

**Expression von StAR in menschlichen Tumoren und
Normalgeweben:
Eine Tissue-Microarray-Studie an 19.202 Tumoren**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin (Dr. med.)

an der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Daniela Amirzada

aus

Korbach

2025

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Guido Sauter

Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Aymelt Itzen

Vorsitz der Prüfungskommission: Prof. Dr. Aymelt Itzen

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Ulrich Wenzel

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Elke Oetjen

Datum der mündlichen Prüfung: 01.04.2026

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1. StAR-Protein	5
1.1.1. Struktur und Aufbau.....	6
1.1.2. Wirkungsmechanismus	9
1.2. Klinische Relevanz in der Tumorthherapie.....	12
1.3. StAR-Mutation	15
1.4. Expression im Normalgewebe	16
1.5. Bedeutung in Tumoren	17
1.6. Proteinexpression	18
1.7. Zielsetzung	20
2. Material und Methoden.....	21
2.1. Tissue-Microarray-Technik.....	21
2.2. TMAs für das vorgesehene Projekt.....	26
2.3. Immunhistochemie	33
2.4. Immunhistochemie im Rahmen des Projekts.....	38
2.5. Statistik.....	39
3. Ergebnisse	40
3.1. Technische Aspekte.....	40
3.2. StAR in Normalgewebe.....	40
3.3. StAR in Tumorgeweben.....	49
3.4. StAR versus Melan A (kreuzreaktiv)	63
4. Diskussionen.....	65
5. Zusammenfassung	71
6. English Summary.....	72
7. Literaturverzeichnis.....	73
8. Abbildungsverzeichnis	85
9. Tabellenverzeichnis	87

10. Abkürzungsverzeichnis.....	88
11. Erklärung des Eigenanteils.....	89
12. Eidesstattliche Erklärung.....	90
13. Danksagung.....	91

1. Einleitung

1.1. StAR-Protein

Das StAR-Protein (Synonym: STARD1), auch bekannt als „steroidogenic acute regulatory protein“, ist ein Transportprotein, welches für den Cholesterintransfer innerhalb der Mitochondrien verantwortlich ist. Dabei wirkt StAR ausschließlich auf der zytosolischen Seite der äußeren Mitochondrienmembran. Das lipophile Cholesterin kann den wässrigen Intermembranraum ohne das Transportprotein StAR, nicht überqueren (Sugawara et al. 1995). Daher transportiert StAR das Cholesterin von der äußeren, cholesterinreichen zur inneren, cholesterinarmen Mitochondrienmembran. Zielstruktur ist hierbei das sich auf der Matrixseite der inneren Mitochondrienmembran befindliche Enzym Cholesterin-Desmolase (Synonyme: CYP11A1, Cytochrom-P-450) (Miller 2007). Das Enzym spaltet hierbei die Seitenkette des Cholesterins ab und es entsteht bei dem Prozess Pregnenolon. Dieser Vorgang beinhaltet den ersten Schritt der Steroidsynthese. Somit reguliert StAR den ersten, geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Steroidsynthese (Selvaraj et al. 2018).

Frühere Studien deuteten darauf hin, dass die Transkriptionsrate des StAR-Gens eine der wichtigsten Determinanten der Steroidgenese ist. Die genauen biochemischen Abläufe des Transferprozesses sind noch nicht geklärt. Es bestehen zahlreiche Theorien hinsichtlich eines Shuttles, Kanals beziehungsweise einer Membranbrücke (Miller 2007).

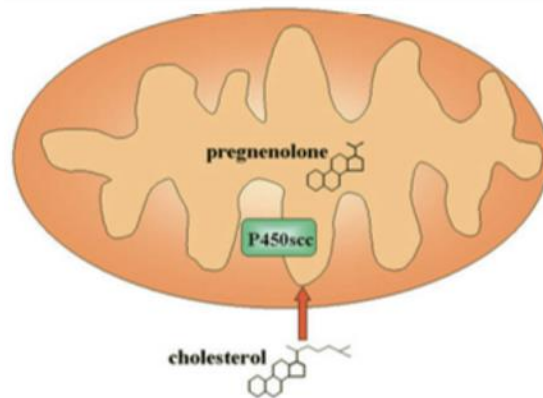


Abbildung 1: Steroidhormonsynthese. Der erste Schritt der Steroidhormonsynthese findet in den Mitochondrien der Steroidhormon produzierenden Zellen statt. Das Cholesterin muss dazu von der äußeren Mitochondrienmembran zur inneren transportiert werden. Auf der Matrixseite der inneren Mitochondrienmembran befindet sich das Cytochrom p450 side chain cleavage Enzymsystem (p450scc), das die Abspaltung der Seitenkette vom Cholesterin durchführt. Dabei wird das Steroid Pregnenolon gebildet. (Modifiziert nach Thomson 2003)

1.1.1. Struktur und Aufbau

Das für StAR codierende Gen ist auf dem Chromosom 8p11.2 des humanen Genoms lokalisiert. Es besitzt sieben Exons, welche von 6 Introns unterbrochen werden und eine Gesamtlänge von 8 Kilobasenpaaren aufweist (Sugawara et al. 1995). Das StAR-Gen ist ein nukleäres Gen, das für ein 37-kDa- Präprotein kodiert. Dieses wird dann als kurzlebige 37-kDa-Präprotein im Zytoplasma synthetisiert und besteht insgesamt aus 285 Aminosäuren (Clark und Stocco 2014a, 2014b, 2024).

Das StAR-Protein besitzt zwei Domänen, eine N-terminalen mitochondrialen Targeting-Sequenz und eine C-terminalen START-Domäne. Mit seinem N-Terminus bindet StAR zielgerichtet an die Mitochondrien. Dieses Signal wird beim Eindringen in das Mitochondriuminnere abgespalten und StAR wird hierdurch inaktiviert. Durch die Abspaltung der N-terminalen mitochondrialen Importsequenz entsteht ein 32 kDa-Zwischenprodukt, welches letztendlich zu einer reifen, langlebigen intramitochondrialen 30-kDa-Form verarbeitet wird. Die 37-kDa-Form ist somit die Vorstufe, und das 30-kDa-Protein, welches sich in der Matrix befindet, die reife Form. (Miller 2007). Dadurch besteht StAR lediglich aus einer funktionellen Domäne. Die C-terminale START-Domäne besitzt eine alpha/beta-Helix-Griff-Faltstruktur, die ein neunstrangiges antiparalleles Blatt enthält (Sugawara et al. 1995). Dieses Blatt bildet eine lange hydrophobe Tasche, an die Cholesterin

bindet. Die Aminosäuresequenz der StAR-Funktionsdomäne wurde zur Identifizierung der START-Domänenfamilie (START für steroidogenic acute regulatory protein (StAR)-related lipid-transfer domain) verwendet. START-Domänen binden hydrophobe Lipide. StAR gehört zur START-Unterfamilie der Säugetiere (STARD1). Die STARD1-Unterfamilie besteht aus zwei Mitgliedern, StAR (STARD1) und MLN64 (STARD3). Die START-Domäne des StAR-Proteins fördert die Translokation von Cholesterin zwischen den beiden Mitochondrienmembranen (Selvaraj et al. 2018).

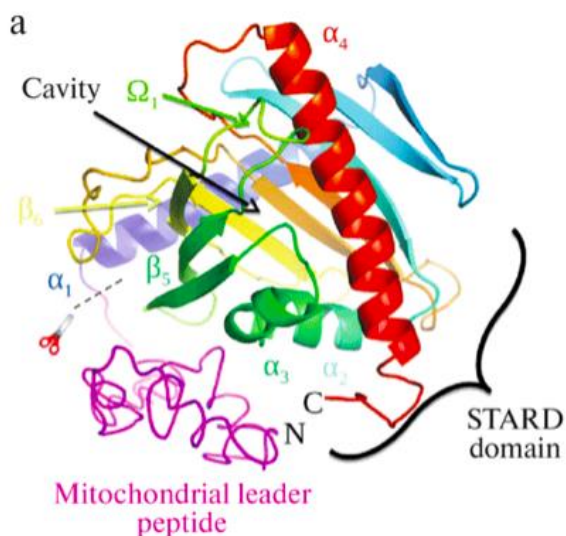


Abbildung 2: Struktur des StAR-Proteins. Dargestellt ist die C-terminale START-Domäne und die N-Terminale mitochondriale Importsequenz in lila. Die START-Domäne hat eine typische α - β -Helix-Griffstruktur mit neun β -Strängen, die von zwei α 1- und α 4-Helices flankiert werden. Die Wände der hydrophoben Tasche werden von den zentralen β -Strängen, drei α 2 α 4-Helices und der Ω 1-Schleife zwischen den β 5- und β 6-Strängen gebildet. Die gestrichelte Linie zeigt die vermutliche Stelle der Leaderpeptidspaltung in der mitochondrialen Matrix an. (Modifiziert nach Tugaeva und Sluchanko 2019)

Die StAR-Genexpression findet in der Nebennierenrinde und in den Keimdrüsen statt. In der Nebennierenrinde findet die Expression vor allem in der Zona fasciculata und in der Zona reticularis statt. In der Zona glomerulosa ist eine verhältnismäßig geringere Expression zu finden. Die Genexpression in der Nebennierenrinde wird von dem tropischen Hormon Adrenocorticotropin-Hormon (ACTH) gesteuert. Dabei sezerniert der Hypothalamus pulsatil das Corticotropin Releasing Hormon (CRH), welches auf die Hypophyse wirkt. Die Hypophyse sezerniert daraufhin ACTH. ACTH wirkt auf die Nebennierenrinde und veranlasst neben der Steroidbiosynthese die Regulierung des StAR-Proteins (Anuka et al. 2013). Ähnlich verhält es sich bei den Keimdrüsen. Der Hypothalamus sezerniert pulsatil das Gonadotropin- Releasing Hormon (GnRH). Auf die Hypophyse wirkend werden

Gonadotropine sezerniert, wobei das luteinisierende Hormon (LH) auf die Hoden, und das Follikel stimulierende Hormon (FSH) auf die Eierstöcke wirkt. Neben der Produktion von Testosteron beziehungsweise Estradiol wird die StAR-Produktion in den entsprechenden Geweben reguliert (Selvaraj et al. 2018). Die drei tropischen Hormone (LH, FSH, ACTH) binden dabei an ihre kognitiven 7-Transmembran-G-Protein-gekoppelten-Rezeptoren, wodurch eine Signalkaskade aktiviert wird. Nach der Ligandenbindung erhöht die Adenylatzyklase (AC) mittels Adenosintri-phosphats (ATP) den cAMP-Spiegel. Dieser Vorgang führt zur Aktivierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase A (cAMP-PKA), der Phospholipase C-Diacylglycerin-Proteinkinase C-Inositol-1,4,5-Trisphosphat (PLC-DAG-PKC-IP3), der mitogenaktivierten Kinase (MAPK) und der Kalzium-Signalwege. Der mRNA-Spiegel von STAR wird akut (innerhalb von Minuten) nach einer Stimulation durch tropische Hormone erhöht. Die Transkription ist unabhängig von der Proteinsynthese (Cycloheximid-unempfindlich) und die Expression ist vorübergehend, da die Transkription nach Wegfall des Stimulus endet (Clark und Stocco 2014a, 2014b, 2024).

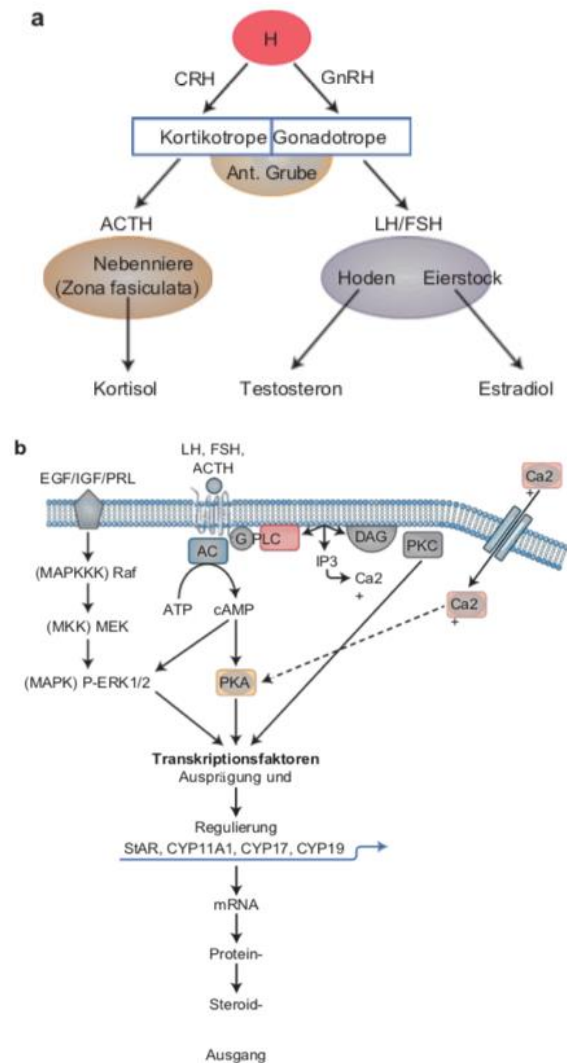


Abbildung 3: Regulierung der Steroidbiosynthese. a) Dargestellt ist die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Gonaden-Achse. Der Ablauf ist im Text aufgeführt. b) Aufgeführt sind die Mechanismen für eine erhöhte StAR- und steroidogene Genexpression nach Stimulation durch tropische Hormone. Der Signaltransduktionsweg ist im Text beschrieben. (Modifiziert nach Clark und Stocco 2014b, 2024)

1.1.2. Wirkungsmechanismus

Cholesterin ist als lipophile Substanz in wässrigen Lösungen (z. Bsp. im Blut, Lymphe, Gallenflüssigkeit etc.) nicht löslich. Daher muss das Cholesterin in eine wasserlösliche Form umgewandelt werden. Je nach Transportweg und -ort werden unterschiedliche Transportmedien wie Mizellen, Lipoproteine, StAR und strukturell verwandte StAR-Proteine (StARD3,-4,-5,-6) genutzt (Miller 2007). Das aus der Nahrung aufgenommene, beziehungsweise mittels Biosynthese hergestellte Cholesterin wird unter katabolen Bedingungen in der Leber zusammen mit Triglyzeriden und Proteinen in VLDL (Very low Density Lipoproteine) verpackt. VLDL versorgt das oxidative Gewebe mit Triglyzeriden und wird so zu LDL (Low Density Lipoproteine) umgebaut. LDL, welches aus VLDL entsteht, ist cholesterinreich und

versorgt das extrahepatische Gewebe mit Cholesterin. Zudem kontrolliert LDL im peripheren Gewebe die De-novo-Synthese von Cholesterin. LDL-Partikel gelten als wichtigste Cholesterin-Transportmoleküle im Blut. Über den LDL-Rezeptor werden zwei Drittel des Cholesterins mittels Endozytose in die Zelle aufgenommen. Der Rest erfolgt über Scavenger-Rezeptoren (Ginsberg 1998). Die LDL-Partikel besitzen eine B-100-Proteinkomponente, mit der sie ein spezifisches Rezeptorprotein auf der Plasmamembran binden. Diese spezifischen LDL-Rezeptoren konzentrieren sich an den sogenannten „coated pits“ (Caveolae). Diese Rezeptor-LDL-Komplexe werden mittels Endozytose in die Zelle geschleust. Es bilden sich sogenannte „coated vesicle“ (Nordestgaard und Tybjaerg-Hansen 1992). Diese Vesikel werden mithilfe einer Clathrinhülle stabilisiert, welche kurz nach der Abschnürung des Vesikels zerfallen. Dadurch entsteht ein Endosom. Während der Reifung des Endosoms fällt der pH-Wert kontinuierlich, wodurch es zur Trennung des LDL-Partikels vom LDL-Rezeptor kommt (Simons und Ikonen 2000). Während des Rezeptor-Recyclings fusionieren die LDL-haltigen Endosomen mit den Lysosomen. Es findet ein enzymatischer Abbau der LDL-Partikel statt, wobei der Proteinanteil in Aminosäuren hydrolysiert und die Cholesterinester, mittels lysosomale saure Lipasen, in Cholesterin und freie Fettsäuren gespalten werden (Elshourbagy et al. 2014). Für den Cholesterintransport aus den Lysosomen heraus sind die Proteine NPC1 und MLN64 (STARD3) notwendig. Mittels dieser Proteine gelangt ein Teil des Cholesterins aus den Lysosomen zum endoplasmatischen Retikulum (ER) (Lange et al. 1991). Das unveresterte Cholesterin gelangt von dort aus zur Plasmamembran, wo es für die Membransynthese verwendet werden kann. Zudem kann das unveresterte Cholesterin zur Speicherung in die Zelle mittels des Enzyms Acyl-Coenzym A: Cholesterin-Acyltransferase (ACAT) neu verestert werden. Das Enzym ACAT ist am ER lokalisiert, welches die Veresterung des Cholesterins aus den Lysosomen, sowie des im ER neu synthetisierten Cholesterins katalysiert. Die Cholesterinester können nun in intrazelluläre Lipidtröpfchen gespeichert werden (Norum 2017; Norum 1977). Dieser Vorgang erfolgt bei einem Überangebot von Cholesterin in den Zellen. Die Veresterung erfolgt aufgrund der toxischen Wirkung von zu viel freiem Cholesterin in der Zelle. Unter katabolen Bedingungen können diese Veresterungen mittels einer Cholesterinesterase aufgespalten werden, und das Cholesterin steht dem Gewebe wieder zur Verfügung. Das sich im Zytoplasma befindliche Cholesterin wird an die C-terminale START-

Domäne des StAR-Proteins gebunden, dabei bildet StAR eine Cholesterin-Tasche aus. Anschließend erfolgt der Transport zur äußeren Mitochondrienmembran. Nach Bindung des StAR-Proteins an den Mitochondrien, hebt sich die C-terminale-Helix aus der Cholesterin-Tasche ab und setzt dadurch das Cholesterin frei (Arakane et al. 1998). Wenn StAR mit seinen protonierten Phospholipid-Kopfgruppen auf der äußeren Mitochondrienmembran interagiert, durchläuft es eine Konformationsänderung (molten globule transition), dadurch öffnet und schließt sich die cholesterinbindende Tasche von StAR. Dieser Vorgang geschieht durch säurebedingtes Aufbrechen der Wasserstoffbrückenbildung (Stocco und Clark 1996). Es wird angenommen, dass der Import und die Verarbeitung von StAR durch die Mitochondrien ein „Aus“-Schalter für den Cholesterintransfer und damit für die Steroidgenese sind (Miller 2007). Das freigesetzte Cholesterin kann anschließend von weiteren Proteinen (v.a. TSPO) in eine Pore der inneren Mitochondrienmembran überführt werden. Die Bindungsaffinität von TSPO (Translocator Protein) an Cholesterin ist deutlich höher als StAR. TSPO bindet PAP7 an der äußeren Mitochondrienmembran, an welches sich die ProteinkinaseA anlagert, die StAR phosphoryliert und dadurch die Pregenolon-Bildung beschleunigt (Selvaraj et al. 2018). Zudem wird vermutet, dass StAR bei dem Transportprozess mit dem peripheren Benzodiazepinrezeptor interagiert, der sich an der äußeren Mitochondrienmembran befindet (Miller 2014). An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass der genaue Wirkmechanismus von StAR noch nicht geklärt ist (Miller 2007).

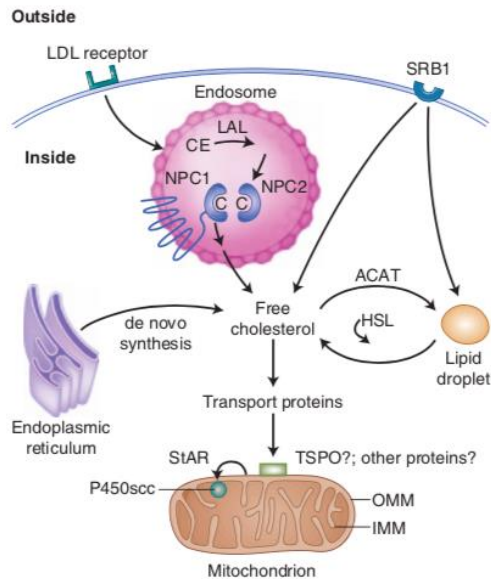


Abbildung 4: Cholesterintransport. Cholesterin wird in Form von LDL-Partikeln über den LDL-Rezeptor beziehungsweise in Form von HDL-Partikeln über den Scavenger Rezeptor (SR-B1) in die Zelle aufgenommen. Das NPC1 Protein sowie das MLN64 Protein (STARD3) sind für den Cholesterintransport aus den Endosomen/Lysosomen heraus verantwortlich. Ein Teil des Cholesterins wird von den Lysosomen zum ER transportiert. Das in der Membran des Endoplasmatischen Retikulums (ER) lokalisierte Protein ACAT (Acyl-CoA: Cholesterin Acyltransferase) katalysiert die Veresterung des aus den späten Endosomen/Lysosomen stammenden und des im ER neu synthetisierten Cholesterins. Das veresterte Cholesterin kann in intrazellulären Lipidtröpfchen gespeichert werden. Das StAR-Protein ist notwendig für den Cholesterintransport von der äußeren zur inneren Mitochondrienmembran. TSPO und wahrscheinlich andere Proteine sind für den Transport des Cholesterins durch die Poren der inneren Mitochondrienmembran verantwortlich. An der inneren Mitochondrienmembran wird Cholesterin mittels des Enzyms P450scc zu dem Steroidhormon Pregnenolon umgewandelt. (Modifiziert nach Miller 2014)

1.2. Klinische Relevanz in der Tumorthherapie

Das StAR-Protein hat unter anderem eine klinische Relevanz bei Leberkarzinomen. Es wurde beobachtet, dass der Gehalt des mitochondrialen Cholesterins (Crain et al. 1983; Feo et al. 1975) sowie des StAR-Proteins in transformierten menschlichen Hepatozyten wesentlich höher ist als im Vergleich zu primären Hepatozyten (Hall et al. 2005). Mitochondrien gelten als cholesterinärmere Organellen, die nicht mehr als 3-5% des Plasmamembrangehalts dieses Sterols enthalten sollten (Maxfield und Tabas 2005). Aufgrund dieser Beobachtung haben Montero et al. die Hypothese aufgestellt, dass die Anreicherung von Cholesterin in den Mitochondrien zu einer geringeren Anfälligkeit für den apoptotischen Zelltod führt und die Zellen somit resistenter gegen eine Krebstherapie machen könnten. Demzufolge würde StAR einen Schutz vor einer Chemotherapie induzierten Apoptose bewirken (Montero et al. 2008). Folglich führte die Behandlung von Tumorzellen mit einem zytotoxischen Anthrazyklin (Doxorubicin) zu einer vermehrten Apoptose,

sofern die endogene Cholesterinsynthese durch Statine oder die erhöhten StAR-Werte in hepatozellulären Humankarzinomzellen reduziert worden waren. Bose et al. stellten die Vermutung auf, dass ausschlaggebend für den von StAR initiierten Schutz vor einer Chemotherapie-induzierten Apoptose die Interaktion von StAR mit dem VDAC (voltage-dependent-anion-channel) wäre (Bose et al. 2008; Rone et al. 2009; Rone et al. 2012). Bei diesem spannungsabhängigen Anionenkanal handelt es sich um eine Pore der äußeren Mitochondrienmembran. Diese Kanäle sind nicht nur für eine geregelte Funktionsfähigkeit der Mitochondrien entscheidend, sondern auch an der Apoptose der Mitochondrien beteiligt (Keinan et al. 2010). Aufgrund dieser Beobachtungen haben Bose et al. die Hypothese aufgestellt, dass die Expression von StAR für eine Krebszelle aufgrund der Beeinträchtigung der VDAC-Funktion bei der Apoptose von Vorteil sei (Bose et al. 2008).

Eine weitere, wesentliche Rolle könnte StAR in kastrationsresistenten Prostatakarzinomen spielen. Der bösartige Tumor in der Vorsteherdrüse gehört zur zweithäufigsten Krebserkrankung bei Männern. Da es anfangs indolent und asymptomatisch ist, wird er oftmals erst später entdeckt. Die Inzidenz- und Mortalitätsraten von Prostatakrebs korrelieren stark mit dem Alter. Die höchste Inzidenz ist bei älteren Männern (ab 65 Jahre) zu beobachten (Rawla 2019). Als wichtiges Therapietarget gilt hierbei die Anti-Hormontherapie, die auf das Steroid Testosteron abzielt. Der Zusammenhang zwischen Testosteron und Prostatakarzinom wurde erstmals von Huggins et al. berichtet (Huggins und Hodges 2002; Huggins und Hodges 1972; Huggins 1941). Dabei stellten sie nicht nur fest, dass Testosteron die Proliferation der Krebszellen fördert, sondern dass eine Kastration sich prognostisch günstig auswirkt (Huggins 1941). Angesichts dieser Beweise wurde die Kastration als erste wirksame Behandlung für metastasierenden Prostatakrebs festgelegt (Huggins und Hodges 1972; Huggins und Hodges 2002; Huggins 1941). Heutzutage wird bei einem fortgeschrittenen Prostatakarzinom mittels der Androgendeprivation (ADT) der Spiegel der Hormone Testosteron und Dihydrotestosteron gesenkt. Dabei wird die medikamentöse Kastration der chirurgischen vorgezogen (Teo et al. 2019). Metastasen des Prostatakarzinoms sind zunächst immer hormonabhängig, somit sind sie auf Testosteron als ihre Nahrungsquelle angewiesen. Aus diesem Grund können sie durch eine Hormonentzugstherapie in ihrem Wachstum kontrolliert werden (Yassin et al. 2019). Der Nachteil der Anti-Hormontherapie ist jedoch, dass sich häufig eine Resistenz gegen die medikamentöse

Kastration entwickelt, die auch Kastrationsresistenz genannt wird. Bei diesem kastrationsrefraktärem Prostatakarzinom ist ein erneutes Tumorwachstum durch eine zunehmende Testosteron-Empfindlichkeit der Tumorzellen zu beobachten (Grasso et al. 2012). Diese erworbene Empfindlichkeit liegt an der vermehrten Bildung von Androgenrezeptoren durch die Tumorzellen. Ein anderer dazu synergistischer Mechanismus ist, dass Teile der nach einer ADT überlebenden Prostatakarzinomzellen vermehrt ihr eigenes Androgen produzieren, welches sie zum Überleben brauchen (Locke et al. 2010; Locke et al. 2008). Beispielsweise können Fettsäuren wie die Arachidonsäure in steroidarmen Prostatakrebszellen die Androgensynthese auslösen (Locke et al. 2010). Die Arachidonsäure aktiviert StAR, welches freies Cholesterin in die Mitochondrien transportiert. Somit induziert Arachidonsäure den ersten geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Steroidbiosynthese mittels des StAR-Proteins (Locke et al. 2010). Zudem untersuchten Locke et al. die Proteinexpression von StAR in den Mitochondrien (Locke et al. 2010; Locke et al. 2008). Während die Expression von StAR in allen Fraktionen niedrig blieb, stieg sie jedoch bei Abwesenheit von Androgenen an (Locke et al. 2010). So erhielten Locke et al. die Erkenntnis, dass StAR in Abwesenheit von Androgenen aktiv wird und vermehrt hochreguliert wird (Locke et al. 2010). Aus diesem Grund empfehlen Locke et al. die Fettsäurewege bei fortschreitendem Prostatakrebs therapeutisch anzugehen (Locke et al. 2010).

Die StAR-Expression ist auch bei adrenokortikalen Adenomen (kurz: ACA) von Bedeutung. Beim adrenokortikalen Adenom handelt es sich um eine gutartige Vergrößerung der Nebenniere. ACA kann mit einem Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom) oder mit einer vermehrten Glukokortikoidbildung (Morbus Cushing) vergesellschaftet sein (Elbanan et al. 2020). Die StAR-Expression zeigt dabei eine klare Korrelation mit Genmutationen im Zusammenhang mit dem cAMP/PKA-Signalweg. Dabei sind die PKA-Aktivität (Proteinkinase A) und die StAR-Expression bei ACA mit Mutationen in PRKACA-Gen signifikant erhöht. Zu beachten ist hierbei, dass die Induktion von cAMP und die daraus resultierende cAMP-abhängige Signalübertragung zweifellos der Hauptweg ist, der die StAR-Expression und die Steroidbiosynthese reguliert (Cao et al. 2014). Des Weiteren wurde in der Studie von Zhou et al. eine hohe Expression von StAR in Tumoren mit Mutationen in PRKACA, GNAS und PRKAR1A nachgewiesen. Aufgrund dieser Ergebnisse sei laut Zhou et al. die immunhistochemische Färbung von StAR ein zuverlässiger

pathologischer Marker für die Diagnose und Klassifikation von adrenokortikalen Adenomen mit Mutationen im cAMP/PKA-Signalweg (Zhou et al. 2016).

1.3. StAR-Mutation

Inaktivierende Mutationen (sog. loss-of-function Mutationen) im StAR-Gen können die Ursache für die selten auftretende, kongenitale lipoide Nebennierenhyperplasie (kurz CLAH) sein. Dabei handelt es sich um eine Sonderform des adrenogenitalen Syndroms und wird als AGS-Typ 1 bezeichnet. Diese äußerst seltene Mutation wird autosomal-rezessiv vererbt (Stratakis und Rennert 1999). Seit der Kartierung des StAR-Proteins im Jahre 1995 seitens Sugawara wurden 77 Mutationen (Stand 2017) in diversen ethnischen Gruppen identifiziert. Während die StAR p.Q258 Mutation häufig bei Koreanern, Japanern und Chinesen auftritt, sind die p.R1182L- und c.201_202delCT-Mutationen häufig bei palästinensischen Arabern zu beobachten (Kang et al. 2017; Abdulhadi-Atwan et al. 2007). Im östlichen Saudi-Arabien hingegen ist die P.R182H-Mutation vertreten und in der Schweizer-Bevölkerung die p.L260P-Mutation (Chen et al. 2005; Flück et al. 2005). Bei CLAH, die ursprünglich von Prader und Siebenmann beschrieben wurde, handelt es sich um die schwerste Form der kongenitalen Nebennierenhyperplasie (Prader und Siebenmann 1957). Hierbei ist die Synthese der Sexualhormone sowie der Glukokortikosteroide gestört (Katsumata et al. 1999). Neben einer schweren Nebennierenrindeninsuffizienz haben die Betroffenen vergrößerte Nebennieren, die hohe Mengen an Cholesterin und Cholesterinestern enthalten. Bei Frauen produzieren die fetalen Ovarien wenig beziehungsweise keine Steroide. Dieser suboptimale Östrogenspiegel führt zur geringfügigen Feminisierung. Bei Männern ist zudem eine erhöhte Lipidakkumulation in den Leydig-Zellen des Hodens beobachtet worden, da aufgrund der StAR-Mutation die Umwandlung von Cholesterin in Pregnenolon nicht stattfinden kann. Zudem ist beim männlichen Geschlecht eine Geschlechtsumkehr zu beobachten, da diese nicht virilisiert sind und somit den vollständigen Phänotyp eines Mädchens entsprechen (Katsumata et al. 1999). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die meisten Patienten unabhängig vom genetischen Geschlecht weibliche äußere Genitalien entwickeln, da die Androgenproduktion in den Hoden ausbleibt (Kang et al. 2017). Häufige und teilweise lebensbedrohliche Symptome in den ersten Lebenswochen sind hypoglykämische Krämpfe, Erbrechen oder Symptome der Dehydratation. In einigen Fällen kann als

Notfall eine Nebenniereninsuffizienz auftreten. Des Weiteren weisen die betroffenen Patienten eine Hyperpigmentierung der Haut sowie einen Salzverlust auf, letzteres wird mit einer Steroidersatztherapie behandelt (Huang et al. 2016).

1.4. Expression im Normalgewebe

Die mRNA-Expression von StAR im Normalgewebe ist in Abbildung 5 dargestellt. Laut dem Human Protein Atlas wird StAR vor allem in der Nebenniere, den Ovarien und den Hoden exprimiert (Tissue expression of STAR - Summary - The Human Protein Atlas 2024). Auch die Literaturrecherche auf Pubmed bestätigt, dass StAR primär von den steroidproduzierenden Zellen exprimiert wird. In der Nebennierenrinde findet die Expression von StAR hauptsächlich in der Zona fasciculata, Zona reticularis und Zona glomerulosa statt (Pollack et al. 1997). Darüber hinaus sind die Gonaden ebenfalls an der StAR-Expression beteiligt. Beim männlichen Geschlecht findet die StAR-Expression in den Leydig-Zellen des Hodens statt, während diese beim weiblichen Geschlecht in den Theka- und Granulosazellen der Ovarien stattfindet. StAR soll auch in vielen anderen Geweben exprimiert werden, die Steroidhormone für den lokalen Gebrauch produzieren. Hierzu gehören: Gehirn, Auge, Herz, Lunge, Hautzellen (Sebozyten), Fettgewebe, Bauchspeicheldrüse, Niere, Leber, Darm/Dickdarm und vaskuläre Endothelzellen (Anuka et al. 2013). Geschlechtsunterschiede in der Produktion zeigen sich im Pankreas. Das Organ exprimiert bei Frauen eine geringere Anzahl an StAR-Proteine als beim männlichen Geschlecht (Morales et al. 2008). Im Gegensatz zur tierischen Plazenta, findet in der menschlichen Plazenta keine StAR-Expression statt. Dort scheinen alternative Mechanismen wie STARD3 zu existieren, die den mitochondrialen Cholesterintransport erleichtern (Anuka et al. 2013; Kim et al. 2003).

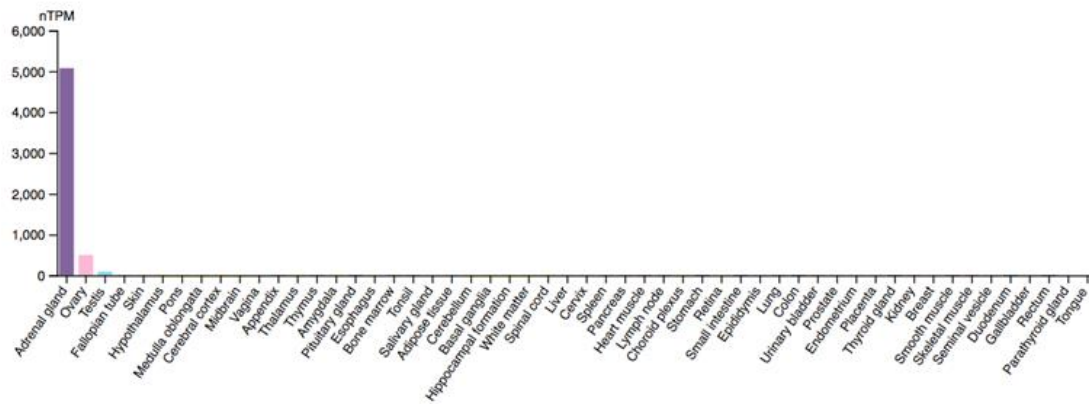


Abbildung 5: RNA Expression von StAR im humanen Gewebe. Verwendete Abkürzung: nTPM Network Termination for Primary rate Multiplex access. Abbildung entnommen aus The Human Protein Atlas, Stand 07.01.2024. Quelle: (Tissue expression of STAR - Summary - The Human Protein Atlas 2024)

1.5. Bedeutung in Tumoren

Abbildung 6 stellt eine Übersicht der mRNA-Expressionen in verschiedenen Tumorentitäten aus dem Human Protein Atlas dar. Dabei ist eine deutliche Anreicherung in folgenden Krebsarten zu erkennen: Krebs im Bereich des Kopfes und Halses, Lungenkrebs, Eierstock- sowie Hodenkrebs. Auch die Literaturrecherche auf Pubmed bestätigt, dass eine erhöhte StAR-Expression in pathologisch veränderten, steroidproduzierenden Organen vorzufinden ist. Eine erhöhte Expression von StAR findet sich beispielsweise in Nebennierenkarzinomen (Zhou et al. 2016; Pereira et al. 2020).

Die StAR-Expression dient bei Keimstrang-Stroma-Tumoren als nützlicher Marker. Als Sex Cord Stromal Tumoren (kurz SCT) werden eine Gruppe von Tumoren bestehend aus Granulosa-, Theka-, Sertoli-, Leydigzellen sowie Fibroblasten bezeichnet. Laut den Erkenntnissen von Dong et al. dient das StAR-Protein als nützlicher Marker für die Differentialdiagnose von SCSTs (Dong et al. 2011). Grund hierfür sei, dass es sehr empfindlich und spezifisch für Leydigzellen sei. Somit können Tumoren, die diese Komponente enthalten, gut abgegrenzt werden. Zu diesen Tumoren zählen die Leydig-Zell-Tumoren (LCT) und die Sertoli-Leydig-Zell-Tumoren (SLCT). Zudem kann StAR fokal in Granulosazell-Tumoren exprimiert werden (Dong et al. 2011). Für Sertoli-Zellen und luteinisierenden Thekazellen ist StAR jedoch negativ (Dong et al. 2011). In der Studie von Dong et al. war die Expression von StAR bei Ovarialkarzinomen, bei denen die Granulosazellen, Sertoli-Zellen, Leydig-Zellen sowie Sertoli-Leydig-Zellen betroffen waren, stark erhöht (Dong et al. 2011). Auch beim Hodenkarzinom, bei denen die Leydig-Zellen

betroffen waren, war eine erhöhte Expression von StAR zu vermerken (Dong et al. 2011). Bei Prostatakarzinomen wurde in einer Studie eine erhöhte Expression des StAR-Proteins festgestellt (Locke et al. 2010), wobei dieser Befund durch die im Human Protein Atlas (Abbildung 6) zusammengefassten RNA-Daten nicht bestätigt werden konnte.

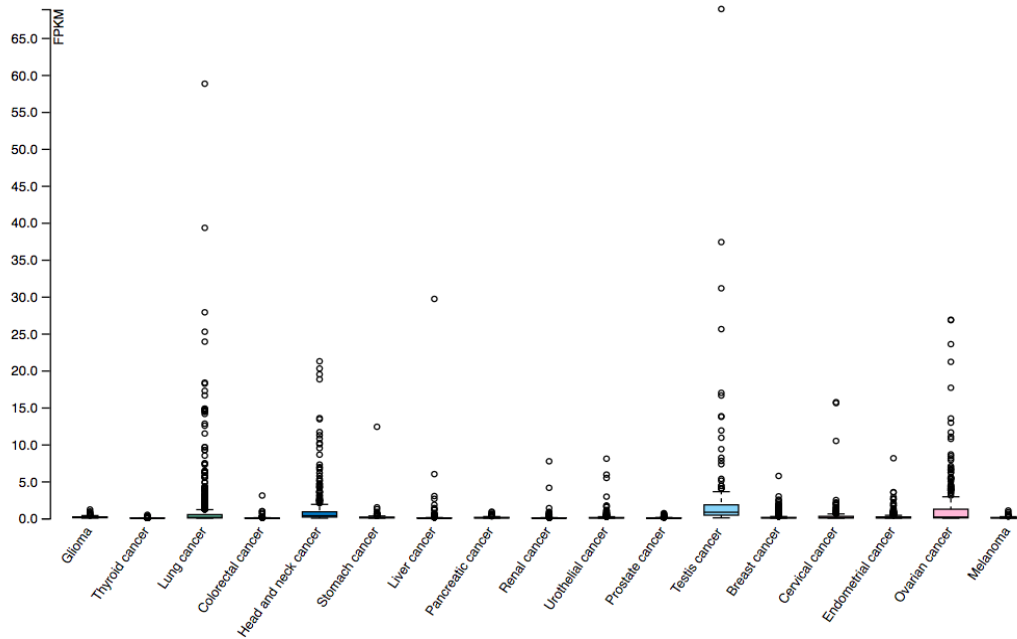


Abbildung 6: mRNA-Expression von StAR in verschiedenen Tumorentitäten. Verwendete Abkürzung: FPKM-Fragments per Kilobase of exon per million reads. Entnommen aus dem Datensatz des The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network (<https://www.cancer.gov/tcga>). Abbildung entnommen aus The Human Protein Atlas, Stand 07.01.2024 (Expression of STAR in cancer - Summary - The Human Protein Atlas 2024)

1.6. Proteinexpression

Die StAR-Expression wurde nur in wenigen Studien in einzelnen Tumorentitäten immunhistochemisch untersucht. Die Ergebnisse von 6 IHC-Studien, die sich mit insgesamt 8 verschiedenen Tumorentitäten befasst haben, sind in Abbildung 7 dargestellt. Die dazugehörigen Literaturverweise sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Abbildung bestätigt erneut das Auftreten der StAR-Expression in Tumoren von steroidproduzierenden Organen. Sie zeigt jedoch auch, dass die Literaturdaten sehr unvollständig sind. Es existieren nur wenige Publikationen, die die StAR-Expression in wenigen Tumorentitäten und dann in geringer Fallzahl untersucht

haben.

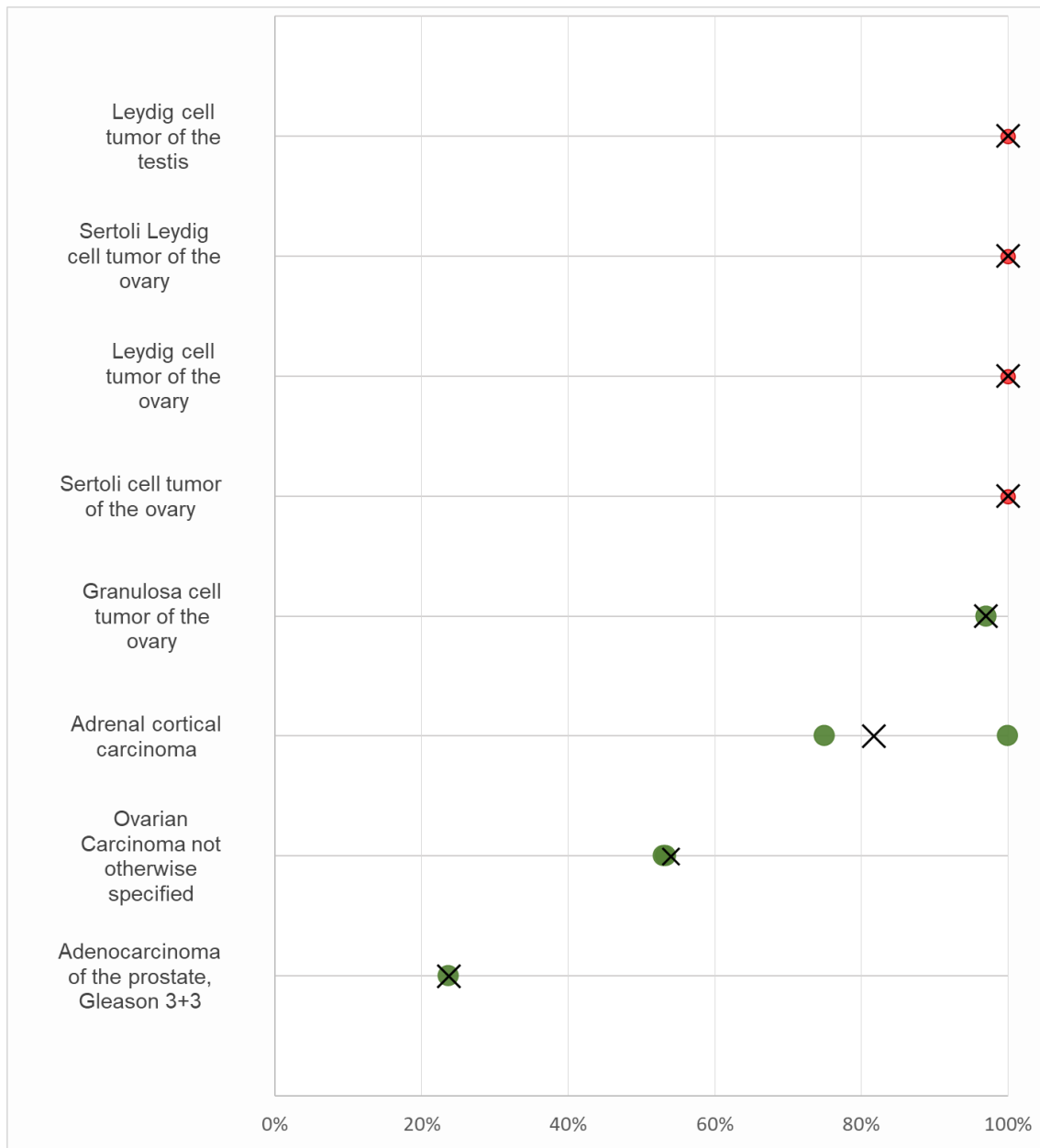


Abbildung 7: Übersicht aktueller Studienergebnisse zur StAR Immunhistochemie. Auf der Y-Achse sind die Tumorentitäten nach absteigender Positivität aufgelistet. Die X-Achse zeigt die prozentuale Positivität von 0-100% an. Rote Punkte legen Veröffentlichungen mit unter zehn Fallzahlen dar, während die grünen Punkte Fallzahlen von über 10 aufzeigen. Bei den Entitäten, die in mehr als einer Veröffentlichung untersucht worden sind, zeigen die Kreuze die durchschnittliche Positivität aller Ergebnisse an. Kein Anspruch auf Vollständigkeit.

Tabelle 1: Literaturverweise zu Abbildung 7,

Leydig-Zelltumor der Hoden	(Dong et al. 2011)
Sertoli-Leydig-Zelltumor der Ovarien	(Dong et al. 2011)
Leydig-Zelltumor der Ovarien	(Dong et al. 2011)
Sertoli-Zelltumor der Ovarien	(Dong et al. 2011)
Granulosazelltumor der Ovarien	(Dong et al. 2011)
Nebennierenrindenzarzinom	(Pereira et al. 2020; Zhou et al. 2016)
Ovarialtumoren (nicht weiter spezifiziert)	(Abd-Elaziz et al. 2005b; Abd-Elaziz et al. 2005a)
Adenokarzinome der Prostata, Gleason 3+3	(Locke et al. 2010)

1.7. Zielsetzung

Um einen Überblick über die StAR-Expression in verschiedenen Tumorarten zu gewinnen und um die mögliche diagnostische oder auch prognostische Rolle der StAR zu evaluieren, wäre es sinnvoll, eine große Zahl von Tumoren aller möglichen Tumorentitäten unter standardisierten Bedingungen mit einem validierten Antikörper zu untersuchen. In der vorliegenden Studie wurden daher insgesamt 19202 Tumoren von 152 verschiedenen Tumortypen und Subtypen sowie 608 Normalgewebeprobe von 76 verschiedenen Normalgewebekategorien in einem Tissue-Microarray Format auf die Expression von StAR untersucht.

2. Material und Methoden

2.1. Tissue-Microarray-Technik

Die Tissue-Microarray-Methode wurde 1998 von Kononen et al. erstmals publiziert (Kononen et al. 1998). Die Methode stellt ein Hochdurchsatzverfahren für Gewebeanalyse dar. Da bis zu 600 verschiedene Gewebeproben auf einem TMA-Objektträger enthalten sind, können - bei gleichzeitiger Verwendung multipler TMAs – an einem einzigen Tag tausende von Tumoren mittels In-situ-Methoden wie Immunhistochemie oder Fluoreszenz-in-Situ-Hybridisierung gefärbt werden. Die wesentlichsten Vorteile der TMA-Technik liegen in der Zeiteinsparung bei der Durchführung von Studien, den geringeren Reagenzienkosten und dem hohen Ausmaß der Standardisierung. Die gleichzeitige Untersuchung von 600 verschiedenen Tumoren auf einem Geräteschnitt reduziert die benötigte Menge an Reagenzien im Vergleich zu konventionellen Großschnitt-Untersuchungen um einen Faktor von 600. Mit der gleichen Menge an Reagenzien und Manpower, die bei der Verwendung von Großschnitten für die Färbung eines Tumors nötig gewesen wäre, lassen sich mit dem TMA-Verfahren 600 Tumoren gleichzeitig färben. Die Standardisierung von Studien, welche immunhistochemische Färbungen verwenden, kann nie effizienter erfolgen als unter Verwendung der TMA-Methode. Unter Verwendung von TMAs lassen sich nämlich nicht nur Parameter wie die Inkubationszeiten, Konzentrationen von Lösungen, Inkubationstemperaturen oder die Raumtemperatur perfekt standardisieren, sondern auch weitere Parameter, welche bei klassischen Großschnittstudien kaum oder gar nicht standardisierbar sind wie beispielsweise die Schnittlagerungszeit oder die pro Tumor untersuchte Gewebemenge. Die Schnittlagerungszeit (Zeit zwischen Herstellung eines Schnittes und seiner Verwendung für eine immunhistochemische Färbung) ist kritisch für die Reaktivität eines Schnittes mit Antikörpern. Eine Schnittlagerung von 2 Wochen führt bei vielen Antikörpern bereits zu einer deutlichen Reduktion der erzielbaren Färbeintensität (Mirlacher et al. 2004). Studien, welche den Einfluss der untersuchten Gewebemenge auf die Wahrscheinlichkeit eines positiven immunhistochemischen Färbeergebnisses untersucht haben, haben gezeigt, dass die Wahrscheinlichkeit eines positiven Färbeergebnisses proportional zur untersuchten Gewebemenge zunahm (Hoos et al. 2001; Camp et al. 2000; Ye et al. 2020). Die auf einem klassischen Gewebe „Großschnitt“ enthaltene Tumorgewebemenge ist nicht standardisierbar und variiert bei Studien, welche klassische Großschnitte verwenden,

dementsprechend erheblich. TMA-Untersuchungen ermöglichen hingegen die Untersuchung einer identischen Gewebemenge pro Patient (Durchmesser von 0,6 mm). Die kleine pro Patient untersuchte Gewebemenge hat den Vorteil, dass wichtige Tumoreigenschaften, welche überall im Tumor vorkommen, mit hoher Wahrscheinlichkeit erfasst werden, während fokale, biologisch möglicherweise weniger wichtige Veränderungen mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht erfasst werden (Torhorst et al. 2001).

Der wesentliche Nachteil der TMA-Methode ist der hohe Aufwand bei der Herstellung von TMAs. Die Herstellung von TMAs beginnt mit der Identifikation eines geeigneten Gewebekollektivs, welches typischerweise aus einer bestimmten Tumorart besteht. Die Suche nach geeigneten Tumoren beginnt mit einer Volltextsuche im Informationssystem der Pathologie. Um dabei von Anfang an möglichst große Tumoren zu finden und kleine, für die TMA-Herstellung nicht geeignete Biopsien zu vermeiden, werden neben den Tumornamen auch Suchbegriffe wie pT1, pT2, pT3 und pT4 eingegeben. Dieses Verfahren limitiert die automatische Suche auf Operationspräparate und schließt kleine Biopsien aus. Die so identifizierten Fälle werden zunächst von einem Pathologen auf Ausschlusskriterien hin untersucht. Diese sind ein Mangel an vitalem Tumorgewebe und eine nicht ganz eindeutige Diagnose. Von den verbliebenen Kandidatenzellen werden dann alle im Laufe der Routinediagnostik hergestellten Schnitte aus dem Archiv herausgesucht und einem Pathologen vorgelegt. Der Pathologe identifiziert den Gewebeschnitt mit dem größten enthaltenen Tumoranteil. Sofern die Tumormenge mindestens ein Quadratzentimeter umfasst, wird der Fall als geeignet klassifiziert und die Tumoreale werden mit einem Filzstift eingekreist und so markiert.

Von allen potentiell geeigneten Schnitten werden dann die entsprechenden Paraffinblöcke aus einem anderen Archiv zusammengesammelt und von einer erfahrenen MTA auf ihre Eignung für den Stanzprozess evaluiert. Dabei wird darauf geachtet, dass die Dicke/ Tiefe des Blockes mindestens 2,5 mm beträgt. Nur so ist gewährleistet, dass von einem später erstellten TMA-Block auch eine ausreichend große Zahl von Schnitten angefertigt werden kann. Alle identifizierten Fälle mit geeigneten Schnitten und Blöcken werden dann in das Projekt aufgenommen und in der Umgebung eines Tissue-Arrays in der vorgesehenen Stanzreihenfolge zusammen sortiert.

Alle TMAs, welche am UKE gebaut werden, haben die gleiche Grundstruktur. Die Hamburger TMAs bestehen aus sechs unterschiedlich großen und asymmetrisch

angeordneten Sektoren, welche mit Großbuchstaben von A bis S gekennzeichnet sind. Innerhalb jedes Sektors werden die Zeilen mit Zahlen von 1 bis 9 und die Spalten mit Kleinbuchstaben von A bis maximal R markiert. Die TMA-Struktur ist in Abbildung 8 schematisch dargestellt.

MTA 5.2 B

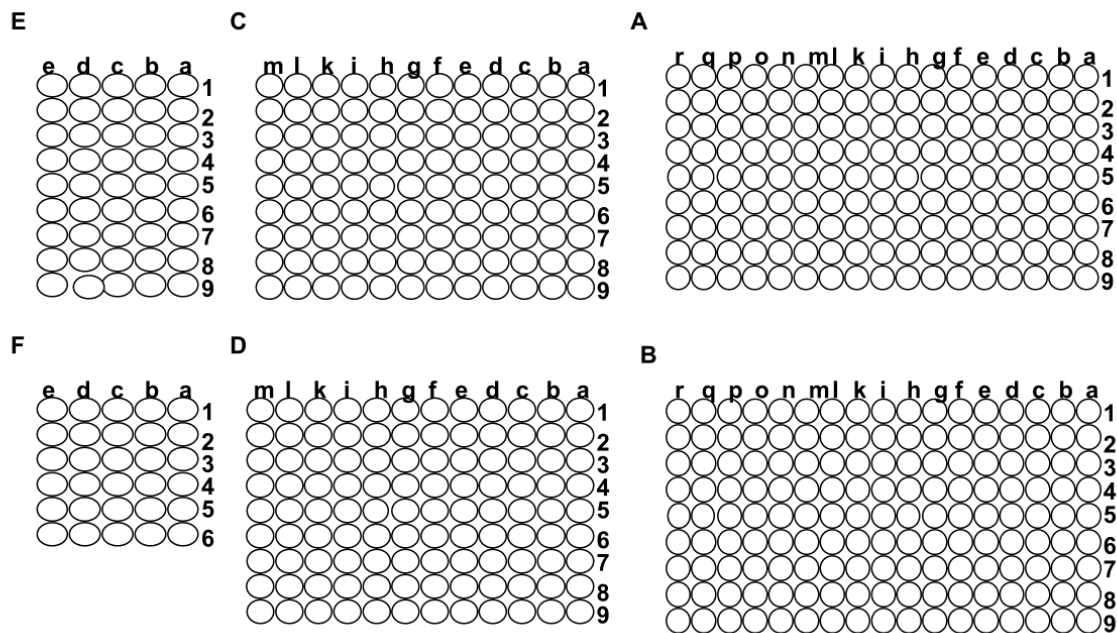


Abbildung 8: UKE-TMA-Struktur

Mit der Identifikation jedes einzelnen Gewebes durch eine TMA-Koordinate können Bestimmungen des Datenschutzes einfach umgesetzt werden. Die potentiellen Patienten identifizierenden Blockbeschriftungen würden es einem Hacker, dem es gelänge, in das Pathologie-Informationssystem einzudringen, erlauben, Einsicht auf die Klarnamen der Patienten zu nehmen. Diese Blocknummern sind aber lediglich für den Aufbau des TMAs von Nöten. Zu diesem Zeitpunkt können den individuellen Patientenproben auch klinische Verlaufsdaten oder pathologische Informationen wie Grad und Stadium beigefügt werden. Nach Herstellung des TMAs ist es dann aber möglich, die Blockbezeichnung entweder auszublenden (Pseudonymisierung) oder definitiv zu löschen (Anonymisierung). In beiden Fällen werden dann die Gewebeproben über die TMA-Koordinate mit den klinischen und pathologischen Informationen

vernetzt. Ein Beispiel eines TMA-Files nach Entfernung der Blocknummern ist in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Fiktives Beispiel eines Datenfiles bei einem TMA.

Array Name	Koordinate	Alter bei Entnahme	Tumorentität	pT	pN	pM
MTA 5.2B	A1a	44	Nierenzellkarzinom, papillär	4	2	0
MTA 5.2B	A1b	65	Kolonkarzinom	2	2	1
MTA 5.2B	A1c	66	Magenkarzinom	2	2	1
MTA 5.2B	A1d	77	Magenkarzinom	1	0	0

Die TMA-Herstellung erfolgt am UKE an einem halbautomatischen Gerät, welches von Mitarbeitern des Instituts (Martina und Christian Mirlacher) hergestellt worden war. Der Array beinhaltet als wesentliche Komponenten einen Umschaltmechanismus, der es erlaubt an identischer Stelle wahlweise entweder einen Elektrobohrer oder eine Hohnadel zum Einsatz zu bringen, einen elektrischen Schrittmotor, der die Stanzeinrichtung bei Bedarf auf die nächste Position vorrücken lässt, einen Wechselblockhalter, der es ermöglicht, sechs identische TMA-Blöcke herzustellen und einen Blockpodest, der es möglich macht, über dem in Arbeit befindlichen TMA-Block einen Spendergewebeblock zu bearbeiten. Die Elemente des Tissue-Arrays sind in Abbildung 9-11 dargestellt.

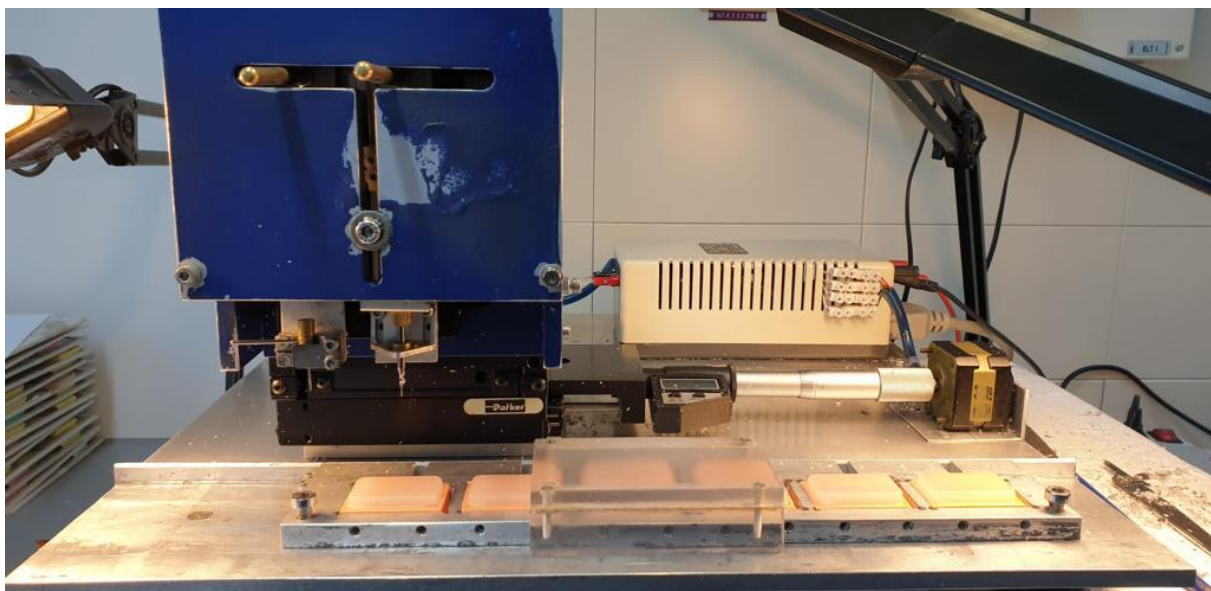


Abbildung 9: Gesamtüberblick über das halbautomatische TMA-Stanzgerät.

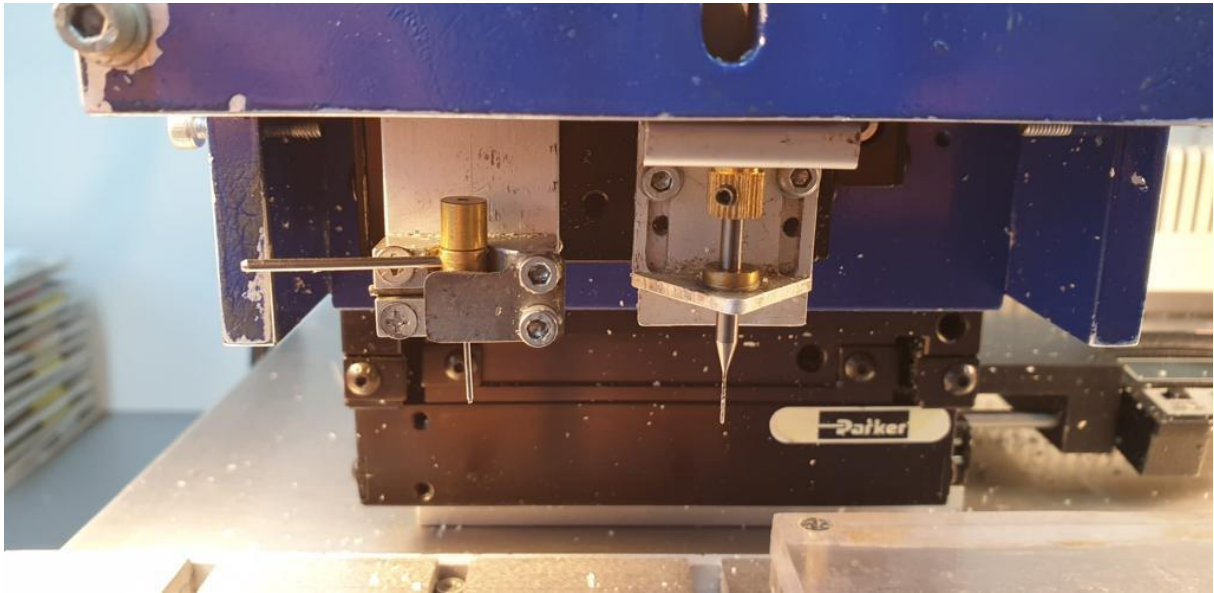


Abbildung 10: Die Hohnadel (links) und elektrische Bohrnadel(rechts) sind zu sehen.



Abbildung 11: Hier ist ein Mehrfachblockhalter für die Herstellung von 6 TMA-Replikaten.

Die TMA-Herstellung beginnt mit dem ersten ausgewählten Tumor an der Position A1a des TMA-Blocks. An dieser Position wird zunächst mit dem Bohrer, äußerer Durchmesser 0,6 mm, ein Loch in einen näheren Paraffinblock gebohrt. Danach wird das Blockpodest über den angebohrten Paraffinblock gelegt und darauf der für die Position A1a vorgesehene Tumorblock positioniert. Dann wird die

Bohrernadelwechsellvorrichtung auf die Position Nadel umgeschaltet und mit einer 0,6 mm im inneren Durchmesser messenden Hohnadel aus dem Tumorblock ein zylindrisches Gewebsfragment entnommen. Durch den Vergleich des Blockes mit dem dazugehörigen markierten HE-Schnitt wird darauf geachtet, dass die Stanze aus dem tumorhaltigen Teil des Blockes entnommen wird. Nach Entfernung des Blockpodestes wird die Hohnadel direkt über das vorgebohrte Loch an Position A1a markiert und der Zylinder wird mit einem Strahldraht aus der Nadel in das Loch vorgeschoben. Dabei wird darauf geachtet, dass das obere Ende des Zylinders genau auf dem Niveau der Blockoberfläche positioniert wird. Danach wird der Mehrfachblockhalter auf die Position 2 gesetzt und die beschriebene Prozedur wird mit dem zweiten TMA-Empfängerblock wiederholt. Bei der Entnahme des zweiten Tumorgewebszylinders wird darauf geachtet, dass diese in unmittelbarer Nachbarschaft der ersten entnommenen Stanze erfolgt. Damit wird bei Kombination von Daten, die aus verschiedenen Replikaten eines TMAs stammen, der Einfluss eines möglichen Tumorheterogenität reduziert. Sobald alle sechs Replikatblöcke des Blockhalters mit Tumorgewebe befüllt sind, kann die Zahl der herzustellenden Replikate durch Verwendung eines zweiten Blockhalters auf 12 oder durch eines dritten Blockhalters auf 18 gesteigert werden. Nach abgeschlossener Befüllung aller geplanten Replikatblöcke an der Position A1a wird der elektrische Schrittmotor betätigt, sodass Bohrer/Nadel nun über der Position A1b zu liegen kommen. Die beschriebene Prozedur wird dann für die Position A1b und alle folgenden für den geplanten Array vorgesehenen Positionen wiederholt. Erst unmittelbar vor der Durchführung der vorgesehenen Färbeverfahren werden mit einem Mikrotom 2,5 µm dicke Schnitte des TMAs hergestellt und auf Objektträger platziert.

2.2. TMAs für das vorgesehene Projekt

Für die vorliegende Studie wurden ein Normalgewebe-TMA und ein Set von Tumor-TMAs verwendet. Der Normalgewebe-TMA beinhaltet jeweils acht Gewebeproben von 76 verschiedenen Normalgewebekategorien. Die verwendeten Gewebe sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Zusammensetzung des Normalgewebe-TMAs.

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

Die Tumor-TMAs beinhalteten insgesamt 19202 Tumoren, welche in 33 verschiedene TMA-Blöcke eingebracht worden waren. Die für die Studie zur Verfügung stehenden Tumorarten sind in Tabelle 4 zusammen mit der Zahl der jeweils vorhandenen Proben dargestellt.

Tabelle 4: Untersuchte Tumorentitäten auf den Tumor-TMAs.

	Tumorentitäten	Anzahl
Tumoren der Haut	<i>Pilomatrixom</i>	35
	<i>Basalzellkarzinom</i>	89
	<i>Benigner Nävus</i>	29
	<i>Plattenepithelkarzinom (Haut)</i>	145
	<i>Malignes Melanom</i>	65
	<i>Malignes Melanom (Lymphknoten metastasiert)</i>	86
	<i>Merkelzellkarzinom</i>	48
Tumoren des Kopf-Nackenbereichs	<i>Plattenepithelkarzinom (Larynx)</i>	109
	<i>Plattenepithelkarzinom (Pharynx)</i>	60
	<i>Orales Plattenepithelkarzinom (Mundboden)</i>	130
	<i>Pleomorphes Adenom der Parotisdrüse</i>	50
	<i>Warthin-Tumor der Parotisdrüse</i>	104
	<i>Adenokarzinom, NOS (Papilläres Zystadenokarzinom)</i>	14
	<i>Speichelkanalkrebs</i>	15
	<i>Azinuszellkarzinom der Speicheldrüse</i>	181
	<i>Adenokarzinom der Speicheldrüse (NOS)</i>	109
	<i>Adenoides zystisches Karzinom der Speicheldrüse</i>	180
	<i>Basalzellkarzinom der Speicheldrüse</i>	25
	<i>Basalzelladenom der Speicheldrüse</i>	101
	<i>Epitheliales-myoeitheliales Karzinom der Speicheldrüse</i>	53
	<i>Mukoepidermoides Karzinom der Speicheldrüse</i>	343
	<i>Myoeitheliales Karzinom der Speicheldrüse</i>	21
	<i>Myoeitheliom der Speicheldrüse</i>	11
	<i>Onkozytisches Karzinom der Speicheldrüse</i>	12
<i>Polymorphes Adenokarzinom der Speicheldrüse (low grade)</i>	41	
<i>Pleomorphes Adenom der Speicheldrüse</i>	53	
Tumoren der Lunge, Pleura und des Thymus	<i>Adenokarzinom der Lunge</i>	196
	<i>Plattenepithelkarzinom der Lunge</i>	80
	<i>Kleinzelliges Karzinom der Lunge</i>	16
	<i>Epitheloides Mesotheliom</i>	40

	Tumorentität	Anzahl
	Mesotheliom (sonstige)	77
	Thymom	29
Tumoren des weiblichen Genitaltrakts	Plattenepithelkarzinom der Vagina	78
	Plattenepithelkarzinom der Vulva	157
	Plattenepithelkarzinom der Zervix	136
	Adenokarzinom der Zervix	23
	Endometrioides Endometriumkarzinom	338
	Seröses Endometriumkarzinom	86
	Karzinom des Uterus	57
	Endometriumkarzinom, high grade, G3	13
	Klarzelliges Endometriumkarzinom	9
	Endometrioides Ovarialkarzinom	130
	Seröses Ovarialkarzinom	580
	Muzinöses Ovarialkarzinom	101
	Klarzelliges Ovarialkarzinom	51
	Karzinom der Ovarien	47
	Granulosazelltumor der Ovarien	44
	Leydig-Zelltumor der Ovarien	4
	Sertoli-Zelltumor der Ovarien	1
	Sertoli-Leydig-Zelltumor der Ovarien	3
	Steroidzelltumor der Ovarien	3
	Brenner-Tumor	41
Tumoren der Brust	Invasives Mammakarzinom (nicht spezifischer Subtyp/NST)	1764
	Lobuläres Mammakarzinom	363
	Medulläres Mammakarzinom	34
	Tubuläres Mammakarzinom	29
	Muzinöses Mammakarzinom	65
	Phylloider Mammatumor	50
Tumoren des Verdauungstrakts	Adenomatöser Polyp, low-grade Dysplasie	50
	Adenomatöser Polyp, high-grade Dysplasie	50
	Adenokarzinom des Kolons	2483
	Magenkarzinom, diffuser Typ	215
	Magenkarzinom, intestinaler Typ	215
	Magenkarzinom, gemischter Typ	62
	Adenokarzinom des Ösophagus	83
	Plattenepithelkarzinom des Ösophagus	76

	Tumorentität	Anzahl
	<i>Plattenepithelkarzinom des Analkanal</i>	91
	<i>Cholangiozelluläres Karzinom</i>	58
	<i>Adenokarzinom der Gallenblase</i>	51
	<i>Klatskin-Tumor der Gallenblase</i>	42
	<i>Hepatozelluläres Karzinom</i>	312
	<i>Duktales Adenokarzinom des Pankreas</i>	659
	<i>Pancreatisch/Ampulläres Adenokarzinom</i>	98
	<i>Azinuszellkarzinom des Pankreas</i>	18
	<i>Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)</i>	62
Tumoren des harnableitenden Systems	<i>Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 low grade</i>	177
	<i>Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 high grade</i>	141
	<i>Nicht invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G3</i>	219
	<i>Urothelkarzinom, pT2-4 G3</i>	735
	<i>Plattenepithelkarzinom (Blase)</i>	22
	<i>Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Blase</i>	23
	<i>Sarkomatoides Urothelkarzinom</i>	25
	<i>Urothelkarzinom des Nierenbeckens</i>	62
	<i>Klarzelliges Nierenzellkarzinom</i>	1287
	<i>Papilläres Nierenzellkarzinom</i>	368
	<i>Klarzelliges tubulo papilläres Nierenzellkarzinom</i>	26
	<i>Chromophobes Nierenzellkarzinom</i>	170
	<i>Onkozytom</i>	257
Tumoren der männlichen Geschlechtsorgane	<i>Adenokarzinom der Prostata, Gleason 3+3</i>	83
	<i>Adenokarzinom der Prostata, Gleason 4+4</i>	80
	<i>Adenokarzinom der Prostata, Gleason 5+5</i>	85
	<i>Adenokarzinom der Prostata (Rezidiv)</i>	258
	<i>Kleinzelliges neuroendokrines Prostatakarzinom</i>	19
	<i>Seminom</i>	682
	<i>Embryonales Karzinom des Hodens</i>	54
	<i>Leydigzelltumor des Hodens</i>	31
	<i>Sertolizelltumor des Hodens</i>	2
	<i>Keimstrang Stromatumor des Hodens</i>	1
	<i>Spermatozytischer Tumor des Hodens</i>	1
	<i>Dottersacktumor</i>	53
	<i>Teratom</i>	53
	<i>Plattenepithelkarzinom des Penis</i>	92
Tumoren endokriner Art	<i>Follikuläres Schilddrüsenadenom</i>	113
	<i>Papilläres Schilddrüsenkarzinom</i>	391

	Tumorentität	Anzahl
	<i>Follikuläres Schilddrüsenkarzinom</i>	154
	<i>Medulläres Schilddrüsenkarzinom</i>	111
	<i>Nebenschilddrüsenadenom</i>	43
	<i>Anaplastisches Schilddrüsenkarzinom</i>	45
	<i>Nebennierenadenom</i>	50
	<i>Nebennierenrindencarzinom</i>	28
	<i>Phäochromozytom</i>	50
	<i>Neuroendokriner Tumor der Appendix (NET)</i>	25
	<i>Neuroendokriner Tumor des Kolorektums (NET)</i>	12
	<i>Neuroendokriner Tumor des Ileums (NET)</i>	53
	<i>Neuroendokriner Tumor der Lunge (NET)</i>	29
	<i>Neuroendokriner Tumor des Pankreas (NET)</i>	101
	<i>Neuroendokrines Karzinom des Kolorektums (NEC)</i>	14
	<i>Neuroendokrines Karzinom des Ileums (NEC)</i>	8
	<i>Neuroendokrines Karzinom der Gallenblase (NEC)</i>	4
	<i>Neuroendokrines Karzinom des Pankreas (NEC)</i>	14
Tumoren des hämatopo- etischen/lymphatischen Gewebes	<i>Hodgkin-Lymphom</i>	103
	<i>Kleinzelliges lymphozytisches B-Zell-Lymphom (B-SLL/B-CLL)</i>	50
	<i>Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL)</i>	113
	<i>Follikuläres Lymphom</i>	88
	<i>T-Zell Non Hodgkin-Lymphom</i>	25
	<i>Mantelzell-Lymphom</i>	18
	<i>Marginalzonen-Lymphom</i>	16
	<i>Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL) des Hodens</i>	16
	<i>Burkitt-Lymphom</i>	5
Tumoren des Weichteil- gewebes und Knochens	<i>Tenosynovialer Riesenzelltumor</i>	45
	<i>Granularzelltumorr</i>	53
	<i>Leiomyom</i>	50
	<i>Leiomyosarkom</i>	94
	<i>Liposarkom</i>	145
	<i>Maligner peripherer Nervenscheidentumor (MPNST)</i>	15
	<i>Myofibrosarkom</i>	26
	<i>Angiosarkom</i>	74
	<i>Angiomyolipom</i>	91
	<i>Dermatofibrosarkom protuberans</i>	21
	<i>Ganglioneurom</i>	14

	Tumorentität	Anzahl
	<i>Kaposi-Sarkom</i>	8
	<i>Neurofibrom</i>	117
	<i>Sarkom, "not otherwise specified" (NOS)</i>	74
	<i>Paragangliom</i>	41
	<i>Ewing-Sarkom</i>	23
	<i>Rhabdomyosarkom</i>	7
	<i>Schwannom</i>	122
	<i>Synovialsarkom</i>	12
	<i>Osteosarkom</i>	44
	<i>Chondrosarkom</i>	40
	<i>Rhabdoider Tumor</i>	5
	<i>Solitärer fibröserTumor</i>	17
	Gesamtanzahl	19202

2.3. Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ist ein Verfahren zur Visualisierung von Proteinen auf Gewebeschnitten. Das wesentlichste hierfür benötigte Reagenz sind Antikörper, welche spezifisch an die zu untersuchenden Proteine binden. Das Prinzip der immunhistochemischen Färbung ist in Abbildung 12 dargestellt.

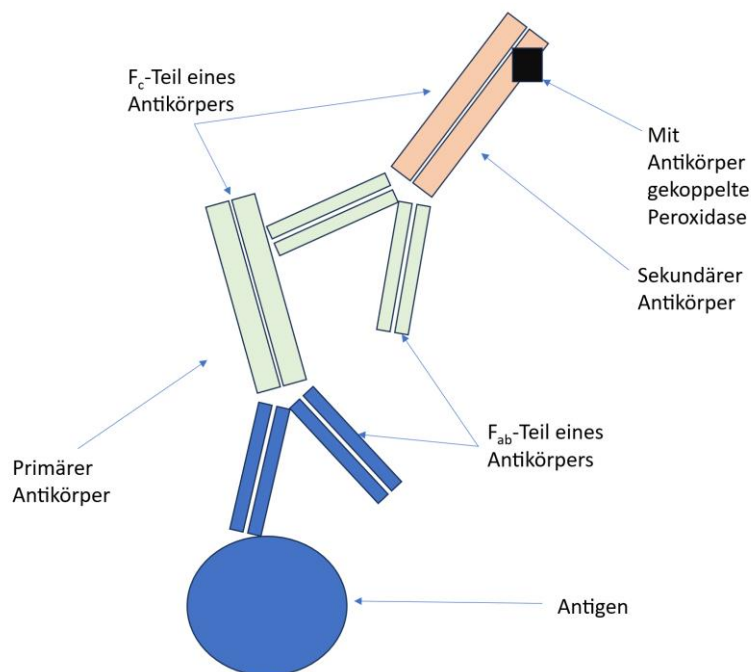


Abbildung 12 Grundlage der Immunhistochemischen Färbung ist die Antigen-Antikörperbindung. Nachdem ein Primärantikörper das gesuchte Antigen bindet, wird ein zweiter sekundärer Antikörper von einer anderen Spezies gegeben, der den Fc-Teil des primären Antikörpers bindet. Der sekundäre Antikörper ist meistens mit Enzymen gekoppelt, die eine Farbreaktion katalysieren und so die Antigen-Antikörperbindung visualisieren. Diese Methode wird auch als indirekte Methode bezeichnet. Quelle der Information: (Hantschke und Palmedo 2015)

Die verwendeten Antikörper werden dabei auf den Schnitt aufgebracht, worauf sich die Antikörper an ihre Zielproteine binden, sofern sie auf dem Schnitt vorhanden sind. Nach Abwaschen des nicht gebundenen Antikörperüberschusses werden die Antikörper, welche an sich farblos sind und auf dem Schnitt dementsprechend nicht sichtbar werden, mit einem Detektionssystem visualisiert. Die Detektionssysteme bestehen aus Sekundärantikörpern, welche sich an den F_c-Teil der diagnostischen Primärantikörper binden und deren eigener F_c-Teil mit einem Visualisierungssystem gekoppelt ist. Beispiele von verschiedenen Visualisierungssystemen sind in den Abbildungen 13-17 dargestellt.

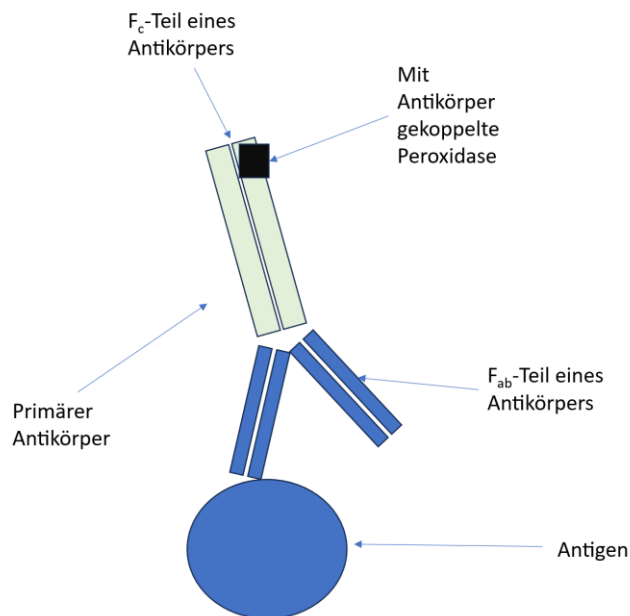


Abbildung 13: Hier in diesem Beispiel ist die direkte Methode zu sehen. Hier ist das Farbreaktion katalysierende Enzym direkt mit dem Primärantikörper verbunden. Quelle der Information: (Hantschke und Palmedo 2015)

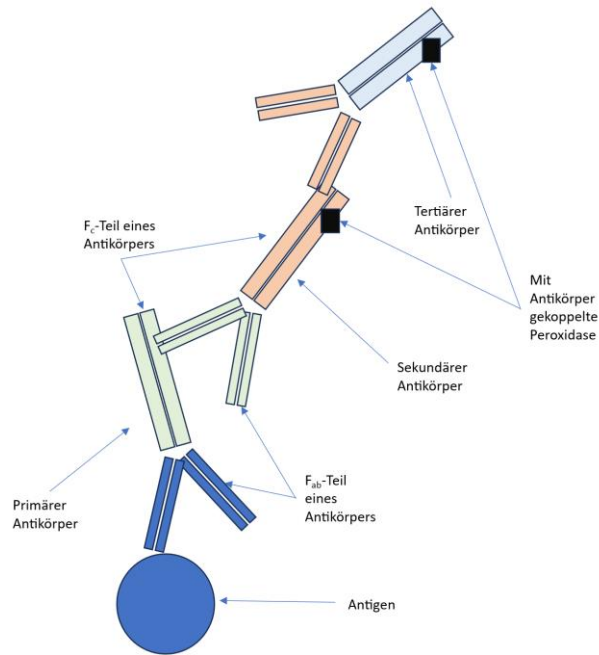


Abbildung 14: Doppelt indirekte Methode. Hier wird noch zusätzlich ein tertiärer Antikörper verwendet, der ebenfalls mit einer Peroxidase gekoppelt ist. Dieser tertiäre Antikörper ist gegen den F_c-Teil des sekundären Antikörpers gerichtet. Quelle der Informationen: (Hantschke und Palmedo 2015)

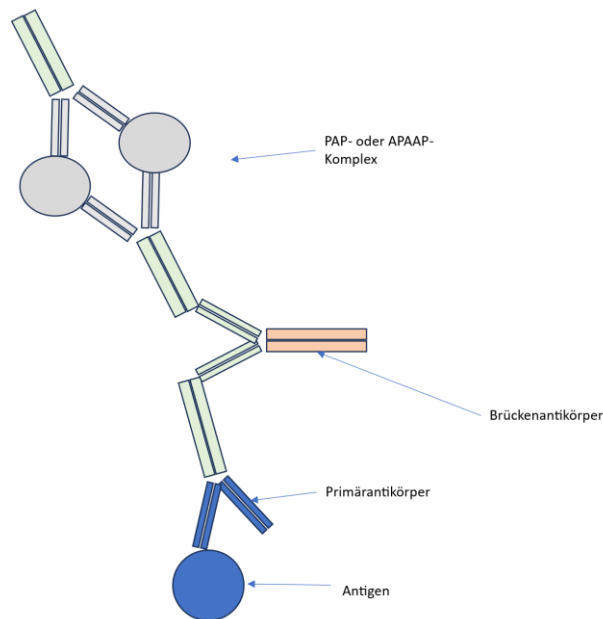


Abbildung 15: Primärantikörper und ein Komplex bestehend aus Peroxidase-Antiperoxidase werden zur Visualisierung verwendet. Damit dies funktioniert, müssen der Primärantikörper und der Antikörper, der gegen die Peroxidase gerichtet ist, von derselben Spezies stammen, sodass diese durch einen dritten Brückenantikörper miteinander verlinkt werden können. Dies wird als PAP-Methode bezeichnet. Alternativ kann anstelle der Peroxidase auch alkalische Phosphatase verwendet werden. In diesem Fall spricht man von APAAP-Methode. Quelle der Information: (Hantschke und Palmedo 2015)

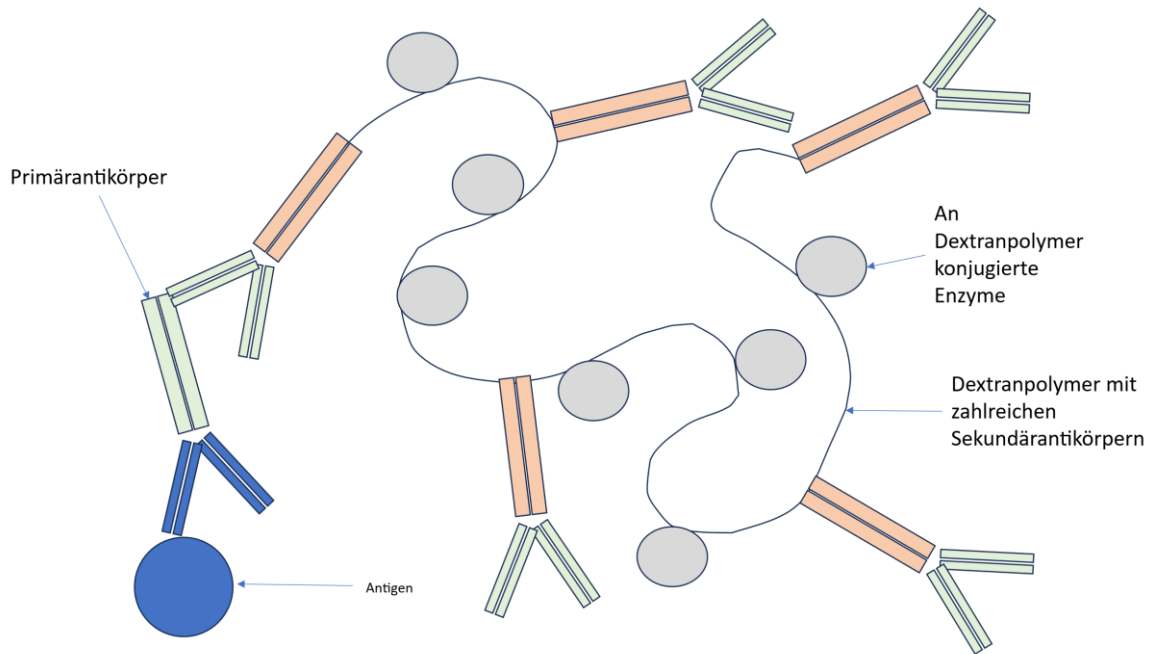


Abbildung 16: EnVision-Polymer-Konjugat-Methode: Anstelle von mehreren singulären sekundären Antikörpern wird ein Dextranpolymer, das mit zahlreichen sekundären Antikörpern und Peroxidasen oder ähnlichen Farbenzymen konjugiert ist, verwendet. Dies ist eine indirekte Methode. Quelle der Information: (Hantschke und Palmedo 2015)

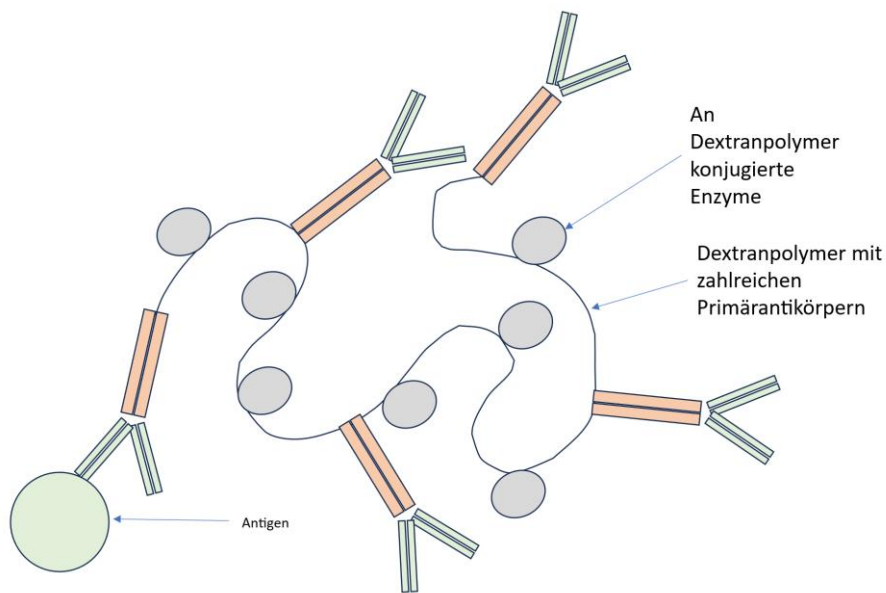


Abbildung 17: EPOS (Enhanced-Polymer-one-step)-Methode: Das Dextranpolymer kann anstelle von Sekundärantikörpern auch direkt mit Primärantikörpern konjugiert werden analog zur direkten Methode. Quelle der Information: (Hantschke und Palmedo 2015)

Die beiden größten Probleme der Immunhistochemie liegen in der Individualität der verwendeten Antikörper und der Beeinträchtigung der Zielproteine der Antikörper durch die Formalinfixation.

Für alle klinisch relevanten Proteine, deren immunhistochemische Visualisierung potentiell nützlich ist, gibt es mehrere, meist dutzende oder gar hunderte verschiedene Antikörper, welche sich alle entsprechend der Diversität der physiologischen Immunreaktion voneinander in wichtigen Eigenschaften unterscheiden. Die Impfung eines Säugetiers mit einem Protein führt zur Bildung von sehr vielen unterschiedlichen Antikörpern.

Bei der Antikörperherstellung werden geeignete Labortiere, meist Mäuse, Ratten oder Kaninchen mit dem ins Auge gefassten Zielprotein geimpft, worauf das Tier eine hohe Menge an verschiedenen Antikörpern produziert, welche alle gegen das gewählte Protein gerichtet sind. Da es kein Verfahren gibt, welche automatisch den am besten geeigneten Antikörper für die Anwendung an Formalin-fixierten Gewebe identifiziert und im Rahmen eines Experimentes oft nur maximal zehn verschiedene Antikörper kloniert werden können, umfasst das Spektrum der kommerziell erhältlichen Antikörper eine Palette von ganz unterschiedlich geeigneten, unterschiedlich spezifischen und unterschiedlich sensitiven Antikörpern deren exakte Bindungseigenschaften an Formalin-fixierten Geweben auch normalerweise vom Hersteller und Vertreiber von Produkten nicht komplett dokumentiert sind. Studien, welche verschiedenen Antikörper gegen ein bestimmtes Protein verwenden, kommen deswegen auch regelmäßig zu teils deutlich diskrepanten Ergebnissen (Laflamme et al. 2019).

Die in der Pathologie übliche Formalinfixierung hat den Zweck, entnommenes Gewebe vor der Autolyse zu schützen. Diese wichtige Aufgabe wird durch eine Formalin-induzierte Vernetzung von Proteinen untereinander und mit DNA erreicht. Diese Vernetzung (sogenanntes Crosslinking) führt aber zur Maskierung zahlreicher Epitope, was die Bindungsfähigkeit zu prinzipiell spezifischen Antikörpern vermindern oder ganz aufheben kann (Helander 1994; Werner et al. 2000). Mit der Prozedur der sogenannten hitzeinduzierten Epitop-Demaskierung (HIER: heat induced epitope retrieval) kann die Vernetzung durch die Anwendung von Flüssigkeit und Hitze partiell reversibel gestaltet werden. Doch auch die HIER ist nicht dazu im Stande die ursprüngliche Proteinstruktur komplett wiederherzustellen. Aus diesem Grund unterscheiden sich die Bindungseigenschaften von Antikörpern an Formalin-fixierten Gewebe von den Bindungseigenschaften an unfixierten Zellen oder gar Proteinextrakten. Die internationale Arbeitsgruppe für Antikörpervalidierung (International Working Group for Antibody Validation, IWGAV) hat deswegen vorgegeben, dass Antikörper,

welche für den Einsatz in der Immunhistochemie (an Formalin-fixierten Geweben) vorgesehen sind, nur auf zwei verschiedene Arten validiert werden dürfen (Uhlen et al. 2016). Methode Nummer 1 ist der Vergleich der mit den zu validierenden Antikörpern erzielten Färbeergebnissen mit Expressionsdaten, welche mit einer anderen Methode erhoben worden sind (Uhlen et al. 2016). Methode Nummer 2 ist der Vergleich der mit den zu validierenden Antikörpern erzielten Färbeergebnisse mit den Färbeergebnissen eines zweiten unabhängigen Antikörpers gegen das gleiche Zielprotein (Uhlen et al. 2016).

2.4. Immunhistochemie im Rahmen des Projekts

Frisch fabrizierte Tissue-Microarray-Schnitte wurden an einem Tag in einem einzigen Experiment gefärbt. Dazu wurden die Schnitte mittels Xylol deparaffiniert und danach in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert. Die hitzeinduzierte Epitop-Demaskierungsprozedur wurde für 5 Minuten in einem Autoklav bei 121 °C in einer pH 9,0 Lösung (DAKO Target Retrieval Solution, Agilent, CA, USA) durchgeführt.

Die endogene Peroxidase-Aktivität wurde durch die Zugabe der DAKO-Peroxidase-Blocking Solution (Agilent, CA, USA, Katalognummer: 52023) für 10 Minuten blockiert. Die Inkubation mit dem Primärantikörper spezifisch für das StAR-Protein (rekombinanter Rabbit-Antikörper, MSVA-740R, Katalognummer: #5396-740R. MS Validated Antibodies for Hamburg, Deutschland) wurde im Anschluss bei 37° für 40 Minuten bei einer Verdünnung von 1:150 durchgeführt. Zur Antikörpervalidierung wurde der Normalgewebe-TMA auch mit einem zweiten unabhängigen Primärantikörper gegen StAR untersucht (EP7639, Abcam, Cambridge, UK; #ab133657) bei einer Verdünnung von 1:450 und einem ansonsten identischen Protokoll. Gebundene Antikörper wurde mit dem Envision-Kit (Agilent, CA, USA, Katalognummer: K5007) nach den Anleitungen des Herstellers visualisiert. Die Schnitte wurden im Anschluss mit Hämalaun gegengefärbt. Für das Tumorgewebe wurde der prozentuale Anteil von STAR positiven Tumorzellen geschätzt und die Färbeintensivität wurde semi-quantitativ registriert (0,1+,2+,3+). Für die statistische Auswertung wurden die Färbeergebnisse in vier Gruppen kategorisiert (siehe Tabelle 6)

Tabelle 5: Das in der Studie verwendete UKE-System zur Klassifizierung von IHC-Färbungen

Grading:	negativ	Schwach positiv	Mäßig positiv	Stark positiv
Anzahl der positiven Zellen	Keine Tumorzellen anfärbbar	1+ in $\leq 70\%$ oder 2+ in $\leq 30\%$ der Tumorzellen	1+ in $>70\%$ der Tumorzellen ODER 2+ in $>30\%$, aber $\leq 70\%$ der Tumorzellen ODER 3+ in $\leq 30\%$ aller Tumorzellen	2+ in $>70\%$ aller Tumorzellen ODER 3+ in $>30\%$ aller Tumorzellen

2.5. Statistik

Statistische Berechnungen wurden mit der Software JMP16 (SAS Institute Inc., NC, USA) durchgeführt. Es wurden Kontingenztafeln und der χ^2 -Test durchgeführt, um nach Zusammenhängen zwischen StAR-Immunfärbung und Tumorphänotyp zu suchen.

3. Ergebnisse

3.1. Technische Aspekte

Insgesamt 17135 (89,5%) von 19202 Tumorgewebsproben waren in unserer Tissue-Microarray-Untersuchung auswertbar. Ursachen für nicht auswertbare Proben waren entweder das Fehlen eindeutiger Tumorzellen auf einzelnen Gewebeslots oder das komplette Fehlen von Gewebefragmenten an einigen TMA-Koordinaten. Für die Normalgewebs-TMA-Untersuchung waren immer mindestens 4 Proben pro Gewebekategorie auswertbar. Dadurch waren alle relevanten Zelltypen des entsprechenden Normalgewebes beurteilbar.

3.2. StAR in Normalgewebe

Eine starke zytoplasmatische StAR-Färbung fand sich in Leydig-Zellen des Hodens, Corpus-Luteum-Zellen und Zellen der Theca interna von folliculären Zysten des Ovars. In Gewebeproben von der Nebennierenrinde waren adrenokortikale Zellen meist stark positiv. Es zeigt sich aber zwischen und innerhalb der Nebennierenproben eine Variabilität der Färbeintensität, welche von schwacher Färbung bis zu einer kräftigen Positivität reichten. Diese Färbeunterschiede könnten mit der unterschiedlichen funktionellen Aktivität der Zellen zusammenhängen. Repräsentative Bilder sind in den Abbildungen 18-23 dargestellt.

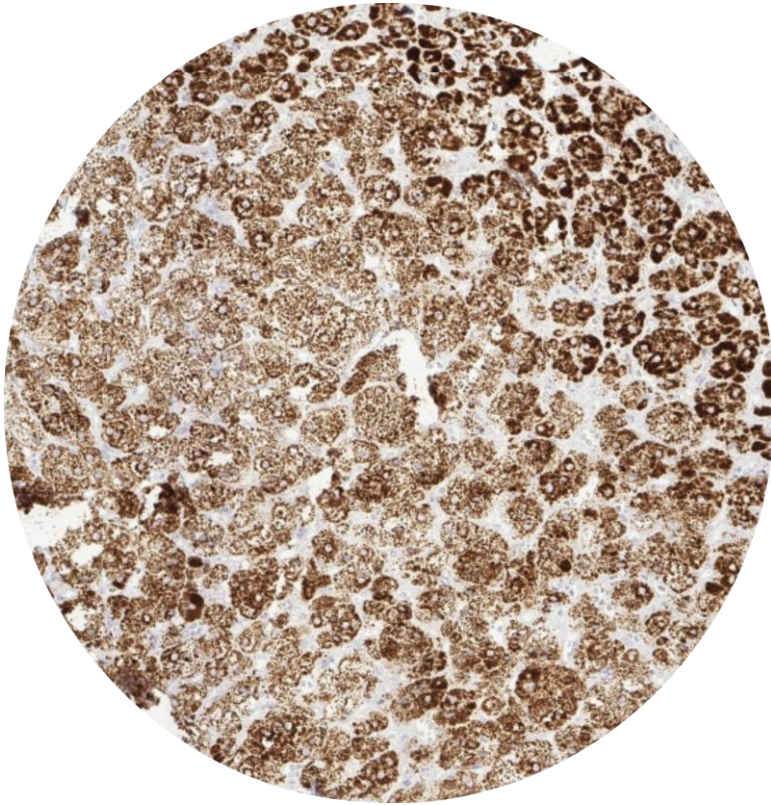


Abbildung 18: Kräftige StAR-Positivität in Zellen der normalen Nebennierenrinde

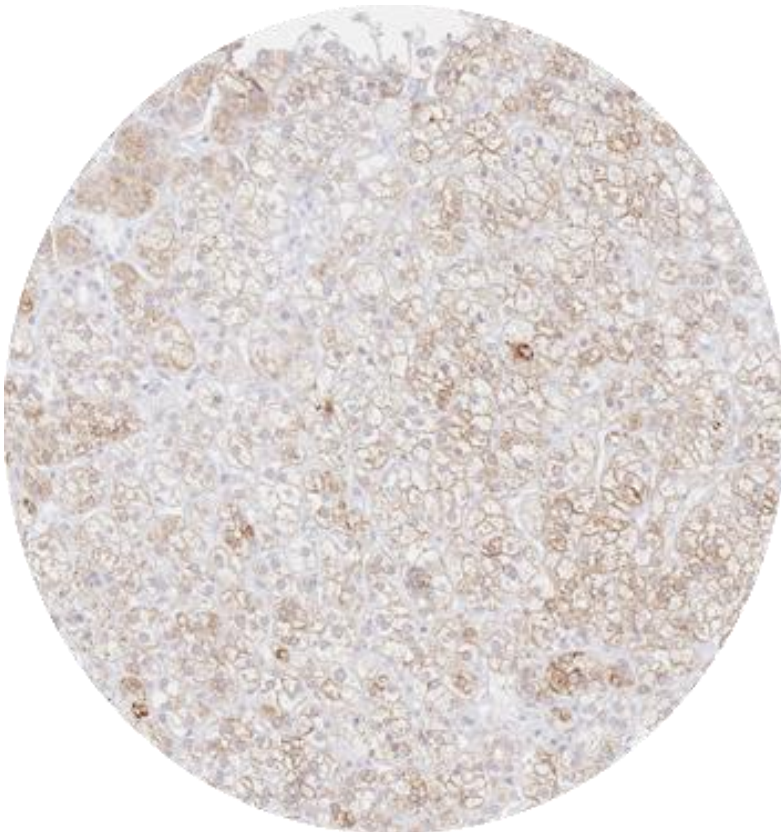


Abbildung 19: Nebennierenrinde mit geringerer StAR-Positivität in adrenokortikalen Zellen

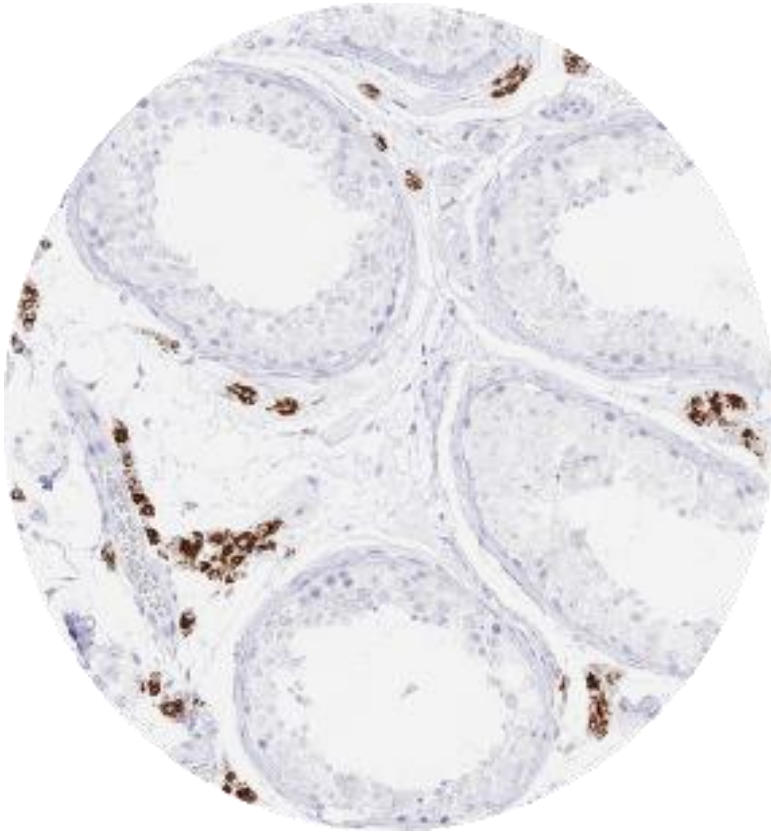


Abbildung 20: Hodengewebe mit kräftiger StAR-Positivität von Leydigzellen

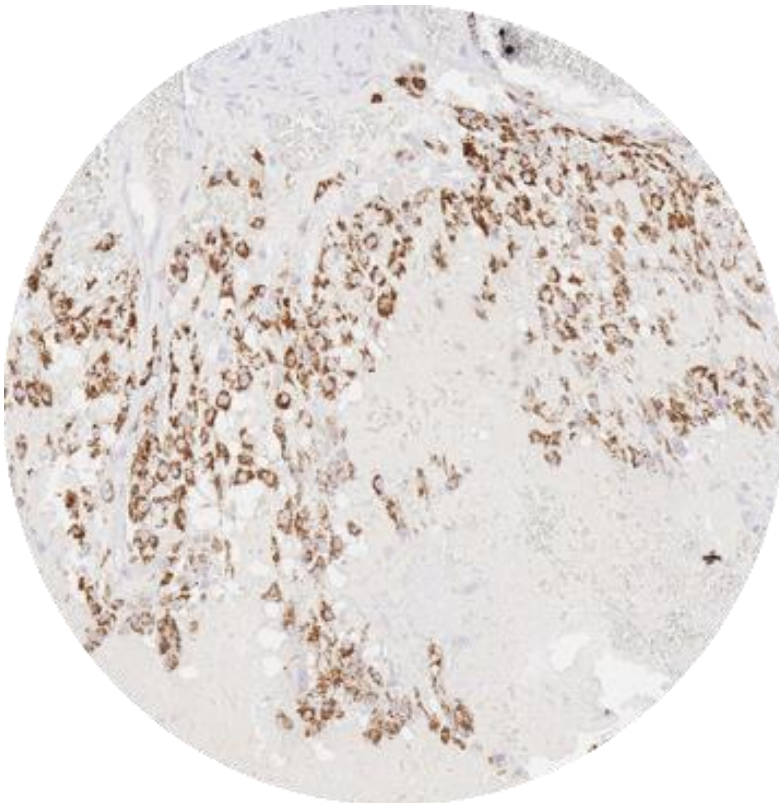


Abbildung 21: Ovargewebe mit kräftiger StAR-Positivität in Zellen eines Corpus Luteum

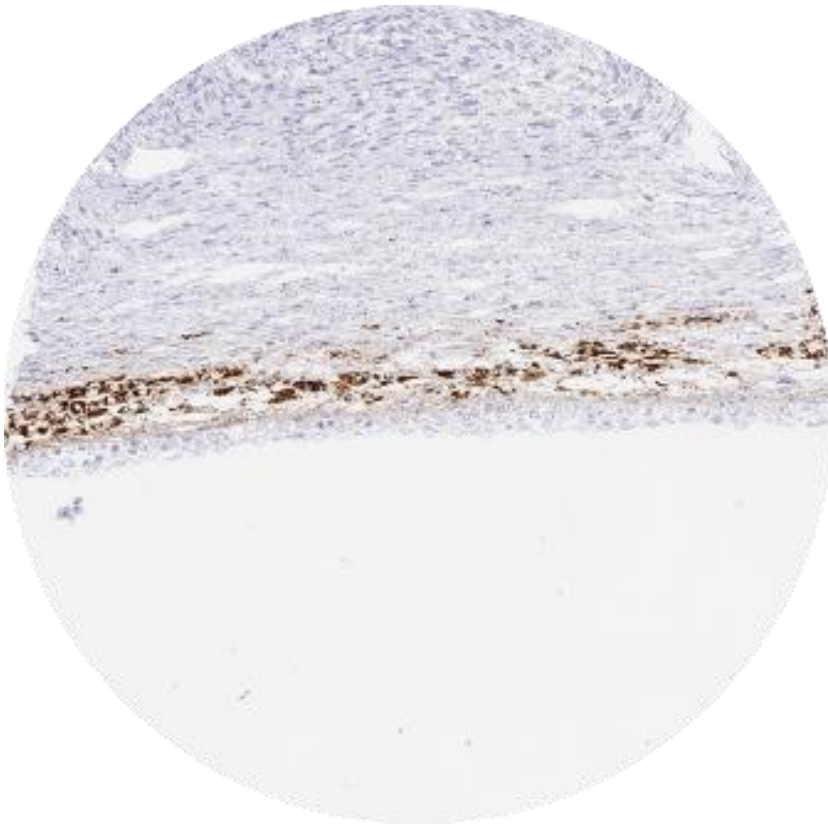


Abbildung 22: Ovarialgewebe mit kräftiger StAR-Anfärbung von Theca interna Zellen einer folliculären Zyste

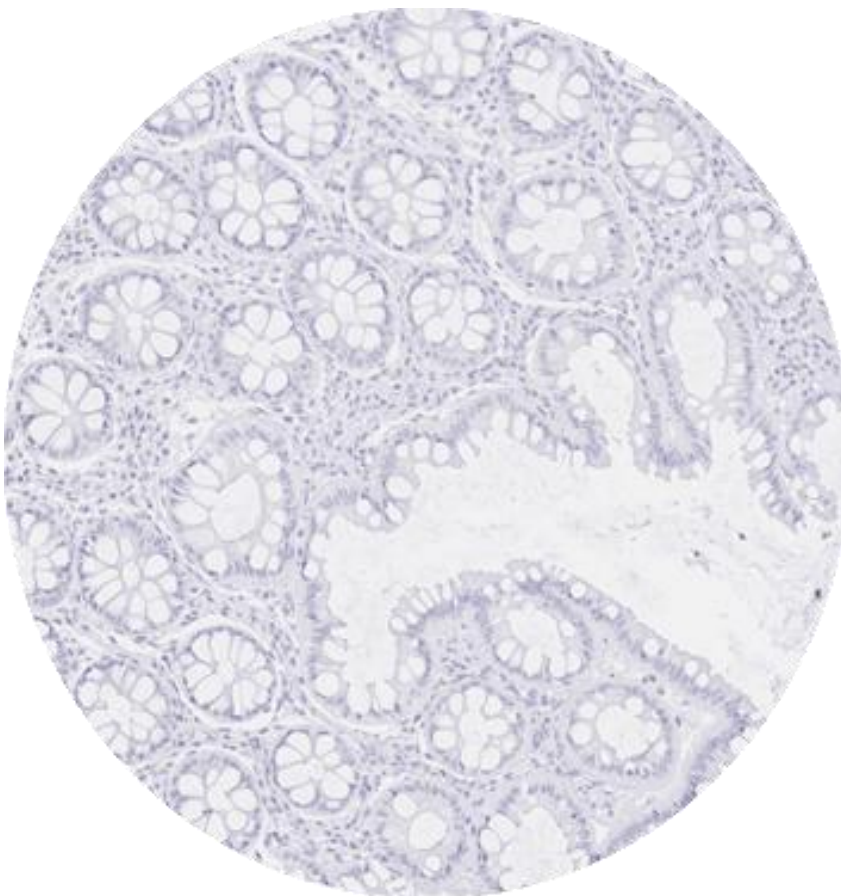
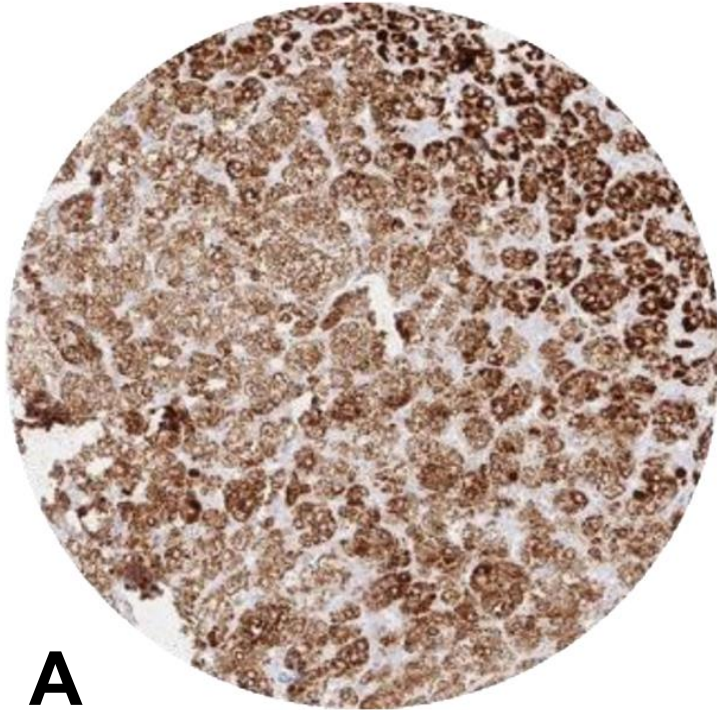
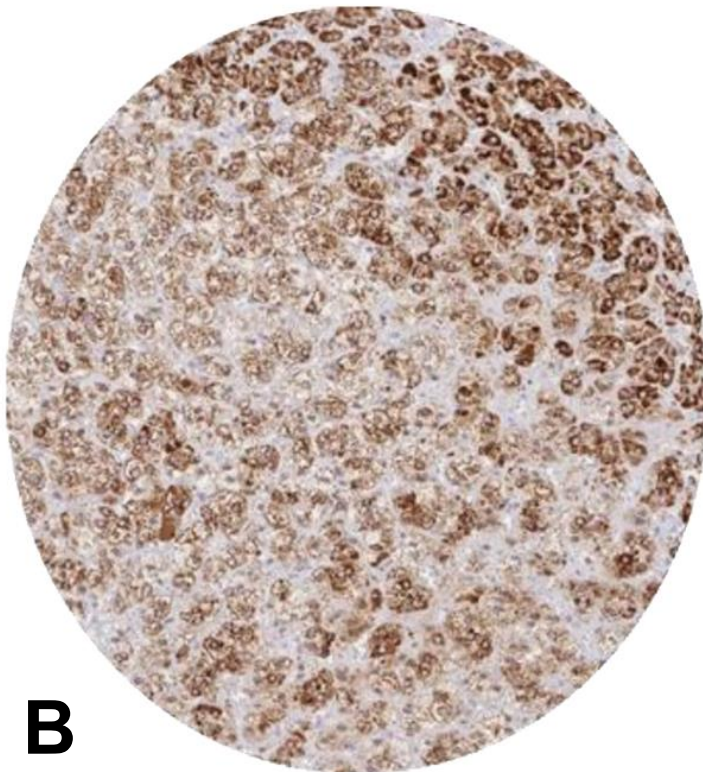


Abbildung 23: Kolorektales Epithel mit komplettem Fehlen einer StAR-Färbung

Alle diese positiven Färbungen wurden sowohl unter Verwendung des Antikörpers MSVA-740R wie auch der Verwendung von EPR7639 erzielt, sodass alle diese Färbungen als StAR spezifisch interpretiert wurde. Vergleichende Abbildungen der Färbungen mit beiden Antikörpern ist in Abbildung 24-27 zusammengefasst. Eine StAR-Färbung war in den folgenden Organen nicht nachweisbar: Skelettmuskel, Herzmuskel, glatte Muskulatur, Myometrium des Uterus, Corpus Spongiosum des Penis, Ovarialstroma, Fett, Haut (einschließlich Haarfollikel und Talgdrüsen), Mukosa von Lippe und Mundhöhle, Ektozervix, Plattenepithel des Ösophagus, Übergangsepithel des Analkanals, Urothel vom Nierenbecken und Harnblase, Dezidua, Plazenta, Lymphknoten, Milz, Thymus, Tonsille, Magenepithel, Duodenum, Ileum, Appendix, Kolon, Rektum, Gallenblase, Leber, Pankreas, Parotis, Glandula submandibularis, Glandula sublingualis, Brunner-Drüsen, Niere, Prostata, Samenblase, Epididymis, respiratorisches Epithel, assoziierte Drüsen von Bronchialschleimhaut und paranasaler Sinus-schleimhaut, Lunge, Mamma, Endozervix, Endometrium, Eileiter, Nebennierenmark, Schilddrüse, Nebenschilddrüse, Cerebellum, Cerebrum und Hypophyse

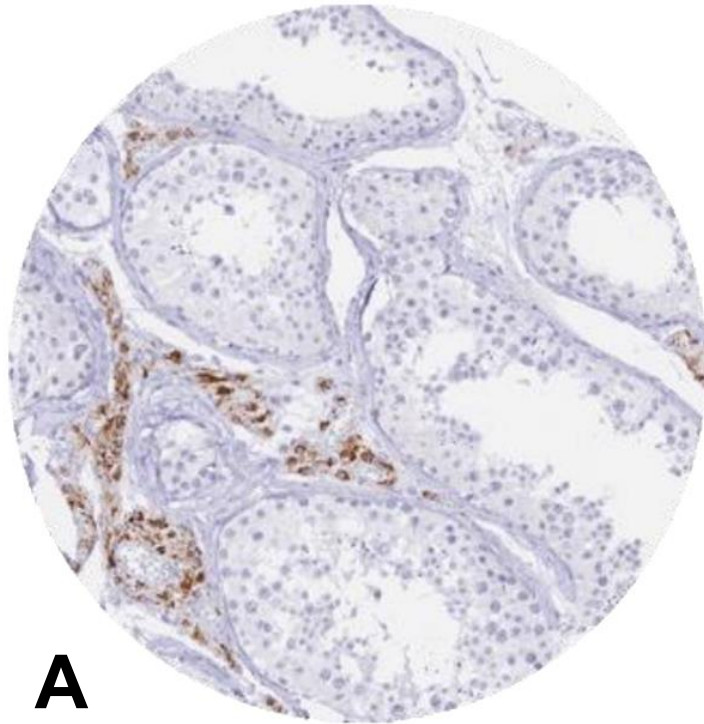


A

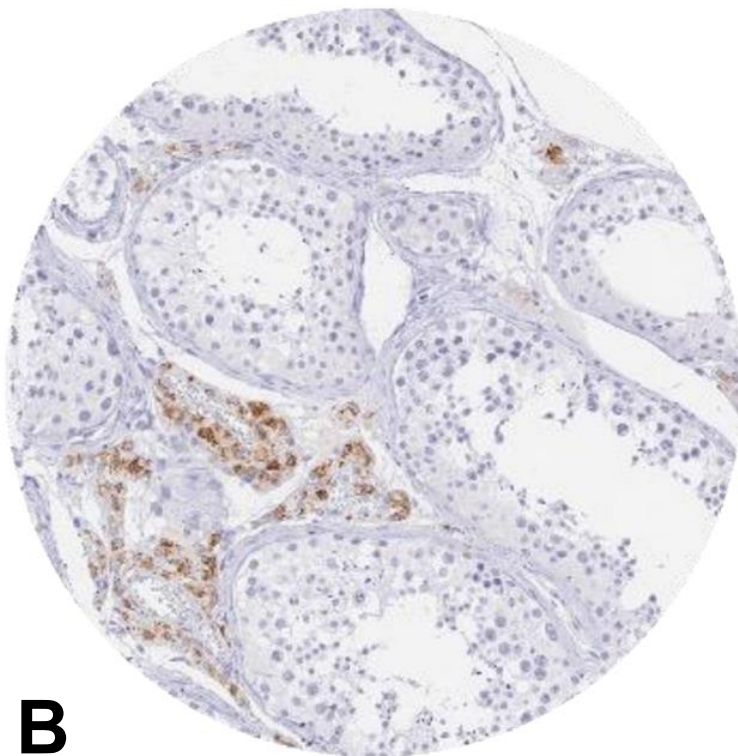


B

Abbildung 24: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung in Nebennierenrinde. Die kräftige Anfärbung mit dem Antikörper MSVA 740R lässt sich vom Referenzantikörper EPR7639 bestätigen.



A



B

Abbildung 25: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung in Leydigzellen. Die mäßig starke Anfärbung mit dem Antikörper MSVA 740R lässt sich vom Referenzantikörper EPR7639 bestätigen.

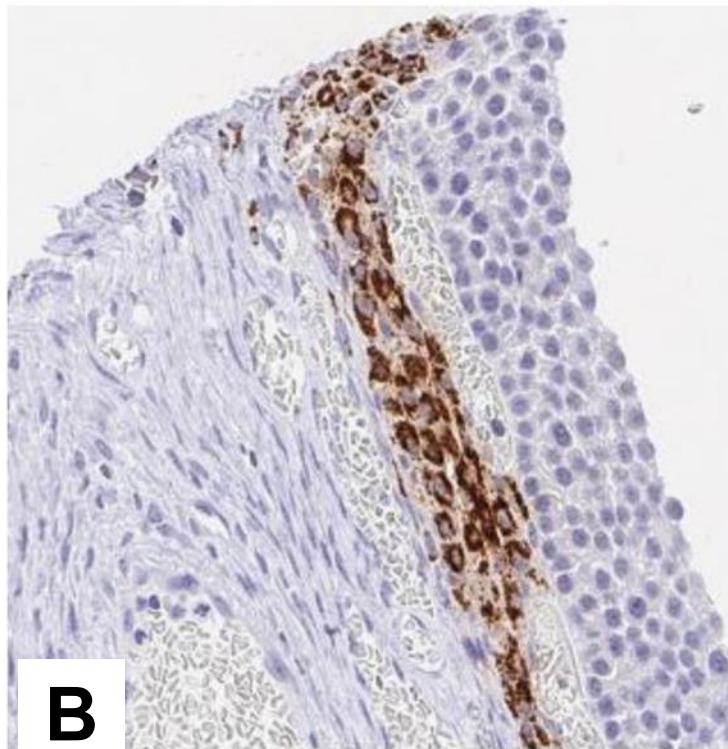
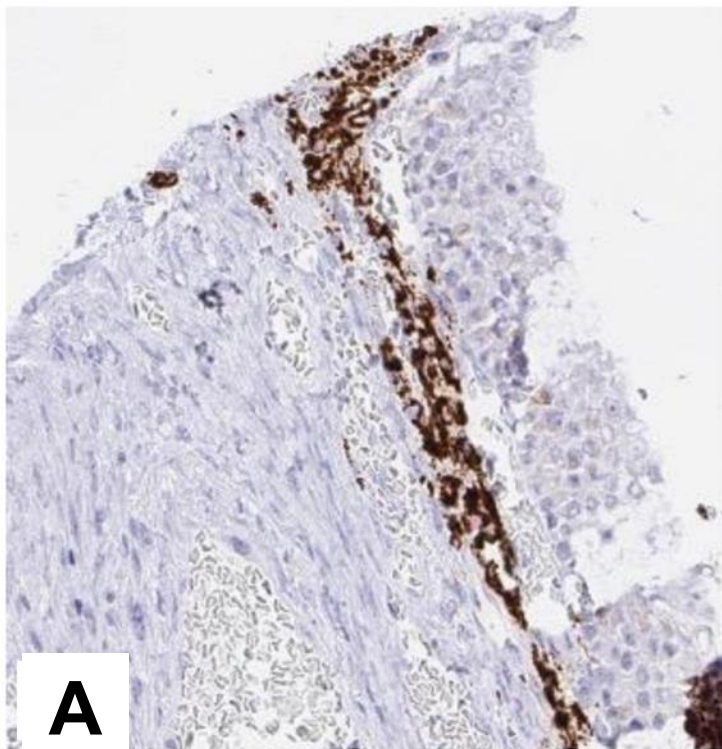


Abbildung 26: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung in einer folliculären Zyste aus dem Ovar. Die kräftige Anfärbung mit dem Antikörper MSVA 740R lässt sich vom Referenzantikörper EPR7639 bestätigen.

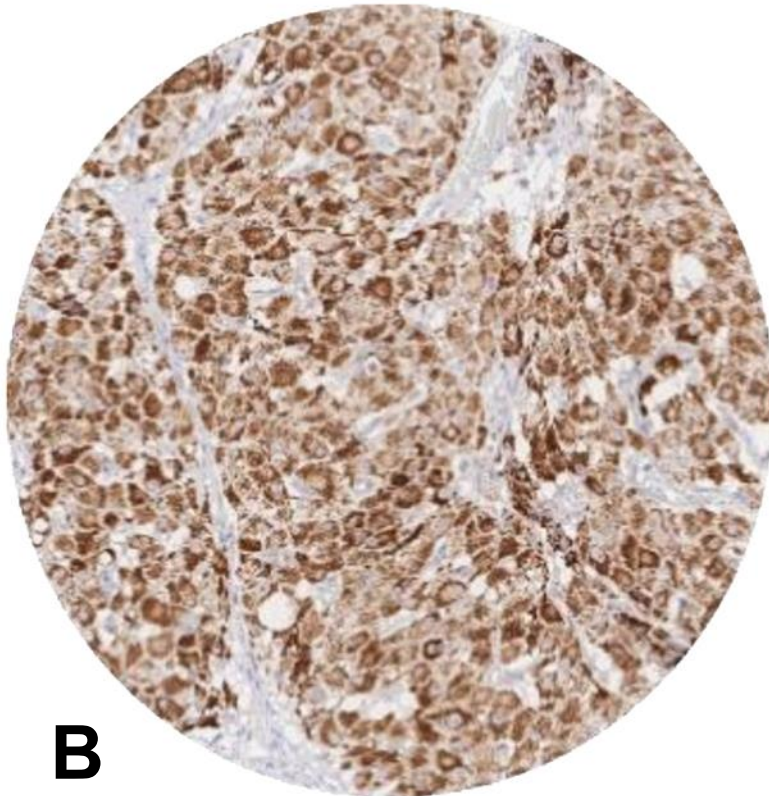
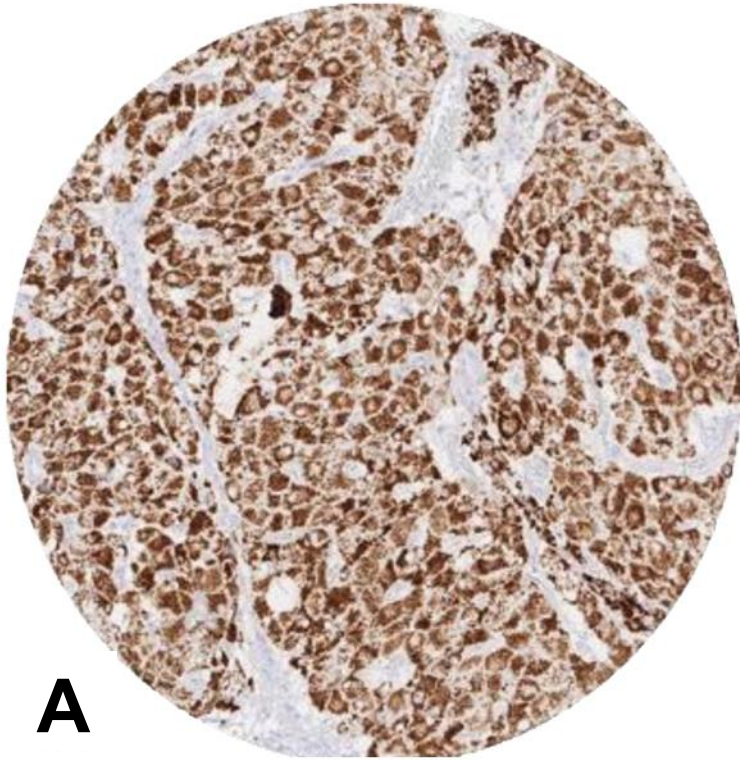


Abbildung 27: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung im Corpus Luteum aus dem Ovar. Die kräftige Anfärbung mit dem Antikörper MSVA 740R lässt sich vom Referenzantikörper EPR7639 bestätigen.

3.3. StAR in Tumorgeweben

Eine StAR-Immunfärbung fand sich in 198 von (1,2%) von 17135 auswertbaren Tumoren. Darunter waren 119 (0,7%) mit schwacher, 37 (0,2%) mit mäßig starker und 42 (0,2%) mit starker Immunfärbung. Insgesamt 27 (17,8%) von 152 Tumorkategorien zeigten mindestens einen Fall mit nachweisbarer StAR-Anfärbung, während 9 (5,9%) unserer Tumorkategorien mindestens einen Fall mit starker Positivität aufwiesen. Die Ergebnisse unserer StAR-Färbungen sind organsystematisch in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: StAR-Immunfärbung in menschlichen Tumoren

StAR-IHC-Ergebnisse							
	Tumorentität	auf TMA (n)	verwertbar (n)	negativ (%)	schwach (%)	mäßig (%)	stark (%)
Tumoren der Haut	<i>Pilomatrixom</i>	35	16	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Basalzellkarzinom der Haut</i>	89	57	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Benigner Nävus</i>	29	27	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom der Haut</i>	145	130	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Malignes Melanom</i>	65	60	98,30	1,70	0,00	0,00
	<i>Malignes Melanom (Lymphknoten metastasiert)</i>	86	72	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Merkelzellkarzinom</i>	48	28	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren des Kopf-Hals-Bereichs	<i>Plattenepithelkarzinom des Larynx</i>	109	94	98,90	1,10	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom des Pharynx</i>	60	52	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Orales Plattenepithelkarzinom des Mundbodens</i>	130	117	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Pleomorphes Adenom der Parotisdrüse</i>	50	44	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Warthintumor der Parotisdrüse</i>	104	100	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom, NOS (Papilläres Zystadenokarzinom)</i>	14	10	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Speicheldrüsenkarzinom</i>	15	13	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Azinuszellkarzinom der Speicheldrüse</i>	181	151	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom, NOS der Speicheldrüse</i>	109	88	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenoides Zystkarzinom der Speicheldrüse</i>	180	112	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Basalzellkarzinom der Speicheldrüse</i>	25	23	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Basalzelladenom der Speicheldrüse</i>	101	86	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Epitheliales-myoepitheliales Karzinom der Speicheldrüse</i>	53	51	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Mukoepidermoides Karzinom der Speicheldrüse</i>	343	299	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Myoepitheliales Karzinom der Speicheldrüse</i>	21	18	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Myoepitheliom der Speicheldrüse</i>	11	9	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Onkozytisches Karzinom der Speicheldrüse</i>	12	11	100,00	0,00	0,00	0,00

	<i>Tumorentität</i>	<i>auf TMA (n)</i>	<i>ver- wertbar (n)</i>	<i>negativ (%)</i>	<i>schwach (%)</i>	<i>mäßig (%)</i>	<i>stark (%)</i>
	<i>Polymorphes Adenokarzinom der Speicheldrüse, low grade</i>	41	32	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Pleomorphes Adenom der Speicheldrüse</i>	53	40	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren der Lunge, der Pleura und des Thymus	<i>Adenokarzinom der Lunge</i>	196	183	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom der Lunge</i>	80	76	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kleinzelliges Lungenkarzinom</i>	16	10	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Mesotheliom, epitheloid</i>	40	30	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Mesotheliom, sonstige</i>	77	47	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Thymom</i>	29	28	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Lunge, neuroendokriner Tumor (NET)</i>	29	28	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren des weibli- chen Genitaltrakts	<i>Plattenepithelkarzinom der Vagina</i>	78	63	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom der Vulva</i>	157	141	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom der Zervix</i>	136	124	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom der Zervix</i>	23	19	94,70	5,30	0,00	0,00
	<i>Endometrioides Endometrium- karzinom</i>	338	273	97,10	2,90	0,00	0,00
	<i>Seröses Endometriumkarzi- nom</i>	86	61	95,10	4,90	0,00	0,00
	<i>Karzinom des Uterus</i>	57	47	95,70	2,10	2,10	0,00
	<i>Endometriumkarzinom, high grade, G3</i>	13	10	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Klarzelliges Endometriumkarzi- nom</i>	9	8	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Endometrioides Ovarial- karzinom</i>	130	115	96,50	3,50	0,00	0,00
	<i>Seröses Ovarialkarzinom</i>	580	540	99,30	0,60	0,20	0,00
	<i>Muzinöses Ovarialkarzinom</i>	101	89	98,90	1,10	0,00	0,00
	<i>Klarzelliges Ovarialkarzinom</i>	51	49	98,00	0,00	0,00	2,00
	<i>Karzinom der Ovarien</i>	47	47	95,70	2,10	2,10	0,00
	<i>Granulosazelltumor der Ovarien</i>	44	36	44,40	52,80	2,80	0,00
	<i>Leydigzelltumor der Ovarien</i>	4	4	0,00	25,00	50,00	25,00
	<i>Sertolizelltumor der Ovarien</i>	1	1	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Sertoli-Leydigzelltumor der Ovarien</i>	3	3	33,30	33,30	0,00	33,30
	<i>Steroidzelltumor der Ovarien</i>	3	3	0,00	33,30	66,70	0,00

	<i>Tumorentität</i>	<i>auf TMA (n)</i>	<i>verwertbar (n)</i>	<i>negativ (%)</i>	<i>schwach (%)</i>	<i>mäßig (%)</i>	<i>stark (%)</i>
	<i>Brennertumor</i>	41	41	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren der Brust	<i>Invasives Mammakarzinom, nicht spezifischer Subtyp/NST</i>	1764	1678	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Lobuläres Mammakarzinom</i>	363	340	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Medulläres Mammakarzinom</i>	34	33	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Tubuläres Mammakarzinom</i>	29	25	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Muzinöses Mammakarzinom</i>	65	53	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Phylloider Mammatumor</i>	50	45	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren des Verdauungssystems	<i>Adenomatöser Polyp, low-grade Dysplasie</i>	50	50	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenomatöser Polyp, high-grade Dysplasie</i>	50	50	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom des Kolons</i>	2483	2309	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom des Magens, diffuser Typ</i>	215	201	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom des Magens, intestinaler Typ</i>	215	204	99,50	0,50	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom des Magens, gemischter Typ</i>	62	62	98,40	1,60	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom des Ösophagus</i>	83	69	98,60	1,40	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom des Ösophagus</i>	76	59	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom des Analkanals</i>	91	81	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Cholangiozelluläres Karzinom</i>	58	57	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom der Gallenblase</i>	51	48	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Klatskintumor der Gallenblase</i>	42	35	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Hepatozelluläres Karzinom</i>	312	271	99,60	0,00	0,40	0,00
	<i>Duktales Adenokarzinom des Pankreas</i>	659	593	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Pancreatisch/Ampulläres Adenokarzinom</i>	98	98	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Azinuszellkarzinom des Pankreas</i>	18	18	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)</i>	62	61	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Appendix, neuroendokriner Tumor (NET)</i>	25	20	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kolorektum, neuroendokriner Tumor (NET)</i>	12	11	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Ileum, neuroendokriner Tumor (NET)</i>	53	53	100,00	0,00	0,00	0,00

	<i>Tumorentität</i>	<i>auf TMA (n)</i>	<i>verwertbar (n)</i>	<i>negativ (%)</i>	<i>schwach (%)</i>	<i>mäßig (%)</i>	<i>stark (%)</i>
	<i>Pankreas, neuroendokriner Tumor (NET)</i>	101	97	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kolorektum, neuroendokrines Karzinom (NEC)</i>	14	12	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Ileum, neuroendokrines Karzinom (NEC)</i>	8	8	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Gallenblase, neuroendokrines Karzinom (NEC)</i>	4	4	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Pankreas, neuroendokrines Karzinom (NEC)</i>	14	14	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren des harnableitenden Systems	<i>Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 low grade</i>	177	173	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G2 high grade</i>	141	139	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Nicht-invasives papilläres Urothelkarzinom, pTa G3</i>	219	138	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Urothelkarzinom, pT2-4 G3</i>	735	636	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom der Harnblase</i>	22	20	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Harnblase</i>	23	15	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Sarkomatoides Urothelkarzinom</i>	25	19	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Urothelkarzinom des Nierenbeckens</i>	62	55	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Klarzelliges Nierenzellkarzinom</i>	1287	1144	99,80	0,00	0,10	0,10
	<i>Papilläres Nierenzellkarzinom</i>	368	321	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Klarzelliges (tubuläres) papilläres Nierenzellkarzinom</i>	26	23	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Chromophobes Nierenzellkarzinom</i>	170	150	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Onkozytom der Niere</i>	257	221	99,50	0,00	0,00	0,50
Tumoren des männlichen Geschlechtsorgane	<i>Adenokarzinom der Prostata, Gleason 3+3</i>	83	78	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom der Prostata, Gleason 4+4</i>	80	69	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom der Prostata, Gleason 5+5</i>	85	79	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Adenokarzinom der Prostata, (Rekurrenz)</i>	258	239	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kleinzelliges neuroendokrines Karzinom der Prostata</i>	19	7	100,00	0,00	0,00	0,00

	<i>Tumorentität</i>	<i>auf TMA (n)</i>	<i>verwertbar (n)</i>	<i>negativ (%)</i>	<i>schwach (%)</i>	<i>mäßig (%)</i>	<i>stark (%)</i>
	<i>Seminom</i>	682	670	93,40	6,00	0,30	0,30
	<i>Embryonales Karzinom des Hodens</i>	54	51	98,00	2,00	0,00	0,00
	<i>Leydigzelltumor des Hodens</i>	31	23	0,00	17,40	21,70	60,90
	<i>Sertolizelltumor des Hodens</i>	2	1	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Keimstrangtumor des Hodens</i>	1	1	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Spermatozytischer Tumor des Hodens</i>	1	1	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Dottersacktumor</i>	53	47	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Teratom</i>	53	46	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Plattenepithelkarzinom des Penis</i>	92	72	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren endokriner Art	<i>Follikuläres Schilddrüsenadenom</i>	113	111	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Papilläres Schilddrüsenkarzinom</i>	391	354	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Follikuläres Schilddrüsenkarzinom</i>	154	143	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Medulläres Schilddrüsenkarzinom</i>	111	106	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Nebenschilddrüsenadenom</i>	43	27	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Anaplastisches Schilddrüsenkarzinom</i>	45	44	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Nebennierenrindenadenom</i>	50	45	13,30	37,80	33,30	15,60
	<i>Nebennierenrindencarzinom</i>	28	28	7,10	25,00	17,90	50,00
	<i>Phäochromozytom</i>	50	49	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren des haemopoetischen/ lymphatischen Gewebes	<i>Hodgkin Lymphom</i>	103	94	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kleinzelliges lymphozystisches B-Zell-Lymphom (B-SLL/B-CLL)</i>	50	41	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL)</i>	113	94	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Follikuläres Lymphom</i>	88	72	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>T-Zell Non Hodgkin-Lymphom</i>	25	21	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Mantelzell-Lymphom</i>	18	13	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Marginalzonen-Lymphom</i>	16	13	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL) des Hodens</i>	16	15	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Burkitt-Lymphom</i>	5	1	100,00	0,00	0,00	0,00
Tumoren des Weichteilgewebes und Knöchens	<i>Tenosynovialer Riesenzelltumor</i>	45	24	100,00	0,00	0,00	0,00

	<i>Tumorentität</i>	<i>auf TMA (n)</i>	<i>verwertbar (n)</i>	<i>negativ (%)</i>	<i>schwach (%)</i>	<i>mäßig (%)</i>	<i>stark (%)</i>
	<i>Granularzelltumorr</i>	53	26	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Leiomyom</i>	50	50	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Leiomyosarkom</i>	94	84	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Liposarkom</i>	145	116	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Maligner peripherer Nerven-scheidentumor (MPNST)</i>	15	13	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Myofibrosarkom</i>	26	19	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Angiosarkom</i>	74	53	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Angiomyolipom</i>	91	89	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Dermatofibrosarkom protuberans</i>	21	17	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Ganglioneurom</i>	14	14	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Kaposi-Sarkom</i>	8	4	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Neurofibrom</i>	117	117	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Sarkom, not otherwise specified (NOS)</i>	74	65	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Paragangliom</i>	41	41	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Ewing-Sarkom</i>	23	16	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Rhabdomyosarkom</i>	7	7	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Schwannom</i>	122	121	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Synovialsarkom</i>	12	11	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Osteosarkom</i>	44	26	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Chondrosarkom</i>	40	16	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Rhabdoider Tumor</i>	5	5	100,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Solitärer fibröserTumor</i>	17	17	94,10	5,90	0,00	0,00

Repräsentative Bilder von Tumoren mit StAR-Färbung sind in den Abbildungen 28-35 dargestellt.



Abbildung 28: Nebennierenrindenadenom mit kräftiger StAR-Anfärbung aller Tumorzellen

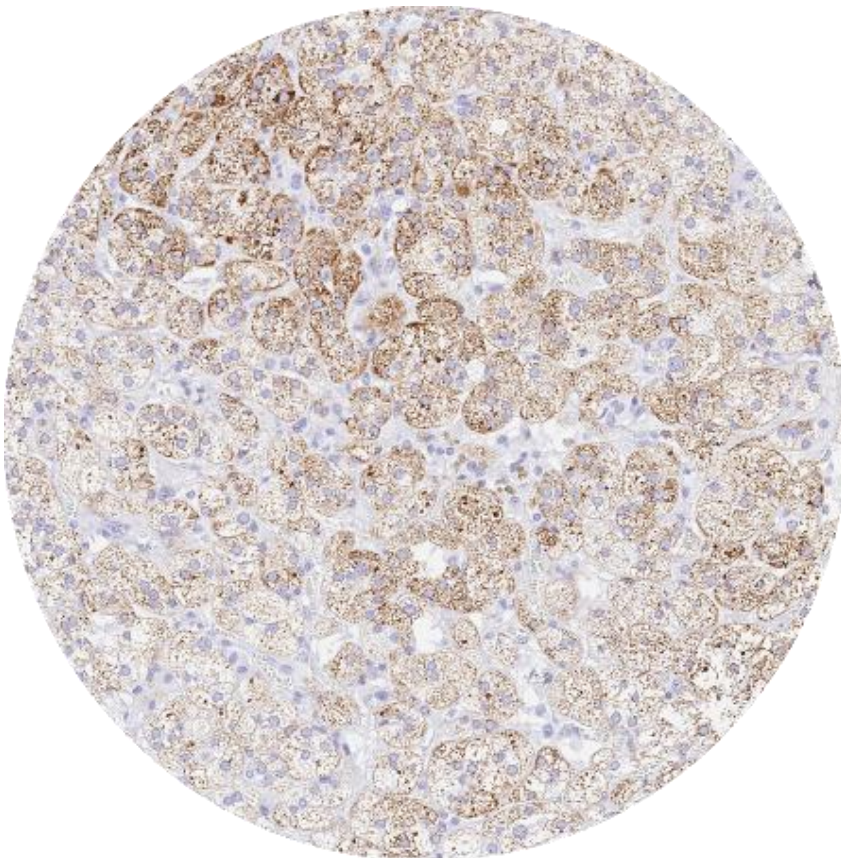


Abbildung 29: Adrenokortikales Adenom mit variabler, gering bis mäßiggradig ausgeprägter StAR-Anfärbung in den Tumorzellen

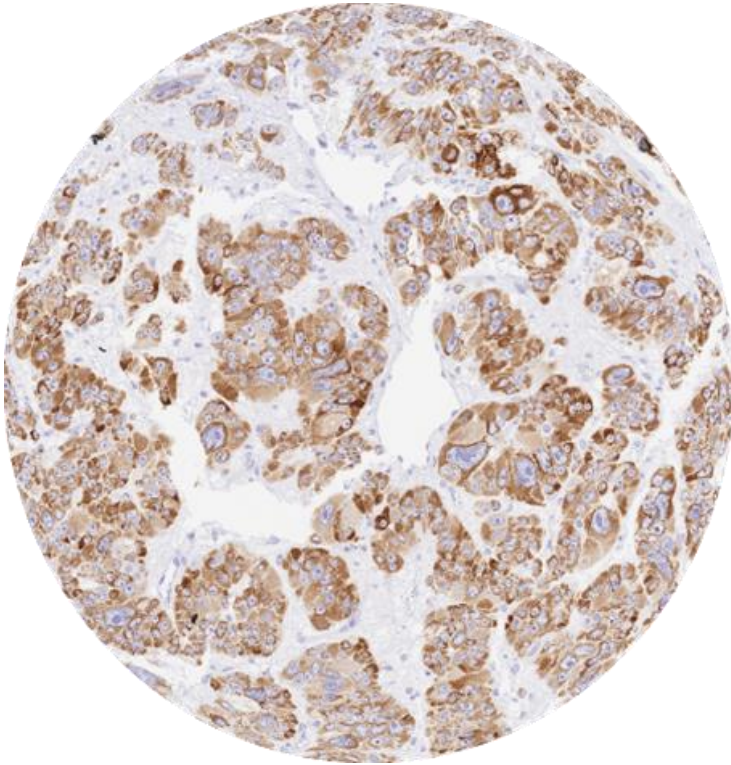


Abbildung 30: Nebennierenrindenkarzinom mit mäßig starker zytoplasmatischer StAR-Färbung aller Tumorzellen



Abbildung 31: Leydigzelltumor des Hodens mit intensiver StAR-Färbung aller Tumorzellen (zytoplasmatisch)

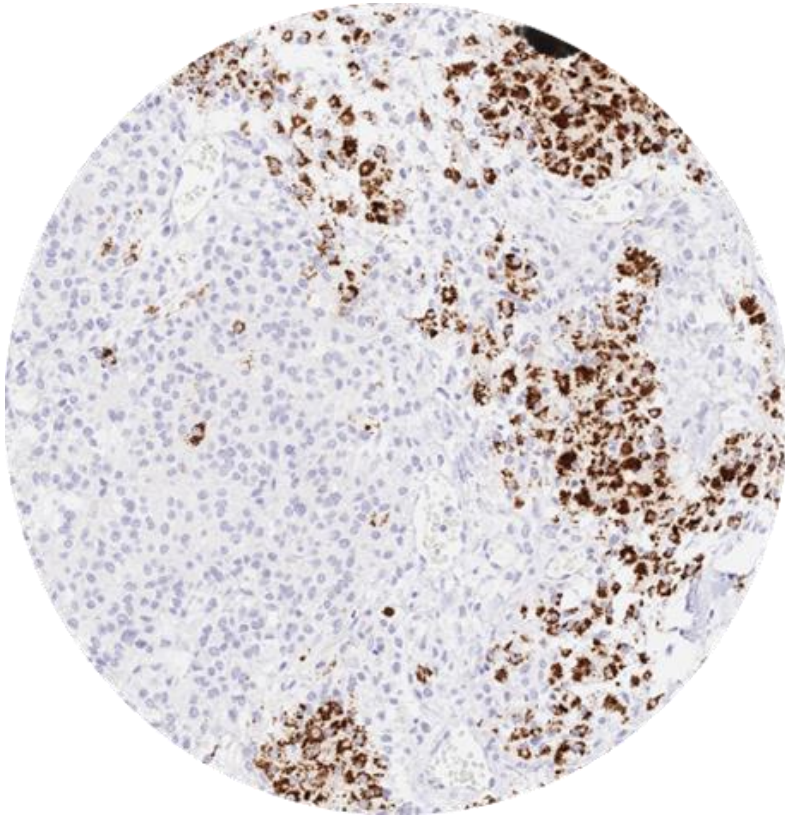


Abbildung 32: Sertoli-Leydigzelltumor des Hodens mit kräftiger zytoplasmatischer StAR-Färbung der Leydigzellanteile des Tumors

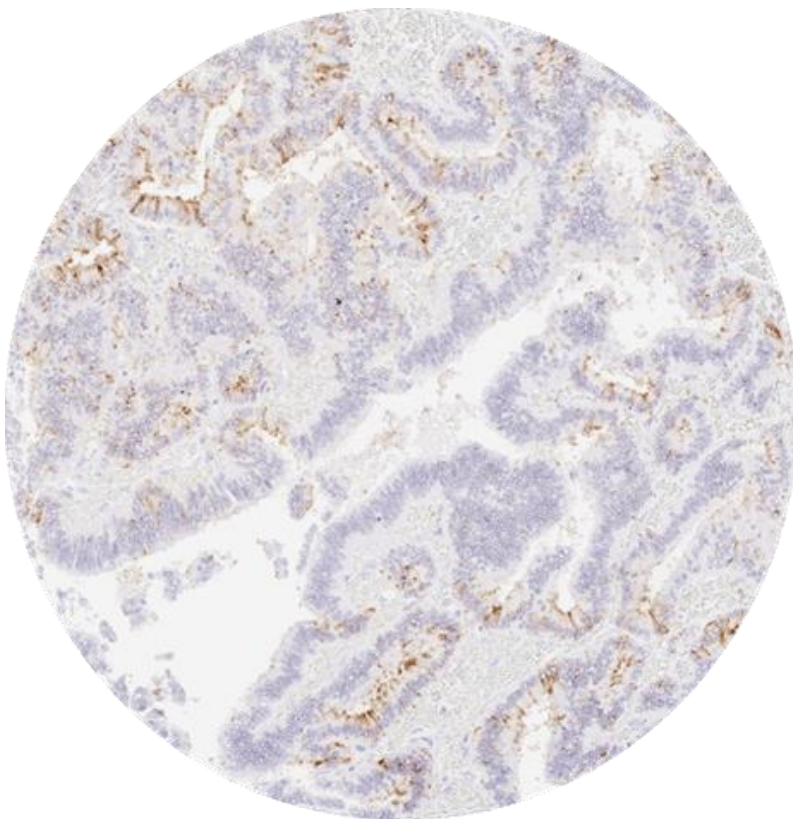


Abbildung 33: Endometrioides Ovarialkarzinom mit fokaler, überwiegend membranöser StAR-Anfärbung in ca. 30% der Zellen

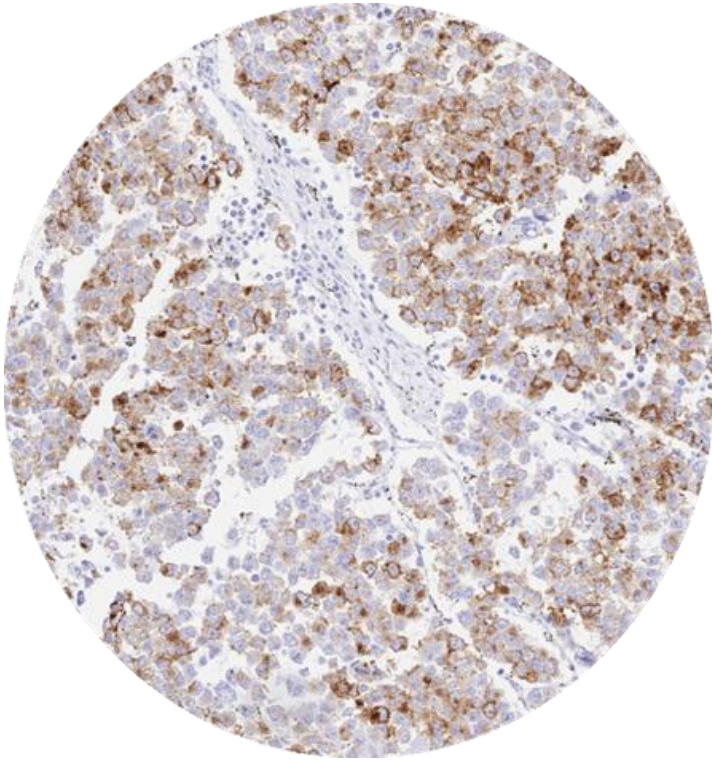


Abbildung 34: Seminom des Hodens mit mäßig starker bis starker, überwiegend membranöser Färbung von 70 % bis 90% der Tumorzellen

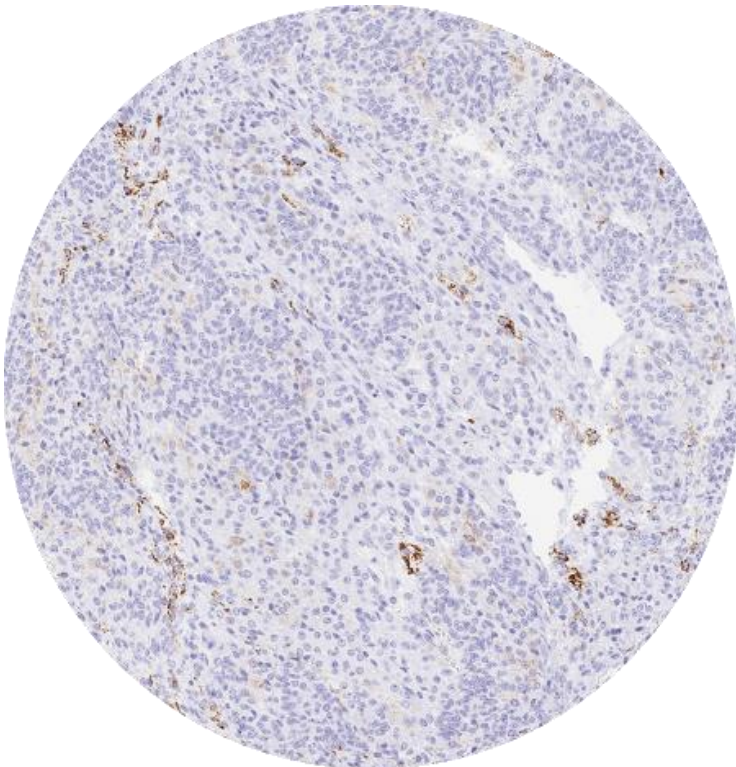


Abbildung 35 Granulosazelltumor des Ovars mit immer wieder nachweisbaren kräftig positiven Zellen, die zwischen den Tumorzellverbänden liegen und am ehesten Überbleibsel von tumorinduzierten Theca interna Zellen darstellen dürften.

Die größte Häufigkeit von StAR positiven Tumoren fand sich in Leydig-Zell-Tumoren des Hodens und des Ovars (je 100% positiv) und in Steroidzelltumoren des Ovars (100%). Hohe Positivitätsraten für StAR fanden sich auch in Karzinomen (92,9%) und Adenomen (86,7%) der Nebennierenrinde. Das Fehlen einer StAR-Anfärbung in einzelnen Nebennierenrinden-Neoplasien (8 Nebennierentumoren waren StAR negativ) war nicht mit einem spezifischen Phänotyp dieser adrenokorticalen Tumoren assoziiert. Eine etwas geringere StAR-Positivitätsrate fand sich in Sertoli-Leydigzelltumoren des Ovars (66,7%), wobei in diesen Tumoren nur die Leydigzellen aber nicht die Sertolizellen eine Positivität für StAR aufwiesen. Das Fehlen einer positiven StAR-Anfärbung in einzelnen dieser Tumoren könnte auch dadurch bedingt sein, dass nicht alle Sertoli-Leydigzelltumoren in den 0,6mm messenden in unserem TMA untersuchten Gewebe auch Leydigzellen enthielten. Auch bei Granulosazelltumoren des Ovars fand sich eine StAR-Positivität in 55,6% der Fälle, die Positivität schien aber insbesondere durch Erhalten gebliebene StAR positive Stromazellen beziehungsweise möglicherweise Theca interna Zellen bedingt zu sein (Abbildung 35). Eine StAR-Positivität wurde auch in 6,6% der Seminome und in 19 anderen Tumorentitäten gefunden. In diesen Tumorentitäten war die StAR-Positivität typischerweise schwach, fokal ausgebildet und oft membranös. Eine tabellarische Darstellung der Rangliste der StAR positiven Tumoren ist in Tabelle 7, eine graphische Darstellung desselben Befundes ist in Abbildung 36 dargestellt. In Tabelle 8 wird die Beziehung zwischen StAR-Positivität und histopathologischen Malignitätskriterien beim Seminom dargestellt. Die Daten zeigen keine Zusammenhänge zwischen StAR-Expression und pT-Stadium, pN-Kategorie, Tumordinfiltration von Venen oder Lymphgefäßen bzw. eine Infiltration von Funniculus spermaticus oder Rete testis ($p > 0,05$).

Tabelle 7: Ranking der StAR positiven Tumoren

Ranking	Positiv	Davon stark positiv
Leydigzelltumor des Ovars	100,0	25,0
Leydigzelltumor des Hodens	100,0	60,9
Steroidzelltumor des Ovars	100,0	0,0
Nebennierenrindenkarzinom	92,9	50,0
Nebennierenrindenadenom	86,7	15,6
Sertoli-Leydigzelltumor des Ovars	66,7	33,3
Granulosazelltumor des Ovars	55,6	0,0
Seminom	6,6	0,3
Solitärer fibröser Tumor	5,9	0,0
Adenokarzinom der Zervix	5,3	0,0
Seröses Endometriumkarzinom	4,9	0,0
Karzinom des Uterus	4,3	0,0
Karzinom des Ovars	4,3	0,0
Endometrioides Ovarialkarzinom	3,5	0,0
Endometrioides Endometriumkarzinom	2,9	0,0
Klarzelliges Ovarialkarzinom	2,0	2,0
Embryonales Karzinom des Hodens	2,0	0,0
Malignes Melanom	1,7	0,0
Adenokarzinom des Magens, gemischter Typ	1,6	0,0
Adenokarzinom des Ösophagus	1,4	0,0
Muzinöses Ovarialkarzinom	1,1	0,0
Plattenepithelkarzinom des Larynx	1,1	0,0
Seröses Ovarialkarzinom	0,7	0,0
Adenokarzinom des Magen, intestinaler Typ	0,5	0,0
Onkozytom der Niere	0,5	0,5
Hepatozelluläres Karzinom	0,4	0,0
Klarzelliges Nierenzellkarzinom	0,2	0,1

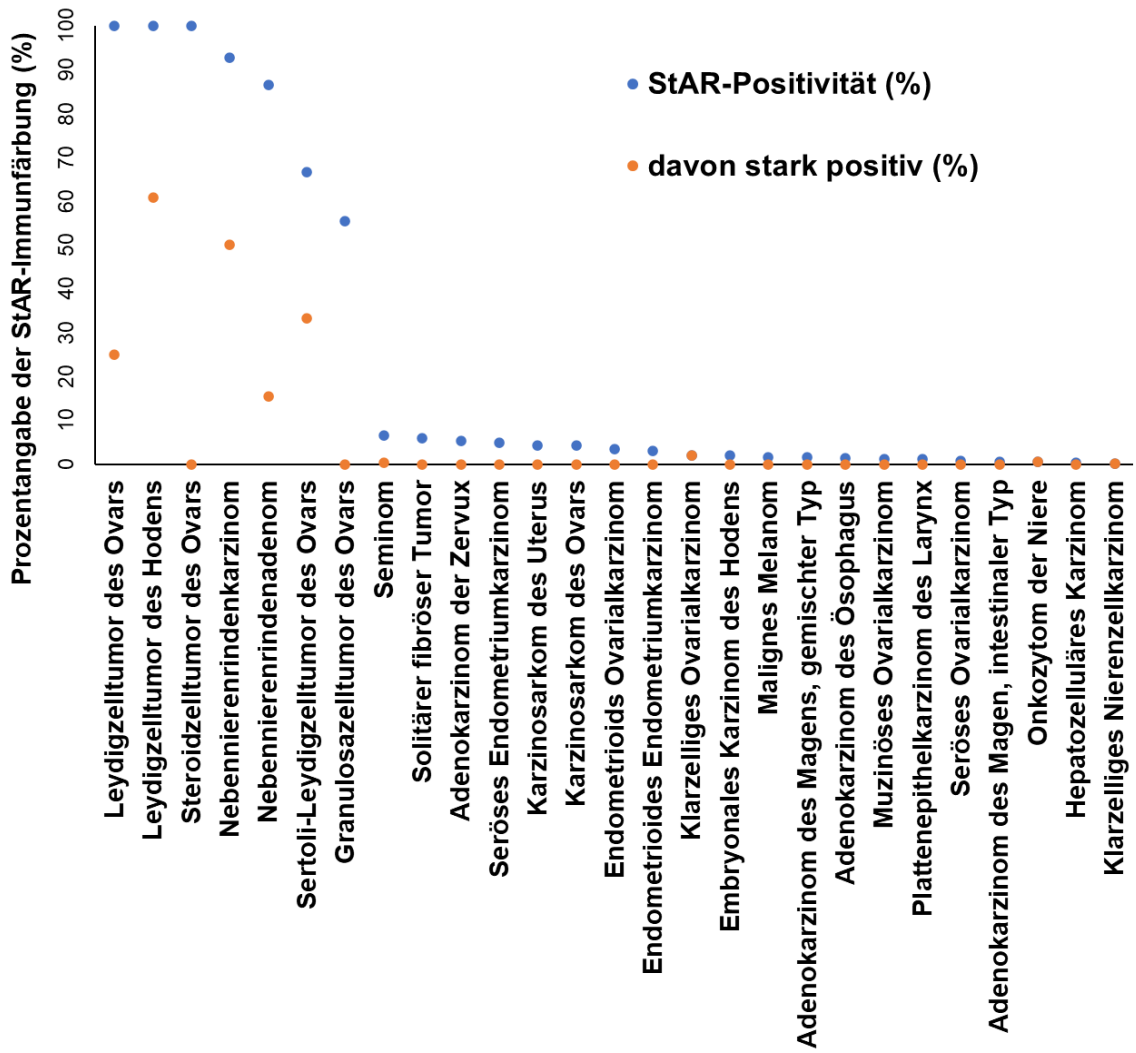


Abbildung 36: Ranking der StAR positiven Tumoren

Tabelle 8: StAR-IHC-Ergebnisse und histopathologische Malignitätskriterien bei Seminomen.

	n	StAR-IHC-Ergebnisse				p
		negativ (%)	schwach (%)	mäßig positiv (%)	stark positiv (%)	
Alle Seminome	564	93.3	6.0	0.4	0.4	
Tumorstadium						
pT1	363	93.9	5.2	0.3	0.6	0.60
pT2	138	90.6	8.7	0.7	0.0	
pT3	55	94.5	5.5	0.0	0.0	
Veneninvasion						
negativ	459	94.1	5.0	0.4	0.4	0.08
positiv	56	85.7	14.3	0.0	0.0	
Lymphgefäßinvasion						
negativ	403	93.1	6.2	0.2	0.5	0.63
positiv	118	93.2	5.9	0.8	0.0	
Samenstranginvasion						
negativ	432	93.5	6.0	0.2	0.2	0.91
positiv	60	93.3	6.7	0.0	0.0	
Invasion des Rete Testis						
negativ	246	95.5	4.5	0.0	0.0	0.058
positiv	277	91.0	7.6	0.7	0.7	
Lymphknotenbefall						
negativ	559	93.2	6.1	0.4	0.4	0.87
positiv	5	100.0	0.0	0.0	0.0	

3.4. StAR versus Melan A (kreuzreaktiv)

Daten zu den Färbeergebnissen mit einem „kreuzreaktiven“ Melan A Antikörper waren für 14915 unserer Tumoren mit StAR-Daten verfügbar. Antikörper gegen Melan A gelten als Marker für Nebennierenrindengewebe, wobei viele Pathologen, die derartige Antikörper nutzen nicht wissen, dass die Melan A Positivität von Nebennierenrindengewebe durch eine Kreuzaktivität einzelner Melan A Klone bedingt sind. In einer kürzlichen Studie der Arbeitsgruppe der Pathologie am UKE wurde an unserem Tumorkollektiv eine Vergleichsuntersuchung von Melan A spezifischen (ohne Nebennierenrindenanfärbung) und unspezifischen (mit Nebennierenrindenanfärbung) Melan A Antikörpern durchgeführt (Boroojerdi et al. 2024). Ein Vergleich der Melan A und StAR-Färbedaten ist in Abbildung 37 für alle Tumorentitäten mit mindestens einem positiven Fall für mindestens einer dieser beiden Antikörper (StAR bzw. kreuzreaktiver Melan A Antikörper) gezeigt. Eine Positivität für beide Antikörper fand sich nur bei 7 Tumorentitäten, darunter adrenokortikale Adenome beziehungsweise Karzinome,

Leydigzelltumoren von Ovar und Hoden, Steroidzelltumoren des Ovars, Sertoli-Leydigzelltumoren und Granulosazelltumoren des Ovars. Bei adrenokortikalen Adenomen und Karzinomen sowie bei Leydigzelltumoren des Hodens und des Ovars war StAR häufiger positiver als das kreuzreaktive Melan A. Im Gegensatz zu Melan A (kreuzreaktiv) fand sich eine StAR-Positivität nie in Melanomen oder in reinen Sertoli-Zelltumoren des Hodens.

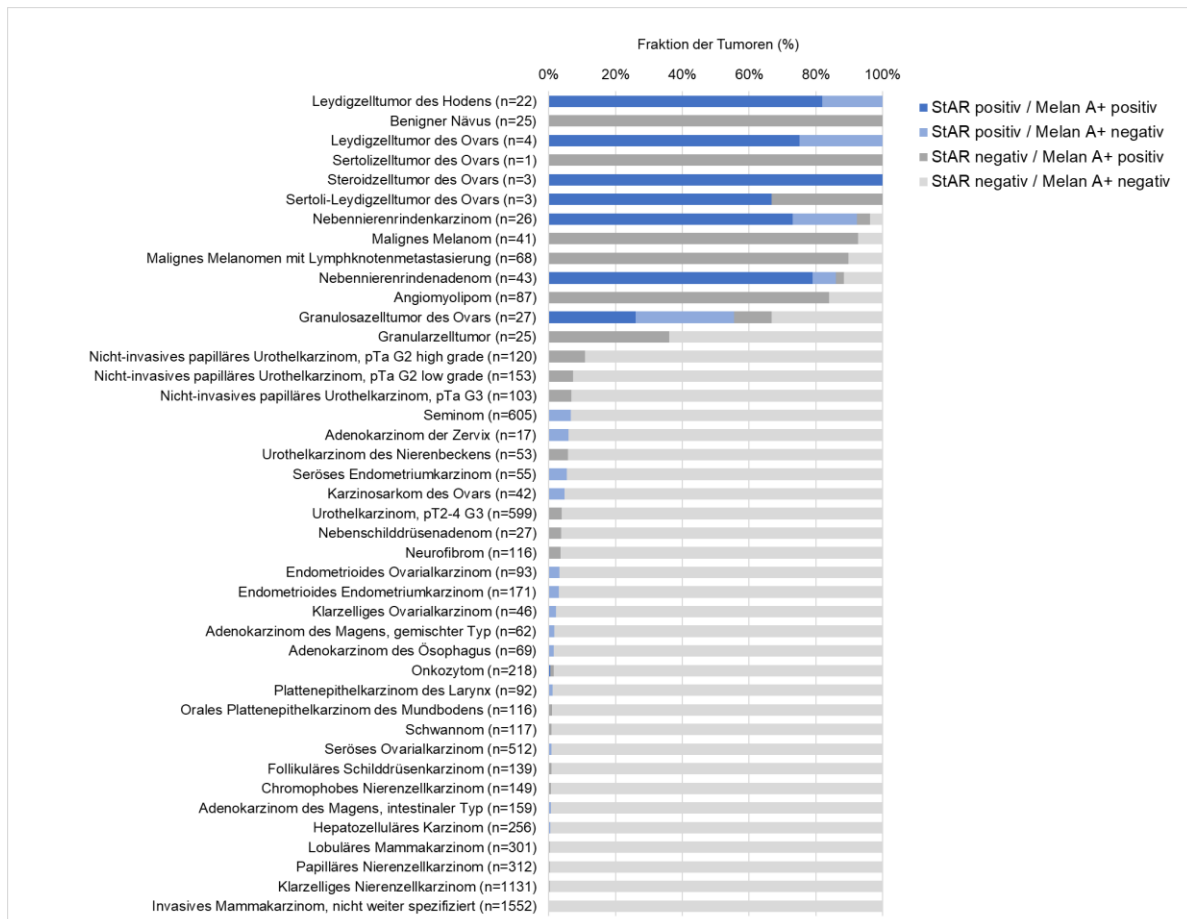


Abbildung 37: StAR versus Melan A

4. Diskussionen

Das überwiegende Vorkommen einer StAR-Färbung in Leydigzelltumoren, Steroidzelltumoren des Ovars und in adrenokortikalen Neoplasien passt sehr gut zur bekannten Rolle dieser Zellen in der Produktion von Steroidhormonen und passt auch gut zu den von uns erhobenen Normalgewebefunden sowie zur früher publizierten Literatur (Pereira et al. 2020; Dong et al. 2011). In Übereinstimmung mit unseren Daten hatten Dong et al eine diffuse StAR Expression in 3 von 3 Leydigzelltumoren und eine fokale StAR-Positivität in 30 von 31 adulten Granulosazelltumoren des Ovars gefunden, während die mehr als 200 Nicht-Keimstrang-Stromatumoren StAR negativ blieben (Dong et al. 2011). Eine StAR-Expression in adrenokortikalen Neoplasien war früher auch von Pereira et al berichtet worden. Diese Autoren hatten eine mindestens fokale StAR-Positivität in 14 von 14 adrenokortikalen Karzinomen, in 11 von 11 adrenokortikalen Adenomen mit Cushing-Syndrom und in 15 von 15 klinisch nicht funktionellen adrenokortikalen Adenomen gefunden (Pereira et al. 2020).

In dieser Studie fand sich eine StAR-Positivität in 87% der Nebennierenrindenadenome und 93% der Nebennierenrindenzarzinome. Dass nicht alle unsere adrenokortikalen Neoplasien StAR positiv waren und dass die Färbintensität zwischen den Tumoren und teilweise auch innerhalb der Tumoren erheblich variierte, könnte durch Unterschiede in der funktionellen Aktivität der einzelnen Adenome oder auch der zugrundeliegenden molekularen Veränderungen dieser Tumoren zu erklären sein. In einer kürzlichen Studie zu 97 Kortison produzierenden Nebennierenrindenadenomen hatten Zhou et al einen engen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von PRKACA-, PRKAR1A- sowie GNAS-Mutationen mit einer gesteigerten StAR-Produktion in den betroffenen Zellen gefunden (Zhou et al. 2016). Mutationen in diesen Genen führen alle zu einer abnormalen Aktivierung der zyklischen Adenosin-Monophosphat/Protein Kinase A-Signalkaskade, einer verstärkten Phosphorylierung sowie Aktivierung von StAR selbst, einer Überproduktion von Kortison und einer daraus resultierenden Adenomentwicklung in Nebennierendrüsen (Bertherat et al. 2003; Espiard et al. 2014; Goh et al. 2014; Jefferi et al. 2022). Mindestens in Kortisol produzierenden Adenomen erscheinen diese zuvor genannten Mutationen in 37% bis 74% der Fälle (Zhou et al. 2016; Beuschlein et al. 2014). Da in 72 von 73 (99%) von Adenomen mit Mutationen von PRKACA, PRKAR1A, GNAS eine immunhistochemisch nachweisbare Überexpression von StAR feststellbar war, wurde die StAR-

Immunhistochemie als nützlicher Surrogatmarker für die Identifikation von Kortisol produzierenden Adenomen mit einer aktivierten zyklischen Adenosinmonophosphat-/Proteinkinase A-Signalkaskade vorgeschlagen (Zhou et al. 2016). In früheren Studien waren für nicht Kortisol produzierende Adenome andere Spektren von Mutationen gefunden worden als für Kortisol produzierenden Adenome (Kamilaris et al. 2020). Beispielsweise wurde in Aldosteron produzierenden Adenomen nur in 2% der Fälle eine Mutation von PRKACA gefunden (Rhayem et al. 2016).

Die Analyse von mehr als 135 Tumorentitäten, welche alle früher noch nie auf die Expression von StAR untersucht worden waren, zeigte eine recht gut ausgeprägte Spezifität der StAR-Expression für Leydigzelltumoren und adrenokortikale Neoplasien. Wenn -seltenerweise- eine StAR-Immunfärbung in anderen Tumorentitäten als Nebennierenrindentumoren, Leydigzelltumoren beziehungsweise Granulosazelltumoren des Ovars auftraten, war diese Färbung meist fokal, schwach und häufig membranös. Eine fokale und membranöse StAR-Färbung sollte deswegen nicht als diagnostisch für einen adrenalen oder Leydigzellen Tumor-Ursprung genutzt werden. Trotz unserer ausgedehnten Validierung der verwendeten Antikörper kann nicht völlig ausgeschlossen werden, dass es sich bei diesen membranösen Färbungen um eine Kreuzreaktivität gegen ein Protein handelt, welches in den von uns zur Validierung verwendeten Normalgeweben nicht oder in nicht detektierbarer Menge auftrat. Es ist eine Schwäche unserer Validierungsmethode, dass lediglich adulte Gewebe- und nicht embryonale Gewebstypen zur Untersuchung gelangen. Allerdings ist der Nachweis einer schwachen StAR-Expression in einer beschränkten Zahl von Tumoren des Endometriums, der Leber, der Zervix uteri oder des Magens in Übereinstimmung mit Daten, welche in der Datenbank „The Cancer Genome Atlas (TCGA) RNA“ nachzuschlagen sind (The Cancer Genome Atlas Program (TCGA) 2024). Eine gelegentliche schwache StAR-Expression in verschiedenen Subtypen von Keimzelltumoren des Hodens und in Ovarialkarzinomen ist ebenfalls mit den existierenden StAR-RNA-Daten konsistent (STAR transcriptomics data - The Human Protein Atlas 2024a; The Cancer Genome Atlas Program (TCGA) 2024), allerdings könnte in diesen Organen, bei denen normalerweise in bestimmten Zelltypen StAR exprimiert wird, der RNA-Nachweis auch durch eine Kontamination mit Normalgewebe bedingt sein. Interessanterweise waren die StAR-RNA-Expressionsdaten des TCGA-Konsortiums in pulmonalen Tumoren und jenen vom Kopf/Hals-Bereich mit einer günstigen Patientenprognose assoziiert (Expression of STAR in lung cancer - The Human Protein

Atlas 2024; Expression of STAR in head and neck cancer - The Human Protein Atlas 2024). Dieser Befund könnte dafürsprechen, dass StAR in extragenitalen Tumoren nicht nur exprimiert wird, sondern sogar klinisch relevant sein könnte. Zur weiteren Überprüfung der Hypothese einer klinischen Relevanz der Tumorexpression von StAR wurde in unserem Kollektiv von Seminomen, bei dem eine StAR-Positivität in immerhin 6,6% der Fälle nachgewiesen worden war, die Beziehung der StAR-Färbung mit histopathologischen Malignitätsparametern evaluiert. Dass keine statistisch signifikante Zusammenhänge mit pT, pN, L-Status, V-Status sowie einer Infiltration von Funiculus spermaticus oder Rete testis nachweisbar waren, spricht eher gegen eine besondere klinische Bedeutung einer aberranten StAR-Expression in diesen Tumorzellen.

Insgesamt sprechen unsere Daten dafür, dass die StAR-Immunhistochemie für die Bestätigung einer Diagnose eines Leydigzelltumors oder von normalem oder neoplastischen adrenokortikalem Gewebe genutzt werden könnte. Obwohl Melan A weder in Keimstrang-Stroma-Tumoren noch in adrenokortikalem Gewebe exprimiert wird, gibt es Melan A Antikörper-Klone, welche mit Nebennierenrindengewebe, Leydig- und Sertolizellen kreuzreagieren und deswegen diagnostisch zum Nachweis von Keimstrang-Stroma-Tumoren sowie von Normal- bzw. Tumorgewebe adrenokortikalen Ursprungs genutzt werden können. Da auch maligne Melanome zu den nicht selten in die Nebennieren metastasierenden Tumoren gehören, ist Melan A für die Darstellung von Nebennierenrindengewebe konzeptuell weniger gut geeignet als StAR, welches lediglich in einem Fall der 60 untersuchten primären sowie in keinem Fall der 72 untersuchten metastatischen malignen Melanomen in unserer Studie nachweisbar war.

Der direkte Vergleich von der StAR- und Melan A (kreuzreaktiv)-Anfärbung in unserem Tumorkollektiv zeigte eine höhere Sensitivität von StAR für Leydigzelltumoren, während der kreuzreaktive Melan A Antikörper den einzigen reinen Sertolizelltumor unseres Tumorkollektivs -im Gegensatz- zu StAR anfärbte. Dieser Färbebefund passt gut zu den entsprechenden Normalgewebefärbungen, denn kreuzreaktive Melan A Antikörper färben im Gegensatz zu unserem StAR-Antikörper auch normale Sertolizellen (Boroojerdi et al. 2024). In Übereinstimmung mit unseren Daten hatten auch Dong et al beschrieben, dass StAR in Sertolizelltumoren und in normalen Sertolizellen nicht exprimiert wird (Dong et al. 2011). In ihrer Gesamtheit zeigen unsere

Daten mindestens, dass die zusätzliche Nutzung der StAR-Immunhistochemie die Sensitivität vom „kreuzreaktiven“ Melan A Antikörper für den Nachweis von Leydigzelltumoren und adrenokortikalen Tumoren erhöht. Während kreuzreaktive Melan A Antikörper im Gegensatz zu StAR-Antikörpern für die Identifikation von Sertolizelltumoren geeignet sind. Alle von uns erhobenen Daten leiden unter der Einschränkung, dass der am besten etablierte Marker zum Nachweis von adrenokortikalen Tumoren, nämlich Steroidogenic-Factor 1 (SF1) in dieser Studie nicht mituntersucht worden war. Eine SF1-Expression wurde in 44%-100% von adrenokortikalen Neoplasien früher beschrieben (Komminoth et al. 1995; Sbiera et al. 2010; Schröder et al. 1990; Schröder et al. 1992; Wajchenberg et al. 2000) und die bisher vorliegenden Untersuchungen von extraadrenalen Tumoren sprechen auch für eine annehmbare Spezifität von SF1 (Sasano et al. 1995; Hou et al. 2022; Wang et al. 2022; Erak et al. 2023; Bennett et al. 2020). Weitere Studien sollten deswegen unbedingt die diagnostische Bedeutung von StAR und SF1 in größeren Tumorkollektiven vergleichend untersuchen.

Die wesentlichsten Stärken der vorliegenden Studie liegen in der großen Fallzahl, der maximalen Standardisierung unserer Analyse und der sorgfältigen Validierung des verwendeten Assays. Die 17135 in dieser Studie erfolgreich untersuchten Tumoren war nur möglich durch die umfangreichen Vorarbeiten zahlreicher Pathologen, Wissenschaftler, Doktoranden und anderen Angestellten des Instituts für Pathologie, welche in den letzten Jahren gemeinsam das weltweit größte TMA-Kollektiv hergestellt hatten. Gemäß unseren Nachforschungen war StAR zum Zeitpunkt der Niederschrift dieser Doktorarbeit am 10.02.2024 in 6 Publikationen an insgesamt 410 verschiedenen Tumoren von 8 verschiedenen Tumortypen untersucht worden (siehe Tabelle 1). Unsere Studie erweitert den Informationsstand der Weltliteratur zur StAR-Proteinexpression in Tumoren um fast 4080%. Dabei ist es ein besonderer Vorteil, dass StAR bisher als diagnostischer Marker keine Rolle spielte und nun in einer einzigen großen Studie umfassend bezüglich seiner diagnostischen Bedeutung abgeklärt werden konnte. Normalerweise werden neue diagnostische Marker zuerst in kleinen Studien als spezifisch für eine bestimmte Entität vorgeschlagen, während im weiteren Verlauf immer mehr Studien zeigen, dass das entsprechende Protein in einer immer größer werdenden Zahl weiterer Tumorarten nachgewiesen werden kann. Beispielsweise wurde vor wenigen Jahren TRPS1 als neuer Marker für Mammakarzinome und insbesondere Triple-negative Mammakarzinome vorgestellt (Almásí et al.

2023; Di Ai et al. 2021). Nun häufen sich die Publikationen, in denen TRPS1 auch in relevanter Menge in anderen Tumoren wie beispielsweise Synovialsarkomen, Prostatakarzinomen, Urothelkarzinomen und hepatozellulären Karzinomen beschrieben wird (Cloutier et al. 2022; Bachert et al. 2024; Yu et al. 2020).

Die offensichtlichsten Vorteile der TMA-Methode liegen in der Geschwindigkeit, mit welcher Studien durchgeführt werden können und in den möglichen Einsparungen bei Manpower und Reagenzienkosten. Darüber hinaus erlaubt die TMA-Methode aber auch eine bisher nie dagewesene Standardisierung von in-situ Analysen von Tumoren, welche auch weiche Parameter wie die Schnittlagerungszeit und die pro Tumor untersuchte Gewebemenge beinhalten. Bekanntermaßen führt eine Schnittlagerungszeit (Zeit zwischen Herstellung eines Schnittes und seine immunhistochemischen Färbung) von 2 Wochen oder mehr zu einer signifikanten Verminderung der Anfärbbarkeit der Schnitte, zumindest für viele Antikörper (Mirlacher et al. 2004). Es ist auch bekannt, dass die Untersuchung von größeren Gewebemengen pro Patient zu einer größeren Chance eines positiven Färbeergebnisses führt, wobei diese positive Färbung entweder durch biologisch relevante oder irrelevante fokale echte Färbungen oder auch durch Artefakte entstanden sein könnten (Hoos et al. 2001; Camp et al. 2000; Ye et al. 2020; Taqi et al. 2018; Voduc et al. 2008; Torhorst et al. 2001). Die Festlegung einer identischen Gewebemenge pro untersuchten Patient (in unserem Fall 0,6mm Durchmesser) schließt diesen Faktor als mögliche Einflussgröße aus.

Angesichts der großen Menge der für dieses Projekt zu untersuchenden Tumoren wurde ein hohes Augenmerk auf die Validierung unseres verwendeten Assays gelegt. Die internationale Arbeitsgruppe für Antikörpervalidierung (International working group for antibody validation, IWGAV) hatte vorgeschlagen, dass für die Anwendung der Immunhistochemie eine akzeptable Validierung entweder einen Vergleich mit einer anderen Methode zur Expressionsmessung oder aber einen Vergleich der Färbeergebnisse mit den Färbeergebnissen eines zweiten unabhängigen Antikörpers notwendig sei (Uhlen et al. 2016). Beide Verfahren wurden in dieser Studie angewendet, wobei RNA-Datenbanken zur Expression von StAR-RNA in verschiedenen Normalgeweben als zweite Expressionsmessungsmethode verwendet wurde. Diese drei Datenbanken sind im Human Protein Atlas in eine gemeinsame Datei zusammengefasst und dort einsehbar (STAR transcriptomics data - The Human Protein

Atlas 2024b). Um sicherzustellen, dass eine möglichst große Bandbreite verschiedener Proteine für die notwendige Spezifitätstestungen eingesetzt werden, wurden Gewebeproben von 76 verschiedenen Normalgewebeskategorien für die Validierung verwendet. Die Validität/Spezifität unseres Assays wurde durch den Nachweis einer signifikanten StAR-Immunfärbung in allen 3 Organen mit dokumentierter StAR-RNA-Expression (Nebenniere, Hoden und Ovar) bestätigt, während alle anderen Gewebetypen keinerlei StAR-Immunfärbung aufwiesen. Dass die gleichen Zelltypen mit zwei verschiedenen Antikörpern angefärbt werden konnten, ist ein weiteres starkes Argument für die Spezifität unserer Färbung.

Zusammengefasst liefern die Daten dieser Untersuchung eine umfassende Übersicht über die Prävalenz der StAR-Immunfärbung in humanen Tumoren und suggerieren eine diagnostische Nützlichkeit der StAR-Immunhistochemie für die Diagnose von Leydigzelltumoren beziehungsweise normalem oder neoplastischem Nebennierenrindengewebe.

5. Zusammenfassung

Das Protein StAR (Steroidogenic Acute Regulatory) ist ein mitochondriales Transportprotein, das eine entscheidende Rolle bei der Regulierung der Steroidhormonproduktion spielt. Da seine Expression auf wenige normale Gewebe beschränkt ist, wurde die immunhistochemische Analyse von StAR als diagnostisch nützlich vorgeschlagen. Um den diagnostischen und prognostischen Nutzen der StAR-Expressionsanalyse umfassend zu bewerten, wurde ein Gewebe-Mikroarray mit 19 202 Proben von 152 verschiedenen Tumortypen und Untertypen und 608 Proben von 76 verschiedenen normalen Gewebetypen immunhistochemisch analysiert. Eine StAR-Immunfärbung trat in 198 (1,2 %) der 17 135 analysierbaren Tumoren auf. Eine StAR-Expression wurde in 27 von 152 Tumorkategorien beobachtet, von denen 9 mindestens einen stark positiven Fall enthielten. Die höchste Rate an StAR-Positivität wurde bei Leydig-Zell-Tumoren des Hodens und des Eierstocks (100%), Steroidzell-Tumoren des Eierstocks (100%), Nebennierenrindenkarcinomen (93%) und Adenomen (87%), Sertoli-Leydig-Zell-Tumoren (67%) und Granulosazell-Tumoren des Eierstocks (56%) sowie bei Seminomen (7%) festgestellt. 19 andere Tumorentitäten zeigten eine - meist schwache - StAR-Positivität in weniger als 6% der Fälle. Ein Vergleich mit bereits vorhandenen Melan-A-Daten ergab, dass StAR häufiger bei adrenokortikalen Neoplasmen und bei Leydig-Zell-Tumoren positiv war, während StAR (aber nicht Melan-A) bei Sertoli-Zell-Tumoren negativ war. Zusammenfassend bieten unsere Daten einen umfassenden Überblick über die Muster der StAR-Immunfärbung in menschlichen Tumoren und legen einen diagnostischen Nutzen der StAR-Immunhistochemie zur Unterstützung der Diagnose von Leydig-Zell-Tumoren oder von normalem oder neoplastischem Nebennierenrindengewebe nahe.

6. English Summary

Steroidogenic acute regulatory (StAR) protein is a mitochondrial transport protein with a critical regulatory role for steroid hormone production. As its expression is limited to few normal tissues, the immunohistochemical analysis of StAR was proposed to be diagnostically useful. To comprehensively evaluate the diagnostic and prognostic utility of StAR expression analysis, a tissue microarray containing 19,202 samples from 152 different tumor types and subtypes and 608 samples of 76 different normal tissue types was analyzed by immunohistochemistry. StAR immunostaining occurred in 198 (1.2%) of the 17,135 analyzable tumors. StAR expression was observed in 27 of 152 tumor categories, 9 of which included at least one strongly positive case. The highest rate of StAR positivity occurred in Leydig cell tumors of the testis and the ovary (100%), steroid cell tumors of the ovary (100%), adrenocortical carcinomas (93%) and adenomas (87%), Sertoli-Leydig cell tumors (67%) and granulosa cell tumors of the ovary (56%) as well as in seminomas (7%). 19 other tumor entities showed - a usually weak - StAR positivity in less than 6% of cases. A comparison with preexisting Melan-A data revealed that StAR was more often positive in adrenocortical neoplasms and in Leydig cell tumors while StAR (but not Melan-A) was negative in Sertoli cell tumors. In summary, our data provide a comprehensive overview on the patterns of StAR immunostaining in human tumors and suggest a diagnostic utility of StAR immunohistochemistry for supporting a diagnosis of Leydig cell tumors or of normal or neoplastic adrenocortical tissue.

7. Literaturverzeichnis

Abd-Elaziz, Manar; Moriya, Takuya; Akahira, Jun-ichi; Nakamura, Yasuhiro; Suzuki, Takashi; Sasano, Hironobu (2005a): Immunolocalization of nuclear transcription factors, DAX-1 and Ad4BP/SF-1, in human common epithelial ovarian tumors: correlations with StAR and steroidogenic enzymes in epithelial ovarian carcinoma. In: *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists* 24 (2), S. 153–163. DOI:

10.1097/01.pgp.0000155075.75209.42.

Abd-Elaziz, Manar; Moriya, Takuya; Akahira, Jun-ichi; Suzuki, Takashi; Sasano, Hironobu (2005b): StAR and progesterone producing enzymes (3beta-hydroxysteroid dehydrogenase and cholesterol side-chain cleavage cytochromes P450) in human epithelial ovarian carcinoma: immunohistochemical and real-time PCR studies. In: *Cancer science* 96 (4), S. 232–239. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00040.x.

Abdulahdi-Atwan, Maha; Jean, Amy; Chung, Wendy K.; Meir, Karen; Ben Neriah, Ziva; Stratigopoulos, George et al. (2007): Role of a founder c.201_202delCT mutation and new phenotypic features of congenital lipoid adrenal hyperplasia in Palestinians. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92 (10), S. 4000–4008. DOI: 10.1210/jc.2007-1306.

Almási, Szintia; Kuthi, Levente; Sejben, Anita; Vörös, András; Nagy, Ákos; Zombori, Tamás; Cserni, Gábor (2023): TRPS1 expression in cytokeratin 5 expressing triple negative breast cancers, its value as a marker of breast origin. In: *Virchows Arch* 482 (5), S. 861–868. DOI: 10.1007/s00428-023-03535-4.

Anuka, Eli; Gal, Michael; Stocco, Douglas M.; Orly, Joseph (2013): Expression and roles of steroidogenic acute regulatory (StAR) protein in 'non-classical', extra-adrenal and extra-gonadal cells and tissues. In: *Molecular and cellular endocrinology* 371 (1-2), S. 47–61. DOI: 10.1016/j.mce.2013.02.003.

Arakane, F.; Kallen, C. B.; Watari, H.; Stayrook, S. E.; Lewis, M.; Strauss, J. F. (1998): Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) acts on the outside of mitochondria to stimulate steroidogenesis. In: *Endocrine research* 24 (3-4), S. 463–468. DOI: 10.3109/07435809809032634.

Bachert, S. Emily; Di, Jing; Zhang, Shengyi; Short, Heather E.; Piecoro, Dava W.; McDonald, Robert J. et al. (2024): TRPS1 expression in primary and metastatic

prostatic adenocarcinoma, muscle invasive bladder urothelial carcinoma, and breast carcinoma: Is TRPS1 truly specific and sensitive for a breast primary? In: *Human pathology* 143, S. 42–49. DOI: 10.1016/j.humpath.2023.11.012.

Bennett, Jennifer A.; Ritterhouse, Lauren L.; Furtado, Larissa V.; Lastra, Ricardo R.; Pesci, Anna; Newell, Jordan M. et al. (2020): Female adnexal tumors of probable Wolffian origin: morphological, immunohistochemical, and molecular analysis of 15 cases. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 33 (4), S. 734–747. DOI: 10.1038/s41379-019-0375-9.

Bertherat, Jerome; Groussin, Lionel; Sandrini, Fabiano; Matyakhina, Ludmila; Bei, Thalia; Stergiopoulos, Sotirios et al. (2003): Molecular and functional analysis of PRKAR1A and its locus (17q22-24) in sporadic adrenocortical tumors: 17q losses, somatic mutations, and protein kinase A expression and activity. In: *Cancer research* 63 (17), S. 5308–5319.

Beuschlein, Felix; Fassnacht, Martin; Assié, Guillaume; Calebiro, Davide; Stratakis, Constantine A.; Osswald, Andrea et al. (2014): Constitutive activation of PKA catalytic subunit in adrenal Cushing's syndrome. In: *The New England journal of medicine* 370 (11), S. 1019–1028. DOI: 10.1056/NEJMoa1310359.

Boroojerdi, Shiva; Weidemann, Sören; Menz, Anne; Lennartz, Maximilian; Dwertmann Rico, Sebastian; Schlichter, Ria et al. (2024): Staining pattern of specific and cross-reacting Melan-A antibodies: A comparative study on 15,840 samples from 133 human tumor types. In: *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* 132 (7), S. 479–491. DOI: 10.1111/apm.13408.

Bose, Mahuya; Whittal, Randy M.; Miller, Walter L.; Bose, Himangshu S. (2008): Steroidogenic activity of StAR requires contact with mitochondrial VDAC1 and phosphate carrier protein. In: *The Journal of biological chemistry* 283 (14), S. 8837–8845. DOI: 10.1074/jbc.M709221200.

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.

Cao, Yanan; He, Minghui; Gao, Zhibo; Peng, Ying; Li, Yanli; Li, Lin et al. (2014): Activating hotspot L205R mutation in PRKACA and adrenal Cushing's syndrome. In: *Science (New York, N.Y.)* 344 (6186), S. 913–917. DOI: 10.1126/science.1249480.

Chen, Xin; Baker, Bo Y.; Abduljabbar, Mohammad A.; Miller, Walter L. (2005): A genetic isolate of congenital lipid adrenal hyperplasia with atypical clinical findings. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 90 (2), S. 835–840. DOI: 10.1210/jc.2004-1323.

Clark, Barbara J.; Stocco, Douglas M. (2014a): An Introduction to the Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR)-Related Lipid Transfer Domain Protein Family. In: Douglas M. Stocco und Barbara J. Clark (Hg.): *Cholesterol Transporters of the START Domain Protein Family in Health and Disease. START Proteins - Structure and Function*. New York, NY, s.l.: Springer New York (SpringerLink Bücher), S. 1–14.

Clark, Barbara J.; Stocco, Douglas M. (2014b): The Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR). In: Douglas M. Stocco und Barbara J. Clark (Hg.): *Cholesterol Transporters of the START Domain Protein Family in Health and Disease. START Proteins - Structure and Function*. New York, NY, s.l.: Springer New York (SpringerLink Bücher), S. 15–47.

Clark, Barbara J.; Stocco, Douglas M. (2024): *Cholesterol Transporters of the START Domain Protein Family in Health and Disease*. Online verfügbar unter <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-1112-7>, zuletzt aktualisiert am 13.01.2024, zuletzt geprüft am 13.01.2024.

Cloutier, Jeffrey M.; Ingram, Davis R.; Wani, Khalida; Lazar, Alexander J.; Wang, Wei-Lien (2022): Frequent TRPS1 expression in synovial sarcoma is associated with SS18-SSX fusion oncoprotein activity. In: *Human pathology* 130, S. 88–94. DOI: 10.1016/j.humpath.2022.09.006.

Crain, R. C.; Clark, R. W.; Harvey, B. E. (1983): Role of lipid transfer proteins in the abnormal lipid content of Morris hepatoma mitochondria and microsomes. In: *Cancer research* 43 (7), S. 3197–3202.

Di Ai; Yao, Jun; Yang, Fei; Huo, Lei; Chen, Hui; Lu, Wei et al. (2021): TRPS1: a highly sensitive and specific marker for breast carcinoma, especially for triple-negative breast cancer. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 34 (4), S. 710–719. DOI: 10.1038/s41379-020-00692-8.

Dong, Lei; Wang, Huan; Su, Zhitao; Niu, Sanqiang; Wang, Rongrong; Wu, Liang; Chen, Guorong (2011): Steroidogenic acute regulatory protein is a useful marker for

Leydig cells and sex-cord stromal tumors. In: *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* 19 (3), S. 226–232. DOI: 10.1097/PAI.0b013e3181ffc4d2.

Elbanan, Mohamed G.; Javadi, Sanaz; Ganeshan, Dhakshinamoorthy; Habra, Mohammed Amir; Rao Korivi, Brinda; Faria, Silvana C.; Elsayes, Khaled M. (2020): Adrenal cortical adenoma: current update, imaging features, atypical findings, and mimics. In: *Abdominal radiology (New York)* 45 (4), S. 905–916. DOI: 10.1007/s00261-019-02215-9.

Elshourbagy, Nabil A.; Meyers, Harold V.; Abdel-Meguid, Sherin S. (2014): Cholesterol: the good, the bad, and the ugly - therapeutic targets for the treatment of dyslipidemia. In: *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre* 23 (2), S. 99–111. DOI: 10.1159/000356856.

Erak, Eric; Ulbright, Thomas M.; Epstein, Jonathan (2023): Utilization of NKX3.1, P501S, Prostate-Specific Antigen, and Steroidogenic Factor 1 to Distinguish Malignant Leydig Cell Tumor From Metastatic Prostatic Adenocarcinoma to the Testis. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 147 (12), S. 1458–1460. DOI: 10.5858/arpa.2022-0424-OA.

Espiard, S.; Ragazzon, B.; Bertherat, J. (2014): Protein kinase A alterations in adrenocortical tumors. In: *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme* 46 (12), S. 869–875. DOI: 10.1055/s-0034-1385908.

Expression of STAR in cancer - Summary - The Human Protein Atlas (2024). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000147465-STAR/pathology>, zuletzt aktualisiert am 14.01.2024, zuletzt geprüft am 14.01.2024.

Expression of STAR in head and neck cancer - The Human Protein Atlas (2024). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000147465-STAR/pathology/head+and+neck+cancer>, zuletzt aktualisiert am 21.02.2024, zuletzt geprüft am 21.02.2024.

Expression of STAR in lung cancer - The Human Protein Atlas (2024). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000147465-STAR/pathology/lung+cancer>, zuletzt aktualisiert am 21.02.2024, zuletzt geprüft am 21.02.2024.

Feo, F.; Canuto, R. A.; Garcea, R.; Gabriel, L. (1975): Effect of cholesterol content on some physical and functional properties of mitochondria isolated from adult rat liver,

fetal liver, cholesterol-enriched liver and hepatomas AH-130, 3924A and 5123. In: *Biochimica et biophysica acta* 413 (1), S. 116–134. DOI: 10.1016/0005-2736(75)90063-2.

Flück, Christa E.; Maret, Alexander; Mallet, Delphine; Portrat-Doyen, Stéphanie; Achermann, John C.; Leheup, Bruno et al. (2005): A novel mutation L260P of the steroidogenic acute regulatory protein gene in three unrelated patients of Swiss ancestry with congenital lipoid adrenal hyperplasia. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 90 (9), S. 5304–5308. DOI: 10.1210/jc.2005-0874.

Ginsberg, H. N. (1998): Lipoprotein physiology. In: *Endocrinology and metabolism clinics of North America* 27 (3), S. 503–519. DOI: 10.1016/s0889-8529(05)70023-2.

Goh, Gerald; Scholl, Ute I.; Healy, James M.; Choi, Murim; Prasad, Manju L.; Nelson-Williams, Carol et al. (2014): Recurrent activating mutation in PRKACA in cortisol-producing adrenal tumors. In: *Nature genetics* 46 (6), S. 613–617. DOI: 10.1038/ng.2956.

Grasso, Catherine S.; Wu, Yi-Mi; Robinson, Dan R.; Cao, Xuhong; Dhanasekaran, Saravana M.; Khan, Amjad P. et al. (2012): The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. In: *Nature* 487 (7406), S. 239–243. DOI: 10.1038/nature11125.

Hall, E. A.; Ren, S.; Hylemon, P. B.; Rodriguez-Agudo, D.; Redford, K.; Marques, D. et al. (2005): Detection of the steroidogenic acute regulatory protein, StAR, in human liver cells. In: *Biochimica et biophysica acta* 1733 (2-3), S. 111–119. DOI: 10.1016/j.bbalip.2005.01.004.

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

Helander, K. G. (1994): Kinetic studies of formaldehyde binding in tissue. In: *Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission* 69 (3), S. 177–179. DOI: 10.3109/10520299409106282.

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.

Hou, Yanjun; Yang, Bin; Zhang, Gloria (2022): Female Adnexal Tumor of Probable Wolffian Origin. In: *Archives of pathology & laboratory medicine* 146 (2), S. 166–171. DOI: 10.5858/arpa.2020-0432-OA.

Huang, Zhuo; Ye, Jun; Han, Lianshu; Qiu, Wenjuan; Zhang, Huiwen; Yu, Yongguo et al. (2016): Identification of five novel STAR variants in ten Chinese patients with congenital lipoid adrenal hyperplasia. In: *Steroids* 108, S. 85–91. DOI: 10.1016/j.steroids.2016.01.016.

Huggins, C.; Hodges, C. V. (1972): Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. In: *CA: a cancer journal for clinicians* 22 (4), S. 232–240. DOI: 10.3322/canjclin.22.4.232.

Huggins, Charles (1941): STUDIES ON PROSTATIC CANCER. In: *Arch Surg* 43 (2), S. 209. DOI: 10.1001/archsurg.1941.01210140043004.

Huggins, Charles; Hodges, Clarence V. (2002): Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. In: *The Journal of urology* 168 (1), S. 9–12. DOI: 10.1016/s0022-5347(05)64820-3.

Jefferi, Nur Erysha Sabrina; Shamhari, Asma 'Afifah; Hamid, Zariyantey Abd; Budin, Siti Balkis; Zulkifly, Adam Muhammad Zackry; Roslan, Fatin Norisha; Taib, Izatus Shima (2022): Knowledge Gap in Understanding the Steroidogenic Acute Regulatory Protein Regulation in Steroidogenesis Following Exposure to Bisphenol A and Its Analogues. In: *Biomedicines* 10 (6). DOI: 10.3390/biomedicines10061281.

Kamilaris, Crystal D. C.; Hannah-Shmouni, Fady; Stratakis, Constantine A. (2020): Adrenocortical tumorigenesis: Lessons from genetics. In: *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* 34 (3), S. 101428. DOI: 10.1016/j.beem.2020.101428.

Kang, Eungu; Kim, Yoon-Myung; Kim, Gu-Hwan; Lee, Beom Hee; Yoo, Han-Wook; Choi, Jin-Ho (2017): Mutation Spectrum of STAR and a Founder Effect of the p.Q258* in Korean Patients with Congenital Lipoid Adrenal Hyperplasia. In: *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)* 23, S. 149–154. DOI: 10.2119/molmed.2017.00023.

Katsumata, N.; Kawada, Y.; Yamamoto, Y.; Noda, M.; Nimura, A.; Horikawa, R.; Tanaka, T. (1999): A novel compound heterozygous mutation in the steroidogenic acute regulatory protein gene in a patient with congenital lipoid adrenal hyperplasia. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 84 (11), S. 3983–3987. DOI: 10.1210/jcem.84.11.6118.

Keinan, Nurit; Tyomkin, Dalia; Shoshan-Barmatz, Varda (2010): Oligomerization of the mitochondrial protein voltage-dependent anion channel is coupled to the induction of apoptosis. In: *Molecular and cellular biology* 30 (24), S. 5698–5709. DOI: 10.1128/MCB.00165-10.

Kim, Hyun Joon; Kim, Jeong Eun; Ha, Myung; Kang, Sang Soo; Kim, Jong Tae; Park, In Sung et al. (2003): Steroidogenic acute regulatory protein expression in the normal human brain and intracranial tumors. In: *Brain research* 978 (1-2), S. 245–249. DOI: 10.1016/s0006-8993(03)02840-3.

Komminoth, P.; Roth, J.; Schröder, S.; Saremaslani, P.; Heitz, P. U. (1995): Overlapping expression of immunohistochemical markers and synaptophysin mRNA in pheochromocytomas and adrenocortical carcinomas. Implications for the differential diagnosis of adrenal gland tumors. In: *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 72 (4), S. 424–431.

Kononen, J.; Bubendorf, L.; Kallioniemi, A.; Bärlund, 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.

Laflamme, Carl; McKeever, Paul M.; Kumar, Rahul; Schwartz, Julie; Kolahdouzan, Mahshad; Chen, Carol X. et al. (2019): Implementation of an antibody characterization procedure and application to the major ALS/FTD disease gene C9ORF72. In: *eLife* 8. DOI: 10.7554/eLife.48363.

Lange, Y.; Echevarria, F.; Steck, T. L. (1991): Movement of zymosterol, a precursor of cholesterol, among three membranes in human fibroblasts. In: *The Journal of biological chemistry* 266 (32), S. 21439–21443.

Locke, Jennifer A.; Guns, Emma S.; Lubik, Amy A.; Adomat, Hans H.; Hendy, Stephen C.; Wood, Catherine A. et al. (2008): Androgen levels increase by intratumoral de novo steroidogenesis during progression of castration-resistant prostate cancer. In: *Cancer research* 68 (15), S. 6407–6415. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5997.

Locke, Jennifer A.; Guns, Emma S. Tomlinson; Lehman, Melanie L.; Ettinger, Susan; Zoubeydi, Amina; Lubik, Amy et al. (2010): Arachidonic acid activation of intratumoral steroid synthesis during prostate cancer progression to castration resistance. In: *The Prostate* 70 (3), S. 239–251. DOI: 10.1002/pros.21057.

Maxfield, Frederick R.; Tabas, Ira (2005): Role of cholesterol and lipid organization in disease. In: *Nature* 438 (7068), S. 612–621. DOI: 10.1038/nature04399.

Miller, W. L. (2014): Congenital Lipoid Adrenal Hyperplasia, S. 73–90.

Miller, Walter L. (2007): StAR search--what we know about how the steroidogenic acute regulatory protein mediates mitochondrial cholesterol import. In: *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 21 (3), S. 589–601. DOI: 10.1210/me.2006-0303.

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.

Montero, Joan; Morales, Albert; Llacuna, Laura; Lluís, Josep M.; Terrones, Oihana; Basañez, Gorka et al. (2008): Mitochondrial cholesterol contributes to chemotherapy resistance in hepatocellular carcinoma. In: *Cancer research* 68 (13), S. 5246–5256. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6161.

Morales, Angélica; Vilchis, Felipe; Chávez, Bertha; Morimoto, Sumiko; Chan, Carlos; Robles-Díaz, Guillermo; Díaz-Sánchez, Vicente (2008): Differential expression of steroidogenic factors 1 and 2, cytochrome p450scc, and steroidogenic acute regulatory protein in human pancreas. In: *Pancreas* 37 (2), S. 165–169. DOI: 10.1097/MPA.0b013e318168dd8c.

Nordestgaard, B. G.; Tybjaerg-Hansen, A. (1992): IDL, VLDL, chylomicrons and atherosclerosis. In: *European journal of epidemiology* 8 Suppl 1, S. 92–98. DOI: 10.1007/BF00145358.

Norum, K. R. (1977): The role of LCAT in cholesterol transport. In: *Advances in experimental medicine and biology* 82, S. 427–431. DOI: 10.1007/978-1-4613-4220-5_100.

Norum, Kaare R. (2017): The function of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT). In: *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 77 (4), S. 235–236. DOI: 10.1080/00365513.2017.1308008.

Pereira, Sofia S.; Costa, Madalena M.; Gomez-Sanchez, Celso E.; Monteiro, Mariana P.; Pignatelli, Duarte (2020): Incomplete Pattern of Steroidogenic Protein Expression in Functioning Adrenocortical Carcinomas. In: *Biomedicines* 8 (8). DOI: 10.3390/biomedicines8080256.

Pollack, S. E.; Furth, E. E.; Kallen, C. B.; Arakane, F.; Kiriakidou, M.; Kozarsky, K. F.; Strauss, J. F. (1997): Localization of the steroidogenic acute regulatory protein in human tissues. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 82 (12), S. 4243–4251. DOI: 10.1210/jcem.82.12.4445.

Prader, A.; Siebenmann, R. E. (1957): Nebenniereninsuffizienz bei kongenitaler Lipoidhyperplasie der Nebennieren. In: *Helvetica paediatrica acta* 12 (6), S. 569–595.

Rawla, Prashanth (2019): Epidemiology of Prostate Cancer. In: *World journal of oncology* 10 (2), S. 63–89. DOI: 10.14740/wjon1191.

Rhayem, Yara; Perez-Rivas, Luis G.; Dietz, Anna; Bathon, Kerstin; Gebhard, Christian; Riester, Anna et al. (2016): PRKACA Somatic Mutations Are Rare Findings in Aldosterone-Producing Adenomas. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 101 (8), S. 3010–3017. DOI: 10.1210/jc.2016-1700.

Rone, Malena B.; Liu, Jun; Blonder, Josip; Ye, Xiaoying; Veenstra, Timothy D.; Young, Jason C.; Papadopoulos, Vassilios (2009): Targeting and insertion of the cholesterol-binding translocator protein into the outer mitochondrial membrane. In: *Biochemistry* 48 (29), S. 6909–6920. DOI: 10.1021/bi900854z.

Rone, Malena B.; Midzak, Andrew S.; Issop, Leeyah; Rammouz, Georges; Jagannathan, Sathvika; Fan, Jinjiang et al. (2012): Identification of a dynamic mitochondrial protein complex driving cholesterol import, trafficking, and metabolism to steroid hormones. In: *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 26 (11), S. 1868–1882. DOI: 10.1210/me.2012-1159.

Sasano, H.; Shizawa, S.; Nagura, H. (1995): Adrenocortical cytopathology. In: *American journal of clinical pathology* 104 (2), S. 161–166. DOI: 10.1093/ajcp/104.2.161.

Sbiera, Silviu; Schnull, Sebastian; Assie, Guillaume; Voelker, Hans-Ullrich; Kraus, Luitgard; Beyer, Melanie et al. (2010): High diagnostic and prognostic value of steroidogenic factor-1 expression in adrenal tumors. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 95 (10), E161-71. DOI: 10.1210/jc.2010-0653.

Schröder, S.; Niendorf, A.; Achilles, E.; Dietel, M.; Padberg, B. C.; Beisiegel, U. et al. (1990): Immunocytochemical differential diagnosis of adrenocortical neoplasms using the monoclonal antibody D11. In: *Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histopathology* 417 (2), S. 89–96. DOI: 10.1007/BF02190525.

Schröder, S.; Padberg, B. C.; Achilles, E.; Holl, K.; Dralle, H.; Klöppel, G. (1992): Immunocytochemistry in adrenocortical tumours: a clinicomorphological study of 72 neoplasms. In: *Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histopathology* 420 (1), S. 65–70. DOI: 10.1007/BF01605986.

Selvaraj, Vimal; Stocco, Douglas M.; Clark, Barbara J. (2018): Current knowledge on the acute regulation of steroidogenesis. In: *Biology of reproduction* 99 (1), S. 13–26. DOI: 10.1093/biolre/i0y102.

Simons, K.; Ikonen, E. (2000): How cells handle cholesterol. In: *Science (New York, N.Y.)* 290 (5497), S. 1721–1726. DOI: 10.1126/science.290.5497.1721.

STAR transcriptomics data - The Human Protein Atlas (2024a). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000147465-STAR/summary/rna>, zuletzt aktualisiert am 21.02.2024, zuletzt geprüft am 21.02.2024.

STAR transcriptomics data - The Human Protein Atlas (2024b). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000147465-STAR/summary/rna>, zuletzt aktualisiert am 21.02.2024, zuletzt geprüft am 21.02.2024.

Stocco, D. M.; Clark, B. J. (1996): Role of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in steroidogenesis. In: *Biochemical pharmacology* 51 (3), S. 197–205. DOI: 10.1016/0006-2952(95)02093-4.

Stratakis, C. A.; Rennert, O. M. (1999): Congenital adrenal hyperplasia: molecular genetics and alternative approaches to treatment. In: *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 36 (4), S. 329–363. DOI: 10.1080/10408369991239222.

Sugawara, T.; Lin, D.; Holt, J. A.; Martin, K. O.; Javitt, N. B.; Miller, W. L.; Strauss, J. F. (1995): Structure of the human steroidogenic acute regulatory protein (StAR)

gene: StAR stimulates mitochondrial cholesterol 27-hydroxylase activity. In: *Biochemistry* 34 (39), S. 12506–12512. DOI: 10.1021/bi00039a004.

Taqi, Syed Ahmed; Sami, Syed Abdus; Sami, Lateef Begum; Zaki, Syed Ahmed (2018): A review of artifacts in histopathology. In: *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP* 22 (2), S. 279. DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP_125_15.

Teo, Min Yuen; Rathkopf, Dana E.; Kantoff, Philip (2019): Treatment of Advanced Prostate Cancer. In: *Annual review of medicine* 70, S. 479–499. DOI: 10.1146/annurev-med-051517-011947.

The Cancer Genome Atlas Program (TCGA) (2024). Online verfügbar unter <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>, zuletzt aktualisiert am 10.02.2024, zuletzt geprüft am 19.02.2024.

Thomson, Murray (2003): Does cholesterol use the mitochondrial contact site as a conduit to the steroidogenic pathway? In: *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 25 (3), S. 252–258. DOI: 10.1002/bies.10243.

Tissue expression of STAR - Summary - The Human Protein Atlas (2024). Online verfügbar unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000147465-STAR/tissue>, zuletzt aktualisiert am 14.01.2024, zuletzt geprüft am 14.01.2024.

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.

Tugaeva, K. V.; Sluchanko, N. N. (2019): Steroidogenic Acute Regulatory Protein: Structure, Functioning, and Regulation. In: *Biochemistry. Biokhimiia* 84 (Suppl 1), S233-S253. DOI: 10.1134/S0006297919140141.

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

Voduc, David; Kenney, Challayne; Nielsen, Torsten O. (2008): Tissue microarrays in clinical oncology. In: *Seminars in radiation oncology* 18 (2), S. 89–97. DOI: 10.1016/j.semradonc.2007.10.006.

- Wajchenberg, B. L.; Albergaria Pereira, M. A.; Medonca, B. B.; Latronico, A. C.; Campos Carneiro, P.; Alves, V. A. et al. (2000): Adrenocortical carcinoma: clinical and laboratory observations. In: *Cancer* 88 (4), S. 711–736.
- Wang, Gang; Amin, Mahul B.; Grossmann, Petr; Ptáková, Nikola; Hayes, Malcolm; Hartmann, Arndt et al. (2022): Renal cell tumor with sex-cord/gonadoblastoma-like features: analysis of 6 cases. In: *Virchows Arch* 480 (2), S. 349–358. DOI: 10.1007/s00428-021-03235-x.
- 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.
- Yassin, A.; AlRumaihi, K.; Alzubaidi, R.; Alkadhi, S.; Al Ansari, A. (2019): Testosterone, testosterone therapy and prostate cancer. In: *The aging male : the official journal of the International Society for the Study of the Aging Male* 22 (4), S. 219–227. DOI: 10.1080/13685538.2018.1524456.
- 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.
- Yu, S-P; Yan, R-H; Gao, J.; Song, D. (2020): Significance of TRPS1 in the development and clinicopathologic of hepatocellular carcinoma. In: *European review for medical and pharmacological sciences* 24 (18), S. 9325–9332. DOI: 10.26355/eurrev_202009_23014.
- Zhou, Weiwei; Wu, Luming; Xie, Jing; Su, Tingwei; Jiang, Lei; Jiang, Yiran et al. (2016): Steroidogenic Acute Regulatory Protein Overexpression Correlates with Protein Kinase A Activation in Adrenocortical Adenoma. In: *PloS one* 11 (9), e0162606. DOI: 10.1371/journal.pone.0162606.

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildungsnummer	Seite
Abbildung 1: Steroidsynthese	6
Abbildung 2: Struktur des StAR-Proteins	8
Abbildung 3: Regulierung der Steriodbiosynthese	9
Abbildung 4: Cholesterintransport	12
Abbildung 5: RNA-Expression von StAR im humanen Gewebe	17
Abbildung 6: mRNA-Expression von StAR in verschiedenen Tumorentitäten	18
Abbildung 7: Übersicht aktueller Studienergebnisse zur StAR Immunhistochemie	19
Abbildung 8: UKE-TMA-Struktur	23
Abbildung 9: Gesamtüberblick über das halbautomatische TMA-Stanzgerät.	24
Abbildung 10: Die Hohnadel (links) und elektrische Bohrnadel(rechts) sind zu sehen.	25
Abbildung 11: Hier ist ein Mehrfachblockhalter für die Herstellung von 6 TMA-Replikaten.	25
Abbildung 12 Grundlage der Immunhistochemischen Färbung ist die Antigen-Antikörperbindung	33
Abbildung 13: Hier in diesem Beispiel ist die direkte Methode zu sehen	34
Abbildung 14: Doppelt indirekte Methode	35
Abbildung 15: Primärantikörper und ein Komplex bestehend aus Peroxidase-Antiperoxidase werden zur Visualisierung verwendet	35
Abbildung 16: EnVision-Polymer-Konjugat-Methode	36
Abbildung 17: EPOS(Enhanced-Polymer-one-step) -Methode	36
Abbildung 18: Kräftige StAR-Positivität in Zellen der normalen Nebennierenrinde	41
Abbildung 19: Nebennierenrinde mit geringerer StAR-Positivität in adrenokortikalen Zellen	41
Abbildung 20: Hodengewebe mit kräftiger StAR-Positivität von Leydigzellen	42

Abbildung 22: Ovarialgewebe mit kräftiger StAR-Anfärbung von Theca interna Zellen einer folliculären Zyste	43
Abbildung 23 Kolorektales Epithel mit komplettem Fehlen einer StAR-Färbung	43
Abbildung 24: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung in Nebennierenrinde	45
Abbildung 25: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung in Leydigzellen.	46
Abbildung 26: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung in einer folliculären Zyste aus dem Ovar.	47
Abbildung 27: Vergleich von den Antikörpern MSVA-740R (A) und EPR7639 (B) hinsichtlich ihrer Färbung im Corpus Luteum aus dem Ovar	48
Abbildung 28: Nebennierenrindenadenom mit kräftiger StAR-Anfärbung aller Tumorzellen	56
Abbildung 29: Adrenokortikales Adenom mit variabler, gering bis mäßiggradig ausgesprägter StAR-Anfärbung in den Tumorzellen	56
Abbildung 30: Nebennierenrindenkarzinom mit mäßig starker zytoplasmatischer StAR-Färbung aller Tumorzellen	57
Abbildung 31: Leydigzelltumor des Hodens mit intensiver StAR-Färbung aller Tumorzellen (zytoplasmatisch)	57
Abbildung 32: Sertoli-Leydigzelltumor des Hodens mit kräftiger zytoplasmatischer StAR-Färbung der Leydigzellanteile des Tumors	58
Abbildung 33: Endometrioides Ovarialkarzinom mit fokaler, überwiegend membranöser StAR-Anfärbung in ca. 30% der Zellen	58
Abbildung 34: Seminom des Hodens mit mäßig starker bis starker, überwiegend membranöser Färbung von 70 % bis 90% der Tumorzellen	59
Abbildung 35 Granulosazelltumor des Ovars..	59
Abbildung 36: Ranking der StAR positiven Tumoren	62
Abbildung 37: StAR versus Melan A	64

9. Tabellenverzeichnis

Tabellennummer	Seitenzahl
Tabelle 1: Literaturverweise zu Abbildung 7	20
Tabelle 2: Fiktives Beispiel eines Datenfiles bei einem TMA.	24
Tabelle 3: Zusammensetzung des Normalgewebe-TMAs.	27
Tabelle 4: Untersuchte Tumorentitäten auf den Tumor-TMAs.	29-33
Tabelle 5: Das in der Studie verwendete UKE-System zur Klassifizierung von IHC-Färbungen	39
Tabelle 6: StAR-Immunfärbung in menschlichen Tumoren	50-55
Tabelle 7: Ranking der StAR positiven Tumoren	61
Tabelle 8: StAR-IHC-Ergebnisse und histopathologische Malignitätskriterien bei Seminomen	63

10. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ACTH	Adrenocorticotropin Hormon
ADT	Androgendeprivation
AR	Androgenrezeptor
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
kDa	Kilodalton
LDL	Low Density Lipoprotein
StAR	Steroidogenic acute regulatory
TMA	Tissue micro array
TSPO	Translocator Protein
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
VLDL	Very low density Lipoprotein
ACTH	Adrenocorticotropin Hormon
ADT	Androgendeprivation
AR	Androgenrezeptor
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
kDa	Kilodalton
LDL	Low Density Lipoprotein
StAR	Steroidogenic acute regulatory
TMA	Tissue micro array
TSPO	Translocator Protein
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
VLDL	Very low density Lipoprotein

11. Erklärung des Eigenanteils

Die hier thematisierte Studie wurde am Institut für Pathologie des UKE durchgeführt. Mein Beitrag bestand vor allem darin, eine gründliche Literaturrecherche zur Expression von StaR in Normalgeweben und Tumoren durchzuführen, um damit einen Überblick über den immunhistochemischen Forschungsstand von StAR zu schaffen.

Ebenso bestand mein Anteil darin, bei der Herstellung der TMAs sowie deren Färbungen mitgewirkt zu haben.

So habe ich im Vorfeld über das interne Informationssystem des UKE geeignete Tumorfälle für die TMAs nach denen in dieser Arbeit aufgeführten Einschlusskriterien herausgesucht. Die entsprechenden Gewebelöcke wurden dann von MTAs aus dem Institut für Pathologie auf ihre Eignung überprüft und herausselektiert.

Darüber hinaus habe ich die anonymisierten Patientendaten der ausgewählten Fälle erfasst, inklusive wichtiger histopathologischer Parameter, und diese in einer Excel-Tabelle aufbereitet. Ziel war es, mögliche Zusammenhänge zwischen den Färberegebnissen und Prognosefaktoren herauszuarbeiten. Die statistische Analyse habe ich zusammen mit Herrn Professor Simon vom Institut für Pathologie umgesetzt.

Gemeinsam mit Herrn Professor Sauter habe ich anschließend den passenden Antikörper und die richtige Verdünnung zur immunhistochemischen Untersuchung von StAR herausgearbeitet. Dafür führten wir mehrere Testfärbungen durch.

Nach Durchführung der TMA-Anfärbung erfolgte die Bewertung der Färbungsintensität durch einen Pathologen. Die vollständige Dokumentation dieser Ergebnisse wurde von mir durchgeführt.

Diese Arbeit habe ich schließlich eigenständig und ohne fremde Unterstützung verfasst.

12. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, 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. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen. Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet. 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 damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Datum:

Unterschrift:

13. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Sauter, der mir die Anfertigung dieser Dissertation in seinem Institut ermöglichte und mir wertvolle Einblicke in den Alltag der Pathologie gewährte.

Ebenso danke ich Frau Laura Behm für ihre beständige Unterstützung in ihrer Tätigkeit als MTA, durch die sie mir den Arbeitsalltag erheblich erleichtert hat.

Von Herzen verbunden bin ich auch meinen Eltern, die mir auf meinem bisherigen Lebensweg immer zur Seite standen und mir damit die Grundlage für diese Arbeit geschaffen haben.