	Follikuläres Schilddrüsenkarzinom	154	150	100,0	0,0	0,0	0,0
	Medulläres Schilddrüsenkarzinom	111	109	100,0	0,0	0,0	0,0
	Nebenschilddrüsenadenom	43	30	100,0	0,0	0,0	0,0
	Anaplastisches Schilddrüsenkarzinom	45	42	100,0	0,0	0,0	0,0
	Nebennierenadenom	50	28	100,0	0,0	0,0	0,0
	Nebennierenkarzinom	26	25	100,0	0,0	0,0	0,0
	Phaeochromozytom	50	50	100,0	0,0	0,0	0,0
	Appendix, neuroendokriner Tumor (NET)	22	14	0,0	7,1	7,1	85,7
	Kolorektum, neuroendokriner Tumor (NET)	12	12	0,0	8,3	0,0	91,7
	Ileum, neuroendokriner Tumor (NET)	49	49	0,0	2,0	4,1	93,9
	Lunge, neuroendokriner Tumor (NET)	19	19	68,4	5,3	10,5	15,8
	Pankreas, neuroendokriner Tumor (NET)	97	91	54,9	25,3	7,7	12,1
	Kolorektum, neuroendokrines Karzinom (NEC)	12	10	50,0	10,0	20,0	20,0
	Gallenblase, neuroendokrines Karzinom (NEC)	4	4	100,0	0,0	0,0	0,0
	Pankreas, neuroendokrines Karzinom (NEC)	14	13	61,5	30,8	7,7	0,0

Organsysteme	Tumorentität (n=150)	Proben auf TMA (n)	Analysierbar (n)	Negativ (%)	Schwach (%)	Mäßig stark (%)	Kräftig (%)
Tumoren des hämatopoetischen und lymphatischen Systems	Hodgkin-Lymphom	103	99	99,0	1,0	0,0	0,0
	Kleines lymphatisches Lymphom, B-Zell Typ (B-SLL/B-CLL)	50	48	100,0	0,0	0,0	0,0
	Diffuses großes B-Zell Lymphom (DLBCL)	113	107	100,0	0,0	0,0	0,0
	Follikuläres Lymphom	88	80	100,0	0,0	0,0	0,0
	T-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom	25	24	100,0	0,0	0,0	0,0
	Mantelzell-Lymphom	18	16	100,0	0,0	0,0	0,0
	Marginalzonen-Lymphom	16	15	100,0	0,0	0,0	0,0
	Diffuses großes B-Zell-Lymphom (DLBCL) im Hoden	16	16	100,0	0,0	0,0	0,0
	Burkitt-Lymphom	5	3	100,0	0,0	0,0	0,0
Tumoren des Weichteilgewebes und des Knochens	Tenosynoviales Riesenzelltumor	45	40	100,0	0,0	0,0	0,0
	Granularzelltumor	53	47	100,0	0,0	0,0	0,0
	Leiomyom	50	50	100,0	0,0	0,0	0,0
	Leiomyosarkom	87	87	98,9	1,1	0,0	0,0
	Liposarkom	132	128	100,0	0,0	0,0	0,0
	Maligner peripherer Nervenscheidentumor (MPNST)	13	13	100,0	0,0	0,0	0,0
	Myofibrosarkom	26	26	100,0	0,0	0,0	0,0
	Angiosarkom	73	66	100,0	0,0	0,0	0,0
	Angiomyolipom	91	90	100,0	0,0	0,0	0,0
	Dermatofibrosarkom protuberans	21	19	100,0	0,0	0,0	0,0
	Ganglioneurom	14	13	100,0	0,0	0,0	0,0
	Kaposi-Sarkom	8	6	100,0	0,0	0,0	0,0
	Neurofibrom	117	89	100,0	0,0	0,0	0,0
	Sarkom, (NOS)	74	72	100,0	0,0	0,0	0,0
	Paragangliom	41	38	100,0	0,0	0,0	0,0
	Ewing Sarkom	23	20	100,0	0,0	0,0	0,0
	Rhabdomyosarkom	6	6	100,0	0,0	0,0	0,0
	Schwannom	121	107	100,0	0,0	0,0	0,0
	Synovialsarkom	12	11	100,0	0,0	0,0	0,0
	Osteosarkom	43	36	100,0	0,0	0,0	0,0
	Chondrosarkom	38	25	100,0	0,0	0,0	0,0
	Rhabdoider Tumor	5	4	100,0	0,0	0,0	0,0
		Summe	18131	14948			

Tabelle 7: CDH17 in Tumoren (Rangliste). Die Rangliste ist nach der "mindestens-schwach"-positiven Spalte (gelb) sortiert

Rangliste CDH17	≥ schwach (%)	≥ mäßig starke (%)	kräftig (%)
Neuroendokriner Tumor des Ileums (NET)	100,00	98,0	93,9
Neuroendokriner Tumor des Kolorektums (NET)	100,00	91,7	91,7
Adenomatöser Polyp, low-grade Dysplasie	100,00	98,0	90,0
Adenomatöser Polyp, high-grade Dysplasie	100,00	97,9	89,4
Neuroendokriner Tumor der Appendix (NET)	100,00	92,9	85,7
Adenokarzinom des Kolons	98,13	93,5	80,7
Pankreatisches ampulläres Adenokarzinom	69,84	44,4	25,4
Magenkarzinom, intestinaler Typ	61,64	40,9	28,3
Muzinöses Ovarialkarzinom	61,11	41,7	30,6
Adenokarzinom der Zervix	52,63	21,1	0,0
Neuroendokrines Karzinom des Kolorektums (NEC)	50,00	40,0	20,0
Adenokarzinom des Ösophagus	48,05	19,5	9,1
Magenkarzinom, gemischter Typ	47,37	28,1	14,0
Adenokarzinom der Gallenblase	45,16	16,1	6,5
Neuroendokriner Tumor des Pankreas (NET)	45,05	19,8	12,1
Magenkarzinom, diffuser Typ	42,68	34,1	13,4
Duktales Adenokarzinom des Pankreas	40,49	14,4	4,4
Neuroendokrines Karzinom des Pankreas (NEC)	38,46	7,7	0,0
Neuroendokriner Tumor der Lunge (NET)	31,58	26,3	15,8
Azinuszellkarzinom des Pankreas	28,57	7,1	0,0
Cholangiozelluläres Karzinom	24,49	6,1	2,0
Klatskin Tumor der Gallenblase	17,95	7,7	2,6
Hepatozelluläres Karzinom	11,76	3,1	1,7
Adenokarzinom der Lunge	9,89	4,4	1,1
Adenokarzinom der Prostata, Gleason 5+5	9,88	0,0	0,0
Seröses Endometriumkarzinom	8,82	0,0	0,0
Adenokarzinom, NOS (Papilläres Zystadenokarzinom)	8,33	8,3	0,0
Karzinom des Speicheldrüsenausführungsganges	7,14	0,0	0,0
Endometrioides Ovarialkarzinom	6,98	5,8	5,8
Adenokarzinom der Prostata (Rekurrenz)	6,75	1,6	0,8
Dottersacktumor	5,71	2,9	0,0
Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Prostata	5,56	0,0	0,0
Adenokarzinome NOS der Speicheldrüse	4,55	4,5	3,0

Rangliste CDH17	≥ schwach (%)	≥ mäßig starke (%)	kräftig (%)
Embryonale Karzinome des Hodens	3,57	3,6	0,0
Endometrioides Endometriumkarzinom	2,96	0,5	0,0
Karzinom der Ovarien	2,86	0,0	0,0
Adenokarzinom der Prostata, Gleason 4+4	2,78	1,4	0,0
Papilläres Nierenzellkarzinom	2,69	1,5	0,6
Klarzelliges Ovarialkarzinom	2,38	0,0	0,0
Plattenepithelkarzinom des Pharynx	1,72	0,0	0,0
Azinuszellkarzinom der Speicheldrüse	1,44	0,0	0,0
Leiomyosarkom	1,15	0,0	0,0
Warthintumor der Parotis	1,01	0,0	0,0
Hodgkin-Lymphom	1,01	0,0	0,0
Plattenepithelkarzinom der Larynx	0,96	0,0	0,0
Plattenepithelkarzinom der Zervix uteri	0,80	0,8	0,0
Urothelkarzinom, pT2-4 G3	0,65	0,3	0,3
Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 low grade	0,65	0,0	0,0
Klarzelliges Nierenzellkarzinom	0,58	0,1	0,0
Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G3	0,55	0,0	0,0
Onkozytom	0,46	0,0	0,0
Mucoepidermoides Karzinom der Speicheldrüse	0,30	0,0	0,0
Seröses Ovarialkarzinom	0,19	0,0	0,0

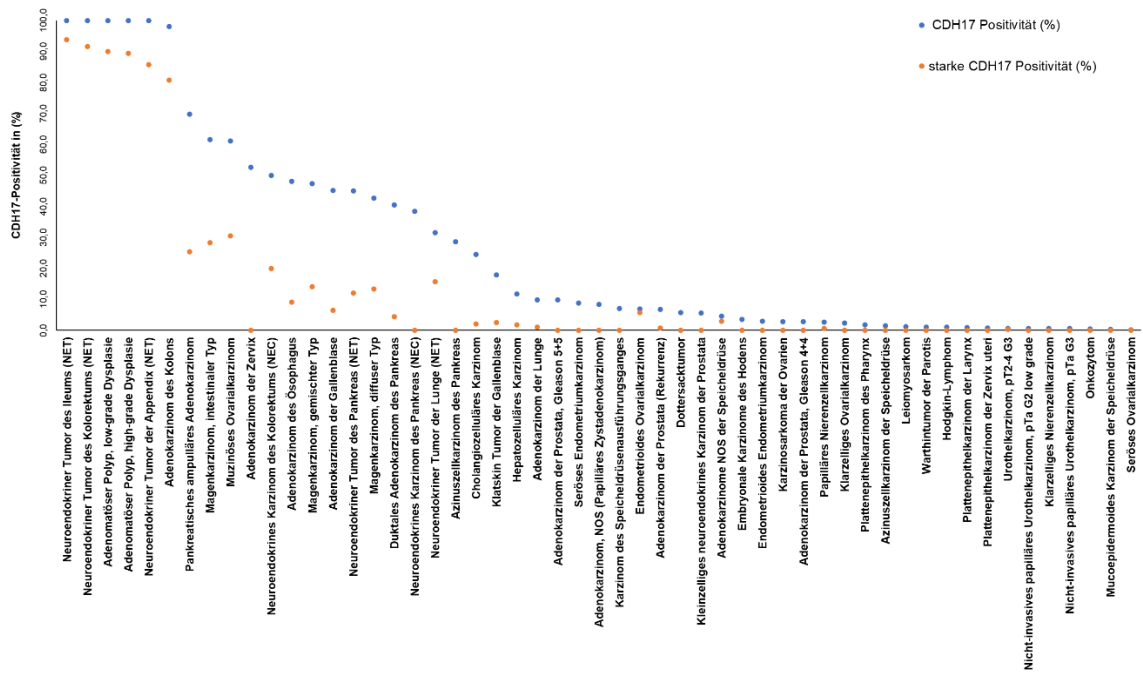


Abbildung 37: Grafische Darstellung des Rankings der CDH17-IHC-Ergebnisse



Abbildung 38: Kolorektales Adenokarzinom: Kräftige membranöse CDH17 Positivität aller Tumorzellen.

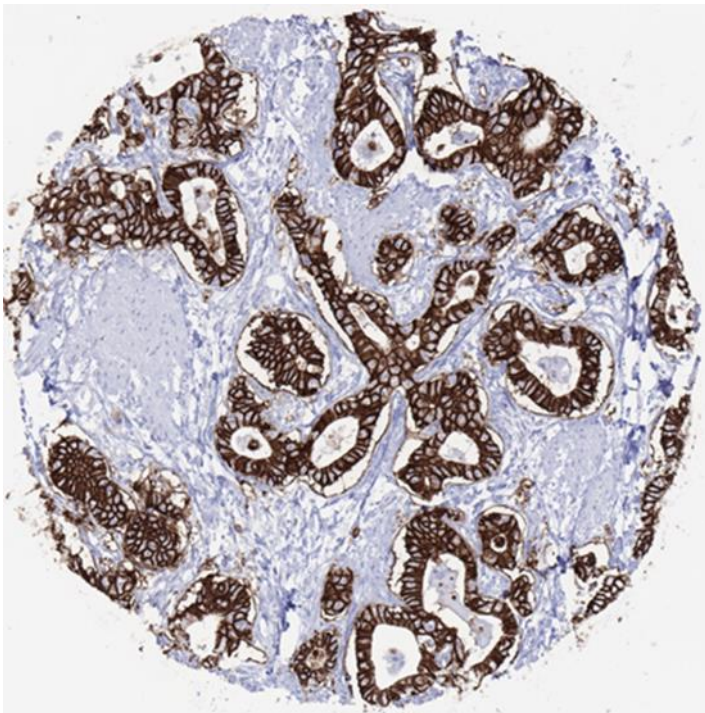


Abbildung 39: Adenokarzinom des Magens (intestinaler Typ): Alle Tumorzellen zeigen eine kräftige Anfärbung ihrer Zellmembran mit dem CDH17 Antikörper.

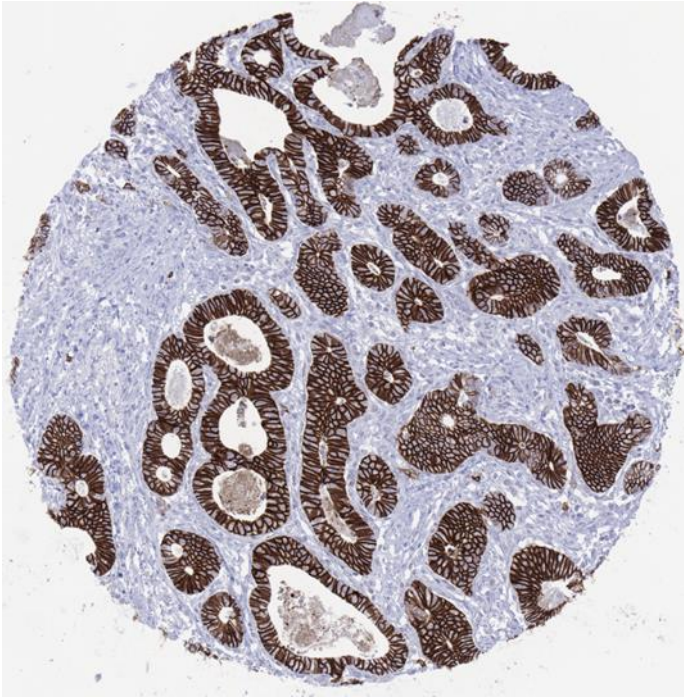


Abbildung 40: Adenokarzinom Ösophagus: Kräftige membranöse CDH17 Positivität in einem hoch differenzierten Adenokarzinom des Ösophagus.

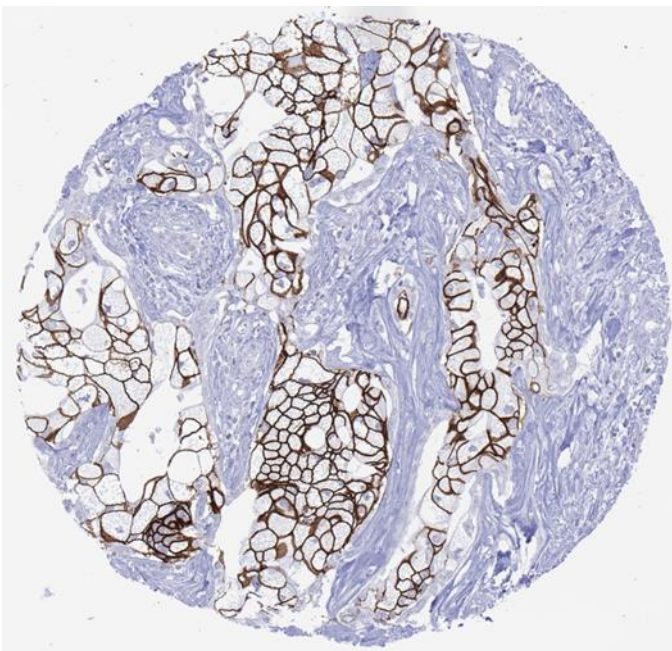


Abbildung 41: Duktales Adenokarzinom des Pankreas: Mäßig starke bis kräftige CDH17 Positivität (membranös) aller Tumorzellen.

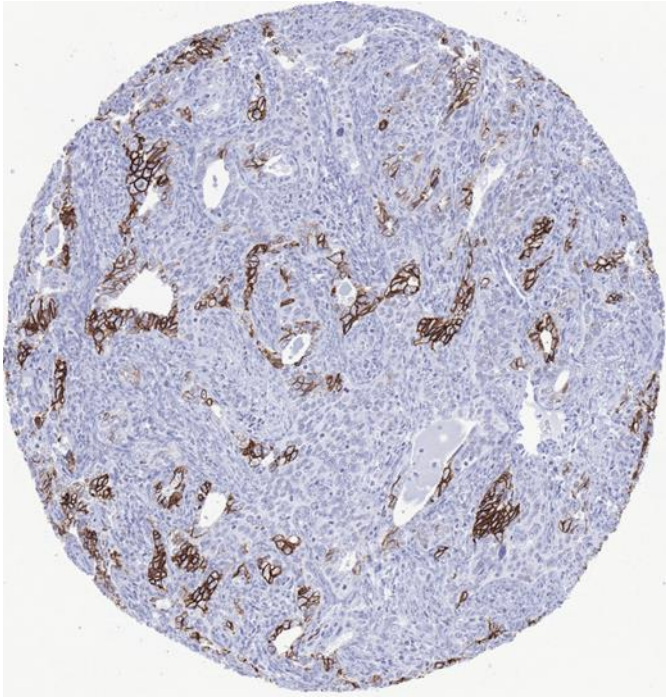


Abbildung 42: Adenokarzinom der Cervix uteri: mäßig starke CDH17 Anfärbung der Zellmembranen eines zervikalen Adenokarzinoms.

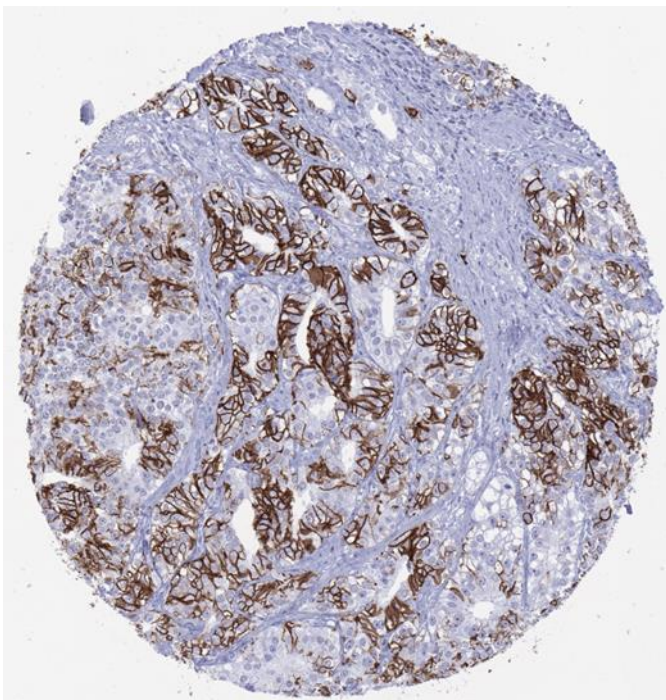


Abbildung 43: Adenokarzinom der Prostata: mäßig starke bis kräftige membranöse CDH17 Positivität der Mehrzahl der Karzinomzellen.

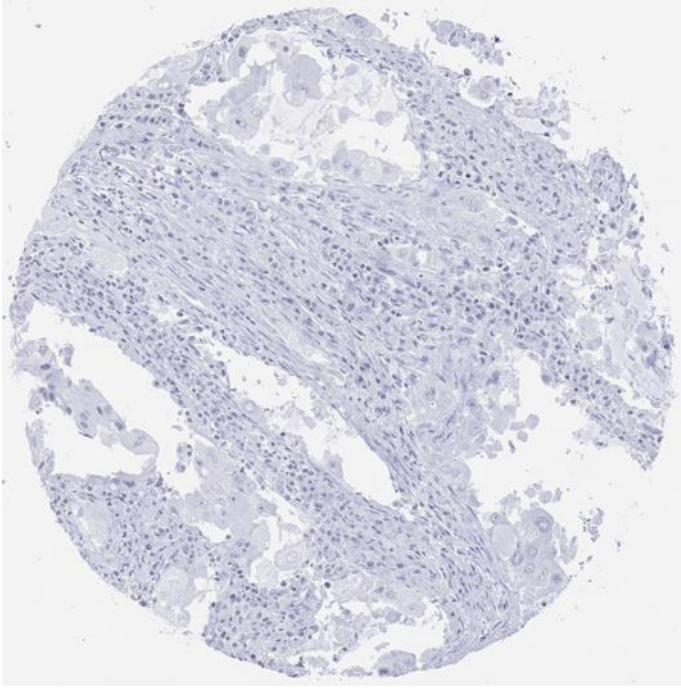


Abbildung 44: Adenokarzinom der Lunge: Wie bei den meisten Adenokarzinomen der Lunge ist in diesem Präparat keine CDH17 Anfärbung nachweisbar.

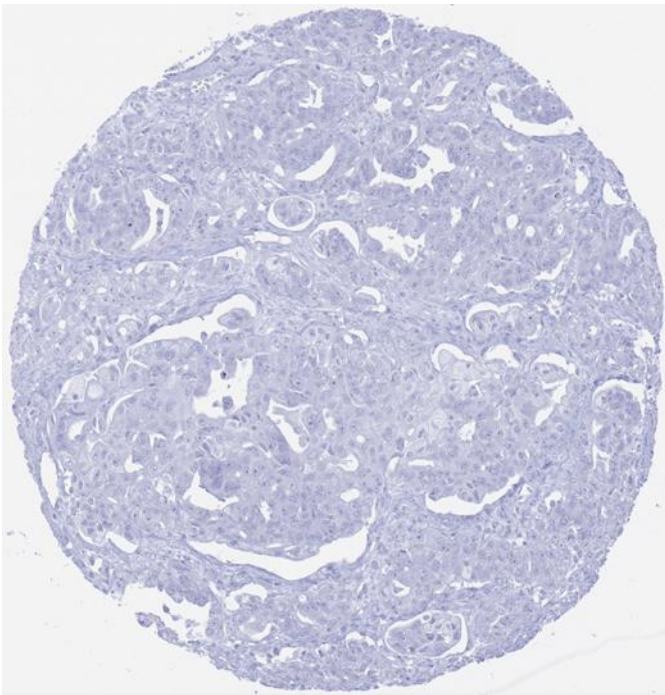


Abbildung 45: Seröses high-grade Karzinom des Ovars: Kein Nachweis einer CDH17 Anfärbung.

Eine CDH17 Positivität war besonders häufig in kolorektalen Neoplasien (98,13%-100%) und neuroendokrinen Neoplasien des Gastrointestinaltrakts (50-100%) auffindbar. Die nächsthäufigsten Tumorentitäten umfassen andere gastrointestinale Adenokarzinome (42,68%-61,64%), muzinöse Ovarialkarzinome (61,11%), Azinuszellkarzinome des Pankreas (28,57%), Adenokarzinome des Zervix uteri (52,63%), pankreatisch-biliäre Adenokarzinome (40,49%-69,84%), andere neuroendokrine Neoplasien (5,56%-100%) und prostatistische Adenokarzinome (0%-9,88%). Eine CDH17 Positivität in weniger als 10 % der Fälle, meist mit geringer oder mäßig starker Intensität, fand sich auch in 29 zusätzlichen Tumorentitäten. 9,89 % von 182 untersuchten Adenokarzinomen der Lungen waren CDH17-positiv.

Vergleiche zwischen der CDH17 Anfärbung und histopathologischen oder molekularen Tumorparametern ließen sich bei Karzinomen des Colons, des Pankreas und dem Magen anstellen. Die entsprechenden Befunde sind in den Tabellen 8-10 dargestellt. In kolorektalen Adenokarzinomen fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer reduzierten CDH17 Anfärbung und einem fortgeschrittenen pT-Stadium ($p=0,0147$), einer nodalen Lymphmetastasierung ($p= 0,0041$), einer Blutgefäßinvasion ($p= 0,0025$), einer Lymphgefäßinvasion ($p= 0,0054$) einer Tumorlokalisation im rechten Colon ($p=0,0033$) und dem Vorliegen einer Mikrosatelliteninstabilität ($p<0,0001$). Beim Magen- und Pankreaskarzinom war das Ausmaß der CDH17 Anfärbbarkeit nicht mit histopathologischen oder molekularen Tumorparametern assoziiert.

Tabelle 8: CDH17-Anfärbung und histopathologischen oder molekularen Tumorparameter beim Kolonkarzinom.

	n	CDH17 Immunhistochemie				p
		negativ	schwach	mäßig stark	kräftig	
pT1	72	1.4	1.4	9.7	87.5	0.0147
pT2	376	0.8	4.0	12.0	83.2	
pT3	1098	1.8	3.8	13.2	81.1	
pT4	398	3.5	7.5	12.8	76.1	
pN0	1020	1.2	3.4	12.7	82.6	0.0041
pN+	916	2.8	5.7	12.8	78.7	
V0	1389	1.5	3.7	12.5	82.3	0.0025
V+	517	3.1	7.0	13.3	76.6	
L0	647	1.1	2.6	12.2	84.1	0.0054
L1	1267	2.4	5.2	13.1	79.3	
links	1061	1.0	4.5	12.7	81.7	0.0033
rechts	359	3.9	4.5	15.9	75.8	
MS instabil	77	6.5	14.3	16.9	62.3	<0.0001
MS stabil	1041	1.0	4.1	11.7	83.2	
RAS-Mut.	325	0.6	3.4	11.4	84.6	0.2103
Wildtyp	424	1.7	5.9	10.8	81.6	
BRAF Wildtyp	16	12.5	18.8	12.5	56.3	0.0012
BRAF V600E Mutation	106	0.0	1.9	11.3	86.8	

Tabelle 9: CDH17-Anfärbung und histopathologischen oder molekularen Tumorparameter beim Magenkarzinom.

	n	CDH17 Immunhistochemie				p
		negativ	schwach	mäßig stark	kräftig	
pT1-2	53	43.4	15.1	15.1	26.4	0.8428
pT3	120	50.8	15.0	14.2	20.0	
pT4	121	47.1	18.2	17.4	17.4	
pN0	36	47.4	13.2	14.5	25.0	0.5188
pN+	105	48.2	17.9	16.1	17.9	
MS stabil	37	35.1	24.3	13.5	27.0	0.4097
MS instabil	248	46.4	18.1	16.9	18.5	

Tabelle 10: CDH17-Anfärbung und histopathologischen oder molekularen Tumorparameter beim Pankreaskarzinom.

		CDH17 Immunhistochemie					
		n	negativ	schwach	mäßig stark	stark	p
Tumorstadium	pT1	14	57.1	28.6	14.3	0	0.4336
	pT2	58	50.0	29.3	12.1	8.6	
	pT3	300	61.3	23.7	10.7	4.3	
	pT4	21	57.1	38.1	4.8	0	
Grad	1	14	50.0	21.4	14.3	14.3	0.4654
	2	282	57.8	25.9	11.7	4.6	
	3	80	67.5	22.5	6.3	3.8	
Lymphknotenmetastasen	pN0	84	61.9	23.8	9.5	4.8	0.9386
	pN+	308	58.4	26	11	4.5	
Resektionsstatus	R0	204	58.3	23.5	12.3	5.9	0.4398
	R1	165	61.2	26.7	8.5	3.6	
MMR-Status	MS stabil	358	59.8	25.1	10.6	4.5	0.5619
	MS instabil	2	100.0	0	0	0	

3.4 Vergleich mit CK20 und SATB2

Eine vergleichende Analyse von CDH17 und zwei weiteren, in früheren Studien (Dum et al. 2022a; Dum et al. 2022b) untersuchten Markern für gastrointestinale Differenzierung (CK20 und SATB2), konnte bei 21564 Tumoren von 31 Tumortypen vorgenommen werden, bei denen Daten für alle 3 Marker vorlagen. Das Ergebnis dieser Vergleichsuntersuchung ist in Abbildung 46 graphisch dargestellt. Die Daten zeigen, dass der immunhistochemische CDH17 Nachweis im Vergleich zu den anderen Parametern bei kolorektalen Adenomen und Karzinomen geringgradig und bei gastralen und pankreatischen Adenokarzinomen deutlich sensitiver war. Beispielsweise waren kolorektale Karzinome positiv für CDH17 in 98,13%, für SATB2 in 86,40% (Dum et al. 2022a) und für CK20 in 93,40% (Dum et al. 2022b). Adenokarzinome des Magens waren positiv für CDH17 in 51,36%, für SATB2 in 19,06% (Dum et al. 2022a) und für CK20 in 36,01% (Dum et al. 2022b). Adenokarzinome des Pankreas waren positiv für CDH17 in 44,08%, für SATB2 in 5,02% (Dum et al. 2022a) und für CK20 in 23,46% (Dum et al. 2022b). Im Vergleich dazu fand sich in Adenokarzinomen der Lunge eine Positivität für CDH17 in 9,89%, für SATB2 in 9,90% (Dum et al. 2022a) und für CK20 in 4,90% (Dum et al. 2022b). Die vergleichende Untersuchung der drei Marker als Unterscheidungsmerkmale für Adenokarzinome gastrointestinalen bzw. pankreatisch-biliären Ursprungs versus Adenokarzinomen pulmonaler Herkunft ergab für Cadherin 17 eine Sensitivität (für gastrointestinale Neoplasien) von 76,4% bei einer Spezifität von 97,1%. Für SATB2 war die Sensitivität 66,2%, die Spezifität 94,5% (Dum et al. 2022a) und für CK20 war die Sensitivität 55,0% und die Spezifität 90,0% (Dum et al. 2022b).

Eine vergleichende Darstellung der drei Marker in Adenokarzinomen der Lunge und gastrointestinalen Adenokarzinomen ist in Abbildung 47 dargestellt. Im Übrigen ergab der Vergleich von CDH17, SATB2 und CK20, dass von diesen drei Markern eine SATB2 Positivität besonders häufig in mesenchymalen Neoplasien, Nierenzellkarzinomen und Merkelzellkarzinomen vorkommt (Dum et al. 2022a), während CK20 häufig bei urothelialen Neoplasien und bei Merkelzellkarzinomen positiv gefunden wird (Dum et al. 2022b). CDH17 ist in diesem Vergleich auffallend häufig positiv in Adenokarzinomen der Zervix uteri und in neuroendokrinen Neoplasien.

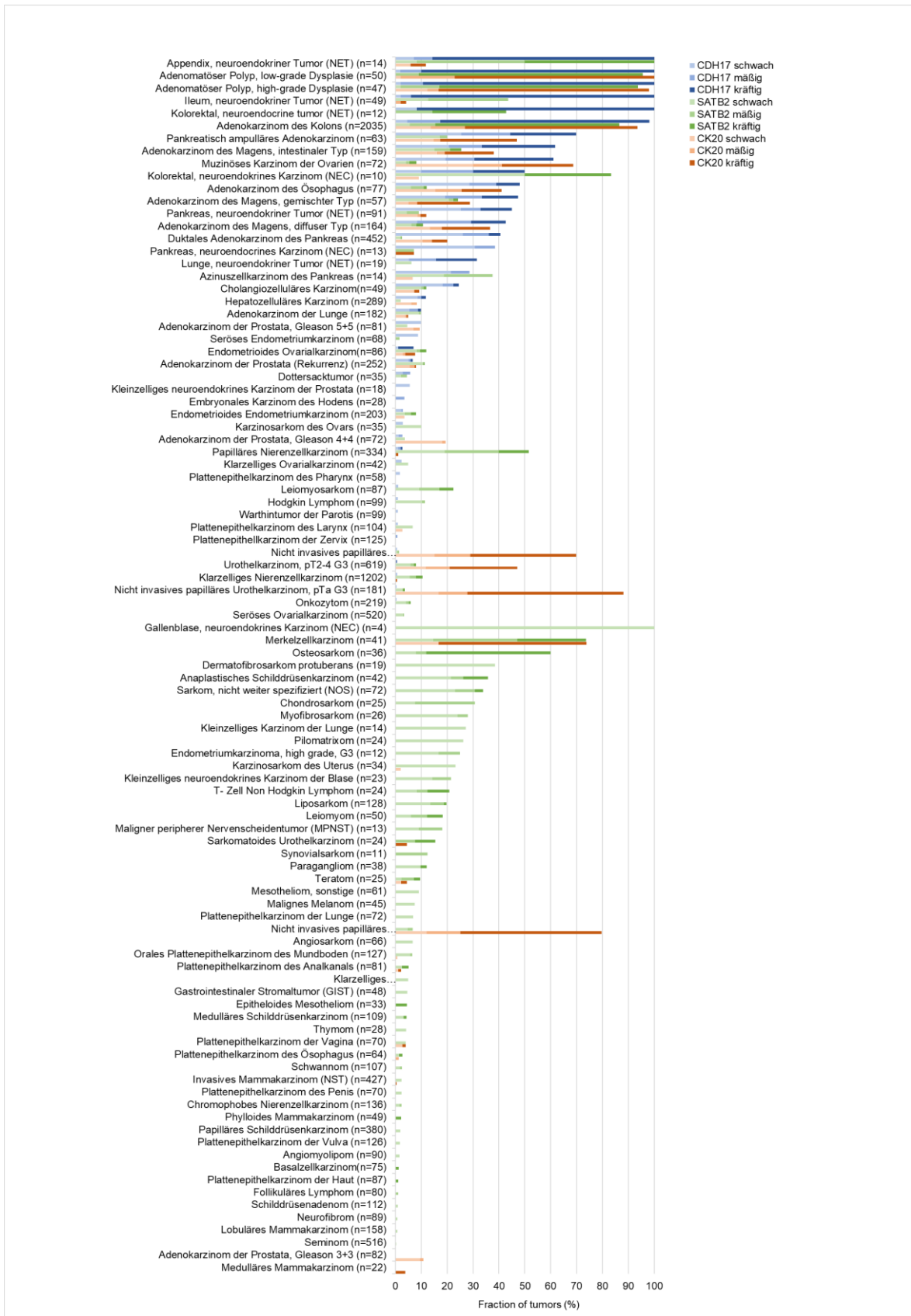


Abbildung 46: Vergleichende Darstellung der Positivitätsraten von CDH17, SATB2 und CK20 in mehreren Tumortypen.

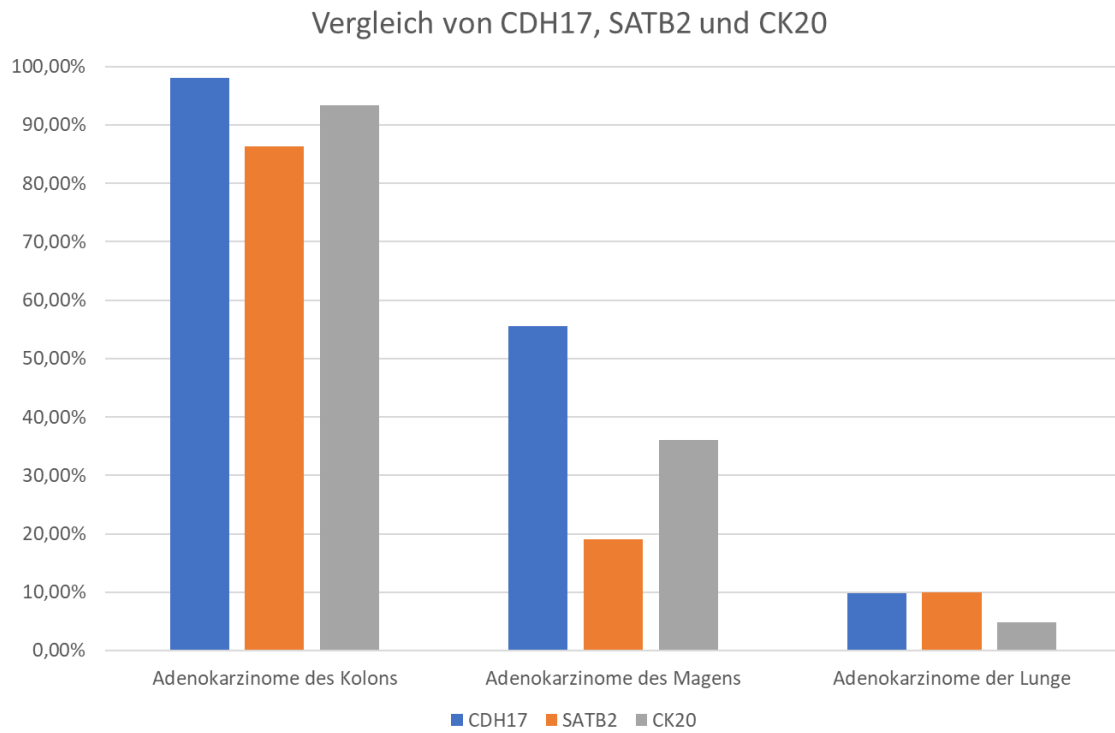


Abbildung 47: Darstellung von CDH17, SATB2 und CK20 bei Adenokarzinomen des Kolorektums, Magens und der Lunge.

4. Diskussion

In dieser Studie wurden 14948 Tumoren von 150 verschiedenen Tumortypen erfolgreich immunhistochemisch untersucht. Der außergewöhnliche Umfang unserer Untersuchung ergibt sich aus dem Vergleich zu den früher durchgeführten immunhistochemischen Studien zu CDH17 bei menschlichen Tumoren. Dabei waren in 30 Studien insgesamt 6764 Tumoren von insgesamt 42 verschiedenen Tumortypen unter Verwendung von mindestens 7 verschiedenen Antikörpern untersucht worden (Tabelle 11). In diesen Studien wurden für die Definition einer CDH17 Positivität zudem unterschiedliche Kriterien verwendet, von denen einige in Tabelle 12 dargestellt sind. Die Bedeutung unserer aktuellen Studie ist nicht so sehr durch die Tatsache begründet, dass in unsere Studie mehr als doppelt so viele Tumoren untersucht wurden als in allen bisherigen Studien zusammen, sondern viel mehr in der vollständigen Standardisierung des verwendeten Verfahrens.

Tabelle 11: Übersicht über Antikörper gegen CDH17, die in bisherigen Studien verwendet worden waren.

CDH17 - Antikörper	Art	Studien, die diesen Antikörper verwendeten
Klon 1H3	Monoklonaler „Anti-Mouse“-Antikörper	(Su et al. 2008; Aintree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012; Johnson et al. 2015)
Klon 7C5	Monoklonaler „Anti-Mouse“-Antikörper	(Zheng et al. 2021)
Klon EPR3997	Monoklonaler „Anti-Rabbit“-Antikörper	(Lopes et al. 2020)
Klon SP183	Monoklonaler „Anti-Rabbit“-Antikörper	(Asaka et al. 2020; Ota et al. 2021; Snow et al. 2015)
Klon C-17	Polyklonaler „Anti-Goat“-Antikörper	(Huang et al. 2012; Dong et al. 2008; Ge et al. 2008; Ito et al. 2005; Ko et al. 2005; Sakamoto et al. 2012; Takamura et al. 2003; Wong et al. 2003)
Klon EP86	Monoklonaler „Anti-Rabbit“-Antikörper	(Lin et al. 2014a)
Klon HPA023616 (vom Human Protein Atlas & Sigma-Aldrich)	Polyklonaler „Anti-Rabbit“-Antikörper	(Bian et al. 2017)

Tabelle 12: Exemplarische Beispiele für verschiedene Definitionen und Cut-off-Werte für eine positive Anfärbung aus 4 Studien.

Name der Studie	Definition für eine CDH17-Positivität
(Sakamoto et al. 2012)	→ Positiv, wenn mindestens 10% aller Zellen sich anfärben lassen. Alles unter diesem Cutoffwert wird als negativ gewertet. Keine Abstufung der Positivitätsausmaße wurde durchgeführt.
(Takamura et al. 2003)	→ Positiv, wenn mindestens 25% aller Zellen sich anfärben lassen. Alles unter diesem Cutoffwert wird als negativ gewertet. Keine Abstufung der Positivitätsausmaße wurde durchgeführt.
(Brandler et al. 2015)	<p>→Schwach positiv, wenn 1% - 5% der Zellen sich anfärben lassen</p> <p>→Mäßig positiv, wenn sich 6%-20% der Zellen sich anfärben lassen</p> <p>→Stark positiv, wenn sich 21%-50% der Zellen anfärben lassen</p> <p>→Sehr stark positiv, wenn sich über 50% der Zellen anfärben lassen</p> <p>Alle Ergebnisse unter 1% gefärbte Tumorzellen, wird als negativ bewertet.</p>
(Snow et al. 2015)	<p>→negativ, wenn sich nur weniger als 5% der Zellen anfärben lassen</p> <p>→schwach positiv, wenn sich 5%-25% der Zellen sich anfärben lassen</p> <p>→Mäßig positiv, wenn sich 26%-50% der Zellen anfärben lassen</p> <p>→Stark positiv, wenn sich über 50% der Zellen anfärben lassen</p>

Das TMA-Verfahren ist die einzig mögliche Methode, welche aus realistischer und logistischer Sicht eine gewebebasierte Untersuchung von 14948 Tumoren ermöglicht. Die große Zahl von Tumoren, welche in kurzer Zeit analysiert werden kann, gilt als Hauptstärke der TMA-Methode (Kononen et al. 1998). Das maximale Ausmaß der Standardisierung einer immunhistochemischen Untersuchung ist aber mindestens gleich hoch einzuschätzen. Die Standardisierung betrifft nicht nur die Färbung an sich, sondern auch die Schnittlagerungszeit und die Größe der untersuchten Tumorgewebsfragmente. Die Schnittlagerungszeit ist die Zeit zwischen Herstellung eines Gewebeschnitts und seiner immunhistochemischen Anfärbung. Mehrere Studien haben gezeigt, dass bereits eine Schnittlagerungszeit von mehr als 2 Wochen für viele Antikörper zu einer massiven Verminderung der Färbeintensität führt (Mirlacher et al. 2004; DiVito et al. 2004; Fergenbaum et al. 2004). Da alle Schnitte dieser Studie an einem Tag von einer MTA hergestellt wurden und an einem anderen Tag von einer MTA gefärbt wurden, ist die Schnittlagerungszeit für alle Präparate komplett identisch. Die geringe Zahl von untersuchten Schnitten für diese Studie (n=44) erlaubte eine manuelle Anfärbung aller Präparate an einem Tag in einem Satz von Reagenzien. Die manuelle Färbung hat gegenüber der Färbung in Automaten den Vorteil, dass sie eine hohe Flexibilität bei der Antigendemaskierung, bei der Auswahl und Anwendung von Reagenzien sowie bei den Optimierungen von Färbeprotokollen zulässt (Prichard 2014; Kim et al. 2016). Bei Verwendung von Färbeautomaten kann aufgrund der Schnittarchitektur der Fluss von Reagenzien behindert werden und es dadurch in einigen Arealen zu einer ungenügenden Anfärbung von Schnitten kommen.

Auch die für alle Gewebeproben identische Größe von 0,6mm bei einem TMA hat sich als relevanter Vorteil des Verfahrens erwiesen. Zwar wurde in früheren Studien die Repräsentativität von kleinen Gewebeproben für einen gesamten Tumor hinterfragt (Camp et al. 2000; Hoos et al. 2001), doch muss konstatiert werden, dass ein großer Gewebeschnitt mit einer Tumormenge 3x 1 cm und einer Dicke von 2 Mikrometer nur 0,04 Promille eines Tumors von 5cm Durchmesser ausmacht, sodass die Repräsentativität einer Gewebeprobe gleich welcher Art stark limitiert ist. In einer Studie an mehr als 500 Mammakarzinomen hatte Torhorst et al (Torhorst et al. 2001) gezeigt, dass im TMA von Mammakarzinomen zwar deutlich weniger p53 positive Fälle gefunden werden können, dass aber nur in der TMA erhobene p53-Status und nicht der an Großschnitten bestimmte mit der Pa-

tientenprognose assoziiert war (Torhorst et al. 2001). Die Autoren schlossen aus ihrer Arbeit, dass die Untersuchung einer großen Tumormenge häufiger zur Identifikation von biologisch irrelevanten fokalen Befunden führt oder aber eine ansteigende Wahrscheinlichkeit für Färbeartefakte mit der Größe des untersuchten Gewebes vorliegt (Torhorst et al. 2001). Auch Studien, welche die Beziehung zwischen Großschnittbefunden und Befunden an TMAs mit einer unterschiedlichen Anzahl von Gewebeproben pro Tumor untersucht haben, haben gezeigt, dass je mehr Tumorgewebe von einem Patienten untersucht wird, die Rate von positiven Fällen ansteigt (Hoos et al. 2001; Ye et al. 2020; Camp et al. 2000). Ungleiche zur Untersuchung gelangten Tumormengen dürften deswegen immunhistochemische Studien, welche klassische klinische Großschnittpräparate verwenden, kompromittieren. Die Standardisierung der pro Tumor untersuchten Gewebemenge, dürfte ein Grund dafür sein, alle klinisch etablierten molekularen Prognosefaktoren auch an TMA perfekt reproduziert werden konnten. Dazu gehört die Expression von ER, PR, HER2, KI-67-Labeling-Index beim Mammakarzinom (Ruiz et al. 2006), p53-Status bei Harnblasenkarzinomen (Wang et al. 2021; Wild et al. 2005) und der PTEN-Status bei Prostatakarzinomen (Krohn et al. 2012). Die Tatsache, dass Hunderte von unterschiedlich gefärbten Tumoren auf einem einzigen Schnitt vorliegen, unterstützt auch die Standardisierung der immunhistochemischen Auswertung durch einen Pathologen. Durch das permanente Vergleichen mit vielen anderen Tumoren, wird es erleichtert, die Quantifizierung der Färbungen im Rahmen einer immunhistochemischen Auswertung konstant zu halten (Guido Sauter, persönliche Mitteilung).

Das Hauptergebnis der vorliegenden Studie ist eine Rangliste aller untersuchten Tumorentitäten nach der Häufigkeit eines positiven CDH17 Befundes. Es hilft bei der Identifikation von potentiellen Tumorentitäten, die von den verschiedenen Ansätzen einer Anti-CDH17-Therapie, wie sie mehreren Studien diskutiert werden (Harding et al. 2023; Lum et al. 2020; Wong et al. 2021; García-Martínez et al. 2021), profitieren könnten. Der Vergleich mit den Ergebnissen der Gesamtheit der früheren Studie macht den Mehrwert der aktuellen Daten deutlich (Abbildung 48).

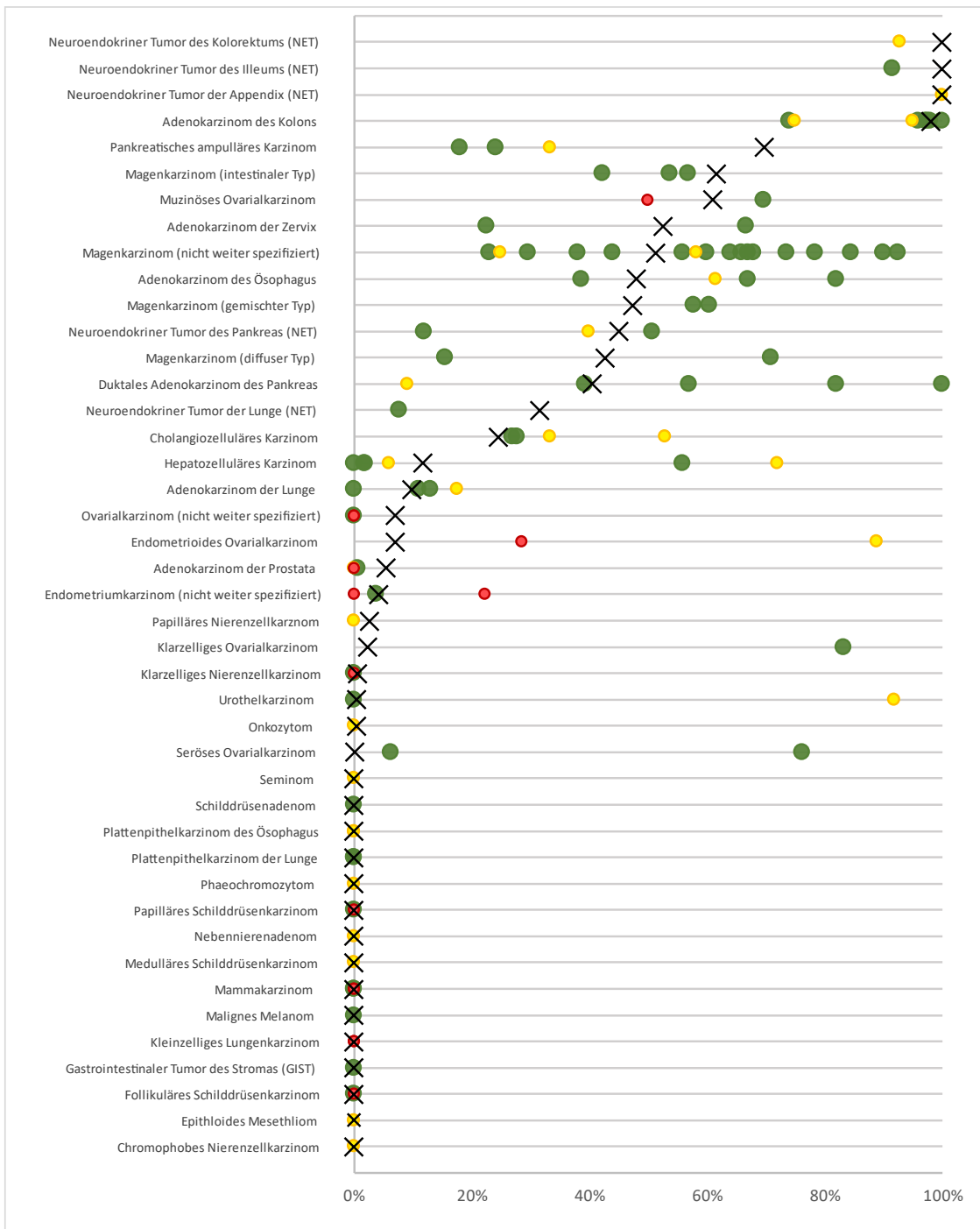


Abbildung 48: Vergleich der Ergebnisse der Literaturanalyse zur CDH17-Expression mit den eigenen Daten. Roter Punkt: Probenzahl n: 1-10; gelber Punkt: Probenzahl n: 11-25; grüner Punkt: Probenzahl n: >26, x: eigene Ergebnisse. Verweise auf die jeweilige Literatur der Datenpunkte sind in Tabelle 1 zu finden.

So ist das Ergebnis unserer Studie über eine mögliche CDH17-Expression in den verschiedensten Tumorentitäten einer bloßen Literaturanalyse hinsichtlich des Umfangs und der Aussagekraft überlegen. Dies ist zum einen darin begründet, dass nur für 21 von 43 Tumorentitäten mehr als eine Studie veröffentlicht worden ist und die Stichprobenzahl pro Entität deutlich geringer ist. Zum anderen weichen

die Ergebnisse dieser Studien teilweise enorm voneinander ab, womit es schwierig ist, eine zuverlässige Aussage bezüglich der CDH17-Expression zu treffen. Des Weiteren wurden in dieser Studie viele Tumorentitäten untersucht, welche bisher nicht auf eine CDH17-Expression untersucht wurden, wodurch das Spektrum der CDH17-Daten zu vielen Tumorarten erweitert wurde.

Unsere Daten zeigen eine besonders hohe CDH17-Expression in kolorektalen Neoplasien, gefolgt von anderen Adenokarzinomen und neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltraktes. Die besonders hohe Häufigkeit der CDH17 Positivität in kolorektalen und ilealen Neoplasien passt dabei gut zur besonders starken CDH17 Expression in entsprechenden normalen intestinalen Epithelzellen. Unsere in dieser Studie identifizierten CDH17 Positivitätsraten für kolorektale Karzinome (98,13%) sowie von neuroendokrinen Neoplasien des Kolorektums (50%-100%) und des Ileums (100%) waren im obersten Bereich der bisher publizierten Studien angesiedelt. Frühere Studien hatten eine CDH17 Positivität von 74,10%-100% in kolorektalen Adenokarzinomen (Bian et al. 2017; Panarelli et al. 2012), 92,85% in neuroendokrinen Neoplasien des Kolorektums (Snow et al. 2015), 91,66 % in neuroendokrinen Neoplasien des Ileums (Snow et al. 2015) ergeben.

Eine weitere Gruppe von Neoplasien mit besonders häufiger CDH17 Positivität in unserer Studie bilden Adenokarzinome und neuroendokrine Neoplasien von Magen, Ösophagus und Pankreas. Die publizierten Positivitätsraten für Cadherin 17 liegen beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas (Unsere Daten 40,49%) zwischen 9,09%-100% (Ma et al. 2019; Panarelli et al. 2012), beim ösophagealen Adenokarzinom (Unsere Daten 48,05%) zwischen 38,70%-82,00% (Altree-Tacha et al. 2017; Panarelli et al. 2012) und beim Adenokarzinom des Magens (Unsere Daten: 51,13%) zwischen 23%-92,50% (Ota et al. 2021; Park et al. 2007). Für neuroendokrine Neoplasien des Pankreas hatten frühere Studien (Unsere Daten: 38,50%-45,05%) über einen Anteil von 12%-50,84% CDH17 positiven Fällen berichtet (Panarelli et al. 2012; Johnson et al. 2015). Dass die Rate CDH17 positiver gastroösophagealer und pankreatischer Adenokarzinome geringer ist als beim kolorektalen Karzinom, dürfte damit zusammenhängen, dass - im Gegensatz zu den intestinalen Tumoren - nicht alle Neoplasien von CDH17 positiven Normalzellen ausgegangen sein dürften. Der immunhistochemisch bestimmte CDH17-Status könnte allerdings bei diesen Tumorentitäten pathogenetische Rückschlüsse erlau-

ben. Sehr wahrscheinlich haben sich CDH17 positive gastroösophageale Adenokarzinome aus intestinalen Metaplasien entwickelt, während CDH17-positive pankreatische Adenokarzinome eher von intestinalen als von gastrischen IPMN abstammen dürften. Aufgrund der starken CDH17 Expression in intestinalen Metaplasien des Magens wurde die Nutzung der CDH17-Immunhistochemie von Grötzinger et al. zum Nachweis der Metaplasien propagiert (Grötzinger et al. 2001) und in einer Studie an 30 Probanden, von denen insgesamt 77 Gewebeprobe­nen durch Biopsien sowie 24 Gewebeprobe­nen durch Resektion gewonnen worden waren, validiert (Grötzinger et al. 2001). Tatsächlich fanden die Autoren eine höhere Sensitivität der CDH17 Immunhistochemie als durch die alleinige Histologie für den Nachweis von intestinalen Metaplasien der Magenschleimhaut (Grötzinger et al. 2001). Die Ausdehnung der CDH17-Expression korrelierte hierbei mit dem Ausmaß der intestinalen Metaplasie (Grötzinger et al. 2001).

Die große Zahl von kolorektalen, gastrischen und pankreatischen Adenokarzinomen, welche in dieser Studie analysiert worden war, erlaubte uns eine Evaluation der möglichen biologischen und klinischen Einflüsse der CDH17 Expression in diesen Tumoren. Der von uns nachgewiesene signifikante Zusammenhang zwischen einer verminderten CDH17 Expression und ungünstigen histopathologischen Tumorparametern beim kolorektalen Karzinom wäre mit einer tumorsuppressiven Rolle von CDH17 vereinbar. Passend zu dieser Annahme wurde in einer funktionellen Analyse eine gesteigerte Tumorbildung in CDH17-Knockout-Mäusen gefunden und aufgrund von zusätzlichen Daten wurde postuliert, dass diese vermehrte Tumorbildung durch eine vermehrte nukleare Translokation von YAP1 bedingt sein könnte (Chang et al. 2018). Als andere alternative Erklärungen käme ein funktionell nicht relevanter Verlust vom CDH17 Protein im Rahmen der Tumorentdifferenzierung in Frage. Mit fortschreitender Tumorprogression und zellulärer Entdifferenzierung verlieren Tumorzellen regelmäßig einen Teil ihrer normalerweise exprimierten Proteine und aufgrund von zunehmend zahlreichen genomischen Veränderungen mit Deregulation der Expression zahlreicher Gene (Danielsson et al. 2013). Dies betrifft nicht nur funktionell relevante Gene, sondern ebenfalls viele tumorbiologisch unwichtige Proteine (Danielsson et al. 2013). Hierzu würde passen, dass eine ähnliche Beziehungen für SATB2 gefunden wurde (Dum et al. 2022a; Liu et al. 2019a). SATB2 ist ein Protein, welches typischerweise in kolorektalem Epithel exprimiert wird und in einem kleinen Teil von fortge-

schrittenen Tumoren verloren geht (Dum et al. 2022a; Liu et al. 2019a). Studien zum Magen und Pankreaskarzinom hatten im Übrigen auch Anhaltspunkte für eine mögliche onkogene Rolle von CDH17 ergeben (Li et al. 2017b; Lin et al. 2014b; Liu et al. 2019b; Wang et al. 2013). In-situ-Studien zeigten, dass eine Störung der CDH17-Funktion Zellproliferation, Koloniebildung und die Zellmotilität hemmen (Liu et al. 2019b). In den gleichen Studien führte eine CDH17 Suppression zu einer vermehrten Expression von BAD, Cytocrome C, cleaved Caspase 3 und „cleaved PARP“ und einer verminderten Expression von BCL2, Survivin und pAkt (Liu et al. 2019b). Ein Knockout von CDH17 führte in Pankreaskarzinomfällen zu apoptotischem Zelltod möglicherweise bedingt durch eine vermehrte Caspase-3 Aktivität (Liu et al. 2019b). Dass sich in unserer Studie keinerlei signifikante Zusammenhänge zwischen der CDH17 Expression und klinisch relevanten histopathologischen Parametern beim Magen und Pankreaskarzinom fanden, spricht allerdings gegen eine klinisch relevante onkogene Rolle von CDH17 in diesen Tumortypen. Unsere Befunde sprechen jedoch für eine diagnostische Bedeutung der CDH17 Immunhistochemie für die Unterscheidung von Adenokarzinomen des Gastrointestinaltrakts von Adenokarzinomen anderer Ursprungsorgane. Diese Unterscheidung ist in der klinischen Pathologie besonders wichtig und häufig in der Lunge zu gewährleisten. Die Lunge ist ein Organ, in dem Adenokarzinome nicht nur häufig entstehen, sondern auch eines der Organe, in welches Adenokarzinome, insbesondere aus dem Gastrointestinaltrakt, besonders häufig metastasieren. Das Vorliegen von Daten zu SATB2 und CK20, zwei anderen Markern, welche für die Unterscheidung von primären Adenokarzinomen der Lunge und Lungenmetastasen herangezogen werden, erlaubte auch eine Einschätzung der Bedeutung von CDH17 im Vergleich zu diesen beiden „konkurrierenden“ Markern. Der Vergleich zeigte, dass CDH17 (76%) für die Identifikation von gastrointestinalen Adenokarzinomen in der Lunge tendenziell sensitiver ist als CK20 (55%) und SATB2 (66%). Dieser Befund passt zu Daten von Altree-Tacha et al, welche eine höhere Sensitivität für CDH17 als für CDX2 und CK20 (Altree-Tacha et al. 2017) in Adenokarzinomen des Ösophagus, Magens sowie des Kolorektums zeigten und Panarelli et al, der eine höhere Sensitivität für CDH17 als für CDX20 für die Identifikation von gastrischen Adenokarzinomen demonstrierte (Panarelli et al. 2012). Des Weiteren berichteten Abouelkhair et al über eine höhere Sensitivität von CDH17 als CDX20 für die Identifikation kolorektaler Karzinome (Abouelkhair et al.

2021). Bei bekannterweise gelegentlich bei Lungenkarzinomen anzutreffender enterischer Differenzierung ist es nicht erstaunlich, dass Cadherin 17, CK20 und SATB2 alle nicht komplett spezifisch für gastrointestinale Adenokarzinome waren. Die Spezifität betrug für CK20 90,0% (Dum et al. 2022b), für CDH17 97,11% und für SATB2 94,5% (Dum et al. 2022a) in unserem Datensatz.

Die häufige CDH17 Expression in neuroendokrinen Tumoren aller Art und in Adenokarzinomen der Cervix uteri unterscheidet CDH17 wesentlich von CK20 und SATB2. Beide Befunde sind aber in Übereinstimmung mit Daten früherer Studien (Dum et al. 2022a; Dum et al. 2022b). In einer Untersuchung an 150 hoch differenzierten neuroendokrinen Tumoren hatten Snow et al. eine CDH17 Positivität von 92,85 % in kolorektalen, 91,66% von ilealen, 40% von pankreatischen und in 7,69% von pulmonalen Tumoren gefunden (Snow et al. 2015). Asaka et al. beschrieben eine CDH17 Positivität in 66 % der zervikalen Adenokarzinome und schlugen vor, dass eine CDH17 Immunfärbung sensitiver für den Nachweis des intestinalen Subtyps zervikaler Adenokarzinome sei als die reine Histologie (Asaka et al. 2020).

Aufgrund seiner Membranständigkeit ist CDH17 auch ein potenzielles Therapieziel (Wong et al. 2021; Lum et al. 2020). Tatsächlich beschäftigten sich mehrere Arbeitsgruppen damit, Medikamente zu entwickeln, welche auf membranöses CDH17 abzielen. Dazu gehören beispielsweise die Ansätze von den Arbeitsgruppen Wong et al und Lum et al (Lum et al. 2020; Wong et al. 2021). So hat Wong et al einen bispezifischen Antikörper namens ARB202 entwickelt, der sowohl CD3 als auch CDH17 bindet (Wong et al. 2021). Mit diesem wollte man eine vermehrte Immunantwort durch zytotoxische T-Zellen gegen CDH17 positive kolorektale Karzinomzellen provozieren. Dieser Ansatz wurde im Xenograftmodell hinsichtlich seiner Effektivität und seiner Sicherheit getestet, wobei sich dieser bewährt hat (Wong et al. 2021). Lum et al wiederum verfolgten eine andere Herangehensweise, um CDH17 therapeutisch zu nutzen. Sie verwendeten in ihrer Arbeit den Antikörper ARB102, der spezifisch CDH17 bindet und gleichzeitig mit dem Photosensitizer IR700 konjugiert worden ist (Lum et al. 2020). Diese wurde ebenfalls im Xenograftmodell von Mäusen gegen CDH17 positiven Pankreaskarzinomen sowie gegen Zelllinien von CDH17 positiven gastrointestinalen Tumoren getestet. Nachdem diese den konjugierten Antikörper gebunden haben, wurde diese mittels Pho-

totherapie bestrahlt und auf eine Reaktion überprüft. Dabei konnte gezeigt werden, dass diese Form der Therapie Tumorwachstum inhibieren kann (Lum et al. 2020). Die in dieser Studie dargelegte Rangliste CDH17 positiver Tumoren identifiziert die Tumorarten, welche am ehesten von einer anti-CDH17 Therapie profitieren könnten.

Angesichts der großen Zahl der in dieser Studie untersuchten Tumoren wurde der verwendete immunhistochemische Ansatz ausgedehnt validiert, zum einen durch den Vergleich mit einem unabhängigen zweiten Antikörper, zum anderen durch den Vergleich der immunhistochemischen Befunde in Normalgeweben mit RNA-Daten, welche zu diesen Normalgeweben aus drei verschiedenen Datenbanken (GTEx Portal 2022; CDH17 transcriptomics data - The Human Protein Atlas 2023; Lizio et al. 2015; Karlsson et al. 2021) gewonnen werden. Um sicherzustellen, dass potenzielle Kreuzreaktivitäten auch identifiziert wurden, wurde die Antikörpervalidierung an einem sehr großen, fast vollständigen Kollektiv von menschlichen Normalgeweben durchgeführt. Für die Validität unseres Assays spricht der Nachweis einer signifikanten Immunfärbung in allen Organen mit dokumentierter CDH17 RNA-Expression (Kolon, Appendix, Dünndarm, Duodenum). Dazu fand sich ein Nachweis von CDH17 in Gallenblasenepithel, Pankreasausführungsgängen, einzelnen Zellen in Endometrium und Tonsille. Die Menge der CDH17-positiven Zellen ist möglicherweise in den Organen Gallenblase, Pankreas, Tonsille und Uterus zu klein, um bei einer RNA-Analyse von gesamten Organen nachweisbar zu werden. Die Befunde unserer CDH17-Anfärbungen wurden durch den Nachweis identischer Befunde mit einem zweiten unabhängigen Antikörper (ERP3996 von Abcam) bestätigt (Abbildung 36).

Zusammengefasst ergeben die Daten dieser Studie eine umfassende Übersicht über die CDH17 Expression in normalen und neoplastischen Geweben. Die Befunde sprechen für eine nützliche diagnostische Anwendung der CDH17 Immunhistochemie als Teil eines Panels für die Unterscheidung von metastasierten gastrointestinalen Adenokarzinomen von primären pulmonalen Adenokarzinomen und eventuell auch der Identifikation von intestinalen Subtypen von Adenokarzinomen in Magen, Ösophagus und Endozervix.

5. Zusammenfassung

Cadherin-17 (CDH17) ist ein Zelladhäsionsprotein, das vor allem in Epithelzellen des Darms vorkommt. CDH17 wird daher als mögliches diagnostisches und therapeutisches Ziel angesehen. Ziel dieser Studie war es, die Expression von CDH17 bei Krebs umfassend zu evaluieren und den diagnostischen Nutzen der immunhistochemischen CDH17-Analyse weiter zu bewerten. Ein Tissue-Mikro-Array mit 18 131 Proben von 150 verschiedenen Tumorarten und Subtypen sowie 76 verschiedenen normalen Gewebetypen wurde mittels Immunhistochemie (IHC) analysiert. In normalem Gewebe wurde eine membranöse CDH17-Färbung vor allem im Epithel des Darms und in den Ausführungsgängen des Pankreas festgestellt. Insgesamt wiesen 53 (35,3 %) von 150 Tumorkategorien eine CDH17-Positivität auf, darunter 26 (17,3 %) Kategorien mit mindestens einem stark positiven Fall. CDH17-Positivität war am häufigsten bei epithelialen und neuroendokrinen kolorektalen Neoplasien (50,0%-100%), anderen gastrointestinalen Adenokarzinomen (42,7%-61,6%), muzinösem Ovarialkarzinom (61,1%), Azinuszellkarzinom der Bauchspeicheldrüse (28,6%), Adenokarzinom der Zervix (52,6%), bilio-pankreatische Adenokarzinome (40,5-69,8%) und andere neuroendokrine Neoplasmen (5,6%-100%). Nur 9,9 % der 182 pulmonalen Adenokarzinome waren CDH17-positiv. Bei kolorektalen Adenokarzinomen war eine reduzierte CDH17-Färbung mit einem hohen pT ($p=0,0147$), nodaler Metastasierung ($p=0,0041$), V1 ($p=0,0025$), L1 ($p=0,0054$), Lokalisierung im rechten Kolon ($p=0,0033$) und Mikrosatelliteninstabilität ($p<0,0001$) verbunden. Bei Magen- und Pankreaskarzinomen stand die CDH17-Expressionsrate in keinem Zusammenhang mit dem Tumorphänotyp. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unser umfassender Überblick über die CDH17-Expression in menschlichen Tumoren verschiedene Tumorentitäten identifiziert hat, die häufig von Anti-CDH17-Therapien profitieren könnten, und dass die CDH17-IHC zur Unterscheidung von metastasierten gastrointestinalen oder bilio-pankreatischen Adenokarzinomen (häufig positiv) von primären pulmonalen Adenokarzinomen (meist negativ) nützlich ist.

6. English Summary

Cadherin-17 (CDH17) is a cell adhesion protein predominantly expressed in intestinal epithelial cells. CDH17 is therefore considered a possible diagnostic and therapeutic target. This study was to comprehensively determine the expression of CDH17 in cancer and to further assess the diagnostic utility of immunohistochemical CDH17 analysis. A tissue microarray containing 18,131 samples from 150 different tumor types and subtypes as well as 76 different normal tissue types was analyzed by immunohistochemistry (IHC). In normal tissues, a membranous CDH17 staining was predominantly seen in the epithelium of the intestine and pancreatic excretory ducts. Overall, 53 (35.3%) of 150 tumor categories showed CDH17 positivity including 26 (17.3%) categories with at least one strongly positive case. CDH17 positivity was most common in epithelial and neuroendocrine colorectal neoplasms (50.0%-100%), other gastrointestinal adenocarcinomas (42.7%-61.6%), mucinous ovarian cancer (61.1%), pancreatic acinar cell carcinoma (28.6%), cervical adenocarcinoma (52.6%), bilio-pancreatic adenocarcinomas (40.5-69.8%), and other neuroendocrine neoplasms (5.6%-100%). Only 9.9% of 182 pulmonary adenocarcinomas were CDH17 positive. In colorectal adenocarcinoma, reduced CDH17 staining was linked to high pT ($p=0.0147$), nodal metastasis ($p=0.0041$), V1 ($p=0.0025$), L1 ($p=0.0054$), location in the right colon ($p=0.0033$), and microsatellite instability ($p<0.0001$). The CDH17 expression level was unrelated to tumor phenotype in gastric and pancreatic cancer. In summary, our comprehensive overview on CDH17 expression in human tumors identified various tumor entities that might often benefit from anti-CDH17 therapies and suggest utility of CDH17 IHC for the distinction of metastatic gastrointestinal or bilio-pancreatic adenocarcinomas (often positive) from primary pulmonary adenocarcinomas (mostly negative).

7. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ACE	Angiotensin converting enzyme
APAAP	Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase
BAD	BCL-2 binding protein
BCL2	B.cell lymphoma 2
BILL-Cadherin	B-lineage-cells-Intestine-Leukocytes-Liver-Cadherin
CA-19-9	Carbohydrat-Antigen 19-9
CDH	Cadherin
CDX20	Caudal homeobox protein 20
CK20	Cytokeratin 20
CLDN18	Claudin 18
DAB	Diaminobenzidin
EC1	Extracellullar Cadherin 1
E-Cadherin	Epithelial-Cadherin
EPOS	Enhanced-Polymer-One-Step-Staining
ER	Estrogen receptor
GIST	Gastrointestinaler Stromatumor
GPA33	Glycoprotein A33
HER2	Humaner Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor Typ 2
HIER	Heat induced epitope retrieval
HPT1	Human peptide transporter 1
IPMN	Intraduktal Papillär Muzinöse Neoplasien
IWGAV	International working group for antibody validation
kDa	Kilodalton
KI-67	Kiel-67
KSP-Cadherin	Kidney-specific-Cadherin
LI-Cadherin	Liver-Intestine-Cadherin
mCNR	Modulation contrast-to-noise ratio
MMP2	Matrix metalloproteinase-2
MMP9	Matrix metalloproteinase-9
MSVA	Marco-Sauter Validated Antibodies
MTA	Medizintechnischer Assistent
NEC	Neuroendokrines Karzinom
NET	Neuroendokriner Tumor
NF-kB	Nukleärer Faktor kB
PAP	Peroxidase-Anti-Peroxidase
PAX8	Paired-Box-Protein 8
PR	Progesterone receptor
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RNA	Ribonucleic acid
SATB2	Special AT-rich sequence-binding protein 2
TBS-T	Tris-buffered saline with Tween20

TMA	Tissue-Micro-Array
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
WNT	Wingless-related integration site
YAP1	Yes-associated protein 1

8. Literaturverzeichnis

Abouelkhair, Mariam B.; Mabrouk, Shadia H.; Zaki, Sahar S. A.; Nada, Ola H.; Hakim, Sarah A. (2021): The Diagnostic Value of Cadherin 17 and CDX2 Expression as Immunohistochemical Markers in Colorectal Adenocarcinoma. In: *Journal of gastrointestinal cancer* 52 (3), S. 960–969. DOI: 10.1007/s12029-020-00513-w.

Ahl, Mareike; Weth, Agnes; Walcher, Sebastian; Baumgartner, Werner (2011): The function of 7D-cadherins: a mathematical model predicts physiological importance for water transport through simple epithelia. In: *Theoretical biology & medical modelling* 8, S. 18. DOI: 10.1186/1742-4682-8-18.

Altree-Tacha, David; Tyrrell, Jillian; Haas, Thomas (2017): CDH17 Is a More Sensitive Marker for Gastric Adenocarcinoma Than CK20 and CDX2. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 141 (1), S. 144–150. DOI: 10.5858/arpa.2015-0404-OA.

Angres, B.; Kim, L.; Jung, R.; Gessner, R.; Tauber, R. (2001): LI-cadherin gene expression during mouse intestinal development. In: *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 221 (2), S. 182–193. DOI: 10.1002/dvdy.1146.

Asaka, Shiho; Nakajima, Tomoyuki; Ida, Koichi; Asaka, Ryoichi; Kobayashi, Chinatsu; Ito, Masayuki et al. (2021): Clinicopathological and prognostic significance of immunophenotypic characterization of endocervical adenocarcinoma using CLDN18, CDH17, and PAX8 in association with HPV status. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. DOI: 10.1007/s00428-021-03207-1.

Asaka, Shiho; Nakajima, Tomoyuki; Kugo, Kaori; Kashiwagi, Risako; Yazaki, Nozomi; Miyamoto, Tsutomu et al. (2020): Immunophenotype analysis using CLDN18, CDH17, and PAX8 for the subcategorization of endocervical adenocarcinomas in situ: gastric-type, intestinal-type, gastrointestinal-type, and Müllerian-type. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 476 (4), S. 499–510. DOI: 10.1007/s00428-019-02739-x.

Bartolomé, R. A.; Barderas, R.; Torres, S.; Fernandez-Aceñero, M. J.; Mendes, M.; García-Foncillas, J. et al. (2014a): Cadherin-17 interacts with $\alpha 2\beta 1$ integrin to regulate cell proliferation and adhesion in colorectal cancer cells causing liver metastasis. In: *Oncogene* 33 (13), S. 1658–1669. DOI: 10.1038/onc.2013.117.

Bartolomé, Rubén A.; Aizpurua, Carmen; Jaén, Marta; Torres, Sofía; Calviño, Eva; Imbaud, Juan I.; Casal, J. Ignacio (2018): Monoclonal Antibodies Directed against Cadherin RGD Exhibit Therapeutic Activity against Melanoma and Colorectal Cancer Metastasis. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 24 (2), S. 433–444. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1444.

Bartolomé, Rubén A.; Peláez-García, Alberto; Gomez, Inmaculada; Torres, Sofía; Fernandez-Aceñero, María Jesús; Escudero-Paniagua, Beatriz et al. (2014b): An RGD motif present in cadherin 17 induces integrin activation and tumor growth. In: *The Journal of biological chemistry* 289 (50), S. 34801–34814. DOI: 10.1074/jbc.M114.600502.

Berndorff, D.; Gessner, R.; Kreft, B.; Schnoy, N.; Lajous-Petter, A. M.; Loch, N. et al. (1994): Liver-intestine cadherin: molecular cloning and characterization of a novel Ca(2+)-dependent cell adhesion molecule expressed in liver and intestine. In: *The Journal of cell biology* 125 (6), S. 1353–1369. DOI: 10.1083/jcb.125.6.1353.

Bian, Tingting; Zhao, Jinli; Feng, Jia; Zhang, Qing; Qian, Li; Liu, Jian et al. (2017): Combination of cadherin-17 and SATB homeobox 2 serves as potential optimal makers for the differential diagnosis of pulmonary enteric adenocarcinoma and metastatic colorectal adenocarcinoma. In: *Oncotarget* 8 (38), S. 63442–63452. DOI: 10.18632/oncotarget.18828.

Boggon, Titus J.; Murray, John; Chappuis-Flament, Sophie; Wong, Ellen; Gumbiner, Barry M.; Shapiro, Lawrence (2002): C-cadherin ectodomain structure and implications for cell adhesion mechanisms. In: *Science (New York, N.Y.)* 296 (5571), S. 1308–1313. DOI: 10.1126/science.1071559.

Brandler, Tamar C.; Jelloul, Fatima-Zahra; Soto, Daniel; Das, Kasturi; Rosen, Lisa; Bhuiya, Tawfiqul A. (2015): Young investigator challenge: Cadherin-17 and SATB2 in cytology specimens: Do these new immunostains help in differentiating metastatic colorectal adenocarcinoma from adenocarcinomas of other origins? In: *Cancer cytopathology* 123 (12), S. 706–713. DOI: 10.1002/cncy.21644.

Brasch, Julia; Harrison, Oliver J.; Honig, Barry; Shapiro, Lawrence (2012): Thinking outside the cell: how cadherins drive adhesion. In: *Trends in cell biology* 22 (6), S. 299–310. DOI: 10.1016/j.tcb.2012.03.004.

Camp, R. L.; Charette, L. A.; Rimm, D. L. (2000): Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 80 (12), S. 1943–1949. DOI: 10.1038/labinvest.3780204.

Casal, J. Ignacio; Bartolomé, Rubén A. (2018): RGD cadherins and $\alpha 2\beta 1$ integrin in cancer metastasis: A dangerous liaison. In: *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer* 1869 (2), S. 321–332. DOI: 10.1016/j.bbcan.2018.04.005.

Casal, J. Ignacio; Bartolomé, Rubén A. (2019): Beyond N-Cadherin, Relevance of Cadherins 5, 6 and 17 in Cancer Progression and Metastasis. In: *International journal of molecular sciences* 20 (13). DOI: 10.3390/ijms20133373.

CDH17 - Cadherin-17 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt (2023). Online verfügbar unter <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q12864/entry>, zuletzt aktualisiert am 02.02.2023, zuletzt geprüft am 02.02.2023.

CDH17 protein expression summary - The Human Protein Atlas (2022). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000079112-CDH17>, zuletzt aktualisiert am 18.02.2022, zuletzt geprüft am 18.02.2022.

CDH17 transcriptomics data - The Human Protein Atlas (2023). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000079112-CDH17/summary/rna>, zuletzt aktualisiert am 31.01.2023, zuletzt geprüft am 31.01.2023.

Chang, Ya-Yun; Yu, Linda Chia-Hui; Yu, I-Shing; Jhuang, Yu-Lin; Huang, Wei-Ju; Yang, Ching-Yao; Jeng, Yung-Ming (2018): Deletion of cadherin-17 enhances intestinal permeability and susceptibility to intestinal tumour formation. In: *The Journal of pathology* 246 (3), S. 289–299. DOI: 10.1002/path.5138.

Church, Deanna M.; Schneider, Valerie A.; Graves, Tina; Auger, Katherine; Cunningham, Fiona; Bouk, Nathan et al. (2011): Modernizing reference genome assemblies. In: *PLoS biology* 9 (7), e1001091. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001091.

Cummins, Carla; Ahamed, Alisha; Aslam, Raheela; Burgin, Josephine; Devraj, Rajkumar; Edbali, Ossama et al. (2022): The European Nucleotide Archive in

2021. In: *Nucleic acids research* 50 (D1), D106-D110. DOI: 10.1093/nar/gkab1051.

Cunningham, Fiona; Allen, James E.; Allen, Jamie; Alvarez-Jarreta, Jorge; Amode, M. Ridwan; Armean, Irina M. et al. (2022): Ensembl 2022. In: *Nucleic acids research* 50 (D1), D988-D995. DOI: 10.1093/nar/gkab1049.

Danielsson, Frida; Skogs, Marie; Huss, Mikael; Rexhepaj, Elton; O'Hurley, Gillian; Klevebring, Daniel et al. (2013): Majority of differentially expressed genes are down-regulated during malignant transformation in a four-stage model. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (17), S. 6853–6858. DOI: 10.1073/pnas.1216436110.

Dantzig, A. H.; Hoskins, J. A.; Tabas, L. B.; Bright, S.; Shepard, R. L.; Jenkins, I. L. et al. (1994): Association of intestinal peptide transport with a protein related to the cadherin superfamily. In: *Science (New York, N.Y.)* 264 (5157), S. 430–433. DOI: 10.1126/science.8153632.

Ding, Zhen-Bin; Shi, Ying-Hong; Zhou, Jian; Shi, Guo-Ming; Ke, Ai-Wu; Qiu, Shuang-Jian et al. (2009): Liver-intestine cadherin predicts microvascular invasion and poor prognosis of hepatitis B virus-positive hepatocellular carcinoma. In: *Cancer* 115 (20), S. 4753–4765. DOI: 10.1002/cncr.24513.

Direct vs indirect immunofluorescence | Abcam (2022). Online verfügbar unter <https://www.abcam.com/secondary-antibodies/direct-vs-indirect-immunofluorescence>, zuletzt aktualisiert am 23.12.2022, zuletzt geprüft am 23.12.2022.

DiVito, Kyle A.; Charette, Lori A.; Rimm, David L.; Camp, Robert L. (2004): Long-term preservation of antigenicity on tissue microarrays. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 84 (8), S. 1071–1078. DOI: 10.1038/labinvest.3700131.

Dong, Weiguo; Yu, Qiongfang; Xu, Yu (2007): Altered expression of a Li-cadherin in gastric cancer and intestinal metaplasia. In: *Digestive diseases and sciences* 52 (2), S. 536–542. DOI: 10.1007/s10620-006-9316-9.

Dong, Wei-Guo; Yu, Qiong-Fang; Xu, Yu; Fan, Li-Fang (2008): Li-cadherin is inversely correlated with galectin-3 expression in gastric cancer. In: *Digestive diseases and sciences* 53 (7), S. 1811–1817. DOI: 10.1007/s10620-007-0080-2.

Dum, David; Kromm, Daniela; Lennartz, Maximilian; Wispelaere, Noémi de; Büscheck, Franziska; Luebke, Andreas M. et al. (2022a): SATB2 Expression in Human Tumors. In: *Archives of pathology & laboratory medicine*. DOI: 10.5858/arpa.2021-0317-OA.

Dum, David; Menz, Anne; Völkel, Cosima; Wispelaere, Noémi de; Hinsch, Andrea; Gorbokon, Natalia et al. (2022b): Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in cancer: A tissue microarray study on 15,424 cancers. In: *Experimental and molecular pathology* 126, S. 104762. DOI: 10.1016/j.yexmp.2022.104762.

Ezaki, T. (1996): Antigen retrieval: its significance and drawbacks in immunohistochemistry. In: *Kaibogaku zasshi. Journal of anatomy* 71 (6), S. 615–628.

Fan, Zheng-Jun; Fang, Xiang-Jie; Wang, Jia-Xiang; Xue, Jian-Feng; Zhang, Yan (2011): Expression of liver-intestine cadherin and its significance in hepatocellular carcinoma. In: *Zhonghua yi xue za zhi* 91 (36), S. 2546–2548.

Fergenbaum, Jennifer H.; Garcia-Closas, Montserrat; Hewitt, Stephen M.; Lisowska, Jolanta; Sakoda, Lori C.; Sherman, Mark E. (2004): Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. In: *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 13 (4), S. 667–672. Online verfügbar unter <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15066936/>.

Fiorino, Cara; Harrison, Rene E. (2016): E-cadherin is important for cell differentiation during osteoclastogenesis. In: *Bone* 86, S. 106–118. DOI: 10.1016/j.bone.2016.03.004.

Franke, W. W.; Troyanovsky, S. M.; Koch, P. J.; Troyanovsky, R.; Fouquet, B.; Leube, R. E. (1992): Desmosomal proteins: mediators of intercellular coupling and intermediate filament anchorage. In: *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* 57, S. 643–652. DOI: 10.1101/sqb.1992.057.01.070.

Fukuda, Asami; Kodama, Yuichi; Mashima, Jun; Fujisawa, Takatomo; Ogasawara, Osamu (2021): DDBJ update: streamlining submission and access of human data. In: *Nucleic acids research* 49 (D1), D71-D75. DOI: 10.1093/nar/gkaa982.

Funakoshi, Shuichi; Shimizu, Takeyuki; Numata, Osamu; Ato, Manabu; Melchers, Fritz; Ohnishi, Kazuo (2015): BILL-cadherin/cadherin-17 contributes to the survival

of memory B cells. In: *PloS one* 10 (1), e0117566. DOI: 10.1371/journal.pone.0117566.

García-Martínez, Juan Manuel; Wang, Shirley; Weishaeupl, Cordula; Wernitznig, Andreas; Chetta, Paolo; Pinto, Catarina et al. (2021): Selective Tumor Cell Apoptosis and Tumor Regression in CDH17-Positive Colorectal Cancer Models using BI 905711, a Novel Liver-Sparing TRAILR2 Agonist. In: *Molecular cancer therapeutics* 20 (1), S. 96–108. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-20-0253.

Ge, Jie; Chen, Zhikang; Wu, Shaobin; Yuan, Weijie; Hu, Bin; Chen, Zihua (2008): A clinicopathological study on the expression of cadherin-17 and caudal-related homeobox transcription factor (CDX2) in human gastric carcinoma. In: *Clinical oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))* 20 (4), S. 275–283. DOI: 10.1016/j.clon.2008.01.013.

Gene: CDH17 (ENSG00000079112) - Summary - Homo_sapiens - GRCh37 Archive browser 108 (2023). Online verfügbar unter http://grch37.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000079112;r=8:95139399-95229531, zuletzt aktualisiert am 31.01.2023, zuletzt geprüft am 31.01.2023.

Geßner, Reinhard (2015): Biomolekulare Interaktionen. Unter Mitarbeit von Universitätsbibliothek der FU Berlin.

Gray, Michelle E.; Sotomayor, Marcos (2021): Crystal structure of the nonclassical cadherin-17 N-terminus and implications for its adhesive binding mechanism. In: *Acta crystallographica. Section F, Structural biology communications* 77 (Pt 3), S. 85–94. DOI: 10.1107/S2053230X21002247.

Grötzinger, C.; Kneifel, J.; Patschan, D.; Schnoy, N.; Anagnostopoulos, I.; Faiss, S. et al. (2001): LI-cadherin: a marker of gastric metaplasia and neoplasia. In: *Gut* 49 (1), S. 73–81. DOI: 10.1136/gut.49.1.73.

GTEEx Portal (2022). Online verfügbar unter <https://gtexportal.org/home/>, zuletzt aktualisiert am 31.10.2022, zuletzt geprüft am 05.02.2023.

Hantschke, Markus; Palmedo, Gabriele (2015): Immunhistologische Techniken. In: Lorenzo Cerroni, Claus Garbe, Dieter Metzger, Heinz Kutzner und Helmut Kerl (Hg.): *Histopathologie der Haut*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 1–28.

Harding, James J.; Hofheinz, Ralf-Dieter; Elez, Elena; Kuboki, Yasutoshi; Rasco, Drew W.; Cecchini, Michael et al. (2023): A phase Ia/b first-in-human, open-label, multicenter study of BI 905711, a bispecific TRAILR2 agonist, in patients with advanced gastrointestinal cancers. In: *JCO* 41 (4_suppl), S. 115. DOI: 10.1200/JCO.2023.41.4_suppl.115.

Hatta, K.; Nose, A.; Nagafuchi, A.; Takeichi, M. (1988): Cloning and expression of cDNA encoding a neural calcium-dependent cell adhesion molecule: its identity in the cadherin gene family. In: *The Journal of cell biology* 106 (3), S. 873–881. DOI: 10.1083/jcb.106.3.873.

Hirano, S.; Nose, A.; Hatta, K.; Kawakami, A.; Takeichi, M. (1987): Calcium-dependent cell-cell adhesion molecules (cadherins): subclass specificities and possible involvement of actin bundles. In: *The Journal of cell biology* 105 (6 Pt 1), S. 2501–2510. DOI: 10.1083/jcb.105.6.2501.

Hoffman, Elizabeth A.; Frey, Brian L.; Smith, Lloyd M.; Auble, David T. (2015): Formaldehyde crosslinking: a tool for the study of chromatin complexes. In: *The Journal of biological chemistry* 290 (44), S. 26404–26411. DOI: 10.1074/jbc.R115.651679.

Hoos, A.; Urist, M. J.; Stojadinovic, A.; Mastorides, S.; Dudas, M. E.; Leung, D. H. et al. (2001): Validation of tissue microarrays for immunohistochemical profiling of cancer specimens using the example of human fibroblastic tumors. In: *The American journal of pathology* 158 (4), S. 1245–1251. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64075-8.

Huang, Li-Ping; Yu, Yan-Hong; Sheng, Chao; Wang, Sui-Hai (2012): Up-regulation of cadherin 17 and down-regulation of homeodomain protein CDX2 correlate with tumor progression and unfavorable prognosis in epithelial ovarian cancer. In: *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 22 (7), S. 1170–1176. DOI: 10.1097/IGC.0b013e318261d89c.

IHC Sample Visualization (2022), zuletzt aktualisiert am 27.03.2022, zuletzt geprüft am 27.03.2022.

Ito, Reiko; Oue, Naohide; Yoshida, Kazuhiro; Kunimitsu, Kyoko; Nakayama, Hirofumi; Nakachi, Kei; Yasui, Wataru (2005): Clinicopathological significant and

prognostic influence of cadherin-17 expression in gastric cancer. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 447 (4), S. 717–722. DOI: 10.1007/s00428-005-0015-2.

Jiang, X. J.; Lin, J.; Cai, Q. H.; Zhao, J. F.; Zhang, H. J. (2019): CDH17 alters MMP-2 expression via canonical NF- κ B signalling in human gastric cancer. In: *Gene* 682. DOI: 10.1016/j.gene.2018.05.042.

Johnson, Adam; Wright, Jesse P.; Zhao, Zhiguo; Komaya, Tatsuki; Parikh, Alexander; Merchant, Nipun; Shi, Chanjuan (2015): Cadherin 17 is frequently expressed by 'sclerosing variant' pancreatic neuroendocrine tumour. In: *Histopathology* 66 (2), S. 225–233. DOI: 10.1111/his.12535.

Jung, R.; Wendeler, M. W.; Danevad, M.; Himmelbauer, H.; Gessner, R. (2004): Phylogenetic origin of LI-cadherin revealed by protein and gene structure analysis. In: *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 61 (10), S. 1157–1166. DOI: 10.1007/s00018-004-3470-z.

Karlsson, Max; Zhang, Cheng; Méar, Loren; Zhong, Wen; Digre, Andreas; Katona, Borbala et al. (2021): A single-cell type transcriptomics map of human tissues. In: *Science advances* 7 (31). DOI: 10.1126/sciadv.abh2169.

Kim, So-Woon; Roh, Jin; Park, Chan-Sik (2016): Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. In: *Journal of pathology and translational medicine* 50 (6), S. 411–418. DOI: 10.4132/jptm.2016.08.08.

Kmeid, Michel; Lukose, Georgi; Hodge, Kyle; Cho, Daniel; Kim, Kelly-Ann; Lee, Hwajeong (2021): Aberrant expression of SATB2, CDX2, CDH17 and CK20 in hepatocellular carcinoma: a pathological, clinical and outcome study. In: *Histopathology* 79 (5), S. 768–778. DOI: 10.1111/his.14420.

Ko, Samuel; Chu, Kent-Man; Luk, John M.; Wong, Bonnie W.; Yuen, Siu-Tsan; Leung, Suet-Yi; Wong, John (2004): Overexpression of LI-cadherin in gastric cancer is associated with lymph node metastasis. In: *Biochemical and biophysical research communications* 319 (2), S. 562–568. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.04.197.

Ko, Samuel; Chu, Kent-Man; Luk, John Moon-Ching; Wong, Bonnie Wing-Yan; Yuen, Siu-Tsan; Leung, Suet-Yi; Wong, John (2005): CDX2 co-localizes with liver-intestine cadherin in intestinal metaplasia and adenocarcinoma of the stomach. In: *The Journal of pathology* 205 (5), S. 615–622. DOI: 10.1002/path.1741.

- Kohmura, N.; Senzaki, K.; Hamada, S.; Kai, N.; Yasuda, R.; Watanabe, M. et al. (1998): Diversity revealed by a novel family of cadherins expressed in neurons at a synaptic complex. In: *Neuron* 20 (6), S. 1137–1151. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)80495-x.
- Kononen, J.; Bubendorf, L.; Kallioniemi, A.; Bärklund, M.; Schraml, P.; Leighton, S. et al. (1998): Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. In: *Nature medicine* 4 (7), S. 844–847. DOI: 10.1038/nm0798-844.
- Kreft, B.; Berndorff, D.; Böttlinger, A.; Finnemann, S.; Wedlich, D.; Hortsch, M. et al. (1997): LI-cadherin-mediated cell-cell adhesion does not require cytoplasmic interactions. In: *The Journal of cell biology* 136 (5), S. 1109–1121. DOI: 10.1083/jcb.136.5.1109.
- Kremmidiotis, G.; Baker, E.; Crawford, J.; Eyre, H. J.; Nahmias, J.; Callen, D. F. (1998): Localization of human cadherin genes to chromosome regions exhibiting cancer-related loss of heterozygosity. In: *Genomics* 49 (3), S. 467–471. DOI: 10.1006/geno.1998.5281.
- Krohn, Antje; Diedler, Tobias; Burkhardt, Lia; Mayer, Pascale-Sophie; Silva, Colin de; Meyer-Kornblum, Marie et al. (2012): Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. In: *The American journal of pathology* 181 (2), S. 401–412. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.026.
- Kuhlmann, Laura; Nadler, Wiebke M.; Kerner, Alexander; Hanke, Sabrina A.; Noll, Elisa M.; Eisen, Christian et al. (2017): Identification and Validation of Novel Subtype-Specific Protein Biomarkers in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. In: *Pancreas* 46 (3), S. 311–322. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000743.
- Kwak, Jung-Myun; Min, Byung-Wook; Lee, Ju-Han; Choi, Jong-Sang; Lee, Sun-II; Park, Sung-Soo et al. (2007): The prognostic significance of E-cadherin and liver intestine-cadherin expression in colorectal cancer. In: *Diseases of the colon and rectum* 50 (11), S. 1873–1880. DOI: 10.1007/s10350-007-9034-1.
- Lee, Chao-Wei; Lin, Sey-En; Tsai, Hsin-I; Su, Po-Jung; Hsieh, Chia-Hsun; Kuo, Yung-Chia et al. (2017): Cadherin 17 is related to recurrence and poor prognosis of cytokeratin 19-positive hepatocellular carcinoma. In: *Oncology letters* 15 (1), S. 559–567. DOI: 10.3892/ol.2017.7320.

Lee, Hyuk-Joon; Nam, Ki Taek; Park, Heae Surng; Kim, Min A.; Lafleur, Bonnie J.; Aburatani, Hiroyuki et al. (2010): Gene expression profiling of metaplastic lineages identifies CDH17 as a prognostic marker in early-stage gastric cancer. In: *Gastroenterology* 139 (1), 213-25.e3. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.008.

Li, Rui; Yang, Hong-Qiang; Xi, Hai-Lin; Feng, Su; Qin, Rui-Hao (2017a): Inhibition of CDH17 gene expression via RNA interference reduces proliferation and apoptosis of human MKN28 gastric cancer cells. In: *International journal of oncology* 50 (1), S. 15–22. DOI: 10.3892/ijo.2016.3783.

Li, Rui; Yang, Hong-Qiang; Xi, Hai-Lin; Feng, Su; Qin, Rui-Hao (2017b): Inhibition of CDH17 gene expression via RNA interference reduces proliferation and apoptosis of human MKN28 gastric cancer cells. In: *International journal of oncology* 50 (1), S. 15–22. DOI: 10.3892/ijo.2016.3783.

Lin, Fan; Shi, Jianhui; Zhu, Shaobo; Chen, Zongming; Li, Aihua; Chen, Taiying et al. (2014a): Cadherin-17 and SATB2 are sensitive and specific immunomarkers for medullary carcinoma of the large intestine. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 138 (8), S. 1015–1026. DOI: 10.5858/arpa.2013-0452-OA.

Lin, Zhaohu; Zhang, Chao; Zhang, Meifang; Xu, Danqing; Fang, Yanfen; Zhou, Zheng et al. (2014b): Targeting cadherin-17 inactivates Ras/Raf/MEK/ERK signaling and inhibits cell proliferation in gastric cancer. In: *PloS one* 9 (1), e85296. DOI: 10.1371/journal.pone.0085296.

Liu, Fangfang; Gao, Zhidong; Shen, Danhua; Zhao, Haiou; Wang, Chao; Ye, Yingjiang et al. (2019a): Significance of SATB2 expression in colon cancer and its differential diagnosis in digestive tract adenocarcinoma and ovarian primary and metastatic carcinoma. In: *Pathology, research and practice* 215 (7), S. 152430. DOI: 10.1016/j.prp.2019.04.022.

Liu, Ling Xiao; Lee, Nikki P.; Chan, Vivian W.; Xue, Wen; Zender, Lars; Zhang, Chunsheng et al. (2009): Targeting Cadherin-17 Inactivates Wnt Signaling and Inhibits Tumor Growth in Liver Carcinoma. In: *Hepatology (Baltimore, Md.)* 50 (5), S. 1453–1463. DOI: 10.1002/hep.23143.

Liu, Meng; Han, Zheng; Zhu, Qing-Xi; Tan, Jie; Liu, Wei-Jie; Wang, Yan-Fen et al. (2018): Downregulation of liver-intestine cadherin enhances cisplatin-induced

apoptosis in human gastric cancer BGC823 cells. In: *Cancer gene therapy* 25 (1-2), S. 1–9. DOI: 10.1038/s41417-017-0001-2.

Liu, Xinjian; Huang, Yue; Yuan, Hao; Qi, Xiaoqiang; Manjunath, Yariswamy; Avella, Diego et al. (2019b): Disruption of oncogenic liver-intestine cadherin (CDH17) drives apoptotic pancreatic cancer death. In: *Cancer letters* 454, S. 204–214. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.04.022.

Lizio, Marina; Harshbarger, Jayson; Shimoji, Hisashi; Severin, Jessica; Kasukawa, Takeya; Sahin, Serkan et al. (2015): Gateways to the FANTOM5 promoter level mammalian expression atlas. In: *Genome Biol* 16 (1), S. 22. DOI: 10.1186/s13059-014-0560-6.

Lopes, Nair; Bergsland, Christian; Bruun, Jarle; Bjørnslett, Merete; Vieira, André Filipe; Mesquita, Patrícia et al. (2020): A panel of intestinal differentiation markers (CDX2, GPA33, and LI-cadherin) identifies gastric cancer patients with favourable prognosis. In: *Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association* 23 (5), S. 811–823. DOI: 10.1007/s10120-020-01064-6.

Lum, Yick-Liang; Luk, John M.; Staunton, Donald E.; Ng, Dennis K. P.; Fong, Wing-Ping (2020): Cadherin-17 Targeted Near-Infrared Photoimmunotherapy for Treatment of Gastrointestinal Cancer. In: *Molecular pharmaceuticals* 17 (10), S. 3941–3951. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00700.

Ma, Haifen; Yu, Jihong; Tang, Jingjing (2019): LI-cadherin and CDX2: Useful Markers in Metastatic Gastrointestinal Adenocarcinoma Cells in Serous Cavity Effusion. In: *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* 27 (8), e75-e80. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000694.

McNeill, H.; Ozawa, M.; Kemler, R.; Nelson, W. J. (1990): Novel function of the cell adhesion molecule uvomorulin as an inducer of cell surface polarity. In: *Cell* 62 (2), S. 309–316. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90368-o.

Meng, W.; Gu, T.; Gao, L. M.; Zong, Z. G.; Meng, L.; Fu, Z. Z.; Guo, L. (2015): Correlation of cadherin-17 protein expression with clinicopathological features and prognosis of patients with sporadic gastric cancer. In: *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 48 (12), S. 1077–1086. DOI: 10.1590/1414-431X20154645.

Mirlacher, Martina; Kasper, Marlis; Storz, Martina; Knecht, Yvonne; Dürmüller, Ursula; Simon, Ronald et al. (2004): Influence of slide aging on results of translational research studies using immunohistochemistry. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 17 (11), S. 1414–1420. DOI: 10.1038/modpathol.3800208.

Mokrowiecka, Anna; Zonnur, Sarah; Veits, Lothar; Musial, Jacek; Kordek, Radzislaw; Lochowski, Mariusz et al. (2013): Liver-intestine-cadherin is a sensitive marker of intestinal differentiation during Barrett's carcinogenesis. In: *Digestive diseases and sciences* 58 (3), S. 699–705. DOI: 10.1007/s10620-012-2425-8.

Nagar, B.; Overduin, M.; Ikura, M.; Rini, J. M. (1996): Structural basis of calcium-induced E-cadherin rigidification and dimerization. In: *Nature* 380 (6572), S. 360–364. DOI: 10.1038/380360a0.

National Cancer Institute (2023): The Cancer Genome Atlas Program. Online verfügbar unter <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>, zuletzt aktualisiert am 30.01.2023, zuletzt geprüft am 31.01.2023.

Nose, A.; Takeichi, M. (1986): A novel cadherin cell adhesion molecule: its expression patterns associated with implantation and organogenesis of mouse embryos. In: *The Journal of cell biology* 103 (6 Pt 2), S. 2649–2658. DOI: 10.1083/jcb.103.6.2649.

Ohnishi, K.; Shimizu, T.; Karasuyama, H.; Melchers, F. (2000): The identification of a nonclassical cadherin expressed during B cell development and its interaction with surrogate light chain. In: *The Journal of biological chemistry* 275 (40), S. 31134–31144. DOI: 10.1074/jbc.M005901200.

Ohnishi, Kazuo; Melchers, Fritz; Shimizu, Takeyuki (2005): Lymphocyte-expressed BILL-cadherin/cadherin-17 contributes to the development of B cells at two stages. In: *European journal of immunology* 35 (3), S. 957–963. DOI: 10.1002/eji.200425853.

Ota, Hiroyoshi; Ito, Masayuki; Kobayashi, Chinatsu; Asaka, Shiho; Iwaya, Mai; Uehara, Takeshi (2021): Superiority of sucrase-isomaltase to CD10 for immunohistochemical detection of intestinal absorptive cell phenotype in differentiated-

type gastric adenocarcinoma. In: *International journal of clinical and experimental pathology* 14 (10), S. 1031–1037. DOI: None.

Overduin, M.; Harvey, T. S.; Bagby, S.; Tong, K. I.; Yau, P.; Takeichi, M.; Ikura, M. (1995): Solution structure of the epithelial cadherin domain responsible for selective cell adhesion. In: *Science (New York, N.Y.)* 267 (5196), S. 386–389. DOI: 10.1126/science.7824937.

Ozawa, M.; Baribault, H.; Kemler, R. (1989): The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. In: *The EMBO journal* 8 (6), S. 1711–1717. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb03563.x.

Ozawa, M.; Kemler, R. (1998): The membrane-proximal region of the E-cadherin cytoplasmic domain prevents dimerization and negatively regulates adhesion activity. In: *The Journal of cell biology* 142 (6), S. 1605–1613. DOI: 10.1083/jcb.142.6.1605.

Ozawa, M.; Ringwald, M.; Kemler, R. (1990): Uvomorulin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (11), S. 4246–4250. DOI: 10.1073/pnas.87.11.4246.

Panarelli, Nicole C.; Yantiss, Rhonda K.; Yeh, Matthew M.; Liu, Yifang; Chen, Yao-Tseng (2012): Tissue-specific cadherin CDH17 is a useful marker of gastrointestinal adenocarcinomas with higher sensitivity than CDX2. In: *American Journal of Clinical Pathology* 138 (2), S. 211–222. DOI: 10.1309/AJCPKSHXI3XEHW1J.

Park, Sung-Soo; Kang, Sang-Hee; Park, Joong-Min; Kim, Jong-Han; Oh, Sang-Cheul; Lee, Ju-Han et al. (2007): Expression of liver-intestine cadherin and its correlation with lymph node metastasis in gastric cancer: can it predict N stage preoperatively? In: *Annals of surgical oncology* 14 (1), S. 94–99. DOI: 10.1245/s10434-006-9114-9.

Prichard, Jeffrey W. (2014): Overview of automated immunohistochemistry. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 138 (12), S. 1578–1582. DOI: 10.5858/arpa.2014-0083-RA.

Qiu, Hai-bo; Zhang, Li-yi; Ren, Chao; Zeng, Zhao-lei; Wu, Wen-jing; Luo, Hui-yan et al. (2013): Targeting CDH17 suppresses tumor progression in gastric cancer by

downregulating Wnt/ β -catenin signaling. In: *PloS one* 8 (3), e56959. DOI: 10.1371/journal.pone.0056959.

Rao, Qiu; Williamson, Sean R.; Lopez-Beltran, Antonio; Montironi, Rodolfo; Huang, Wenbin; Eble, John N. et al. (2013): Distinguishing primary adenocarcinoma of the urinary bladder from secondary involvement by colorectal adenocarcinoma: extended immunohistochemical profiles emphasizing novel markers. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 26 (5), S. 725–732. DOI: 10.1038/modpathol.2012.229.

Ruiz, Christian; Seibt, Silvia; Al Kuraya, Khawla; Siraj, Abdul K.; Mirlacher, Martina; Schraml, Peter et al. (2006): Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. In: *International journal of cancer* 118 (9), S. 2190–2194. DOI: 10.1002/ijc.21581.

Ryu, Kum Hei; Shim, Ki-Nam; Jung, Sung-Ae; Yoo, Kwon; Joo, Yang-Hee; Lee, Joo Ho (2012): Significance of preoperative tissue levels of vascular-endothelial cadherin, liver-intestine cadherin and vascular endothelial growth factor in gastric cancer. In: *The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi* 60 (4), S. 229–241. DOI: 10.4166/kjg.2012.60.4.229.

Sakamoto, Naoya; Oue, Naohide; Sentani, Kazuhiro; Anami, Katsuhiko; Uraoka, Naohiro; Naito, Yutaka et al. (2012): Liver-intestine cadherin induction by epidermal growth factor receptor is associated with intestinal differentiation of gastric cancer. In: *Cancer science* 103 (9), S. 1744–1750. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02353.x.

Sano, K.; Tanihara, H.; Heimark, R. L.; Obata, S.; Davidson, M.; St John, T. et al. (1993): Protocadherins: a large family of cadherin-related molecules in central nervous system. In: *The EMBO journal* 12 (6), S. 2249–2256. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1993.tb05878.x.

Sayers, Eric W.; Bolton, Evan E.; Brister, J. Rodney; Canese, Kathi; Chan, Jessica; Comeau, Donald C. et al. (2022): Database resources of the national center for biotechnology information. In: *Nucleic acids research* 50 (D1), D20-D26. DOI: 10.1093/nar/gkab1112.

Shapiro, L.; Fannon, A. M.; Kwong, P. D.; Thompson, A.; Lehmann, M. S.; Grübel, G. et al. (1995a): Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. In: *Nature* 374 (6520), S. 327–337. DOI: 10.1038/374327a0.

Shapiro, L.; Kwong, P. D.; Fannon, A. M.; Colman, D. R.; Hendrickson, W. A. (1995b): Considerations on the folding topology and evolutionary origin of cadherin domains. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92 (15), S. 6793–6797. DOI: 10.1073/pnas.92.15.6793.

Simon, Ronald; Mirlacher, Martina; Sauter, Guido (2004): Tissue microarrays. In: *BioTechniques* 36 (1), S. 98–105. DOI: 10.2144/04361RV01.

Simon, Ronald; Sauter, Guido (2003): Tissue microarray (TMA) applications: implications for molecular medicine. In: *Expert reviews in molecular medicine* 5 (26), S. 1–12. DOI: 10.1017/S1462399403006781.

Snow, Anthony N.; Mangray, Shamlal; Lu, Shaolei; Clubwala, Rashna; Li, Jianhong; Resnick, Murray B.; Yakirevich, Evgeny (2015): Expression of cadherin 17 in well-differentiated neuroendocrine tumours. In: *Histopathology* 66 (7), S. 1010–1021. DOI: 10.1111/his.12610.

Stockinger, A.; Eger, A.; Wolf, J.; Beug, H.; Foisner, R. (2001): E-cadherin regulates cell growth by modulating proliferation-dependent beta-catenin transcriptional activity. In: *The Journal of cell biology* 154 (6), S. 1185–1196. DOI: 10.1083/jcb.200104036.

Su, Min-Cheng; Yuan, Ray-Hwang; Lin, Chiao-Ying; Jeng, Yung-Ming (2008): Cadherin-17 is a useful diagnostic marker for adenocarcinomas of the digestive system. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 21 (11), S. 1379–1386. DOI: 10.1038/modpathol.2008.107.

Takamura, Masaaki; Ichida, Takafumi; Matsuda, Yasunobu; Kobayashi, Masaaki; Yamagiwa, Satoshi; Genda, Takuya et al. (2004): Reduced expression of liver-intestine cadherin is associated with progression and lymph node metastasis of human colorectal carcinoma. In: *Cancer letters* 212 (2), S. 253–259. DOI: 10.1016/j.canlet.2004.03.016.

Takamura, Masaaki; Sakamoto, Michiie; Ino, Yoshinori; Shimamura, Takeshi; Ichida, Takafumi; Asakura, Hitoshi; Hirohashi, Setsuo (2003): Expression of liver-

intestine cadherin and its possible interaction with galectin-3 in ductal adenocarcinoma of the pancreas. In: *Cancer science* 94 (5), S. 425–430. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01459.x.

Takamura, Masaaki; Yamagiwa, Satoshi; Wakai, Toshifumi; Tamura, Yasushi; Kamimura, Hiroteru; Kato, Takashi et al. (2010): Loss of liver-intestine cadherin in human intrahepatic cholangiocarcinoma promotes angiogenesis by up-regulating metal-responsive transcription factor-1 and placental growth factor. In: *International journal of oncology* 36 (1), S. 245–254.

Takeichi, M. (1977): Functional correlation between cell adhesive properties and some cell surface proteins. In: *The Journal of cell biology* 75 (2 Pt 1), S. 464–474. DOI: 10.1083/jcb.75.2.464.

Takeichi, M. (1988): The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. In: *Development (Cambridge, England)* 102 (4), S. 639–655. DOI: 10.1242/dev.102.4.639.

Takeichi, Masatoshi (2018): Historical review of the discovery of cadherin, in memory of Tokindo Okada. In: *Development, growth & differentiation* 60 (1), S. 3–13. DOI: 10.1111/dgd.12416.

Thomson, R. B.; Igarashi, P.; Biemesderfer, D.; Kim, R.; Abu-Alfa, A.; Soleimani, M.; Aronson, P. S. (1995): Isolation and cDNA cloning of Ksp-cadherin, a novel kidney-specific member of the cadherin multigene family. In: *The Journal of biological chemistry* 270 (29), S. 17594–17601. DOI: 10.1074/jbc.270.29.17594.

Torhorst, J.; Bucher, C.; Kononen, J.; Haas, P.; Zuber, M.; Köchli, O. R. et al. (2001): Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints. In: *The American journal of pathology* 159 (6), S. 2249–2256. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63075-1.

Tu, Lin; Xu, Jia; Wang, Ming; Zhao, Wen-Yi; Zhang, Zi-Zhen; Zhu, Chun-Chao et al. (2016): Correlations of fascin-1 and cadherin-17 protein expression with clinicopathologic features and prognosis of patients with gastric cancer. In: *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 37 (7), S. 8775–8782. DOI: 10.1007/s13277-015-4368-0.

Uhlen, Mathias; Bandrowski, Anita; Carr, Steven; Edwards, Aled; Ellenberg, Jan; Lundberg, Emma et al. (2016): A proposal for validation of antibodies. In: *Nat Methods* 13 (10), S. 823–827. DOI: 10.1038/nmeth.3995.

UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023 (2023). In: *Nucleic acids research* 51 (D1), D523-D531.

Vangala, Deepak B. (2014): LI-Cadherin als potentieller Biomarker bei Krebserkrankungen von Darm, Leber und Lunge. Charité - Universitätsmedizin Berlin.

Varghese, Sheelu; Burness, Monika; Xu, Hui; Beresnev, Tatiana; Pingpank, James; Alexander, H. Richard (2007): Site-specific gene expression profiles and novel molecular prognostic factors in patients with lower gastrointestinal adenocarcinoma diffusely metastatic to liver or peritoneum. In: *Annals of surgical oncology* 14 (12), S. 3460–3471. DOI: 10.1245/s10434-007-9557-7.

Vleminckx, Kris; Kemler, Rolf (1999): Cadherins and tissue formation: integrating adhesion and signaling. In: *Bioessays* 21 (3), S. 211–220. DOI: 10.1002/(SICI)1521-1878(199903)21:3<211::AID-BIES5>3.0.CO;2-P.

Wang, Gang; Black, Peter C.; Goebell, Peter J.; Ji, Lingyun; Cordon-Cardo, Carlos; Schmitz-Dräger, Bernd et al. (2021): Prognostic markers in pT3 bladder cancer: A study from the international bladder cancer tissue microarray project. In: *Urologic oncology* 39 (5), 301.e17-301.e28. DOI: 10.1016/j.urolonc.2021.01.021.

Wang, Jin; Kang, Wei-Ming; Yu, Jian-Chun; Liu, Yu-Qin; Meng, Qing-Bin; Cao, Zhan-Jiang (2013): Cadherin-17 induces tumorigenesis and lymphatic metastasis in gastric cancer through activation of NFκB signaling pathway. In: *Cancer biology & therapy* 14 (3), S. 262–270. DOI: 10.4161/cbt.23299.

Wang, Jin; Yu, Jian-Chun; Kang, Wei-Ming; Wang, Wen-Ze; Liu, Yu-Qin; Gu, Pei (2012): The predictive effect of cadherin-17 on lymph node micrometastasis in pN0 gastric cancer. In: *Annals of surgical oncology* 19 (5), S. 1529–1534. DOI: 10.1245/s10434-011-2115-3.

Wang, Xujie; Li, Zhihua; Fu, Jixin; Xu, Weiwei; Li, Zongxian (2020): Diagnostic value and prognostic significance of LI-cadherin and miR-378e in colorectal cancer. In: *Oncology letters* 20 (3), S. 2456–2464. DOI: 10.3892/ol.2020.11755.

Wendeler, M. W.; Jung, R.; Himmelbauer, H.; Gessner, R. (2006): Unique gene structure and paralogy define the 7D-cadherin family. In: *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 63 (13), S. 1564–1573. DOI: 10.1007/s00018-006-6014-x.

Wendeler, Markus (2004): Charakterisierung der molekularen Bindungseigenschaften von 7D-Cadherinen. Unter Mitarbeit von Universitätsbibliothek der FU Berlin.

Werner, M.; Chott, A.; Fabiano, A.; Battifora, H. (2000): Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. In: *The American journal of surgical pathology* 24 (7), S. 1016–1019. DOI: 10.1097/00000478-200007000-00014.

Weth, Agnes; Dippl, Carsten; Striedner, Yasmin; Tiemann-Boege, Irene; Vereshchaga, Yana; Golenhofen, Nikola et al. (2017): Water transport through the intestinal epithelial barrier under different osmotic conditions is dependent on LI-cadherin trans-interaction. In: *Tissue barriers* 5 (2), e1285390. DOI: 10.1080/21688370.2017.1285390.

Wild, Peter J.; Kunz-Schughart, Leoni A.; Stoehr, Robert; Burger, Maximilian; Blaszyk, Hagen; Simon, Ronald et al. (2005): High-throughput tissue microarray analysis of COX2 expression in urinary bladder cancer. In: *International journal of oncology* 27 (2), S. 385–391.

Wong, Bonnie W.; Luk, John M.; Ng, Irene O.; Hu, Mei Y.; Liu, Kang D.; Fan, S. T. (2003): Identification of liver-intestine cadherin in hepatocellular carcinoma--a potential disease marker. In: *Biochemical and biophysical research communications* 311 (3), S. 618–624. DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.10.032.

Wong, Dennis A.; Luk, Moon Ching; Wong, Tony K.; Staunton, Donald E.; Harlan, John M. (2021): Efficacy and preclinical safety of ARB202, a potential first-in-class anti-CDH17/CD3 bispecific T-cell engager, for treatment of pancreatic and colorectal cancers. In: *JCO* 39 (3_suppl), S. 405. DOI: 10.1200/JCO.2021.39.3_suppl.405.

Ye, Min; Huang, Dan; Zhang, Qiongyan; Weng, Weiwei; Tan, Cong; Qin, Guangqi et al. (2020): Heterogeneous programmed death-ligand 1 expression in gastric cancer: comparison of tissue microarrays and whole sections. In: *Cancer cell international* 20, S. 186. DOI: 10.1186/s12935-020-01273-0.

Yoshida, C.; Takeichi, M. (1982): Teratocarcinoma cell adhesion: identification of a cell-surface protein involved in calcium-dependent cell aggregation. In: *Cell* 28 (2), S. 217–224. DOI: 10.1016/0092-8674(82)90339-7.

Yoshimura, Kiyoshi; Meckel, Kristen F.; Laird, Lindsay S.; Chia, Christina Y.; Park, Jang-June; Olino, Kelly L. et al. (2009): Integrin alpha2 mediates selective metastasis to the liver. In: *Cancer research* 69 (18), S. 7320–7328. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0315.

Zheng, Bo-Hao; Shen, Sheng; Wong, Kwong-Fai; Gong, Zi-Jun; Sun, Wen-Tao; Ni, Xiao-Jian et al. (2021): Clinical correlation of cadherin-17 marker with advanced tumor stages and poor prognosis of cholangiocarcinoma. In: *Journal of surgical oncology* 123 (5), S. 1253–1262. DOI: 10.1002/jso.26399.

9. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlich bei Herrn Prof. Dr. Guido Sauter bedanken, der mir nicht nur die Möglichkeit zu dieser Promotionsarbeit gab, sondern für mich auch einen Mentor darstellt, der in vielerlei Hinsicht fördern konnte und mir bei der Entdeckung meiner Selbst in Hinblick auf meine Schwächen half. Außerdem möchte ich Frau Martina Kluth, Herrn Prof. Dr. Ronald Simon und Frau Laura Behm für die gute Mitbetreuung und Unterstützung danken.

Des Weiteren extendiere ich meinen Dank auf Carolina Castillo, Verena Ullmann, Dennis Atug sowie auf die anderen Mitdoktoranden für die gute und angenehme Zusammenarbeit.

Abschließend möchte ich in meiner Danksagung auch meine Familie und meine besten Freunde Nessar Ahmad Noori sowie Wilhelm Flat erwähnen, die mir stets beiseite standen bei Herausforderungen und Schwierigkeiten jeglicher Art.

10. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Ramesh Pushpadevan
Geburtsdatum	05.03.1997
Geburtsort	Hamburg, Deutschland

Schulischer Werdegang

10/2016-11//2023	Medizinstudium an der Universität Hamburg
09/2015-09/2016	FSJ beim Erzbistum Hamburg im Alters-und Pflegeheim Farmsen (Malteser)
09/2007-07/2015	Margaretha-Rothe-Gymnasium in Hamburg Abschluss der Allgemeinen Hochschulreife mit der Note 1,2 Wahl der Leistungskurse Biologie, Physik, Englisch und Mathematik
01/2006-07/2007	Schule an der Seebeck
09/2003-01/2006	Schule Bandwirker Straße

11. Eidesstattliche Erklärung

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:

A handwritten signature in blue ink on a grey rectangular background. The signature is stylized and appears to read 'Ranz'.