

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Pathologie
mit den Sektionen Molekularpathologie und Zytopathologie

Direktor: Prof. Dr. med. Guido Sauter

Immunhistochemische Bestimmung der Muc5AC Expression auf über 3400 menschlichen Tumoren und dessen Bedeutung für die klinische Praxis

Dissertation

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

vorgelegt von:

Moritz Mahnken
aus Oldenburg

Hamburg 2021

(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 13.09.2021**

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

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Gunhild von Amsberg

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Guido Sauter

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
2. Material und Methoden	13
2.1. Tissue Microarray Technik.....	13
2.2. Normalgewebe und Multitumor TMA	16
2.2.1 Normalgewebearray	16
2.2.2 Multitumorarray.....	18
2.3 Immunhistochemie.....	19
2.4 Statistik.....	20
3. Ergebnisse	20
3.1. Normalgewebe	20
3.2 Neoplasien.....	25
4. Diskussion.....	39
5. Zusammenfassung.....	46
6. Abstract	48
7. Abkürzungsverzeichnis	49
8. Abbildungsverzeichnis	51
9. Tabellenverzeichnis	54
10. Literaturverzeichnis	55
11. Anhang	66
12. Danksagungen.....	72
13. Lebenslauf.....	73
14. Eidesstattliche Versicherung.....	74

1. Einleitung

Maligne Tumoren gehören zu den wichtigsten Erkrankungen überhaupt (Statistisches Bundesamt, 2017). Circa 43% aller Frauen beziehungsweise 48% aller Männer erkranken im Laufe ihres Lebens mindestens einmal an einer malignen Neoplasie (Robert Koch-Institut, 2019). Fast ein Viertel aller Menschen in westlichen Gesellschaften sterben an den Folgen eines Tumorleidens (Dagenais et al., 2020). Alleine in Deutschland werden jährlich über 450.000 neue maligne Neoplasien diagnostiziert (Robert Koch-Institut, 2019). Die Häufigkeit der einzelnen Tumordiagnosen variiert zwischen Männern und Frauen geringgradig. Die häufigsten Tumorerkrankungen und ihre jeweils assoziierte Mortalität sind in Abbildung 1 beziehungsweise Abbildung 2 dargestellt.

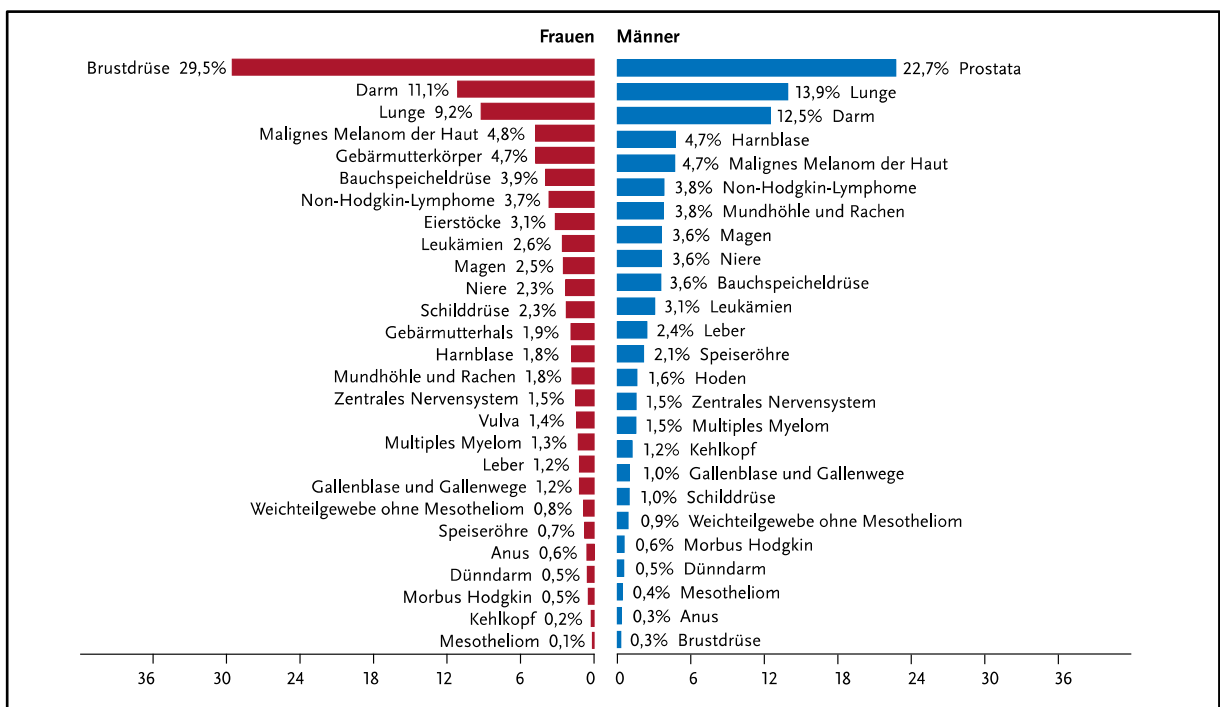


Abbildung 1: "Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2016 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs)" (Robert Koch-Institut, 2019)

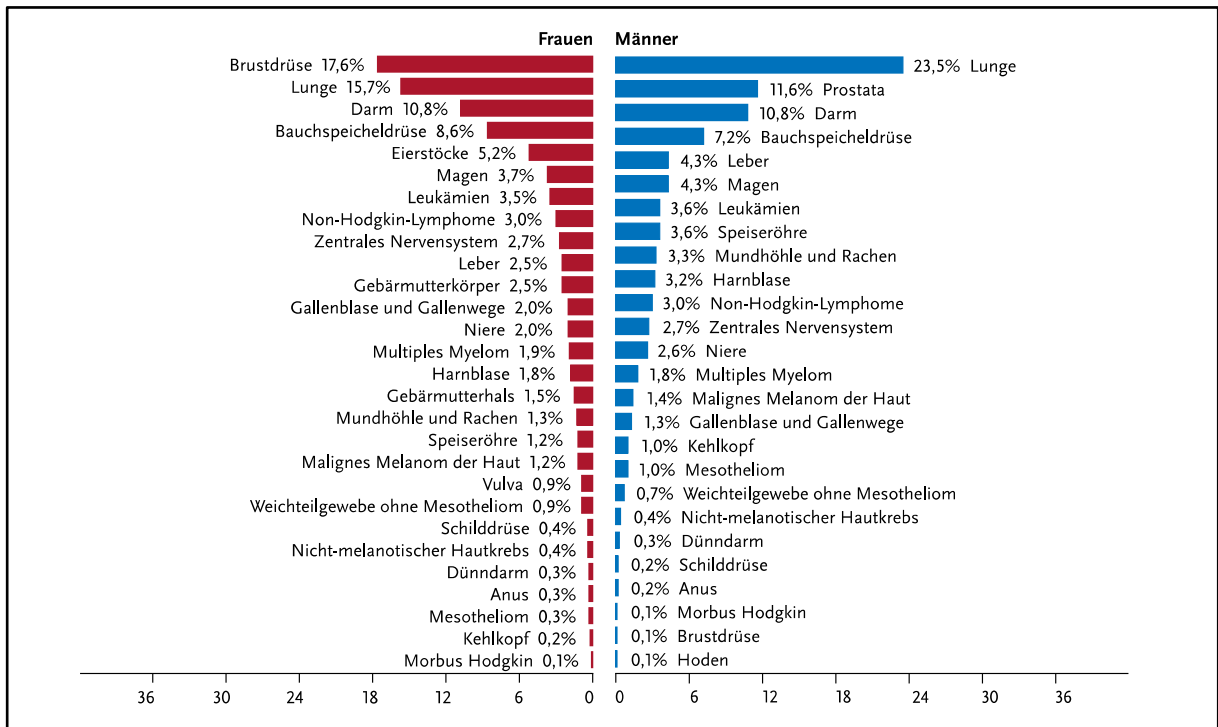


Abbildung 2: „Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen in Deutschland 2016“ (Robert Koch-Institut, 2019)

Maligne Tumoren unterschiedlicher Organe teilen viele Gemeinsamkeiten. Die malignen Zellen zeichnen sich durch ein unkontrolliertes Wachstum aus, welches zu Beginn der Erkrankung auf den Entstehungsort begrenzt ist. Solange es nicht zu einer Migration der Tumorzellen in andere Organe kommt, kann ein Tumor, wenn er frühzeitig entdeckt wird, entweder durch eine Operation entfernt oder durch eine Bestrahlung zerstört werden. Operative und radiotherapeutische Maßnahmen sind dementsprechend für die überwiegende Mehrzahl von Tumorheilungen verantwortlich (W. Hiddemann, 2010). Viele maligne Neoplasien bleiben im Laufe ihrer Entwicklung aber nicht auf das Ursprungsorgan beschränkt. Es kommt entweder durch eine lymphogene oder eine hämatogene Metastasierung zur Absiedlung von Tumorzellen in andere Organe. Sobald eine hämatogene Metastasierung vorliegt, ist eine Tumorheilung meist nicht mehr möglich (Gupta and Massague, 2006). Häufig sind die Metastasen zu zahlreich, als dass sie vollständig chirurgisch entfernt werden könnten. Die meisten Tumoren können jedoch durch eine Chemotherapie zumindest für eine längere Zeit am Fortschreiten gehindert werden (Grunberger et al., 2007). Die chemotherapeutischen Maßnahmen beinhalten klassische Zytostatika, sogenannte gezielte Krebstherapien und neuerdings immunonkologische Medikamente. Die klassischen Chemotherapeutika hemmen insbesondere die Mitose, sodass rasch proliferierende Zellen von den Krebsmedikamenten besonders getroffen werden. Da

Tumorzellen zu den rasch wachsenden Geweben gehören, können Chemotherapeutika besonders bei aggressiven, schnell wachsenden Tumoren, wie beispielweise den malignen Lymphomen oder Hodentumoren, eine eklatante Wirkung zeigen. Die Nebenwirkungen dieser Medikamente zeigen sich naturgemäß in denjenigen Organen, wo eine besonders starke Zellerneuerung stattfindet. Dies betrifft beispielsweise die Blutbildung, die Darmmukosa oder – besonders gut sichtbar – den Haarwuchs (J. Schütte, 2010).

Bei gezielten Therapien werden Strukturen durch Medikamente angegriffen, welche ausschließlich oder überwiegend auf Tumorzellen zu finden sind (Hanahan and Weinberg, 2011). Zu den gezielten Therapien gehören beispielsweise antihormonelle Therapien, welche beim Mammakarzinom den Östrogenstoffwechsel (McGuire, 1975) oder beim Prostatakarzinom das Androgenrezeptorsystem blockieren (Huggins and Hodges, 1972). Andere gezielte Krebstherapien attackieren Oberflächenstrukturen von Tumorzellen wie zum Beispiel die Tyrosinkinase HER2 (Huggins and Hodges, 1972, Slamon et al., 2001), richten sich gegen vaskuläre Wachstumsfaktoren (VEGF) um der Angiogenese entgegenzuwirken (Fernando and Hurwitz, 2004) oder hemmen Enzymkomplexe wie beispielsweise das Proteasom der Zelle mit dem Ziel, durch eine Unterbrechung des Zellzyklus insbesondere die stoffwechselaktiveren Krebszellen zu beeinträchtigen (Ludwig et al., 2005, Richardson et al., 2004).

Von besonders hohem aktuellem Interesse (Hegde and Chen, 2020) sind neue immunonkologische Medikamente, welche nicht Tumorzellen direkt attackieren, sondern das Immunsystem des Tumorpatienten so manipulieren, dass die zytotoxische Reaktion auf Tumorzellen gesteigert wird, sodass die Tumoren durch eine gesteigerte Immunantwort des Patienten ganz oder teilweise zerstört werden können (Leach et al., 1996). Die meisten aktuell verfügbaren Immuntherapien attackieren das Immun-Checkpoint Regelsystem PD-1/PD-L1. Da mehrere analoge Immun-Checkpoint Systeme existieren, deren pharmakologische Manipulation aktuell intensiv erforscht wird, ist damit zu rechnen, dass die Zahl einsetzbarer immunonkologischer Medikamente in den nächsten Jahren rasant wachsen wird (Esfahani et al., 2020).

Unabhängig von der Art des Tumors spielt die histopathologische Untersuchung von entnommenem Tumorgewebe eine entscheidende Rolle für die betroffenen Patienten. In pathologischen Instituten wird nicht nur in praktisch allen Fällen die Krebsdiagnose initial gestellt, sondern es werden auch zusätzliche Informationen über den Tumor

bereitgestellt, welche den behandelnden Ärzten Informationen zur der zu erwartenden Aggressivität des Tumors und über Behandlungsoptionen liefern. Meistens wird die Malignitätsdiagnose eines Tumors an einem kleinen Gewebestück gestellt, welches im Rahmen eines minimalinvasiven Eingriffes aus dem Patienten entnommen wird. Nachdem die Tumordiagnose durch den Pathologen gestellt wurde, wird bei operablen Patienten meist der Tumor oder das den Tumor enthaltende Organ entnommen. Je nach Umfang der hierfür notwendigen Operation wird gegebenenfalls auch eine lokale Lymphknotenexstirpation durchgeführt. Der Pathologe bestimmt dann im Rahmen einer kombinierten makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung den Zustand der Präparatränder (R_0 -Resektion des Tumors oder nicht) und führt verschiedene Untersuchungen zur Beurteilung der Tumoraggressivität durch. Hierzu gehört die Bestimmung des Malignitätsgrades (Grading), die Tumorausdehnung beziehungsweise das pT-Stadium und der Nachweis oder Ausschluss von lokoregionären Lymphknotenmetastasen (pN) und von Fernmetastasen (pM), wenn ein entsprechendes Resektat vorliegt. Die sich ergebende pTNM-Klassifikation ist die grundlegende, internationale Standardklassifikation der Pathologie für die anatomische Ausbreitung bösartiger Tumoren im Körper (James D. Brierley (Hrsg.) et al., 2017). In vielen Fällen gehört zur routinemäßigen Untersuchung des Tumorgewebes auch eine molekulare Zusatzuntersuchung, welche bei der Einschätzung der Patientenprognose sowie bei der Therapieplanung helfen kann. Um möglicherweise gezielt Tumortherapien einzusetzen, muss die molekulare Alteration, welche therapeutisch angegangen werden soll, im Tumor zunächst nachgewiesen werden. Zu den routinemäßig untersuchten Therapiezielen gehören beispielsweise Östrogenrezeptor, Progesteronrezeptor und HER-2 beim Mammakarzinom (Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2020a), HER-2 beim Magenkarzinom (Bang et al., 2010) oder EGF-Rezeptor und ROS1 und ALK beim Bronchialkarzinom (NSCLC) (Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2018b). Bei Kolon-, Endometrium- und Magenkarzinomen werden heute routinemäßig Untersuchungen zur Bestimmung einer Mikrosatelliteninstabilität durchgeführt (Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2018a, Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2019a, Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2019b). Durch den Nachweis einer PD-L1-Überexpression beim Harnblasen- oder Lungenkarzinom kann eine Indikation für eine Therapie mit Immuncheckpoint-Inhibitoren erfolgen (Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2018b, Leitlinienprogramm Onkologie (Hrsg.), 2020b).

Ein kleiner Teil aller malignen Tumoren äußert sich primär durch das Auftreten von Metastasen. Auch in dieser Sondersituation schließt sich an eine bildgebende Diagnostik die klinische Abklärung mit einer Biopsie oder Entnahmen einer auffälligen Raumforderung an, wobei der Pathologe am entnommenen Material eine maligne Neoplasie diagnostiziert. Während die Zuordnung einer Neoplasie zu einem Ursprungsorgan meistens problemlos erfolgen kann, wenn der Tumor in seinem Ursprungsorgan entsteht, ist die Primariussuche bei Metastasen deutlich schwieriger. Rein morphologisch ist die Bandbreite der möglichen Befunde limitiert. Maligne Neoplasien können morphologisch grob in Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome, solide Karzinome ohne besondere Differenzierung, spindelzellige Tumoren oder klein- und rundzellige Tumoren eingeteilt werden (W. Böcker, 2012). Zu allen diesen morphologischen Situationen kommen ganz verschiedene Ursprungsorgane in Frage. Beim Plattenepithelkarzinom können differentialdiagnostisch Karzinome aus Mundhöhle, Pharynx, Larynx, Oesophagus, Lunge, Harnblase, Analbereich, Genitalbereich (Vulva, Zervix, Vagina, Penis) erwogen werden. Bei Adenokarzinomen beinhaltet die Differentialdiagnose Tumoren von Oesophagus, Magen, Dünndarm, Kolon, Appendix, Gallenblase, Pankreas, Lunge, Prostata, Schilddrüse oder Speicheldrüsen. Undifferenzierte solide Karzinome können grundsätzlich von allen epithelialen Organen ausgehen. Spindelzellige Tumoren können sarkomatoid entdifferenzierte Karzinome darstellen, welche wiederum prinzipiell von allen verschiedenen epithelialen Organen ausgehen können, oder aber Sarkome, ausgehend von Weichteilen. Bei den kleinen und rundzelligen Tumoren kommen neben Lymphomen vor allem kleinzellige neuroendokrine Karzinome oder maligne mesenchymale Neoplasien, beispielsweise aus der PNET-/Ewing-Sarkomgruppe in Betracht (Gregorio et al., 2008, W. Böcker, 2012). Auch bei der Evaluation von Metastasen sind molekulare Zusatzuntersuchungen von entscheidender Bedeutung. In diesen Situationen dienen die Zusatzuntersuchungen aber nicht nur der Identifikation von möglichen therapeutischen Optionen, sondern auch der Tumorzuordnung zu einem bestimmten Organ. Verschiedene Organe exprimieren charakteristische, organtypische Proteine, welche eine Zuordnung eines Tumors zu seinem Primarius erlauben. Hierzu gehören beispielsweise das schilddrüsenpezifische Thyreoglobulin oder das prostataspezifische Prostataspezifische Antigen (PSA) (Stieber, 2010). Andere immunhistochemische Untersuchungen zur Tumortypisierung sind zwar nicht tumorspezifisch, allerdings bei

bestimmten Tumorarten deutlich häufiger positiv als bei anderen. Ein Beispiel hierfür ist PAX8, welches bei Tumoren der Schilddrüse, Niere oder vom Müllerschen Gang ausgehenden Genitaltumoren besonders häufig exprimiert wird, aber in anderen Neoplasien wie beispielsweise dem Prostata- oder Kolonkarzinom nie anzutreffen ist (Ozcan et al., 2011).

Immunhistochemische Tumoruntersuchungen werden somit aus zwei Indikationen durchgeführt. Zum einen dienen sie der Identifikation von therapeutischen Optionen, beispielsweise durch die Untersuchung möglicher Therapieziele. Zum anderen können sie die Zuordnung von metastatischem Tumorgewebe zu einem Ursprungsorgan ermöglichen. Das in dieser Doktorarbeit untersuchte Protein Muc5AC ist von besonderem Interesse, da es potentiell für beide Anwendungen in Frage kommt.

Muc5AC gehört zur Gruppe der Muzine. Diese lassen sich in transmembranöse Muzine sowie jene, die von Zellen abgesondert werden, gliedern, wobei Muc5AC zu letzteren gehört (Hollingsworth and Swanson, 2004).

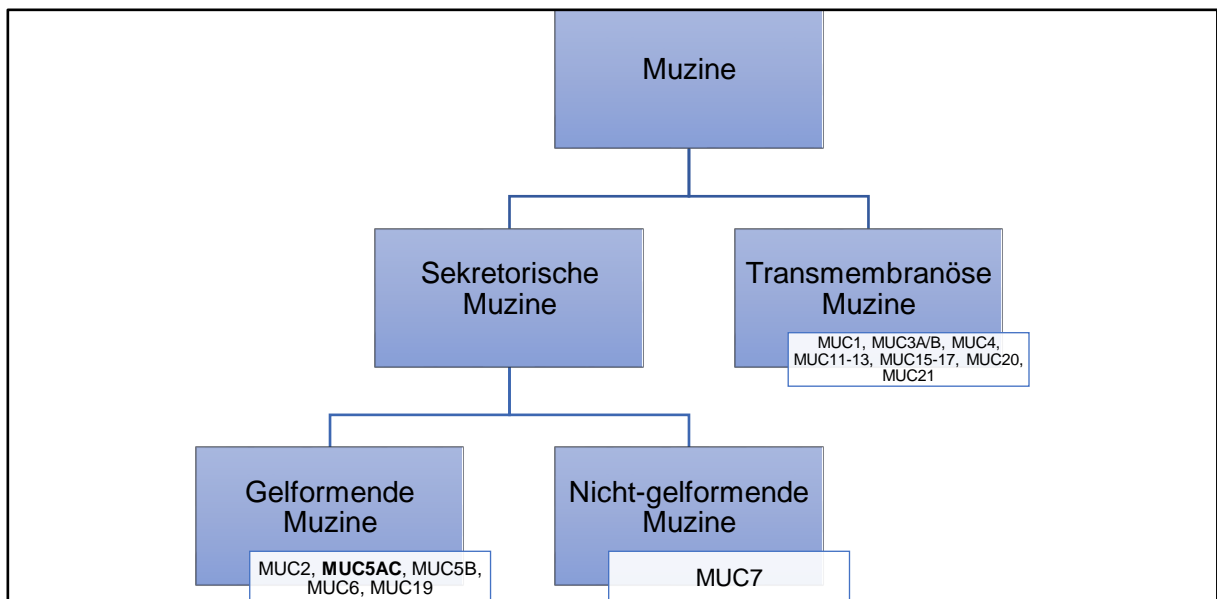


Abbildung 3: Schematische Einordnung von Muc5AC innerhalb der Muzine (Hollingsworth and Swanson, 2004, Thornton et al., 2008, Bafna et al., 2010)

MUC5AC wurde erst als tracheobronchales Muzingen MUC5 verstanden und korrekt auf Chromosom 11p15 lokalisiert (Meezaman et al., 1994). Hierbei wurde von eigenständigen genetischen Abschnitten ausgegangen, sodass ursprünglich MUC5A, MUC5B und MUC5C beschrieben wurden. Da sich später herausstellte, dass MUC5A und MUC5C Teile eines Gens darstellen, wurde das Protein als Muc5AC neu benannt

(Guyonnet Duperat et al., 1995). Muc5AC ist ein polymerisches Muzin, welches in drei Teile gegliedert werden kann. An den zentralen und hochgradig glykolisierten Proteinteil gliedert sich der amino-terminale (N-) sowie carboxyl-terminale (C-) Bereich (Curran and Cohn, 2010). Die terminalen Bereiche zeichnen sich insbesondere durch jeweils vier Domänen aus, die jenen des von-Willebrandt-Faktor ähnlich sind. Genauer finden sich am N-Terminus D1, D2, D' und D3 sowie am C-Terminus D4, B, C und CK (Buisine et al., 1998, Escande et al., 2001). Physiologisch wird Muc5AC in Becherzellen von Bronchien (Rose and Voynow, 2006), in Foveolen des Magens (Ho et al., 1995) und in Speicheldrüsen (Alos et al., 2005) sowie der Gallenblase (Sasaki et al., 1999) und der Endozervix (Gipson et al., 1997) exprimiert. Seine Funktion besteht im Schutz des Epithels vor Pathogenen sowie Umwelteinflüssen. Dies ist der Fall, da Muc5AC die rheologischen Eigenschaften des Mucus mit beeinflusst, sodass dieser transportfähig bleibt (Lunge) oder eine gleichmäßige und adhäsive Barriere bilden kann (Magen) (Thornton et al., 2008). Als wesentlicher Bestandteil des in der Lunge gebildeten Mucus nimmt Muc5AC eine relevante Rolle bei verschiedenen nicht neoplastischen Lungenerkrankungen ein. Bei Patienten mit chronischer Bronchitis im Rahmen einer COPD kann die Muc5AC Konzentration im pulmonalen Sekret um den Faktor 10 erhöht sein und auch bei Asthma und Mukoviszidose ist Muc5AC deutlich erhöht (Kesimer et al., 2017). Aufgrund der bekannten Bedeutung von Muc5AC bei nicht-neoplastischen Erkrankungen wurde von verschiedenen Gruppen mit der Entwicklung einer Anti-Muc5AC-Therapie begonnen (Skrzypek et al., 2013, Zhang et al., 2015). Derartige Therapien könnten sich auch bei Tumoren als nützlich erweisen, denn eine Vielzahl von Berichten hat aufgezeigt, dass Muc5AC in unterschiedlicher Häufigkeit auch in Tumoren exprimiert wird, wie beispielsweise in Speicheldrüsenkarzinomen, Mammakarzinomen, Lungenkarzinomen, Magenkarzinomen, Gallenblasenkarzinomen, cholangiozellulären Karzinomen, Pankreaskarzinomen, Kolonkarzinomen, Ovarialkarzinomen, Zervixkarzinomen oder bei Urothelkarzinomen der Harnblase (Alos et al., 2005, Pereira et al., 2001, Lopez-Ferrer et al., 2001, Reis et al., 1997, Sasaki et al., 1999, Sasaki et al., 1998, Yonezawa et al., 2002, Kocer et al., 2002, Ji et al., 2002, Riethdorf et al., 2000, Kunze et al., 2001).

Die bisher existierenden Studien zur Expression von Muc5AC in Tumoren wurden von einer Vielzahl von Forschungsgruppen unter Verwendung von verschiedenen Antikörpern, immunhistochemischen Protokollen und Kriterien für die Bewertung der

histologischen Befunde durchgeführt. Dementsprechend sind die publizierten Ergebnisse uneinheitlich. Die Ergebnisse von 148 publizierten Studien zu 35 verschiedenen Tumortypen sind in Abb. 4 dargestellt.

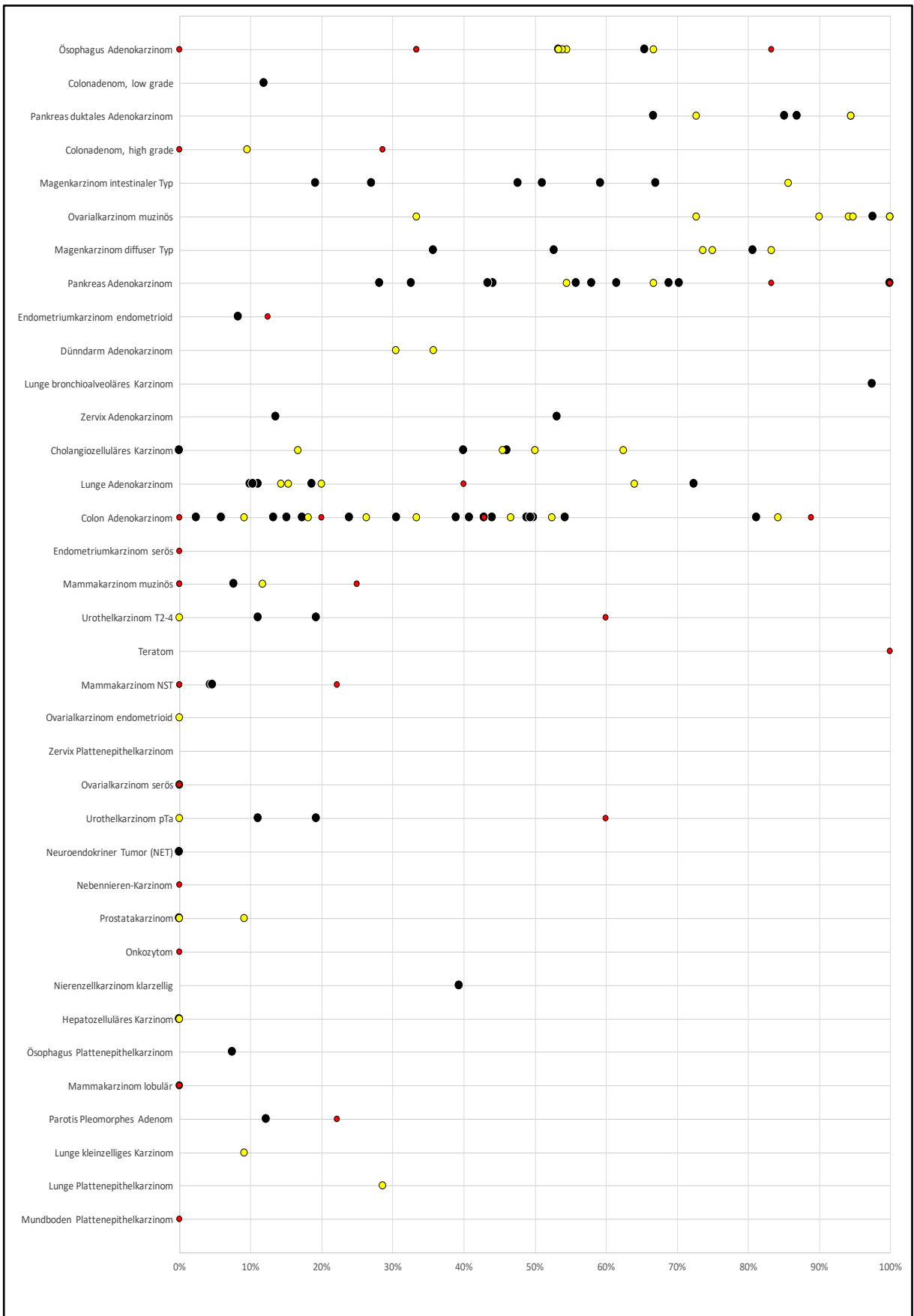


Abbildung 4: Ergebnisse der Literaturrecherche (Quellen der ausgewerteten Studien siehe Anhang, Tabelle 6) *Studiendaten der Literatur zu „Urothelkarzinom“ sowohl für „Urothelkarzinom pTa“ als auch „Urothelkarzinom T2-4“ übernommen.

Dabei sind die einzelnen Studien gemäß der Zahl der untersuchten Tumoren in einer Farbkennzeichnung dargestellt. Die rot markierten Studien haben 1-10, die gelben 10-25 und die schwarz markierten Studien mehr als 25 Fälle untersucht. Die Darstellung zeigt, dass die Daten unabhängig von der Studiengröße erheblich variieren. Sie reichen beispielsweise für das Kolonkarzinom von 0-89%, das Adenokarzinom der Lunge von 10-72%, das Adenokarzinom der Ampulla Vateri des Pankreas von 0-100%, das Magenkarzinom (diffuser Typ) von 36-83%, das Magenkarzinom (intestinaler Typ) von 19-86%, das Adenokarzinom des Oesophagus von 0-83% und das muzinöse Ovarialkarzinom von 33-100%. Diese von Untersucher zu Untersucher stark unterschiedlichen Daten erschweren eine Einschätzung der möglichen diagnostischen Relevanz von Muc5AC. Um die mögliche diagnostische Bedeutung der Muc5AC Immunfärbung zu klären, wurde in der vorliegenden Untersuchung eine Kohorte von mehr als 3400 Tumoren von 82 verschiedenen Tumortypen und Subtypen sowie 76 verschiedenen Normalgeweben mit einem standardisiertem Protokoll und unter Verwendung eines einzigen Antikörpers immunhistochemisch untersucht. Das konkrete Ziel der Untersuchung war eine Klärung der diagnostischen Bedeutung der Muc5AC Immunhistochemie und die Identifikation von Tumoren, welche im Falle des Vorhandenseins einer wirksamen Anti-Muc5AC Therapie von einer derartigen Behandlung besonders wahrscheinlich profitieren könnten.

2. Material und Methoden

2.1. Tissue Microarray Technik

Das Tissue Microarray Verfahren erlaubt eine Hochdurchsatzuntersuchung von Geweben (Kononen et al., 1998). Tausende von Tumoren können unter Anwendung der TMA-Methode innerhalb von Stunden immunhistochemisch untersucht werden. Allerdings ist der Herstellungsprozess von Tissue Microarrays ausgesprochen aufwendig. Er beginnt mit der Identifikation potentiell geeigneter Tumoren durch eine Datenbankabfrage, worauf von den identifizierten Fällen die Originaltumorschnitte herausgesucht werden. Die Reevaluation dieser Schnitte ergibt regelmäßig bei einem signifikanten Teil der identifizierten Fälle, dass die Proben für eine Tissue Microarray Herstellung wegen geringer Größe, schlechter Gewebeerhaltung oder zu geringer Tumormenge ungeeignet sind. Nur von den als geeignet empfundenen Fällen werden

die stanzbaren Tumorareale auf dem Schnitt mit Filzstift markiert und es werden korrespondierende Gewebelöcke herausgesucht. Nicht jeder herausgesuchte Block ist letztlich brauchbar, denn manche Gewebeproben wurden bereits so ausgedehnt untersucht, dass die nur noch geringe Blockdicke eine Verwendung in einem Tissue Microarray nicht ratsam erscheinen lässt. Sobald klar ist, welche Tumoren letztlich verwendet werden können, wird ein Tissue Microarray fertig geplant, das heißt, es wird jedem Gewebelock eine Position in dem geplanten Tissue Microarray zugeordnet. Der in der Pathologie des UKE übliche Aufbau eines Tissue Microarray ist in Abbildung 5 dargestellt.

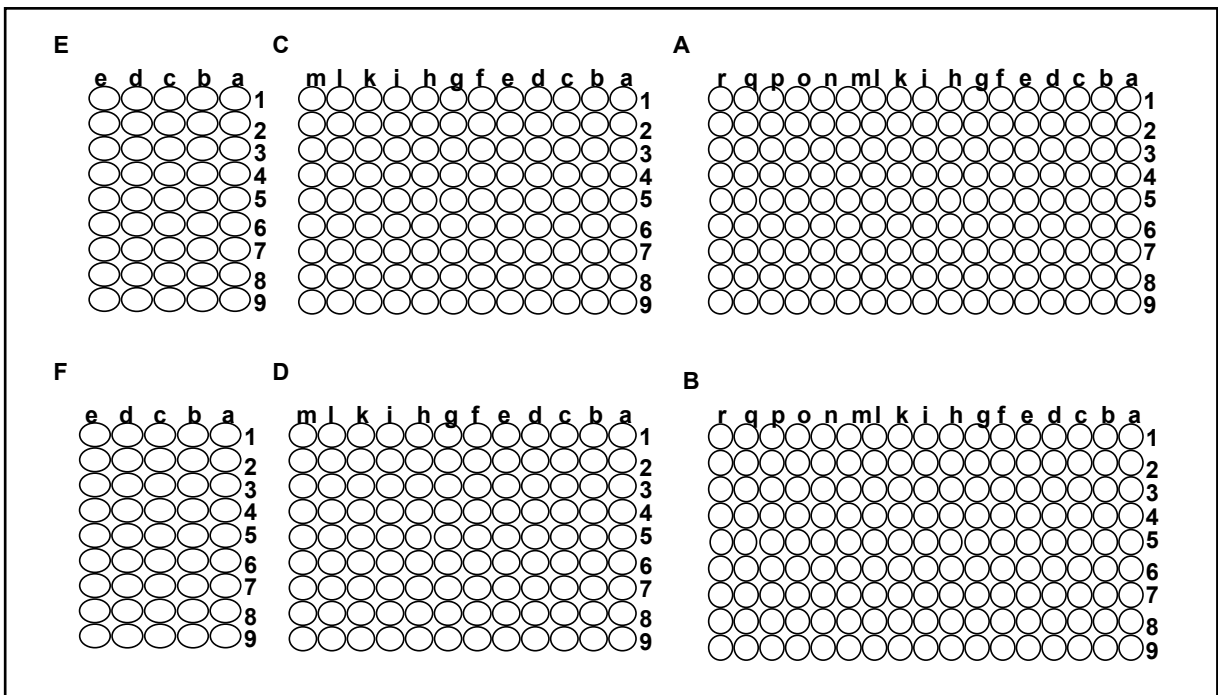


Abbildung 5: Koordinatensystem des Tissue Microarrays (Nummer 5.2) zur Auswertung der einzelnen Gewebeslots.

Der Tissue Microarray gliedert sich in 6 Quadranten (A-F). In jedem Quadranten werden die Zeilen mit Zahlen (1-9) und die Spalten mit Kleinbuchstaben (a-r, a-m bzw. a-e) definiert. Die Schnitte und Blöcke werden dann in der vorgeplanten Reihenfolge zusammensortiert und neben dem Stanzgerät gelagert (Abb. 6).

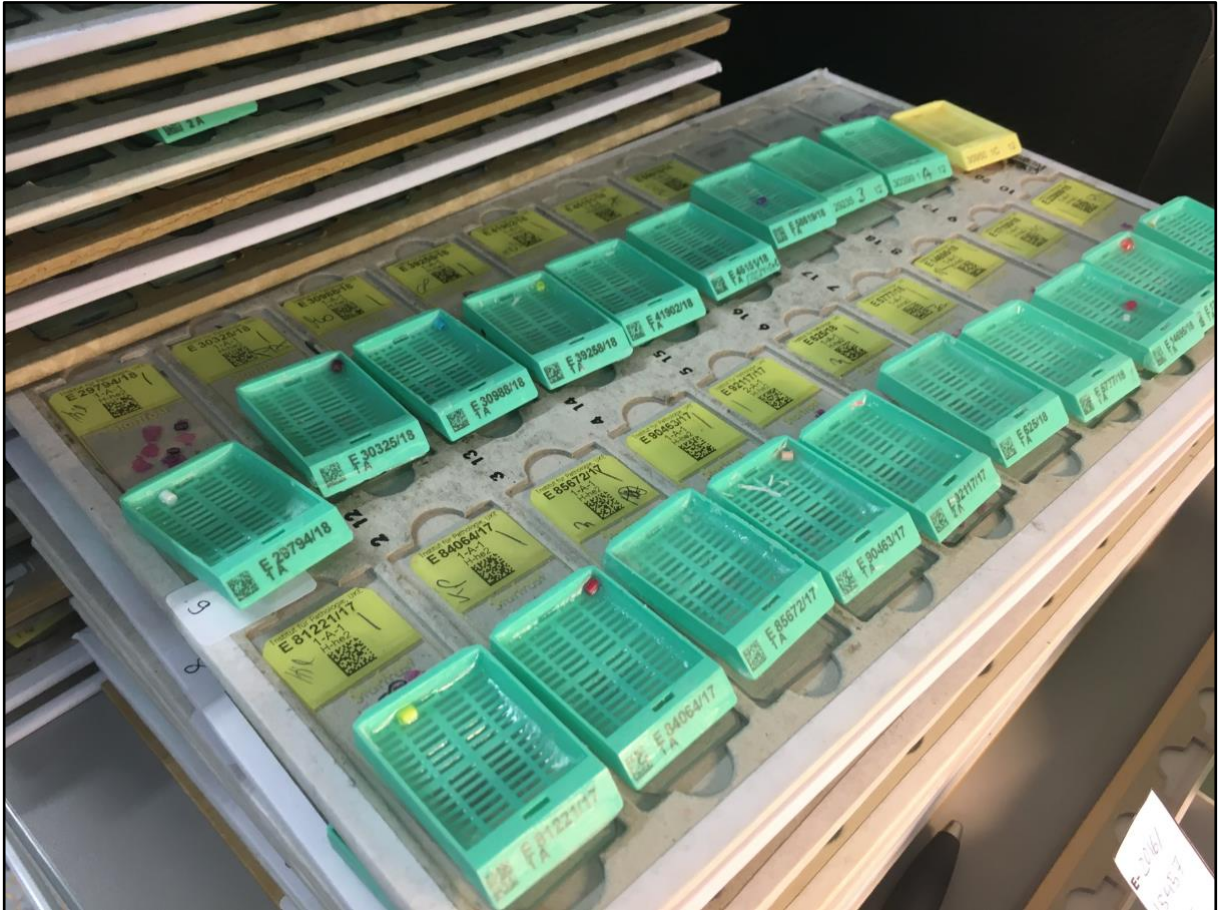


Abbildung 6: Geordnete Schnitte und korrespondierende Blöcke in zu stanzender Reihenfolge

Für die eigentliche Herstellung des Tissue Microarray werden in den Empfängerblöcken mit einem Bohrer an den vorbestimmten Positionen Löcher mit einem Durchmesser von 0,6mm angefertigt. Mit einer Hohnadel werden aus den ausgewählten Tumorblöcken zylindrische Gewebefragmente entnommen und an der vorbestimmten Position in das vorgefertigte Bohrloch eingesetzt. Aus Effizienzgründen werden dabei typischerweise multiple Replikate der TMA-Blöcke hergestellt (Abbildung 7).

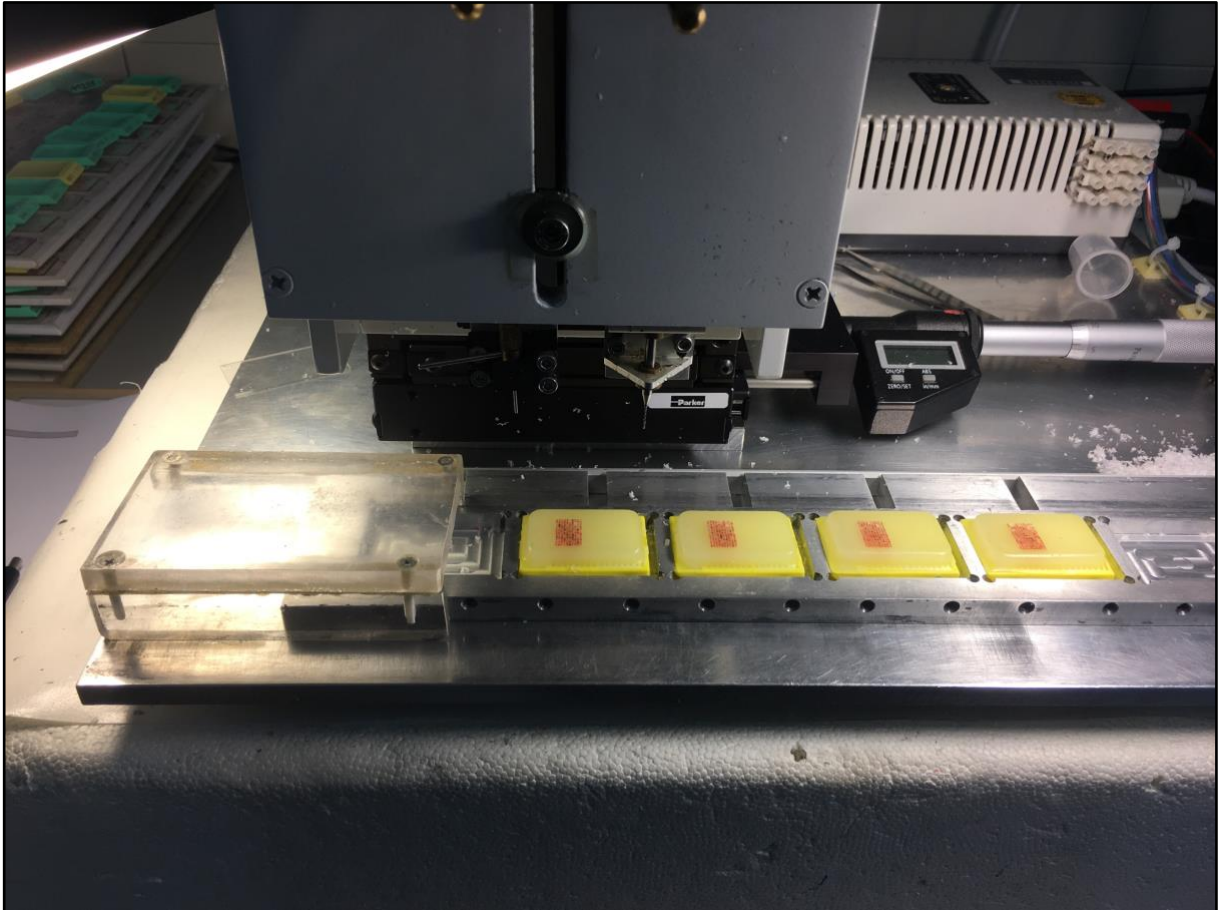


Abbildung 7: Stanzgerät im laufenden Herstellungsverfahren von vier identischen TMA-Blöcken

Von den so angefertigten Tissue Microarray Blöcken können dann Schnitte hergestellt werden, welche bis zu 600 verschiedene 0,6mm im Durchmesser messende Gewebefragmente enthalten. Die Tissue Microarray Methode ist auch deswegen hervorragend für Forschungszwecke geeignet, weil die entnommenen Proben sehr einfach pseudonymisiert auch anonymisiert werden können.

2.2. Normalgewebe und Multitumor TMA

Alleine für das Muc5AC Projekt wurden zwei verschiedene Tissue Microarrays ausgewählt, ein Normalgewebearray und ein Multitumorarray.

2.2.1 Normalgewebearray

Der Normalgewebearray besteht aus acht verschiedenen Proben von acht verschiedenen Patienten von jeweils 76 verschiedenen Normalgewebetypen. Die untersuchten Gewebetypen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Reihenfolge	Gewebetyp	Reihenfolge	Gewebetyp
1	Aorta, Endothel	39	Rectum, Mucosa
2	Aorta, Media	40	Vesicae biliaris, Epithelium
3	Cardia	41	Hepatis
4	Musculus, gestreifte	42	Pankreas
5	Lingua	43	Gll. Parotis
6	Uterus, Myometrium	44	Gll. Submandubularis
7	Appendix, Muskelwand	45	Gll. Sublinguales
8	Oesophagus, Muskelwand	46	Medulla ossium
9	Gaster, Muskelwand	47	Duodenum, Brunner Drüsen
10	Ileum, Muskelwand	48	Cortex renalis
11	Kolon descendens, Muskelwand	49	Medulla renalis
12	Pelvis renalis, Muskelwand	50	Prostata
13	Vesica urinaria, Muskelwand	51	Gl. Vesiculosa
14	Penis, Corpus Spongiosum	52	Epididymis
15	Ovar, Stroma	53	Testis
16	Adipozyten	54	Bronchus, Mucosa
17	Cutis	55	Bronchus, Gll.
18	Cutis, Haarfollikel	56	Sinus paranasales
19	Labia, Mucosa oris	57	Pulmo
20	Cavum oris	58	Mamma
21	Tonsille, Oberflächenepithel	59	Endocervix
22	Canalis analis, Zona cutanea	60	Endometrium, Proliferationsphase
23	Canalis analis, Zona transitionalis	61	Endometrium, Sekretionsphase
24	Ektocervix	62	Tuba uterina, Mucosa
25	Oesophagus, Plattenepithel	63	Placenta, frühe, decidua
26	Pelvis renalis, Urothel	64	Ovar, Corpus luteum
27	Vesica urinaria, Urothel	65	Ovar, Follikuläre Zyste
28	Plazenta, Amnion, Chorion	66	Placenta, frühe
29	Nodus lymphaticus	67	Placenta, reif
30	Lien	68	Gl. Adrenalis
31	Thymus	69	Gl. Parathyroideae
32	Tonsille	70	Gl. Thyroidea
33	Gaster, Antrum	71	Cortex cerebelli
34	Gaster, Corpus	72	Cerebellum, Substantia grisea
35	Duodenum, Mucosa	73	Cortex cerebri
36	Ileum, Mucosa	74	Cerebrum, Substantia alba
37	Appendix, Mucosa	75	Hypophyse, Lobus post., Infundibulum
38	Colon descendens, Mucosa	76	Hypophyse, Lobus ant.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Gewebetypen des NTA.

2.2.2 Multitumorarray

Der Multitumorarray beinhaltet insgesamt 3449 Proben von 82 verschiedenen Tumortypen und Subtypen. Von jedem Tumor wurden maximal 50 verschiedene Exemplare von 50 verschiedenen Patienten mit aufgenommen. Von einzelnen seltenen Tumortypen konnte die Zahl von 50 allerdings nicht erreicht werden. Die genaue Zusammensetzung des Multitumor-TMAs ist in Tabelle 2 dargestellt. Jeder einzelne TMA enthielt neben den Tumoren auch eine Standard Kontrollsektion, welche jeweils die folgenden Normalgewebe beinhaltete: Haut, Niere, Prostata, Kolon, Herz, Hirn, Pankreas, Schilddrüse, Lymphknoten sowie Leber.

Tumorgruppen	Entität	n auf TMA
Tumoren der Haut	Pilomatrixom	35
	Basaliom	48
	Benigner Naevus	29
	Haut Plattenepithelkarzinom	50
	Malignes Melanom	48
	Merkelzellkarzinom	46
Atemwegstumoren	Larynx Plattenepithelkarzinom	50
	Mundboden Plattenepithelkarzinom	50
	Lunge Plattenepithelkarzinom	50
	Bronchialkarzinom großzellig	31
	Lunge Adenokarzinom	50
	Lunge bronchioalveoläres Karzinom	6
	Lunge kleinzelliges Karzinom	20
	Malignes Mesotheliom	48
	Parotis Pleomorphes Adenom	50
	Parotis Warthin Tumor	49
Speicheldrüse Basalzelladenom	15	
Gynäkologische Tumoren	Vagina Plattenepithelkarzinom	48
	Vulva Plattenepithelkarzinom	50
	Zervix Plattenepithelkarzinom	50
	Zervix Adenokarzinom	50
	Endometriumkarzinom endometrioid	50
	Endometriumkarzinom serös	50
	Uterus Stromasarkom	12
	Karzinom Sarkom	48
	Ovariakarzinom endometrioid	37
	Ovariakarzinom serös	50
	Ovariakarzinom muzinös	26
	Brennertumor	9
	Mammakarzinom NST	46
	Mammakarzinom lobulär	43
	Mammakarzinom medullär	15
Mammakarzinom tubulär	18	
Mammakarzinom muzinös	22	
Mammakarzinom phylloid	50	
Gastrointestinale Tumoren	Colonadenom, low grade	50
	Colonadenom, high grade	50
	Colon Adenokarzinom	50
	Dünndarm Adenokarzinom	10
	Magenkarzinom diffuser Typ	50
	Magenkarzinom intestinaler Typ	50
	Ösophagus Adenokarzinom	50
	Ösophagus Plattenepithelkarzinom	49
	Analkanal Plattenepithelkarzinom	50
	Cholangiozelluläres Karzinom	50

	Hepatozelluläres Karzinom	50
	Pankreas duktales Adenokarzinom	50
	Pankreas/Papille Adenokarzinom	30
	Pankreas Neuroendokriner Tumor	49
	Gastrointestinaler Stromatumor	50
Urogenitale Tumoren	Urothelkarzinom pTa	50
	Urothelkarzinom T2-4	50
	Harnblasenkarzinom kleinzellig	18
	Nierenzellkarzinom klarzellig	50
	Nierenzellkarzinom papillär	50
	Nierenzellkarzinom chromophob	50
	Onkozytom	50
	Prostatakarzinom	49
	Prostatakarzinom kleinzellig	17
	Seminom	50
	Embryonales Karzinom (Hoden)	50
	Dottersacktumor	50
	Teratom	50
Endokrine Tumoren	Schilddrüsenadenom	50
	Schilddrüsenkarzinom papillär	50
	Schilddrüsenkarzinom follikulär	49
	Schilddrüsenkarzinom medullär	50
	Schilddrüsenkarzinom anaplastisch	26
	Nebennieren-Adenom	50
	Nebennieren-Karzinom	26
	Phäochromozytom	50
Neuroendokriner Tumor (NET)	50	
Hämatologische Neoplasien	Hodgkin-Lymphom	45
	Non Hodgkin-Lymphom	48
	Thymom	29
Weichgewebstumoren	Riesenzell-Sehnenscheiden Tumor	45
	Granularzelltumor	30
	Leiomyom	50
	Leiomyosarkom	49
	Liposarkom	49
	Angiosarkom	32
Knochtumoren	Osteosarkom	25
	Chondrosarkom	25

Tabelle 2: Zusammensetzung des Multi Tumor Arrays für die immunhistochemische Untersuchung auf Muc5AC

2.3 Immunhistochemie

Die immunhistochemischen Untersuchungen von sämtlichen 8 Schnitten (einmal NTA, sieben Mal MTA) erfolgte an einem Tag unter absolut identischen Bedingungen. Am Tag vor der Untersuchung wurden die Schnitte frisch hergestellt. Hierfür wurden 2,5 Mikrometer dicke Gewebeschnitte angefertigt. Für die immunhistochemische Untersuchung wurden die Gewebeschnitte zunächst deparaffiniert und danach einer hitzeinduzierten Epitop-Demaskierungsprozedur für 5 Minuten bei einem pH-Wert von 7,8 und einer Temperatur von 121 Grad Celsius in einem Autoklaven unterzogen. Der monoklonale Antikörper (Maus) GenomeMe IHC625-100 wurde für 60 Minuten bei einer Verdünnung 1:1350 bei 37 Grad inkubiert. Der gebundene Antikörper wurde danach unter Verwendung des EnVision-Kits (Dako, Glostrup, Dänemark) visualisiert. Die Auswertung der Tumorproben erfolgte durch Prof. Guido Sauter. Für jeden Tumor

wurde die Intensität der Färbung und der prozentuale Anteil gefärbter Tumorzellen registriert. Aus Intensität und prozentualem Anteil wurde danach eine Einteilung in die Kategorien negativ, geringgradig positiv, mäßiggradig positiv und stark positiv durchgeführt unter Verwendung der folgenden Kriterien: Keine Färbung entspricht der Bewertung „negativ“, Intensität 1 in $\leq 70\%$ der Tumorzellen oder Intensität 1 in $\leq 30\%$ der Tumorzellen entspricht „geringgradig positiv“, Intensität 1 in $> 70\%$ der Tumorzellen oder 2 in $30-70\%$ der Tumorzellen oder 3 in $\leq 30\%$ der Tumorzellen entspricht „mäßiggradig positiv“, Intensität 2 in $> 70\%$ der Tumorzellen oder 3 in $\leq 30\%$ der Tumorzellen entspricht „stark positiv“. Die Auswertung des Normalgewebearrays erfolgte durch Dr. Sebastian Dwertmann Rico, wobei in Normalgeweben registrierte Färbungen jeweils einem spezifischen Zelltyp zugeordnet wurden.

2.4 Statistik

Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden tabellarisch dargestellt. Statistische Untersuchungen zur Beurteilung von Unterschieden zwischen bestimmten Tumorgruppen erfolgten nicht.

3. Ergebnisse

3.1. Normalgewebe

Die Ergebnisse der Untersuchungen von Normalgeweben sind in Tabelle 3 dargestellt. Positive Anfärbungen finden sich insbesondere im Gastrointestinaltrakt, dem Respirationstrakt und im Bereich der Cervix Uteri. Repräsentative Beispiele von Anfärbungen in Bronchialschleimhaut, Magenschleimhaut, Gallenblasenepithel und Drüsenepithel der Endozervix sind in den Abbildungen 8-11 dargestellt. Die schwächeren Anfärbungen fanden sich in Nierentubuli oder auch der Hypophyse (Abbildungen 12-13).

Organsystem	Schwache Färbung	Moderate Färbung	Starke Färbung
Urogenitaltrakt	Tubuli renalis: insbesondere proximale Tubuluszellen	Vesica urinaria: Urothel Deckzellen (sehr fokal bzw. Einzelzellen mit Intensität von + bis ++)	
Kopf und Hals	Gl. Sublingualis: Muzinöse Zellen (sehr fokal)		
Gastrointestinaltrakt		Duodenum: Mucosa Becherzellen (sehr fokal, Intensität + bis ++) Appendix: Mucosa Becherzellen (sehr fokal, Intensität + bis ++) Colon, descendens: Mucosa Becherzellen (sehr fokal, Intensität + bis ++) Rectum: Mucosa Becherzellen (sehr fokal, Intensität + bis ++) Vesica biliaris: Mucosa Zylinderepithel (Intensität von + bis ++)	Gaster, Antrum: Mucosa Oberflächenepithel, muköse Zellen Gaster, Corpus: Mucosa Oberflächenepithel, Nebenzellen (Intensität von + bis ++) Gaster, Fundus: Mucosa Oberflächenepithel, Nebenzellen (Intensität von + bis ++) Canalis analis, Zona transitionalis: Mucosa Suprabasale Epithelzellen
Respirationstrakt			Pulmo, Bronchus: Mucosa Respiratorische Epithel und Becherzellen (Intensität von ++ bis +++)
Gynäkologischer Trakt			Cervix uteri, Endozervix: Mucosa Schleimbildendes Zylinderepithel (Intensität von + bis +++)
Endokrine Organe	Hypophyse, Lobus anterior: Zytoplasmatische Anfärbung		

Tabelle 3: Ergebnisse der NTA Anfärbung und Deklaration des Muc5AC exprimierenden Zelltypus

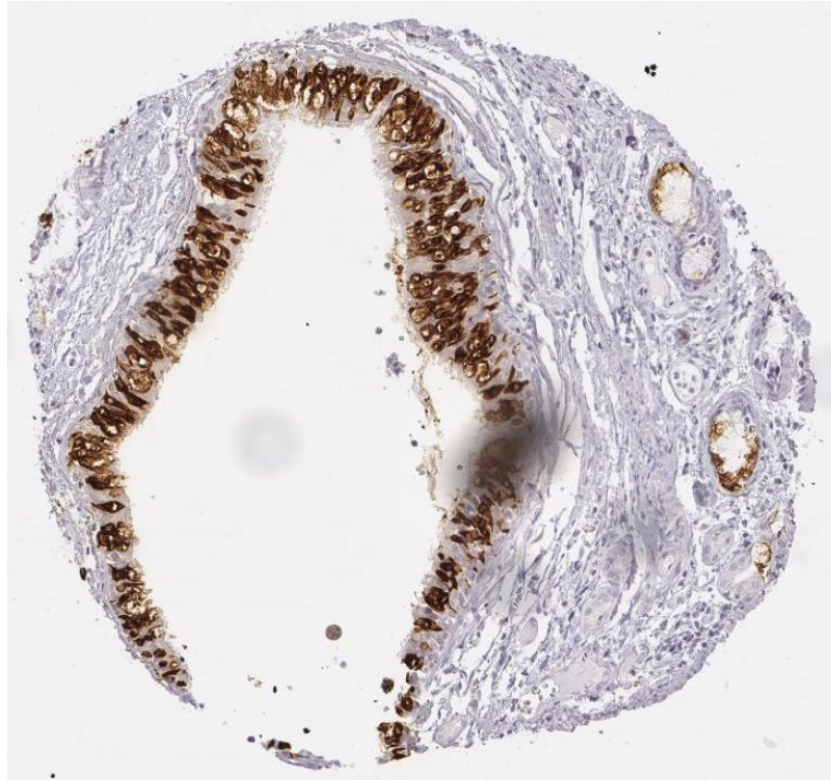


Abbildung 8: NTA, Pulmo – Starke zytoplasmatische Anfärbung von Flimmerepithel der Bronchialschleimhaut

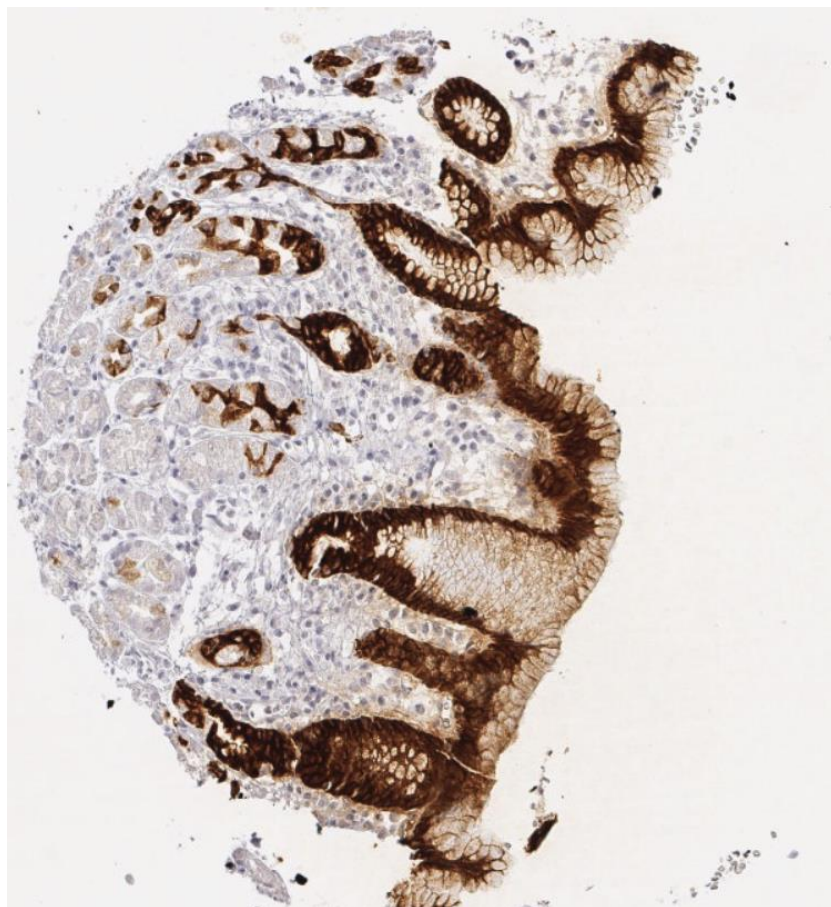


Abbildung 9: NTA, Gaster - Starke zytoplasmatische beziehungsweise membranöse Anfärbung des Oberflächenepithels

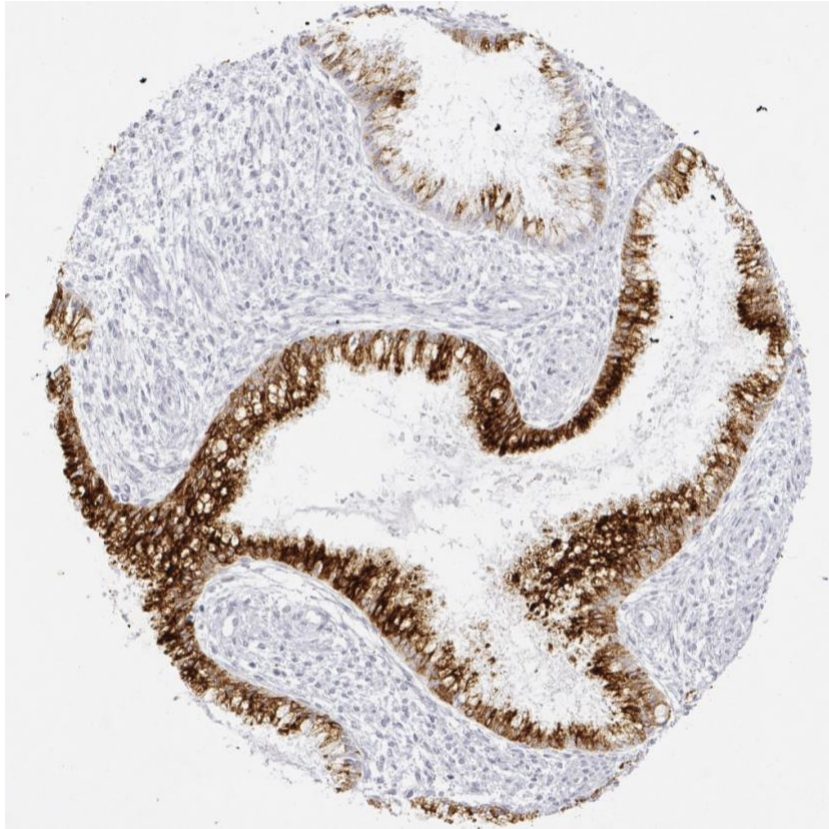


Abbildung 10: NTA, Endocervix – Starke zytoplasmatische respektive membranöse Anfärbung des schleimbildenden Zylinderepithels

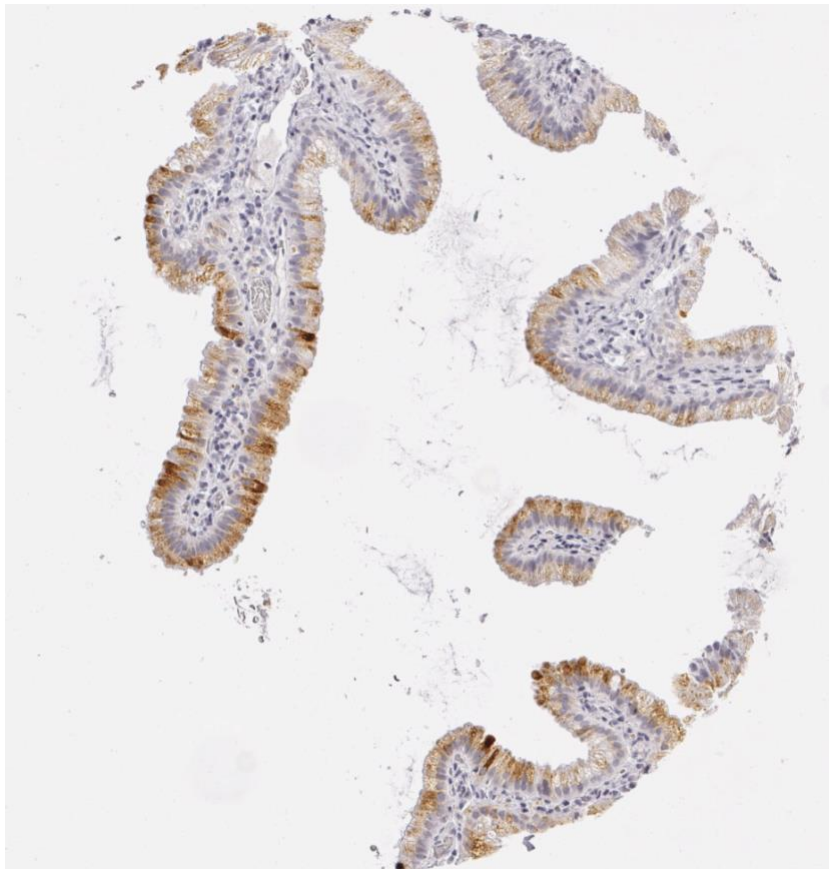


Abbildung 11: NTA, Vesica biliaris - Schwach bis mäßige zytoplasmatische/membranöse Anfärbung des Epithels

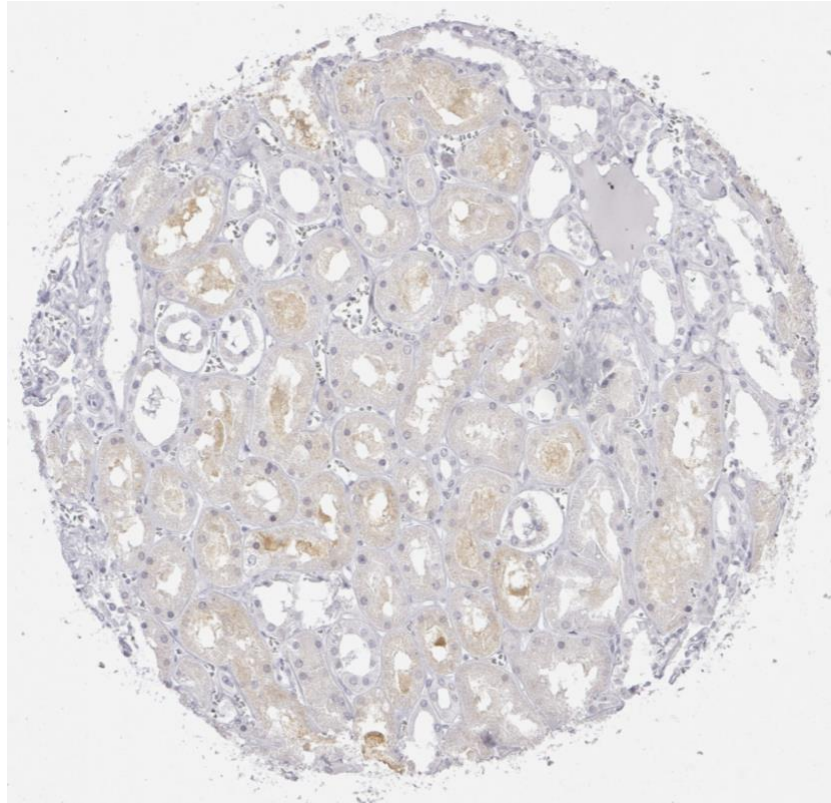


Abbildung 12: NTA, Cortex renalis – Schwache Anfärbung der Tubuluszellen der proximalen Nierentubuli

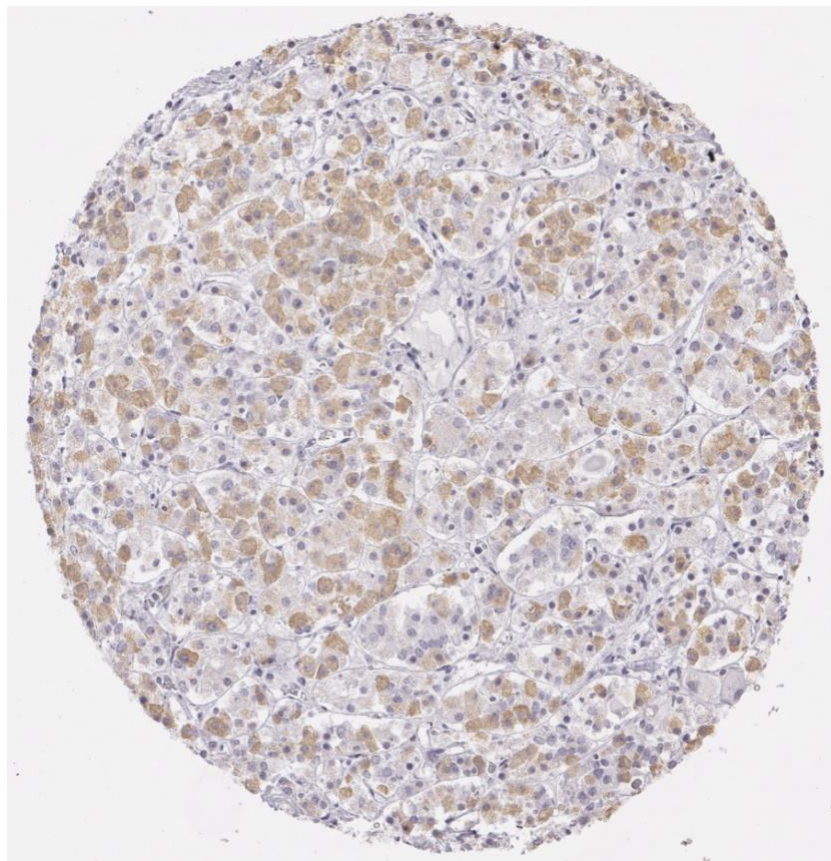


Abbildung 13: NTA, Hypophyse Lobus anterior - Dezentere zytoplasmatische Anfärbung der Adenohypophyse

3.2 Neoplasien

Die Ergebnisse der Tumoruntersuchung sind in Tabelle 4 dargestellt. Eine Positivität für Muc5AC in mindestens einem untersuchten Fall fand sich in 31 von 82 untersuchten Tumortypen. Bei 21 untersuchten Tumortypen wurde in mindestens einem Fall eine starke Muc5AC Expression beobachtet. Eine Rangliste der Tumoren nach der Häufigkeit der Muc5AC Expression ist in der Abbildung 14 dargestellt. Die am häufigsten positiven Karzinome sind das Adenokarzinom des Oesophagus, Kolonadenome, das duktales Adenokarzinom des Pankreas, Adenokarzinome des Magens und muzinöse Ovarialkarzinome. Die Rangliste macht deutlich, dass eine Muc5AC Expression praktisch nur bei Adenokarzinomen vorkommt. Die am häufigsten Muc5AC positiv gefundenen nicht-Adenokarzinome sind großzellige Bronchialkarzinome (13% positiv) und kleinzellige Harnblasenkarzinome (11% positiv). Repräsentative Bilder von Muc5AC positiven Tumoren sind in den Abbildungen 15-34 dargestellt.

Tumorgruppen	Entität	neg. %	schw. %	mod. %	stark %	positiv %
Tumoren der Haut	Pilomatrixom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Basaliom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Benigner Naevus	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Haut Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Malignes Melanom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Merkellzellkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Atemwegs- tumoren	Larynx Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mundboden Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Lunge Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Bronchialkarzinom großzellig	87,0	13,0	0,0	0,0	13,0
	Lunge Adenokarzinom	82,9	2,9	2,9	11,4	17,1
	Lunge bronchioalveoläres Karzinom	66,7	16,7	0,0	16,7	33,3
	Lunge kleinzelliges Karzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Malignes Mesotheliom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Parotis Pleomorphes Adenom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Parotis Warthin Tumor	91,1	2,2	2,2	4,4	8,9
	Speicheldrüse Basalzelladenom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Gynäkologische Tumoren	Vagina Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Vulva Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Zervix Plattenepithelkarzinom	97,4	2,6	0,0	0,0	2,6
	Zervix Adenokarzinom	69,4	13,9	2,8	13,9	30,6
	Endometriumkarzinom endometrioid	64,4	20,0	4,4	11,1	35,6
	Endometriumkarzinom serös	84,8	12,1	3,0	0,0	15,2
	Uterus Stromasarkom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Karzinom Sarkom	91,1	2,2	2,2	4,4	8,9
	Ovarialkarzinom endometrioid	96,2	3,8	0,0	0,0	3,8
	Ovarialkarzinom serös	97,6	0,0	2,4	0,0	2,4
	Ovarialkarzinom muzinös	54,5	4,5	4,5	36,4	45,5
	Brennertumor	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mammakarzinom NST	96,0	4,0	0,0	0,0	4,0
	Mammakarzinom lobulär	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mammakarzinom medullär	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mammakarzinom tubulär	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Mammakarzinom muzinös	93,8	0,0	6,3	0,0	6,3
Mammakarzinom phylloid	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Gastrointestinale Tumoren	Colonadenom, low grade	36,4	18,2	13,6	31,8	63,6
	Colonadenom, high grade	40,0	16,7	10,0	33,3	60,0
	Colon Adenokarzinom	83,3	0,0	8,3	8,3	16,7
	Dünndarm Adenokarzinom	66,7	0,0	0,0	33,3	33,3
	Magenkarzinom diffuser Typ	55,6	11,1	3,7	29,6	44,4
	Magenkarzinom intestinaler Typ	43,3	30,0	6,7	20,0	56,7
	Ösophagus Adenokarzinom	28,2	23,1	17,9	30,8	71,8
	Ösophagus Plattenepithelkarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0

	Analkanal Plattenepithelkarzinom	92,3	0,0	0,0	7,7	7,7
	Cholangiozelluläres Karzinom	77,8	2,8	5,6	13,9	22,2
	Hepatozelluläres Karzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Pankreas duktales Adenokarzinom	36,4	24,2	6,1	33,3	63,6
	Pankreas/Papille Adenokarzinom	58,8	11,8	5,9	23,5	41,2
	Pankreas Neuroendokriner Tumor	91,2	0,0	5,9	2,9	8,8
	Gastrointestinaler Stromatumor	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Urogenitale Tumoren	Urothelkarzinom pTa	97,7	0,0	2,3	0,0	2,3
	Urothelkarzinom T2-4	95,7	0,0	2,1	2,1	4,3
	Harnblasenkarzinom kleinzellig	88,9	0,0	11,1	0,0	11,1
	Nierenzellkarzinom klarzellig	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nierenzellkarzinom papillär	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nierezellkarzinom chromophob	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Onkozytom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Prostatakarzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Prostatakarzinom kleinzellig	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Seminom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Embryonales Karzinom (Hoden)	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Dottersacktumor	94,3	0,0	2,9	2,9	5,7
	Teratom	95,8	4,2	0,0	0,0	4,2
Endokrine Tumoren	Schilddrüsenadenom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Schilddrüsenkarzinom papillär	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Schilddrüsenkarzinom follikulär	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Schilddrüsenkarzinom medullär	97,0	0,0	3,0	0,0	3,0
	Schilddrüsenkarzinom anaplastisch	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nebennieren-Adenom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Nebennieren-Karzinom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Phäochromozytom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Neuroendokriner Tumor (NET)	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Hämatologische Neoplasien	Hodgkin-Lymphom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Non Hodgkin-Lymphom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Thymom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Weichgewebs-tumoren	Riesenzell-Sehnenscheiden Tumor	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Granularzelltumor	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Leiomyom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Leiomyosarkom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Liposarkom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Angiosarkom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Knochentumoren	Osteosarkom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Chondrosarkom	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabelle 4: Ergebnisse der Multitumor Tissue Microarray Auswertung

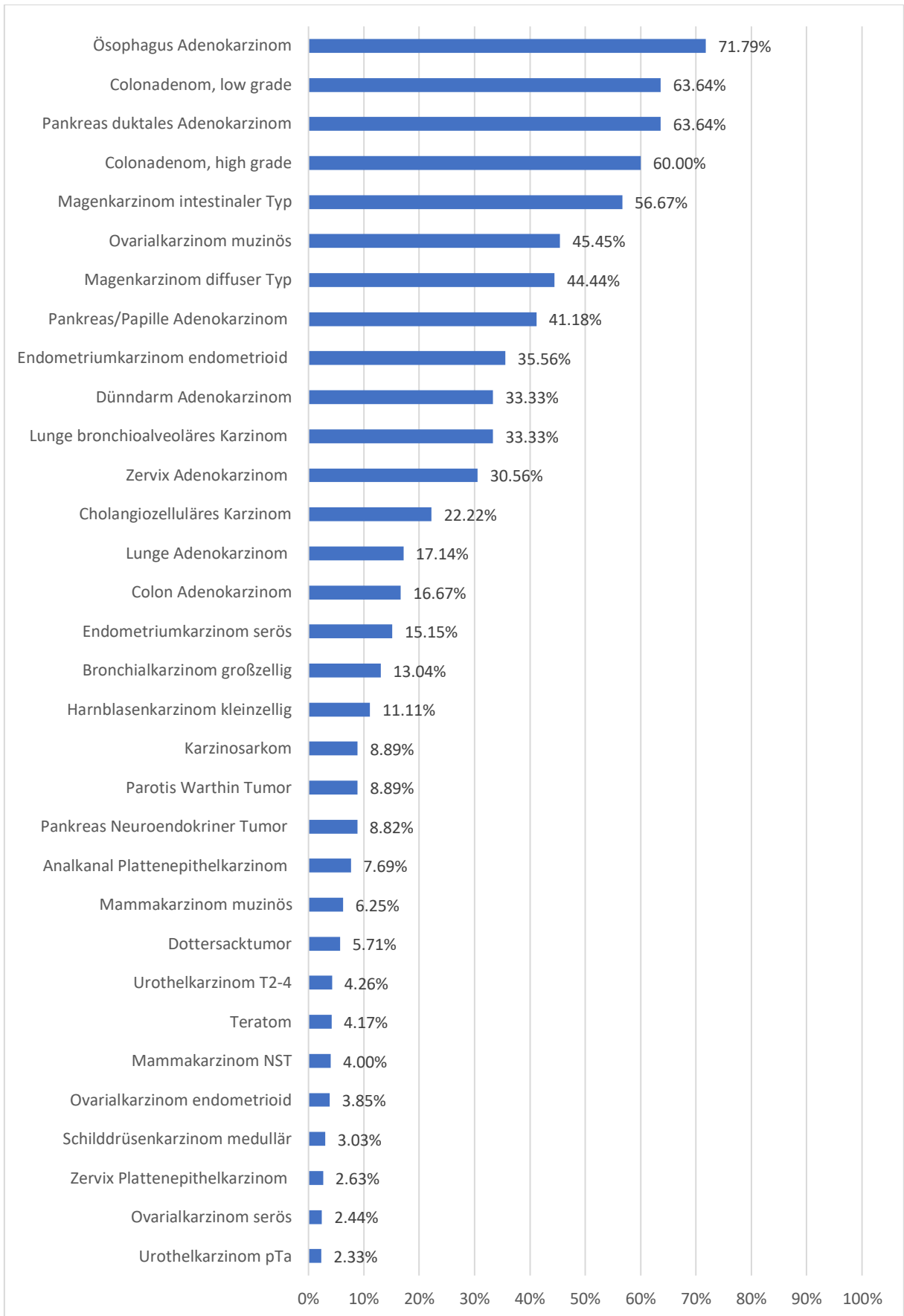


Abbildung 14: Rangliste der auf Muc5AC positiven Tumorentitäten des MTA in Darstellung gemäß zunehmender Expressionsrate

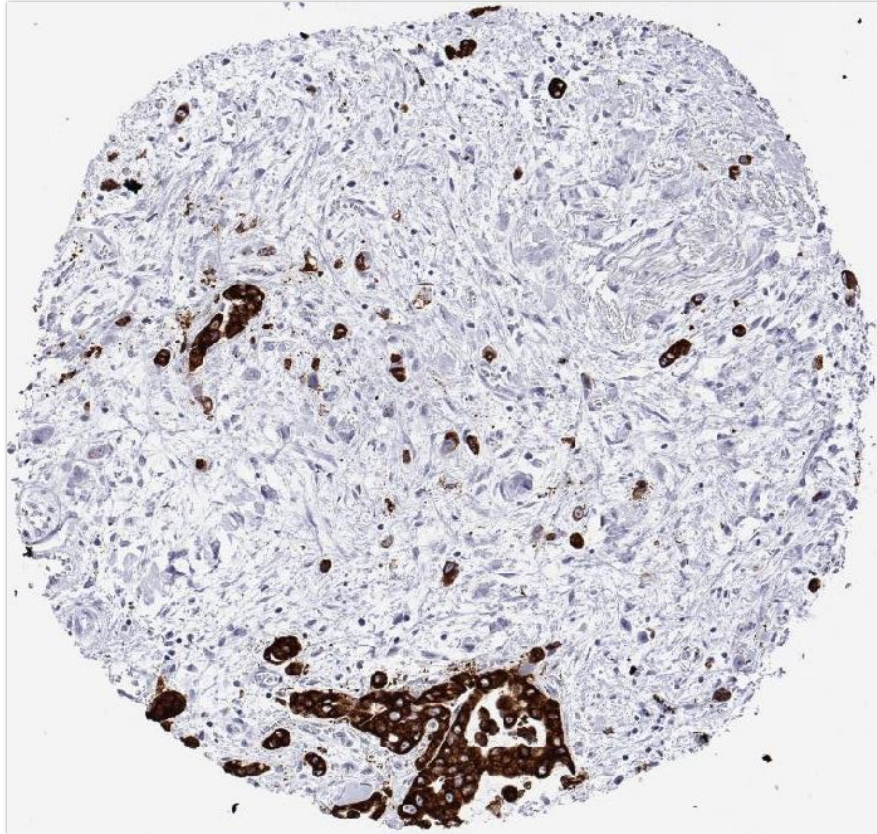


Abbildung 15: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Anfärbung in einem überwiegend diffus wachsenden Magenkarzinom. Neben wenigen glandulären Strukturen kommen vor allem dissolut wachsende Einzelzellen durch die MUC5AC Anfärbung zur Darstellung.

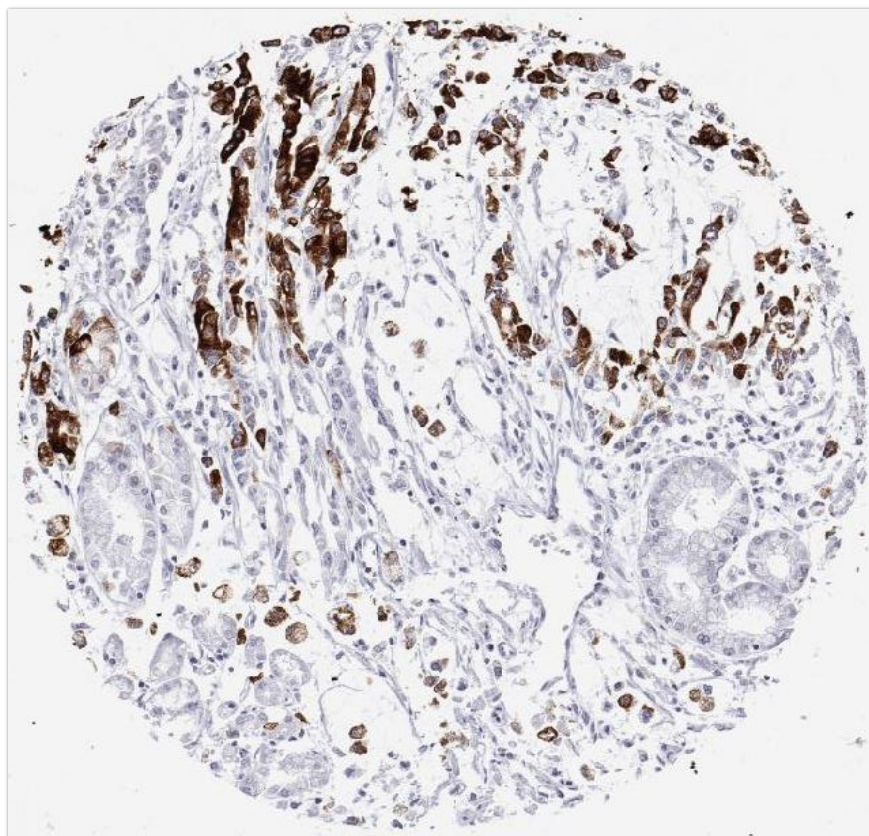


Abbildung 16: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Anfärbung in einem Magenkarzinom vom diffusen Typ und fokal muzinösen Anteilen.

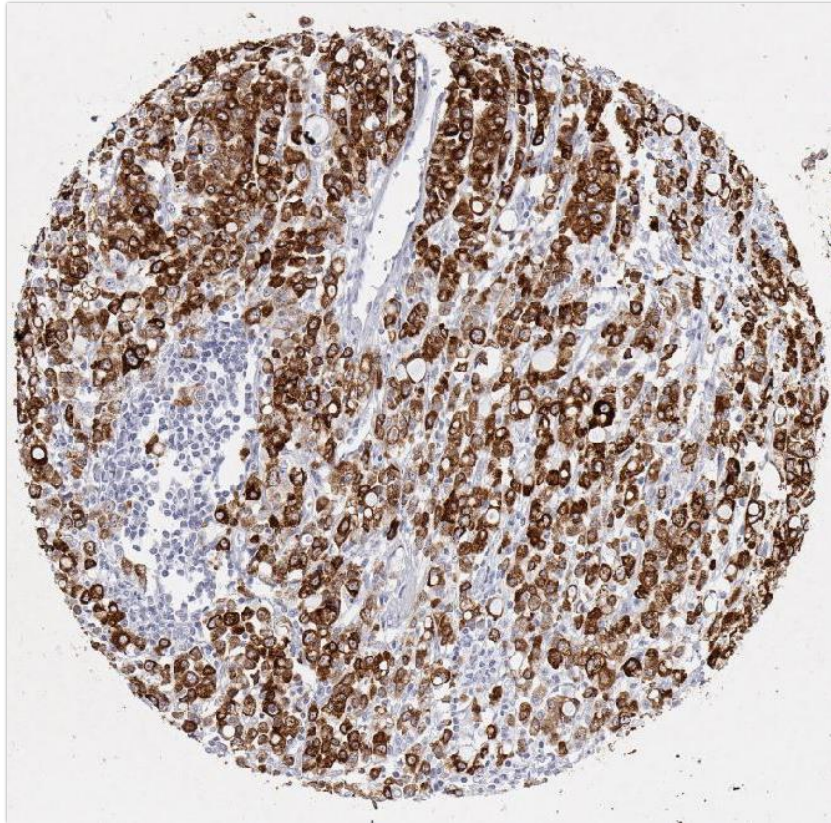


Abbildung 17: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Positivität in 100% der Zellen eines Adenokarzinoms des Magens vom diffusen Typ.

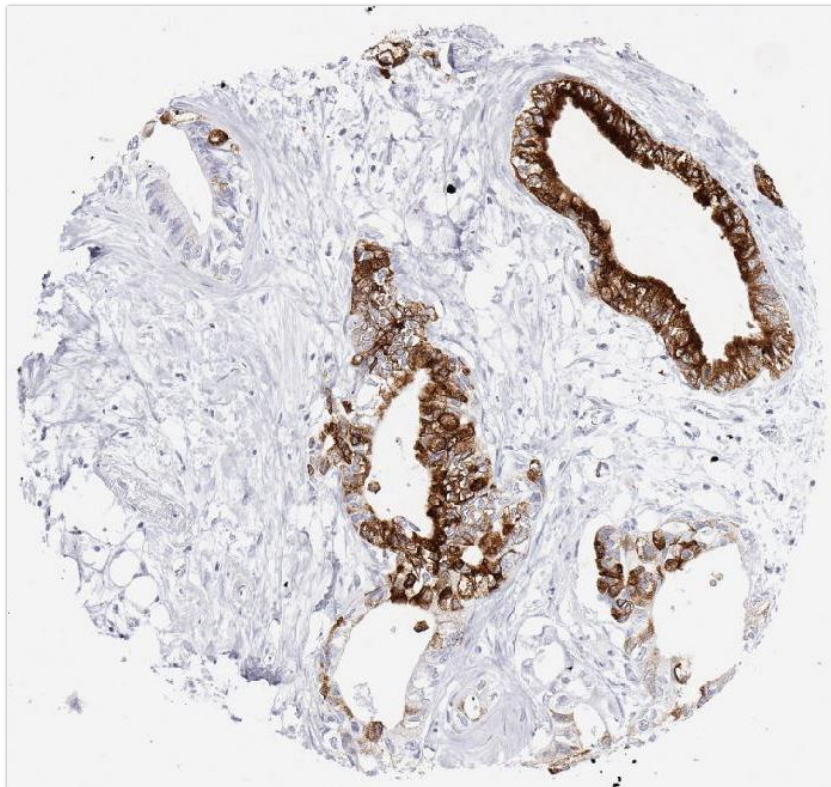


Abbildung 18: Fokal kräftige zytoplasmatische Muc5AC Immunfärbung in einem duktalem Adenokarzinom die Pankreas.

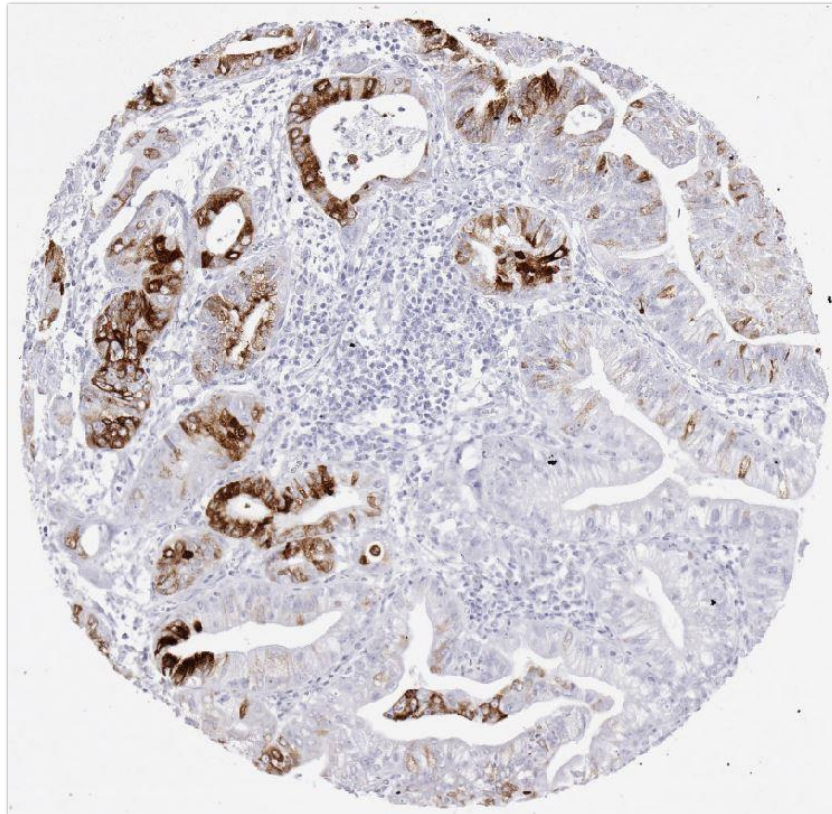


Abbildung 19: Kräftige Muc5AC Immunfärbung in ca. 30% der neoplastischen Drüsen eines Adenokarzinoms der Papilla Vaterii des Pankreas.

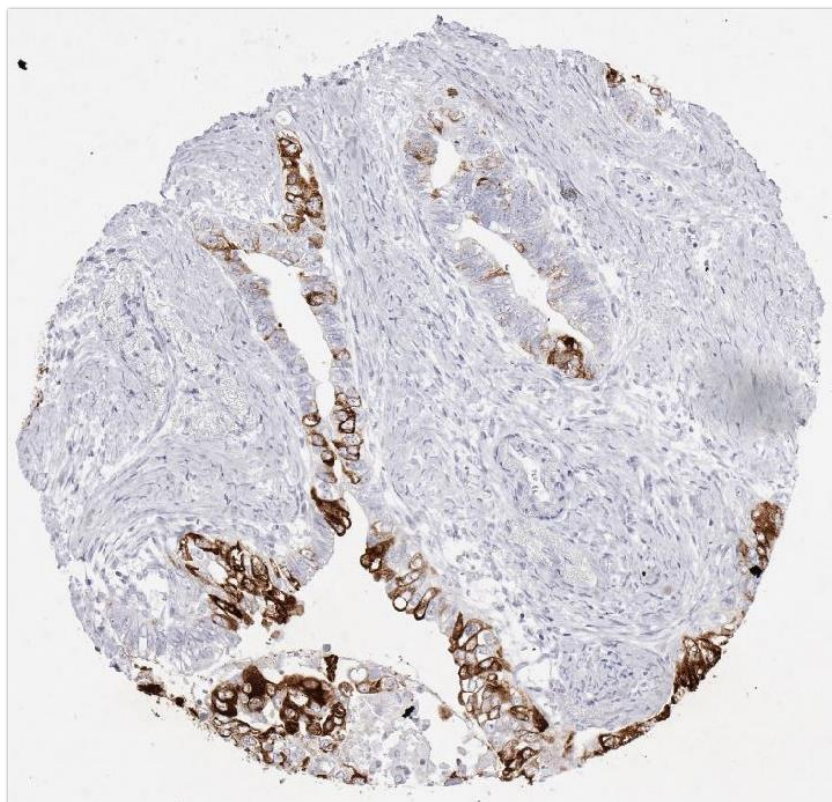


Abbildung 20: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Positivität in einem Adenokarzinom der Papilla Vaterii des Pankreas. Die Positivität zeigt ein sogenanntes „Mosaik-Muster“, ein Nebeneinander von kräftig positiven und negativen Tumorzellen.

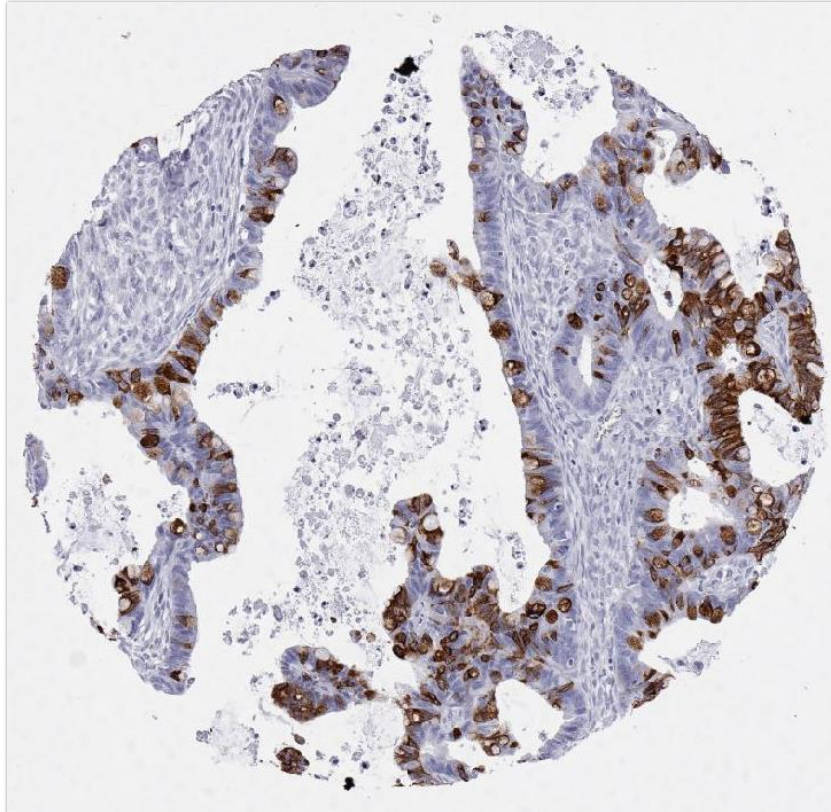


Abbildung 21: Mosaik-Muster der Muc5AC Anfärbung in einem muzinösen Ovarialkarzinom.

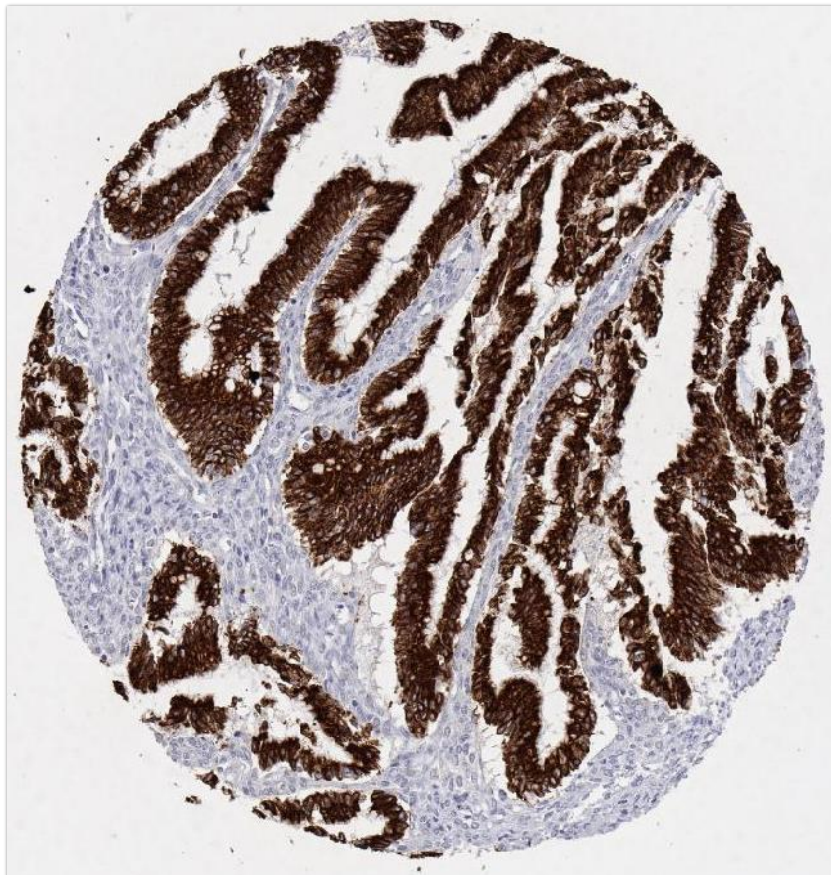


Abbildung 22: Diffuses Färbemuster in einem muzinösen Ovarialkarzinom mit kräftiger Positivität in 100% der Tumorzellen.

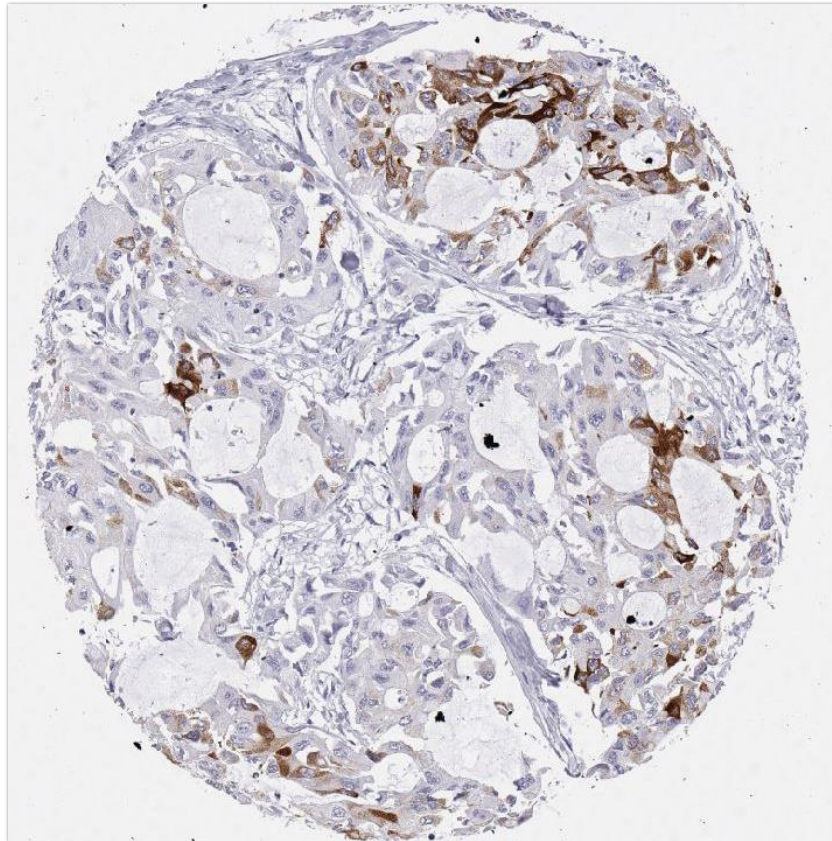


Abbildung 23: Kleinherdige Muc5AC Anfärbung im Zytoplasma von Tumorzellen eines muzinösen Mammakarzinoms.

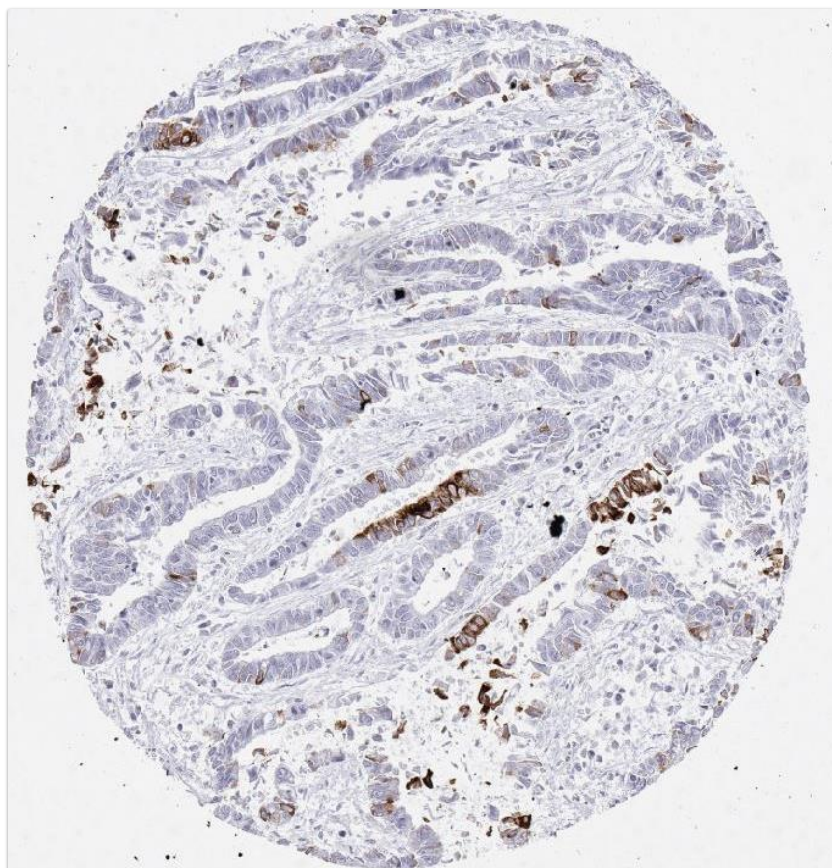


Abbildung 24: Kräftige fokale Anfärbung von ca. 5% der Tumorzellen in einem endometrioiden Endometriumkarzinom des Uterus.

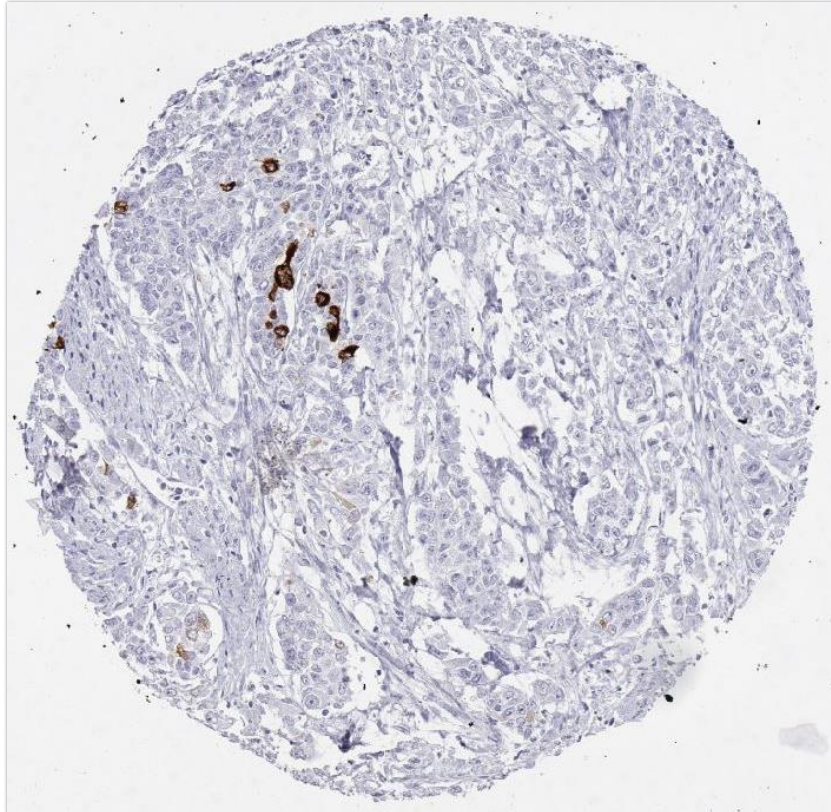


Abbildung 25: Kräftige cytoplasmatische Anfärbung von <math><5\%</math> der Tumorzellen in einem endometrioiden Endometriumkarzinom des Uterus.

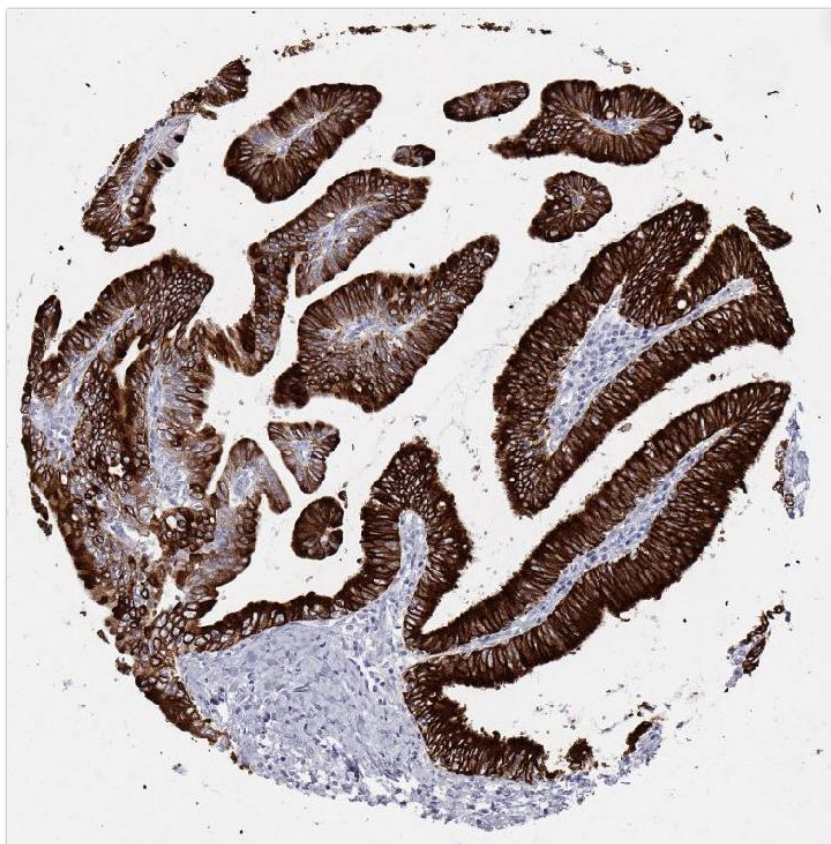


Abbildung 26: Kräftige zytoplasmatische Positivität in 100% der Tumorzellen eines endometrioiden Endometriumkarzinoms.

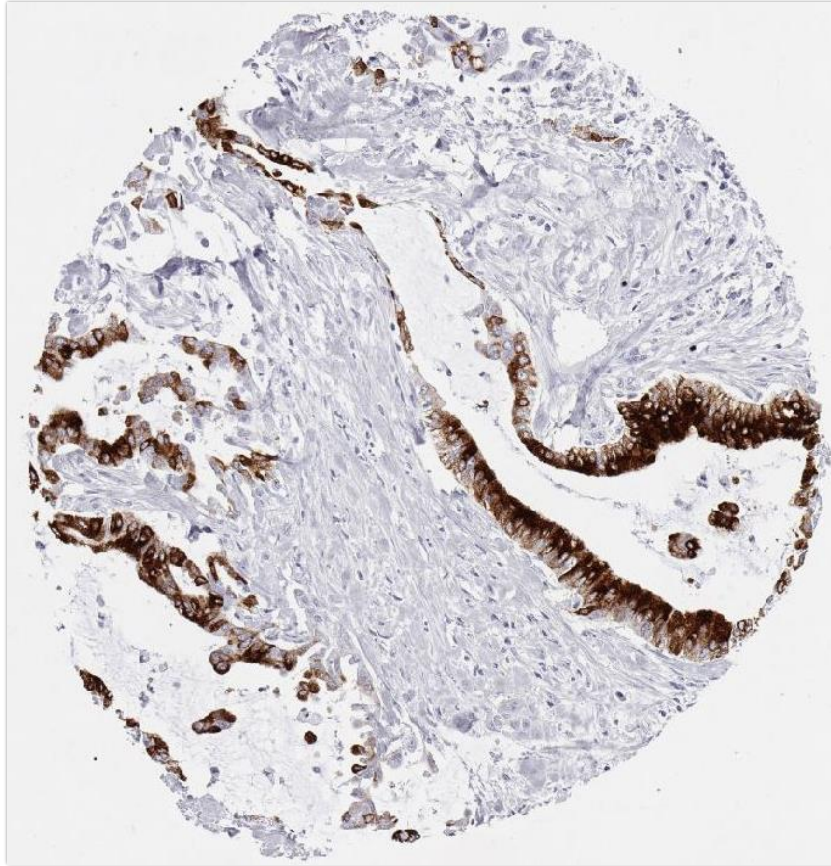


Abbildung 27: Fokal kräftige, zytoplasmatische Muc5AC Färbung in einem cholangiozellulären Karzinom der Leber.

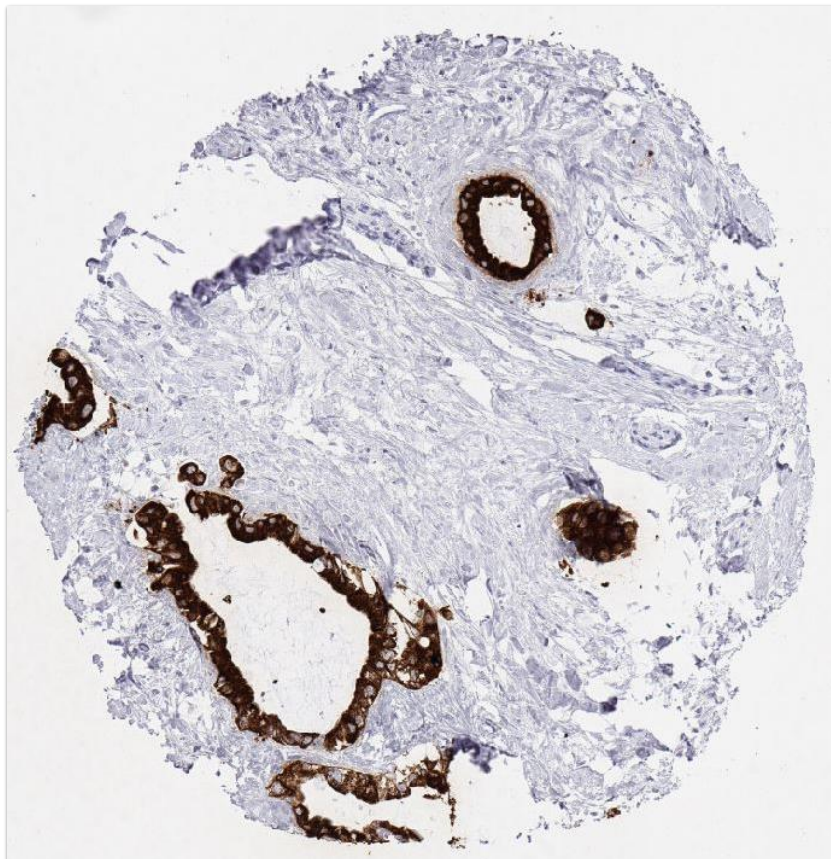


Abbildung 28: Cholangiozelluläres Karzinom der Leber mit diffuser starker MUC5AC Positivität in 100% der Tumorzellen.

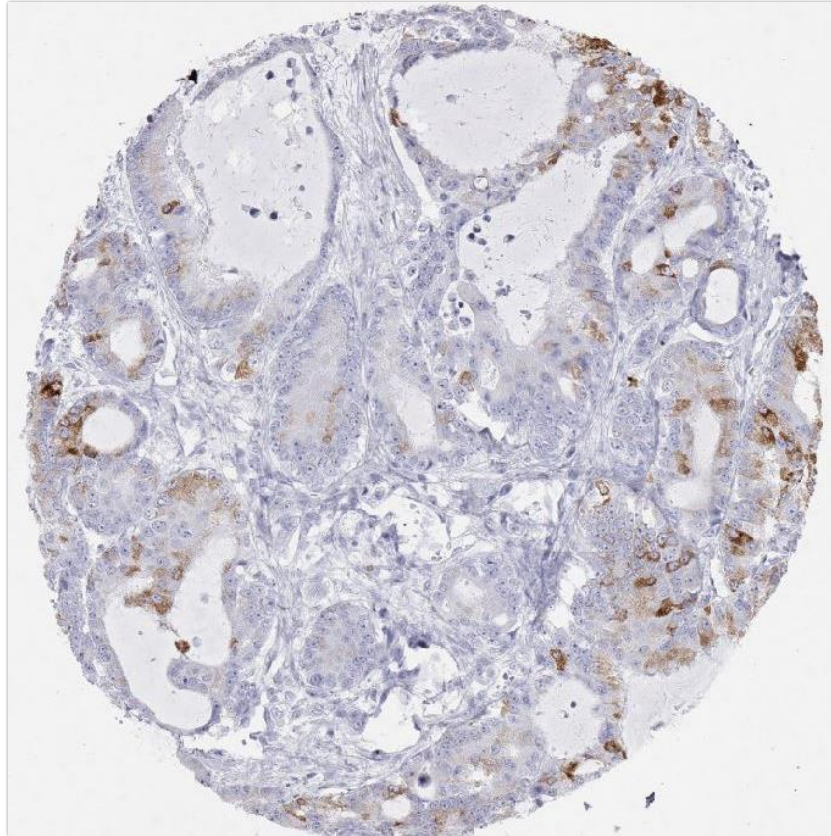


Abbildung 29: Cholangiozelluläres Karzinom in der Leber mit fokal gering bis mäßiggradiger Muc5AC Anfärbung in Tumordrüsen und sogenanntem „Mosaik-Muster“.

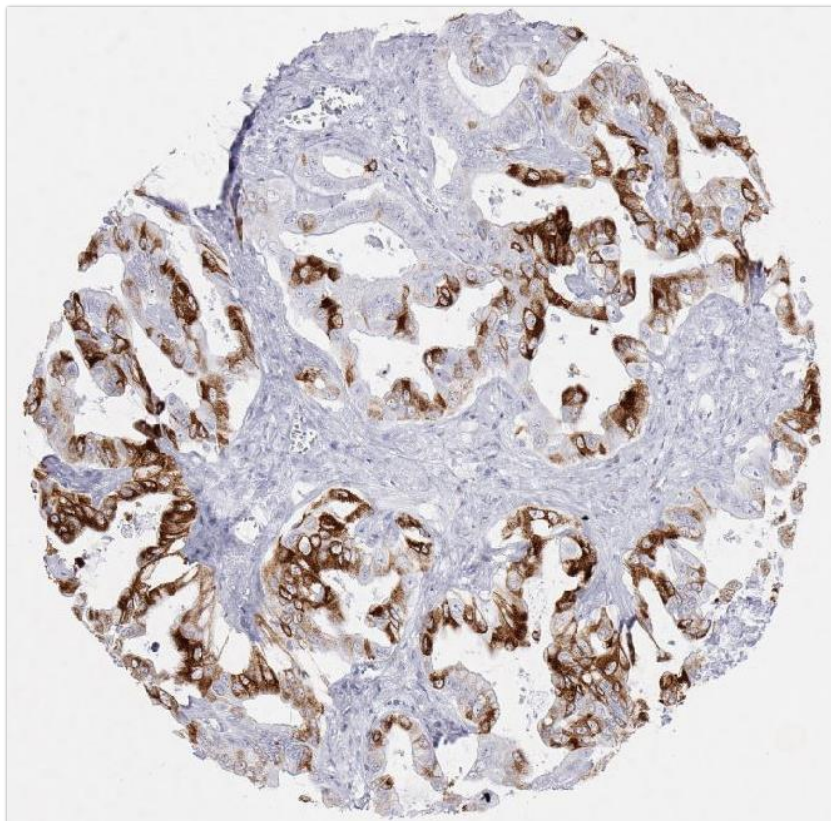


Abbildung 30: Cholangiozelluläres Karzinom mit diffuser zytoplasmatischer Muc5AC Anfärbung in ca. 70% der Tumorzellen. Stellenweise unter Ausbildung eines sogenannten „Mosaik-Musters“.

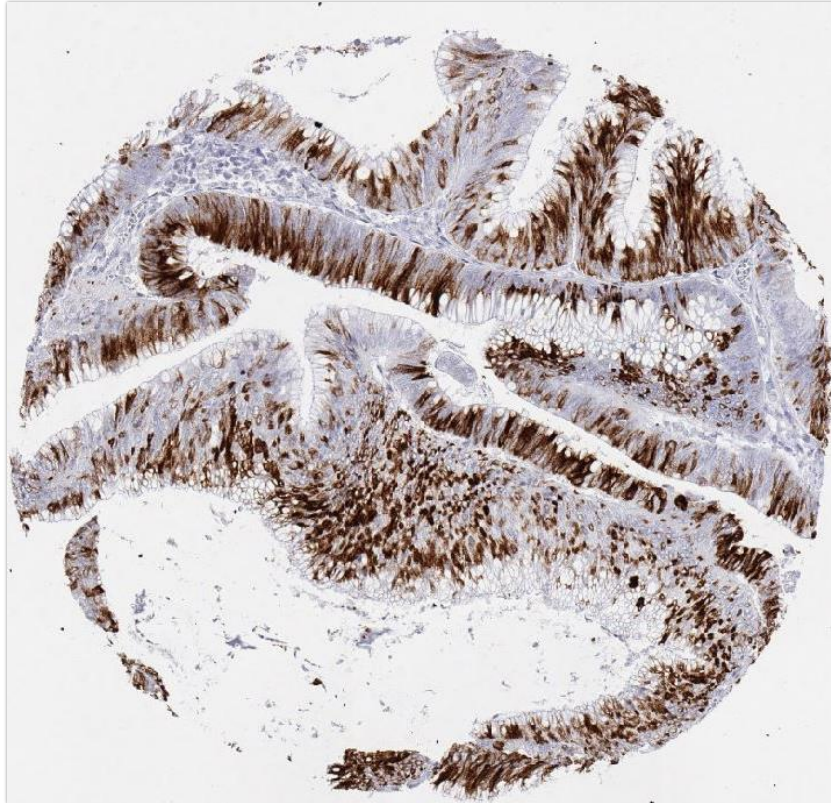


Abbildung 31: Muc5AC Färbung in einem Kolonadenom (low-grade): Ca. 70% der Tumorzellen zeigen eine zytoplasmatische Positivität. Dabei sind die positiven und negativen Zellen bunt durcheinandergemischt (Mosaik-Muster).

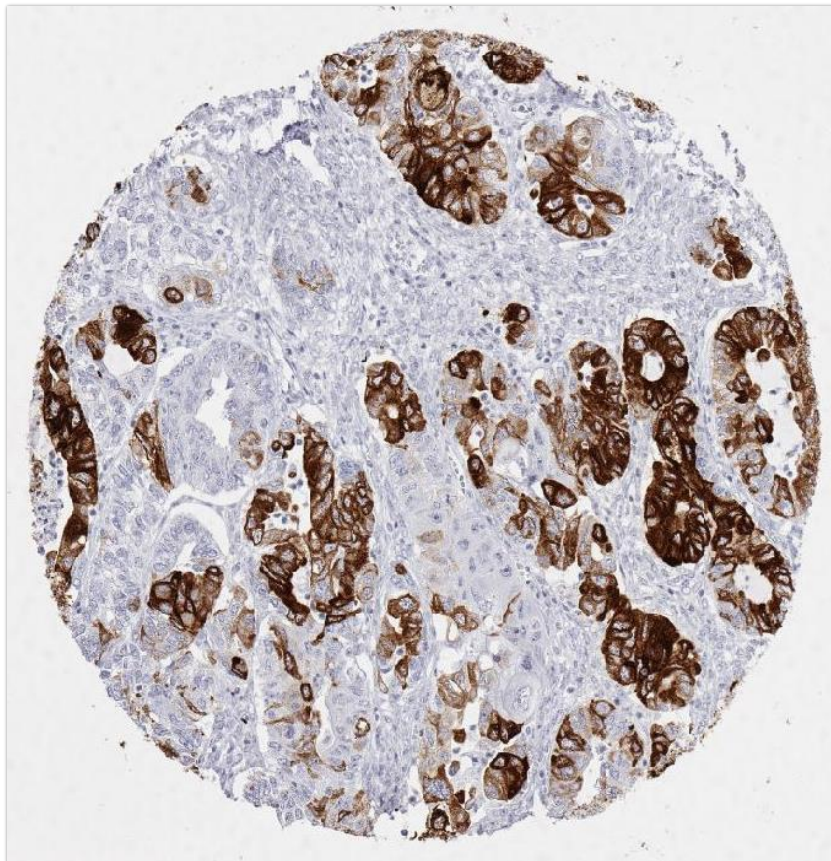


Abbildung 32: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Färbung in epitheloiden Anteilen eines Karzinosarkoms des Uterus (Maligner Müllerscher Misch tumor).

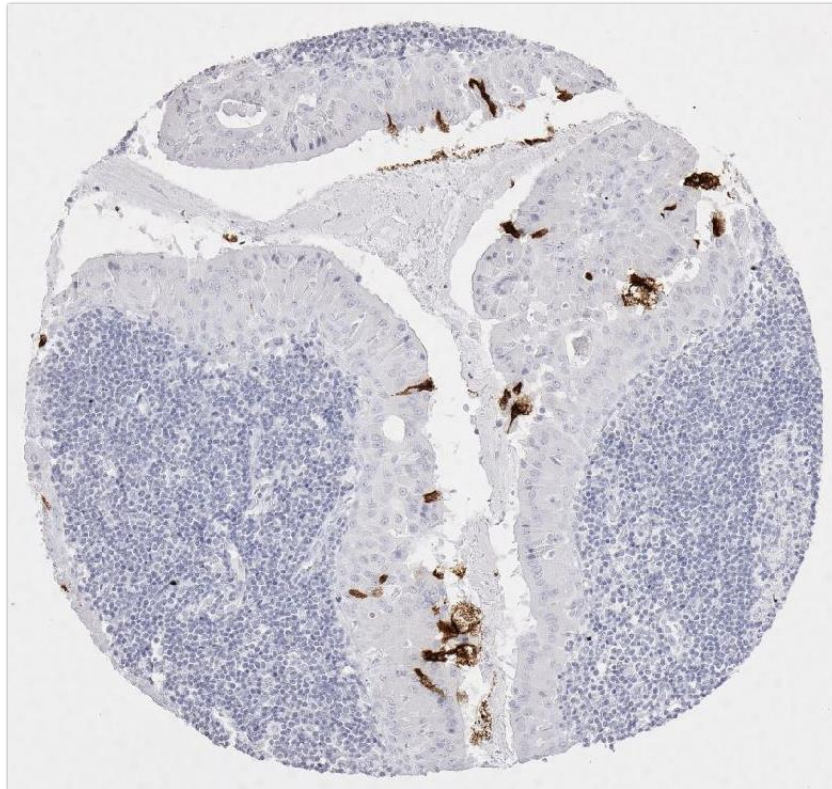


Abbildung 33: Whartin Tumor einer Speicheldrüse mit kräftiger zytoplasmatischer Muc5AC Anfärbung in <5% der Tumorzellen (Mosaik-Muster).

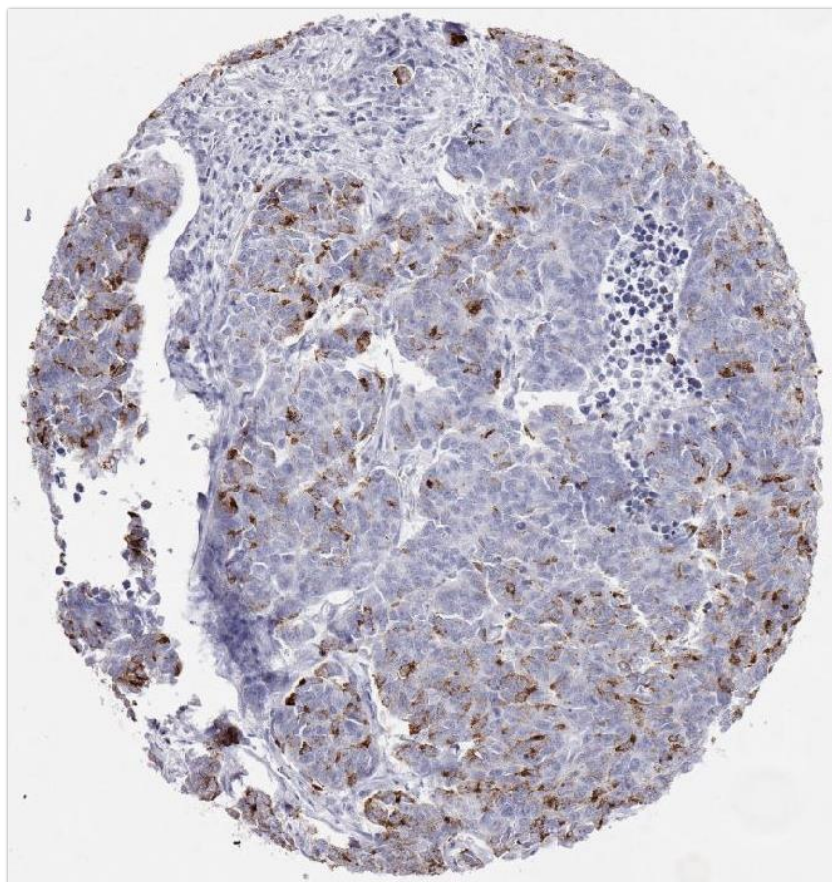


Abbildung 34: Kleinzelliges Karzinom der Harnblase mit gering bis mäßig starker Muc5AC Anfärbung in ca. 20% der Tumorzellen.

4. Diskussion

In der durchgeführten Untersuchung wurden 2684 Tumoren in einem Tissue Microarray Format erfolgreich immunhistochemisch untersucht. Damit handelt es sich bei dieser Studie um die größte bisher publizierte Studie zur Muc5AC Expression in Tumoren. Die große Zahl von untersuchten Tumoren wurde durch die Tissue Microarray Methode ermöglicht. Das TMA Verfahren wurde 1998 erstmals von Kononen et al publiziert (Kononen et al., 1998). Die Methode erlaubt eine massive Beschleunigung und Ökonomisierung von Gewebeuntersuchungen mittels in situ Methoden. Die Aufbringung von 600 verschiedenen Gewebeproben auf einen einzigen Objektträger erlaubt eine Reagenzieneinsparung um den Faktor 600 und eine massive Reduktion der für das Schneiden und Färben benötigten Manpower. Darüber hinaus ermöglicht die Tissue Microarray Methode eine maximale Standardisierung. Sämtliche acht Gewebeschnitte die in dieser Studie untersucht wurden, wurden unter identischen Bedingungen gefärbt. Alle 2684 auswertbaren Tumoren und 608 Normalgewebe wurden somit für exakt identische Zeiten, bei exakt identischen Temperaturen, identischen Reagenzien ausgesetzt. Während gleiche Färbebedingungen oft bei Färbungen in Färbeautomaten angenommen werden können, erlaubt die Tissue Microarray Methode eine Standardisierung multipler weiterer Parameter, welche ebenfalls einen Einfluss auf die Färbeintensität bei immunhistochemischen Reaktionen ausüben. Von besonderer Bedeutung ist hierbei das Schnittalter, das heißt die Zeitdauer von der Herstellung eines Schnittpräparates bis zu seiner immunhistochemischen Färbung. Studien haben gezeigt, dass bereits eine Lagerung von ein bis zwei Wochen für viele Antikörper zu einer massiven Reduzierung der Färbeintensität führt (Jacobs et al., 1996, Mirlacher et al., 2004). Diese, vielen Anwendern der Immunhistochemie nicht bekannte Tatsache, stellt ein erhebliches Problem für größere immunhistochemische Untersuchungen an Großschnitten dar. Gerade bei klinischen Studien kommt es vor, dass für spätere Untersuchungen an den behandelten Tumoren Leerschnitte in ein Labor eingeschickt werden, wo gegebenenfalls später immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt werden sollen. Derartige Untersuchungen dürften erheblich unter der Schnittalterung leiden, wobei Versuche, diese Alterungsprozesse durch die Lagerung bei geringen Temperaturen oder in Stickstoff einzudämmen, keine befriedigenden Ergebnisse gezeigt haben (Mirlacher et al., 2004, DiVito et al., 2004). Auch wenn eine Studie

innerhalb eines einzigen Instituts durchgeführt würde, wäre es ein erheblicher logistischer Aufwand, sicherzustellen, dass sämtliche 2684 in dieser Studie untersuchten Gewebeproben mit identischem Schnittalter zur Untersuchung kämen. Es müsste hierfür gewährleistet werden, dass die Dauer zwischen Herstellung von Schnitten und Färbung für alle Präparate konstant wäre. Ein weiterer Vorteil der Tissue Microarray Methode liegt in der Auswertung. Hier kann ein Pathologe in kurzer Zeit Hunderte oder Tausende von Tumoren analysieren, wobei immer 600 Präparate gleichzeitig unter seinem Mikroskop liegen. Die sehr rasche Interpretation identischer Gewebemengen erlaubt eine maximale Standardisierung der Auswertung. Die genannten Vorteile der Tissue Microarray Methode kompensieren offensichtlich den konzeptuellen Nachteil des TMA Verfahrens, dass nur kleinste Gewebeproben pro Tumor zur Untersuchung gelangen. Die Limitierung der Untersuchung eines Tumors auf eine Fläche von 0,6mm im Durchmesser schränkt offensichtlich die Möglichkeit, heterogene Befunde zu identifizieren, deutlich ein. Die einzige bisher publizierte Studie, welche an einem großen Kollektiv die klinische Relevanz von Befunden vergleicht, die am Tissue Microarray oder am Großschnitt erhoben worden waren, hatte allerdings keinerlei Nachteile für die Tissue Microarray Analyse ergeben. Im Gegenteil hatte die Evaluation von mehr als 500 Mammakarzinomen an vier verschiedenen Tissue Microarrays, welche jeweils Proben von der Tumorperipherie oder dem Tumorzentrum enthielten, für p53 in allen Fällen eine hochgradige Prognoserelevanz ergeben (Torhorst et al., 2001). Die parallel durchgeführte Großschnittuntersuchung, durchgeführt an dem Block, der auch für die Herstellung des TMAs verwendet wurde, hatte zwar knapp doppelt so viele p53 positive Fälle ergeben wie bei den TMA Untersuchungen (40% versus 20%), aber keine statistisch signifikante Prognoserelevanz. Eine zusätzlich durchgeführte Analyse von vier Gruppen, stratifiziert nach den TMA- und Großschnittanalysen, hatte bei Patienten mit einer p53-Positivität in Großschnitten, aber nicht an TMAs eine identisch gute Prognose gezeigt wie bei Tumoren, welche am TMA und an Großschnitten p53 negativ bewertet worden waren. Diese Ergebnisse der Torhorst Studie legen den Schluss nahe, dass in dieser Großschnittuntersuchung entweder Färbeartefakte oder aber fokale p53 Expressionen ohne biologische Relevanz gefunden worden waren. Es ist also möglich, dass die geringe Gewebemenge, welche in einem TMA zur Untersuchung gelangt, insofern einen Vorteil darstellt, als dass biologisch relevante Veränderungen möglicherweise im gesamten Tumor vorkommen, während nur lokal

anzutreffende Veränderungen möglicherweise oft weniger relevant sind, als viele Untersucher denken. Seit der Erstbeschreibung 1998 haben tausende von Studien die Tissue Microarray Methode genutzt und unter Verwendung dieser Methode zahlreiche valide Daten erhoben. Die Validität der Methode wird auch dadurch offensichtlich, dass alle in der Routine etablierten Prognosemarker, welche an großen Tumorkollektiven (an Tissue Microarrays) untersucht worden waren, die erwartete Prognoserelevanz auch am TMA gezeigt haben. Dazu gehören beispielsweise die prognostische Bedeutung der Expression von Östrogenrezeptor, Progesteronrezeptor oder HER2 beim Mammakarzinom (Moeder et al., 2007), die Expression von Ki-67 beim Harnblasen- oder Mammakarzinom (Vetterlein et al., 2017, Ruiz et al., 2006) , beziehungsweise das Vorliegen von p53 Mutationen und PTEN-Deletionen beim Prostatakarzinom (Lotan et al., 2011, Kluth et al., 2014).

Die Immunhistochemie ist das Standardverfahren für die Untersuchung von Proteinen an Gewebeschnitten. Immunhistochemische Untersuchungen werden täglich in jedem Pathologieinstitut in westlichen Gesellschaften durchgeführt. Die immunhistochemischen Methoden sind aus der Routinediagnostik nicht wegzudenken und spielen eine große Rolle bei Tumortypisierung, der Tumoridentifikation, der Aggressivitätsbeurteilung von Tumoren, für die Analyse prädiktiver Parameter und auch für die Identifizierung von Mikroorganismen. Trotz der breiten Anwendung der Immunhistochemie ist die Methode weltweit wenig standardisiert. Für die meisten Anwendungen verwenden Pathologen unterschiedliche Antikörper, von denen im Einzelfall nicht genau dokumentiert ist, wie sie sich bei bestimmten Anwendungen verhalten. Die Variabilität immunhistochemischer Untersuchungen kommt auch in der vorbestehenden Literatur zum Thema Muc5AC in Tumoren zum Ausdruck. Die in den evaluierten Studien zur Muc5AC Expression in Tumoren verwendeten Antikörper sind in Tabelle 5 dargestellt. Es handelt sich allein um zehn verschiedene Antikörper, die innerhalb der Studien angegeben worden waren. Zudem kamen diese unter Verwendung unterschiedlicher Protokolle und unterschiedlicher Auswertungskriterien zur Anwendung.

Antikörper	Hersteller	Referenz
CLH2	NovoCastra (Newcastle, UK)	(Do et al., 2013)
45M1	Neomarkers (Fremont, USA)	(Sun et al., 2005)
NCL-HGM-45M1	NovoCastra (Newcastle, UK)	(Kunze et al., 2001)
RGM	A. Einhard (Rotterdam, NL)	(Lopez-Ferrer et al., 2001)
LUM5-1	Dr. I Carlstedt (Lund, Sweden)	(Arul et al., 2000)
M1	Neomarkers (Fremont, USA)	(Biemer-Huttmann et al., 2000)
M5P-b1	Veterans Affairs Medical Center (Minneapolis, USA)	(Sasaki et al., 1998)
NCL-MUC-5AC	Leica Biosystems (Wetzlar, DE)	(Wang and El-Bahrawy, 2014)
Ab-1	Thermo Scientific (Waltham, USA)	(Sopha et al., 2013)
Anti-MUC5AC	Novocastra (Newcastle, UK)	(Sanada et al., 2006a)

Tabelle 5: Gegenüberstellung der in den Studien aus der Literaturrecherche genutzten Antikörper

Für die Definition einer Muc5AC Positivität schwankten die Kriterien zwischen >0% bis zu >30% der gefärbten Tumorzellen (Yeh et al., 2005, Kang et al., 2012). Die in dieser Studie erhobenen Daten passen aber insofern gut zur existierenden Literatur, als dass unsere Daten zeigen, dass die Muc5AC Expression insbesondere in Adenokarzinomen aus dem Magen-Darm-Trakt und der Lunge zu finden ist, wie die Abbildung 35 nochmals verdeutlicht. Die größten Häufigkeiten der Muc5AC Expression fanden sich in Adenokarzinomen des Oesophagus und Pankreas- sowie Magenkarzinomen. Interessant sind die Befunde aus dem Kolon, wo Kolonadenome unabhängig vom Differenzierungsgrad deutlich häufiger positiv waren (60-64%) als Kolonkarzinome, bei denen eine Positivität nur bei 17% der Tumoren zu beobachten war. Wenn dazu berücksichtigt wird, dass eine Muc5AC Expression in normaler Kolonschleimhaut nicht beobachtet werden konnte, sprechen die erhobenen Befunde für eine komplexe Rolle von Muc5AC in der Entstehung von Kolonkarzinomen. Unsere Befunde zeigen, dass es im Rahmen der Entstehung eines Kolonadenoms es zu einer vermehrten Muc5AC Expression in den betroffenen Epithelien kommt. Die in Kolonkarzinomen meist geringere Expression von Muc5AC als in Kolonadenomen könnte durch zwei Szenarien erklärt werden. Eine mögliche Erklärung liegt in der Reduktion der Muc5AC Expression im Rahmen der Progression vom Adenom zum Karzinom. Die alternative Erklärung wäre, dass eine ausgeprägte Muc5AC Expression in Kolonadenomen gegen eine maligne Transformation der Adenome spricht.

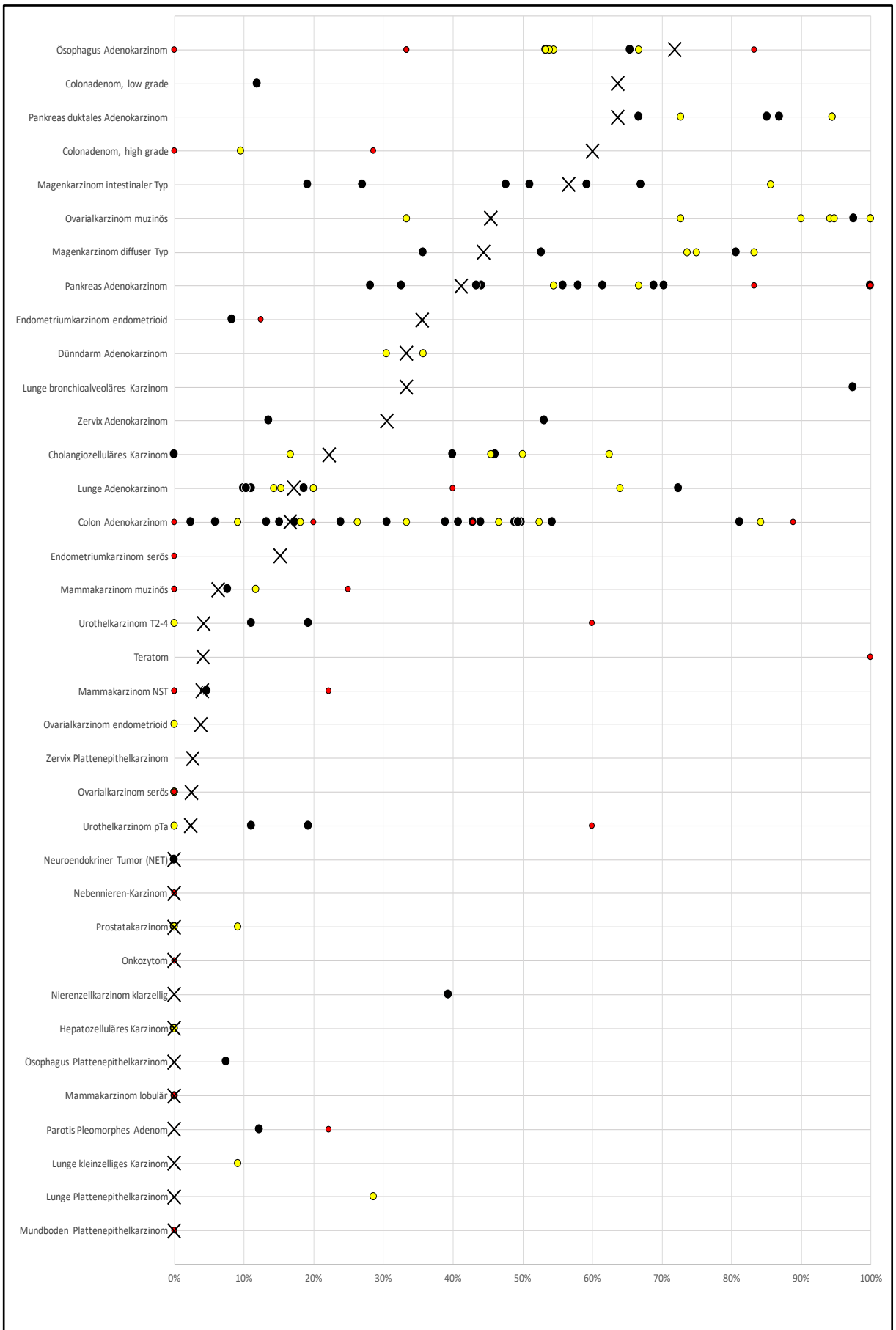


Abbildung 35: Gegenüberstellung der Ergebnisse der Literaturrecherche und der Ergebnisse des MTA

Dass keiner der untersuchten Tumortypen in allen Fällen Muc5AC positiv war, schränkt die diagnostische Nutzung der Muc5AC Immunhistochemie für die Zuordnung einer Metastase zu einem bestimmten Ausgangsorgan ein. Ein negativer Ausfall der Muc5AC Expression schließt keine einzige mögliche Differentialdiagnose aus. Allerdings gibt es eine größere Zahl von Tumoren, welche mit großer Konstanz Muc5AC negativ sind. Dazu gehören die Tumorentitäten Neuroendokriner Tumor, Nebennierenkarzinom, Onkozytom, Hepatozelluläres Karzinom, lobuläres Mammakarzinom und Plattenepithelkarzinom des Mundbodens, wo sowohl in der aktuellen Studie als auch in mindestens einer vorangegangenen Studie in keinem einzigen Fall eine Muc5AC Positivität berichtet worden war. Diese Tumoren können beim Vorliegen einer Muc5AC Positivität wohl weitgehend differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Die früher publizierten Studien hatten insgesamt ca. 80 verschiedene Tumortypen und Subtypen auf die Expression von Muc5AC untersucht. Die aktuelle Untersuchung beinhaltet 47 weitere Tumortypen und Subtypen, die nie auf eine Muc5AC Expression untersucht worden waren (siehe Anhang Tabelle 7). Diese Liste beinhaltet zahlreiche wichtige Tumorarten, welche ebenfalls nie Muc5AC positiv waren und deswegen differentialdiagnostisch beim Vorliegen einer Muc5AC Expression auch weitgehend ausgeschlossen werden können. Dazu gehören das maligne Melanom, Merkelzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome des Larynx, der Vagina und der Vulva, weitere Subtypen des Mammakarzinoms (medullär und tubulär), weitere Subtypen des Nierenzellkarzinoms (papillär und chromophob), Seminome und embryonale Karzinome des Hodens, papilläre, follikuläre und anaplastische Schilddrüsenkarzinome, maligne Lymphome und zahlreiche Sarkome. Acht verschiedene Tumortypen wurden in unserer Untersuchung erstmal als Muc5AC positiv beschrieben. Dazu gehört das großzellige Bronchialkarzinom, das kleinzellige Harnblasenkarzinom, der maligne Müllersche Misch tumor, der Whartin-Tumor der Parotis, neuroendokrine Tumore des Pankreas, Plattenepithelkarzinome des Analkanals, Dottersacktumore des Hodens und das medulläre Schilddrüsenkarzinom. Die große Zahl der in dieser Studie erstmals untersuchten Tumoren illustriert den Wert einer Multitumorarray-Untersuchung im Vergleich zu einer Evaluation der bestehenden Literatur, wenn es darum geht, die Bedeutung eines bestimmten Proteins zu klären. Die früheren Untersuchungen haben sich stark auf ausgewählte Tumortypen konzentriert wie Karzinome des Kolon, Pankreas und Magen (Yonezawa et al., 2002, Losi et al., 2004, Gulmann et al., 2003). Die hierzu durchgeführten Studien

haben zu stark divergenten Ergebnissen geführt mit publizierten Häufigkeiten von zwischen nahe bei 0% und nahe bei 90% (Beispiel Kolon Adenokarzinom) der untersuchten Fälle, sodass die Evaluation der Literatur keine Klarheit über die tatsächliche Bedeutung von Muc5AC in diesen Tumoren erlaubt (Chu and Weiss, 2004, Shin et al., 2010). Während das Kolonkarzinom in 28 Studien und das Pankreaskarzinom (Pankreas/Papille Adenokarzinom) in 14 Studien untersucht worden war, wurden nur 6 andere Entitäten mehr als 5 mal (10 mal Adenokarzinom des Oesophagus, 10 mal Adenokarzinom der Lunge, 7 mal Pankreas duktales Karzinom, 7 mal Ovarialkarzinom muzinös, 7 mal Cholangiozelluläres Karzinom, 6 mal Magenkarzinom diffuser Typ) und 14 Entitäten 2-5 mal untersucht (5 mal Mammakarzinom muzinös, 5 mal Mammakarzinom NST, 5 mal Ovarialkarzinom endometrioid, 4 mal Urothelkarzinom, 4 mal Ovarialkarzinom serös, 4 mal Mammakarzinom lobulär, 3 mal Colonadenom high grade, 3 mal Magenkarzinom intestinaler Typ, 3 mal Prostatakarzinom, 2 mal Endometriumkarzinom endometrioid, 2 mal Dünndarm Adenokarzinom, 2 mal Zervix Adenokarzinom, 2 mal Hepatozelluläres Karzinom, 2 mal Parotis Pleomorphes Adenom). 47 von 82 in dieser Studie untersuchten Tumortypen und Subtypen (57%) waren hingegen nie in einer immunhistochemischen Studie bezüglich einer Muc5AC Expression analysiert worden.

Es ist anzumerken, dass die Ergebnisse dieser Studie spezifisch sind für die verwendeten Reagenzien und Untersuchungsverfahren. Für den Antikörper „MUC5AC“ (GenomeMe, IHC625-100) kann für eine Verdünnung von 1 zu 1350 bei einem hitzeinduzierten Epitop-Demaskierungsverfahren und einem pH von 7,8 sowie einer Dauer von 5 Minuten bei 121 Grad (Autoklav) unter Verwendung der beschriebenen Auswertungskriterien konstatiert werden, dass eine Positivität bei verschiedenen Adenokarzinomen aus dem Gastrointestinaltrakt, dem weiblichen Genitaltrakt und der Lunge gefunden werden kann. Eine Muc5AC Positivität ist aber bei Plattenepithelkarzinomen und anderen wichtigen Tumoren wie dem Urothelkarzinom, bei Hodentumoren, Nierenzellkarzinomen aller Art, Leberzellkarzinomen, dem Prostatakarzinom, dem malignen Melanom und mesenchymalen oder hämatologischen Neoplasien kaum je anzutreffen. Ein positiver Muc5AC Nachweis spricht in einem Adenokarzinom also stark gegen ein Schilddrüsen-, Prostata- oder Mammakarzinom. Die in dieser Studie publizierten Daten stellen für den verwendeten Antikörper und die verwendeten experimentellen

Bedingungen eine wichtige Validierung dar, die es strenggenommen erst erlaubt, diesen Antikörper diagnostisch zu nutzen. Für die Zukunft müsste gefordert werden, dass ähnliche Validierungen für alle Antikörper vorliegen, welche kommerziell erwerbbar sind. Optimaler Weise würden die so validierten Antikörper auch in Kits abgegeben, die den Anwender darin unterstützen, die validierten experimentellen Bedingungen reproduzieren zu können.

Die biologische Bedeutung der Muc5AC Expression in den Tumorarten mit häufiger Expression wie beim Pankreaskarzinom, Ösophaguskarzinom, Adenokarzinom der Lunge und dem muzinösen Ovarialkarzinom ist unklar und möglicherweise zwischen einzelnen Tumortypen unterschiedlich. Für das Magenkarzinom wurde eine ungünstige Prognose bei Tumoren mit verminderter Muc5AC Expression berichtet (Baldus et al., 2002, Ilhan et al., 2010), während beim Kolon- und beim Pankreaskarzinom eine ungünstigere Prognose bei Muc5AC positiven Tumoren berichtet wurde (Kocer et al., 2002, Yonezawa et al., 1999, Jinfeng et al., 2003, Higashi et al., 2015). Die durchgeführten Studien zeichnen sich jedoch nicht durch eine sehr hohe Fallzahl aus, sodass weitere Validierungen dieser Ergebnisse nötig wären. Für das Lungenkarzinom wurde kürzlich eine Assoziation zwischen vermehrter Muc5AC Expression und dem Vorliegen einer KRAS-Mutationen berichtet (Bauer et al., 2018). Beim Kolonkarzinom wurde über eine Beziehung zwischen der Muc5AC Expression und dem sogenannten serratiertem Pathway und einer Tumorlokalisation im rechtsseitigen Kolon berichtet (Renaud et al., 2016).

Zusammengefasst zeigen die Daten dieser Studie, dass eine Muc5AC Expression in multiplen verschiedenen Tumortypen vorkommt, insbesondere bei Adenokarzinomen des Kolons, Oesophagus, Pankreas und Magen. Das weitgehende Fehlen einer Muc5AC Positivität in Karzinomen der Mamma, der Prostata, der Schilddrüse, des Urothels oder der Hoden spricht für eine diagnostische Nutzbarkeit von Muc5AC zum Ausschluss dieser Neoplasien. Bei 47 von 82 in dieser Studie untersuchten Tumortypen und Subtypen gab es bisher keine Untersuchungen zur Muc5AC Immunhistochemie. Diese Tatsache unterstreicht die Bedeutung von Multitumorarrays für die Abklärung von möglichen diagnostischen Bedeutungen von Antikörpern.

5. Zusammenfassung

Muc5AC ist ein Muzinprotein, welches physiologisch vor allem in respiratorischem Epithel, Magen- und Gallenblase exprimiert wird. Muc5AC ist ein potentielles

Therapieziel und wird als möglicher Parameter für die Zuordnung von Metastasen unklaren Ursprungs vorgeschlagen. Die bisherige Literatur zur Häufigkeit der Expression von Muc5AC in verschiedenen Tumorarten ist teilweise widersprüchlich. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie Muc5AC in einem Kollektiv von 2684 Tumoren und 76 verschiedenen Normalgewebstypen in einem Tissue Microarray Format immunhistochemisch untersucht. Eine Muc5AC Expression fand sich in verschiedenen Normalgeweben einschließlich respiratorischer Schleimhaut von Nasennebenhöhlen und von Bronchien, Magenschleimhaut, Gallenblasenepithel und endozervikalen Drüsen. Zumindest eine geringgradige schwache Positivität für Muc5AC wurde in 31 von 82 (38%) verschiedenen Tumortypen gefunden. In 21 von 82 Tumortypen (26%) wies mindestens ein Tumor eine starke Muc5AC Expression auf. Am häufigsten fand sich eine Muc5AC Expression in den Kategorien Adenokarzinome des Oesophagus (71,8%), Kolonadenome (high-low grade, 60-63,6%), duktales Adenokarzinome des Pankreas (63,6%), Magenkarzinome intestinaler Typ (56,7%), Ovarialkarzinome muzinös (45,5%) und Magenkarzinome diffuser Typ (44,4%). Mehrere klinisch relevante Tumoren zeigten niemals eine Muc5AC Färbung. Dazu gehörte das Prostatakarzinom (n=46), das klarzellige Nierenzellkarzinom (n=46), das Hepatozelluläre Karzinom (n=48), Plattenepithelkarzinome des Oesophagus (n=31), der Lunge (n=24), des Mundbodens (n=42) und der Vulva (n=33), das lobuläre Mammakarzinom (n=29), maligne Melanome (n=44), malignes Mesotheliom (n=37), papilläre (n=43) und chromophobe (n=45) Nierenzellkarzinome, Seminom des Hodens (n=50), embryonales Karzinom des Hodens (n=44) sowie alle untersuchten Lymphome und Sarkome. Die hohe Prävalenz der Muc5AC Expression in gastrointestinalen, pulmonalen und pankreatischen Adenokarzinomen bei weitgehendem Fehlen einer Muc5AC Expression in anderen wichtigen Tumorarten wie Adenokarzinomen der Prostata, der Mamma oder Schilddrüsenkarzinomen spricht für eine mögliche diagnostische Nützlichkeit der Muc5AC Immunhistochemie. Da allerdings viele Tumortypen häufig Muc5AC exprimieren und keiner dieser Tumortypen Muc5AC immer exprimiert, kann die Muc5AC Immunhistochemie nur in Kombination mit anderen Markern zur Zuordnung unklarer Tumormanifestationen zu einem bestimmten Primärtumor nützlich sein.

6. Abstract

Muc5AC is a gel-forming protein which is physiologically expressed in the respiratory epithelium, the stomach and the gall bladder. Muc5AC is a potential therapeutic target and is suggested as a possible parameter for the assignment of metastases of unclear origin. The previous literature on the commonness of the expression of Muc5AC in various tumor types is partly contradicting. For this reason, Muc5AC was examined immunohistochemically in a group of 2684 tumors and 76 different normal tissue types in a tissue microarray format in the present study. Muc5AC expression was found in various normal tissues including the respiratory mucosa of the paranasal sinuses, the bronchi, gastric mucosa, gallbladder epithelium and endocervical glands. At least a weak positivity for Muc5AC was found in 31 of 82 (38%) different tumor types. In 21 of 82 tumor types (26%) at least one tumor showed strong Muc5AC expression. Most often, Muc5AC expression was found in the tumor entities adenocarcinomas of the esophagus (71.8%), colon adenomas (high-low grade, 60-63.6%), ductal adenocarcinomas of the pancreas (63.6%), gastric carcinomas of the intestinal type (56.7%), mucinous ovarian carcinomas (45.5%) and diffuse gastric carcinomas (44.4%). Several clinically relevant tumors never showed Muc5AC staining. These included prostate carcinomas (n = 46), clear cell renal cell carcinomas (n = 46), hepatocellular carcinomas (n = 48), squamous cell carcinomas of the esophagus (n = 31), the lungs (n = 24), the floor of the mouth (n = 42) and the vulva (n = 33), lobular breast carcinoma (n = 29), malignant melanoma (n = 44), malignant mesothelioma (n = 37), papillary (n = 43) and chromophobic (n = 45) renal cell carcinomas, Seminomas of the testicle (n = 50), embryonic carcinomas of the testicle (n = 44) and all examined lymphomas and sarcomas. The high prevalence of Muc5AC expression in gastrointestinal, pulmonary and pancreatic adenocarcinomas, with the broadly absence of Muc5AC expression in other important tumor types such as adenocarcinomas of the prostate, breast or thyroid carcinomas, suggests a possible diagnostic usefulness of Muc5AC immunohistochemistry. However, since many tumor types frequently express Muc5AC and none of these tumor types always express Muc5AC, Muc5AC immunohistochemistry can only be useful in combination with other markers for assigning unclear tumor manifestations to a specific primary tumor.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
Muc5AC	Mucin 5AC
MUC5AC	Mucin 5AC codierendes Gen
Abb	Abbildung
PD-1	Programmed cell death protein 1
PD-L1	Programmed cell death 1 ligand 1
HER-2	Humaner Epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor 2
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
EGF	Epidermal Growth Factor
ROS1	Protoonkogen -Tyrosin-Protein-Kinase 1
ALK	Anaplastische Lymphomkinase
NSCLC	Non small cell lung cancer
PNET	Primitive neuroectodermal tumor
PAX8	Paired-Box-Protein 8
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
TMA	Tissue Microarray
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
NTA	Normal Tissue Array
Post.	Posterior
Ant.	Anterior
N	Anzahl
NET	Neuroendokrine Tumoren
Neg.	Negativ
Schw.	Schwach
Mod.	Moderat
GIST	Gastrointestinale Stromatumoren
Ca	Circa
mm	Millimeter
Ki-67	Antigen Ki-67
P53	P53-Protein
KRAS	Genabschnitt der K-Ras Protein codiert

NST	Nicht-Spezifischer Typ (früher invasiv-duktales Typ)
PTEN	Phosphatase and tensin homolog

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: "Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2016 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs)" (Robert Koch-Institut, 2019)	4
Abbildung 2: „Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebssterbefällen in Deutschland 2016“ (Robert Koch-Institut, 2019).....	5
Abbildung 3: Schematische Einordnung von Muc5AC innerhalb der Muzine (Hollingsworth and Swanson, 2004, Thornton et al., 2008, Bafna et al., 2010)	9
Abbildung 4: Ergebnisse der Literaturrecherche (Quellen der ausgewerteten Studien siehe Anhang, Tabelle 6) *Studiendaten der Literatur zu „Urothelkarzinom“ sowohl für „Urothelkarzinom pTa“ als auch „Urothelkarzinom T2-4“ übernommen.	12
Abbildung 5: Koordinatensystem des Tissue Microarrays (Nummer 5.2) zur Auswertung der einzelnen Gewebespots.	14
Abbildung 6: Geordnete Schnitte und korrespondierende Blöcke in zu stanzender Reihenfolge.....	15
Abbildung 7: Stanzgerät im laufenden Herstellungsverfahren von vier identischen TMA-Blöcken	16
Abbildung 8: NTA, Pulmo – Starke zytoplasmatische Anfärbung von Flimmerepithel der Bronchialschleimhaut	22
Abbildung 9: NTA, Gaster - Starke zytoplasmatische beziehungsweise membranöse Anfärbung des Oberflächenepithels	22
Abbildung 10: NTA, Endocervix – Starke zytoplasmatische respektive membranöse Anfärbung des schleimbildenden Zylinderepithels	23
Abbildung 11: NTA, Vesica biliaris - Schwach bis mäßige zytoplasmatische/membranöse Anfärbung des Epithels.....	23
Abbildung 12: NTA, Cortex renalis – Schwache Anfärbung der Tubuluszellen der proximalen Nierentubuli	24
Abbildung 13: NTA, Hypophyse Lobus anterior - Dezentente zytoplasmatische Anfärbung der Adenohypophyse.....	24
Abbildung 14: Rangliste der auf Muc5AC positiven Tumorentitäten des MTA in Darstellung gemäß zunehmender Expressionsrate	28

Abbildung 15: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Anfärbung in einem überwiegend diffus wachsenden Magenkarzinom. Neben wenigen glandulären Strukturen kommen vor allem dissolut wachsende Einzelzellen durch die MUC5AC Anfärbung zur Darstellung.....	29
Abbildung 16: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Anfärbung in einem Magenkarzinom vom diffusen Typ und fokal muzinösen Anteilen.....	29
Abbildung 17: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Positivität in 100% der Zellen eines Adenokarzinoms des Magens vom diffusen Typ.....	30
Abbildung 18: Fokal kräftige zytoplasmatische Muc5AC Immunfärbung in einem duktalem Adenokarzinom die Pankreas.....	30
Abbildung 19: Kräftige Muc5AC Immunfärbung in ca. 30% der neoplastischen Drüsen eines Adenokarzinoms der Papilla Vaterii des Pankreas.....	31
Abbildung 20: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Positivität in einem Adenokarzinom der Papilla Vaterii des Pankreas. Die Positivität zeigt ein sogenanntes „Mosaik-Muster“, ein Nebeneinander von kräftig positiven und negativen Tumorzellen.....	31
Abbildung 21: Mosaik-Muster der Muc5AC Anfärbung in einem muzinösen Ovarialkarzinom.	32
Abbildung 22: Diffuses Färbemuster in einem muzinösen Ovarialkarzinom mit kräftiger Positivität in 100% der Tumorzellen.....	32
Abbildung 23: Kleinherdige Muc5AC Anfärbung im Zytoplasma von Tumorzellen eines muzinösen Mammakarzinoms.	33
Abbildung 24: Kräftige fokale Anfärbung von ca. 5% der Tumorzellen in einem endometrioiden Endometriumkarzinom des Uterus.	33
Abbildung 25: Kräftige cytoplasmatische Anfärbung von <5% der Tumorzellen in einem endometrioiden Endometriumkarzinom des Uterus.	34
Abbildung 26: Kräftige zytoplasmatische Positivität in 100% der Tumorzellen eines endometrioiden Endometriumkarzinoms.	34
Abbildung 27: Fokal kräftige, zytoplasmatische Muc5AC Färbung in einem cholangiozellulären Karzinom der Leber.....	35
Abbildung 28: Cholangiozelluläres Karzinom der Leber mit diffuser starker MUC5AC Positivität in 100% der Tumorzellen.	35
Abbildung 29: Cholangiozelluläres Karzinom in der Leber mit fokal gering bis mäßiggradiger Muc5AC Anfärbung in Tumordrüsen und sogenanntem „Mosaik-Muster“	36

Abbildung 30: Cholangiozelluläres Karzinom mit diffuser zytoplasmatischer Muc5AC Anfärbung in ca. 70% der Tumorzellen. Stellenweise unter Ausbildung eines sogenannten "Mosaik-Musters".....	36
Abbildung 31: Muc5AC Färbung in einem Kolonadenom (low-grade): Ca. 70% der Tumorzellen zeigen eine zytoplasmatische Positivität. Dabei sind die positiven und negativen Zellen bunt durcheinandergemischt (Mosaik-Muster).....	37
Abbildung 32: Kräftige zytoplasmatische Muc5AC Färbung in epitheloiden Anteilen eines Karzinosarkoms des Uterus (Maligner Müllerscher Misch tumor).....	37
Abbildung 33: Whartin Tumor einer Speicheldrüse mit kräftiger zytoplasmatischer Muc5AC Anfärbung in <5% der Tumorzellen (Mosaik-Muster).....	38
Abbildung 34: Kleinzelliges Karzinom der Harnblase mit gering bis mäßig starker Muc5AC Anfärbung in ca. 20% der Tumorzellen.	38
Abbildung 35: Gegenüberstellung der Ergebnisse der Literaturrecherche und der Ergebnisse des MTA.....	43

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung der Gewebetypen des NTA.....	17
Tabelle 2: Zusammensetzung des Multi Tumor Arrays für die immunhistochemische Untersuchung auf Muc5AC	19
Tabelle 3: Ergebnisse der NTA Anfärbung und Deklaration des Muc5AC exprimierenden Zelltypus.....	21
Tabelle 4: Ergebnisse der Multitumor Tissue Microarray Auswertung.....	27
Tabelle 5: Gegenüberstellung der in den Studien aus der Literaturrecherche genutzten Antikörper	42
Tabelle 6: Ergebnisse der Auswertung der Literaturrecherche	66
Tabelle 7: Entitäten des MTA zu denen keine Literaturdaten bestanden haben.....	71

10. Literaturverzeichnis

- AKIYAMA, T., SADAHIRA, Y., IREI, I., NISHIMURA, H., HIDA, A. I., NOTOHARA, K. & HAMAZAKI, S. 2009. Pancreatic serous microcystic adenoma with extensive oncocytic change. *Pathol Int*, 59, 102-6.
- ALOS, L., LUJAN, B., CASTILLO, M., NADAL, A., CARRERAS, M., CABALLERO, M., DE BOLOS, C. & CARDESA, A. 2005. Expression of membrane-bound mucins (MUC1 and MUC4) and secreted mucins (MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6 and MUC7) in mucoepidermoid carcinomas of salivary glands. *Am J Surg Pathol*, 29, 806-13.
- ALOYSIUS, M. M., ZAITOUN, A. M., AWAD, S., ILYAS, M., ROWLANDS, B. J. & LOBO, D. N. 2010. Mucins and CD56 as markers of tumour invasion and prognosis in periampullary cancer. *Br J Surg*, 97, 1269-78.
- ARUL, G. S., MOORGHEN, M., MYERSCOUGH, N., ALDERSON, D. A., SPICER, R. D. & CORFIELD, A. P. 2000. Mucin gene expression in Barrett's oesophagus: an in situ hybridisation and immunohistochemical study. *Gut*, 47, 753-61.
- AWAYA, H., TAKESHIMA, Y., YAMASAKI, M. & INAI, K. 2004. Expression of MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in atypical adenomatous hyperplasia, bronchioloalveolar carcinoma, adenocarcinoma with mixed subtypes, and mucinous bronchioloalveolar carcinoma of the lung. *Am J Clin Pathol*, 121, 644-53.
- BAFNA, S., KAUR, S. & BATRA, S. K. 2010. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells. *Oncogene*, 29, 2893-904.
- BAKER, A. C., ELTOUM, I., CURRY, R. O., STOCKARD, C. R., MANNE, U., GRIZZLE, W. E. & CHHIENG, D. 2006. Mucinous expression in benign and neoplastic glandular lesions of the uterine cervix. *Arch Pathol Lab Med*, 130, 1510-5.
- BALDUS, S. E., MONIG, S. P., ARKENAU, V., HANISCH, F. G., SCHNEIDER, P. M., THIELE, J., HOLSCHER, A. H. & DIENES, H. P. 2002. Correlation of MUC5AC immunoreactivity with histopathological subtypes and prognosis of gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 9, 887-93.
- BANG, Y. J., VAN CUTSEM, E., FEYEREISLOVA, A., CHUNG, H. C., SHEN, L., SAWAKI, A., LORDICK, F., OHTSU, A., OMURO, Y., SATOH, T., APRILE, G., KULIKOV, E., HILL, J., LEHLE, M., RUSCHOFF, J., KANG, Y. K. & TO, G. A. T. I. 2010. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*, 376, 687-97.
- BARTOSCH, C., MENDES, N., RIOS, E., RODRIGUES, M., ELOY, C., REIS, C. A. & AMENDOEIRA, I. 2015. Morphological features and mucin expression profile of breast carcinomas with signet-ring cell differentiation. *Pathol Res Pract*, 211, 588-95.
- BAUER, A. K., UMER, M., RICHARDSON, V. L., CUMPIAN, A. M., HARDER, A. Q., KHOSRAVI, N., AZZEGAGH, Z., HARA, N. M., EHRE, C., MOHEBNASAB, M., CAETANO, M. S., MERRICK, D. T., VAN BOKHOVEN, A., WISTUBA, II, KADARA, H., DICKEY, B. F., VELMURUGAN, K., MANN, P. R., LU, X., BARON, A. E., EVANS, C. M. & MOGHADDAM, S. J. 2018. Requirement for MUC5AC in KRAS-dependent lung carcinogenesis. *JCI Insight*, 3.
- BETGE, J., SCHNEIDER, N. I., HARBAUM, L., POLLHEIMER, M. J., LINDTNER, R. A., KORNPRAT, P., EBERT, M. P. & LANGNER, C. 2016. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance. *Virchows Arch*, 469, 255-65.

- BIEMER-HUTTMANN, A. E., WALSH, M. D., MCGUCKIN, M. A., SIMMS, L. A., YOUNG, J., LEGGETT, B. A. & JASS, J. R. 2000. Mucin core protein expression in colorectal cancers with high levels of microsatellite instability indicates a novel pathway of morphogenesis. *Clin Cancer Res*, 6, 1909-16.
- BROEDE, A., OLL, M., MAURER, A., SIEGERT, S., STOERKEL, S., GOLZ, R., SCHWAMBORN, K., VEECK, J., KNUECHEL, R., GAISA, N. T. & GERMAN STUDY GROUP OF BLADDER, C. 2016. Differential diagnosis of bladder versus colorectal adenocarcinoma: keratin 7 and GATA3 positivity in nuclear ss-catenin-negative glandular tumours defines adenocarcinoma of the bladder. *J Clin Pathol*, 69, 307-12.
- BUISINE, M. P., DESSEYN, J. L., PORCHET, N., DEGAND, P., LAINE, A. & AUBERT, J. P. 1998. Genomic organization of the 3'-region of the human MUC5AC mucin gene: additional evidence for a common ancestral gene for the 11p15.5 mucin gene family. *Biochem J*, 332 (Pt 3), 729-38.
- CHU, P. G., SCHWARZ, R. E., LAU, S. K., YEN, Y. & WEISS, L. M. 2005. Immunohistochemical staining in the diagnosis of pancreatobiliary and ampulla of Vater adenocarcinoma: application of CDX2, CK17, MUC1, and MUC2. *Am J Surg Pathol*, 29, 359-67.
- CHU, P. G. & WEISS, L. M. 2004. Immunohistochemical characterization of signet-ring cell carcinomas of the stomach, breast, and colon. *Am J Clin Pathol*, 121, 884-92.
- COZZI, P. J., WANG, J., DELPRADO, W., PERKINS, A. C., ALLEN, B. J., RUSSELL, P. J. & LI, Y. 2005. MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC and MUC6 expression in the progression of prostate cancer. *Clin Exp Metastasis*, 22, 565-73.
- CURRAN, D. R. & COHN, L. 2010. Advances in mucous cell metaplasia: a plug for mucus as a therapeutic focus in chronic airway disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 42, 268-75.
- DAGENAIS, G. R., LEONG, D. P., RANGARAJAN, S., LANAS, F., LOPEZ-JARAMILLO, P., GUPTA, R., DIAZ, R., AVEZUM, A., OLIVEIRA, G. B. F., WIELGOSZ, A., PARAMBATH, S. R., MONY, P., ALHABIB, K. F., TEMIZHAN, A., ISMAIL, N., CHIFAMBA, J., YEATES, K., KHATIB, R., RAHMAN, O., ZATONSKA, K., KAZMI, K., WEI, L., ZHU, J., ROSENGREN, A., VIJAYAKUMAR, K., KAUR, M., MOHAN, V., YUSUFALI, A., KELISHADI, R., TEO, K. K., JOSEPH, P. & YUSUF, S. 2020. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet*, 395, 785-794.
- DE PAIVA HADDAD, L. B., PATZINA, R. A., PENTEADO, S., MONTAGNINI, A. L., DA CUNHA, J. E., MACHADO, M. C. & JUKEMURA, J. 2010. Lymph node involvement and not the histopathologic subtype is correlated with outcome after resection of adenocarcinoma of the ampulla of vater. *J Gastrointest Surg*, 14, 719-28.
- DIVITO, K. A., CHARETTE, L. A., RIMM, D. L. & CAMP, R. L. 2004. Long-term preservation of antigenicity on tissue microarrays. *Lab Invest*, 84, 1071-8.
- DO, S. I., KIM, K., KIM, D. H., CHAE, S. W., PARK, Y. L., PARK, C. H. & SOHN, J. H. 2013. Associations between the Expression of Mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) and Clinicopathologic Parameters of Human Breast Ductal Carcinomas. *J Breast Cancer*, 16, 152-8.
- DOMORI, K., NISHIKURA, K., AJIOKA, Y. & AOYAGI, Y. 2014. Mucin phenotype expression of gastric neuroendocrine neoplasms: analysis of histopathology and carcinogenesis. *Gastric Cancer*, 17, 263-72.
- DURUISSEAU, M., ANTOINE, M., RABBE, N., RODENAS, A., MC LEER-FLORIN, A., LACAVE, R., POULOT, V., DUCHENE, B., VAN SEUNINGEN, I., CADRANEL, J. & WISLEZ, M. 2017. Lepidic predominant adenocarcinoma and invasive mucinous

- adenocarcinoma of the lung exhibit specific mucin expression in relation with oncogenic drivers. *Lung Cancer*, 109, 92-100.
- ESCANDE, F., AUBERT, J. P., PORCHET, N. & BUISINE, M. P. 2001. Human mucin gene MUC5AC: organization of its 5'-region and central repetitive region. *Biochem J*, 358, 763-72.
- ESFAHANI, K., ROUDAIA, L., BUHLAIGA, N., DEL RINCON, S. V., PAPNEJA, N. & MILLER, W. H., JR. 2020. A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future. *Curr Oncol*, 27, S87-S97.
- FERNANDO, N. H. & HURWITZ, H. I. 2004. Targeted therapy of colorectal cancer: clinical experience with bevacizumab. *Oncologist*, 9 Suppl 1, 11-8.
- FLUCKE, U., STEINBORN, E., DRIES, V., MONIG, S. P., SCHNEIDER, P. M., THIELE, J., HOLSCHER, A. H., DIENES, H. P. & BALDUS, S. E. 2003. Immunoreactivity of cytokeratins (CK7, CK20) and mucin peptide core antigens (MUC1, MUC2, MUC5AC) in adenocarcinomas, normal and metaplastic tissues of the distal oesophagus, oesophago-gastric junction and proximal stomach. *Histopathology*, 43, 127-34.
- GIPSON, I. K., HO, S. B., SPURR-MICHAUD, S. J., TISDALE, A. S., ZHAN, Q., TORLAKOVIC, E., PUDNEY, J., ANDERSON, D. J., TORIBARA, N. W. & HILL, J. A., 3RD 1997. Mucin genes expressed by human female reproductive tract epithelia. *Biol Reprod*, 56, 999-1011.
- GREGORIO, A., CORRIAS, M. V., CASTRICONI, R., DONDERO, A., MOSCONI, M., GAMBINI, C., MORETTA, A., MORETTA, L. & BOTTINO, C. 2008. Small round blue cell tumours: diagnostic and prognostic usefulness of the expression of B7-H3 surface molecule. *Histopathology*, 53, 73-80.
- GRUNBERGER, B., RADERER, M., SCHMIDINGER, M. & HEJNA, M. 2007. Palliative chemotherapy for recurrent and metastatic esophageal cancer. *Anticancer Res*, 27, 2705-14.
- GULMANN, C., COUNIHAN, I., GRACE, A., PATCHETT, S., LEEN, E., LEADER, M. & KAY, E. 2003. Cytokeratin 7/20 and mucin expression patterns in oesophageal, cardia and distal gastric adenocarcinomas. *Histopathology*, 43, 453-61.
- GUPTA, G. P. & MASSAGUE, J. 2006. Cancer metastasis: building a framework. *Cell*, 127, 679-95.
- GURBUZ, Y., KAHLKE, V. & KLOPPEL, G. 2002. How do gastric carcinoma classification systems relate to mucin expression patterns? An immunohistochemical analysis in a series of advanced gastric carcinomas. *Virchows Arch*, 440, 505-11.
- GURBUZ, Y. & KLOPPEL, G. 2004. Differentiation pathways in duodenal and ampullary carcinomas: a comparative study on mucin and trefoil peptide expression, including gastric and colon carcinomas. *Virchows Arch*, 444, 536-41.
- GUYONNET DUPERAT, V., AUDIE, J. P., DEBAILLEUL, V., LAINE, A., BUISINE, M. P., GALIEGUE-ZOUITINA, S., PIGNY, P., DEGAND, P., AUBERT, J. P. & PORCHET, N. 1995. Characterization of the human mucin gene MUC5AC: a consensus cysteine-rich domain for 11p15 mucin genes? *Biochem J*, 305 (Pt 1), 211-9.
- HAMADA, T., MATSUKITA, S., GOTO, M., KITAJIMA, S., BATRA, S. K., IRIMURA, T., SUEYOSHI, K., SUGIHARA, K. & YONEZAWA, S. 2004. Mucin expression in pleomorphic adenoma of salivary gland: a potential role for MUC1 as a marker to predict recurrence. *J Clin Pathol*, 57, 813-21.
- HAN, L., PANSARE, V., AL-ABBADI, M., HUSAIN, M. & FENG, J. 2010. Combination of MUC5ac and WT-1 immunohistochemistry is useful in distinguishing pancreatic ductal carcinoma from ovarian serous carcinoma in effusion cytology. *Diagn Cytopathol*, 38, 333-6.

- HANAHAN, D. & WEINBERG, R. A. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144, 646-74.
- HEGDE, P. S. & CHEN, D. S. 2020. Top 10 Challenges in Cancer Immunotherapy. *Immunity*, 52, 17-35.
- HIGASHI, M., YOKOYAMA, S., YAMAMOTO, T., GOTO, Y., KITAZONO, I., HIRAKI, T., TAGUCHI, H., HASHIMOTO, S., FUKUKURA, Y., KORIYAMA, C., MATAKI, Y., MAEMURA, K., SHINCHI, H., JAIN, M., BATRA, S. K. & YONEZAWA, S. 2015. Mucin expression in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration specimens is a useful prognostic factor in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*, 44, 728-34.
- HIRANO, K., NIMURA, S., MIZOGUCHI, M., HAMADA, Y., YAMASHITA, Y. & IWASAKI, H. 2012. Early colorectal carcinomas: CD10 expression, mucin phenotype and submucosal invasion. *Pathol Int*, 62, 600-11.
- HISHIDA, T., ISHII, G., KODAMA, T., TSUTA, K., NARA, M., YOSHIDA, J., NISHIMURA, M., NAGAI, K. & OCHIAI, A. 2011. Centrally located adenocarcinoma with endobronchial polypoid growth: clinicopathological analysis of five cases. *Pathol Int*, 61, 73-9.
- HO, S. B., ROBERTON, A. M., SHEKELS, L. L., LYFTOGT, C. T., NIEHANS, G. A. & TORIBARA, N. W. 1995. Expression cloning of gastric mucin complementary DNA and localization of mucin gene expression. *Gastroenterology*, 109, 735-47.
- HOLLINGSWORTH, M. A. & SWANSON, B. J. 2004. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer*, 4, 45-60.
- HUGGINS, C. & HODGES, C. V. 1972. Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 22, 232-240.
- ILHAN, O., HAN, U., ONAL, B. & CELIK, S. Y. 2010. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *Turk J Gastroenterol*, 21, 345-52.
- IMAI, Y., YAMAGISHI, H., FUKUDA, K., ONO, Y., INOUE, T. & UEDA, Y. 2013. Differential mucin phenotypes and their significance in a variation of colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol*, 19, 3957-68.
- J. SCHÜTTE, J. B. 2010. Zytostatische Chemotherapie. In: WOLFGANG HIDDEMANN, C. R. B. (ed.) *Die Onkologie: Teil I: Epidemiologie - Pathogenese - Grundprinzipien der Therapie*. Springer Medizin Verlag Heidelberg.
- JACOBS, T. W., PRIOLEAU, J. E., STILLMAN, I. E. & SCHNITT, S. J. 1996. Loss of tumor marker-immunostaining intensity on stored paraffin slides of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 88, 1054-9.
- JAMES D. BRIERLEY (HRSG.), MARY K. GOSPODAROWICZ (HRSG.) & (HRSG.), C. W. 2017. *TNM classification of malignant tumours*, Wiley-Blackwell.
- JAN, Y. Y., YEH, T. S., YEH, J. N., YANG, H. R. & CHEN, M. F. 2004. Expression of epidermal growth factor receptor, apomucins, matrix metalloproteinases, and p53 in rat and human cholangiocarcinoma: appraisal of an animal model of cholangiocarcinoma. *Ann Surg*, 240, 89-94.
- JI, H., ISACSON, C., SEIDMAN, J. D., KURMAN, R. J. & RONNETT, B. M. 2002. Cytokeratins 7 and 20, Dpc4, and MUC5AC in the distinction of metastatic mucinous carcinomas in the ovary from primary ovarian mucinous tumors: Dpc4 assists in identifying metastatic pancreatic carcinomas. *Int J Gynecol Pathol*, 21, 391-400.
- JINFENG, M., KIMURA, W., HIRAI, I., SAKURAI, F., MORIYA, T. & MIZUTANI, M. 2003. Expression of MUC5AC and MUC6 in invasive ductal carcinoma of the pancreas and relationship with prognosis. *Int J Gastrointest Cancer*, 34, 9-18.

- KANG, H., AN, H. J., SONG, J. Y., KIM, T. H., HEO, J. H., AHN, D. H. & KIM, G. 2012. Notch3 and Jagged2 contribute to gastric cancer development and to glandular differentiation associated with MUC2 and MUC5AC expression. *Histopathology*, 61, 576-86.
- KASASHIMA, S., KAWASHIMA, A., ZEN, Y., OZAKI, S., KOBAYASHI, M., TSUJIBATA, A. & MINATO, H. 2007. Expression of aberrant mucins in lobular carcinoma with histiocytoid feature of the breast. *Virchows Arch*, 450, 397-403.
- KAWABATA, Y., TANAKA, T., NISHISAKA, T., INAO, T., NISHI, T. & YANO, S. 2010. Cytokeratin 20 (CK20) and apomucin 1 (MUC1) expression in ampullary carcinoma: Correlation with tumor progression and prognosis. *Diagn Pathol*, 5, 75.
- KESARI, M. V., GAOPANDE, V. L., JOSHI, A. R., BABANAGARE, S. V., GOGATE, B. P. & KHADILKAR, A. V. 2015. Immunohistochemical study of MUC1, MUC2 and MUC5AC in colorectal carcinoma and review of literature. *Indian J Gastroenterol*, 34, 63-7.
- KESIMER, M., FORD, A. A., CEPPE, A., RADICIONI, G., CAO, R., DAVIS, C. W., DOERSCHUK, C. M., ALEXIS, N. E., ANDERSON, W. H., HENDERSON, A. G., BARR, R. G., BLEECKER, E. R., CHRISTENSON, S. A., COOPER, C. B., HAN, M. K., HANSEL, N. N., HASTIE, A. T., HOFFMAN, E. A., KANNER, R. E., MARTINEZ, F., PAINE, R., 3RD, WOODRUFF, P. G., O'NEAL, W. K. & BOUCHER, R. C. 2017. Airway Mucin Concentration as a Marker of Chronic Bronchitis. *N Engl J Med*, 377, 911-922.
- KIM, D., JUNG, W. H. & KOO, J. S. 2012. Expression of MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC5B in mucinous lesions of the breast. *Pathobiology*, 79, 144-53.
- KIM, J. H., KIM, K. J., RHEE, Y. Y., BAE, J. M., CHO, N. Y., LEE, H. S. & KANG, G. H. 2015a. Gastric-type expression signature in serrated pathway-associated colorectal tumors. *Hum Pathol*, 46, 643-56.
- KIM, Y. K., SHIN, D. H., KIM, K. B., SHIN, N., PARK, W. Y., LEE, J. H., CHOI, K. U., KIM, J. Y., LEE, C. H., SOL, M. Y. & KIM, M. H. 2015b. MUC5AC and MUC5B enhance the characterization of mucinous adenocarcinomas of the lung and predict poor prognosis. *Histopathology*, 67, 520-8.
- KLUTH, M., HARASIMOWICZ, S., BURKHARDT, L., GRUPP, K., KROHN, A., PRIEN, K., GJONI, J., HASS, T., GALAL, R., GRAEFEN, M., HAESE, A., SIMON, R., HUHNE-SIMON, J., KOOP, C., KORBEL, J., WEISCHENFELD, J., HULAND, H., SAUTER, G., QUAAS, A., WILCZAK, W., TSOURLAKIS, M. C., MINNER, S. & SCHLOMM, T. 2014. Clinical significance of different types of p53 gene alteration in surgically treated prostate cancer. *Int J Cancer*, 135, 1369-80.
- KOCER, B., SORAN, A., ERDOGAN, S., KARABEYOGLU, M., YILDIRIM, O., EROGLU, A., BOZKURT, B. & CENGIZ, O. 2002. Expression of MUC5AC in colorectal carcinoma and relationship with prognosis. *Pathol Int*, 52, 470-7.
- KONONEN, J., BUBENDORF, L., KALLIONIEMI, A., BARLUND, M., SCHRAML, P., LEIGHTON, S., TORHORST, J., MIHATSCH, M. J., SAUTER, G. & KALLIONIEMI, O. P. 1998. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med*, 4, 844-7.
- KUNZE, E., FRANCKSEN, B. & SCHULZ, H. 2001. Expression of MUC5AC apomucin in transitional cell carcinomas of the urinary bladder and its possible role in the development of mucus-secreting adenocarcinomas. *Virchows Arch*, 439, 609-15.
- LABOUVIE, C., MACHADO, J. C., CARNEIRO, F., SARBIA, M., VIETH, M., PORSCHE, R., SEITZ, G. & BLIN, N. 1999. Differential expression of mucins and trefoil peptides in native epithelium, Barrett's metaplasia and squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Cancer Res Clin Oncol*, 125, 71-6.

- LAU, S. K., WEISS, L. M. & CHU, P. G. 2004. Differential expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in carcinomas of various sites: an immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*, 122, 61-9.
- LEACH, D. R., KRUMMEL, M. F. & ALLISON, J. P. 1996. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*, 271, 1734-6.
- LEE, M. J., LEE, H. S., KIM, W. H., CHOI, Y. & YANG, M. 2003. Expression of mucins and cytokeratins in primary carcinomas of the digestive system. *Mod Pathol*, 16, 403-10.
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (HRSG.). 2018a. *S3-Leitlinie - Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Patientinnen mit Endometriumkarzinom* [Online]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF. Available: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/endometriumkarzinom/> [Accessed 05. Mai 2020].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (HRSG.). 2018b. *S3-Leitlinie - Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms* [Online]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF. Available: <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Lungenkarzinom.98.0.html> [Accessed 05. Mai 2020].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (HRSG.). 2019a. *S3-Leitlinie - Kolorektales Karzinom* [Online]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF. Available: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/kolorektales-karzinom/> [Accessed 05. Mai 2020].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (HRSG.). 2019b. *S3-Leitlinie Magenkarzinom - Diagnostik und Therapie der Adenokarzinome des Magens und ösophagogastralen Übergangs* [Online]. Available: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/magenkarzinom/> [Accessed].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (HRSG.). 2020a. *S3-Leitlinie - Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms* [Online]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF. Available: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom/> [Accessed 5. Mai 2020].
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE (HRSG.). 2020b. *S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms* [Online]. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF. Available: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/harnblasenkarzinom/> [Accessed 05. Mai 2020].
- LETEURTRE, E., ZERIMECH, F., PIESSEN, G., WACRENIER, A., LEROY, X., COPIN, M. C., MARIETTE, C., AUBERT, J. P., PORCHET, N. & BUISINE, M. P. 2006. Relationships between mucinous gastric carcinoma, MUC2 expression and survival. *World J Gastroenterol*, 12, 3324-31.
- LIU, H., SHI, J., ANANDAN, V., WANG, H. L., DIEHL, D., BLANSFIELD, J., GERHARD, G. & LIN, F. 2012. Reevaluation and identification of the best immunohistochemical panel (pVHL, Masp1, S100P, IMP-3) for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Arch Pathol Lab Med*, 136, 601-9.
- LIU, Q., TEH, M., ITO, K., SHAH, N., ITO, Y. & YEOH, K. G. 2007. CDX2 expression is progressively decreased in human gastric intestinal metaplasia, dysplasia and cancer. *Mod Pathol*, 20, 1286-97.
- LOK, T., CHEN, L., LIN, F. & WANG, H. L. 2014. Immunohistochemical distinction between intrahepatic cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 45, 394-400.
- LOPEZ-FERRER, A., CURULL, V., BARRANCO, C., GARRIDO, M., LLORETA, J., REAL, F. X. & DE BOLOS, C. 2001. Mucins as differentiation markers in bronchial

- epithelium. Squamous cell carcinoma and adenocarcinoma display similar expression patterns. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 24, 22-29.
- LOSI, L., SCARSELLI, A., BENATTI, P., PONZ DE LEON, M., RONCUCCI, L., PEDRONI, M., BORGHI, F., LAMBERTI, I., ROSSI, G., MARINO, M., PONTI, G., ZANGARDI, G., MENIGATTI, M. & DI GREGORIO, C. 2004. Relationship between MUC5AC and altered expression of MLH1 protein in mucinous and non-mucinous colorectal carcinomas. *Pathol Res Pract*, 200, 371-7.
- LOTAN, T. L., GUREL, B., SUTCLIFFE, S., ESOPHI, D., LIU, W., XU, J., HICKS, J. L., PARK, B. H., HUMPHREYS, E., PARTIN, A. W., HAN, M., NETTO, G. J., ISAACS, W. B. & DE MARZO, A. M. 2011. PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res*, 17, 6563-73.
- LUDWIG, H., KHAYAT, D., GIACCONE, G. & FACON, T. 2005. Proteasome inhibition and its clinical prospects in the treatment of hematologic and solid malignancies. *Cancer*, 104, 1794-807.
- MAHOMED, F. 2011. Recent advances in mucin immunohistochemistry in salivary gland tumors and head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 47, 797-803.
- MALL, A. S., TYLER, M., LOTZ, Z., DAVIDSON, A., RODRIGUES, J., VAN DER WATT, G., KAHN, D. & GOVENDER, D. 2007. The characterisation of mucin in a mature ovarian teratoma occurring in an eight year old patient. *Int J Med Sci*, 4, 115-23.
- MALL, A. S., TYLER, M. G., HO, S. B., KRIGE, J. E., KAHN, D., SPEARMAN, W., MYER, L. & GOVENDER, D. 2010. The expression of MUC mucin in cholangiocarcinoma. *Pathol Res Pract*, 206, 805-9.
- MATSUDA, M., SENTANI, K., NOGUCHI, T., HINOI, T., OKAJIMA, M., MATSUSAKI, K., SAKAMOTO, N., ANAMI, K., NAITO, Y., OUE, N. & YASUI, W. 2010. Immunohistochemical analysis of colorectal cancer with gastric phenotype: claudin-18 is associated with poor prognosis. *Pathol Int*, 60, 673-80.
- MATSUKITA, S., NOMOTO, M., KITAJIMA, S., TANAKA, S., GOTO, M., IRIMURA, T., KIM, Y. S., SATO, E. & YONEZAWA, S. 2003. Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6) in mucinous carcinoma of the breast: comparison with invasive ductal carcinoma. *Histopathology*, 42, 26-36.
- MCGUIRE, W. L. 1975. Current status of estrogen receptors in human breast cancer. *Cancer*, 36, 638-44.
- MEEZAMAN, D., CHARLES, P., DASKAL, E., POLYMEROPOULOS, M. H., MARTIN, B. M. & ROSE, M. C. 1994. Cloning and analysis of cDNA encoding a major airway glycoprotein, human tracheobronchial mucin (MUC5). *J Biol Chem*, 269, 12932-9.
- MIRLACHER, M., KASPER, M., STORZ, M., KNECHT, Y., DURMULLER, U., SIMON, R., MIHATSCH, M. J. & SAUTER, G. 2004. Influence of slide aging on results of translational research studies using immunohistochemistry. *Mod Pathol*, 17, 1414-20.
- MITSUHASHI, A., YAMAZAWA, K., NAGAI, Y., TANAKA, N., MATSUI, H. & SEKIYA, S. 2004. Correlation between MUC5AC expression and the prognosis of patients with adenocarcinoma of the uterine cervix. *Ann Surg Oncol*, 11, 40-4.
- MIZOSHITA, T., TSUKAMOTO, T., INADA, K. I., HIRANO, N., TAJIKA, M., NAKAMURA, T., BAN, H. & TATEMATSU, M. 2007. Loss of MUC2 expression correlates with progression along the adenoma-carcinoma sequence pathway as well as de novo carcinogenesis in the colon. *Histol Histopathol*, 22, 251-60.
- MOEDER, C. B., GILTANE, J. M., HARIGOPAL, M., MOLINARO, A., ROBINSON, A., GELMON, K., HUNTSMAN, D., CAMP, R. L., RIMM, D. L., AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL, O. & COLLEGE OF AMERICAN, P. 2007. Quantitative justification of the change from 10% to 30% for human epidermal growth factor

- receptor 2 scoring in the American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guidelines: tumor heterogeneity in breast cancer and its implications for tissue microarray based assessment of outcome. *J Clin Oncol*, 25, 5418-25.
- MORITANI, S., KUSHIMA, R., ICHIHARA, S., OKABE, H., HATTORI, T., KOBAYASHI, T. K. & SILVERBERG, S. G. 2005. Eosinophilic cell change of the endometrium: a possible relationship to mucinous differentiation. *Modern Pathology*, 18, 1243-1248.
- NAKAJIMA, N., YOSHIZAWA, A., NAKAJIMA, T., HIRATA, M., FURUHATA, A., SUMIYOSHI, S., ROKUTAN-KURATA, M., SONOBE, M., MENJU, T., MIYAMOTO, E., CHEN-YOSHIKAWA, T. F., DATE, H. & HAGA, H. 2018. GATA6-positive lung adenocarcinomas are associated with invasive mucinous adenocarcinoma morphology, hepatocyte nuclear factor 4alpha expression, and KRAS mutations. *Histopathology*, 73, 38-48.
- NGUYEN, M. D., PLASIL, B., WEN, P. & FRANKEL, W. L. 2006. Mucin profiles in signet-ring cell carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 130, 799-804.
- NISHIDA, T., EGASHIRA, Y., AKUTAGAWA, H., FUJII, M., UCHIYAMA, K., SHIBAYAMA, Y. & HIROSE, Y. 2014. Predictors of lymph node metastasis in T1 colorectal carcinoma: an immunophenotypic analysis of 265 patients. *Dis Colon Rectum*, 57, 905-15.
- OHASHI, R., HAYAMA, A., YANAGIHARA, K., YAMASHITA, K., SAKATANI, T., TAKEI, H. & NAITO, Z. 2016. Prognostic significance of mucin expression profiles in breast carcinoma with signet ring cells: a clinicopathological study. *Diagn Pathol*, 11, 131.
- OZCAN, A., SHEN, S. S., HAMILTON, C., ANJANA, K., COFFEY, D., KRISHNAN, B. & TRUONG, L. D. 2011. PAX 8 expression in non-neoplastic tissues, primary tumors, and metastatic tumors: a comprehensive immunohistochemical study. *Mod Pathol*, 24, 751-64.
- PARK, S. Y., KIM, B. H., KIM, J. H., LEE, S. & KANG, G. H. 2007. Panels of immunohistochemical markers help determine primary sites of metastatic adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 131, 1561-7.
- PARK, S. Y., LEE, H. S., CHOE, G., CHUNG, J. H. & KIM, W. H. 2006. Clinicopathological characteristics, microsatellite instability, and expression of mucin core proteins and p53 in colorectal mucinous adenocarcinomas in relation to location. *Virchows Arch*, 449, 40-7.
- PEREIRA, M. B., DIAS, A. J., REIS, C. A. & SCHMITT, F. C. 2001. Immunohistochemical study of the expression of MUC5AC and MUC6 in breast carcinomas and adjacent breast tissues. *J Clin Pathol*, 54, 210-3.
- REIS, C. A., DAVID, L., NIELSEN, P. A., CLAUSEN, H., MIRGORODSKAYA, K., ROEPSTORFF, P. & SOBRINHO-SIMOES, M. 1997. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer*, 74, 112-21.
- RENAUD, F., MARIETTE, C., VINCENT, A., WACRENIER, A., MAUNOURY, V., LECLERC, J., COPPIN, L., CREPIN, M., VAN SEUNINGEN, I., LETEURTRE, E. & BUISINE, M. P. 2016. The serrated neoplasia pathway of colorectal tumors: Identification of MUC5AC hypomethylation as an early marker of polyps with malignant potential. *Int J Cancer*, 138, 1472-81.
- RICHARDSON, P. G., HIDESHIMA, T., MITSIADES, C. & ANDERSON, K. 2004. Proteasome inhibition in hematologic malignancies. *Ann Med*, 36, 304-14.
- RIETHDORF, L., O'CONNELL, J. T., RIETHDORF, S., CVIKO, A. & CRUM, C. P. 2000. Differential expression of MUC2 and MUC5AC in benign and malignant glandular lesions of the cervix uteri. *Virchows Arch*, 437, 365-71.

- ROBERT KOCH-INSTITUT. 2019. *Krebs in Deutschland für 2015/2016* [Online]. Berlin. Available: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf;jsessionid=E78D444D95C70436FF2F76B2E722A0B3.2_cid381?__blob=publicationFile [Accessed 17. April 2020].
- ROSE, M. C. & VOYNOW, J. A. 2006. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev*, 86, 245-78.
- RUIZ, C., SEIBT, S., AL KURAYA, K., SIRAJ, A. K., MIRLACHER, M., SCHRAML, P., MAURER, R., SPICHTIN, H., TORHORST, J., POPOVSKA, S., SIMON, R. & SAUTER, G. 2006. Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. *Int J Cancer*, 118, 2190-4.
- SANADA, Y., OUE, N., MITANI, Y., YOSHIDA, K., NAKAYAMA, H. & YASUI, W. 2006a. Down-regulation of the claudin-18 gene, identified through serial analysis of gene expression data analysis, in gastric cancer with an intestinal phenotype. *J Pathol*, 208, 633-42.
- SANADA, Y., YOSHIDA, K., KONISHI, K., OEDA, M., OHARA, M. & TSUTANI, Y. 2006b. Expression of gastric mucin MUC5AC and gastric transcription factor SOX2 in ampulla of Vater adenocarcinoma: comparison between expression patterns and histologic subtypes. *Oncol Rep*, 15, 1157-61.
- SASAKI, M., NAKANUMA, Y., HO, S. B. & KIM, Y. S. 1998. Cholangiocarcinomas arising in cirrhosis and combined hepatocellular-cholangiocellular carcinomas share apomucin profiles. *Am J Clin Pathol*, 109, 302-8.
- SASAKI, M., YAMATO, T., NAKANUMA, Y., HO, S. B. & KIM, Y. S. 1999. Expression of MUC2, MUC5AC and MUC6 apomucins in carcinoma, dysplasia and non-dysplastic epithelia of the gallbladder. *Pathol Int*, 49, 38-44.
- SESSA, F., FURLAN, D., ZAMPATTI, C., CARNEVALI, I., FRANZI, F. & CAPELLA, C. 2007. Prognostic factors for ampullary adenocarcinomas: tumor stage, tumor histology, tumor location, immunohistochemistry and microsatellite instability. *Virchows Arch*, 451, 649-57.
- SHIN, J. H., BAE, J. H., LEE, A., JUNG, C. K., YIM, H. W., PARK, J. S. & LEE, K. Y. 2010. CK7, CK20, CDX2 and MUC2 Immunohistochemical staining used to distinguish metastatic colorectal carcinoma involving ovary from primary ovarian mucinous adenocarcinoma. *Jpn J Clin Oncol*, 40, 208-13.
- SIERZEGA, M., MLYNARSKI, D., TOMASZEWSKA, R. & KULIG, J. 2016. Semiquantitative immunohistochemistry for mucin (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, and MUC6) profiling of pancreatic ductal cell adenocarcinoma improves diagnostic and prognostic performance. *Histopathology*, 69, 582-91.
- SKRZYPEK, K., TERTIL, M., GOLDA, S., CIESLA, M., WEGLARCZYK, K., COLLET, G., GUICHARD, A., KOZAKOWSKA, M., BOCZKOWSKI, J., WAS, H., GIL, T., KUZDZAL, J., MUCHOVA, L., VITEK, L., LOBODA, A., JOZKOWICZ, A., KIEDA, C. & DULAK, J. 2013. Interplay between heme oxygenase-1 and miR-378 affects non-small cell lung carcinoma growth, vascularization, and metastasis. *Antioxid Redox Signal*, 19, 644-60.
- SLAMON, D. J., LEYLAND-JONES, B., SHAK, S., FUCHS, H., PATON, V., BAJAMONDE, A., FLEMING, T., EIERMANN, W., WOLTER, J., PEGRAM, M., BASELGA, J. & NORTON, L. 2001. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*, 344, 783-92.
- SOPHA, S. C., GOPAL, P., MERCHANT, N. B., REVETTA, F. L., GOLD, D. V., WASHINGTON, K. & SHI, C. 2013. Diagnostic and therapeutic implications of a

- novel immunohistochemical panel detecting duodenal mucosal invasion by pancreatic ductal adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 6, 2476-86.
- STATISTISCHES BUNDESAMT. 2017. *Todesursachen - Zahl der Todesfälle im Jahr 2017 um 2,3% gestiegen* [Online]. Available: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/todesfaelle.html;jsessionid=E8168B6C0B7557BE1AFFEB898B4A5783.internet8742> [Accessed 6. Mai 2020].
- STIEBER, P. 2010. Tumormarker in der Diagnostik - CUP „Cancer of unknown primary“. In: WOLFGANG HIDDEMANN, C. R. B. (ed.) *Die Onkologie: Teil 1: Epidemiologie - Pathogenese - Grundprinzipien der Therapie*. Springer Medizin Verlag Heidelberg.
- STOJNEV, S., RISTIC-PETROVIC, A., VELICKOVIC, L. J., KRSTIC, M., BOGDANOVIC, D., KHANH DO, T., RISTIC, A., CONIC, I. & STEFANOVIC, V. 2014. Prognostic significance of mucin expression in urothelial bladder cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 7, 4945-58.
- STRICKLAND, S., WASSERMAN, J. K., GIASSI, A., DJORDJEVIC, B. & PARRA-HERRAN, C. 2016. Immunohistochemistry in the Diagnosis of Mucinous Neoplasms Involving the Ovary: The Added Value of SATB2 and Biomarker Discovery Through Protein Expression Database Mining. *Int J Gynecol Pathol*, 35, 191-208.
- SUGAI, M., UMEZU, H., YAMAMOTO, T., JIANG, S., IWANARI, H., TANAKA, T., HAMAKUBO, T., KODAMA, T. & NAITO, M. 2008. Expression of hepatocyte nuclear factor 4 alpha in primary ovarian mucinous tumors. *Pathol Int*, 58, 681-6.
- SUN, Y., LI, J. Y., HE, J. S., ZHOU, L. X. & CHEN, K. 2005. Tissue microarray analysis of multiple gene expression in intestinal metaplasia, dysplasia and carcinoma of the stomach. *Histopathology*, 46, 505-14.
- SZACHNOWICZ, S., CECCONELLO, I., RIBEIRO, U., IRIYA, K., EL IBRAHIM, R., TAKEDA, F. R., CORBETT, C. E. & VAZ SAFATLE-RIBEIRO, A. 2009. Mucin pattern reflects the origin of the adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a retrospective clinical and laboratorial study. *World J Surg Oncol*, 7, 27.
- TAKIKITA, M., ALTEKRUSE, S., LYNCH, C. F., GOODMAN, M. T., HERNANDEZ, B. Y., GREEN, M., COZEN, W., COCKBURN, M., SIBUG SABER, M., TOPOR, M., ZERUTO, C., ABEDI-ARDEKANI, B., REICHMAN, M. E. & HEWITT, S. M. 2009. Associations between selected biomarkers and prognosis in a population-based pancreatic cancer tissue microarray. *Cancer Res*, 69, 2950-5.
- TERADA, T. 2012. Adenoid squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Int J Clin Exp Pathol*, 5, 442-7.
- TERADA, T. 2013. An immunohistochemical study of primary signet-ring cell carcinoma of the stomach and colorectum: II. Expression of MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in normal mucosa and in 42 cases. *Int J Clin Exp Pathol*, 6, 613-21.
- THORNTON, D. J., ROUSSEAU, K. & MCGUCKIN, M. A. 2008. Structure and function of the polymeric mucins in airways mucus. *Annu Rev Physiol*, 70, 459-86.
- TORHORST, J., BUCHER, C., KONONEN, J., HAAS, P., ZUBER, M., KOCHLI, O. R., MROSS, F., DIETERICH, H., MOCH, H., MIHATSCH, M., KALLIONIEMI, O. P. & SAUTER, G. 2001. Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints. *Am J Pathol*, 159, 2249-56.
- TSUTA, K., ISHII, G., NITADORI, J., MURATA, Y., KODAMA, T., NAGAI, K. & OCHIAI, A. 2006. Comparison of the immunophenotypes of signet-ring cell carcinoma, solid adenocarcinoma with mucin production, and mucinous bronchioloalveolar carcinoma of the lung characterized by the presence of cytoplasmic mucin. *J Pathol*, 209, 78-87.
- VETTERLEIN, M. W., ROSCHINSKI, J., GILD, P., MARKS, P., SOAVE, A., DOH, O., ISBARN, H., HOPNER, W., WAGNER, W., SHARIAT, S. F., BRAUSI, M.,

- BUSCHECK, F., SAUTER, G., FISCH, M. & RINK, M. 2017. Impact of the Ki-67 labeling index and p53 expression status on disease-free survival in pT1 urothelial carcinoma of the bladder. *Transl Androl Urol*, 6, 1018-1026.
- W. BÖCKER, H. D., P. U. HEITZ, H. MOCH, G. HÖFLER, H. KREIPE; (HRSRG.) 2012. Pathologisch-anatomische Klassifikation. *Pathologie*. Urban & Fischer in Elsevier.
- W. HIDDEMANN, M. F.-B., L.H. LINDNER, M. KRYCH, H. HUBER, C.R. BARTRAM 2010. Krebs ist eine behandelbare Erkrankung. In: WOLFGANG HIDDEMANN, C. R. B. (ed.) *Die Onkologie: Teil 1: Epidemiologie - Pathogenese - Grundprinzipien der Therapie*. Springer Medizin Verlag Heidelberg.
- WALSH, M. D., CLENDENNING, M., WILLIAMSON, E., PEARSON, S. A., WALTERS, R. J., NAGLER, B., PACKENAS, D., WIN, A. K., HOPPER, J. L., JENKINS, M. A., HAYDON, A. M., ROSTY, C., ENGLISH, D. R., GILES, G. G., MCGUCKIN, M. A., YOUNG, J. P. & BUCHANAN, D. D. 2013. Expression of MUC2, MUC5AC, MUC5B, and MUC6 mucins in colorectal cancers and their association with the CpG island methylator phenotype. *Mod Pathol*, 26, 1642-56.
- WANG, J. & EL-BAHRAWY, M. 2015. Expression profile of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) in ovarian mucinous tumours: changes in expression from benign to malignant tumours. *Histopathology*, 66, 529-35.
- WANG, J. & EL-BAHRAWY, M. A. 2014. Expression profile of mucins in ovarian mucinous tumors: distinguishing primary ovarian from metastatic tumors. *Int J Gynecol Pathol*, 33, 166-75.
- YEH, T. S., TSENG, J. H., CHEN, T. C., LIU, N. J., CHIU, C. T., JAN, Y. Y. & CHEN, M. F. 2005. Characterization of intrahepatic cholangiocarcinoma of the intraductal growth-type and its precursor lesions. *Hepatology*, 42, 657-64.
- YONEZAWA, S., HORINOUCI, M., OSAKO, M., KUBO, M., TAKAO, S., ARIMURA, Y., NAGATA, K., TANAKA, S., SAKODA, K., AIKOU, T. & SATO, E. 1999. Gene expression of gastric type mucin (MUC5AC) in pancreatic tumors: its relationship with the biological behavior of the tumor. *Pathol Int*, 49, 45-54.
- YONEZAWA, S., NAKAMURA, A., HORINOUCI, M. & SATO, E. 2002. The expression of several types of mucin is related to the biological behavior of pancreatic neoplasms. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 9, 328-41.
- YU, X. W., RONG, W., XU, F. L., XU, G. Y., SUN, Y. R. & FENG, M. Y. 2007. [Expression and clinical significance of Mucin and E-cadherin in colorectal tumors]. *Ai Zheng*, 26, 1204-10.
- ZHANG, C. T., HE, K. C., PAN, F., LI, Y. & WU, J. 2015. Prognostic value of Muc5AC in gastric cancer: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*, 21, 10453-60.
- ZHANG, H., LIU, Y., XIE, H., LIU, W., FU, Q., YAO, D., XU, J. & GU, J. 2017. High mucin 5AC expression predicts adverse postoperative recurrence and survival of patients with clear-cell renal cell carcinoma. *Oncotarget*, 8, 59777-59790.
- ZHANG, M. Q., LIN, F., HUI, P., CHEN, Z. M., RITTER, J. H. & WANG, H. L. 2007. Expression of mucins, SIMA, villin, and CDX2 in small-intestinal adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol*, 128, 808-16.
- ZHANG, S., ZHANG, H. S., REUTER, V. E., SLOVIN, S. F., SCHER, H. I. & LIVINGSTON, P. O. 1998. Expression of potential target antigens for immunotherapy on primary and metastatic prostate cancers. *Clin Cancer Res*, 4, 295-302.
- ZHOU, H., SCHAEFER, N., WOLFF, M. & FISCHER, H. P. 2004. Carcinoma of the ampulla of Vater: comparative histologic/immunohistochemical classification and follow-up. *Am J Surg Pathol*, 28, 875-82.

11. Anhang

Tabelle 6: Ergebnisse der Auswertung der Literaturrecherche

Entität	Studie	Expression
Mundboden Plattenepithelkarzinom	(Terada, 2012)	0,00%
Lunge Plattenepithelkarzinom	(Lopez-Ferrer et al., 2001)	28,57%
Lunge kleinzelliges Karzinom	(Lopez-Ferrer et al., 2001)	9,09%
Parotis Pleomorphes Adenom	(Hamada et al., 2004)	22,22%
	(Mahomed, 2011)	12,24%
Mammakarzinom lobulär	(Bartosch et al., 2015)	0,00%
	(Kasashima et al., 2007)	0,00%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Ohashi et al., 2016)	0,00%
Ösophagus Plattenepithelkarzinom	(Labouvie et al., 1999)	7,50%
Hepatozelluläres Karzinom	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Lee et al., 2003)	0,00%
Nierenzellkarzinom klarzellig	(Zhang et al., 2017)	39,37%
Onkozytom	(Akiyama et al., 2009)	0,00%
Prostatakarzinom	(Cozzi et al., 2005)	0,00%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Zhang et al., 1998)	9,09%
Nebennieren-Karzinom	(Lau et al., 2004)	0,00%
Neuroendokriner Tumor (NET)	(Domori et al., 2014)	0,00%
Urothelkarzinom pTa	(Broede et al., 2016)	60,00%
	(Kunze et al., 2001)	19,29%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Stojnev et al., 2014)	11,13%
Ovarialkarzinom serös	(Han et al., 2010)	0,00%
	(Sugai et al., 2008)	0,00%
Ovarialkarzinom endometrioid	(Sugai et al., 2008)	0,00%
Mammakarzinom NST (=invasiv duktale)	(Bartosch et al., 2015)	0,00%
	(Do et al., 2013)	4,64%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Matsukita et al., 2003)	4,35%
	(Ohashi et al., 2016)	22,22%
Teratom	(Mall et al., 2007)	100,00%

Urothelkarzinom T2-4	(Broede et al., 2016)	60,00%
	(Kunze et al., 2001)	19,29%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Stojnev et al., 2014)	11,13%
Mammakarzinom muzinös	(Bartosch et al., 2015)	25,00%
	(Kim et al., 2012)	7,69%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Matsukita et al., 2003)	11,76%
	(Ohashi et al., 2016)	0,00%
Endometriumkarzinom serös	(Moritani et al., 2005)	0,00%
Colon Adenokarzinom	(Betge et al., 2016)	49,87%
	(Biemer-Huttmann et al., 2000)	40,86%
	(Broede et al., 2016)	18,18%
	(Chu and Weiss, 2004)	88,89%
	(Gurbuz and Kloppel, 2004)	20,00%
	(Hirano et al., 2012)	30,59%
	(Imai et al., 2013)	42,86%
	(Imai et al., 2013)	54,32%
	(Imai et al., 2013)	46,67%
	(Kesari et al., 2015)	24,00%
	(Kocer et al., 2002)	52,38%
	(Lau et al., 2004)	26,32%
	(Lau et al., 2004)	0,00%
	(Lee et al., 2003)	5,88%
	(Losi et al., 2004)	38,97%
	(Matsuda et al., 2010)	15,11%
	(Nguyen et al., 2006)	9,09%
	(Nishida et al., 2014)	17,36%
	(Park et al., 2006)	48,96%
	(Park et al., 2006)	13,27%
	(Park et al., 2007)	6,00%
	(Shin et al., 2010)	2,44%
	(Strickland et al., 2016)	84,21%
	(Terada, 2013)	33,33%
(Walsh et al., 2013)	49,46%	
(Wang and El-Bahrawy, 2014)	42,86%	
(Yu et al., 2007)	44,00%	

Colon Adenokarzinom	(Zhang et al., 2007)	81,25%
Lunge Adenokarzinome	(Awaya et al., 2004)	72,41%
	(Duruiseaux et al., 2017)	11,11%
	(Duruiseaux et al., 2017)	64,00%
	(Hishida et al., 2011)	40,00%
	(Kim et al., 2015b)	18,72%
	(Lau et al., 2004)	14,29%
	(Lopez-Ferrer et al., 2001)	15,38%
	(Nakajima et al., 2018)	10,37%
	(Park et al., 2007)	10,00%
	(Tsuta et al., 2006)	20,00%
Cholangiozelluläres Karzinom	(Jan et al., 2004)	0,00%
	(Chu et al., 2005)	50,00%
	(Lau et al., 2004)	45,45%
	(Mall et al., 2010)	46,15%
	(Sasaki et al., 1998)	62,50%
	(Wang and El-Bahrawy, 2014)	16,67%
	(Yeh et al., 2005)	40,00%
Zervix Adenokarzinom	(Mitsubishi et al., 2004)	53,19%
	(Riethdorf et al., 2000)	13,64%
Lunge bronchioalveoläres Karzinom	(Tsuta et al., 2006)	97,50%
Dünndarm Adenokarzinom	(Gurbuz and Kloppel, 2004)	35,71%
	(Lee et al., 2003)	30,43%
Endometriumkarzinom endometrioid	(Baker et al., 2006)	12,50%
	(Moritani et al., 2005)	8,33%
Pankreas/Papille Adenokarzinom	(Aloysius et al., 2010)	100,00%
	(Chu et al., 2005)	66,67%
	(de Paiva Haddad et al., 2010)	68,89%
	(Gurbuz and Kloppel, 2004)	54,55%
	(Han et al., 2010)	100,00%
	(Kawabata et al., 2010)	44,19%
	(Lee et al., 2003)	28,21%
	(Lee et al., 2003)	70,37%
	(Park et al., 2007)	58,00%
	(Sanada et al., 2006b)	83,33%
	(Sessa et al., 2007)	43,40%
	(Takikita et al., 2009)	61,49%

Pankreas/Papille Adenokarzinom	(Yonezawa et al., 2002)	32,61%
	(Zhou et al., 2004)	55,81%
Magenkarzinom diffuser Typ	(Gulmann et al., 2003)	52,78%
	(Gurbuz et al., 2002)	80,70%
	(Kang et al., 2012)	35,71%
	(Leteurtre et al., 2006)	75,00%
	(Liu et al., 2007)	73,68%
	(Reis et al., 1997)	83,33%
Ovarialkarzinom muzinös	(Ji et al., 2002)	100,00%
	(Ji et al., 2002)	97,56%
	(Strickland et al., 2016)	90,00%
	(Strickland et al., 2016)	33,33%
	(Sugai et al., 2008)	72,73%
	(Wang and El-Bahrawy, 2014)	100,00%
	(Wang and El-Bahrawy, 2014)	94,12%
	(Wang and El-Bahrawy, 2015)	94,74%
Magenkarzinom intestinaler Typ	(Gulmann et al., 2003)	47,62%
	(Gurbuz et al., 2002)	67,06%
	(Kang et al., 2012)	19,15%
	(Leteurtre et al., 2006)	85,71%
	(Liu et al., 2007)	51,11%
	(Reis et al., 1997)	59,26%
	(Sun et al., 2005)	27,08%
Colonadenom, high grade	(Kim et al., 2015a)	9,52%
	(Mizoshita et al., 2007)	28,57%
	(Mizoshita et al., 2007)	0,00%
Pankreas duktales Adenokarzinom	(Chu et al., 2005)	86,96%
	(Liu et al., 2012)	66,67%
	(Lok et al., 2014)	66,67%
	(Sierzega et al., 2016)	85,15%
	(Sopha et al., 2013)	94,44%
	(Wang and El-Bahrawy, 2014)	94,44%
	(Lau et al., 2004)	72,73%
Colonadenom, low grade	(Kim et al., 2015a)	11,90%
Ösophagus Adenokarzinom	(Arul et al., 2000)	0,00%
	(Flucke et al., 2003)	83,33%
	(Flucke et al., 2003)	65,52%

Ösophagus Adenokarzinom	(Gulmann et al., 2003)	33,33%
	(Gulmann et al., 2003)	54,55%
	(Gulmann et al., 2003)	33,33%
	(Gulmann et al., 2003)	53,33%
	(Lau et al., 2004)	66,67%
	(Szachnowicz et al., 2009)	53,85%
	(Wang and El-Bahrawy, 2014)	53,33%

Tabelle 7: Entitäten des MTA zu denen keine Literaturdaten bestanden haben

Entitäten des TMA ohne Literaturdaten	
Pilomatrixom	0.00%
Basaliom	0.00%
Benigner Naevus	0.00%
Haut Plattenepithelkarzinom	0.00%
Malignes Melanom	0.00%
Merkelzellkarzinom	0.00%
Larynx Plattenepithelkarzinom	0.00%
Malignes Mesotheliom	0.00%
Speicheldrüse Basalzelladenom	0.00%
Vagina Plattenepithelkarzinom	0.00%
Vulva Plattenepithelkarzinom	0.00%
Uterus Stromasarkom	0.00%
Brennertumor	0.00%
Mammakarzinom medullär	0.00%
Mammakarzinom tubulär	0.00%
Mammakarzinom phylloid	0.00%
Gastrointestinaler Stromatumor (GIST)	0.00%
Nierenzellkarzinom papillär	0.00%
Nierezellkarzinom chromophob	0.00%
Prostatakarzinom kleinzellig	0.00%
Seminom	0.00%
embryonales Karzinom (Hoden)	0.00%
Schilddrüsenadenom	0.00%
Schilddrüsenkarzinom papillär	0.00%
Schilddrüsenkarzinom follikulär	0.00%
Schilddrüsenkarzinom anaplastisch	0.00%
Nebennieren-Adenom	0.00%
Phäochromozytom	0.00%
Hodgkin-Lymphom	0.00%
Non Hodgkin-Lymphom	0.00%
Thymom	0.00%
Riesenzell-Sehnenscheiden Tumor	0.00%
Granularzelltumor	0.00%
Leiomyom	0.00%
Leiomyosarkom	0.00%
Liposarkom	0.00%
Angiosarkom	0.00%
Osteosarkom	0.00%
Chondrosarkom	0.00%
Schilddrüsenkarzinom medullär	3.03%
Dottersacktumor	5.71%
Analkanal Plattenepithelkarzinom	7.69%
Pankreas Neuroendokriner Tumor	8.82%
Parotis Warthin Tumor	8.89%
Karzinom	8.89%
Harnblasenkarzinom kleinzellig	11.11%
Bronchiakarzinom großzellig	13.04%

12. Danksagungen

Besonderes zu Dank verpflichtet bin ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Guido Sauter, der mir die Möglichkeit gab, diese Arbeit in seinem Institut anzugehen. Darüber hinaus stand er mir stets mit seinem umfangreichen Fachwissen und seiner immensen Erfahrung zur Seite und brachte mir die effiziente Arbeitsweise und Struktur seines Instituts nahe, welche ich sehr zu schätzen gelernt habe. So hatte ich stets einen Ansprechpartner für verschiedenste Belange, egal ob es um eine engere Zusammenarbeit ging oder einen kurzen Informationsaustausch, sodass ich allen Mitarbeitern des Instituts danken möchte. Sie haben diese Arbeit erst möglich gemacht, wobei ich im speziellen PD Dr. Ronald Simon danken möchte, den ich stets als treibende Kraft der Forschung des Instituts kennenlernen durfte.

Mein besonderer Dank gebührt hierbei Dr. Christoph Fraune sowie Dr. Sebastian Dwertmann Rico für die enge und unkomplizierte Zusammenarbeit an verschiedenen Publikationen und ihre Hilfsbereitschaft. Bei Frau Melanie Witt möchte ich mich für ihr organisatorisches Engagement für dieses Forschungsprojekt bedanken, ihrer Funktion als Betreuerin kam sie nicht nur vollumfänglich, sondern auch stets mit bester Laune und Enthusiasmus nach.

Abschließend möchte ich mich bei allen Doktoranden bedanken, die zur selben Zeit im Doktorandenbüro ihren Forschungsarbeiten nachgegangen sind und mit denen auch die zähste Fleißarbeit wie im Flug vergangen ist. Die vielen Stunden, die man Seite an Seite gearbeitet hat, haben einen zusammenwachsen lassen und ich bedanke mich auch für die vielen heiteren Momente, die man geteilt hat – ich wünsche allen viel Erfolg für ihren weiteren Weg innerhalb der Medizin und weiß, der Kontakt wird mit einigen auch weit über die Zeit am Instituts bestehen bleiben.

13. Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

14. 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: