

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Institut für Pathologie: Molekularpathologie

Direktor: Prof. Dr. med. G. Sauter

## **Expression und klinische Signifikanz von NrCAM im Kolonkarzinom**

**Dissertation**

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

vorgelegt von:

Manon I. Temme  
aus Hamburg

Hamburg 2015

Angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Hamburg am: 05.07.2016

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Guido Sauter

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. Tim Strate

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abkürzungsverzeichnis .....	III
Abbildungsverzeichnis .....	V
Tabellenverzeichnis .....	VI
1. Einleitung .....	1
1.1 Hypothese und Fragestellung der Arbeit .....	1
1.2 Zelladhäsionsmoleküle mit Fokus auf NrCAM .....	1
1.2.1 Zelladhäsionsmoleküle: Definition, Bedeutung, Struktur und Einteilung .....	1
1.2.2 NrCAM: Lokalisation, Struktur, Formen, Interaktionen und Funktionen .....	3
1.2.3 NrCAM und seine Rolle bei psychiatrischen Störungen .....	8
1.2.4 NrCAM in humanen Tumoren .....	9
1.3 Kolonkarzinom .....	13
1.3.1 Das Kolon .....	13
1.3.2 Definition, Epidemiologie und Ätiologie des Kolonkarzinoms .....	14
1.3.3 Klassifikation nach UICC & Stadiengruppierung, Lokalisation und Metastasierung .....	14
1.3.4 Histologie, Einteilung und Genetik des Kolonkarzinoms .....	16
1.3.5 Klinik des Kolonkarzinoms .....	22
1.3.6 Diagnostik und Therapie des Kolonkarzinoms .....	22
1.3.7 Nachsorge und Prognose des Kolonkarzinoms .....	25
1.3.8 Prävention, protektive Faktoren und Früherkennung des Kolonkarzinoms .....	27
2. Material und Methoden .....	28
2.1 Untersuchungsmaterial .....	28
2.1.1 Kolon-Prognose-TMA .....	28
2.2 Immunhistochemie .....	30
2.2.1 Protokoll .....	30
2.2.2 Auswertung .....	32
2.3 Statistik .....	33
3. Ergebnisse .....	34
3.1 NrCAM-Expression im Kolonkarzinom .....	34
3.1.1 Assoziation zum Tumorphänotyp .....	35
3.1.2 Assoziation zum Geschlecht der Patienten .....	36
3.1.3 Assoziation zum Alter der Patienten .....	36
3.1.4 Assoziation zur Patientenprognose .....	36

4. Diskussion.....	38
5. Zusammenfassung.....	46
6. Abstract .....	47
7. Literaturverzeichnis.....	48
8. Danksagung .....	70
9. Lebenslauf .....	71
10. Eidesstattliche Versicherung .....	72

## Abkürzungsverzeichnis

APC	adenomatous polyposis coli
BAX	Co-Faktor des TP53
BMPR1A	bone morphogenetic protein receptor 1A
BRAF	v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
CAM	cell adhesion molecule
CD10	cluster of differentiation 10
CEA	carcinoembryonic antigen
CHL1	close homolog of L1
CIMP	CpG island methylator phenotype
CIN	chromosomale Instabilität
c-met	= HGFR
CSF	cerebrospinal fluid
CT	Computertomographie
DCC	deleted in colorectal carcinoma
DNA	deoxyribonucleic acid
EGFR	epidermal growth factor receptor
EpCAM (=TACSTD1)	epithelial cell adhesion molecule
F11	contactin 1
FAP	familiäre adenomatöse Polyposis
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FJP (=JPS)	familiäre juvenile Polyposis
FN3	Fibronectin Typ 3
FOBT	fecal occult blood test
G1-3	Differenzierungsgrad 1-3
HE	Hämatoxylin-Eosin
Her2	human epidermal growth factor receptor 2
HGFR	hepatocyte growth factor receptor
HMPS	hereditary mixed polyposis syndromes
HNPCC	hereditäres nicht-polypöses Kolonkarzinom
hNrCAM	human NrCAM
HRP	horseradish peroxidase
ICAT	inhibitor of beta-catenin and T-cell factor
IgCAM	immunglobulin-type cell adhesion molecule
IGF2R	insulin-like growth factor 2 receptor
JPS (=FJP)	juveniles Polyposis-Syndrom
kb	kilo-Basenpaare
kDa	kilo-Dalton
KRAS	kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LKB1	liver kinase B1
LS	Lynch-Syndrom
MAP	mutator-Y-homolog-associated polyposis
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MLH1	mutator L homolog 1

mRNA	messenger ribonucleic acid
MRT	Magnetresonanztomographie
MSH2	mutator S homolog 2
MSH6	mutator S homolog 6
MSI	Mikrosatelliteninstabilität
MUTYH	mutator Y homolog
n	Anzahl
NCAM	neural cell adhesion molecule
NgCAM	neuron-glia cell adhesion molecule
NIH3T3	mouse embryonic fibroblast cell line
Npn-2	neoplastic progression 2
NrCAM	neuron-glia-CAM-related cell adhesion molecule, neuronal CAM
NSCLC	non small lung cancer
p; p-Wert	Signifikanzwert
PAX3-FKHR	Transkriptionsfaktoren, Fusionsprotein
PI3KCA	Phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform
PJS	Peutz-Jeghers-Syndrom
PMS2	postmeiotic segregation increased 2
PPAP	polymerase proofreading-associated polyposis
pT/pN/pM	pathologic stage (TNM)
RET	receptor protein kinase ret gene
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
SCLC	small cell lung cancer
Sema3F	semaphorin 3F
shRNA	short hairpin ribonucleic acid
siRNA	small interfering ribonucleic acid
SKI	Sloan-Kettering Institute
SMADH4	mothers against decapentaplegic homolog 4
SNP	single nucleotide polymorphism
STK11	serin/threonin kinase 11
TACSTD1 (=EpcAM)	tumor-associated calcium signal transducer 1
TBST	tris-buffered saline and tween
TCF/LEF	T-cell factor/lymphoid enhancing factor
TGF	transforming growth factor
TMA	tissue microarray
TNM	tumor, nodes, metastases
TP53	tumor protein 53
tween	Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monolaurat
UICC	union internationale contre le cancer
WHO	World Health Organization
Wnt	wingless int 1

<b>Abbildung 1:</b> Übersicht über die Moleküle der Immunglobulin-Superfamilie und ihre Struktur.....	2
<b>Abbildung 2:</b> Schematische Abbildung von NrCAM.....	4
<b>Abbildung 3:</b> Eine Übersicht über die wichtigsten der extrazellulären Interaktionen von NrCAM in seiner Funktion als Ligand und Rezeptor .....	7
<b>Abbildung 4:</b> Repräsentatives Beispiel einer Immunfärbung unter Verwendung von NrCAM-Antikörpern auf Schilddrüsengewebe .....	10
<b>Abbildung 5:</b> Kanonischer Wnt-Signalweg.....	11
<b>Abbildung 6:</b> Lichtmikroskopisches Bild gesunder Kolonschleimhaut und eines Adenokarzinoms .....	13
<b>Abbildung 7:</b> Ableitung molekularer Gruppen 1-5 des kolorektalen Karzinoms.....	20
<b>Abbildung 8:</b> Klassische Adenom-Karzinom-Sequenz des CIN-pathways.....	21
<b>Abbildung 9:</b> Konzeptuelle Entwicklung von kolorektalen Tumoren mit CIMP.....	22
<b>Abbildung 10:</b> Staging und Prognose bei Patienten mit kolorektalem Karzinom.....	26
<b>Abbildung 11:</b> Kolonkarzinom-TMA.....	28
<b>Abbildung 12:</b> Auswirkungen des Tumorstadiums auf die Prognose des Kolonkarzinoms.....	30
<b>Abbildung 13:</b> 2-Schritt-Polymer-Methode (EnVision™) .....	31
<b>Abbildung 14:</b> Kolon-Gewebeproben nach Anfärbung mit dem NrCAM-Antikörper.....	33
<b>Abbildung 15:</b> Verteilung der NrCAM-Expression im Kolonkarzinom .....	34
<b>Abbildung 16:</b> Patientenüberleben in Abhängigkeit der NrCAM-Expression unter Berücksichtigung aller 4 Expressionsgrade.....	37
<b>Abbildung 17:</b> Patientenüberleben in Abhängigkeit der NrCAM-Expression nach Einteilung in 2 Expressionsgrade.....	37
<b>Abbildung 18:</b> Darstellung der im Amplikon 7q31.1 enthaltenen Gene .....	38
<b>Abbildung 19:</b> Tissue Microarray: Erstellung und Anwendung .....	40

<b>Tabelle 1:</b> TNM-Klassifikation nach UICC .....	15
<b>Tabelle 2:</b> Stadieneinteilung nach UICC .....	15
<b>Tabelle 3:</b> Kolon-TMA-Zusammensetzung .....	29
<b>Tabelle 4:</b> Auswertung der Immunhistochemie nach Reaktionsstärke .....	32
<b>Tabelle 5:</b> Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Karzinom-Phänotyp. Einteilung in die 4 Expressionsgrade: ‚negativ‘, ‚schwach positiv‘, ‚moderat positiv‘, ‚stark positiv‘ .....	35
<b>Tabelle 6:</b> Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Kolonkarzinom-Phänotyp. Einteilung in ‚positiv‘ und ‚negativ‘ .....	35
<b>Tabelle 7:</b> Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Geschlecht der Patienten. Einteilung in die 4 Expressionsgrade: ‚negativ‘, ‚schwach positiv‘, ‚moderat positiv‘, ‚stark positiv‘ .....	36
<b>Tabelle 8:</b> Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Geschlecht der Patienten. Einteilung in ‚positiv‘ und ‚negativ‘ .....	36



## 1. Einleitung

### 1.1 Hypothese und Fragestellung der Arbeit

In den letzten Jahren haben sich in der Krebstherapie auf Antikörpern basierende Therapeutika, die sich gegen tumorspezifische Moleküle richten, häufig als erfolgreich herausgestellt (Adams & Weiner, 2005; Tol & Punt, 2010). Die Antikörper können viele nützliche Effekte zeigen. Sie blockieren Wachstumssignale (z.B. Cetuximab), machen den Tumor für das Immunsystem sichtbar (z.B. Rituximab), verhindern die Bildung tumorversorgender Gefäße (z.B. Bevacizumab) und können als Transportmolekül für Chemotherapeutika oder Strahlung dienen (z.B. Ibritumomab, Ado-Trastuzumab emtansine). Daher wird zunehmend nach Angriffspunkten für neue derartige Therapieansätze gesucht.

Krohn führte im Rahmen ihrer Dissertation (Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) eine Array-komparative genomische Hybridisierung durch, um Kopiezahlveränderungen in humanen Tumoren zu detektieren. Hierbei tauchte in einem Ösophaguskarzinom (Case # 4021, Herkunft: Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf) vermehrt das Zelladhäsionsmolekül NrCAM innerhalb einer Amplifikation im Chromosom 7q31 auf (Krohn, 2014, nicht-publizierte Beobachtung). Da Theodor Boveri bereits 1914 erkannt hatte, dass Veränderungen der Zelladhäsion eine wichtige Rolle in der Tumorprogression spielen, wurde entschieden, NrCAM detaillierter zu untersuchen und seine potenzielle klinische und prognostische Bedeutung zu erkunden (Boveri, 1914; Cavallaro & Christofori, 2004).

In einer weiteren Arbeit wurde die Häufigkeit, Verteilung und Stärke der Expression von NrCAM in humanen Tumoren anhand von immunhistochemisch untersuchten Multitumor-TMA-Schnitten orientierend untersucht (Dancau, 2012). Darin zeigte sich im Kolonkarzinom eine NrCAM-Expression von 10,2%. Vorangegangene Arbeiten zu NrCAM lassen einen Zusammenhang mit der Karzinogenese, insbesondere auch im Kolonkarzinom, vermuten (Conacci-Sorrell et al., 2002; Dhodapkar et al., 2001). In dieser Dissertation werden daher das Vorkommen und die Prognoserelevanz von NrCAM anhand eines Kolonkarzinom-Tissue-Microarrays untersucht.

### 1.2 Zelladhäsionsmoleküle mit Fokus auf NrCAM

#### 1.2.1 Zelladhäsionsmoleküle: Definition, Bedeutung, Struktur und Einteilung

---

Zelladhäsionsmoleküle (CAM; cell adhesion molecule) beeinflussen neben der Adhäsion zwischen Zellen untereinander und der Adhäsion zwischen Zellen und der extrazellulären Matrix auch die Signaltransduktionswege. Veränderungen des Vorkommens und der Aktivität dieser Moleküle spielen daher eine entscheidende Rolle in der Tumorprogression, insbesondere hinsichtlich der Invasion und Metastasierung. Zu den CAMs zählen Cadherine,

IgCAMs (immunglobulin-type cell adhesion molecules), Integrine, Selektine und andere (Cavallaro & Christofori, 2004).

Adhäsionsmoleküle der Immunglobulin-Superfamilie finden sich in vielen verschiedenen Zelltypen wie beispielsweise Zellen des Nervensystems, Leukozyten und epithelialen und endothelialen Zellen. Sie sind daher unter anderem von großer Bedeutung in der Hirnentwicklung, der Immunantwort, der Gefäßsystementwicklung sowie der Hautmorphologie (Aplin et al., 1998; Cavallaro & Christofori, 2004). Ferner gehen sie sowohl homophile als auch heterophile Verbindungen innerhalb ihrer Subgruppe, mit CAMs anderer Subgruppen und mit extrazellulären Matrixproteinen ein.

IgCAMs kommen auf den Zelloberflächen vor und zeichnen sich durch das Vorhandensein einer oder mehrerer Kopien von Immunglobulin-ähnlichen Komponenten aus, die eine kompakte Struktur mit zwei Cytosin-Resten aufweisen, welche durch 55-75 Aminoacylreste getrennt sind. Diese sind als antiparallele beta-Faltblätter angeordnet. Zusätzlich befindet sich typischerweise etwa 10-15 Stellen vor dem ersten Cytosin ein „invariables“ Tryptophan (Aplin et al., 1998; Davies & Metzger, 1983; Kabat et al., 1992; Spektrum, 2000; Vaughn & Bjorkman, 1996; Williams & Barclay, 1988).

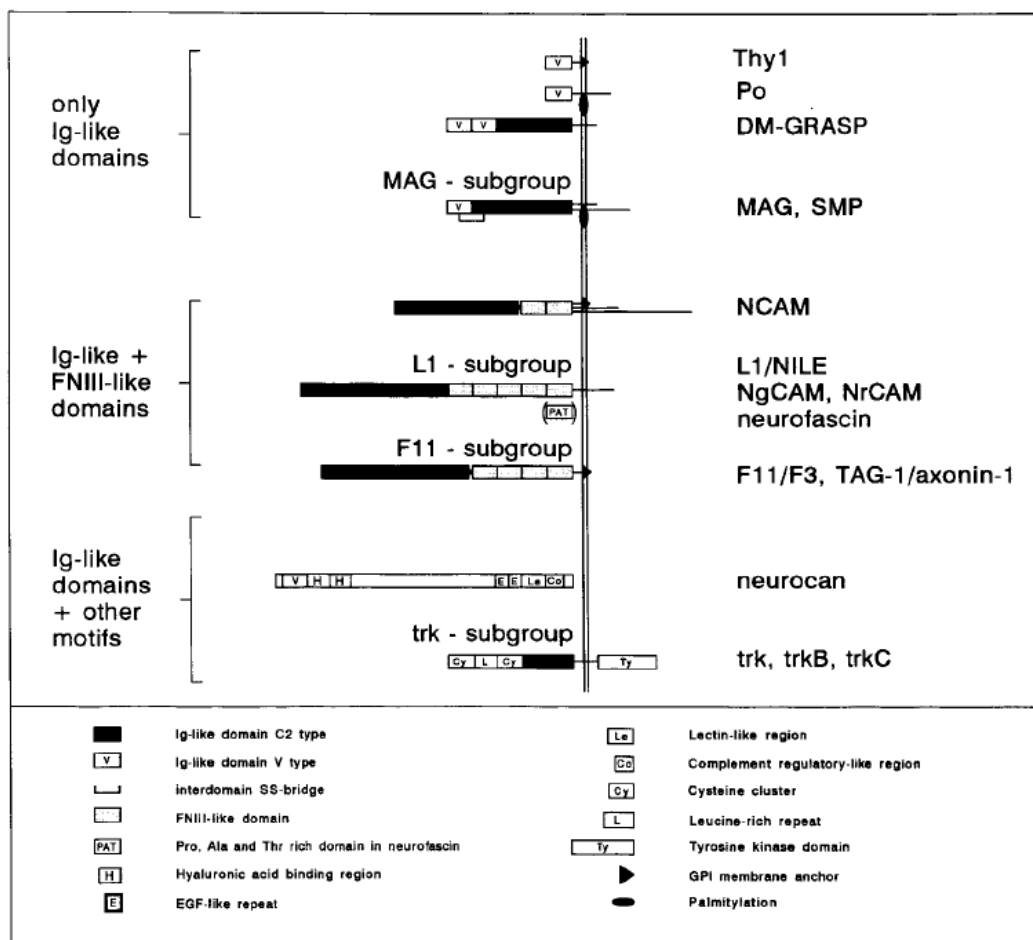


Abbildung 1: Übersicht über die Moleküle der Immunglobulin-Superfamilie und ihre Struktur (Brümmendorf & Rathjen, 1993).

Die Ig-Superfamilie umfasst über 100 verschiedene Polypeptide (Spektrum, 2000). Sie unterteilt sich weiter in die drei folgenden Gruppen: Moleküle mit extrazellulären Immunglobulin(Ig)-ähnlichen-Domänen, Moleküle mit zusätzlichen Fibronectin-Typ-3-ähnlichen Domänen (Ig-/FN3-Gruppe) und Moleküle mit Ig-Domänen plus anderen Komponenten. Zur Gruppe Ig/FN3 gehören wiederum die Subgruppen NCAM, L1 und F11. Eine Übersicht wird in Abbildung 1 gegeben (Brümmendorf & Rathjen, 1993).

Zur L1-Familie werden die Proteine L1, CHL1, Neurofascin, NgCAM und NrCAM gezählt. Diese Moleküle haben eine besondere Bedeutung bei axonalem Wachstum, axonaler Führung und Faszikulation, neuronaler Migration, neuronalem Überleben, Myelinisierung, synaptischer Plastizität und posttraumatischer neuronaler Regeneration (Bennett & Baines, 2001; Brümmendorf & Rathjen, 1998; Maness & Schachner, 2007).

Alle Moleküle der L1-Familie setzen sich zusammen aus einem extrazellulären, einem transmembranösen und einem zytoplasmatischen Segment. Für die extrazelluläre Region der L1-verwandten Moleküle sind sechs Immunglobulin-ähnliche Domänen und drei bis fünf Fibronectin-Typ-3-Einheiten kennzeichnend, gefolgt von einem einzelnen transmembranösen Segment und einer in ihrer Sequenz hochkonservierten zytoplasmatischen Kette von ca. 110 Aminoacyl-Resten. In dieser zytoplasmatischen Domäne findet sich eine feste Sequenz (FIGQ/AY), die Ankyrin reversibel bindet, mit dem sich das L1-Molekül mit dem subkortikalen Aktin-Zytoskelett verbinden kann (Bennett & Baines, 2001; Hortsch, 2000; Maness & Schachner, 2007). Trotz der ähnlichen Struktur der Moleküle sind die Mitglieder der L1-Familie nur in 35-40% homolog (Schmid & Maness, 2008).

Da NrCAM das für diese Arbeit entscheidende Molekül darstellt, wird im Folgenden detaillierter auf dessen Struktur, Funktion, Vorkommen und Bedeutung eingegangen.

### 1.2.2 NrCAM: Lokalisation, Struktur, Formen, Interaktionen und Funktionen

---

NrCAM steht für neuronal cell adhesion molecule oder neuron-glia-CAM-related cell adhesion molecule.

Sein Genlocus liegt auf Chromosom 7q31.1, hat eine Länge von etwa 316 kb und enthält 34 Exons (Janik & Czarnocka, 2010; Lane et al., 1996; Maness & Schachner, 2007).

Das etwa 200-220 kDa schwere Molekül setzt sich extrazellulär aus sechs Immunglobulin-Typ-C2-ähnlichen Domänen, fünf Fibronectin-Typ-3-ähnlichen Komponenten sowie einer einzelnen transmembranösen und einer kurzen hochgradig konservierten zytoplasmatischen Domäne zusammen (Grumet et al., 1991; Janik & Czarnocka, 2010; Kayyem et al., 1992; Lane et al., 1996). Einen Überblick über die Struktur des Moleküls gibt Abbildung 2. Da das dritte Fibronectin-ähnliche Segment eine Furin-ähnliche Schnittstelle enthält, konnte NrCAM bisher nur in einer 135-150 kDa- und einer 60 kDa-Form detektiert werden (Davis et al., 1996; Grumet et al., 1991; Kayyem et al., 1992). 2010 wurde zudem von Feinberg et al. eine

lösliche Form des Glykoproteins beschrieben, welches von myelinisierenden Schwann-Zellen produziert wird und sich vorwiegend an den Ranvier'schen Schnürringen vorfindet. Bisher konnte jedoch nicht mit Sicherheit festgestellt werden, ob es sich tatsächlich um eine lösliche Form handelt oder um ein Splicing-Spaltprodukt, dem die zytoplasmatische Domäne fehlt (Feinberg et al., 2010).

Im menschlichen NrCAM konnten verschiedene alternative Splicing-Stellen detektiert werden, in Folge derer unterschiedliche Isoformen entstehen. Diese werden mit AE19, AE10, AE10K2, AE12 und AE93 bezeichnet (Grumet et al., 1991; Ishiguro et al., 2006; Lane et al., 1996; Wang et al., 1998). Das prominenteste Splicing ist eine 93-Aminoacyl-Deletion in der fünften Fibronectin-Typ-3-Einheit, aus der eine besonders häufig im Gehirn vorkommende NrCAM-Isoform entsteht, die nur vier statt fünf Fibronectin-Typ-3-Einheiten besitzt (Sakurai, 2012).

Schon 1990 stellten de la Rosa et al. fest, dass die Häufigkeit sowie die Lokalisation von NrCAM im Laufe der Embryogenese Änderungen unterliegen (de la Rosa et al., 1990). Ähnlich verhält es sich mit der Ausprägung der unterschiedlich gesplicten Exons zu verschiedenen Zeitpunkten in der Entwicklung. Um dies nachzuweisen, wurde mRNA von erwachsenem und fetalem Gewebe aus Gehirn, Nebenniere, Pankreas und Plazenta mit Hilfe von RT-PCR auf Exon-Varianten hin untersucht. Für die Exons AE10 und AE19 konnten zwar Unterschiede hinsichtlich der Gewebeverteilung, jedoch keine bezüglich des Alters der Gewebe detektiert werden. Für AE10K2 hingegen wurde ein Zugewinn und für AE12 ein Verlust an Exon-Nutzung im erwachsenen Gewebe beobachtet (B. Wang et al., 1998).

Obwohl bisher keine biochemischen oder biologischen Unterschiede zwischen den Isoformen gefunden werden konnten, wird angenommen, dass einige dieser Insertionen und Deletionen die Bindungseigenschaften und damit die biologischen Funktionen des Moleküls beeinflussen (Sakurai, 2012; Volkmer et al., 1996).

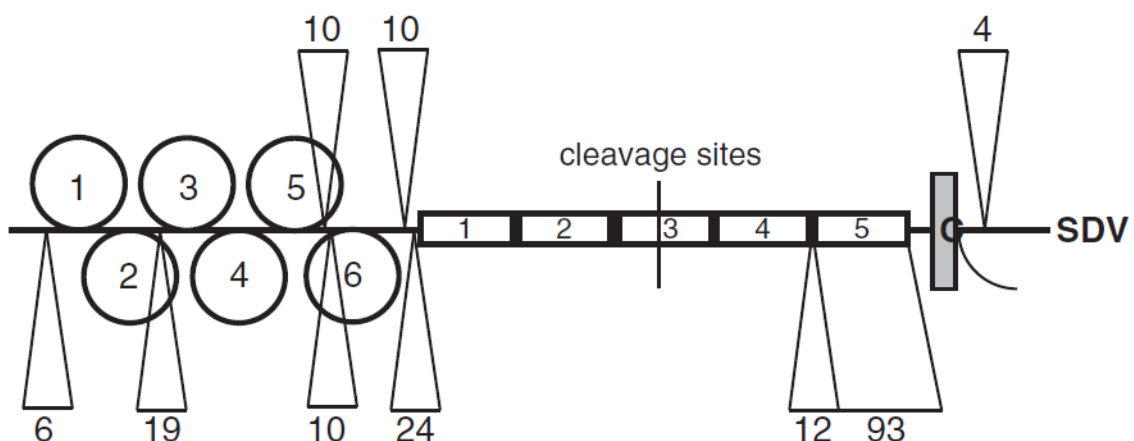


Abbildung 2: Schematische Abbildung von NrCAM. Extrazellulär: 6 Ig-ähnliche Domänen (Kreise) und 5 Fibronectin-Typ-3-ähnliche Domänen (Rechtecke). Transmembran (graues Rechteck): C=Cystein als möglicher Fettsäuren-Modifikationsort. Intrazellulär: PDZ-Domänen-Bindungsstelle am C-terminalen Ende, dargestellt als SDV. Splicing-Insertionen und -Deletionen sind durch Dreiecke dargestellt. Die Zahlen geben die enthaltene Anzahl an Aminosäuren an. In der dritten Fibronectin-Einheit sind mögliche Schnittstellen markiert (Sakurai, 2012).

Erstmalig beschrieben wurde das Glykoprotein von de la Rosa et al. unter dem Namen Bravo und ein Jahr später unter der aktuellen Bezeichnung NrCAM von Grumet et al., der das Molekül im Nervensystem und der Retina des Huhns nachwies (de la Rosa et al., 1990; Grumet et al., 1991).

Bisher konnte NrCAM sowohl im sich entwickelnden als auch im adulten Nervensystem in Gliazellen und Neuronen nachgewiesen werden (Backer et al., 2002; Krushel et al., 1993; Lustig et al., 2001). Es findet sich hierbei unter anderem in der Bodenplatte des sich entwickelnden Rückenmarks, in den kommissuralen Zellen, in ventralen Mittellinienstrukturen des gesamten Rückenmarks, im Chiasma opticum sowie der Eminentia mediana. Die Expression ist besonders stark auf kreuzenden Fasern, die durch diese Strukturen ziehen, was eine Bedeutung von NrCAM für die axonale Führung vermuten lässt. Auch in großen kreuzenden und nicht-kreuzenden Hirnbahnen – wie der anterioren und posterioren Kommissur, dem Corpus callosum, dem lateralen olfaktorischen Trakt und dem habenulo-interpedunkulären Trakt – konnte NrCAM detektiert werden (Lustig et al., 2001). NrCAM in den inferioren Kernen der Olive sowie den Purkinje-Zellen ist ein Beispiel für das Vorkommen sowohl auf Axonen als auch auf den entsprechenden Zielzellen (Backer et al., 2002). Demyanenko et al. beschreiben außerdem NrCAM – zusammen mit dem Sema3F-Rezeptor Npn-2 – in thalamokortikalen Axonsubpopulationen, wo es diese zu spezifischen neokortikalen Arealen im ventralen Telencephalon leitet. Der Verlust von NrCAM in diesen Regionen veränderte das finale topographische Mapping und führte zu verminderter Sehschärfe und Unterschieden in der Okularität (Demyanenko et al., 2011). Im Hippocampus, Cerebellum und olfaktorischen Bulbus werden von NrCAM vermutlich synaptische Formation und Funktion beeinflusst, während über die Expression auf Schwann-Zellen die Myelinisierung induziert wird (Sakurai, 2012; Suter et al., 1995).

Grumet et al. nahmen zunächst an, dass NrCAM nur in neuronalem Gewebe vorkommt (Grumet et al., 1991). Inzwischen weiß man jedoch, dass NrCAM zwar überwiegend in diesen Geweben zu finden ist, viele andere Gewebe und Zellen jedoch ebenfalls NrCAM aufweisen (Conacci-Sorrell et al., 2002; Wang et al., 1998).

Anhand der Untersuchung von vielen verschiedenen humanen Geweben mit Hilfe von Northern Blots konnte eine NrCAM-Expression in Form eines ~7kb mRNA-Bandes auch in Plazenta, Pankreas, Nebennierenmark und -rinde, Schilddrüse und Hoden gefunden werden. Da die Stärke der NrCAM-Ausprägung in Pankreas und Nebennieren der im Gehirn sehr ähnlich ist und die beiden Organe sowohl exokrine als auch endokrine Eigenschaften besitzen, wurde auf eine NrCAM-Beteiligung an der Aufrechterhaltung der Homöostase geschlossen. Diese Hypothese wird auch durch die beobachtete signifikante NrCAM-Expression in der Schilddrüse unterstützt (Wang et al., 1998). Weiterhin konnte eine Expression in Linsenfaserzellen gefunden werden. In daraufhin untersuchten NrCAM-knock-out-Mäusen kam es zunächst zu einer Desorganisation von Linsenfäsern, gefolgt von Zelledesintegration, Akkumulation von Zelldetritus und schließlich der Entstehung eines Katarakts mit der Penetranz von 100% (Moré et al., 2001). Und schließlich wurde NrCAM in

Verbindung mit der endothelialen Differenzierung gebracht, als es bei Forschungen zur Angiogenese entdeckt wurde. Das Molekül wurde auf tubulären mikrovaskulären endothelialen Zellen gefunden. In Analogie zum Zusammenwirken von Integrin beta-1 und NrCAM bei neuronalem Wachstum beeinflusst es dort zusammen mit dem endothelial-exprimierten Integrin alpha2-beta1 die Anzahl, Länge und Weite von kapillären Gefäßen der Umbilikalvene oder neonatalen Vorhaut (Gamble et al., 1993; Glienke et al., 2000).

Sowohl die extrazelluläre als auch die intrazelluläre Komponente des NrCAM-Moleküls kann verschiedene Interaktionen vermitteln. Dabei kann NrCAM zusammen mit anderen Molekülen der Ig-Superfamilie sowohl Kation-abhängige homophile Bindungen zwischen Neuronen als auch Kalzium- oder Magnesium-abhängige heterophile Bindungen zwischen Neuronen und anderen Zelltypen wie Fibroblasten eingehen. Hierbei sind die homophilen Bindungen wesentlich geringer ausgeprägt als bei anderen Zelladhäsionsmolekülen wie NgCAM (Mauro et al., 1992).

Extrazellulär beeinflusst NrCAM über eine heterophile Verbindung mit Axon-assoziiertem Contactin-1 (F11) oder immobilisiertem Neurofascin das neuronale Wachstum am Axon bzw. an den tektalen Zellen (Morales et al., 1993; Volkmer et al., 1996). Mauro et al. vermuteten bereits 1992, dass die Expression von NrCAM in peripheren Geweben sowie in peripheren Nerven eine Rolle für Nervenwachstum, axonale Führung sowie posttraumatische Axonregeneration spielt (Mauro et al., 1992). In der frühen Phase der Myelinisierung des peripheren Nervensystems kann zudem eine Verbindung von Axonin-1 auf der neuronalen Membran und dem auf Gliazellen-sitzenden NrCAM nachgewiesen werden, womit eine Beteiligung von NrCAM an der axonalen Führung sowie der Myelinisierung angenommen wird (Suter et al., 1995). Auch im zentralen Nervensystem beeinflusst das sich im Neuralrohr befindliche NrCAM im Zusammenspiel mit Axonin-1, welches in den Wachstumskegeln der Nervenfasern sitzt, die Nervenentwicklung. Bei Inhibierung der Verbindung der zwei Moleküle konnten die kommissuralen Fasern im Rückenmark von Hühnern die Mittellinie nicht mehr überqueren (Stoeckli & Landmesser, 1995). Eine weitere Verbindung, die hier erwähnt werden soll, kann sich zwischen einem Contactin/NrCAM-Rezeptorkomplex auf Neuronen und der Rezeptor-Protein-Tyrosin-Phosphatase-beta (RPTP-beta) ausbilden. Diese ist wichtig für neuronales Wachstum und neuronale Differenzierung (Sakurai et al., 1997).

Zusätzlich zu den Bindungen zu Membranen anderer Zellen kann NrCAM auch extrazelluläre Bindungen zu Molekülen auf derselben Zellmembran aufbauen. Hier sind Bindungen zu Neurophilin-2 und Plexin-A1 zu nennen, welche als Komplex als Rezeptor für Semaphorine dienen. Diese wiederum dienen der axonalen Führung in der Entwicklung des Nervensystems (Falk et al., 2005; Sakurai, 2012). Weiterhin konnte eine Komplexbildung mit alpha4beta1-Integrinen in Melanom-Zellen sowie eine Interaktion mit beta1-Untereinheiten von Natrium-Kanälen festgestellt werden (Conacci-Sorrell et al., 2005; McEwen & Isom, 2004).

Die intrazellulären Interaktionen wurden 2009 von Herron et al. ausführlich in einem Review behandelt (Herron et al., 2009). Neben einer Bindung mit Ankyrin-G und Ankyrin-B, deren Funktion bisher ungeklärt ist, geht das C-terminale Ende von NrCAM Bindungen mit PDZ-Domänen-haltigen synapsenassoziierten Proteinen ein, wie z.B. SAP102 und SAP97, wodurch vermutlich Funktionen im Synapsenbereich moduliert werden (Davey et al., 2005; Dirks et al., 2006; Sakurai, 2012). Zu Ezrin konnte keine direkte Bindung gefunden werden, es wurde jedoch eine gleichzeitige Häufung beider Proteine in invasiven Karzinom-Zelllinien beobachtet (Conacci-Sorrell et al., 2002). Abbildung 3 gibt eine Übersicht über die wichtigsten extrazellulären Liganden- und Rezeptorfunktionen des NrCAM.

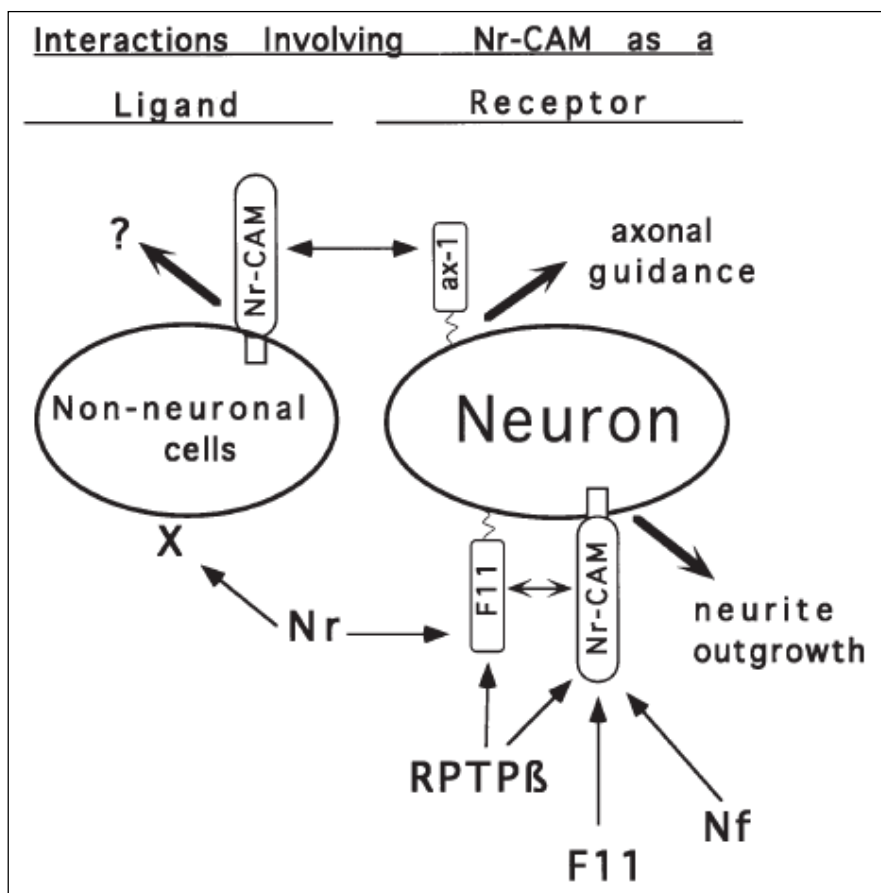


Abbildung 3: Eine Übersicht über die wichtigsten der extrazellulären Interaktionen von NrCAM in seiner Funktion als Ligand und Rezeptor (Grumet, 1997). Nr, NrCAM. Ax-1, Axonin-1. X, unbekanntes Molekül.

Zusammenfassend ist NrCAM nach aktuellem Forschungsstand ein Zelladhäsionsmolekül der Ig-Superfamilie, das vorwiegend in neuronalem Gewebe vorliegt und sich an Zellproliferation, -differenzierung und -migration, neuronaler Entwicklung, axonalem Wachstum und axonaler Führung, Synapsenbildung, Nervenausprossung sowie Myelinisierung in physiologischem Rahmen beteiligt. In pathologischer Hinsicht spielt NrCAM neben seiner Bedeutung in der Kataraktentstehung u.a. eine Rolle bei Autismus und Drogenabhängigkeit sowie bei humanen Tumoren. Dieses wird in den folgenden zwei Abschnitten detaillierter erläutert (Janik & Czarnocka, 2010; Sakurai, 2012).

### 1.2.3 NrCAM und seine Rolle bei psychiatrischen Störungen

---

Ishiguro et al. fanden im Laufe ihrer Forschung zu NrCAM starke Anhaltspunkte für einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen NrCAM-Haplotypen und den individuellen Unterschieden der Prädisposition für die Entwicklung von Abhängigkeiten. Es konnten Polymorphismen, 3'-Haplotypen und 5'-Haplotypen identifiziert werden, die bei Individuen ohne jeglichen Substanzmissbrauch im Vergleich zu abhängigen Individuen weniger stark vorkommen. Da NrCAM-Knock-out-Mäuse im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen ebenfalls ein reduziertes Abhängigkeitsverhalten gegenüber Morphin, Kokain sowie Amphetamin zeigten, wird angenommen, dass eine stärkere NrCAM-Expression mit einer erhöhten Abhängigkeitsprädisposition einhergeht (Ishiguro et al., 2006).

Genetische Studien fanden einen Genlocus auf Chromosom 7, der vermutlich die Anfälligkeit, einen Autismus zu entwickeln, erhöht. Bei genauerer Untersuchung dieses Locus fand sich eine Assoziation zu einigen Polymorphismen in der Promotorregion sowie nichttranslatierten Regionen von NrCAM (Bonora et al., 2005). Diese Vermutung wird unterstützt durch die Studien-Ergebnisse von Sakurai et al., die eine übermäßige Transmission von bestimmten NrCAM-Haplotypen bei schwerer Ausprägung der obsessiv-zwanghaften Form des Autismus beobachteten (Sakurai et al., 2006). Auch Marui et al. fanden Evidenz für einen signifikanten Zusammenhang. Sie untersuchten in der japanischen Bevölkerung in einer Fall-Kontroll-Studie 18 SNPs (single nucleotide polymorphisms) im NrCAM-Gen und fanden in sieben davon die vermutete Assoziation zum Autismus (Marui et al., 2009). Zudem konnte in Gehirnen von Autismus-Patienten festgestellt werden, dass NrCAM hier andere Splicing-Varianten aufwies (Voineagu et al., 2011). Zusammenfassend ist NrCAM sehr wahrscheinlich für die veränderten Hirnbahnen sowie -funktionen des Autismus verantwortlich oder zumindest an ihnen beteiligt.

Kim et al. stellten erste Vermutungen bezüglich einer genetischen Assoziation von NrCAM und Schizophrenie an, aktuell fehlt jedoch noch die entscheidende Evidenz, um ein überzeugendes und eindeutiges Statement zu formulieren (Kim et al., 2009).

Bisher erst marginal erforschte potenzielle Zusammenhänge wurden außerdem zwischen NrCAM und Kaffeegenuss sowie NrCAM und mathematischen Schwächen gefunden (Amin et al., 2012; Docherty et al., 2010).

Studien zur Proteomik identifizierten NrCAM schließlich als potenziellen CSF-Biomarker für die Alzheimer-Erkrankung. Normale NrCAM-Expression spräche für den Grad CDR0, während eine erniedrigte NrCAM-Expression für den Grad CDR1 im „Clinical Dementia Rating“-Test stünde. Zusammen mit fünf weiteren Markern (A-beta42, Tau, YKL-40, Chromogranin A, Carnosinase I) soll NrCAM die diagnostische Genauigkeit erhöhen (Hu et al., 2010; Perrin et al., 2011).



#### 1.2.4 NrCAM in humanen Tumoren

---

Es konnte mittlerweile sowohl für eine erhöhte als auch für eine erniedrigte NrCAM-Expression ein Zusammenhang zur Karzinomprogression in humanen Tumoren – v.a. Hirntumoren, Kolonkarzinom, Melanom, Pankreaskarzinom sowie Schilddrüsenkarzinom – gezeigt werden. Im Folgenden werden die bisherigen Erkenntnisse zusammengefasst.

##### *Hirntumoren*

Eine Überexpression konnte mit Hilfe von Gen-spezifischer RT-PCR-Analyse in Hirntumoren wie hochgradigen Astrozytomen, Gliomen und Glioblastomen festgestellt werden. Dagegen fand man in Neuroblastomen und Meningeomen eine nur geringe Expression. Bei detaillierterer Untersuchung des vorliegenden NrCAM konnte im Northern Blot eine 1,4 kb mRNA nachgewiesen werden, wohingegen man in gesundem Gewebe 7,5 kb mRNA-Transkripte vorfindet. Es bleibt zu erforschen, ob dieser Unterschied in der Anzahl von Basenpaaren tumorspezifisch ist. Der anschließende genomische Southern Blot ergab, dass die NrCAM-Überexpression Folge einer Genamplifikation ist (Sehgal et al., 1998). Ergebnisse einer darauf folgenden Studie bestärkten die vermutete Verbindung zwischen Karzinogenese und NrCAM-Expression. Durch Einbringen von Antisense-NrCAM konnten die tumorigenen Eigenschaften von Glioblastomen reduziert werden. Im Detail wurde weniger natives NrCAM exprimiert, die Zellmorphologie veränderte sich, die Zellproliferationsrate wurde reduziert und der Zellzyklus verlängerte sich. Zudem wurde eine starke Reduktion der Soft-Agar-Kolonien sowie der Invasion durch die extrazelluläre Matrix *in vitro* beobachtet. *In vivo* konnte in Nacktmäusen eine komplette Hemmung der Tumorbildung erreicht werden (Sehgal et al., 1999). In der Zusammenschau wird angenommen, dass NrCAM als Tumormarker oder als Ansatz für neue Therapiemöglichkeiten dienen könnte.

##### *Papilläres Schilddrüsenkarzinom*

In papillären Schilddrüsenkarzinomen konnte mit der Quantitativen-Reverse-Transkriptase-PCR eine erhöhte NrCAM-Expression gefunden werden, die dem 1,3- bis zu 30,7-fachen der normalen Expression entsprach. Das immunhistochemische Bild bestätigte die Überexpression und das Protein konnte in 93,3% der untersuchten Tumoren detektiert und vorwiegend im Zytoplasma lokalisiert werden (Górka et al., 2007). Die verstärkte Expression konnte durch Microarray-Analysen mehrfach bestätigt werden (Delys et al., 2007; Jarzab et al., 2005). In einer weiteren Studie induzierte eine künstlich erhöhte Expression des RET/PTC1-Onkogens viele Gene, die zu Entzündung und Tumordinvasion führen, – darunter auch das NrCAM-Gen (Borrello et al., 2005). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Stärke der Expression und dem Tumorstadium oder der Tumorgroße wurde nicht festgestellt, dennoch geht man davon aus, dass NrCAM hier eine Rolle in der Pathogenese sowie in dem Verhalten des Karzinoms spielt (Górka et al., 2007). Ein Beispiel für eine Immunfärbung mit NrCAM-Antikörpern für verschiedene Gewebe der Schilddrüse zeigt Abbildung 4.

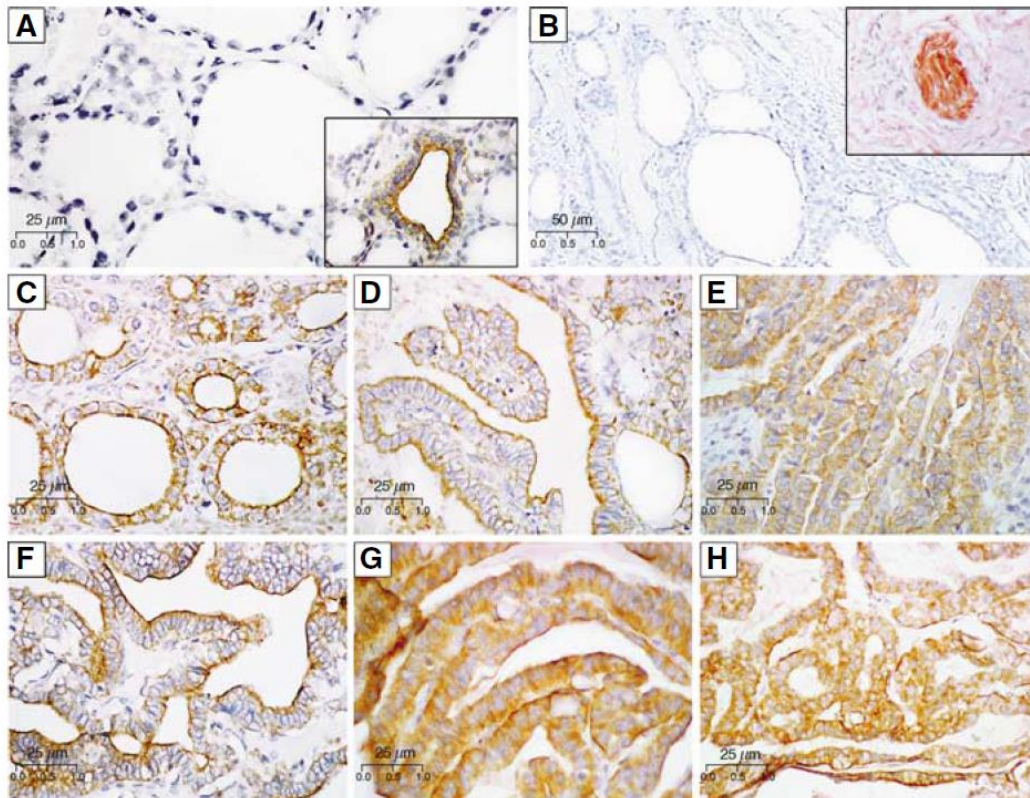


Abbildung 4: Repräsentatives Beispiel einer Immunfärbung unter Verwendung von NrCAM-Antikörpern auf gesundem Schilddrüsengewebe (A), einem peripheren Nerven (B) und Gewebe aus papillären Schilddrüsenkarzinomen verschiedener Stadien (C-H). C, pT1; D-F, pT2; G-H, pT3 (Górka et al., 2007).

### *Pankreaskarzinom*

Im Pankreaskarzinom konnte im Vergleich zum gesunden Gewebe ein zunehmender Verlust der normal sehr hohen NrCAM-Expression beobachtet werden. In gut oder moderat differenzierten Karzinomen zeigt sich die Expression nahezu unverändert, während das Protein in schlecht differenzierten Karzinomen stark reduziert bzw. nicht nachweisbar ist. Es wird angenommen, dass NrCAM im gesunden Pankreas für die Aufrechterhaltung der Integrität und Organisation der Azini zuständig ist und es durch den Verlust an NrCAM zur Tumorgnese kommt. Aus der unterschiedlichen gewebe- und zellspezifischen NrCAM-Expression wurde schließlich geschlossen, dass dieses Zelladhäsionsmolekül an der Pathogenese sowie dem invasiven und metastasierenden Verhalten von Pankreaskarzinomen beteiligt ist (Dhodapkar et al., 2001).

### *Kolonkarzinom*

Der Wnt-Signalweg hat große Bedeutung in der embryonalen Entwicklung hinsichtlich der Achsenstruktur, Zelldifferenzierung, Zellproliferation und Zellmigration. Die Schlüsselkomponente des kanonischen Signalwegs ist beta-Catenin, welches unter anderem Zelladhäsion vermittelt und Cadherin-Rezeptoren mit dem Zytoskelett verknüpft. Die für das Kolonkarzinom typischen Mutationen, wie z.B. eine APC-Mutation, führen im kanonischen Wnt-Signalweg zu einem erhöhten beta-Catenin-Spiegel durch die fehlende Hemmung von APC (siehe Abbildung 5). Einen ähnlichen Effekt auf den beta-Catenin-Spiegel können auch Überexpressionen von z.B. SKI-Proteinen haben. Das vermehrte Beta-Catenin wiederum

induziert im Komplex mit dem Transkriptionsfaktor TCF/LEF nun dauerhaft die Transkription der Zielgene des Signalwegs (Conacci-Sorrell et al., 2002; Polakis, 2000).

Plakoglobin ist homolog zu beta-Catenin und ebenfalls an der Zelladhäsion beteiligt. Es kann indirekt über die Induktion von beta-Catenin als auch direkt in Abwesenheit von beta-Catenin den Wnt-Signalweg beeinflussen (Conacci-Sorrell et al., 2002; Klymkowsky et al., 1999).

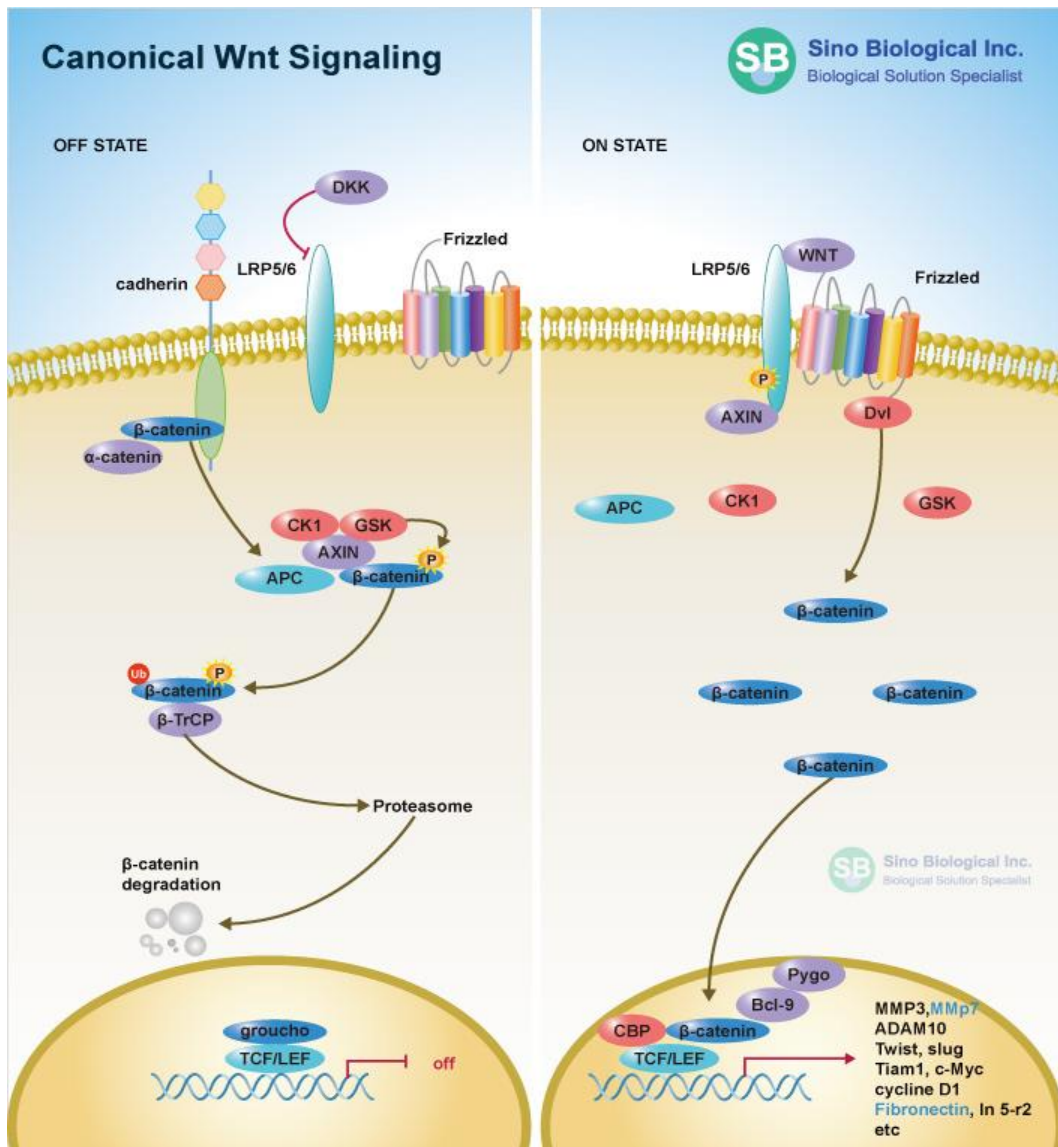


Abbildung 5: Kanonischer Wnt-Signalweg; links inaktiviert, rechts durch Wnt aktiviert (Sino Biologiall Inc., 2015).

Conacci-Sorrell et al. induzierten in Nierenzellkarzinomlinien, in denen weder beta-Catenin noch Plakoglobin nachweisbar waren, jeweils die beta-Catenin- bzw. die Plakoglobin-Produktion und untersuchten in Microarrays, welche Gen-Expression davon beeinflusst wurde. Es fand sich in beiden Fällen eine stark erhöhte NrCAM-Expression. Daraufhin wurde

NIH3T3-Zellen, die normalerweise kein NrCAM aufweisen, mit Hilfe retroviraler Transduktion NrCAM injiziert. Als Resultat zeigten sich stimuliertes Zellwachstum, verstärkte Motilität, induzierte Transformation sowie schnell wachsende Tumoren in Nacktmäusen. In der Folge wurde die NrCAM-Expression in Tumoren und gesunden Geweben untersucht und eine hohe Expression in Geweben des Kolonkarzinoms und des malignen Melanoms (siehe unten) gefunden, die in den jeweiligen gesunden Geweben nicht nachgewiesen werden konnte. Aus diesen Ergebnissen wurde geschlossen, dass NrCAM ein wichtiges Zielgen des beta-Catenin-TCF/LEF-Komplexes ist und sich an der Tumorgenese des Kolonkarzinoms beteiligt, indem es das Zellwachstum sowie die Motilität erhöht (Conacci-Sorrell et al., 2002).

#### *Malignes Melanom*

In malignen Melanomen und ihren Zellreihen wurden ebenfalls einige veränderte Komponenten des Wnt-Signalwegs – wie APC, ICAT, beta-Catenin und LEF-1 – identifiziert, die zu einer Aktivierung des Signalwegs führen. Da beta-Catenin in ca. 30% der humanen Melanome gefunden wurde, wird davon ausgegangen, dass dieses auch hier NrCAM hochreguliert und es eine besondere Rolle in der Entstehung dieses Tumors spielt (Larue & Delmas, 2006). Wie bereits im obigen Abschnitt zur Rolle von NrCAM im Kolonkarzinom beschrieben, konnte im Rahmen der Forschung von Conacci-Sorrell et al. auch in malignen Melanomen eine entsprechende, verstärkte NrCAM-Expression gefunden werden, die in gesundem Gewebe fehlte. Um eine potenzielle Bedeutung von NrCAM für die Motilität in Melanomen zu finden, wurde Kulturen aus malignen Melanomen eine Wunde zugefügt und ein anti-NrCAM-Antikörper hinzugegeben. Anschließend wurde die Fähigkeit des Tumors beobachtet, die Wunde zu verschließen. Es zeigte sich, dass sich das Ausmaß des Wundverschlusses reduzierte. In einer zweiten Studie konnte zudem festgestellt werden, dass eine durch siRNA-(small interfering RNA)-vermittelte NrCAM-Suppression die adhäsiven und tumorigenen Kapazitäten der Melanomzellen hemmte. Daher wurde auch hier auf eine positive Korrelation zwischen NrCAM und Zellmotilität, Zelladhäsion und Zellwachstum in der Tumorprogression geschlossen (Conacci-Sorrell et al., 2002; Conacci-Sorrell et al., 2005).

#### *Weitere Tumoren*

Eine Überexpression des NrCAM-Gens in Ependymomen mit hoher Proliferation wurde mit einer schlechten Prognose assoziiert. Hinsichtlich der Tumordifferenzierung, des Patientenalters und des Patientengeschlechts konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden (Lukashova-v Zangen et al., 2007). In alveolären Rhabdomyosarkomen konnte im Vergleich zum weniger aggressiven embryonalen Subtyp ebenfalls eine erhöhte Expression von NrCAM detektiert werden. Dieses wurde hier als Zielgen des für den alveolären Subtyp spezifischen PAX3-FKHR-Transkriptionsfaktors untersucht (Laé et al., 2007).

Eine deutliche Überexpression fand man auch in etwa 54% der kleinzelligen Bronchialkarzinome, durch welche sie sich von den nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen unterscheiden. NrCAM wird daher bereits als immunhistochemischer Marker in der Differentialdiagnostik diskutiert (Taniwaki et al., 2006).



## 1.3 Kolonkarzinom

### 1.3.1 Das Kolon

Das Kolon ist Teil des Magen-Darm-Traktes und gliedert sich in die Abschnitte Appendix, Caecum, Colon ascendens, Colon transversum, Colon descendens und Colon sigmoideum. Seine Aufgaben bestehen in der Resorption von Wasser und Salzen, Sekretion von Schleim sowie Verwertung schwerverdaulicher Nahrungsbestandteile mit Hilfe der Darmflora (BDI, 2015).

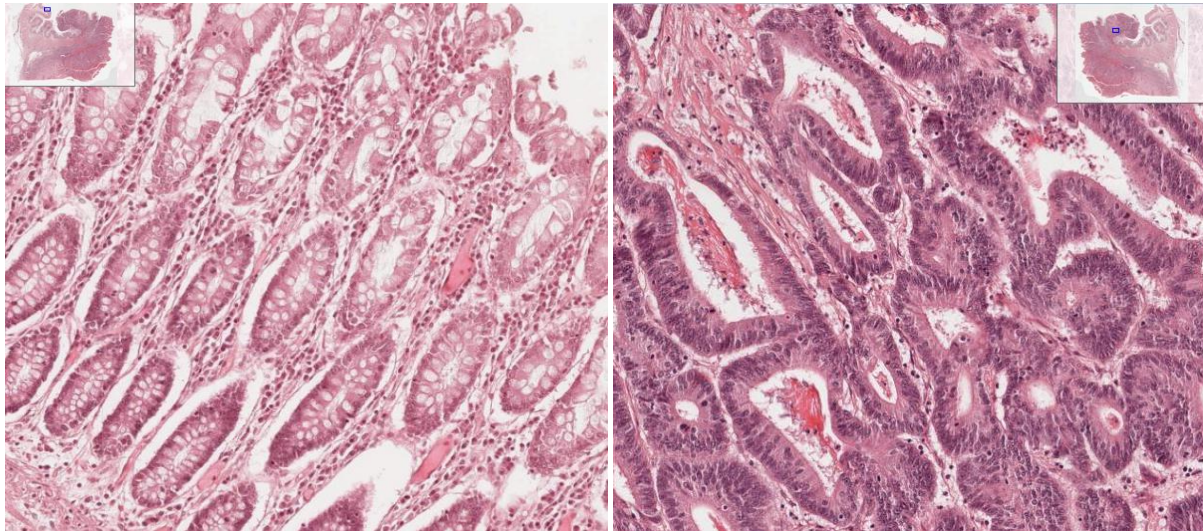


Abbildung 6: Lichtmikroskopisches Bild gesunder Kolonschleimhaut (links) und eines Kolon-Adenokarzinoms (rechts) (Institute of Pathology Heidelberg, 2014).

Histologisch findet sich im Kolon der für den Verdauungstrakt typische Wandaufbau aus den vier Schichten Mukosa, Submukosa, Muskularis und Serosa/Adventitia. Die Mukosa wiederum besteht aus Epithel, Lamina propria und Muscularis mucosae. Makroskopisch bilden Mukosa und Submukosa die unbeständigen Plicae semilunares. Das Epithel präsentiert sich als einschichtiges Zylinderepithel mit vielen Schleim-bildenden Becherzellen, Colonozyten mit kurzen Mikrovilli zur Resorption oder Sekretion von Kochsalz und Wasser, Serotonin-sezernierenden EC-Zellen, wenigen Paneth-Zellen (Sekretion von antimikrobiell wirksamen Substanzen) und Stammzellen. Es erfüllt zudem die Funktion einer Diffusionsbarriere. Typisch für das Kolon sind das Vorliegen von tiefen und dicht stehenden Krypten und das Fehlen von Zotten. Die Lamina propria enthält neben Bindegewebe Blutgefäße, Nerven, Lymphkapillaren und Zellen des Immunsystems. Die Muscularis mucosae ermöglicht der Mukosa eine eigene Motilität. Die Submukosa enthält größere Blut- und Lymphgefäße sowie den Plexus submucosus. Die Muskularis setzt sich aus einer Ring- und einer Längsmuskelschicht zusammen. Sie ist für Durchmischung und Peristaltik verantwortlich und enthält den Plexus myentericus. Durch die nicht vollständig zirkulär ausgebildete Längsmuskelschicht entstehen die drei makroskopisch sichtbaren Taenien - Taenia libera, mesocolica und omentalis. Intraperitoneal ist das Kolon schließlich von Serosa umgeben, extraperitoneal durch die bindegewebige Adventitia (Lüllmann-Rauch, 2006). Die

Abbildung 6 zeigt ein Beispiel für gesundes Kolongewebe und im Kontrast dazu Gewebe eines Adenokarzinoms.

### 1.3.2 Definition, Epidemiologie und Ätiologie des Kolonkarzinoms

---

Das Kolonkarzinom ist definiert als maligner, die Submukosa infiltrierender Tumor aboral der Ileozäkalklappe liegend (Hamilton et al., 2000). Die Abgrenzung zwischen Rektum- und Kolonkarzinom wird unterschiedlich definiert, eine anatomische scharfe Abgrenzung existiert nicht. Die UICC definiert die Grenze – ausgemessen mit dem starren Rektoskop - bei 16cm oral der Anokutanlinie (Bittinger, 2014; DGHO, 2012; Wittekind & Meyer, 2010). Intraoperativ wird die Grenze anhand des Endes der Taeniae oder der peritonealen Umschlagfalte individuell beurteilt (AWMF, 2014b). Es erfolgt eine Einteilung zwischen sporadischem, familiärem und hereditärem Kolonkarzinom, auf die später näher eingegangen wird.

In Deutschland ist jede siebte Krebserkrankung im Darm lokalisiert, wovon etwa zwei Drittel im Dickdarm auftreten. Das mittlere Erkrankungsalter liegt aktuell bei 71 Jahren für Frauen und 75 Jahren für Männer. Das Lebenszeitrisiko, für die normale Bevölkerung an Darmkrebs zu erkranken, liegt bei 6-7%, daran zu sterben, bei 2-3% (RKI & GEKID, 2013). In den vereinigten Staaten haben die Kolon- und Rektumkarzinome zusammen die dritthäufigste Inzidenz und sind die dritthäufigste Todesursache unter den Karzinomerkrankungen beider Geschlechter. Weltweit sind die kolorektalen Karzinome mit mehr als 1,2 Millionen neuen Fällen pro Jahr die dritthäufigste Karzinomerkrankung (Jemal et al., 2011; Siegel et al., 2014).

Risikofaktoren für das Kolonkarzinom sind vielfältig. Genetische Aspekte spielen eine große Rolle, wie eine positive Familienanamnese (AWMF, 2014a; Bonelli et al., 1988; Boutron et al., 1995) und hereditäre Syndrome (DGHO, 2012; Lynch et al., 2009). Ebenfalls ein erhöhtes Risiko weisen u.a. Patienten mit Adenomen (AWMF, 2014a; Citarda et al., 2001) oder chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen auf. Aber auch Faktoren wie steigendes Alter, Tabakkonsum, Adipositas, erhöhter Alkoholkonsum, Bewegungsmangel, Ruhr, intestinale Schistosomiasis, Lymphogranuloma inguinale sowie ballaststoffarme Ernährung und erhöhter Verzehr von rotem Fleisch erhöhen das Karzinomrisiko signifikant (AWMF, 2014b; DGHO, 2012; Müller, 2013; RKI & GEKID, 2013).

### 1.3.3 Klassifikation nach UICC & Stadiengruppierung, Lokalisation und Metastasierung

---

60% der kolorektalen Karzinome liegen im Rektum, welches in dieser Arbeit nicht mit einbezogen wird. 15-20% finden sich im Colon sigmoideum, 10% in Caecum und Colon ascendens, der Rest verteilt sich auf die restlichen Dickdarmanteile. Es kann jedoch eine Zunahme der Häufigkeit von Ascendens-Tumoren beobachtet werden, bei denen es sich häufig um HNPCC handelt.

TNM-Klassifikation nach UICC		Spezifikation
T0		Kein Anhalt für Primärtumor
Tis		Carcinoma in situ: intraepithelial oder Infiltration der Lamina propria
T1		Tumor infiltriert Submukosa
T2		Tumor infiltriert Muscularis propria
T3		Tumor infiltriert durch die Muscularis propria die Subserosa oder nicht peritonealisiertes perikolisches oder perirektales Gewebe
T4		Tumor infiltriert direkt andere Organe oder Strukturen und/oder perforiert das viszerale Peritoneum
	T4a	Tumor perforiert das viszerale Peritoneum
	T4b	Tumor infiltriert direkt andere Organe oder Strukturen
N0		Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1		Metastasen in 1-3 regionären Lymphknoten
	N1a	Metastasen in einem regionären Lymphknoten
	N1b	Metastasen in 2-3 regionären Lymphknoten
	N1c	Satellitenherde in der Subserosa ohne regionären Lymphknotenbefall
N2		Metastasen in 4 oder mehr regionären Lymphknoten
	N2a	Metastasen in 4-6 regionären Lymphknoten
	N2b	Metastasen in 7 oder mehr regionären Lymphknoten
M0		Keine Fernmetastasen
M1		Fernmetastasen
	M1a	Fernmetastasen in einem Organ
	M1b	Fernmetastasen in mehr als einem Organ oder im Peritoneum

Tabelle 1: TNM-Klassifikation nach UICC (Siegmund & Jäger, 2010; Wittekind & Meyer, 2010).

Stadieneinteilung nach UICC	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1, T2		
Stadium IIA	T3		
Stadium IIB	T4a		
Stadium IIC	T4b		
Stadium IIIA	T1, T2	N1	
	T1	N2a	
Stadium IIIB	T3, T4	N1	
	T2, T3	N2a	
	T1, T2	N2b	
Stadium IIIC	T4a	N2a	
	T3, T4a	N2b	
	T4b	N1-2	
Stadium IVA	Jedes T	Jedes N	M1a
Stadium IVB	Jedes T	Jedes N	M1b

Tabelle 2: Stadieneinteilung nach UICC (Siegmund & Jäger, 2010; Wittekind & Meyer, 2010).

In der Diagnostik sollte zudem das häufig multizentrische Befallsmuster beachtet werden. (Hamilton et al., 2000; Müller, 2013; Onkologie2015, 2015; Thomas & Sobin, 1995).

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung liegen bereits in 25% Fernmetastasen vor. Am häufigsten sind hier Lebermetastasen mit 19%, gefolgt von Lungenmetastasen und Peritonealmetastasen mit je 9%. Seltener finden sich zu Prozentsätzen von <1-2% Metastasen in nichtregionären Lymphknoten sowie in der Haut, den Ovarien, den Knochen und anderen Lokalisationen (AWMF, 2014b). Die Primärtumoren wachsen in der Regel 5-6mal langsamer als die Metastasen. Mit Ausnahme der Tumoren im mittleren Colon transversum erfolgt zumeist eine unipolare Metastasierung (Müller, 2013).

#### 1.3.4 Histologie, Einteilung und Genetik des Kolonkarzinoms

---

Im Kolon werden zu 85% Adenokarzinome beobachtet (RKI & GEKID, 2013). Beispiele anderer Entitäten sind beispielsweise Siegelringkarzinome, Gallertkarzinome, undifferenzierte Karzinome, Adenoakanthome sowie Plattenepithelkarzinome (Müller, 2013). In dieser Arbeit wird der Fokus daher aufgrund der Häufigkeit auf das Adenokarzinom gelegt. Abbildung 6 (siehe Seite 13) zeigt rechts einen Ausschnitt aus dem Karzinomgewebe.

Es wird zwischen verschiedenen Typen des kolorektalen Karzinoms unterschieden. Der sporadische Typ nimmt ca. 75-90% aller Fälle ein. 10-30% entfallen auf Fälle mit familiärem Risiko und 3-4% auf den hereditären Typ (Bogaert & Prenen, 2014; Burt, 2000).

Bei den sporadischen Karzinomen kommt es überwiegend durch eine Anhäufung somatischer Mutationen zu einer schrittweisen Entstehung einer Dysplasie bis hin zu einem Karzinom, entsprechend der Adenom-Karzinom-Sequenz, auf die später genauer eingegangen wird.

Die familiären Kolonkarzinome hingegen beziehen alle Fälle ein, in denen es zu einer Häufung der Kolonkarzinome und somit der Risiken innerhalb der Familie kommt, ohne dass ein bisher bekanntes hereditäres Syndrom nachzuweisen ist. Es konnte gezeigt werden, dass Personen mit einer positiven Familienanamnese für kolorektale Karzinome und Adenome ein signifikant erhöhtes Risiko haben, selbst ein Karzinom zu entwickeln. Hierbei zählen zu den größten Risikofaktoren betroffene Verwandte, bei denen ein Adenom oder Karzinom jung diagnostiziert wurde, zwei oder mehr betroffene Verwandte sowie Verwandte, die an einem Kolonkarzinom erkrankt sind (Johns & Houlston, 2001).

Im Gegensatz zu den sporadischen kommt es bei den hereditären Karzinomen zu einer Keimbahnmutation, die somit an die nächste Generation weitervererbt wird. Zu den hereditären Kolonkarzinomen zählen u.a. das Lynch-Syndrom (auch HNPCC, Hereditäres Nicht-Polypoöses Kolonkarzinom) mit 2-3%, die FAP (Familiäre Adenomatöse Polyposis) mit <1% sowie die hamartomatösen Syndrome, zu denen u.a. das Peutz-Jeghers-Syndrom und die FJP (Familiäre Juvenile Polyposis, auch JPS) gehören, mit <0,1% (Burt, 2000; Kim & Kim,



2014).

Das Lynch-Syndrom (LS) wird autosomal-dominant vererbt und geht mit einem erhöhten Risiko für kolorektale Karzinome und Endometriumkarzinome sowie einem leicht erhöhten Risiko für weitere Karzinome einher, wie der Ovarien, des hepatobiliären und restlichen gastrointestinalen Traktes, des Gehirns, des Urogenitaltraktes und der Haut (Bogaert & Prenen, 2014; Marra & Boland, 1995). Das Lebenszeitrisko, ein kolorektales Karzinom zu entwickeln, beträgt zwischen 50-80% (Stoffel et al., 2009). Auslöser des Syndroms ist eine Keimzellmutation in einem der Gene des DNA-Reparatur-Systems, MLH1 (90%), MSH2 (40%), MSH6, PMS2 (Peltomäki, 2005). 2009 konnte außerdem eine Keimzellmutation des Gens TACSTD1 – auch EpCAM-Gen (epithelial cell adhesion molecule gene) genannt – in Zusammenhang mit dem Lynch-Syndrom gebracht werden (Kovacs et al., 2009). Erste Schätzungen ergeben eine Häufigkeit dieser Deletion von 6,3% an der Gesamtheit der Lynch-Syndrome (Niessen et al., 2009). Durch das gestörte Reparatursystem der DNA kommt es vermehrt zu Mutationen und einer stark beschleunigten Adenom-Karzinom-Sequenz (Holinski-Feder & Morak, 2010). Aufgrund der bei diesem Syndrom fehlenden Kolonpolypen als Vorläuferläsionen werden zunächst die Amsterdam-Kriterien sowie die Bethesda-Richtlinien angewandt, um das Risiko für ein LS zu bestimmen (Jasperson et al., 2010; Liu et al., 1996). Damit zwischen einem sporadischen Karzinom und einem LS unterschieden werden kann, werden verschiedene Biomarker angewendet, wie MSI, BRAFV600E Mutationen und DNA-Reparatur-System-Fehler (Pritchard & Grady, 2011).

Die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) wird ebenfalls autosomal-dominant vererbt und äußert sich durch die Ausbildung von hunderten bis tausenden Polypen im Kolon und Rektum. Das Lebenszeitrisko, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken, liegt bei 100% – zumeist um das 40. Lebensjahr gelegen bzw. 10-15 Jahre nach dem ersten Auftreten der Polypen (Gala & Chung, 2011). Die attenuierte FAP (AFAP) ist eine mildere Form mit Oligopolyposis, bei der das Lebenszeitrisko bei 69% liegt und sich sowohl die Polypen als auch das kolorektale Karzinom später entwickeln (Burt et al., 2004). Zusätzlich kann es bei beiden Formen zu Polypen und Karzinomen im oberen Gastrointestinaltrakt, kongenitaler Hypertrophie des retinalen Pigmentepithels, Desmoidtumoren, Schilddrüsenkarzinomen und Hepatoblastomen kommen (Björk et al., 2001; Bülow et al., 2004; Galiatsatos & Foulkes, 2006; Legolvan, 2012). Genetisch ist für diese Veränderungen eine Keimzellmutation im Tumorsuppressorgen APC (adenomatous polyposis coli) auf dem Chromosom 5q21 verantwortlich, welche über eine dauerhafte Aktivierung des Wnt-Signalwegs proliferationsfördernd wirkt. Zusätzlich wird durch einen verminderten Abbau von beta-Catenin die Wanderung der Zelle an die Oberfläche verhindert, wo sie abgeschilfert würde (Armaghany, 2012; Kinzler & Vogelstein, 1996; Polakis, 1997). Um die Diagnose stellen zu können, müssen mindestens 100 Polypen gefunden werden und anschließend eine entsprechende Mutation nachgewiesen werden (Gala & Chung, 2011; Jasperson et al., 2010). Häufig findet man eine positive Familienanamnese vor, in 25% handelt es sich jedoch um ‚de novo‘ Mutationen (Bisgaard, 1994; Bogaert & Prenen, 2014).

Zu den hamartomatösen Syndromen gehören das Peutz-Jeghers-Syndrom (PJS) und das Juvenile Polyposis Syndrom (JPS), welche beide autosomal-dominant vererbt werden und sich durch Hamartome vorwiegend im Gastrointestinaltrakt auszeichnen. Das Lebenszeitrisiko, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken, beträgt beim PJS 39%, beim JPS 10-38% (Gala & Chung, 2011; Giardiello et al., 2000; Howe et al., 1998). Ursächlich ist beim PJS eine Keimbahnmutation im LKB1 (STK11), einer Serin-Threonin-Kinase, die u.a. die Apoptose über den p53-Signalweg reguliert. Beim JPS liegen dagegen Mutationen in den Genen SMADH4, BMPR1A und ENG vor, die eine Rolle im TGF-beta/SMAD-Signalweg spielen (Gala & Chung, 2011; Hemminki et al., 1998; Howe et al., 1998).

Ebenfalls den hereditären Syndromen mit erhöhtem kolorektalem Karzinom-Risiko zugehörig sind die MUTYH-assoziierte Polyposis (MAP), das Gardner-Syndrom, das Cowden-Syndrom, das Turcot-Syndrom, die Polymerase Proofreading-assoziierte Polyposis (PPAP) (Palles et al., 2013) und erbliche gemischte Polyposis Syndrome (Hereditary mixed polyposis syndromes, HMPS). Aufgrund ihres seltenen Vorkommens wird hier auf eine detailliertere Darstellung verzichtet.

Der häufigste Ursprung eines Kolonkarzinoms sind Polypen, von denen v.a. klassische tubuläre, tubulovillöse und villöse Adenome, sessile serratierte Adenome (SSA), traditionell serratierte Adenome (TSA) sowie gemischte und hyperplastische Polypen eine große Rolle in der Karzinogenese spielen. Entscheidende Faktoren für ein erhöhtes malignes Potenzial der Adenome sind die Größe >2cm, ein villöses Wachstumsmuster, das multiple Vorkommen sowie das Alter des Patienten (Jørgensen et al., 1993; O'Brien et al., 1990).

Um die im Folgenden erklärten Karzinogenesewege besser nachvollziehen zu können, erfolgt zunächst eine kurze Erläuterung der chromosomalen, genetischen und epigenetischen Instabilitäten bzw. molekularen Gruppen der Karzinome, die hierbei eine Rolle spielen (reviewed by Kim & Kim, 2014).

Chromosomale Instabilität (CIN) bedeutet Zugewinne oder Verluste von ganzen Abschnitten eines Chromosoms, welche u.a. zu Aneuploidie, Amplifikationen sowie Verlust der Heterozygotie führen können. Betroffen sind etwa 85% der sporadischen kolorektalen Karzinome, wobei v.a. weiter aboral liegende Karzinome betroffen sind (Bogaert & Prenen, 2014; Kim & Kim, 2014; Lengauer et al., 1997; Pino & Chung, 2010). Nach Walther et al. sind Karzinome, die mit einer CIN einhergehen, unabhängig von Stadium und Therapie mit einer schlechteren Prognose verbunden (Legolvan et al., 2012; Walther et al., 2008).

Nur ca. 6% aller Nukleotide eines Menschen kodieren für Proteine, von den restlichen Nukleotiden sind weitere 10-20% Mikrosatelliten (Holinski-Feder & Morak, 2010). Diese bestehen aus kleinen repetitiven Sequenzen von 1-6 Basen, u.a. in für Apoptosis und Zellwachstum kodierenden Regionen (Bogaert & Prenen, 2014; Kim & Kim, 2014; Umar, 2004). Da die DNA-Polymerasen an Mikrosatelliten schlechter binden können, kommt es hier häufiger zu Fehlern in einzelnen Basenpaaren. In Kombination mit Fehlern im

Reparatursystem der Zellen ergeben sich ideale Voraussetzungen für die Karzinogenese (Fearon, 2011; Kim & Kim, 2014; Umar et al., 2004). Entscheidende Gene des Reparatursystems sind hier MLH1, MSH2, MSH6 und PMS2 (Holinski-Feder & Morak, 2010). Die sogenannten Mikrosatelliteninstabilitäten (MSI) kommen bei ca. 15-20% der sporadischen kolorektalen Karzinome vor (Lengauer et al., 1997; Rajagopalan, 2003). Sie sind mit einer etwas besseren Prognose verbunden und finden sich meist in weiter oral gelegenen Karzinomen (Armaghany et al., 2012; Coppedè et al., 2014). Man unterscheidet zwischen hochgradiger MSI (MSI-H), geringgradiger MSI (MSI-L) und unauffälligen Mikrosatelliten (MSS) (Holinski-Feder & Morak, 2010).

Laut Holinski-Feder et al. ist anzunehmen, dass das gleichzeitige Vorliegen einer CIN und einer MSI für die Zelle letal ist (Holinski-Feder & Morak, 2010).

Beim CpG island methylator phenotype (CIMP) handelt es sich um eine Form der epigenetischen Instabilität, welche zum ersten Mal von Toyota et al. 1999 beschrieben wurde (Legolvan et al., 2012; Toyota et al., 1999). Epigenetik bezeichnet die Mechanismen, welche die Aktivität von Genen beeinflussen können, ohne die eigentliche DNA-Sequenz zu verändern (Coppedè, 2014). Der hierbei am besten erforschte Mechanismus ist die 5'-Cytosin-Methylierung im CpG-Dinukleotid, welches sich stark gehäuft in Promotorregionen findet, deren Genprodukte den Zellmetabolismus sowie die Zellstruktur beeinflussen (Bettington et al., 2013; Coppedè, 2014; Daniel et al., 2011; Esteller, 2005, 2007; Gardiner-Garden & Frommer, 1987; Lao & Grady, 2011). Da viele Tumorsuppressorgen-Promotoren (z.B. der Gene p16 und MLH1) diese CpG-Inseln aufweisen, werden sie durch die Hypermethylierung inaktiviert, wodurch eine Karzinogenese induziert werden kann (Armaghany et al., 2012; Bettington et al., 2013; Cunningham et al., 1998; Esteller, 2007; Kane et al., 1997; Tannapfel et al., 2010; Toyota et al., 1999). Nach aktueller Studienlage wird davon ausgegangen, dass CIMP-positive kolorektale Karzinome vor allem über den – unten näher beschriebenen – alternativen serratierten Karzinogeneseweg entstehen und mit MSI sowie BRAF- und KRAS-Mutationen assoziiert sind. Weiterhin treten sie häufig erst in höherem Alter, bevorzugt bei Frauen und in weiter oral gelegener Lokalisation auf (Ang et al., 2010; Bardhan & Liu, 2013; East et al., 2008; Grady et al., 2008; Legolvan et al., 2012; Ward et al., 2003; Weisenberger et al., 2006).

Es lassen sich aktuell drei verschiedene Karzinogenesewege unterscheiden, die sich wiederum nach Jass et al. molekularpathologisch in fünf Subtypen unterteilen lassen, abhängig von der Art und Ausprägung ihrer genetischen Instabilität (Abbildung 8):

Die Adenom-Karzinom-Sequenz (Typ 4 und 5), der alternative serratierte Karzinogeneseweg (Typ 1 und 2) und der Mischtyp (Typ 3) (Jass, 2007; Messmann, 2011).

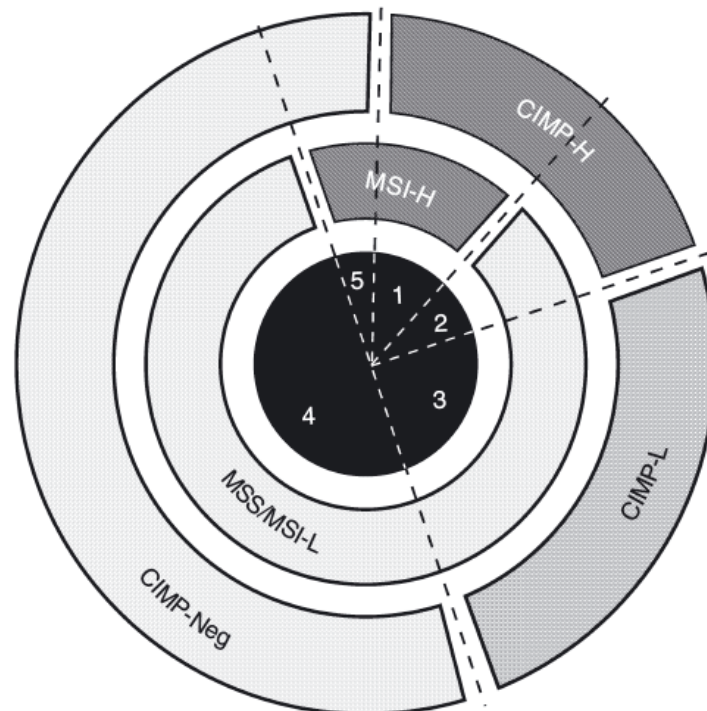


Abbildung 7: Ableitung molekularer Gruppen 1-5 des kolorektalen Karzinoms basierend auf dem CpG island methylator phenotype-(CIMP)-Status (H, high/hoch; L, low/niedrig; Neg, negative/negativ) und dem Mikrosatelliteninstabilitäts-(MSI)-Status (H, high/hoch; L, low/niedrig; MSS, Mikrosatelliten stabil) (Jass, 2007).

Die Adenom-Karzinom-Sequenz ist der am längsten bekannte Karzinogeneseweg. Durch mehrere aufeinanderfolgende Mutationen kommt es entsprechend einer Multistep-Karzinogenese über den Zwischenschritt eines Adenoms zum Karzinom (Fearon & Vogelstein, 1990; Foulds, 1958; Laurent-Puig et al., 1999; Messmann, 2011). Fearon et al. fanden heraus, dass die Mutationen im Verlauf der Adenom-Karzinom-Sequenz Onkogene aktivieren und Tumorsuppressorgene inaktivieren. Weiterhin stellten sie fest, dass 4-5 Mutationen nötig sind, um einen malignen Tumor entstehen zu lassen. Ihre molekulargenetischen Untersuchungen konnten eine Mutation im Tumorsuppressorgen APC feststellen, welche die Schlüsselmutation für den Beginn der Sequenz darstellt. Im Verlauf kommt es zu Mutationen von KRAS, DCC/SMAD4, PI3KCA, TP53 sowie zu einer chromosomalen Instabilität, weshalb die Adenom-Karzinom-Sequenz heute auch CIN-pathway (chromosomal-instability-pathway) genannt wird (Abbildung 7) (Fearon & Vogelstein, 1990).

Das Durchlaufen der Adenom-Karzinom-Sequenz dauert mindestens 10 Jahre. Etwa 60% der sporadischen kolorektalen Karzinome folgen diesem Weg. Typ 4 (CIMP-negative/MSS; 57%) betrifft etwa 57% aller kolorektalen Karzinome, ist mikrosatellitenstabil (MSS) und CIMP-negativ und bildet als Vorläuferläsion zumeist tubulovillöse Adenome aus (Jass, 2007; Jass et al., 2006). Typ 5 (HNPCC/CIMP-negative/MSI-H; 3%) ist der Karzinogeneseweg des Lynch-Syndroms und betrifft etwa 3% aller kolorektalen Karzinome. Auf die bereits bestehende Keimzellmutation folgt später ein Ausfall der zweiten Genkopie, woraufhin es zu einem Fehler im DNA-Reparatur-System kommt. Betroffene Gene sind hier u.a. IGF2R, BAX und

TGF-beta-RII. Folge der gestörten Reparatur der DNA ist eine stark beschleunigt ablaufende Adenom-Karzinom-Sequenz. Vorläuferläsionen sind hier zunächst konventionelle Adenome, die erst später eine MSI-H entwickeln (Holinski-Feder & Morak, 2010; Jass, 2007).

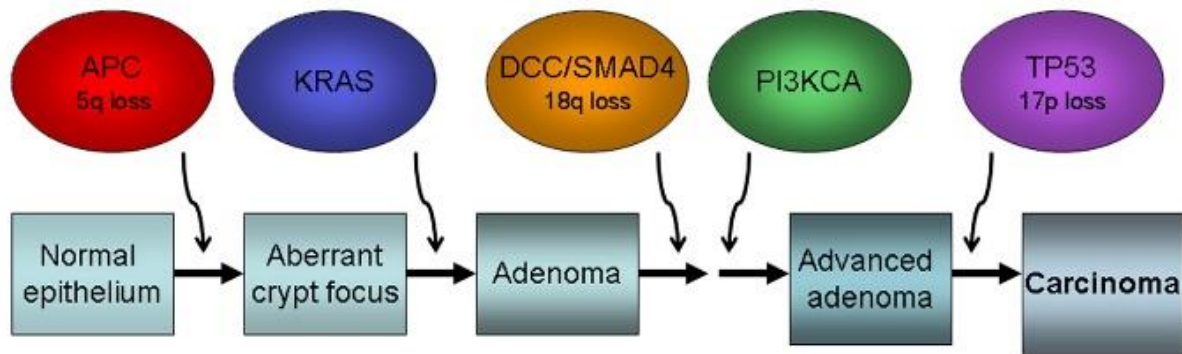


Abbildung 8: Klassische Adenom-Karzinom-Sequenz des CIN-pathways (Fearon & Vogelstein, 1990; Legolvan et al., 2012).

Weitere 20% der Karzinome entstehen über den alternativen serratierten Karzinogeneseweg, der durch das Vorliegen von CIMP und einer Aktivierung des MAPK-Signalwegs definiert wird (siehe Abbildung 9). Die dauerhafte Aktivierung des MAPK-Signalwegs durch aktivierende Mutationen v.a. von BRAF und KRAS führt zu einer erhöhten Zellteilung sowie einer erniedrigten Apoptoserate der Zelle und spielt daher eine wichtige Rolle in der Karzinogenese (Bettington et al., 2013; Jass, 2007; Mäkinen, 2007; Rajagopalan et al., 2002). Der molekularpathologische Subtyp Typ 1 (CIMP-high/MSI-H/BRAF; 12%) nach Jass et al. betrifft etwa 12% aller kolorektalen Karzinome und hat sowohl einen CIMP-high- als auch einen MSI-H-Status. Hinzu kommt eine BRAF-Mutation, die zu einer Methylierung des MLH1-Promotors führt, welche wiederum zu einem DNA-Reparatursystem-Fehler führt (Holinski-Feder & Morak, 2010; Jass, 2007). Als Vorläuferläsionen gelten hier hauptsächlich die sessil serratierten Adenome (SSA). Die so entstandenen Tumoren treten bevorzugt in weiter oral gelegener Lokalisation bei älteren Frauen mit positiver Familienanamnese auf (Bettington et al., 2013; Holinski-Feder & Morak, 2010; Samowitz et al., 2005; Torlakovic & Snover, 2006). Häufig liegt bei Erstdiagnose ein bereits fortgeschrittenes Tumorstadium vor, jedoch ohne Lymphknoten- oder Fernmetastasen (Bettington et al., 2013). Beim Typ 2 (CIMP-high/MSI-L oder MSS/BRAF-positiv; 8%) führt die BRAF-Mutation zu einer Methylierung von MGMT (Methylguanin-DNA-Methyltransferase), was nur eine geringe oder keine MSI zur Folge hat. Vorläuferläsionen sind sessil serratierte Adenome, die jedoch auch anteilig traditionell serratierte Adenome sein können. Insgesamt bildet der Typ 2 eine Mischform zwischen Typ 1 und Typ 3. Im Gegensatz zu Typ 1 ist hier die Prognose jedoch schlecht durch ein frühes infiltratives Wachstum des Tumors (Bettington et al., 2013; Holinski-Feder & Morak, 2010; Jass, 2007; Pai et al., 2012; Popovici et al., 2012; Samowitz et al., 2005). Bevorzugte Lokalisation ist das rechte Kolon (Bettington et al., 2013; Jass, 2007).

Die letzten 20% der kolorektalen Karzinome folgen einem Mischtyp aus den oben genannten Karzinogenesewegen. Der molekularpathologische Subtyp ist hier Typ 3 (CIMP-low/MSS oder MSI-L/KRAS) nach Jass et al. Es liegt primär eine KRAS-Mutation vor, die - wie die BRAF-Mutation - zu Methylierungen in der gleichen Signalkaskade führt. Allerdings sind hier primär Gene wie p16, MINT1, MINT2, MINT3 1, MGMT betroffen, welche nur zu einer MSI-L oder keiner Mikrosatelliteninstabilität (MSS) führen. Neben diesen Veränderungen kommt es zusätzlich zu Mutationen der Tumorsuppressorgene APC und TP53. Als Vorläuferläsionen zeigen sich sowohl konventionelle als auch serratierte Adenome ohne bevorzugte Lokalisation (Holinski-Feder & Morak, 2010; Jass, 2007; Messmann, 2011).

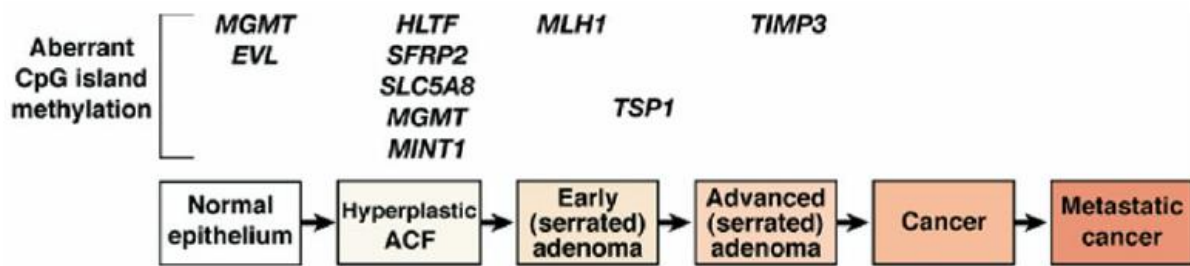


Abbildung 9: Konzeptuelle Entwicklung von kolorektalen Tumoren mit CIMP (Grady, 2008).

### 1.3.5 Klinik des Kolonkarzinoms

Die fortgeschrittenen Stadien bei Erstdiagnose lassen sich auf fehlende bzw. unspezifische Frühsymptome zurückführen. Mögliche lokale Symptome sind Blut und Schleim im Stuhl, Änderungen der Stuhlgewohnheiten, leichte Bauchschmerzen, Krämpfe sowie akut auftretende Komplikationen wie z.B. ein Ileus oder eine Perforation (Müller, 2013). Allgemein kann es zur B-Symptomatik mit ungewolltem Gewichtsverlust, Leistungsknick, Symptomen der Anämie sowie paraneoplastischen Syndromen kommen. Lebermetastasen können sich durch Ikterus und Leberinsuffizienz bemerkbar machen, Husten und Dyspnoe wären charakteristisch für eine pleurale oder pulmonale Metastasierung. Selten treten auch neurologische Symptome bei zerebraler Metastasierung sowie Knochenschmerzen bei Skelettmetastasen auf (DGHO, 2012).

### 1.3.6 Diagnostik und Therapie des Kolonkarzinoms

Das Staging des Kolonkarzinoms besteht aus einer digitalen rektalen Untersuchung, einer kompletten Koloskopie mit Biopsie, der Bestimmung des CEA, einer Abdomen-Sonographie sowie einem Röntgen-Thorax. Bei stenosierenden Tumoren, ausgeprägten Adhäsionen oder sonographisch nicht ausreichender Beurteilbarkeit erfolgt idealerweise zunächst eine CT- oder MR-Kolonographie, die dann postoperativ durch eine komplette Koloskopie vervollständigt werden sollte (AWMF, 2014a; Neri et al., 2002). Auch bei Verdacht auf Fernmetastasen oder Infiltration benachbarter Organe ist ein CT des Abdomens bzw. des

Thorax indiziert. Das CT/MRT hat im Vergleich zur Sonographie eine höhere Sensitivität und ermöglicht so am besten die Beurteilung der Ausdehnung der Tumoren, wohingegen die Aussage über den Lymphknotenstatus mit bildgebenden Verfahren unsicher ist (AWMF, 2014a; Bipat et al., 2004; Puli et al., 2009). Da das Kolonkarzinom in 2-3% multipel auftritt, ist eine komplette Koloskopie entscheidend (Müller, 2013).

Im Folgenden sollen die Grundzüge und wichtigsten Aspekte der Kolonkarzinomchirurgie nach den Empfehlungen der S3-Leitlinie (AWMF, 2014b) dargestellt werden. Die Therapie des Kolonkarzinoms erfolgt primär radikalchirurgisch und der Anspruch ist in den Stadien I-III kurativ.

Nach aktueller Studienlage kann bei entsprechender Expertise des Operateurs und geeigneter Selektion sowohl ein laparoskopisches als auch, mit gleichem onkologischem Outcome, ein offenes chirurgisches Vorgehen gewählt werden (AWMF, 2014b; Guillou et al., 2005; Jayne et al., 2010; Kuhry et al., 2008; Liang et al., 2008; Schwenk et al., 2008). Laut Ohtani et al. sind die Vorteile des laparoskopischen Eingriffs ein reduzierter intraoperativer Blutverlust, eine schneller mögliche orale Nahrungsaufnahme sowie eine kürzere Krankenhausaufenthaltsdauer. Auf lange Sicht schienen auch hier keine Unterschiede im Outcome zu bestehen (Ohtani et al., 2011). Ein Nachteil des laparoskopischen Verfahrens ist jedoch der deutlich schlechte Einfluss auf das Gesamtüberleben für den Fall, dass intraoperativ auf ein offenes Verfahren gewechselt werden muss (Messmann, 2011).

Intraoperativ ist zum Staging eine Palpation der Leber - oder beim laparoskopischen Vorgehen und unklaren hepatischen Herdbefunden der intraoperative Ultraschall - und die komplette mesokolische Resektion obligat. Zudem sollte bei Verdacht auf Fernmetastasen eine intraoperative Schnellschnittuntersuchung erfolgen, wenn präoperativ bildgebungstechnisch keine klare Aussage getroffen werden konnte. Bei fraglicher Infiltration benachbarter Organe wäre die histologische Sicherung jedoch kontraindiziert, da die Gefahr der Tumorzelldissemination bestünde.

Die operativen Resektionsgrenzen richten sich nach der lymphatischen Metastasierung. Zunächst werden die parakolischen Lymphknoten in einer max. 10cm messenden Distanz vom Tumor befallen, danach erfolgt die Ausbreitung entlang der versorgenden Arterien bis zu den Lymphknoten der Gefäßstämme (AWMF, 2014b; Tan et al., 2010; Toyota et al., 1995). Entsprechend werden je nach betroffenem Darmabschnitt die entsprechenden versorgenden Gefäße inklusive möglichst vieler anliegender Lymphknoten mit reseziert. Im Einzelnen bedeutet dies folgendes Vorgehen für die einzelnen Tumorlokalisationen, wenn keine erschwerenden Komplikationen vorliegen: Bei einem Karzinom des Caecums und des Colon ascendens erfolgt eine Hemikolektomie rechts mit anschließender terminoterminaler Ileotransversostomie (Messmann, 2011) mit Entfernung der Arteria ileocolica sowie der Arteria colica dextra, bzw. – im Falle eines Fehlens – der entsprechenden die rechte Seite versorgenden Äste der Arteria colica media. Bei Karzinomen der rechten Flexur und des rechten Colon transversum wird eine erweiterte Hemikolektomie rechts mit anschließender

terminoterminaler Ileotransversostomie durchgeführt, bei der die Arteria ileocolica, die Arteria colica dextra und die Arteria colica media entfernt werden (Messmann, 2011). Zudem werden rechtsseitige Omentumanteile bis zum Pankreas und bis zur großen Magenkurvatur inklusive der Gastroepiploica-Arkade reseziert. Bei Karzinomen des mittleren Colon transversum muss eine komplette Transversumresektion einschließlich beider Flexuren sowie der Arteriae colicae media und sinistra erfolgen. Dann wird die Kontinuität durch eine terminoterminaler Aszendodeszendostomie wieder hergestellt (Messmann, 2011). Bei Karzinomen des distalen Colon transversum und der linken Colonflexur ist das Verfahren der Wahl eine erweiterte Hemikolektomie links mit anschließender Transversorektostomie (Messmann, 2011), bei der die Arteriae colica media und mesenterica inferior abgesetzt werden. Auch hier müssen bis zum Pankreas und bis zur großen Magenkurvatur Lymphknoten einschließlich des angrenzenden Omentumanteils und der Arkade entfernt werden. Bei Karzinomen des Colon descendens und des Colon sigmoideum kommt es zur Hemikolektomie links mit anschließender terminoterminaler Transversorektostomie bzw. Deszendorektostomie (Messmann, 2011) unter Ligatur der Arteria mesenterica inferior und evtl. direkt anliegender Omentumanteile. Da das distale Ende bereits im Rektumbereich liegt, muss mindestens ein Sicherheitsabstand von 5 cm zum Tumor gewählt werden. Die bei allen Kolonkarzinomlokalisationen durchgeführte komplette mesokolische Exzision erhöht dabei laut aktueller Studienlage die Überlebensraten signifikant (AWMF, 2014b; Hohenberger et al., 2009).

Im Falle der Metastasierung wird die Resektion resektabler Lungenmetastasen und R0-resektabler Lebermetastasen empfohlen. Bei der chirurgischen Resektion von multiplen synchronen Lebermetastasen sollte laut Leitlinie ein zweizeitiges und multimodales Vorgehen vorgezogen werden (AWMF, 2014b). Alternativen zur chirurgischen Resektion von Lebermetastasen sind die Radiofrequenzablation (RFA), die Selective Internal Radiation Therapy (SIRT) sowie die laserinduzierte interstitielle Thermotherapie (LITT). Für SIRT sowie LITT liegen noch keine endgültigen Ergebnisse hinsichtlich Überleben und Lebensqualität vor, weshalb hier eine Therapie nur innerhalb klinischer Studien empfohlen wird (AWMF, 2014b; Christophi et al., 2004; National Institute for Health and Clinical Excellence, 2011; Townsend et al., 2009; Wietzke-Braun et al., 2004). Für die RFA konnten Vorteile bei nicht resektablen Lebermetastasen und bei fraglichem oder sicher inoperablem Allgemeinzustand des Patienten nachgewiesen werden (AWMF, 2014b; Kim et al., 2011; Mulier et al., 2009; National Institute for Health and Clinical Excellence, 2009).

Von diesem Vorgehen ausgenommen sind histologisch gesicherte pT1-Karzinome in endoskopisch R0-resezierten Polypen, bei denen in einer Niedrigrisikosituation auf eine onkologische Nachresektion verzichtet werden kann. Die Kriterien für ein niedriges Risiko sind ein Resektionsrand R0, ein Differenzierungsgrad G1 oder G2 und ein Lymphgefäßinvasionsstatus L0 (AWMF, 2014b; Frühmorgen et al. 2003; Hermanek, 1983; Kikuchi et al., 1995; Messmann, 2011; Okuyama et al., 2002).



Im Falle einer Peritonealkarzinose, einer multiviszeralen Resektion, eines Mehrfachkarzinoms, einer Notfalloperation, eines asymptomatischen Primärtumors bei ausgeprägter Lebermetastasierung sowie eines Karzinoms auf Boden eines HNPCC, einer FAP oder einer Colitis ulcerosa gelten spezielle Regeln, für welche an dieser Stelle auf die S3-Leitlinie (AWMF, 2014b) verwiesen werden soll.

Postoperativ wird eine pathohistologische Diagnostik durchgeführt. Es erfolgt eine Einteilung des Tumortypen nach WHO-Klassifikation. Außerdem werden die Tumorinvasionstiefe nach der pT-Klassifikation, der Status der regionären Lymphknoten nach der pN-Klassifikation, die Anzahl der untersuchten Lymphknoten, das Grading, der Abstand von den Resektionsrändern sowie die R-Klassifikation erhoben. Die Mindestanzahl der zu resektierenden Lymphknoten sollte mindestens 12 betragen, da sich mit zunehmender Anzahl die Prognose der UICC-Stadien II und III verbessert (AWMF, 2014a; Hermanek, 2000; Le Voyer et al., 2003).

Bei Patienten mit einem kurativ operierten Karzinom Stadium II ist die adjuvante Chemotherapie fakultativ, in Risikosituationen wie einem T4-Tumor sollte sie jedoch in Betracht gezogen werden. In diesem Fall würden Fluoropyrimidine als Monotherapie eingesetzt werden. Bei Patienten mit einem R0 resektierten Kolonkarzinom im Stadium III dagegen ist die adjuvante Chemotherapie indiziert. Erste Wahl stellt Oxaliplatin dar, bei Kontraindikationen kann auf eine Monotherapie mit Fluoropyrimidinen ausgewichen werden (AWMF, 2014b).

Nach Abschluss der Primärtherapie bzw. bereits prätherapeutisch bei Karzinomen des Stadiums IV, metachronen Fernmetastasen oder Lokalrezidiven sollte jeder Patient in einer interdisziplinären Tumorkonferenz vorgestellt werden (AWMF, 2014b).

Zur zügigen Rehabilitation der Patienten hat sich postoperativ das Fast-Track-Konzept durchgesetzt, welches laut Jurowich et al. sowohl medizinische als auch ökonomische Vorteile mit sich bringt (Jurowich et al., 2011; Kehlet & Wilmore, 2008).

Schließlich sollten alle Patienten über die Möglichkeit einer psychoonkologischen Betreuung aufgeklärt werden (AWMF, 2014b).

### 1.3.7 Nachsorge und Prognose des Kolonkarzinoms

---

Nach R0-Resektion eines UICC Stadium I Tumors muss keine regelmäßige Nachsorge erfolgen. Bei R0-Resektionen der Tumorstadien II und III ist jedoch eine regelmäßige Nachsorge indiziert (AWMF, 2014a), welche grundsätzlich die symptomorientierte Anamnese und körperliche Untersuchung umfasst. Jeder Patient sollte zudem innerhalb von 6 Monaten postoperativ eine komplette Koloskopie erhalten, bei unauffälligem Befund anschließend alle 5 Jahre (AWMF, 2014a; Bouvier et al., 2008; Renehan et al., 2002; Rex et al., 2006; Wang et al., 2009). Hinzu kommen die Abnahme des CEA alle 6 Monate für den

Zeitraum von 2 Jahren (AWMF, 2014a; M J Duffy et al., 2003; Macdonald, 1999; Pietra et al., 1998) sowie die Abdomen-Sonographie zur Erkennung von Lebermetastasen (AWMF, 2014a; Berman et al., 2000; Jeffery et al., 2002; Mäkelä et al., 1995). Weitere Diagnostik ist routinemäßig ohne Hinweise auf ein Rezidiv nicht empfohlen. Allgemein sollten in der Planung der Nachsorge immer die begleitenden Faktoren berücksichtigt werden, wie Alter, OP-Fähigkeit, Begleiterkrankungen sowie Wünsche des Patienten (AWMF, 2014b).

Die relative 5-Jahres-Überlebensrate liegt zurzeit für Männer und Frauen in Deutschland bei 65%. Darmkrebs hat somit eine mittlere Prognose, hängt im Einzelnen jedoch stark vom Stadium bei Diagnose ab (RKI & GEKID, 2013). In frühen Stadien liegt die Rate noch bei etwa 90%, in späten Stadien mit Fernmetastasen fällt sie jedoch unter 10% (Kim & Kim, 2014; O’Connell et al., 2004). Die Rezidivraten betreffend wurde festgestellt, dass es im Stadium II bei 10-20% der Patienten zu einem Rezidiv kommt, während diese Rate auf 30-40% im Stadium III steigt (Kim & Kim, 2014; Marisa et al., 2013). Das Stadium zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ist dabei stark entscheidend für die Rezidivrate sowie folglich für die Wahrscheinlichkeit, an einem kolorektalen Karzinom zu sterben (Tsang et al., 2014). 2009-2010 lag die Häufigkeit des T-Stadiums 3 bei Erstdiagnose in Deutschland bei 52% für Frauen und 54% für Männer. Insgesamt liegt bei Erstdiagnose bei Männern/Frauen in 69%/72% bereits das Stadium T3 oder T4 vor (RKI & GEKID, 2013). Eine Übersicht über Prognose und Staging ist in Abbildung 10 zu sehen.

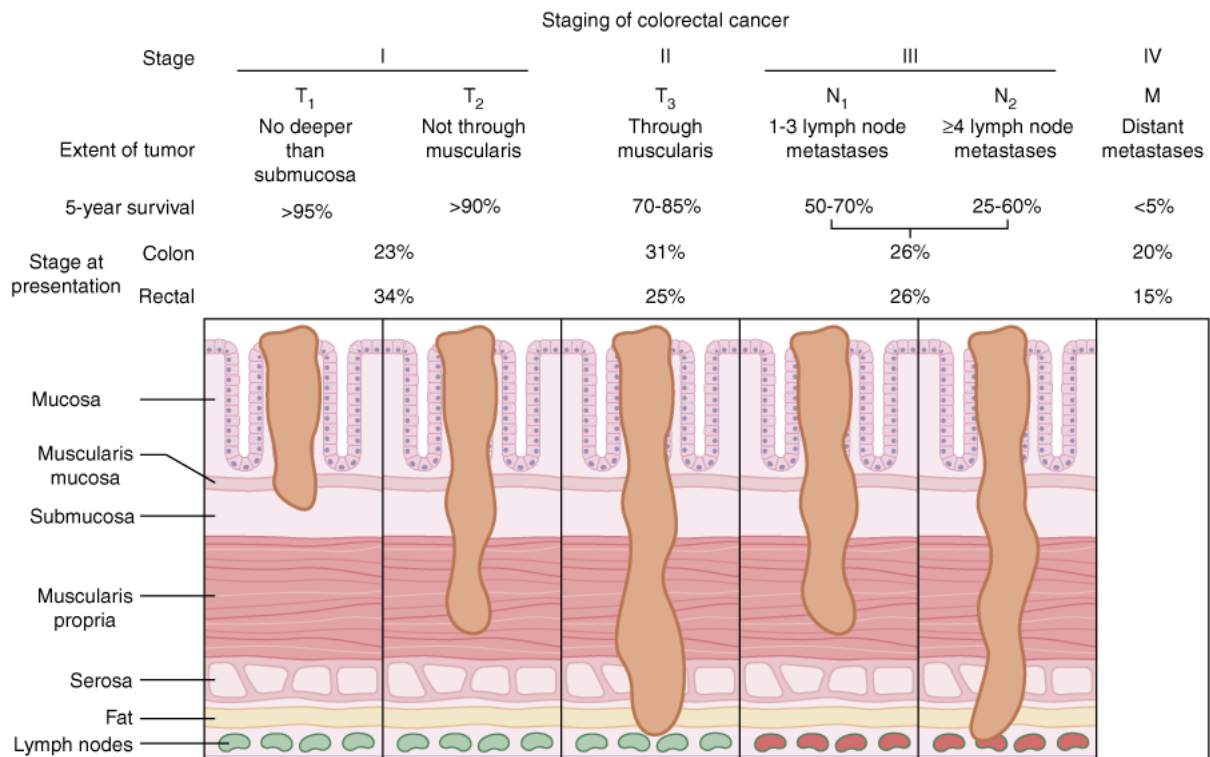


Abbildung 10: Staging und Prognose bei Patienten mit kolorektalem Karzinom (Longo et al., 2011).

### 1.3.8 Prävention, protektive Faktoren und Früherkennung des Kolonkarzinoms

---

Entsprechend der Risikofaktoren wird präventiv regelmäßige körperliche Aktivität, Gewichtsreduktion, Tabakverzicht, Reduktion des Alkohol- und roten Fleischkonsums sowie vermehrter Obst- und Gemüseverzehr empfohlen (AWMF, 2014a). Obwohl für die langfristige ASS-Einnahme eine Risikoreduktion, an einem Kolonkarzinom zu erkranken, nachgewiesen wurde (Algra et al., 2012; DGHO, 2012), gibt es keine Empfehlung zur Primärprävention in der asymptomatischen Bevölkerung (AWMF, 2014a; Chan et al., 2005; Flossmann & Rothwell, 2007; Rothwell et al., 2011; U.S. Preventive Services Task Force, 2007).

Ab dem 50. Lebensjahr wird die Früherkennung für die asymptomatische Bevölkerung empfohlen. Dies beinhaltet im Regelfall eine Koloskopie, die in einem 10-Jahres-Rhythmus wiederholt werden sollte, sowie die digitale rektale Untersuchung (AWMF, 2014a). Bei Risikopatienten gelten abhängig von der jeweiligen Risikokonstellation unterschiedliche Empfehlungen für Früherkennungsmaßnahmen, für welche an dieser Stelle auf die Krebsfrüherkennungsrichtlinien sowie die aktuelle Leitlinie des AWMF verwiesen wird (AWMF, 2014b; Gemeinsamer Bundesausschuss, 2009). Neben der Koloskopie stehen auch weitere diagnostische Möglichkeiten wie Sigmoidoskopie, FOBT (fecal occult blood test), genetische und andere Stuhltests, CT-Kolonographie sowie Kapselendoskopie zur Verfügung, für welche es jedoch keine Empfehlung zur standardmäßigen Anwendung gibt. Während die Koloskopie als Goldstandard gilt (AWMF, 2014b), wird die Sigmoidoskopie zusammen mit einem jährlichen FOBT für Patienten angeboten, die eine hohe Koloskopie ablehnen.

Zur Vorbeugung eines Kolonkarzinoms werden zudem in der Früherkennungskoloskopie kleinere Adenome direkt abgetragen. Diese Maßnahme senkt das Risiko, an einem metachronen kolorektalen Karzinom zu erkranken, um 90% im Vergleich zur Normalbevölkerung (Atkin et al., 1992; AWMF, 2014b; Citarida et al., 2001; S J Winawer et al., 1990; Winawer et al., 1993).

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Untersuchungsmaterial

#### 2.1.1 Kolon-Prognose-TMA

Der Kolon-TMA setzt sich zusammen aus zwei Paraffinblöcken, die 380 ausgestanzte Gewebeproben aus primären Kolonkarzinomen in Form von Gewebezylindern mit einem Durchmesser von 0,6mm enthalten. Um bei immunhistochemischen Untersuchungen die Qualität der Färbungen sicherstellen zu können, enthält der restliche Kolon-TMA einen Kontrollbereich. Dieser enthält 60 Gewebezylinder aus Tumoren anderer Organe, 20 aus gesundem Kolongewebe sowie 58 aus acht unterschiedlichen gesunden Normalgeweben.

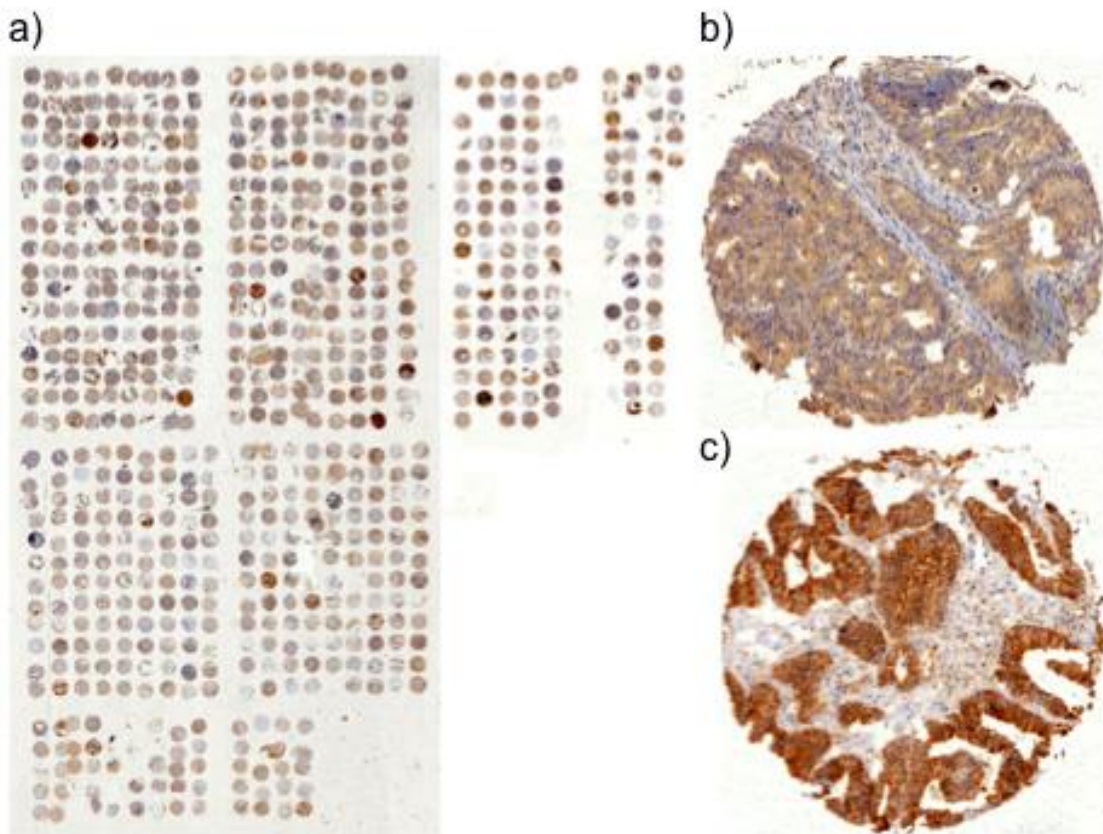


Abbildung 11: Kolonkarzinom-TMA. a) Übersicht über einen Kolonkarzinom-Array. Der Array besteht aus 8 Blöcken, in denen jeder Spot einen Durchmesser von 0,6mm hat. b) Ein einzelner vergrößerter NrCAM-negativer Gewebespot. c) Ein einzelner vergrößerter NrCAM-positiver Gewebespot.

Das Gewebematerial wurde in Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. Die Schnitte wurden nach standardisierten Kriterien von zwei Pathologen begutachtet und bezüglich des histologischen Typs und Differenzierungsgrades eingeteilt.

Das Material zur Erstellung des TMAs wurde 380 Patienten entnommen, die sich im Zeitraum von 1993 bis 2005 in der Klinik für Chirurgie des Universitätsspitals Basel einer Kolektomie unterzogen. Das mittlere Patientenalter zum Zeitpunkt der Resektion betrug 65 Jahre mit

einer Spannweite von 15 bis 95 Jahren. Nachuntersuchungen erfolgten im Mittel nach 43 Monaten mit einer Spannweite von 1 bis 180 Monaten. Aus den hierbei erhobenen Befunden generierte die Klinik für Chirurgie des Universitätsspitals Basel die hier verwendeten Überlebensdaten. Den Befunden des Institutes für Pathologie des Universitätsspitals Basel konnten zudem Angaben zum jeweiligen TNM-Stadium entsprechend der UICC- und WHO-Klassifikation entnommen werden.

Abbildung 11 und Tabelle 3 zeigen Übersichten eines gefärbten TMA-Schnitts bzw. der Zusammensetzung des Kolon-TMAs. In der Abbildung 12 werden die Auswirkungen des Tumorstadiums auf das tumorspezifische Überleben bzw. die Prognose des Kolonkarzinoms dargestellt.

			Anzahl (n)
<b>Kolonkarzinome</b>	Anzahl aller untersuchten Kolonkarzinome		380
	Histologie	Adenokarzinom	380
	Tumorstadium	pT1 pT2 pT3 pT4	18 79 239 44
	Nodalstatus	pN0 pN1 pN2 pN3	191 90 98 1
	Metastasenstatus	pM0 pM1	279 101
	Histologischer Differenzierungsgrad	G1 G2 G3 Keine Angabe	2 312 65 1
	Verfügbare Überlebensdaten		318
	<b>Kontrollen</b>		

Tabelle 3: Kolon-TMA-Zusammensetzung.

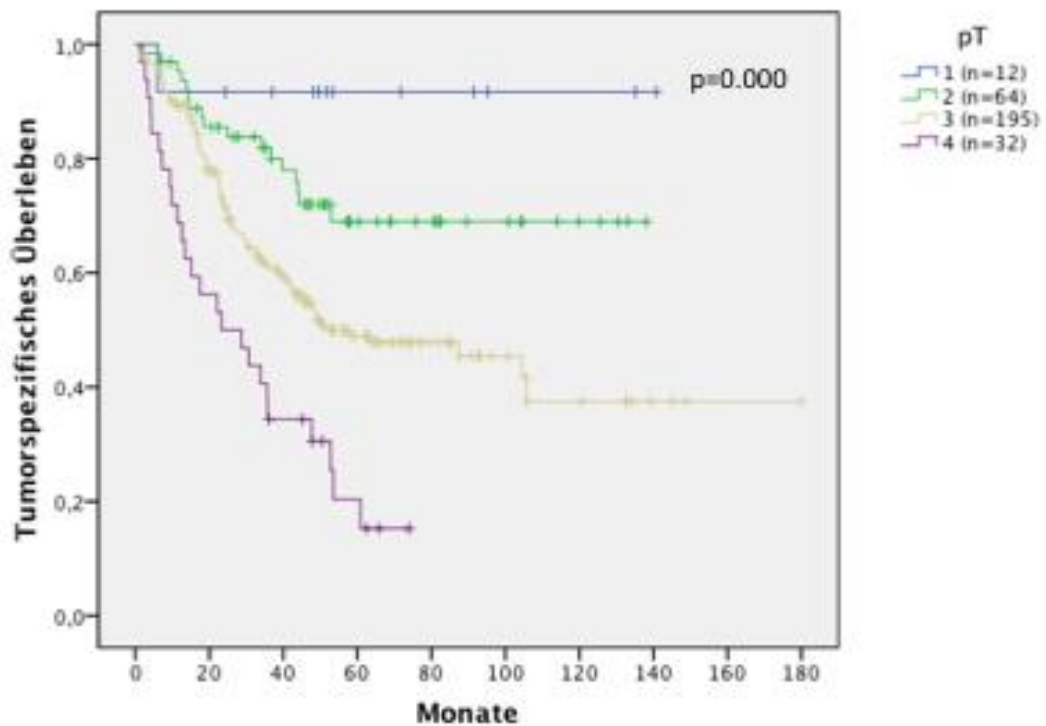


Abbildung 12: Auswirkungen des Tumorstadiums auf die Prognose des Kolonkarzinoms. n = Anzahl der Patienten, pT = Tumorstadium.

## 2.2 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ist eine häufig verwendete Untersuchungstechnik an TMAs.

Mithilfe der Immunhistochemie können in Gewebeschnitten zell- und gewebespezifische Proteine durch hinzugegebene spezifische Antikörper gebunden und sichtbar gemacht werden. Dies lässt Rückschlüsse auf die Lokalisation, die Verteilung und Stärke des Vorkommens des Proteins im jeweiligen Gewebe zu.

### 2.2.1 Protokoll

Für diese Arbeit wurden 4µm dicke Schnitte des Kolon-TMA-Gewebeblocks angefertigt und auf Objektträger übertragen. Die Durchführung der Immunhistochemie folgte dann einem im Folgenden beschriebenen, standardisierten Protokoll:

#### 1. Entparaffinierung:

Zunächst wurden die bestückten Objektträger entparaffiniert. Hierzu wurden diese mindestens eine Stunde mit Xylol inkubiert und dann in eine absteigende Alkoholreihe (Isopropylalkohol 100%, Ethanol 96%, Ethanol 70%) bis zu destilliertem Wasser gelegt. Um die Objektträgervorbehandlung abzuschließen, wurden sie 5 Minuten mit TBST-Puffer (Tris-gepufferte Kochsalzlösung Tween) abgespült.

2. Hitzevorbehandlung:

Um die durch die Formalinfixierung entstandenen Proteinvernetzungen rückgängig zu machen, wurden die Schnitte 5 Minuten in Target retrieval solution pH 9, 1:10 (DAKO), autoklaviert und anschließend mit TBST-Puffer 5 Minuten gespült.

3. Peroxidblock:

Um unspezifische Proteininteraktionen zu vermeiden, wurde die endogene Peroxidase blockiert. Hierzu wurden die Schnitte 10 Minuten lang mit 1%igem Wasserstoffperoxid in Methanol behandelt und dann erneut zwei Mal 5 Minuten in TBST-Puffer gespült.

4. Antikörperinkubation:

Der hier verwendete Antikörper ist der polyklonale, in Ziegen produzierte NrCAM-Antikörper (R&D Systems®, Inc., Minneapolis).

Die Objektträger wurden nun mit dem genannten Antikörper in einer Verdünnung von 1:450 in Antibody diluent solution (DAKO) für 2 Stunden bei 30°C inkubiert. Danach wurde der Antikörper mit TBST-Puffer zwei Mal 5 Minuten abgewaschen.

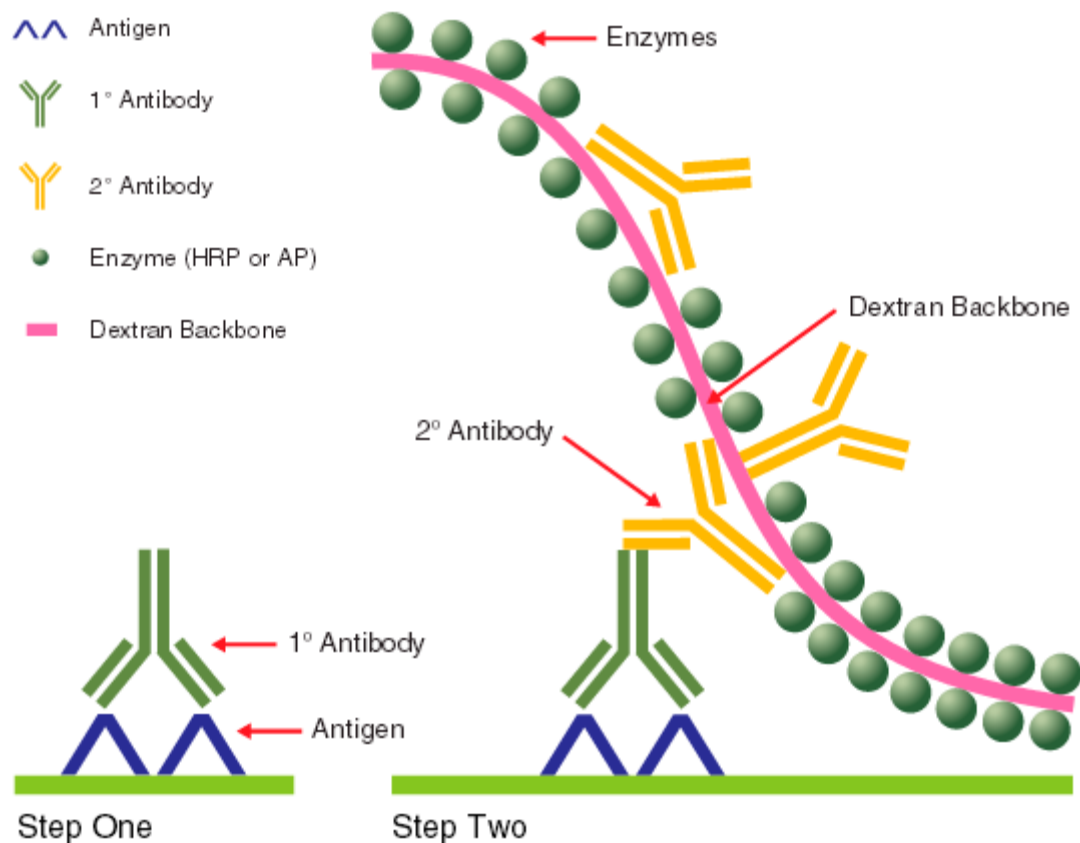


Abbildung 13: 2-Schritt-Polymer-Methode (EnVision™)(Key, 2009).

5. Visualisierung der Antigen-Antikörper-Bindung:

Die Visualisierung erfolgte nach der zweischrittigen indirekten EnVision™-Methode (Abbildung 13). Im ersten Schritt wurde für die erforderliche Brücke der Primärantikörper ‚Mouse anti Goat‘ der Firma Dianova mit einer Verdünnung von 1:200 in Antibody diluent solution (DAKO) 30 Sekunden abzentrifugiert und dann auf die Objektträger gegeben. Anschließend erfolgte die Inkubation bei 30°C für 30



Minuten sowie das erneute Abwaschen für zwei Mal 5 Minuten mit TBST-Puffer. Im zweiten Schritt erfolgte die Inkubation bei 30°C mit dem ‚EnVision Polymer-HRP Rabbit/Mouse‘ (DAKO K5007) ebenfalls für 30 Minuten. Dieser Sekundärantikörper setzt sich aus ca. 10 Antikörpern und 70 Peroxidasemolekülen zusammen, die an ein Dextrangerüst gebunden sind. Es folgt eine Spülung für 5 Minuten mit destilliertem Wasser.

Hiernach wurden die Objektträger zur Signalverstärkung und Darstellung der erfolgreich gebundenen Antikörper bei Raumtemperatur für 10 Minuten mit dem DAB-Chromogen (DAKO K5007) inkubiert, wodurch eine braune Färbungsreaktion ausgelöst wird. Dann wurde erneut 5 Minuten mit destilliertem Wasser gespült.

6. Letzte Schritte:

Abschließend folgten eine einminütige Applikation von Haemalaun zur Kerngegenfärbung, ein fünfminütiges Bläuen mit Leitungswasser, ein Entwässern über die aufsteigende Alkoholreihe bis Xylol sowie das Eindeckeln der Objektträger.

### 2.2.2 Auswertung

Zur Auswertung der immunhistochemischen Färbungen wurde im direkten Anschluss eine Lichtmikroskopie durchgeführt, bei der die einzelnen Spots beurteilt und in vier Kategorien eingeteilt wurden. Hierzu wurden zunächst die Anzahl der angefärbten Zellen in Prozent sowie der Grad der Intensität der Färbung mit 0, 1+, 2+, oder 3+ angegeben. Grad 0 entspricht dabei einer negativen membranständigen Reaktion, Grad 3+ hingegen einer starken. Anschließend wurden die Spots jeweils einer der 4 Kategorien ‚negativ‘, ‚schwach positiv‘, ‚moderat positiv‘ und ‚stark positiv‘ entsprechend der routinemäßig verwendeten Standardkriterien des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf zugeteilt (Tabelle 4). Ein Beispiel für eine solche Zuteilung kann in Abbildung 14 nachvollzogen werden.

Kategorie	Immunhistochemische Reaktion
Negativ	Keine Färbung, Grad 0
Schwach positiv	Reaktion Grad 1 in bis zu 70% Reaktion Grad 2 in bis zu 30%
Moderat positiv	Reaktion Grad 1 in mehr als 70% Reaktion Grad 2 in mehr als 30 bis zu 70% Reaktion Grad 3 in bis zu 30%
Stark positiv	Reaktion Grad 2 in mehr als 70% Reaktion Grad 3 in mehr als 30%

Tabelle 4: Auswertung der Immunhistochemie nach Reaktionsstärke.

Bei einer größeren Einteilung in z.B. ‚negativ‘ und ‚positiv‘ wurde die Grenze bei einer Reaktion in 10% der Zellen mit dem Intensitätsgrad 2 gezogen. < 10% gilt entsprechend als ‚negativ‘ und >10% als ‚positiv‘.

Falls in Einzelfällen andere Gruppierungen verwendet wurden, um z.B. statistische Signifikanzen aufzuzeigen, werden diese an entsprechender Stelle im Ergebnisteil näher erläutert.



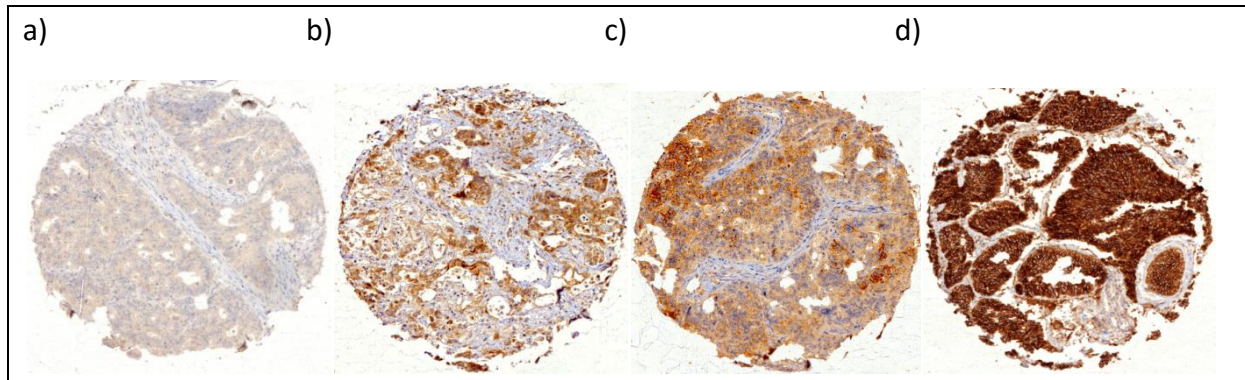


Abbildung 14: Kolon-Gewebeproben nach Anfärbung mit dem NrCAM-Antikörper.

- a) Keine immunohistochemische Reaktion = Negativ
- b) Schwach positive Reaktion
- c) Moderat positive Reaktion
- d) Stark positive Reaktion

### 2.3 Statistik

Die Analyse auf einen Zusammenhang zwischen dem TNM-Stadium, der Differenzierung bzw. dem Patientengeschlecht und -alter und der NrCAM-Expression wurde mit Hilfe der „Contingency table analysis“ und des Chi-Quadrat-Tests durchgeführt. Zur Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeiten wurden das Kaplan-Meier-Verfahren angewandt und die Ergebnisse in einer Kaplan-Meier-Kurve veranschaulicht. Um den Zusammenhang zwischen der NrCAM-Expression und dem Patientenüberleben zu analysieren, wurde der Log-rank-Test verwendet. Die Abhängigkeiten der analysierten Variablen untereinander wurden unter Zuhilfenahme der „Cox Regression“ in Relation zum Patientenüberleben gesetzt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 NrCAM-Expression im Kolonkarzinom

Die Immunhistochemie erbrachte für 97,9% (372/380) der primären Kolonkarzinome des Multitumorarrays auswertbare Ergebnisse. Die restlichen 2,1% mussten von der Auswertung ausgeschlossen werden, da der Gewebespot während der Vorbehandlung vom Objektträger gegliitten war (n=6) oder sich im Schnitt kein Tumorgewebe fand (n=2).

Insgesamt konnte bei 8,9% (33/372) der auswertbaren Kolonkarzinome eine schwach, moderat oder stark positive Reaktion auf den NrCAM-Antikörper verzeichnet werden, während in den restlichen 91,1% eine Reaktion ausblieb. Wendet man eine gröbere Einteilung in ‚negativ‘ und ‚positiv‘ an, kommt man auf eine NrCAM-Expression in 6,7% der Fälle. In der Abbildung 15 sind die Ergebnisse des Kolon-Prognose-TMAs veranschaulicht.

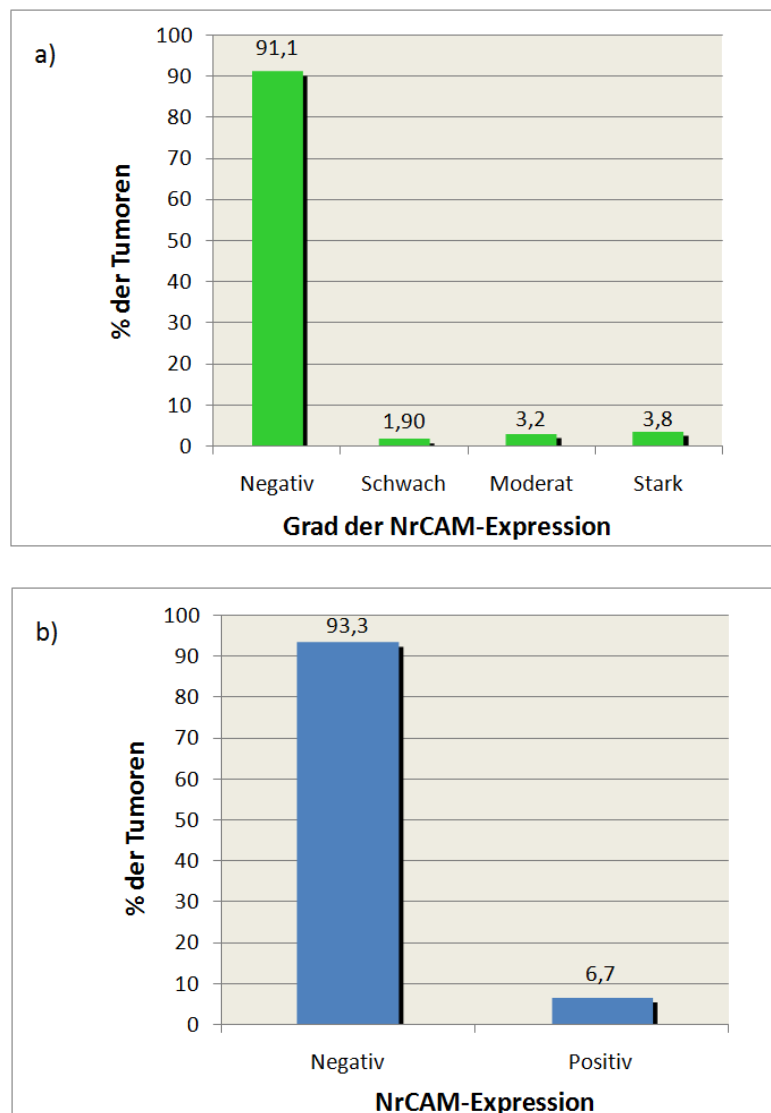


Abbildung 15: Verteilung der NrCAM-Expression im Kolonkarzinom.

a) Einteilung in 4 Kategorien: ‚negativ‘, ‚schwach positiv‘, ‚moderat positiv‘ und ‚stark positiv‘.

b) Einteilung in 2 Kategorien: ‚negativ‘ und ‚positiv‘.

## 3.1.1 Assoziation zum Tumorphänotyp

Abschließend wurde die NrCAM-Expression auf einen Zusammenhang mit den einzelnen Komponenten der TNM-Stadien hin analysiert. Hinsichtlich der pT-Stadien 1-4 konnte keine spezifische Verbindung zwischen der NrCAM-Expression und einem bestimmten Stadium festgestellt werden, weder unter Berücksichtigung der 4 Expressionsgrade ( $p=0,231$ ) noch unter der größeren Einteilung in ‚positiv‘ und ‚negativ‘ ( $p=0,540$ ). Auch bezüglich des pN-Status (lymphogene Metastasierung;  $p=0,597$  und  $p=0,585$ ), des pM-Status (hämatogene Metastasierung;  $p=0,829$  und  $p=0,192$ ) sowie des Differenzierungsgrads (G) konnte kein Zusammenhang bewiesen werden. Eine detailliertere Übersicht dieser Daten bieten die Tabellen 5 und 6.

	n	NrCAM-Expression				p
		Negativ [%]	Schwach [%]	Moderat [%]	Stark [%]	
Alle Kolonkarzinome	372	91.1	1.9	3.2	3.8	
pT1	17	88.2	5.9	0.0	5.9	0.231
pT2	76	85.5	3.9	5.3	5.3	
pT3	237	93.2	0.8	3.4	2.5	
pT4	42	90.5	2.4	0.0	7.1	
pN0	186	90.9	2.7	3.2	3.2	0.597
pN1	88	94.3	1.1	1.1	3.4	
pN2	98	88.8	1.0	5.1	5.1	
pM0	273	90.5	2.2	3.3	4.0	0.829
pM1	99	92.9	1.0	3.0	3.0	
G1	2	100.0	0.0	0.0	0.0	0.965
G2	305	90.2	2.0	3.6	3.6	
G3	65	92.3	1.5	1.5	4.6	

Tabelle 5: Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Karzinom-Phänotyp. Einteilung in die 4 Expressionsgrade: ‚negativ‘, ‚schwach positiv‘, ‚moderat positiv‘, ‚stark positiv‘.

	n	NrCAM-Expression		p
		Negativ [%]	Positiv [%]	
Alle Kolonkarzinome	372	93,3	6,7	
pT1	17	94,1	5,9	0,540
pT2	76	89,5	10,5	
pT3	237	94,5	5,5	
pT4	42	92,9	7,1	
pN0	186	93,0	7,0	0,585
pN1	88	95,5	4,5	
pN2	98	91,8	8,2	
pM0	273	92,3	7,7	0,192
pM1	99	96,0	4,0	
G1	2	100,0	0,0	0,636
G2	305	92,8	7,2	
G3	65	95,4	4,6	

Tabelle 6: Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Kolonkarzinom-Phänotyp. Einteilung in ‚positiv‘ und ‚negativ‘.

### 3.1.2 Assoziation zum Geschlecht der Patienten

Bezüglich des Geschlechts der Patienten konnte weder für die Einteilung in vier Expressionsgrade ( $p=0,802$ ) noch für die Einteilung in 2 Expressionsgrade ( $p=0,667$ ) ein signifikanter Zusammenhang mit der NrCAM-Expression festgestellt werden (Tabelle 7 und 8).

	n	NrCAM-Expression				p
		Negativ [%]	Schwach [%]	Moderat [%]	Stark [%]	
Alle Kolonkarzinome	372	91,1	1,9	3,2	3,8	
Männer	223	91,0	2,2	2,7	4,0	0,802
Frauen	149	91,3	1,3	4,0	3,4	

Tabelle 7: Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Geschlecht der Patienten. Einteilung in die 4 Expressionsgrade: ‚negativ‘, ‚schwach positiv‘, ‚moderat positiv‘, ‚stark positiv‘.

	n	NrCAM-Expression		p
		Negativ [%]	Positiv [%]	
Alle Kolonkarzinome	372	93,3	6,7	
Männer	223	92,8	7,2	0,667
Frauen	149	94,0	6,0	

Tabelle 8: Assoziation zwischen NrCAM-Expression und dem Geschlecht der Patienten. Einteilung in ‚positiv‘ und ‚negativ‘.

### 3.1.3 Assoziation zum Alter der Patienten

Bezüglich des Alters der Patienten konnte weder für die Einteilung in vier Expressionsgrade ( $p=0,676$ ) noch für die Einteilung in 2 Expressionsgrade ( $p=0,836$ ) ein signifikanter Zusammenhang mit der NrCAM-Expression festgestellt werden.

### 3.1.4 Assoziation zur Patientenprognose

Um eine Überlebensanalyse durchzuführen, wurden die Daten von 298 der 372 analysierbaren Kolonkarzinompatienten verwendet. Von den verbleibenden wurden 13 von der Analyse ausgeschlossen, da sie perioperativ verstarben; für die restlichen konnten keine Überlebensdaten erhoben werden. Es konnte jedoch weder ein signifikanter Zusammenhang zwischen NrCAM-Expression und Patientenüberleben ( $p=0,269$ ; bei Einteilung in lediglich ‚positiv und ‚negativ‘  $p=0,667$ ) noch zwischen NrCAM-Expression und rezidivfreier Zeit ( $p=0,189$ , bzw. gruppiert  $p=0,328$ ) hergestellt werden. Die Abbildungen 16 und 17 veranschaulichen das kumulative Überleben in Abhängigkeit der Zeit für alle Grade der NrCAM-Expression je nach Gruppierung.

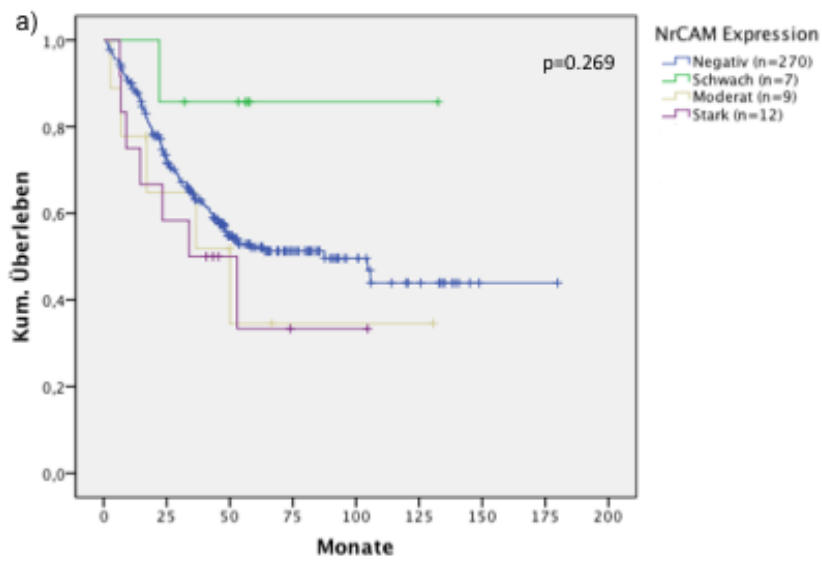


Abbildung 16: Patientenüberleben in Abhängigkeit der NrCAM-Expression unter Berücksichtigung aller 4 Expressionsgrade.

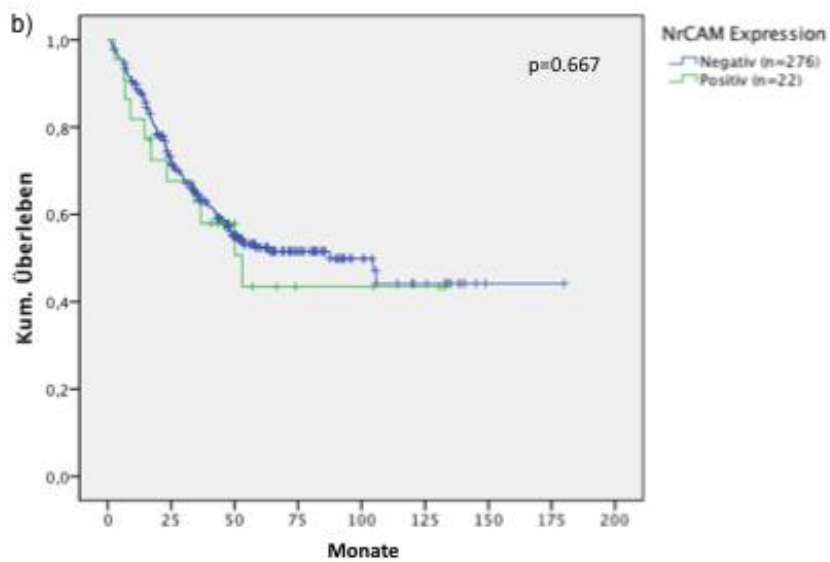


Abbildung 17: Patientenüberleben in Abhängigkeit der NrCAM-Expression nach Einteilung in 2 Expressionsgrade.

#### 4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe eines Tissue Microarrays die NrCAM-Expression im Kolonkarzinom immunhistochemisch untersucht. Neben der Häufigkeit der Expression sollten auch etwaige Assoziationen zwischen den Expressionsgraden und dem Tumorphänotyp, der Patientenprognose, dem Patientengeschlecht sowie dem Patientenalter aufgezeigt werden.

NrCAM war in den Fokus der Institutsforschung gelangt, als in vorherigen Arbeiten (Krohn, 2014; Reining, 2012) mittels einer Array-komparativen genomischen Hybridisierung im Ösophaguskarzinom ein Amplikon auf dem Chromosomenbereich 7q21.1-31.1 gefunden wurde. Im Abschnitt 7q31.1 konnten 8 Gene identifiziert werden, zu denen auch NrCAM gehört (siehe Abbildung 18). Das Zelladhäsionsmolekül wurde seit seiner Entdeckung bereits in verschiedenen Studien mit dem Tumorwachstum in Verbindung gebracht. Es konnten unter anderem Überexpressionen in verschiedenen Hirntumoren, im papillären Schilddrüsenkarzinom, im Melanom und im Kolonkarzinom festgestellt werden (Conacci-Sorrell et al., 2002; Górká et al., 2007; Sehgal et al., 1998). Im Pankreaskarzinom dagegen fand man einen deutlichen Verlust an NrCAM, während in gesundem Gewebe eine stark ausgeprägte Expression vorliegt (Dhodapkar et al., 2001). Die Expression in diesen und weiteren humanen Tumoren wurde daher in einer weiteren Arbeit mittels eines Multitumor-TMAs orientierend untersucht, um diesbezüglich auffällige Tumoren zu identifizieren (Dancau, 2012).

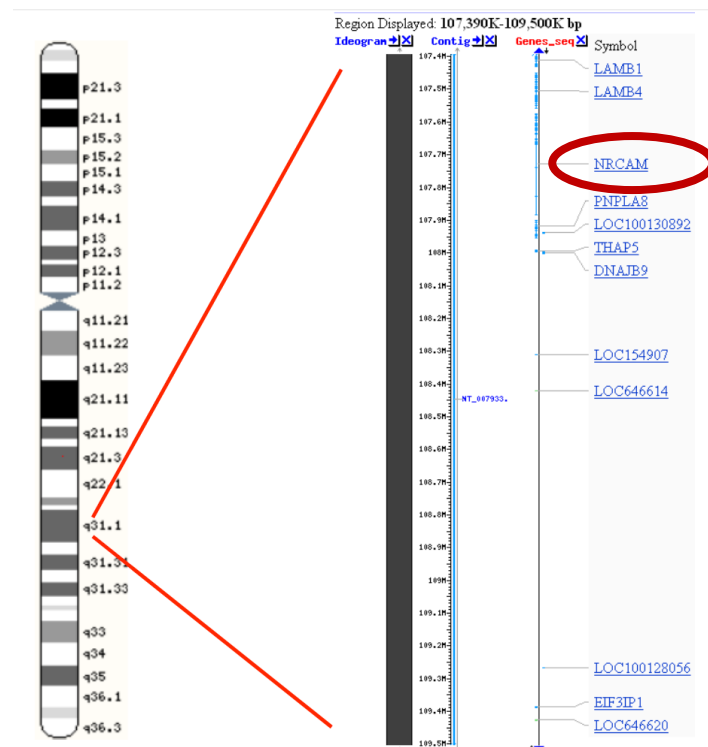


Abbildung 18: Darstellung der im Amplikon 7q31.1 enthaltenen Gene (Reining, 2012).

Das Kolonkarzinom bot sich aus vielerlei Hinsicht zur detaillierteren Analyse an. Die Entwicklung eines neuen Therapieansatzes würde zum Einen aufgrund der hohen Inzidenz der Erkrankung einer großen Patientengruppe zugutekommen. Zum Anderen konnten bereits Assoziationen zur Tumorprogression im Kolonkarzinom festgestellt werden. Conacci-Sorrell et al. konnten u.a. in Nacktmäusen durch Erzeugung erhöhter NrCAM-Spiegel ein schnelles Tumorwachstum induzieren und in entsprechend präparierten Zelllinien ein erhöhtes Tumorwachstum sowie eine erhöhte Motilität beobachten (Conacci-Sorrell et al., 2002). Neben diesen Faktoren zeigte sich im Multitumorarray immerhin eine NrCAM-Expressionsrate von 10,2% (Dancau, 2012). Dies ist durchaus vergleichbar mit Expressionsraten anderer Oberflächenmoleküle, welche zur Antikörper-basierten Krebstherapie bereits erfolgreich verwendet werden. Ein aktuelles Beispiel eines diesbezüglich vielversprechenden Moleküls ist hier die Her2-Expression in 4% der nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome und in etwa 10% der Adenokarzinome der Lunge (Stephens et al., 2004). Es konnte erste Evidenz erhoben werden, dass Patienten mit Her2-Mutation-positiven Adenokarzinomen der Lunge von einer Therapie mit dem Her2-Inhibitor Afatinib profitieren (De Grève et al., 2012). Aus diesen Gründen lohnt es sich ebenfalls die potenzielle klinische und prognostische Bedeutung von NrCAM in der Kolonkarzinomtherapie zu klären.

Die Verwendung eines Tissue Microarrays bietet viele Vorteile für eine derartige Untersuchung. Mit Hilfe des TMAs können bis zu 1000 Gewebeproben auf einem Objektträger gleichzeitig analysiert werden. Abbildung 19 zeigt schematisch die Erstellung eines TMAs sowie ein Anwendungsbeispiel. Die Methode eignet sich in histologischen Studien für sämtliche in situ Untersuchungen, wie beispielsweise die hier genutzte Immunhistochemie und auch die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung. Die zeitgleiche Untersuchung mit denselben Reagenzien sorgt für ein hohes Maß an Standardisierung sowie eine große Zeitersparnis und erweist sich somit auch als besonders kosteneffizient (Dancau et al., 2010). Weiterhin können aus einem TMA-Block etwa 200 Schnitte mit einer Dicke von 4-8µm gefertigt werden, was die parallele Untersuchung der Gewebe mit verschiedenen Techniken und mit einer großen Anzahl von molekularen Markern erlaubt. Aus den so gewonnenen Daten lassen sich Datenbanken erstellen, die genotypische und phänotypische Merkmale der Tumoren korrelieren (Kononen et al., 1998). Ein Kritikpunkt der Methode war zu Beginn der geringe Durchmesser von 0,6mm der Gewebespots, da evtl. entscheidende histologische und molekulare Eigenschaften auf der kleinen Fläche nicht enthalten sein könnten. Diese Befürchtung konnte jedoch in zahlreichen Studien widerlegt werden und es zeigte sich, dass TMA-Studien – durch Aspekte wie die hohe Standardisierung – den traditionellen Studien sogar überlegen sind (Sauter, 2010).



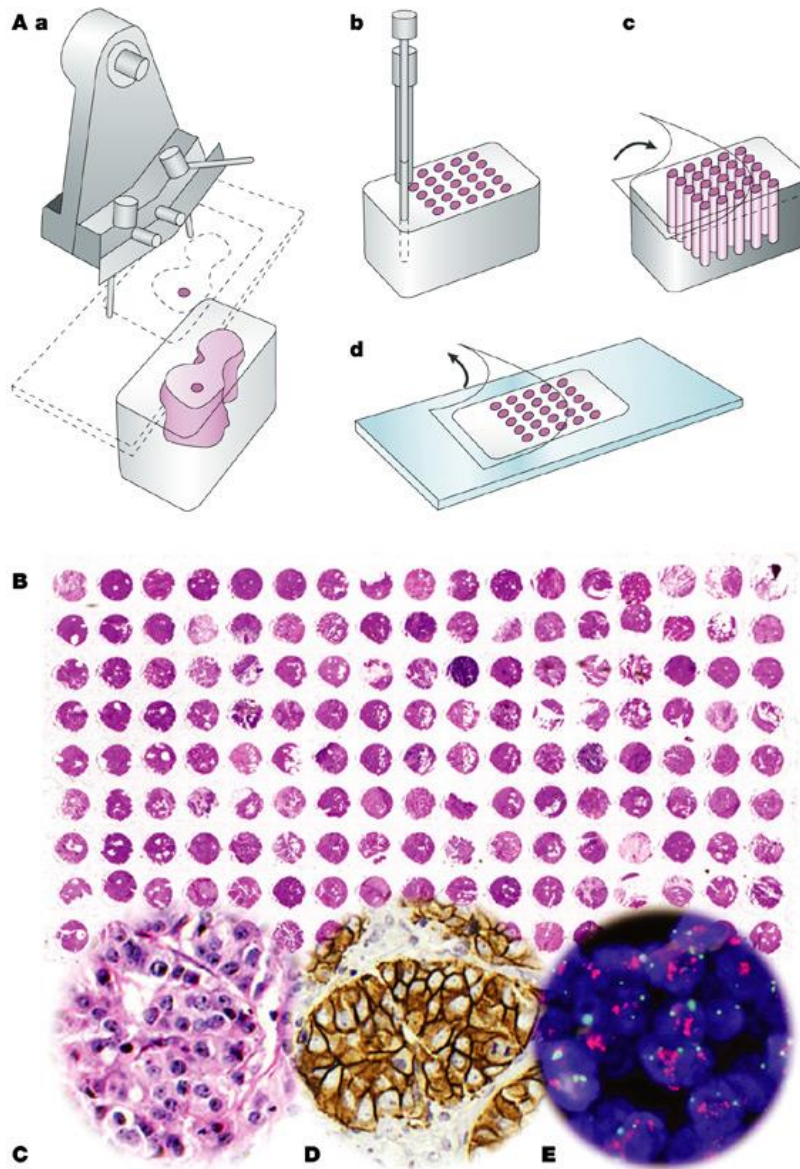


Abbildung 19: Tissue Microarray: Erstellung und Anwendung. A) Gewebezylinder-Entnahme aus repräsentativen Tumorregionen, Durchmesser 0,6mm. Einbringen der Zylinder in einen leeren Paraffin-Block. Erstellung von Schnitten mit einem Microtom. Transfer des Schnittes auf einen Objektträger. B) Überblick über einen HE-gefärbten TMA-Schnitt. C) HE-Färbung von Mammakarzinomgewebe. D) Immunhistochemie von Mammakarzinomgewebe. Die Her2-Expression ist braun gefärbt. E) FISH-Analyse des gleichen Gewebes. Die roten Signale markieren Her2-Gen-Amplifikationen, die grünen Signale markieren normale Kopiezahlen des Zentromers 17 (Sauter, Simon, & Hillan, 2003).

In diesem Fall wurde ein bereits existierender Kolon-TMA verwendet, der Gewebeproben von 380 Kolonkarzinomen enthält. Somit ist dieser TMA repräsentativer und die Expression konnte besser beurteilt werden als im Multitumor-TMA, in dem bloß 60 Gewebeproben aus Kolonkarzinomen vorhanden sind (Dancau, 2012).

Da bereits in vorherigen Studien eine positive NrCAM-Expression in Kolonkarzinomen festgestellt werden konnte, die in normalem Kolongewebe nicht vorhanden war (Conacci-Sorrell et al., 2002), wurde auch in der vorliegenden Arbeit eine positive Expression



erwartet. Tatsächlich konnte nach der Einteilung in die 4 Expressionsgrade bei 8,9% der Tumoren eine positive NrCAM-Expression nachgewiesen werden. Dieser Wert korreliert gut mit den 10,2%, die im Multitumor-TMA in einer vorangegangenen Arbeit erhoben wurden. Auch die Werte der positiven Expression nach der Einteilung in die Kategorien ‚positiv‘ und ‚negativ‘ zeigen eine Übereinstimmung. Im Kolon-Prognose-TMA fand sich eine positive Expression von 6,7% und im Multitumor-TMA ein Wert von 8,5% nach Gruppierung in ‚positiv‘ und ‚negativ‘ (Dancau, 2012). Die Abweichungen, die bei immunhistochemischen Färbungen durch die Nutzung verschiedener Protokolle bzw. Auswertungskriterien bedingt werden, können hier vernachlässigt werden, da beide Arbeiten im gleichen Institut unter Verwendung des gleichen Färbeprotokolls durchgeführt wurden. Conacci-Sorrell et al. dagegen konnten in ihrer Studie NrCAM in 100% ihrer untersuchten Kolontumorgewebe nachweisen (Conacci-Sorrell et al., 2002). Auch im ‚Proteinatlas‘ lassen sich höhere Werte finden. Hier konnte in etwa 42% eine niedrige und in 8% eine mittlere Antikörper-Färbung festgestellt werden (The Human Protein Atlas, 2015; Uhlen et al., 2015). Die Vergleichbarkeit dieser Werte mit unseren Daten ist jedoch durch Nutzung verschiedener Labore, Antikörper und Färbeprotokolle in beiden Fällen gemindert. Die aus diesen Faktoren entstehenden stark unterschiedlichen Resultate konnten bereits in zahlreichen Fällen beobachtet werden. Beispielsweise variiert die positive Färberate von Her2 bei Brustkrebs zwischen 13% und 100% (Sauter et al., 2003).

Die Ergebnisse bezüglich Tumoreindringtiefe, Nodalstatus und Differenzierung zeigten keine signifikanten Zusammenhänge zur NrCAM-Expression. Bei der Fernmetastasierung zeigte sich bei Vorliegen von Metastasen eine geringere Expression als beim Status M0. Dieser Trend erwies sich jedoch ebenfalls als nicht signifikant. Dennoch konnte schon beispielsweise für das Pankreaskarzinom eine abnehmende NrCAM-Expression bei zunehmender Tumoreindringtiefe beschrieben werden. Dass die Expression in invasiven, schlecht differenzierten Tumoren jedoch deutlich stärker reduziert war als bei gut differenzierten Tumoren, könnte dadurch erklärt werden, dass die Entstehung aggressiver Tumortypen des Pankreas weniger abhängig von NrCAM-gekoppelten Signalwegen ist. Im Sinne seiner Aufgabe der Zelladhäsion könnte NrCAM die Metastasierung verhindern und gleichzeitig die Formation von frühen Läsionen fördern (Dhodapkar et al., 2001). Daher stellt sich im Falle des Kolonkarzinoms die Frage, ob es z.B. aufgrund der Progression des Tumors zu einem Expressionsverlust kommt, der damit die Metastasierung erleichtert, oder ob es sich hier evtl. um zwei unterschiedlich aggressive Tumortypen handeln könnte.

In der vorliegenden Arbeit konnten - möglicherweise aufgrund zu kleiner Fallzahlen - keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Prognose sowie dem NrCAM-Status hergestellt werden. Für andere humane Tumoren finden sich jedoch bereits Studien, die einen Zusammenhang zwischen NrCAM-Expression und Patientenprognose vermuten lassen.

Das Zelladhäsionsmolekül L1 gehört zur gleichen Familie der Zelladhäsionsmoleküle wie NrCAM und ist in seiner Struktur dem NrCAM-Molekül am ähnlichsten (Grumet et al., 1991). Es konnte gezeigt werden, dass L1 im Kolonkarzinom mit der Tumorprogression assoziiert ist und sich negativ auf die Überlebenszeit auswirkt (Boo et al., 2007). Weiterhin konnte durch Inhibition der L1CAM-Expression durch short hairpin RNA (shRNA) das Tumorstadium in immunsupprimierten Mäusen unterdrückt und das Überleben gesteigert werden (Bao et al., 2008). Aufgrund der Ähnlichkeit der beiden Moleküle wäre interessant festzustellen, ob derartige Assoziationen auch für NrCAM bestehen.

Eine Überexpression von NrCAM wurde zum Beispiel in Ependyomen mit hoher Proliferationsrate mit einem schlechten Outcome assoziiert (Lukashova-v Zangen et al., 2007). Aufgrund der nachgewiesenen Assoziationen sollten weitere Expressionsuntersuchungen an größeren Kollektiven in Betracht gezogen werden, bevor ein Zusammenhang zur Prognose völlig ausgeschlossen werden kann.

In der Literatur zeigen sich beim Kolonkarzinom bereits hinsichtlich der Patientenprognose einige Beispiele für Zelloberflächenmoleküle, die sich als potenziell prognostisch wertvoll erweisen könnten bzw. die bereits in der Diagnostik etabliert sind.

CEA (carcinoembryonic antigen) sowie die Zelladhäsionsmoleküle CEACAM1 und CEACAM6 werden alle in gesundem Kolongewebe exprimiert. Im kolorektalen Karzinom ist diese Gewebeexpression jedoch in 94%, 58% bzw. 55% der Fälle erhöht. Für CEACAM6 konnte eine potenzielle Bedeutung als unabhängiger prognostischer Faktor für die Unterscheidung zwischen Patienten mit hohem und niedrigem kolorektalem Karzinomrisiko gefunden werden (Jantscheff et al., 2003). Das carcinoembryonale Antigen (CEA) ist dagegen bereits der am häufigsten eingesetzte Tumormarker weltweit und ein etablierter Bestandteil des Stagings sowie der postoperativen Verlaufskontrolle des Kolonkarzinoms und der Entdeckung von Lebermetastasen (Michael J. Duffy, 2001).

Ein weiteres Beispiel ist der Hepatozyten-Wachstumsfaktorrezeptor c-met (=HGFR =hepatocyte growth factor receptor), der in 50% der kolorektalen Karzinome vorkommt und positiv mit der Tumorprogression korreliert (de Oliveira et al., 2009; Zeng et al., 2008). Er ist in fortgeschrittenen Stadien des kolorektalen Karzinoms stark exprimiert und kann die Zellmotilität erhöhen sowie die Invasion und Metastasierung erleichtern (Jiang et al., 1993). C-met gilt als potenzieller Marker für eine schlechte Prognose und erhöhte Mortalität sowie als guter Prädiktor für das metastatische Potenzial dieser Tumoren (de Oliveira et al., 2009; Fazekas et al., 2000; Takeuchi et al., 2003).

Sowohl für das Patientenalter und das Patientengeschlecht konnten in dieser Untersuchung keine signifikanten Zusammenhänge mit der NrCAM-Expression detektiert werden. Dies wurde beispielsweise auch für Ependyome festgestellt und auch in der Literatur lassen sich aktuell keine gegenteiligen Annahmen finden (Lukashova-v Zangen et al., 2007).

In der Literatur und auch in der Klinik kann der Erfolg von Antikörper-basierten Therapien beobachtet werden (Adams & Weiner, 2005; Tol & Punt, 2010). Für diese Therapien werden daher fortlaufend neue Zielmoleküle gesucht. Als besonders geeignet haben sich dabei Zelloberflächenmoleküle gezeigt. Hier ist ein besonders herausstehendes Beispiel der epidermale Wachstumsfaktorrezeptor Her2, welcher in 15-20% aller invasiven Mammakarzinome sowie in 7-34% der Magenkarzinome exprimiert wird (Burstein, 2005; Sukawa et al., 2014). Der entsprechende Antikörper Trastuzumab wird heutzutage erfolgreich in der Therapie der Her2-positiven metastasierten Karzinome angewandt (Vogel et al., 2002).

Auch im Kolonkarzinom hat man bereits Zelloberflächenmoleküle gefunden, deren Expression sich von der im gesunden Gewebe unterscheidet und die somit zum Ziel klinischer Forschung wurden.

Es findet sich z.B. in 50-85% der Kolonkarzinome eine Expression des Transmembranproteins EGFR, welches wie Her2 zur erbB-Familie der Tyrosinkinase-Rezeptoren gehört (Bibeau et al., 2006). Man konnte für EGFR eine positive Korrelation zwischen der Expression und der Lymphknoteninvasion sowie dem Grading der Kolonkarzinome feststellen (Mokhtari, 2012). Die Prognose wird durch das Vorliegen von EGFR negativ beeinflusst (Mayer et al., 1993; Nicholson et al., 2001). Anwendung findet diese Entdeckung durch den Einsatz der monoklonalen Antikörper Cetuximab und Panitumumab zur Therapie von metastasierten kolorektalen Karzinomen mit KRAS-Wildtyp (Amado et al., 2008; Di Fiore et al., 2007).

Therapie-relevanz zeigt auch das epitheliale Zelladhäsionsmolekül (EpCAM). EpCAM vermittelt im Gesunden eine Epithel-spezifische interzelluläre Zelladhäsion und ist involviert in Zellsignalen, -migration, -proliferation und -differenzierung. Eine 3'-Ende-Deletion des EpCAM-Gens ist mit einem hohen Risiko für kolorektale Karzinome im Rahmen eines Lynch-Syndroms verbunden. Weiterhin wird EpCAM als potenzieller Marker für eine schlechte Prognose diskutiert und der erste Antikörper Catumaxomab zeigt sich als erfolgreich in der Therapie von malignem Aszites bei EpCAM-positiven Karzinomen (Patriarca et al., 2012).

Im Gegensatz zu vorher genannten Oberflächenmolekülen konnte exemplarisch für CD10 zwar eine Überexpression im Kolonkarzinom festgestellt werden, es wurde jedoch kein gesicherter Zusammenhang zwischen der Expression und dem TNM-Stadium, dem Grading, der Lokalisation oder der Angiogenese gefunden (de Oliveira et al., 2012). Daher findet CD10 noch keine große Bedeutung in der Diagnostik und Therapie des Kolonkarzinoms.

Hinsichtlich der Therapiemöglichkeiten des Kolonkarzinoms durch Nutzung der NrCAM-Überexpression gibt es erst wenige Erkenntnisse. Die bisherige – im folgenden Absatz näher bezeichnete – Literatur weist jedoch diesbezüglich für andere humane Tumoren bereits vielversprechende Ansätze vor, welche eine Untersuchung entsprechender Möglichkeiten im Kolonkarzinom sinnvoll erscheinen lassen.

Sehgal et al. injizierten Nacktmäusen subkutan Antisense-hNrCAM-überexprimierende Glioblastomzellen und konnten daraufhin eine komplette Inhibition der Tumorformation beobachten. Eine intratumorale Impfung mit einem Antisense-hNrCAM-exprimierenden Plasmid führte außerdem zu einem verlangsamten Tumorwachstum in Nacktmäusen in vivo (Sehgal et al., 1999). Eine ähnliche Beobachtung konnten Conacci-Sorrell et al. im Melanom machen. Die Unterdrückung von NrCAM durch small interfering RNA in B16 Melanomen inhibierte die adhäsiven und tumorigenen Eigenschaften dieser Zellen (Conacci-Sorrell et al., 2005).

Auch wenn zurzeit lediglich Ansätze für mögliche Therapien mit NrCAM existieren, bietet sich das Molekül sehr gut als Zielstruktur an. Als Membranprotein ist es einfacher für Antikörper zugänglich als lösliche Moleküle. Da NrCAM auch in gesunden Geweben zu finden ist, könnte ein Antikörper-Präparat allerdings mit vielen und schweren Nebenwirkungen verbunden sein. Daher wäre es von Interesse weiter zu erforschen, ob sich die NrCAM-Form, die sich in Tumoren findet, von der Wildtyp-Form unterscheidet, so dass das Zielmolekül weniger den gesunden Organismus schädigt und gezielt den Tumor angreift. Möglich wären z.B. spezielle Splicing-Formen. Diesbezüglich fanden Sehgal et al. bereits im Northern Blot einen ersten Hinweis in Form einer mRNA, die in der Länge von 1,4 kb nur in den untersuchten Tumoren vorkam. In gesundem Gewebe fand man dagegen mRNA mit der Länge von 7,5 kb (Sehgal et al., 1998). Hier könnte untersucht werden, ob es sich um eine tumorspezifische Form oder Mutation handelt.

Falls sich NrCAM als zu unspezifisch erweisen sollte, um für eine Therapie von Nutzen zu sein, wäre seine Rolle als Marker ein alternatives Ziel. Dies hat sich bei dem Tumormarker CEA bewährt, der erfolgreich in der postchirurgischen Phase als Verlaufsparemeter verwendet wird (Hammarström, 1999). Weiterhin wurde bei kleinzelligen Lungenkarzinomen (SCLC) eine deutlich stärkere NrCAM-Überexpression als bei nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen (NSCLC) beobachtet, weshalb NrCAM potenziell auch geeignet sein könnte, um zwischen SCLC und NSCLC zu differenzieren (Taniwaki et al., 2006).

Von Interesse könnte auch eine weitergehende Untersuchung der NrCAM-Expression und des unterschiedlichen Ansprechens auf verschiedene Chemotherapeutika sein. Einen solchen Einfluss auf die Therapie konnten Vale et al. bei der Therapie des fortgeschrittenen kolorektalen Karzinoms mit 5-Fluoruracil und monoklonalen anti-EGFR-Antikörpern feststellen. Die Kombination der Therapeutika zeigte bei Patienten mit einem KRAS-Wildtypen einen klaren Benefit, während Patienten mit KRAS-Mutation nicht von einer derartigen Therapie profitierten (Vale et al., 2012). Auf diese Weise ließe sich möglicherweise auch hier ein Hinweis auf einen Zusammenhang finden, der eine Nutzung von NrCAM als Marker ermöglichen könnte.

Zusammenfassend konnte die Expressionshäufigkeit und -stärke von NrCAM im Kolonkarzinom festgestellt werden. Signifikante Zusammenhänge hinsichtlich Prognose und Tumorstadium wurden nicht detektiert. Trotz dieser Ergebnisse und bereits erhobener Fakten zur Expression im Kolonkarzinom und ihrer Effekte in vitro sowie in Nacktmäusen ist die Bedeutung von NrCAM im Kolonkarzinom noch weitgehend ungeklärt. Eine bedeutende Rolle des Moleküls und seiner vorgeschalteten Signalwege in der Tumorgenese kann daher nicht ausgeschlossen werden. Weitere Untersuchungen seiner klinischen und biologischen Relevanz erscheinen sinnvoll, da sich das Membranprotein NrCAM insbesondere als Therapieziel eignen könnte.

## 5. Zusammenfassung

Das Zelladhäsionsmolekül NrCAM (neuronal cell adhesion molecule) wurde seit seiner Entdeckung bereits mehrfach in Zusammenhang mit tumorigenen Eigenschaften gebracht. Auch für das Kolonkarzinom wurde eine positive Assoziation vermutet. Das Ziel dieser Arbeit war es, die NrCAM-Expression im Kolonkarzinom und deren biologische und prognostische Bedeutung hinsichtlich verschiedener klinischer Parameter zu erfassen. Mit Hilfe eines Tissue Microarrays wurden 380 Kolonkarzinome unter standardisierten Bedingungen immunhistochemisch gefärbt und hinsichtlich ihrer NrCAM-Expression ausgewertet. Eine positive Expression fand sich in 8,9% der Gewebeproben. Des Weiteren konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen NrCAM-Expression und TNM-Stadium, Tumor-Differenzierung, Patientengeschlecht, Patientenalter bzw. Patientenüberleben festgestellt werden.

Dennoch sollten weitere Untersuchungen an größeren Kollektiven hinsichtlich der Auswirkungen der NrCAM-Überexpression auf die Patientenprognose sowie beispielsweise verschiedene Therapieschemata in Betracht gezogen werden. So können die potenziellen Möglichkeiten eines Therapieansatzes bzw. der Nutzen von NrCAM als Tumor- und Prognosemarker endgültig nachgewiesen bzw. ausgeschlossen werden.

## 6. Abstract

Since its detection, the cell adhesion molecule NrCAM (neuronal cell adhesion molecule) has been repeatedly linked to tumorigenic qualities; in the case of colonic cancer, a positive association has been assumed. This study aimed to reveal the NrCAM expression as well as its biological and prognostic impact on colonic cancer.

Using immunohistochemistry on a tissue microarray, 380 specimens of colonic cancer were tested for NrCAM expression. A positive expression has been revealed in 8.9% of the tissue samples. As a result, the data analysis reveals no significant connection of NrCAM expression to TNM stage, tumour differentiation, gender, age, or survival rate.

In order to obtain further knowledge on NrCAM and to conclusively rule out any role of NrCAM overexpression as a prognostic marker or as a possible therapy option in the treatment of colonic cancer, additional investigation on larger sample sizes is needed. Another possible focus of further analysis could be the impact of the presence or absence of NrCAM overexpression on the outcome of different therapeutic options in the current treatment of colonic cancer.

## 7. Literaturverzeichnis

- Adams, G. P., & Weiner, L. M. (2005). Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nature Biotechnology*, *23*(9), 1147–57. doi:10.1038/nbt1137
- Algra, A. Bs., & Rothwell PM Prof FMedSci. (2012). Effects of regular aspirin on long-term cancer incidence and metastasis: a systematic comparison of evidence from observational studies versus randomised trials. *Lancet Oncology, The*, *13*(5), 518–527.
- Amado, R. G., Wolf, M., Peeters, M., Van Cutsem, E., Siena, S., Freeman, D. J., ... Chang, D. D. (2008). Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *26*(10), 1626–34. doi:10.1200/JCO.2007.14.7116
- Amin, N., Byrne, E., Johnson, J., Chenevix-Trench, G., Walter, S., Nolte, I. M., ... van Duijn, C. M. (2012). Genome-wide association analysis of coffee drinking suggests association with CYP1A1/CYP1A2 and NRCAM. *Molecular Psychiatry*, *17*(11), 1116–29. doi:10.1038/mp.2011.101
- Ang, P. W., Loh, M., Liem, N., Lim, P. L., Grieu, F., Vaithilingam, A., ... Soong, R. (2010). Comprehensive profiling of DNA methylation in colorectal cancer reveals subgroups with distinct clinicopathological and molecular features. *BMC Cancer*, *10*(1), 227. doi:10.1186/1471-2407-10-227
- Aplin, A. E., Howe, A., Alahari, S. K., & Juliano, R. L. (1998). Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacological Reviews*, *50*(2), 197–263.
- Armaghany, T., Wilson, J. D., Chu, Q., & Mills, G. (2012). Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointestinal Cancer Research : GCR*, *5*(1), 19–27.
- Atkin, W. S., Morson, B. C., & Cuzick, J. (1992). Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenomas. *The New England Journal of Medicine*, *326*(10), 658–62. doi:10.1056/NEJM199203053261002
- AWMF. (2014a). S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom - Kurzversion 1.1. Leitlinienprogramm Onkologie. Berlin [Online im Internet]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF Registrierungsnummer: 021-007OL. Retrieved January 9, 2015, from <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html>
- AWMF. (2014b). S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom - Langversion 1.1. Leitlinienprogramm Onkologie. Berlin [Online im Internet]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF Registrierungsnummer: 021-007OL. Retrieved December 20, 2014, from <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html>



- Backer, S., Sakurai, T., Grumet, M., Sotelo, C., & Bloch-Gallego, E. (2002). Nr-CAM and TAG-1 are expressed in distinct populations of developing precerebellar and cerebellar neurons. *Neuroscience*, *113*(4), 743–8.
- Bao, S., Wu, Q., Li, Z., Sathornsumetee, S., Wang, H., McLendon, R. E., ... Rich, J. N. (2008). Targeting cancer stem cells through L1CAM suppresses glioma growth. *Cancer Research*, *68*(15), 6043–8. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-1079
- Bardhan, K., & Liu, K. (2013). Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers*, *5*(2), 676–713. doi:10.3390/cancers5020676
- BDI. (2015). Aufbau von Magen und Darm - Dickdarm - Aufbau und Funktion. Berufsverband Deutscher Internisten e.V. Wiesbaden [Online im Internet.] Retrieved January 9, 2015, from [http://www.internisten-im-netz.de/de\\_dickdarm-aufbau-funktion\\_1515.html](http://www.internisten-im-netz.de/de_dickdarm-aufbau-funktion_1515.html)
- Bennett, V., & Baines, A. J. (2001). Spectrin and ankyrin-based pathways: metazoan inventions for integrating cells into tissues. *Physiological Reviews*, *81*(3), 1353–92.
- Berman, J. M., Cheung, R. J., & Weinberg, D. S. (2000). Surveillance after colorectal cancer resection. *Lancet*, *355*(9201), 395–9. doi:10.1016/S0140-6736(99)06552-6
- Bettington, M., Walker, N., Clouston, A., Brown, I., Leggett, B., & Whitehall, V. (2013). The serrated pathway to colorectal carcinoma: Current concepts and challenges. *Histopathology*, *62*(3), 367–386.
- Bibeau, F., Boissière-Michot, F., Sabourin, J.-C., Gourgou-Bourgade, S., Radal, M., Penault-Llorca, F., ... Ychou, M. (2006). Assessment of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in primary colorectal carcinomas and their related metastases on tissue sections and tissue microarray. *Virchows Archiv : An International Journal of Pathology*, *449*(3), 281–7. doi:10.1007/s00428-006-0247-9
- Bipat, S., Glas, A. S., Slors, F. J. M., Zwinderman, A. H., Bossuyt, P. M. M., & Stoker, J. (2004). Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging--a meta-analysis. *Radiology*, *232*(3), 773–83. doi:10.1148/radiol.2323031368
- Bisgaard, M. L., Fenger, K., Bülow, S., Niebuhr, E., & Mohr, J. (1994). Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. *Human Mutation*, *3*(2), 121–5. doi:10.1002/humu.1380030206
- Bittinger, M. (2014). Normalbefunde der einzelnen Darmabschnitt. In H. Messmann (Ed.), *Lehratlas der Koloskopie: Das Referenzwerk zur Untersuchungstechnik und Befundinterpretation* (2nd ed., pp. 76–89). Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Björk, J., Akerbrant, H., Iselius, L., Bergman, A., Engwall, Y., Wahlström, J., ... Hultcrantz, R. (2001). Periampullary adenomas and adenocarcinomas in familial adenomatous polyposis: cumulative risks and APC gene mutations. *Gastroenterology*, *121*(5), 1127–35.

- Bogaert, J., & Prenen, H. (2014). Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of Gastroenterology : Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 27(1), 9–14.
- Bonelli, L., Martines, H., Conio, M., Bruzzi, P., & Aste, H. (1988). Family history of colorectal cancer as a risk factor for benign and malignant tumours of the large bowel. A case-control study. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 41(4), 513–7.
- Bonora, E., Lamb, J. A., Barnby, G., Sykes, N., Moberly, T., Beyer, K. S., ... Monaco, A. P. (2005). Mutation screening and association analysis of six candidate genes for autism on chromosome 7q. *European Journal of Human Genetics : EJHG*, 13(2), 198–207. doi:10.1038/sj.ejhg.5201315
- Boo, Y.-J., Park, J.-M., Kim, J., Chae, Y.-S., Min, B.-W., Um, J.-W., & Moon, H.-Y. (2007). L1 expression as a marker for poor prognosis, tumor progression, and short survival in patients with colorectal cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 14(5), 1703–11. doi:10.1245/s10434-006-9281-8
- Borrello, M. G., Alberti, L., Fischer, A., Degl'innocenti, D., Ferrario, C., Gariboldi, M., ... Pierotti, M. A. (2005). Induction of a proinflammatory program in normal human thyrocytes by the RET/PTC1 oncogene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(41), 14825–30. doi:10.1073/pnas.0503039102
- Boutron, M. C., Faivre, J., Quipourt, V., Senesse, P., & Michiels, C. (1995). Family history of colorectal tumours and implications for the adenoma-carcinoma sequence: a case control study. *Gut*, 37(6), 830–4.
- Bouvier, A.-M., Latournerie, M., Jooste, V., Lepage, C., Cottet, V., & Faivre, J. (2008). The lifelong risk of metachronous colorectal cancer justifies long-term colonoscopic follow-up. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, 44(4), 522–7. doi:10.1016/j.ejca.2008.01.007
- Boveri, T. (1914). *Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren*. Jena: Gustav Fischer.
- Brümmendorf, T., & Rathjen, F. G. (1993). Axonal glycoproteins with immunoglobulin- and fibronectin type III-related domains in vertebrates: structural features, binding activities, and signal transduction. *Journal of Neurochemistry*, 61(4), 1207–19.
- Brümmendorf, T., & Rathjen, F. G. (1998). Molecular Interactions Involving Immunoglobulin Superfamily Adhesion Proteins. In P. Sonderegger (Ed.), *Ig Superfamily Molecules in the Nervous System* (pp. 23–57). Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- Bülow, S., Björk, J., Christensen, I. J., Fausa, O., Järvinen, H., Moesgaard, F., & Vasen, H. F. A. (2004). Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Gut*, 53(3), 381–6.
- Burstein, H. J. (2005). The distinctive nature of HER2-positive breast cancers. *The New England Journal of Medicine*, 353(16), 1652–4. doi:10.1056/NEJMp058197

- Burt, R. W. (2000). Colon cancer screening. *Gastroenterology*, *119*(3), 837–853. doi:10.1053/gast.2000.16508
- Burt, R. W., Leppert, M. F., Slattery, M. L., Samowitz, W. S., Spirio, L. N., Kerber, R. A., ... White, R. L. (2004). Genetic testing and phenotype in a large kindred with attenuated familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology*, *127*(2), 444–51.
- Cavallaro, U., & Christofori, G. (2004). Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nature Reviews. Cancer*, *4*(2), 118–32. doi:10.1038/nrc1276
- Chan, A. T., Giovannucci, E. L., Meyerhardt, J. A., Schernhammer, E. S., Curhan, G. C., & Fuchs, C. S. (2005). Long-term use of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of colorectal cancer. *JAMA*, *294*(8), 914–23. doi:10.1001/jama.294.8.914
- Christophi, C., Nikfarjam, M., Malcontenti-Wilson, C., & Muralidharan, V. (2004). Long-term survival of patients with unresectable colorectal liver metastases treated by percutaneous interstitial laser thermotherapy. *World Journal of Surgery*, *28*(10), 987–94. doi:10.1007/s00268-004-7202-1
- Citarda, F., Tomaselli, G., Capocaccia, R., Barcherini, S., & Crespi, M. (2001). Efficacy in standard clinical practice of colonoscopic polypectomy in reducing colorectal cancer incidence. *Gut*, *48*(6), 812–5.
- Conacci-Sorrell, M. E., Ben-yedidia, T., Shtutman, M., Feinstein, E., Einat, P., & Ben-ze, A. (2002). Nr-CAM is a target gene of the  $\beta$ -catenin / LEF-1 pathway in melanoma and colon cancer and its expression enhances motility and confers tumorigenesis. *Genes & Development*, *1*, 2058–2072. doi:10.1101/gad.227502.
- Conacci-Sorrell, M., Kaplan, A., Raveh, S., Gavert, N., Sakurai, T., & Ben-Ze'ev, A. (2005). The shed ectodomain of Nr-CAM stimulates cell proliferation and motility, and confers cell transformation. *Cancer Research*, *65*(24), 11605–12. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-2647
- Coppedè, F. (2014). Epigenetic biomarkers of colorectal cancer: Focus on DNA methylation. *Cancer Letters*, *342*(2), 238–247.
- Coppedè, F., Lopomo, A., Spisni, R., & Migliore, L. (2014). Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *20*(4), 943–56. doi:10.3748/wjg.v20.i4.943
- Cunningham, J. M., Christensen, E. R., Tester, D. J., Kim, C. Y., Roche, P. C., Burgart, L. J., & Thibodeau, S. N. (1998). Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Research*, *58*(15), 3455–60.
- Dancau, A.-M. (2012). *Prävalenz und klinische Signifikanz von NrCAM Expression in humanen Tumortypen*. Med. Dissertation. Universität Hamburg.

- Dancau, A.-M., Simon, R., Mirlacher, M., & Sauter, G. (2010). Tissue Microarrays. In R. Grützmann & C. Pilarsky (Eds.), *Cancer Gene profiling - Methods and Protocols* (pp. 49–60). Dresden: Humana Press. doi:10.1007/978-1-59745-545-9
- Daniel, F. I., Cherubini, K., Yurgel, L. S., de Figueiredo, M. A. Z., & Salum, F. G. (2011). The role of epigenetic transcription repression and DNA methyltransferases in cancer. *Cancer*, *117*(4), 677–87. doi:10.1002/cncr.25482
- Davey, F., Hill, M., Falk, J., Sans, N., & Gunn-Moore, F. J. (2005). Synapse associated protein 102 is a novel binding partner to the cytoplasmic terminus of neurone-glia related cell adhesion molecule. *Journal of Neurochemistry*, *94*(5), 1243–53. doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03271.x
- Davies, D. R., & Metzger, H. (1983). Structural basis of antibody function. *Annual Review of Immunology*, *1*, 87–117. doi:10.1146/annurev.iy.01.040183.000511
- Davis, J. Q., Lambert, S., & Bennett, V. (1996). Molecular composition of the node of Ranvier: identification of ankyrin-binding cell adhesion molecules neurofascin (mucin+/third FNIII domain-) and NrCAM at nodal axon segments. *The Journal of Cell Biology*, *135*(5), 1355–67.
- De Grève, J., Teugels, E., Geers, C., Decoster, L., Galdermans, D., De Mey, J., ... Schallier, D. (2012). Clinical activity of afatinib (BIBW 2992) in patients with lung adenocarcinoma with mutations in the kinase domain of HER2/neu. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*, *76*(1), 123–7. doi:10.1016/j.lungcan.2012.01.008
- De la Rosa, E. J., Kayyem, J. F., Roman, J. M., Stierhof, Y. D., Dreyer, W. J., & Schwarz, U. (1990). Topologically restricted appearance in the developing chick retinotectal system of Bravo, a neural surface protein: experimental modulation by environmental cues. *The Journal of Cell Biology*, *111*(6 Pt 2), 3087–96.
- De Oliveira, A. T. T., Matos, D., Logullo, A. F., da Silva, S. R. M., Neto, R. A., Filho, A. L., & Saad, S. S. (2009). MET Is Highly Expressed in Advanced Stages of Colorectal Cancer and Indicates Worse Prognosis and Mortality. *Anticancer Res*, *29*(11), 4807–4811.
- Delys, L., Detours, V., Franc, B., Thomas, G., Bogdanova, T., Tronko, M., ... Maenhaut, C. (2007). Gene expression and the biological phenotype of papillary thyroid carcinomas. *Oncogene*, *26*(57), 7894–903. doi:10.1038/sj.onc.1210588
- Demyanenko, G. P., Riday, T. T., Tran, T. S., Dalal, J., Darnell, E. P., Brennaman, L. H., ... Maness, P. F. (2011). NrCAM deletion causes topographic mistargeting of thalamocortical axons to the visual cortex and disrupts visual acuity. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *31*(4), 1545–58. doi:10.1523/JNEUROSCI.4467-10.2011
- DGHO. (2012). Kolonkarzinom - Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie. Berlin [Online im Internet]. Retrieved February 2, 2015, from <https://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/kolonkarzinom>

- Dhodapkar, K. M., Friedlander, D., Scholes, J., & Grumet, M. (2001). Differential expression of the cell-adhesion molecule Nr-CAM in hyperplastic and neoplastic human pancreatic tissue. *Human Pathology*, *32*(4), 396–400. doi:10.1053/hupa.2001.23526
- Di Fiore, F., Blanchard, F., Charbonnier, F., Le Pessot, F., Lamy, A., Galais, M. P., ... Frebourg, T. (2007). Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *British Journal of Cancer*, *96*(8), 1166–9. doi:10.1038/sj.bjc.6603685
- Dirks, P., Thomas, U., & Montag, D. (2006). The cytoplasmic domain of NrCAM binds to PDZ domains of synapse-associated proteins SAP90/PSD95 and SAP97. *The European Journal of Neuroscience*, *24*(1), 25–31. doi:10.1111/j.1460-9568.2006.04899.x
- Docherty, S. J., Davis, O. S. P., Kovas, Y., Meaburn, E. L., Dale, P. S., Petrill, S. A., ... Plomin, R. (2010). A genome-wide association study identifies multiple loci associated with mathematics ability and disability. *Genes, Brain, and Behavior*, *9*(2), 234–47. doi:10.1111/j.1601-183X.2009.00553.x
- Duffy, M. J. (2001). Carcinoembryonic Antigen as a Marker for Colorectal Cancer: Is It Clinically Useful? *Clin. Chem.*, *47*(4), 624–630.
- Duffy, M. J., van Dalen, A., Haglund, C., Hansson, L., Klapdor, R., Lamerz, R., ... Topolcan, O. (2003). Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, *39*(6), 718–27.
- East, J. E., Saunders, B. P., & Jass, J. R. (2008). Sporadic and syndromic hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colon: classification, molecular genetics, natural history, and clinical management. *Gastroenterology Clinics of North America*, *37*(1), 25–46, v. doi:10.1016/j.gtc.2007.12.014
- Esteller, M. (2005). Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *45*, 629–656.
- Esteller, M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nature Reviews. Genetics*, *8*(4), 286–98. doi:10.1038/nrg2005
- Falk, J., Julien, F., Bechara, A., Fiore, R., Nawabi, H., Zhou, H., ... Castellani, V. (2005). Dual functional activity of semaphorin 3B is required for positioning the anterior commissure. *Neuron*, *48*(1), 63–75. doi:10.1016/j.neuron.2005.08.033
- Fazekas, K., Csuka, O., Köves, I., Rásó, E., & Tímár, J. (2000). Experimental and clinicopathologic studies on the function of the HGF receptor in human colon cancer metastasis. *Clinical & Experimental Metastasis*, *18*(8), 639–649. doi:10.1023/A:1013136303880
- Fearon, E. R. (2011). Molecular Genetics of Colorectal Cancer. *Annual Review of Pathology*, *6*, 479–507. doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130235

- Fearon, E. R., & Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, *61*(5), 759–767.
- Feinberg, K., Eshed-Eisenbach, Y., Frechter, S., Amor, V., Salomon, D., Sabanay, H., ... Peles, E. (2010). A glial signal consisting of gliomedin and NrCAM clusters axonal Na<sup>+</sup> channels during the formation of nodes of Ranvier. *Neuron*, *65*(4), 490–502. doi:10.1016/j.neuron.2010.02.004
- Flossmann, E., & Rothwell, P. M. (2007). Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet*, *369*(9573), 1603–13. doi:10.1016/S0140-6736(07)60747-8
- Foulds, L. (1958). The natural history of cancer. *Journal of Chronic Diseases*, *8*(1), 2–37. doi:10.1016/0021-9681(58)90039-0
- Frühmorgen, P., Ruffle, W., Kobras, S., Seeliger, H., & Herrmann, G. (2003). [Endoscopic Therapy of Early Colorectal Cancer (pT1) - A Prospective Study]. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, *41*(8), 703–10. doi:10.1055/s-2003-41213
- Gala, M., & Chung, D. C. (2011). Hereditary colon cancer syndromes. *Seminars in Oncology*, *38*(4), 490–9. doi:10.1053/j.seminoncol.2011.05.003
- Galiatsatos, P., & Foulkes, W. D. (2006). Familial adenomatous polyposis. *The American Journal of Gastroenterology*, *101*(2), 385–98. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00375.x
- Gamble, J. R., Matthias, L. J., Meyer, G., Kaur, P., Russ, G., Faull, R., ... Vadas, M. A. (1993). Regulation of in vitro capillary tube formation by anti-integrin antibodies. *The Journal of Cell Biology*, *121*(4), 931–43.
- Gardiner-Garden, M., & Frommer, M. (1987). CpG islands in vertebrate genomes. *Journal of Molecular Biology*, *196*(2), 261–82.
- Gemeinsamer Bundesausschuss. (2009). Krebsfrüherkennungs-Richtlinie. Berlin [Online im Internet]. Retrieved April 2, 2015, from <https://www.g-ba.de/informationen/richtlinien/17/>
- Giardiello, F. M., Brensinger, J. D., Tersmette, A. C., Goodman, S. N., Petersen, G. M., Booker, S. V., ... Offerhaus, J. A. (2000). Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology*, *119*(6), 1447–53.
- Glienke, J., Schmitt, A. O., Pilarsky, C., Hinzmann, B., Weiss, B., Rosenthal, A., & Thierauch, K. H. (2000). Differential gene expression by endothelial cells in distinct angiogenic states. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, *267*(9), 2820–30.
- Górka, B., Skubis-Zegadło, J., Mikula, M., Bardadin, K., Paliczka, E., & Czarnocka, B. (2007). NrCAM, a neuronal system cell-adhesion molecule, is induced in papillary thyroid carcinomas. *British Journal of Cancer*, *97*(4), 531–8. doi:10.1038/sj.bjc.6603915

- Grady, W. M., & Carethers, J. M. (2008). Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*, *135*(4), 1079–99. doi:10.1053/j.gastro.2008.07.076
- Grumet, M. (1997). Nr-CAM: a cell adhesion molecule with ligand and receptor functions. *Cell and Tissue Research*, *290*(2), 423–8.
- Grumet, M., Mauro, V., Burgoon, M. P., Edelman, G. M., & Cunningham, B. A. (1991). Structure of a new nervous system glycoprotein, Nr-CAM, and its relationship to subgroups of neural cell adhesion molecules. *The Journal of Cell Biology*, *113*(6), 1399–412.
- Guillou, P. J., Quirke, P., Thorpe, H., Walker, J., Jayne, D. G., Smith, A. M. H., ... Brown, J. M. (2005). Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*, *365*(9472), 1718–26. doi:10.1016/S0140-6736(05)66545-2
- Hamilton, S., Vogelstein, B., Kudo, S., Riboli, E., Nakamura, S., Hainaut, P., ... Jass, J. (2000). Tumours of the Colon and Rectum. In S. Hamilton & L. Aaltonen (Eds.), *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system*. (pp. 103–143). Lyon: IARC Press.
- Hammarström, S. (1999). The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Seminars in Cancer Biology*, *9*(2), 67–81. doi:10.1006/scbi.1998.0119
- Hemminki, A., Markie, D., Tomlinson, I., Avizienyte, E., Roth, S., Loukola, A., ... Aaltonen, L. A. (1998). A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature*, *391*(6663), 184–7. doi:10.1038/34432
- Hermanek, P. (1983). Polypectomy in the colorectum histological and oncological aspects. *Endoscopy*, *15 Suppl 1*, 158–61. doi:10.1055/s-2007-1021496
- Hermanek, P. (2000). Methodik der histopathologischen Untersuchung von Resektaten kolorektaler Karzinome. *Chirurgische Gastroenterologie*, *16*(3), 255–259. doi:10.1159/000012660
- Herron, L. R., Hill, M., Davey, F., & Gunn-Moore, F. J. (2009). The intracellular interactions of the L1 family of cell adhesion molecules. *The Biochemical Journal*, *419*(3), 519–31. doi:10.1042/BJ20082284
- Hohenberger, W., Weber, K., Matzel, K., Papadopoulos, T., & Merkel, S. (2009). Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation--technical notes and outcome. *Colorectal Disease : The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*, *11*(4), 354–64; discussion 364–5. doi:10.1111/j.1463-1318.2008.01735.x

- Holinski-Feder, E., & Morak, M. (2010). Hyperplastische Polypen, sessile serratierte Adenome, konventionelle Adenome: Molekulare Pathway und deren klinische Relevanz. *Journal Für Gastroenterologische Und Hepatologische Erkrankungen*, 8(2), 18–25.
- Hortsch, M. (2000). Structural and functional evolution of the L1 family: are four adhesion molecules better than one? *Molecular and Cellular Neurosciences*, 15(1), 1–10. doi:10.1006/mcne.1999.0809
- Howe, J. R. (1998). Mutations in the SMAD4/DPC4 Gene in Juvenile Polyposis. *Science*, 280(5366), 1086–1088. doi:10.1126/science.280.5366.1086
- Howe, J. R., Mitros, F. A., & Summers, R. W. (1998). The risk of gastrointestinal carcinoma in familial juvenile polyposis. *Annals of Surgical Oncology*, 5(8), 751–6.
- Hu, W. T., Chen-Plotkin, A., Arnold, S. E., Grossman, M., Clark, C. M., Shaw, L. M., ... Trojanowski, J. Q. (2010). Novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Acta Neuropathologica*, 119(6), 669–78. doi:10.1007/s00401-010-0667-0
- Institute of Pathology Heidelberg. (2014). A70: Adenokarzinom des Kolon. electronic learning - Institute of Pathology Heidelberg. Heidelberg [Online im Internet]. Retrieved February 2, 2015, from <http://eliph.klinikum.uni-heidelberg.de/allg/78>
- Ishiguro, H., Liu, Q.-R., Gong, J.-P., Hall, F. S., Ujike, H., Morales, M., ... Uhl, G. R. (2006). NrCAM in addiction vulnerability: positional cloning, drug-regulation, haplotype-specific expression, and altered drug reward in knockout mice. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(3), 572–84. doi:10.1038/sj.npp.1300855
- Janik, J., & Czarnocka, B. (2010). NRCAM (neuronal cell adhesion molecule). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 14(1). doi:10.4267/2042/44660
- Jantscheff, P., Terracciano, L., Lowy, A., Glatz-Krieger, K., Grunert, F., Micheel, B., ... Rochlitz, C. (2003). Expression of CEACAM6 in resectable colorectal cancer: a factor of independent prognostic significance. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 21(19), 3638–46. doi:10.1200/JCO.2003.55.135
- Jarzab, B., Wiench, M., Fjarewicz, K., Simek, K., Jarzab, M., Oczko-Wojciechowska, M., ... Swierniak, A. (2005). Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications. *Cancer Research*, 65(4), 1587–97. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-3078
- Jasperson, K. W., Tuohy, T. M., Neklason, D. W., & Burt, R. W. (2010). Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2044–58. doi:10.1053/j.gastro.2010.01.054



- Jass, J. R. (2007). Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology*, *50*(1), 113–30. doi:10.1111/j.1365-2559.2006.02549.x
- Jass, J. R., Baker, K., Zlobec, I., Higuchi, T., Barker, M., Buchanan, D., & Young, J. (2006). Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a “fusion” pathway to colorectal cancer. *Histopathology*, *49*(2), 121–31. doi:10.1111/j.1365-2559.2006.02466.x
- Jayne, D. G., Thorpe, H. C., Copeland, J., Quirke, P., Brown, J. M., & Guillou, P. J. (2010). Five-year follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of laparoscopically assisted versus open surgery for colorectal cancer. *The British Journal of Surgery*, *97*(11), 1638–45. doi:10.1002/bjs.7160
- Jeffery, G. M., Hickey, B. E., & Hider, P. (2002). Follow-up strategies for patients treated for non-metastatic colorectal cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (1), CD002200. doi:10.1002/14651858.CD002200
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *61*(2), 69–90. doi:10.3322/caac.20107
- Jiang, W. G., Lloyds, D., Puntis, M. C., Nakamura, T., & Hallett, M. B. (1993). Regulation of spreading and growth of colon cancer cells by hepatocyte growth factor. *Clinical & Experimental Metastasis*, *11*(3), 235–42.
- Johns, L. E., & Houlston, R. S. (2001). A systematic review and meta-analysis of familial colorectal cancer risk. *The American Journal of Gastroenterology*, *96*(10), 2992–3003. doi:10.1111/j.1572-0241.2001.04677.x
- Jørgensen, O. D., Kronborg, O., & Fenger, C. (1993). The Funen Adenoma Follow-Up Study. Characteristics of patients and initial adenomas in relation to severe dysplasia. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *28*(3), 239–243.
- Jurowich, C. F., Reibetanz, J., Krajcinovic, K., Larena-Avellaneda, A., Isbert, C., Oberender, P., ... von Rahden, B. H. A. (2011). [Cost analysis of the fast track concept in elective colonic surgery]. *Zentralblatt Für Chirurgie*, *136*(3), 256–63. doi:10.1055/s-0029-1224745
- Kabat, E. A., Wu, T. Te, Perry, H. M., Gottesman, K. S., & Foeller, C. (1991). *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (5th ed.). Bethesda, MD: U.S. Department of Health and Human Services.
- Kane, M. F., Loda, M., Gaida, G. M., Lipman, J., Mishra, R., Goldman, H., ... Kolodner, R. (1997). Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Research*, *57*(5), 808–11.

- Kayem, J. F., Roman, J. M., de la Rosa, E. J., Schwarz, U., & Dreyer, W. J. (1992). Bravo/Nr-CAM is closely related to the cell adhesion molecules L1 and Ng-CAM and has a similar heterodimer structure. *The Journal of Cell Biology*, *118*(5), 1259–70.
- Kehlet, H., & Wilmore, D. W. (2008). Evidence-based surgical care and the evolution of fast-track surgery. *Annals of Surgery*, *248*(2), 189–98. doi:10.1097/SLA.0b013e31817f2c1a
- Key, M. P. (2009). Immunohistochemistry Staining Methods. In G. L. P. Kumar & L. P. Rudbeck (Eds.), *Education Guide - Immunohistochemical Staining Methods* (5th ed., pp. 57–60). Carpinteria, California: DAKO North America.
- Kikuchi, R., Takano, M., Takagi, K., Fujimoto, N., Nozaki, R., Fujiyoshi, T., & Uchida, Y. (1995). Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines. *Diseases of the Colon and Rectum*, *38*(12), 1286–95.
- Kim, E. R., & Kim, Y.-H. (2014). Clinical application of genetics in management of colorectal cancer. *Intestinal Research*, *12*(3), 184–93. doi:10.5217/ir.2014.12.3.184
- Kim, H.-J., Kim, H. G., Kim, M.-H., Kwack, K. B., Park, J. K., Kim, T., ... Chung, J.-H. (2009). Association between neuronal cell adhesion molecule (NRCAM) single nucleotide polymorphisms and schizophrenia in a Korean population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, *63*(1), 123–4. doi:10.1111/j.1440-1819.2008.01893.x
- Kim, K. H., Yoon, Y. S., Yu, C. S., Kim, T. W., Kim, H. J., Kim, P. N., ... Kim, J. C. (2011). Comparative analysis of radiofrequency ablation and surgical resection for colorectal liver metastases. *Journal of the Korean Surgical Society*, *81*(1), 25–34. doi:10.4174/jkss.2011.81.1.25
- Kinzler, K. W., & Vogelstein, B. (1996). Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*, *87*(2), 159–70.
- Klymkowsky, M. W., Williams, B. O., Barish, G. D., Varmus, H. E., & Vourgourakis, Y. E. (1999). Membrane-anchored plakoglobins have multiple mechanisms of action in Wnt signaling. *Molecular Biology of the Cell*, *10*(10), 3151–69.
- Kononen, J., Bubendorf, L., Kallionimi, A., Bärnlund, M., Schraml, P., Leighton, S., ... Kallionimi, O.-P. (1998). Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nature Medicine*, *4*(7), 844–847. doi:10.1038/nm0798-844
- Kovacs, M. E., Papp, J., Szentirmay, Z., Otto, S., & Olah, E. (2009). Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Human Mutation*, *30*(2), 197–203. doi:10.1002/humu.20942
- Krohn, A. (2014). *Identifizierung, funktionelle Charakterisierung und Tumor-Relevanz häufiger Kopiezahl-Veränderungen beim humanen Prostatakarzinom*. Med. Dissertation. Universität Hamburg.

- Krushel, L. A., Prieto, A. L., Cunningham, B. A., & Edelman, G. M. (1993). Expression patterns of the cell adhesion molecule Nr-CAM during histogenesis of the chick nervous system. *Neuroscience*, *53*(3), 797–812.
- Kuhry, E., Schwenk, W. F., Gaupset, R., Romild, U., & Bonjer, H. J. (2008). Long-term results of laparoscopic colorectal cancer resection. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2), CD003432. doi:10.1002/14651858.CD003432.pub2
- Laé, M., Ahn, E. H., Mercado, G. E., Chuai, S., Edgar, M., Pawel, B. R., ... Ladanyi, M. (2007). Global gene expression profiling of PAX-FKHR fusion-positive alveolar and PAX-FKHR fusion-negative embryonal rhabdomyosarcomas. *The Journal of Pathology*, *212*(2), 143–51. doi:10.1002/path.2170
- Lane, R. P., Chen, X. N., Yamakawa, K., Vielmetter, J., Korenberg, J. R., & Dreyer, W. J. (1996). Characterization of a highly conserved human homolog to the chicken neural cell surface protein Bravo/Nr-CAM that maps to chromosome band 7q31. *Genomics*, *35*(3), 456–65. doi:10.1006/geno.1996.0385
- Lao, V. V., & Grady, W. M. (2011). Epigenetics and colorectal cancer. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, *8*(12), 686–700. doi:10.1038/nrgastro.2011.173
- Larue, L., & Delmas, V. (2006). The WNT/Beta-catenin pathway in melanoma. *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library*, *11*, 733–42.
- Laurent-Puig, P., Blons, H., & Cugnenc, P. H. (1999). Sequence of molecular genetic events in colorectal tumorigenesis. *European Journal of Cancer Prevention : The Official Journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*, *8 Suppl 1*, S39–47.
- Le Voyer, T. E., Sigurdson, E. R., Hanlon, A. L., Mayer, R. J., Macdonald, J. S., Catalano, P. J., & Haller, D. G. (2003). Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *21*(15), 2912–9. doi:10.1200/JCO.2003.05.062
- Legolvan, M. P., Taliano, R. J., & Resnick, M. B. (2012). Application of molecular techniques in the diagnosis, prognosis and management of patients with colorectal cancer: a practical approach. *Human Pathology*, *43*(8), 1157–68. doi:10.1016/j.humpath.2012.03.003
- Lengauer, C., Kinzler, K. W., & Vogelstein, B. (1997). Genetic instability in colorectal cancers. *Nature*, *386*(6625), 623–7. doi:10.1038/386623a0
- Liang, Y., Li, G., Chen, P., & Yu, J. (2008). Laparoscopic versus open colorectal resection for cancer: a meta-analysis of results of randomized controlled trials on recurrence. *European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, *34*(11), 1217–24. doi:10.1016/j.ejso.2007.11.004

- Liu, B., Parsons, R., Papadopoulos, N., Nicolaides, N. C., Lynch, H. T., Watson, P., ... Kinzler, K. W. (1996). Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nature Medicine*, 2(2), 169–174. doi:10.1038/nm0296-169
- Longo, D. L., Fauci, A., Kasper, D., Hauser, S., Jameson, J. L., & Loscalzo, J. (2011). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. (D. L. Longo, A. Fauci, D. Kasper, S. Hauser, J. L. Jameson, & J. Loscalzo, Eds.) (18th ed.). New York: McGraw-Hill Professional.
- Lukashova-v Zangen, I., Kneitz, S., Monoranu, C.-M., Rutkowski, S., Hinkes, B., Vince, G. H., ... Roggendorf, W. (2007). Ependymoma gene expression profiles associated with histological subtype, proliferation, and patient survival. *Acta Neuropathologica*, 113(3), 325–37. doi:10.1007/s00401-006-0190-5
- Lüllmann-Rauch, R. (2006). *Taschenlehrbuch Histologie* (2nd ed.). Stuttgart - New York: Georg Thieme Verlag.
- Lustig, M., Erskine, L., Mason, C. A., Grumet, M., & Sakurai, T. (2001). Nr-CAM expression in the developing mouse nervous system: Ventral midline structures, specific fiber tracts, and neuropilar regions. *The Journal of Comparative Neurology*, 434(1), 13–28. doi:10.1002/cne.1161
- Lynch, H. A., Gatalica, Z., & Knezetic, J. (2009). *Molecular Genetics and Hereditary Colorectal Cancer : Resolution of the Diagnostic Dilemma of Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer, Lynch Syndrome, Familial Colorectal Cancer Type X, and Multiple Polyposis Syndromes*. ASCO Educational Booklet. Alexandria.
- Macdonald, J. S. (1999). Carcinoembryonic antigen screening: pros and cons. *Seminars in Oncology*, 26(5), 556–60.
- Mäkelä, J. T., Laitinen, S. O., & Kairaluoma, M. I. (1995). Five-year follow-up after radical surgery for colorectal cancer. Results of a prospective randomized trial. *Archives of Surgery (Chicago, Ill. : 1960)*, 130(10), 1062–7.
- Mäkinen, M. J. (2007). Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology*, 50(1), 131–50. doi:10.1111/j.1365-2559.2006.02548.x
- Maness, P. F., & Schachner, M. (2007). Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration. *Nature Neuroscience*, 10(1), 19–26. doi:10.1038/nn1827
- Marisa, L., de Reyniès, A., Duval, A., Selves, J., Gaub, M. P., Vescovo, L., ... Boige, V. (2013). Gene expression classification of colon cancer into molecular subtypes: characterization, validation, and prognostic value. *PLoS Medicine*, 10(5), e1001453. doi:10.1371/journal.pmed.1001453
- Marra, G., & Boland, C. R. (1995). Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer: the Syndrome, the Genes, and Historical Perspectives. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 87(15), 1114–1125. doi:10.1093/jnci/87.15.1114

- Marui, T., Funatogawa, I., Koishi, S., Yamamoto, K., Matsumoto, H., Hashimoto, O., ... Kato, N. (2009). Association of the neuronal cell adhesion molecule (NRCAM) gene variants with autism. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 12(1), 1–10. doi:10.1017/S1461145708009127
- Mauro, V. P., Krushel, L. A., Cunningham, B. A., & Edelman, G. M. (1992). Homophilic and heterophilic binding activities of Nr-CAM, a nervous system cell adhesion molecule. *The Journal of Cell Biology*, 119(1), 191–202.
- Mayer, A., Takimoto, M., Fritz, E., Schellander, G., Kofler, K., & Ludwig, H. (1993). The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdm gene expression in colorectal cancer. *Cancer*, 71(8), 2454–60.
- McEwen, D. P., & Isom, L. L. (2004). Heterophilic interactions of sodium channel beta1 subunits with axonal and glial cell adhesion molecules. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(50), 52744–52. doi:10.1074/jbc.M405990200
- Messmann, H. (2011). Kolorektales Karzinom. In *Klinische Gastroenterologie* (1. Auflage., pp. 417–456). Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Mokhtari, M., Ardestani, M. M., & Movahedipour, M. (2012). An immunohistochemical study of EGFR expression in colorectal cancer and its correlation with lymph nodes status and tumor grade. *Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 17(8), 741–4.
- Morales, G., Hubert, M., Brümmendorf, T., Treubert, U., Tárnok, A., Schwarz, U., & Rathjen, F. G. (1993). Induction of axonal growth by heterophilic interactions between the cell surface recognition proteins F11 and Nr-CAM/Bravo. *Neuron*, 11(6), 1113–22.
- Moré, M. I., Kirsch, F. P., & Rathjen, F. G. (2001). Targeted ablation of NrCAM or ankyrin-B results in disorganized lens fibers leading to cataract formation. *The Journal of Cell Biology*, 154(1), 187–96.
- Mulier, S., Ruers, T., Jamart, J., Michel, L., Marchal, G., & Ni, Y. (2009). Radiofrequency ablation versus resection for resectable colorectal liver metastases: Time for a randomized trial? An update. In *Digestive Surgery* (Vol. 25, pp. 445–460).
- Müller, M. (2013). Kolonkarzinom. In *Chirurgie: für Studium und Praxis 2014/15* (12th ed., pp. 195–199). Breisach am Rhein: Medizinische Vlg- u. Inform.-Dienste.
- National Institute for Health and Clinical Excellence. (2009). Radiofrequency ablation for colorectal liver metastases. *NICE Interventional Procedure Guidance*, 327.
- National Institute for Health and Clinical Excellence. (2011). Selective internal radiation therapy for non-resectable colorectal metastases in the liver. *NICE Interventional Procedure Guidance*, 401.

- Neri, E., Giusti, P., Battolla, L., Vagli, P., Boraschi, P., Lencioni, R., ... Bartolozzi, C. (2002). Colorectal cancer: role of CT colonography in preoperative evaluation after incomplete colonoscopy. *Radiology*, 223(3), 615–9. doi:10.1148/radiol.2233010928
- Nicholson, R. ., Gee, J. M. ., & Harper, M. . (2001). EGFR and cancer prognosis. *European Journal of Cancer*, 37, 9–15. doi:10.1016/S0959-8049(01)00231-3
- Niessen, R. C., Hofstra, R. M. W., Westers, H., Ligtenberg, M. J. L., Kooi, K., Jager, P. O. J., ... Sijmons, R. H. (2009). Germline hypermethylation of MLH1 and EPCAM deletions are a frequent cause of Lynch syndrome. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 48(8), 737–44. doi:10.1002/gcc.20678
- O'Brien, M. J., Winawer, S. J., Zauber, G., Gottlieb, L. S., Sternberg, S. S., DIAZ, B., ... SZPORN, A. (1990). The national polyp study: patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology*, 98(2), 371–379.
- O'Connell, J. B., Maggard, M. A., & Ko, C. Y. (2004). Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(19), 1420–5. doi:10.1093/jnci/djh275
- Ohtani H, Tamamori Y, Arimoto Y, Nishiguchi Y, Maeda K, H. K. (2011). A Meta-Analysis of the Short- and Long-Term Results of Randomized Controlled Trials That Compared Laparoscopy-Assisted and Conventional Open Surgery for Colorectal Cancer. *Journal of Cancer*, 2, 425–434. doi:10.7150
- Okuyama, T., Oya, M., & Ishikawa, H. (2002). Budding as a risk factor for lymph node metastasis in pT1 or pT2 well-differentiated colorectal adenocarcinoma. *Diseases of the Colon and Rectum*, 45(5), 628–34.
- Oliveira, L. A. de, Artigiani Neto, R., Joppert Netto, G., Sznirer, M., Fernandes, L. C., Lima, F. de O., & Waisberg, J. (2012). Tissue expression of CD10 protein in colorectal carcinoma: correlation with the anatomopathological features of the tumor and with lymph node and liver metastases. *Journal of Coloproctology (Rio de Janeiro)*, 32(1), 34–39. doi:10.1590/S2237-93632012000100005
- Onkologie2015. (2015). Kolonkarzinom. Gräfelfing [Online im Internet]. Retrieved January 9, 2015, from [http://www.onkologie2015.de/solidetumoren/verdauungstrakt/kolon\\_index.htm](http://www.onkologie2015.de/solidetumoren/verdauungstrakt/kolon_index.htm)
- Pai, R. K., Jayachandran, P., Koong, A. C., Chang, D. T., Kwok, S., Ma, L., ... Pai, R. K. (2012). BRAF-mutated, microsatellite-stable adenocarcinoma of the proximal colon: an aggressive adenocarcinoma with poor survival, mucinous differentiation, and adverse morphologic features. *The American Journal of Surgical Pathology*, 36(5), 744–52. doi:10.1097/PAS.0b013e31824430d7
- Palles, C., Cazier, J.-B., Howarth, K. M., Domingo, E., Jones, A. M., Broderick, P., ... Tomlinson, I. (2013). Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1

- predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nature Genetics*, 45(2), 136–44. doi:10.1038/ng.2503
- Patriarca, C., Macchi, R. M., Marschner, A. K., & Mellstedt, H. (2012). Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: a short review. *Cancer Treatment Reviews*, 38(1), 68–75. doi:10.1016/j.ctrv.2011.04.002
- Peltomäki, P. (2005). Lynch syndrome genes. *Familial Cancer*, 4(3), 227–32. doi:10.1007/s10689-004-7993-0
- Perrin, R. J., Craig-Schapiro, R., Malone, J. P., Shah, A. R., Gilmore, P., Davis, A. E., ... Fagan, A. M. (2011). Identification and validation of novel cerebrospinal fluid biomarkers for staging early Alzheimer's disease. *PLoS One*, 6(1), e16032. doi:10.1371/journal.pone.0016032
- Pietra, N., Sarli, L., Costi, R., Ouchemi, C., Grattarola, M., & Peracchia, A. (1998). Role of follow-up in management of local recurrences of colorectal cancer: a prospective, randomized study. *Diseases of the Colon and Rectum*, 41(9), 1127–33.
- Pino, M. S., & Chung, D. C. (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2059–72. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.065
- Polakis, P. (1997). The adenomatous polyposis coli (APC) tumor suppressor. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1332(3), F127–47.
- Polakis, P. (2000). Wnt signaling and cancer. *Genes & Development*, 14(15), 1837–51.
- Popovici, V., Budinska, E., Tejpar, S., Weinrich, S., Estrella, H., Hodgson, G., ... Delorenzi, M. (2012). Identification of a poor-prognosis BRAF-mutant-like population of patients with colon cancer. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 30(12), 1288–95. doi:10.1200/JCO.2011.39.5814
- Pritchard, C. C., & Grady, W. M. (2011). Colorectal cancer molecular biology moves into clinical practice. *Gut*, 60(1), 116–29. doi:10.1136/gut.2009.206250
- Puli, S. R., Reddy, J. B. K., Bechtold, M. L., Choudhary, A., Antillon, M. R., & Brugge, W. R. (2009). Accuracy of endoscopic ultrasound to diagnose nodal invasion by rectal cancers: a meta-analysis and systematic review. *Annals of Surgical Oncology*, 16(5), 1255–65. doi:10.1245/s10434-009-0337-4
- Rajagopalan, H., Bardelli, A., Lengauer, C., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., & Velculescu, V. E. (2002). Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature*, 418(6901), 934. doi:10.1038/418934a
- Rajagopalan, H., Nowak, M. A., Vogelstein, B., & Lengauer, C. (2003). The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 3(9), 695–701. doi:10.1038/nrc1165

- Reining, F. (2012). *Prävalenz und klinische Signifikanz von NRCAM Gen- Amplifikationen in humanen Ösophaguskarzinomen*. Med. Dissertation. Universität Hamburg.
- Renehan, A. G., Egger, M., Saunders, M. P., & O'Dwyer, S. T. (2002). Impact on survival of intensive follow up after curative resection for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *324*(7341), 813.
- Rex, D. K., Kahi, C. J., Levin, B., Smith, R. A., Bond, J. H., Brooks, D., ... Winawer, S. J. (2006). Guidelines for colonoscopy surveillance after cancer resection: a consensus update by the American Cancer Society and the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, *130*(6), 1865–71. doi:10.1053/j.gastro.2006.03.013
- RKI, & GEKID. (2013). *Krebs in Deutschland 2009/2010* (9th ed.). Berlin: Robert Koch Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.
- Rothwell, P. M., Fowkes, F. G. R., Belch, J. F. F., Ogawa, H., Warlow, C. P., & Meade, T. W. (2011). Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet*, *377*(9759), 31–41. doi:10.1016/S0140-6736(10)62110-1
- Sakurai, T. (2012). The role of NrCAM in neural development and disorders--beyond a simple glue in the brain. *Molecular and Cellular Neurosciences*, *49*(3), 351–63. doi:10.1016/j.mcn.2011.12.002
- Sakurai, T., Lustig, M., Nativ, M., Hemperly, J. J., Schlessinger, J., Peles, E., & Grumet, M. (1997). Induction of neurite outgrowth through contactin and Nr-CAM by extracellular regions of glial receptor tyrosine phosphatase beta. *The Journal of Cell Biology*, *136*(4), 907–18.
- Sakurai, T., Ramoz, N., Reichert, J. G., Corwin, T. E., Kryzak, L., Smith, C. J., ... Buxbaum, J. D. (2006). Association analysis of the NrCAM gene in autism and in subsets of families with severe obsessive-compulsive or self-stimulatory behaviors. *Psychiatric Genetics*, *16*(6), 251–7. doi:10.1097/01.ypg.0000242196.81891.c9
- Samowitz, W. S., Albertsen, H., Herrick, J., Levin, T. R., Sweeney, C., Murtaugh, M. A., ... Slattery, M. L. (2005). Evaluation of a large, population-based sample supports a CpG island methylator phenotype in colon cancer. *Gastroenterology*, *129*(3), 837–45. doi:10.1053/j.gastro.2005.06.020
- Samowitz, W. S., Sweeney, C., Herrick, J., Albertsen, H., Levin, T. R., Murtaugh, M. A., ... Slattery, M. L. (2005). Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. *Cancer Research*, *65*(14), 6063–9. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-0404
- Sauter, G. (2010). Representativity of TMA studies. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *664*, 27–35. doi:10.1007/978-1-60761-806-5\_3



- Sauter, G., Simon, R., & Hillan, K. (2003). Tissue microarrays in drug discovery. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 2(12), 962–72. doi:10.1038/nrd1254
- Schmid, R. S., & Maness, P. F. (2008). L1 and NCAM adhesion molecules as signaling coreceptors in neuronal migration and process outgrowth. *Current Opinion in Neurobiology*, 18(3), 245–50. doi:10.1016/j.conb.2008.07.015
- Schwenk, W., Haase, O., Neudecker, J., & Müller, J. (2001). Short-term benefits for laparoscopic colorectal resection. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2). doi:10.1002/14651858.CD003145
- Sehgal, A., Boynton, A. L., Young, R. F., Vermeulen, S. S., Yonemura, K. S., Kohler, E. P., ... Murphy, G. P. (1998). Cell adhesion molecule Nr-CAM is over-expressed in human brain tumors. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 76(4), 451–8.
- Sehgal, A., Ricks, S., Warrick, J., Boynton, A. L., & Murphy, G. P. (1999). Antisense human neuroglia related cell adhesion molecule hNr-CAM, reduces the tumorigenic properties of human glioblastoma cells. *Anticancer Research*, 19(6B), 4947–53.
- Siegel, R., Ma, J., Zou, Z., & Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(1), 9–29. doi:10.3322/caac.21208
- Siegmund, A., & Jäger, D. (2010). Aktuelle medikamentöse Therapie kolorektaler Karzinome - Standards im adjuvanten und im metastasierten Stadium. *Klinikerarzt*, 39(10), 456–460.
- Sino Biological Inc. (2015). Canonical (beta-Catenin-Dependent) Wnt Signaling. Beijing [Online im Internet]. Retrieved February 10, 2015, from <http://old.sinobiological.com/Canonical-beta-Catenin-Dependent-Wnt-Signaling-a-1396.html>
- Spektrum. (2000). Immunglobulingen-Superfamilie. *Lexikon der Neurowissenschaft*. Heidelberg [Online im Internet]. Retrieved February 1, 2015, from <http://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/immunglobulingen-superfamilie/5997>
- Stephens, P., Hunter, C., Bignell, G., Edkins, S., Davies, H., Teague, J., ... Stratton, M. R. (2004). Lung cancer: intragenic ERBB2 kinase mutations in tumours. *Nature*, 431(7008), 525–6. doi:10.1038/431525b
- Stoeckli, E. T., & Landmesser, L. T. (1995). Axonin-1, Nr-CAM, and Ng-CAM play different roles in the in vivo guidance of chick commissural neurons. *Neuron*, 14(6), 1165–79.
- Stoffel, E., Mukherjee, B., Raymond, V. M., Tayob, N., Kastrinos, F., Sparr, J., ... Gruber, S. B. (2009). Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology*, 137(5), 1621–7. doi:10.1053/j.gastro.2009.07.039

- Sukawa, Y., Yamamoto, H., Noshō, K., Ito, M., Igarashi, H., Naito, T., ... Shinomura, Y. (2014). HER2 expression and PI3K-Akt pathway alterations in gastric cancer. *Digestion*, *89*(1), 12–7. doi:10.1159/000356201
- Suter, D. M., Pollerberg, G. E., Buchstaller, A., Giger, R. J., Dreyer, W. J., & Sonderegger, P. (1995). Binding between the neural cell adhesion molecules axonin-1 and Nr-CAM/Bravo is involved in neuron-glia interaction. *The Journal of Cell Biology*, *131*(4), 1067–81.
- Takeuchi, H., Bilchik, A., Saha, S., Turner, R., Wiese, D., Tanaka, M., ... Hoon, D. S. B. (2003). c-MET expression level in primary colon cancer: a predictor of tumor invasion and lymph node metastases. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *9*(4), 1480–8.
- Tan, K. Y., Kawamura, Y. J., Mizokami, K., Sasaki, J., Tsujinaka, S., Maeda, T., ... Konishi, F. (2010). Distribution of the first metastatic lymph node in colon cancer and its clinical significance. *Colorectal Disease : The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*, *12*(1), 44–7. doi:10.1111/j.1463-1318.2009.01924.x
- Taniwaki, M., Daigo, Y., Ishikawa, N., Takano, A., Tsunoda, T., Yasui, W., ... Nakamura, Y. (2006). Gene expression profiles of small-cell lung cancers: Molecular signatures of lung cancer. *International Journal of Oncology*, *29*(3), 567–575.
- Tannapfel, A., Neid, M., Aust, D., & Baretton, G. (2010). Entstehung kolorektaler Karzinome: Unterschiedliche Wege und Vorstufen – differenzierte Nomenklatur (29.10.2010). *DÄB*, *107*(43), 760–766. doi:10.3238/arztebl.2010.0760
- The Human Protein Atlas. (2015). The Human Protein Atlas - NrCAM. Stockholm, Uppsala, Mumbai [Online im Internet]. Retrieved March 9, 2015, from <http://www.proteinatlas.org/ENSG00000091129-NRCAM/cancer>
- Thomas, R. M., & Sobin, L. H. (1995). Gastrointestinal cancer. *Cancer*, *75*(S1), 154–170. doi:10.1002/1097-0142(19950101)75:1+<154::AID-CNCR2820751305>3.0.CO;2-Z
- Tol, J., & Punt, C. J. A. (2010). Monoclonal antibodies in the treatment of metastatic colorectal cancer: a review. *Clinical Therapeutics*, *32*(3), 437–53. doi:10.1016/j.clinthera.2010.03.012
- Torlakovic, E., & Snover, D. C. (2006). Sessile serrated adenoma: a brief history and current status. *Critical Reviews in Oncogenesis*, *12*(1-2), 27–39.
- Townsend, A., Price, T., & Karapetis, C. (2009). Selective internal radiation therapy for liver metastases from colorectal cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4), CD007045. doi:10.1002/14651858.CD007045.pub2

- Toyota, M., Ahuja, N., Ohe-Toyota, M., Herman, J. G., Baylin, S. B., & Issa, J. P. (1999). CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(15), 8681–6.
- Toyota, M., Ho, C., Ahuja, N., Jair, K. W., Li, Q., Ohe-Toyota, M., ... Issa, J. P. (1999). Identification of differentially methylated sequences in colorectal cancer by methylated CpG island amplification. *Cancer Research*, *59*(10), 2307–12.
- Toyota, S., Ohta, H., & Anazawa, S. (1995). Rationale for extent of lymph node dissection for right colon cancer. *Diseases of the Colon and Rectum*, *38*(7), 705–11.
- Tsang, A. H.-F., Cheng, K.-H., Wong, A. S.-P., Ng, S. S.-M., Ma, B. B.-Y., Chan, C. M.-L., ... Wong, S.-C. C. (2014). Current and future molecular diagnostics in colorectal cancer and colorectal adenoma. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *20*(14), 3847–57. doi:10.3748/wjg.v20.i14.3847
- U.S. Preventive Services Task Force. (2007). Routine aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the primary prevention of colorectal cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Annals of Internal Medicine*, *146*(5), 361–4.
- Uhlen, M., Fagerberg, L., Hallstrom, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., ... Ponten, F. (2015). Tissue-based map of the human proteome. *Science*, *347*(6220), 1260419–1260419. doi:10.1126/science.1260419
- Umar, A., Risinger, J. I., Hawk, E. T., & Barrett, J. C. (2004). Testing guidelines for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Nature Reviews. Cancer*, *4*(2), 153–8. doi:10.1038/nrc1278
- Vale, C. L., Tierney, J. F., Fisher, D., Adams, R. A., Kaplan, R., Maughan, T. S., ... Meade, A. M. (2012). Does anti-EGFR therapy improve outcome in advanced colorectal cancer? A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treatment Reviews*, *38*(6), 618–25. doi:10.1016/j.ctrv.2011.11.002
- Vaughn, D. E., & Bjorkman, P. J. (1996). The (Greek) key to structures of neural adhesion molecules. *Neuron*, *16*(2), 261–73.
- Vogel, C. L., Cobleigh, M. A., Tripathy, D., Gutheil, J. C., Harris, L. N., Fehrenbacher, L., ... Press, M. (2002). Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *20*(3), 719–26.
- Voineagu, I., Wang, X., Johnston, P., Lowe, J. K., Tian, Y., Horvath, S., ... Geschwind, D. H. (2011). Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature*, *474*(7351), 380–4. doi:10.1038/nature10110

- Volkmer, H., Leuschner, R., Zacharias, U., & Rathjen, F. G. (1996). Neurofascin induces neurites by heterophilic interactions with axonal NrCAM while NrCAM requires F11 on the axonal surface to extend neurites. *The Journal of Cell Biology*, *135*(4), 1059–69.
- Walther, A., Houlston, R., & Tomlinson, I. (2008). Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut*, *57*(7), 941–50. doi:10.1136/gut.2007.135004
- Wang, B., Williams, H., Du, J., Terrett, J., & Kenwrick, S. (1998). Alternative Splicing of Human NrCAM in Neural and Nonneural Tissues. *Molecular and Cellular Neurosciences*, *10*(5/6), 287–95. doi:10.1006/mcne.1997.0658
- Wang, T., Cui, Y., Huang, W.-S., Deng, Y.-H., Gong, W., Li, C.-J., & Wang, J.-P. (2009). The role of postoperative colonoscopic surveillance after radical surgery for colorectal cancer: a prospective, randomized clinical study. *Gastrointestinal Endoscopy*, *69*(3 Pt 2), 609–15. doi:10.1016/j.gie.2008.05.017
- Ward, R. L., Cheong, K., Ku, S.-L., Meagher, A., O'Connor, T., & Hawkins, N. J. (2003). Adverse prognostic effect of methylation in colorectal cancer is reversed by microsatellite instability. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *21*(20), 3729–36. doi:10.1200/JCO.2003.03.123
- Weisenberger, D. J., Siegmund, K. D., Campan, M., Young, J., Long, T. I., Faasse, M. A., ... Laird, P. W. (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature Genetics*, *38*(7), 787–93. doi:10.1038/ng1834
- Wietzke-Braun, P., Schindler, C., Raddatz, D., Braun, F., Armbrust, T., Nolte, W., & Ramadori, G. (2004). Quality of life and outcome of ultrasound-guided laser interstitial thermotherapy for non-resectable liver metastases of colorectal cancer. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *16*(4), 389–95.
- Williams, A. F., & Barclay, A. N. (1988). The immunoglobulin superfamily--domains for cell surface recognition. *Annual Review of Immunology*, *6*, 381–405. doi:10.1146/annurev.iy.06.040188.002121
- Winawer, S. J., O'Brien, M. J., Waye, J. D., Kronborg, O., Bond, J., Frühmorgen, P., ... Morson, B. (1990). Risk and surveillance of individuals with colorectal polyps. Who Collaborating Centre for the Prevention of Colorectal Cancer. *Bulletin of the World Health Organization*, *68*(6), 789–95.
- Winawer, S. J., Zauber, A. G., Ho, M. N., O'Brien, M. J., Gottlieb, L. S., Sternberg, S. S., ... Stewart, E. T. (1993). Prevention of Colorectal Cancer by Colonoscopic Polypectomy. *New England Journal of Medicine*, *329*(27), 1977–1981.
- Wittekind, C., & Meyer, H.-J. (2010). *TNM Klassifikation maligner Tumoren (7. Auflage.)*. Weinheim: Wiley-VCH.

Zeng, Z.-S., Weiser, M. R., Kuntz, E., Chen, C.-T., Khan, S. A., Forslund, A., ... Paty, P. B. (2008). c-Met gene amplification is associated with advanced stage colorectal cancer and liver metastases. *Cancer Letters*, 265(2), 258–69. doi:10.1016/j.canlet.2008.02.049

## 8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all denen danken, die mir geholfen haben, die vorliegende Arbeit zu erstellen.

Allen voran möchte ich mich herzlich bei meinem Doktorvater Institutsdirektor Prof. Dr. med. Guido Sauter für die Ermöglichung und Unterstützung meiner Arbeit am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf bedanken.

Ganz besonderer Dank geht außerdem an meine Betreuerin Dr. med. Ana-Maria Dancau, die mich sowohl zur Aufnahme der Arbeit ermutigt als mich auch während der gesamten Zeit der Arbeit unterstützt und motiviert hat.

Großer Dank geht an meine Eltern für die Ermöglichung meines Studiums sowie meiner Dissertation. Weiterhin bedanke ich mich bei ihnen sowie bei meinem Bruder von ganzem Herzen für die Geduld, Motivation und Unterstützung.

Zuletzt sei allen ein herzliches Dankeschön ausgesprochen, die hier keine namentliche Erwähnung finden, aber zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

## 9. Lebenslauf

### Personalien

---

Name: Manon Ines Temme  
Geburtsdatum: 19.05.1989  
Geburtsort: Hamburg, Deutschland

### Ausbildung

---

Seit August 2015	Assistenzärztin der Anästhesiologie, Asklepios Klinik Harburg
18. Dezember 2014	Erhalt der Approbation
04. November 2014	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
06. September 2010	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Physikum)
2008-2014	Universität Hamburg, Studiengang der Humanmedizin
03. Juli 2008	Allgemeine Hochschulreife
1999-2008	Gymnasium Wentorf, Wentorf bei Hamburg
1995-1999	Grundschule Wentorf, Wentorf bei Hamburg

10. Eidesstattliche Versicherung

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

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

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

Unterschrift: .....