

Aus dem Institut für Pathologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Sven Perner

**Charakterisierung neuroendokriner Neoplasien unter
Berücksichtigung des embryologischen Derivates sowie
dem Vergleich von Primärtumor und Metastasen**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von
Nadine Zimmermann
aus Hamburg

Lübeck
Juli 2020

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christoph Thorns

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Johannes Klein

Tag der mündlichen Prüfung: 22.09.2021

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 22.09.2021

Promotionskommission der Sektion Medizin

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Definition neuroendokriner Neoplasien	1
1.2 Klassifikation gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien	3
1.3 Organspezifische Merkmale der GEP-NEN	4
1.4 Histologische und immunhistochemische Merkmale gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien.....	6
1.5 miRNA Merkmale gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien.....	9
1.5.1 allgemeine Übersicht miRNA.....	9
1.5.2 miRNA in GEP-NEN	9
1.6 Fragestellung.....	10
2. Material und Methoden	11
2.1 Patientenproben	11
2.2 Morphologische und immunhistochemische Aufarbeitung	12
2.3 RNA-Isolierung aus Formalin fixiertem und in Paraffin gebettetem Gewebe	14
2.4 reverse Transkription von miRNA zu cDNA.....	16
2.5 real time Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR)	17
2.6 Statistische Auswertung.....	18
3. Ergebnisse.....	20
3.1 Patientencharakteristika	20
3.2 Morphologische und immunhistochemische Untersuchungen.....	22
3.2.1 Wachstumsmuster.....	23
3.2.2 MIB und PHH3.....	24
3.2.3 CDX2.....	25
3.2.4 SSTR2A.....	27
3.2.5 Östrogenrezeptor	27
3.2.6 Progesteronrezeptor	27
3.3 miRNA Analyse	29
3.3.1 Klinische Daten und histopathologische Charakteristika	29
3.3.2 Analyse der miRNA-Profile in Bezug auf die Lokalisation des Primärtumors	30
3.3.3 Korrelation der miRNA-Expression in PT mit Metastasen	32
3.3.4 Korrelation der miRNA-Expression mit der Proliferationsrate	35
3.3.5 Vergleich der signifikanten miRNA-Expressionsprofile hinsichtlich der Metastasierung mit der Korrelation der Proliferationsrate	36
3.3.6 Analyse der miRNA-Profile von GEP-NEN-Metastasen im Hinblick auf die Lokalisation des Primärtumors	37
3.3.7 Vergleich der miRNA-Profile von Primärtumoren mit ihren Metastasen	37

4. Diskussion.....	39
5. Zusammenfassung	50
6. Literaturverzeichnis	51
6. Anhänge.....	64
6.1 Tabellenverzeichnis	64
6.2 Abbildungsverzeichnis.....	65
7.3 Tabellen	67
7.3.1 Tabellen Einleitung.....	67
7.3.2 Tabellen Material und Methoden.....	68
7.3.3 Tabellen Ergebnisse.....	87
8. Danksagung.....	98
9. Lebenslauf	99

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AK – Antikörper

ANOVA – analysis of variance

Aqua dest. – Aqua destillata

cDNA – complementary desoxyribonucleic acid

CgA – Chromogranin A

Ct – cycle threshold

CUP – Cancer of unknown primarius

ECL – enterochromaffin-like cell

ED – Erstdiagnose

ER – Östrogenrezeptor

FDR – False Discovery Rate

FFPE – formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebeprobe

g – mittlere Erdbeschleunigung

GEP-NEN – gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien

GEP-NET – gastroenteropankreatische neuroendokrine Tumore

GI-NET – gastrointestinale neuroendokrine Tumore

gNET – gastrale neuroendokrine Tumore

HE – Hämatoxylin-Eosin

HMGA – high-mobility group A

HPF – high power field

m – männlich

MANEC – gemischtes adeno-neuroendokrines Karzinom

max. - maximal

MEEC – mixed exocrine-endocrine carcinoma

MEN – multiple endokrine Neoplasie

MIB – Molecular Immunology Borstel

Min. – Minuten

miRNA – micro ribonucleic acid

MM – Master Mix

mm – Millimeter

mRNA – messenger ribonucleic acid

NEC – neuroendokrines Karzinom

NEN – neuroendokrine Neoplasie

NET – neuroendokriner Tumor

ng - Nanogramm

npW – negativ prädiktiver Wert

NSE – Neuronen spezifische Enolase

PDEC – poorly differentiated endocrine carcinoma

PET/CT – Positronen-Emissions-Tomografie/Computertomografie

PHH3 – Phospho-Histon H3

pNET – pankreatische neuroendokrine Tumore
ppW – positiv prädiktiver Wert
PR – Progesteronrezeptor
PT – Primärtumor
rmp – rounds per minute
RNA – ribonucleic acid
RT-PCR – real time polymerase chain reaction
Sek. – Sekunden
SSTR – Somatostatinrezeptor
SYN – Synaptophysin
TLL – Tumour-like lesions
TMA – Tissue Micro Array
UICC – Union of International Cancer Control
VIP – vasoaktives intestinales Peptid
w – weiblich
WDET – well-differentiated endocrine tumour
WDEC – well-differentiated endocrine carcinoma
ZES – Zollinger-Ellison Syndrom
 μ l – Mikroliter
 μ m – Mikrometer
°C – Grad Celsius

1. Einleitung

1.1 *Definition neuroendokriner Neoplasien*

Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien (GEP-NEN) entwickeln sich aus Zellen des disseminierten neuroendokrinen Systems des Gastrointestinaltraktes und des Pankreas [1] [2]. Neuroendokrine Neoplasien (NEN), oder auch, laut WHO 2010 synonym zu verwenden, neuroendokrine Tumore (NET) [3] gehören zu den seltenen Erkrankungen und machen etwa 1% aller bösartigen Erkrankungen aus [4], wobei die Inzidenz in den vergangenen Jahrzehnten in den USA von 1,09/100.000 Einwohnern im Jahr 1973 auf 5,25/100.000 Einwohnern im Jahr 2004 stark angestiegen ist. In der Zeit ist ein jährlicher Anstieg der Neuerkrankungen von 6% zu verzeichnen [4]. Die GEP-NEN machen etwa 50-70% aller NEN aus und ca. 2% aller Tumoren des Gastrointestinaltraktes [5] [6] [7]. Sie sind bei Männern und Frauen ungefähr gleich verteilt und haben laut einer prospektiven Studie aus Österreich eine Inzidenz von 2,36/100.000 Einwohner im Jahr bei Frauen und 2,51/100.000 Einwohner im Jahr bei Männern. Das mittlere diagnostische Alter liegt bei 60 Jahren [8]. Die 5-Jahres-Überlebensrate ist stark abhängig von der Lage des Primärtumors, dem Tumorstadium und dem Patientenalter. Sie bewegt sich zwischen 37,5% bei pankreatischen NEN (pNEN) und 88,3% bei rektalen NEN [5] [9] [10].

Die GEP-NEN können anhand ihres embryologischen Derivates in drei Gruppen eingeteilt werden [1]. Zum Vorderdarm gehören NEN des Pankreas, Magens und des proximalen Duodenums. Der Mitteldarm schließt NEN des distalen Duodenums, Jejunums, Ileums, Colon ascendens und proximalen Colon transversum mit ein. Somit werden dem Hinterdarm NEN des distalen Colon transversum, Colon descendens, Colon sigmoideum und des Rektums zugeschrieben [11]. GEP-NEN die dem gleichen embryologischen Derivat entspringen, werden ähnliche Tumorverhaltensweisen zugeschrieben [1].

Etwa 30% der NEN sind funktionell aktiv und produzieren und speichern Neuropeptide und Hormone [6]. Dies kann zu charakteristischen Hormonsyndromen führen, aufgrund dessen die funktionell aktiven Tumore häufig früher erkannt werden können als funktionell inaktive NEN. Dem Vorderdarm werden neben den funktionell inaktiven GEP-NEN diverse funktionell aktive GEP-NEN zugeordnet. Diese sind zum Beispiel das Insulinom, Gastrinom, Glucagonom und das vasoaktive intestinale Peptidom (VIPom). Insulinome entstehen aus den Langerhans-Inselzellen des Pankreas und sorgen für eine erhöhte Insulinproduktion [12]. Gastrinome, auch Zollinger-Ellison-Syndrom genannt, regen mit der Bildung des Hormons Gastrin die Salzsäureproduktion im Magen an. Lokalisiert sind sie primär im Pankreas (75%), seltener im oberen Anteil des Duodenums (20%) [13]. Das Glucagonom entsteht ebenfalls aus den Langerhans-Inselzellen des Pankreas. Sie produzieren Glucagon und fördert somit die vermehrte Freisetzung von Glucose [14]. Das VIPom entsteht ebenso

aus den Langerhans-Inselzellen des Pankreas. Das vasoaktive intestinale Peptid wird ausgeschüttet und sorgt für eine vermehrte Sekretion der Darmschleimhaut und führt somit zu massiven Diarrhöen, Elektrolytentgleisungen und sorgt bei Glucagon-ähnlicher Wirkung für eine diabetische Stoffwechsellage [15]. Das funktionelle Karzinoid, mit dem charakteristischen Karzinoid-Syndrom, wird dem Mitteldarm zugeschrieben [16]. Im Hinterdarm befinden sich am ehesten nicht funktionelle NEN [17]. Nicht funktionelle GEP-NEN fallen häufig erst spät, durch Schmerzen bei Organinfiltration, obstruktives Wachstum oder durch funktionell aktive Metastasen, zum Beispiel in der Leber, auf [18] [19] [20] [21]. Das Karzinoidsyndrom ist auch für funktionell aktive Metastasen ein Beispiel. Es entsteht durch vermehrte Serotoninausschüttung mit der typischen Trias aus Flush, Diarrhö und kardialen Symptomen [22] [23]. Häufig sind GEP-NEN jedoch auch Zufallsbefunde die bei der histologischen Untersuchung nach Appendektomie [7] oder in Form von Metastasen durch Routineuntersuchungen bei der Sonographie der Leber entdeckt werden [24]. Die häufigste Lokalisation der GEP-NEN ist im Bereich des Dünndarms zu finden, darauf folgen Rektum und Appendix [5] [Tabelle 1].

Tabelle 1: Lokalisation der GEP-NEN (modifiziert nach Modlin et al [5])

Ursprung des Primärtumors	Prozentualer Anteil an GEP-NEN (%)
Vorderdarm	11,19
Magen	5,67
Duodenum	3,63
Pankreas	0,80
Andere (Ösophagus, Leber, Gallenblase etc.)	1,09
Mitteldarm	59,19
Dünndarm	33,75
Appendix	16,95
Colon ascendens + transversum + linke Flexur	8,49
Hinterdarm	23,82
Colon descendens + sigmoideum	4,83
Rektum	18,99
Gastrointestinaltrakt nicht näher spezifiziert	5,8

Bei Diagnosestellung haben bereits 40-50% der NEN Metastasen gebildet. Diese sind am häufigsten in der Leber und in den regionären Lymphknoten lokalisiert [25] [26].

Eine seltene, aber dennoch wichtige Gruppe der NEN sind die Karzinome mit unbekanntem Ursprung (cancer of unknown primarius (CUP)) [27]. Bei 3-5% aller bösartigen Erkrankungen ist

der Primärtumor unbekannt [28] [29]. Die NEN machen etwa 5% aller CUP aus [30] und etwa 0,6-2% aller NEN sind CUP [31]. In diesen Fällen gilt es anhand der Morphologie, Immunhistochemie, molekularen Analysen und weiterer apparativer Diagnostik, wie Positronen-Emissions-Tomografie/Computertomografie (PET/CT) und Somatostatin-Rezeptor-Szintigrafie, die Lokalisation des Primärtumors ausfindig zu machen [32] [33] [34] [35] [36].

Eine Resektion des Primärtumors als auch der Metastasen ist anzustreben, um sowohl die Lebensqualität, grade bei hormonell aktiven NEN, zu verbessern, als auch die Überlebenszeit zu verlängern [20] [37] [38] [39].

1.2 Klassifikation gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien

Im Bereich der GEP-NEN hat es in den vergangenen Jahrzehnten viele Änderungen in der Nomenklatur gegeben. Zu einem besseren Überblick über die WHO-Klassifikationen von 1980 bis zur aktuellen Version 2010 soll „Tabelle 2: Übersicht WHO-Klassifikation GEP-NEN 1980, 2000 und 2010“ verhelfen [40]. Im Jahr 2017 ist eine neue WHO-Klassifikation (8. Auflage) erschienen. In dieser Doktorarbeit wurden die Daten anhand der Klassifikation aus 2010 ausgewertet.

Tabelle 2: Übersicht WHO-Klassifikation GEP-NEN 1980, 2000 und 2010 [40] (modifiziert nach Schott et al [17])

WHO 1980	WHO 2000	WHO 2010
I. Karzinoid	1. gut differenzierter endokriner Tumor (WDET) 2. gut differenziertes endokrines Karzinom (WDEC) 3. schlecht differenziertes endokrines Karzinom / kleinzelliges Karzinom (PDEC)	1. NET G1 (Karzinoid) 2. NET G2 3. NEC (großzelliger oder kleinzelliger Typ)
II. Mukokarzinoid III. gemischtförmiges Karzinoid-Adenokarzinom	4. gemischtes endokrines-exokrines Karzinom (MEEC)	4. gemischtes adeno-neuroendokrines Karzinom (MANEC)
IV. Pseudotumor Läsionen	5. tumorähnliche Läsionen (TLL)	5. hyperplastische und präneoplastische Läsionen

In der aktuellen WHO Klassifikation der GEP-NEN, werden diese nach ihrer histologischen Differenzierung und ihrem Proliferationsgrad, anhand des Ki67/MIB-1-Index im Schnittpräparat ermittelt, wie folgt eingeteilt. Hoch differenzierte NEN werden als neuroendokrine Tumore (NET) mit dem Proliferationsindex G1 ($\leq 2\%$) oder G2 (3-20%) bezeichnet. Sie haben noch große Ähnlichkeit zu den im Gastrointestinaltrakt vorkommenden endokrinen Zellen und zeigen milde bis

moderate Zellkernatypien. Alle schlecht differenzierten NEN werden als neuroendokrine Karzinome (NEC) mit dem Proliferationsindex G3 (>20%) zusammengefasst. Sie weisen deutliche Zellkernatypien und multifokale Nekrosen auf [3] [6] [17] [Tabelle 3].

Tabelle 3: Proliferationsgrad/-index und WHO-Klassifikation der GEP-NEN (modifiziert nach Rindi et al [3])

Proliferationsgrad	Mitosenanzahl pro 10 high power fields (HPF)	Ki67/MIB-1-Index	WHO-Klassifikation 2010
G1	<2	≤ 2	NET (Karzinoid)
G2	2-20	3-20	NET
G3	>20	>20	NEC

Eine weitere Gruppe bilden die gemischten adeno-neuroendokrinen Karzinome (MANEC), welche ein breites Spektrum von bidirektionalen Differenzierungsmöglichkeiten aufweisen. Als hyperplastische und präneoplastische Läsionen werden Vorläuferläsionen von GEP-NEN bei Patienten mit multipler endokriner Neoplasie Typ 1 (MEN 1) bezeichnet [17].

GEP-NEN werden nach dem TNM-System beurteilt. Seit 2009 ist die TNM-Stadieneinteilung der Union for International Cancer Control (UICC) für GEP-NEN gültig [40] [41] [Tabelle 4].

Tabelle 4: UICC-Stadieneinteilung der NEN für Magen, Duodenum, Pankreas und Appendix

UICC-Stadieneinteilung	Tumorausbreitung	Lymphknotenbefall	Metastasen
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2, T3	N0	M0
Stadium III	T4	N0	M0
	jedes T	N1	M0
Stadium IV	jedes T	jedes N	M1

1.3 Organspezifische Merkmale der GEP-NEN

Ösophagus

NEN des Ösophagus sind mit 0,06% aller GEP-NEN sehr selten [5] [42] und am ehesten im unteren Drittel des Ösophagus zu finden. Häufig sind es NEC oder MANEC entweder mit einer Adenokarzinom- oder einer Plattenepithelkarzinom-Komponente. NEN mit G1 Differenzierung sind noch seltener als NEN mit G2 Differenzierung [40].

Magen

Magen-NEN (gNEN) kommen mit 6% aller GEP-NEN etwas häufiger vor. Die meisten gNEN sind gut differenzierte, nicht funktionelle Tumore der enterochromaffin-ähnlichen Zellen (ECL), welche häufig mit einer Hypergastrinämie assoziiert sind [43]. Sie werden in drei Typen eingeteilt. Typ I ist mit 74% aller gNEN am häufigsten vertreten und assoziiert mit der autoimmun chronisch atrophischen Gastritis. Typ II nimmt mit 6% den kleinsten Anteil aller gNEN ein und ist assoziiert mit MEN1 und dem Zollinger-Ellison Syndrom (ZES). Typ III beansprucht 13% aller gNEN für sich und tritt sporadisch auf. Lokalisiert sind diese ECL-NEN in der Regel an der Korpus-Fundus-Grenze oder an der Korpus-Antrum-Grenze. NEN aus enterochromaffinen Zellen, Gastrin-Zellen oder Ghrelin-Zellen machen weniger als 1% aller gNEN aus. NEC und MANEC machen 6-16% aller gNEN aus und treten in jedem Bereich des Magens auf [40] [44].

Duodenum

Etwa 3,8% aller GEP-NEN befinden sich im Bereich des Duodenums [5]. Der Großteil der duodenalen NEN ist in der Pars superior und Pars descendens des Duodenums zu finden, seltener kommen sie in der Pars inferior und Pars ascendens vor [45]. NEN der Papilla Vateri machen circa 20% der duodenalen NEN aus und 70% der duodenalen NEN finden sich im papillären-peripapillären Bereich [46]. Duodenale NEN sind selten funktionell aktiv und fallen daher häufig nur zufällig und spät auf. NEN der Papilla Vateri hingegen fallen eher durch Stauungsikterus oder Blutungen auf [40].

Pankreas

Pankreatische NEN (pNEN) machen 1-2% aller pankreatischen Neoplasien aus und 0,8% aller GEP-NEN [5]. 30-40% der pNEN sind funktionell inaktiv [47] [48]. pNEN können im gesamten Organ auftreten, wobei die nicht funktionellen pNEN eher im Pankreaskopf lokalisiert sind, VIPome hingegen eher im Pankreasschwanz [48] [49]. pNEC sind sehr selten und eher im Pankreaskopf zu finden [40] [50] [51].

Dünndarm

35,5% aller GEP-NEN befinden sich im Jejunum und Ileum, wobei 70-89% im Ileum lokalisiert sind. Häufig sind die im distalen Ileum zu finden in der Nähe der Ileozökalklappe [5]. Sie entspringen hauptsächlich aus den enterochromaffinen Zellen und in 5-7,7% tritt ein Karzinoid-Syndrom auf. In der Regel existieren zu diesem Zeitpunkt bereits Lymphknoten- und Lebermetastasen [52] [53]. In 25-30% der Fälle treten NEN des Jejunums und des Ileums mehrfach, also multilokulär, auf [40] [53] [54].

Appendix

17,8% der GEP-NEN sind NEN der Appendix [5] und 50-77% aller Neoplasien der Appendix sind NEN [55] [56]. Häufig sind sie asymptomatisch und Zufallsbefunde nach Appendektomie. In der Regel sind sie im distalen Ende der Appendix lokalisiert [57]. Ein Karzinoid-Syndrom ist extrem selten und meist mit ausgedehnter Metastasierung von Leber und Retroperitoneum verbunden [40]. Das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose ist deutlich unterhalb des Durchschnittsalters des gesamten GEP-NEN [5] [58].

Colon und Rektum

7,6%-8% aller GEP-NEN sind im Colon lokalisiert und 20-27% im Rektum [5] [59]. Colon-NEN machen 0,4% der colorektalen Neoplasien aus [60] NEC sind selten, kommen im Dickdarm jedoch häufiger vor als in anderen Bereichen der Magendarmtraktes. Sie machen circa 0,6% aller Karzinome des Dickdarms aus [61]. Weniger als 5% der Patienten mit Colon-NEN weisen ein Karzinoid-Syndrom auf und fallen daher häufig erst durch abdominelle Schmerzen und Gewichtsverlust auf. In einigen Fällen besteht bereits eine Lebermetastasierung [62] [63]. Etwa die Hälfte der Rektum-NEN sind asymptomatisch und fallen bei Routineuntersuchungen des Rektums auf [64]. Die andere Hälfte wird durch rektale Blutungen, Schmerzen und Obstipation auffällig. Rektum-NEN sind so gut wie nie mit dem Karzinoid-Syndrom assoziiert [40] [65] [66].

1.4 Histologische und immunhistochemische Merkmale gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien

Neuroendokrine Neoplasien erscheinen aufgrund ihrer hohen Vaskularisation makroskopisch häufig rötlich-braun [24]. Formalin-fixiert stellen sie sich dann in der Regel gelb bis weiß dar [7].

Mikroskopisch zeigen sich die neuroendokrinen Zellen mit uniformen Nuklei und reichlich Granula im schwach gefärbten Zytoplasma, was auch als „Pfeffer und Salz - Optik“ beschrieben wird [7] [67]. In membrangebundenen Sekretgranula im Zytoplasma werden die produzierten Amine und Peptide gespeichert. Als neuronale Zellkomponente können sich auch kleine, klare Vesikel in den Zellen befinden. Diese sind ähnlich den synaptischen Vesikeln der Neurone [68].

Die drei wesentlichen immunhistochemischen Marker sind Synaptophysin (SYN), Chromogranin A (CgA) und die Neuronen spezifische Enolase (NSE). Synaptophysin ist ein Glykoprotein welches in den Synapsen-ähnlichen Vesikeln des Zytoplasmas gespeichert wird. Es ist unabhängig von der Hormonproduktion und wird demnach sowohl in funktionell aktiven als auch in inaktiven neuroendokrinen Neoplasien produziert, weshalb SYN als wesentlicher diagnostischer Marker bei NEN gilt [69] [70]. CgA, ein azidisches Protein, ist in der Matrix der Sekretgranula vieler NEN zu finden. Es ist jedoch abhängig von der Anzahl der produzierten Granula und dem Hormongehalt und somit häufig in gut differenzierten NEN (G1) zu finden [24] [70] [71]. NSE ist ein glykolytisches

Enzym, welches im Zytosol neuroendokriner Zellen, jedoch auch in diversen weiteren Zellen, nachgewiesen werden kann. Aus diesem Grund ist die NSE zwar hoch sensitiv, aber nicht spezifisch für NEN und ist als alleiniger Marker ungeeignet [19] [70] [72]. In der Diagnostik der GEP-NEN wird neben der Morphologie für die Basisdiagnostik die kombinierte Anwendung der neurosekretorischen Markerproteine CgA und Synaptophysin empfohlen [40]. Bei funktionell aktiven NEN können außerdem die entsprechenden Hormone oder Prähormone nachgewiesen werden.

Die GEP-NEN können in unterschiedliche Wachstumsmuster eingeteilt werden. Unterschieden werden nestartiges, drüsiges, rosettenartiges, bandartiges, girlandenförmiges und trabekuläres Wachstum [7]. Soga hat die NEN in 5 Wachstumsmuster eingeteilt [Tabelle 5]. Die Häufigkeitsverteilung der Wachstumsmuster variiert ja nach Ursprungsorgan. Vorderdarmderivate verzeichnen am ehesten ein trabekuläres Wachstum, Mitteldarmderivate ein lobulär-solides und Hinterdarmderivate ein gemischt histologisches [73].

Tabelle 5: Wachstumsmuster und Verteilungsmuster der GEP-NEN nach Soga [73]

Wachstumsmuster	Beschreibung	Verteilung
A	Nest-/Inselwachstum, lobulär-solides Wachstum	Mitteldarm (Ileum, Appendix)
B	Trabekuläres Wachstum	Vorderdarm
C	Drüsiges Wachstum, tubulär bis pseudoglandulär	Magen
D	Diffuses Wachstumsmuster, niedrig differenziert, trabekulär, medullär, faszikulär	Magen, Papilla Vateri, Kolon
E	Gemischte histologische Muster	Hinterdarm (Rektum)

Phospho-Histon H3 (PHH3) ist ein Mitosemarker, dessen Mitoseindex anhand des anti-PHH3 Antikörpers immunhistochemisch bestimmt werden kann und als prognostischer Wert vor allem bei Brustkrebs, Melanomen und Meningeomen verwendet wird [74] [75] [76]. Ki67 ist ein Protein, welches sich in der Interphase im Zellkern befindet. Kommt es zu einer Mitose, lagert sich das Protein an die Chromosomen an und kann über einen Antikörper immunhistochemisch nachgewiesen. Häufig wird hierfür der MIB-1 (Molecular Immunology Borstel) verwendet. Der Anteil sich teilender Zellen im Gewebe wird über den Ki67/MIB-1-Index wiedergegeben. Bei der immunhistochemischen Darstellung mit Ki67 werden jedoch auch die Apoptosen markiert. Bei der Darstellung der Zellteilungsrate mit PHH3 werden keine Apoptosen markiert. Die Nutzung des PHH3 Mitoseindexes für das Grading neuroendokriner Neoplasien und ob er vergleichbar ist mit dem Ki67/MIB-1-Index und der Auszählung der Mitosen anhand eines Hämatoxylin-Eosin (HE)-

gefärbten Schnittes (Mitosen/10 high power fields (HPF)), wird in der Literatur noch diskutiert [77] [78] [79].

NEN exprimieren häufig G-Protein gekoppelte Somatostatinrezeptoren (SSTR), von denen insgesamt 5 Subtypen existieren [80]. Über die SSTR kann die endokrine Sekretion der Zellen inhibiert werden [81]. Am häufigsten werden die SSTR 2A und 5 von den GEP-NEN exprimiert [82] [83]. Zur klinisch orientierten Diagnostik wird daher die Analyse des SSTR 2A, als Grundlage für nuklearmedizinische Bildgebung und Therapie mit Somatostatinanaloga, empfohlen [84] [85] [86] [87].

Der monoklonale Antikörper (AK) CDX2 ist ein spezifischer Marker für Adenokarzinome des Gastrointestinaltraktes. Er ist aber auch in Adenokarzinomen anderer Organe, wie der Lunge oder des Urogenitaltraktes, positiv [88] [89] [90]. CDX2 ist außerdem ein spezifischer Marker für NEN des Gastrointestinaltraktes, im speziellen für Dünndarm-NEN und Appendix-NEN [91] [92]. Bei Metastasen und einem unbekannten Primarius (CUP) kann der CDX2-Antikörper ein wegweisender Marker sein [93] [94], er hat in GEP-NEN Metastasen eine hohe Spezifität, jedoch eine geringere Sensitivität als in den GEP-NEN Primärtumoren [95].

Die immunhistochemische Bestimmung des Östrogenrezeptorstatus durch Östrogenrezeptor-Antikörper (ER-AK) ist vor allem in der Brustkrebsdiagnostik untersucht und etabliert [96] [97] [98] [99]. Die Daten bezüglich der ER-Expression in GEP-NEN sind uneinheitlich und unterscheiden sich in Bezug auf ER α - und ER β -Expression. Bei der ER α Expression gehen die Ergebnisse sowohl bei pankreatischen NEN (pNEN) mit 0%-12,5% ER α -positiven Ergebnissen weit auseinander, als auch bei Insulinomen mit 0%-40% ER α -positiven Ergebnissen [95] [100] [101] [102]. Bei der ER β -Expression wurde sogar eine starke ER β -Expression bei 30% und eine schwache bei 66% der pNEN festgestellt [103].

Die Progesteronrezeptor (PR)- Expression ist ähnlich wie die ER-Expression am besten untersucht bei Brustkrebs als auch bei Tumoren des Uterus und der Ovarien [96] [97] [104] [105]. Sie wurde jedoch ebenfalls in diversen weiteren Organen beobachtet, wie zum Beispiel in Karzinomen der Prostata, der Harnblase und der Gallenblase [106] [107] [108]. In Bezug auf die GEP-NEN wurde eine PR-Expression in pNEN beschrieben [95] [100]. Des Weiteren ist die Bestimmung der PR-Expression Teil eines immunhistochemischen Algorithmus für CUP-NEN [35].

1.5 miRNA Merkmale gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien

1.5.1 allgemeine Übersicht miRNA

Die microRibonukleinsäuren (miRNA) sind nicht kodierende Ribonukleinsäuren (RNA), die in der Regel mit 21-25 Nukleotiden sehr kurz sind. Sie spielen bei der Genregulation eine wichtige Rolle in der Posttranskriptionsebene [109] [110] [111]. Die miRNA haftet sich spezifisch an die 3'-untranslatierte Region der messengerRNA (mRNA) an und erschwert, verhindert oder aber erleichtert dadurch deren Translation am Ribosom oder führt zur Degradation der mRNA [112] [113]. Beim Menschen sind derzeit 1881 miRNA-Sequenzen bekannt [114]. Eine miRNA hat in der Regel eine Vielzahl von Ziel-mRNAs und jede mRNA kann von mehreren unterschiedlichen miRNAs moduliert werden.

Die miRNA spielt eine große Rolle in grundlegenden Zellprozessen, wie zum Beispiel der Zellteilung und dem Zelltod. Viele miRNAs nehmen Funktionen als sogenannten „Oncomirs“ oder „Tumorsuppressor-Mirs“ wahr [115]. Eine fehlerhafte Bildung dieser miRNAs kann somit Einfluss auf die Tumorsuppression haben und zu einem Tumorwachstum führen [116]. In den meisten Tumoren wurde, verglichen mit gesundem Gewebe, ein niedrigerer miRNA-Expressionslevel festgestellt, was zu der Hypothese führte, dass die miRNA-Expression mit dem Differenzierungsgrad des Gewebes korreliert [117] [118] [119]. Des Weiteren konnten anhand von Studien, durch die tumorspezifischen miRNA-Expressionsmuster, Rückschlüsse auf seinen organischen Ursprung gezogen werden. Die miRNA-Expressionsmuster haben somit ein hohes Potential wichtige diagnostische Faktoren zu werden, wenn es darum geht bei einem unbekannten Primarius anhand einer Metastase Rückschlüsse auf das Ursprungsgewebe des Primärtumors zu ziehen [117] [119] [120] [121].

1.5.2 miRNA in GEP-NEN

Über die miRNA-Expression in GEP-NEN und deren Auswirkung ist zurzeit noch wenig bekannt. Einige, häufig noch recht kleine Studien, haben sich bereits mit dieser Thematik beschäftigt.

In NEN des Magens Typ I, welche mit einer Hypergastrinämie assoziiert sind, konnte eine erhöhte Expression der miRNA-222 nachgewiesen werden. Die Expression der miRNA-222 wird durch Gastrin induziert. Die miRNA-222 sorgt für eine Migration von AGS_{GR}-Zellen, welche für ein Tumorwachstum verantwortlich sind. Somit können nicht nur gNEN entstehen, sondern auch Adenokarzinome des Magens [122].

In pNEN sind der Zeit 28 unterschiedliche miRNAs bekannt, die die pNEN von gesundem pankreatischen Gewebe unterscheiden. Von diesen sind 18 hochreguliert und 10 runterreguliert. Tabelle 27: miRNA-Expression in pNEN im Anhang zeigt eine Übersicht. Es konnten 859 unterschiedliche mRNAs identifiziert werden, die durch die entdeckten miRNAs beeinflusst werden und 253 mögliche miRNA Zielgene [123]. Eine verminderte Expression der let-7 miRNA wird mit dem Auftreten von pNEN in Verbindung gebracht, da diese mit einer erhöhten Expression der high-mobility group A (HMGA) korreliert [124]. Die HMGA ist in vielen Prozessen des Körpers involviert und wird bei Überexpression mit diversen malignen Erkrankungen assoziiert [125].

Auch in NEN des Dünndarms wurden Unterschiede in der miRNA-Expression zwischen Primärtumor und Metastasen entdeckt, sowie zwischen Tumorzellen und gesunden enterochromaffinen Zellen des Dünndarms.

Bei NEN des Rektums konnte in einer Studie von Mitsuhashi K. et al. eine hohe Expression der miR-885-5p mit einer Invasion der Lymphgefäße assoziiert werden [126].

1.6 Fragestellung

GEP-NEN gehören zu den selteneren Tumoren, sind in ihrer Inzidenz jedoch steigend. In der Diagnostik kommt es, auch ihrer Seltenheit geschuldet, immer wieder zu Schwierigkeiten, vor allem bei der Lokalisation der Primärtumore bei CUP. Auf dem Gebiet der Immunhistochemie wurden bereits einige erfolgreiche diagnostische Pfade entwickelt, trotzdem ist es oft schwierig bis unmöglich den Primärtumor zu lokalisieren, um ihn zeitnah zu entfernen. Im Bereich der miRNA-Analyse besteht aktuell noch ein großer Forschungsbedarf zu dieser Thematik. In vorangegangenen Studien hat sich dieses Gebiet als durchaus vielversprechend erwiesen, um die Diagnostik der GEP-NEN zu verbessern.

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, ob es Unterschiede in den immunhistochemischen Merkmalen zwischen den verschiedenen Primärtumoren der GEP-NEN gibt, in wie weit sich Primärtumor und Metastasen in diesen Merkmalen unterscheiden und ob anhand der immunhistochemischen Merkmale der Metastasen, zum Beispiel bei CUP, Rückschlüsse auf den Primärtumor gezogen werden können, um gezielter in bestimmten Organen nach dem Primärtumor zu suchen.

Des Weiteren galt es herauszufinden, ob sich die verschiedenen Primärtumore in der Expression der miRNA unterscheiden, ob die Metastasen ein ähnliches Expressionsmuster aufweisen wie ihr Primärtumor und sich somit auch hier über die Metastasen Rückschlüsse auf den Primärtumor ziehen lassen.

Ebenso sollte analysiert werden, ob es einen Zusammenhang von Wachstumsmuster, immunhistochemischen Merkmalen und miRNA Expressionsmustern der Primärtumore mit dem embryologischen Derivat gibt.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenproben

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurden insgesamt 309 formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebeproben (FFPE) von 178 Patienten mit GEP-NEN, sowohl Primärtumore als auch Metastasen, herausgesucht und analysiert. Im System wurden unter dem Suchbegriff „neuroendokrin“ alle GEP-NEN-Fälle inklusive CUP bei V. a. einen Primärtumor im gastroenteropankreatischen Bereich herausgesucht und in einem Konsensusverfahren von zwei Pathologen unabhängig erneut befundet.

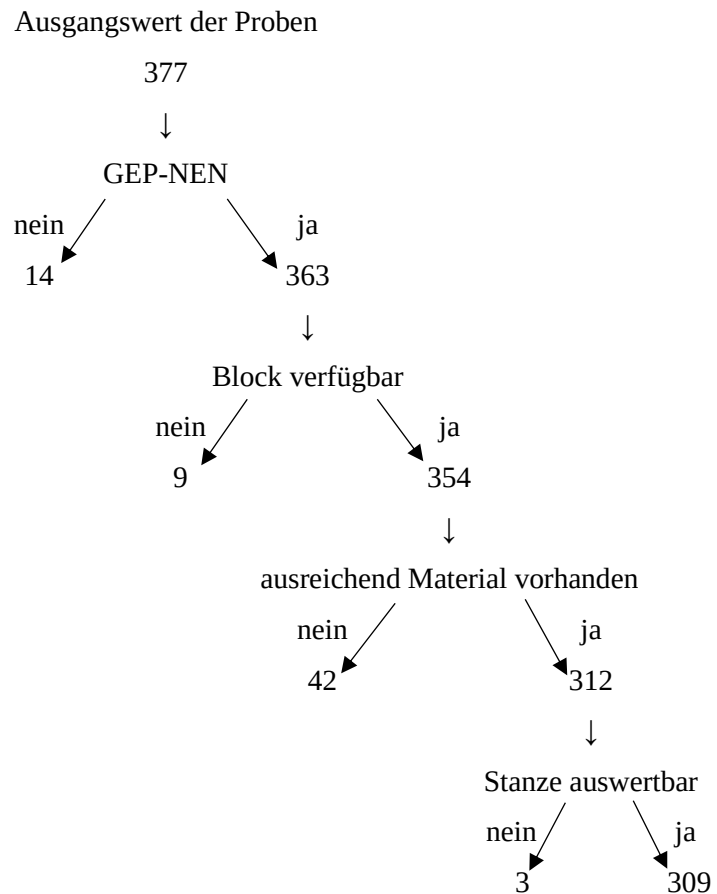


Abbildung 1: Diagramm Materialfindung für TMA-Stanzen

Für die miRNA-Analyse wurde aus insgesamt 121 FFPE von 79 Patienten mit GEP-NEN, sowohl Primärtumore als auch Metastasen, herausgesucht und analysiert. Die Proben wurden aus dem zuvor für die TMA-Herstellung gesichteten Materialien unter Berücksichtigung der Tumorgroße und Materialqualität herausgesucht.

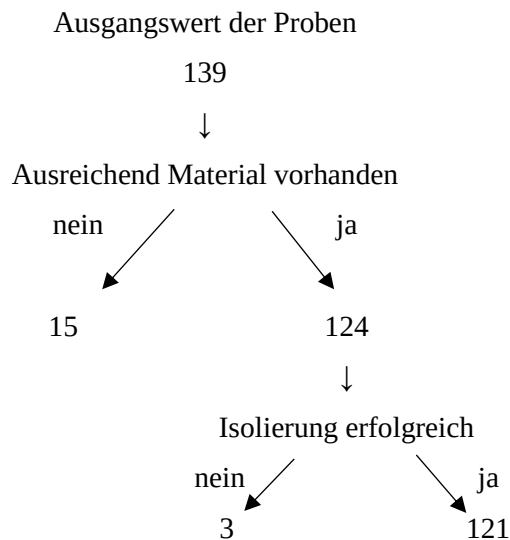


Abbildung 2: Diagramm Materialfindung für miRNA-Isolierung

Alle Gewebeproben kommen aus dem Archiv der Pathologie des UKSH, Campus Lübeck, aus den Jahren 1991-2014.

Die Ethikanzeige (13-093) wurde bei der Ethikkommission der Universität zu Lübeck eingereicht. Alle Proben wurden inklusive der dazugehörigen klinischen Daten für die Studie umgehend anonymisiert.

2.2 Morphologische und immunhistochemische Aufarbeitung

Die morphologische Aufarbeitung der Präparate erfolgte anhand Hämatoxylin-Eosin-, Chromogranin A- (CgA) und Synaptophysin (Syn)-gefärbten Paraffinschnitten. Das Färbeprotokoll bzw. die verwendeten Antikörper zeigen Tabelle 28 und Tabelle 29 im Anhang.

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurden manuell Tissue Micro Arrays (TMA) hergestellt. Anhand der Chromogranin A- und der Synaptophysin-gefärbten Paraffinschnitte wurde ein möglichst repräsentatives Areal des Tumorgewebes markiert, mit einer 2mm großen Stanze entnommen und in einen zuvor mit einer TMA-Schablone gegossenen Paraffinblock eingebracht. Mittels eines Rotationsmikrotoms wurden anschließend 2µm dicke Schnittpräparate angefertigt. [Tabelle 6]

Tabelle 6: Herstellung der TMAs

Arbeitsschritt	Vorgehen
Fertigung Paraffinblock	Flüssiges Paraffin wird in die 2mm-TMA-Schablone (Platz für 9x12 Stenzen) gegossen. Alle Luftblasen werden entfernt und eine Kassette aufgelegt. Nach 60 Minuten Aushärtung im Kühlschrank, wird die Schablone vorsichtig entfernt. Der Paraffinblock wird auf 37°C erwärmt. Die äußeren zwei Rahmenreihen werden mit der 2mm-Stanze mit Paraffin befüllt. Die dritte Zeile wird, mit Ausnahme der 6. und 7. Spalte ebenfalls mit Paraffin bestückt und an Position 6 und 7 werden Kontrollstanzen aus gesundem Gewebe eingebracht. Nun ist Platz für 5x7 Tumorstanzen.
Probenentnahme und Belegung des Paraffinblockes	Der angefertigte Paraffinblock wird wieder auf 37°C erwärmt. Mit der 2mm-Stanze werden Proben, aus dem zuvor auf einem Objektträger markierten Areal, der Tumore entnommen und in den TMA-Block eingesetzt. Die Positionen werden genau notiert, um später eine zuverlässige Auswertung gewährleisten zu können, ebenso wird der TMA-Block eindeutig beschriftet.
Weiterverarbeitung belegter TMA-Block	Den komplett bestückten TMA-Block für 2 Stunden auf 42°C erwärmen. Mittels zwei Objektträgern den erwärmten TMA-Block von allen vier Seiten und von oben pressen. TMA-Block unter gleichmäßigem Druck auf die gesamte Fläche erkalten lassen. Die Schnittfläche wird mit Backpapier geschützt, sodass keine Proben nach dem Pressen aus dem TMA-Block gezogen werden.
Erstellung der Schnitte	Überschüssiges Paraffin vom TMA-Block mit dem Skalpell sorgfältig entfernen. TMA-Block für 10 Minuten auf Kühlplatte bei -12°C, auf vier Lagen Zellstoff und mit der Schnittfläche nach unten kühlen. Dann wird der Block in das Rotationsmikrotom eingespannt und 2µm dicke Schnitte angefertigt. Diese werden auf einem Objektträger fixiert.

Es erfolgte an allen TMAs die Färbung mit Antikörpern für Östrogen- und Progesteronrezeptoren, CDX2, MIB1, SSTR2A und PHH3 [Tabelle 7]. Die Auswertung der TMAs erfolgte durch zwei Pathologen in einem Konsensusverfahren. Östrogen- und Progesteronrezeptoren sowie SSTR2A wurden anhand des immunreaktiven Scores (IRS) nach Remmele [127] eingeteilt. Ein IRS ≥ 2 wurde als positiv gewertet. CDX2 wurde als positiv oder negativ gewertet, MiB und PHH3 wurden in Prozent angegeben. Die Analyse des Wachstumsmusters wurde anhand der, bereits durch die Routinediagnostik vorliegenden, HE-gefärbten Schnittpräparate nach der Einteilung von Soga [73] vorgenommen.

Tabelle 7: Auflistung der Antikörper mit ihrem Hersteller, dem Klon, der Verdünnung und der Vorbehandlung. ¹Leica, Wetzlar, Deutschland; ²Zytomed, Berlin, Deutschland; ³Dako, Glostrup, Dänemark; ⁴Biocare Medical, Concord, USA.

Antikörper	Hersteller	Klon	Verdünnung	Vorbehandlung
ER	Leica ¹	6F11 [ER-6F11-L-2- CE]	1:80	Epitope Retrieval Solution 2 pH 9,0 30 Minuten
PR	Leica ¹	16 [PGR-312-L-CE]	1:200	Epitope Retrieval Solution 2 pH 9,0 30 Minuten
CDX2	Zytomed ²	EPR2764Y	1:50	Epitope Retrieval Solution 2 pH 9,0 30 Minuten
MiB1	Dako ³	MIB-1	1:100	Epitope Retrieval Solution 2 pH 9,0 30 Minuten
SSTR2A	Zytomed ²	Polyclonal [RBK046-05]	1:100	Epitope Retrieval Solution 2 pH 9,0 20 Minuten
PHH3	Biocare ⁴	Polyklonal	1:300	Epitope Retrieval Solution 1 pH 6,0 30 Minuten

Die Schnittpräparate und alle Färbungen wurden im Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck von Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Labors durchgeführt. Für die immunhistochemischen Analysen wurde das Chromogen Diaminobenzidin (DAB) verwendet und durch den TechMate™-Automaten von DAKO (Glostrup, Dänemark) wurden die notwendigen Inkubations- und Waschschrte ausgeführt. Die Färbungen wurden mit dem Manarini Bond Max durchgeführt. Für die Antigendemaskierung wurden Puffer, Epitope Retrieval Lösungen, verschiedener pH-Werte verwendet. Epitope Retrieval Lösung 1 ist ein Citrat-Puffer mit einem pH-Wert von 6,0, Epitope Retrieval Lösung 2 ist ein EDTA-Puffer mit einem pH-Wert von 9,0.

2.3 RNA-Isolierung aus Formalin fixiertem und in Paraffin gebettetem Gewebe

Anhand Chromogranin A- und Synaptophysin-gefärbten Paraffinschnitten wurde ein möglichst großes, repräsentatives und vitales Areal des Tumorgewebes markiert, aus dem Paraffinblock herausgeschnitten und in einen separaten Paraffinblock eingebettet. Die RNA-Isolierung erfolgte mit

dem „RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE“ (AM 1975) der Firma Thermo Fisher Scientific [Tabelle 8].

Tabelle 8: Arbeitsschritte zur Isolierung der RNA aus FFPE

Arbeitsschritt	Vorgehen
Vorbereitung der Röllchen	Am Rotationsmikrotom werden 10 x 10µm dicke Röllchen von einem Paraffinblock geschnitten und in ein beschriftetes 2 ml Eppendorfcup überführt.
Entparaffinierung der Röllchen	1ml 100% Xylol zum Röllchen hinzugeben, vortexen und 3 Min. bei 50°C inkubieren. Danach 2 Min. bei max. rpm und Raumtemperatur zentrifugieren und den Xylolüberstand abpipettieren. Pellet zweimal mit jeweils 1ml 100% Ethanol waschen, vortexen, 2 Min. bei max. rpm und Raumtemperatur zentrifugieren und Überstand abpipettieren. Pellet nochmals 15 Sek. bei max. rpm zentrifugieren, Überstand abpipettieren und 15 Min. bei Raumtemperatur lufttrocknen lassen.
Proteaseverdau	Der Probe werden 400µl Digestion-Puffer und 4µl Protease hinzugegeben. Probe leicht schütteln, sodass das Gewebe in der Lösung schwimmt und 3 Stunden bei 50°C inkubieren.
RNA Isolierung	480µl Isolation Additiv zu Probe geben und vortexen. Danach 1,1ml 100% Ethanol zugeben und sachte mischen. Das Probengemisch wird, in drei Schritten zu jeweils 700µl, auf eine Säule geladen und bei 10.000 * g für 30 Sek. zentrifugiert. Der Durchfluss wird jeweils verworfen. Die Säule wird mit 700µl Wash 1-Lösung gewaschen und 20 Sek. bei 10.000 * g zentrifugiert, der Durchfluss wird verworfen. Danach wird die Säule mit 500µl Wash 2/3-Lösung gewaschen und 30 Sek. bei 10.000 * g zentrifugiert, der Durchfluss wird nicht verworfen.
Nukleaseverdau und finale Elution	60µl DNase-Mix hinzufügen und 30 Min. bei Raumtemperatur inkubieren. Danach mit 700µl Wash 1-Lösung waschen und 30 Sek. bei 10.000 * g zentrifugieren, der Durchfluss wird verworfen. Zweimal mit 500µl Wash 2/3-Lösung waschen und 30 Sek. bei 10.000 * g zentrifugieren, der Durchfluss wird verworfen. Danach trockenzentrifugieren und die Säule in ein neues Eppendorfcup stellen. Zweimal je 30µl 95°C heißes, nukleasefreies Wasser in die Mitte der Säule geben, 1 Min. inkubieren und dann 1 Min. bei max. rpm zentrifugieren
Messung des RNA-Gehalts mittels Nanodrop	Am Computer innerhalb des Nanodrop-Programms „Nucleotid Acid“ anklicken und „RNA“ auswählen. Für die Initiation werden 2µl nukleasefreies Wasser eingesetzt. Anschließend werden 2µl der Probe aufgetragen und mit „Measure“ bestätigt. Ein Zielwert von 116,7ng sollte mindestens erreicht werden. Nach jeder Messung wird das Gerät mit einem Papiertuch gesäubert. Nach Beendigung aller Messungen wird das Gerät mit 70% Ethanol und Aqua dest. gereinigt. Die RNA wird bei -80°C eingefroren.

2.4 reverse Transkription von miRNA zu cDNA

Aus der zuvor isolierten RNA wird mit der Hilfe des „TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit“ (4366597) und den Primern „Megaplex RT Primer, human pool A v2.1“ (4399822) und „Megaplex RT Primer, human pool B v3.0“ (4444282), von der Firma Thermo Fisher Scientific, die enthaltene miRNA ohne Prä-Amplifikation in cDNA umgeschrieben. Hierfür wird ein Master Mix (MM) angefertigt [Tabelle 9: Master Mix für Reverse Transkription].

Tabelle 9: Master Mix für Reverse Transkription

Reagenz	Menge
Aqua dest.	0,2 µl
10X Puffer	0,8 µl
dNTP	0,2 µl
MgCl ₂	0,9 µl
Reverse Transkriptase	1,5 µl
Inhibitor	0,1 µl
Gesamt	3,7 µl

Für jede isolierte RNA-Probe werden zwei Ansätze vorbereitet. Zu dem MM werden jeweils 350ng RNA in 3µl Aqua dest. und einer der beiden oben genannten Primer hinzugefügt [Tabelle 10].

Tabelle 10: Ansatz für reverse Transkription

Reagenz	Menge
MM	3,7µl
RNA	350ng/3µl aqua dest
Megaplex RT Primer, human pool A v2.1 oder human pool B v3.0	0,8µl
Gesamt	7,5µl

Die Proben werden für 5 Minuten auf Eis inkubiert und dann für eine Gesamtlaufzeit von 160 Minuten in den Thermocycler gestellt. In diesem Schritt wird die miRNA in cDNA umgeschrieben und gleichzeitig vervielfältigt [Tabelle 11].

Tabelle 11: Programm Thermocycler miRNA zu cDNA

Temperatur	Dauer	Anzahl der Zyklen
16°C	2 Min.	40
42°C	1 Min.	
50°C	1 Sek.	
85°C	5 Min.	Halten
4°C		Halten

2.5 real time Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR)

Für die RT-PCR wird die erstellte cDNA mit dem „TaqMan® Universal PCR Master Mix, no AmpErase® UNG“ (4324020), ebenfalls von der Firma Applied Biosystems, gemischt [Tabelle 12].

Tabelle 12: Weiterverarbeitung der cDNA vor RT-PCR

Reagenz	Menge
Universal PCR Master Mix	400µl
Megaplex RT-Produkt	5,3µl
nukleasefreies Wasser	395µl
Gesamt	800,3µl

Die cDNA-Lösung wird nun gevortext und sachte zentrifugiert. Danach werden die Cards „TaqMan® Array Human MicroRNA A+B Cards Set v3.0“ (4444913) mit der erstellten cDNA-Lösung beladen. Jedes der acht Reservoirs wird mit 100µl der cDNA-Lösung befüllt. Anschließend werden die Cards 2x1 Minute bei 1200 rpm zentrifugiert, sodass sich die cDNA-Lösung auf die Wells verteilt. Nun werden die Cards mit dem „TaqMan® Array Micro Fluidic Card Sealer“ versiegelt, sodass kein Austausch mehr zwischen den Wells möglich ist. Der Reservoir-Streifen wird anschließend mit einer Schere von der Karte abgeschnitten. Im PC wird der Programm SDS Software v2.2.2 gestartet.

Die real time PCR wird durch das „TaqMan 7900HT Fast Real-Time PCR System“ durchgeführt. [Tabelle 13], um „raw cycle threshold (Ct) values“ zu erhalten (Applied Biosystems, Carlsbad, California, USA).

Tabelle 13: Programm RT-PCR TaqMan

Temperatur	Dauer	Zyklen
50 °C	2 Min.	Halten
94,5 °C	10 Min.	Halten
97 °C	30 Sek.	45
59,7 °C	1 Min	

Nach Beendigung der RT-PCR werden die erhaltenen Daten zur weiteren Auswertung in Excel-Tabellen überführt. Die ΔC_t -Werte wurden genutzt, um die Menge an miRNA in einer Probe zu bestimmen. Die Werte zeigen zueinander eine inverse Korrelation.

Tabelle 30 und Tabelle 31 im Anhang zeigen eine Übersicht über die auf den Cards befindlichen miRNAs.

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Patientendaten wurde mittels einer Excel-Tabelle durchgeführt. Die Analyse der immunhistochemischen Färbungen erfolgte mittels SPSS 22. Hier wurden, abhängig von der Beschaffenheit der zu untersuchenden Daten, Kreuztabellen sowie der χ^2 -Test, t-Test, die Korrelation nach Pearson und der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Als statistisch signifikant wurde in $p\text{-Wert} \leq 0,05$ gewertet.

Die statistische Auswertung der miRNA-Analysen wurde in Zusammenarbeit mit der Abteilung Funktionelle Genomforschung des interfakultären Instituts für Genetik und funktionelle Genomforschung der Universität Greifswald durchgeführt. Hier wurden ebenfalls abhängig von der Beschaffenheit der zu untersuchenden Daten folgende Tests durchgeführt: Kruskal-Wallis h-Test (ANOVA), Ermittlung des nach Benjamini-Hochberg korrigierten p-Wertes, Dunn post-hoc Test, Standard Student's t-Test, Welch t-Test, Mann-Whitney U-Test und Bestimmung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman.

Viele der untersuchten miRNAs konnten nur in wenigen Proben nachgewiesen werden. Um zuverlässige Daten zu erhalten, wurden alle C_t -Werte größer oder gleich 32 aussortiert und nicht weiter in der Analyse berücksichtigt. Außerdem wurden alle miRNAs ausgeschlossen, welche weniger als 40 gültige Werte mit einem C_t -Wert unter 32 hatten. Dementsprechend wurden alle Analysen an Messungen von 83 miRNAs durchgeführt, welche wenigstens in 40 von 76 Proben verwertbare Werte ergaben. Alle Daten einer jeden Probe wurden zum unteren Quartil normalisiert. Die normalisierten C_t -Werte wurden auf eine geringe visuelle Abweichung zur Normalität geprüft und Abweichungen innerhalb unterschiedlicher Gruppen wurden bezüglich ihrer Homogenität ebenfalls visuell geprüft.

Vergleiche zwischen vielen unterschiedlichen Gruppen, zum Beispiel unterschiedlichen Ursprungsgeweben der Primärtumoren, wurden mittels einer Varianzanalyse (analysis of variance – ANOVA), gefolgt von einem non-parametrischen Dunn post-hoc Test durchgeführt.

Binäre Vergleiche von zum Beispiel Primärtumor und Metastasen beruhen auf einem Welch's t-Test. Die Korrelationskoeffizienten wurden mittels Spearman's rho bestimmt. Sämtliche p-Werte wurden korrigiert für multiple Tests durch die Benjamini-Hochberg-Prozedur. Eine konventionelle Ziel-FDR (Falscherkennungsrate) von 5% wurde für alle durchgeführten Tests angesetzt. Die Ergebnisse wurden als signifikant gewertet, wenn der nach Benjamini-Hochberg korrigierte p-Wert $\leq 0,05$ war. Sämtliche statistischen Analysen wurden mittels Anaconda und der Programmiersprache Python (v2.7; www.python.org) durchgeführt mit der Paketverwaltung durch Anaconda. [58]

3. Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika

Für die immunhistochemische Analyse wurden insgesamt 309 FFPE Gewebeproben von 178 Patienten mit GEP-NEN untersucht. Die Gruppe umfasste 163 FFPE Primärtumore, davon 106 aus dem Vorderdarm, 48 aus dem Mitteldarm und 9 aus dem Hinterdarm, und 146 FFPE Metastasen von GEP-NEN, davon 61 hämatogene und 85 lymphogene Metastasen. Von diesen Metastasen hatten 14 mehrere PT als möglichen Ursprung und 32 Metastasen stammten von CUP-Patienten.

Der Altersmittelwert der Patienten bei Erstdiagnose (ED) lag bei 56,6 Jahren, mit einer Altersspanne von 14-87 Jahren, der Median bei 59 Jahren. Das Geschlechterverhältnis betrug 1:1,2 (weiblich (w) : männlich (m)).

Tabelle 14 zeigt eine Übersicht über die Organverteilung von Primärtumoren und Metastasen, als auch das mittlere und mediane Alter bei ED für jedes Organ.

Tabelle 14: Übersicht PT und Metastasen Immunhistochemie: Lokalisation PT, Altersverteilung, Geschlechterverteilung

Lage des PT	Anzahl n (% der PT)	Anzahl hämatogene Metastasen	Anzahl lymphogene Metastasen	Mittelwert/ Median Alter bei ED	Geschlech- terverhältnis (w:m)
Ösophagus	2 (1,2)	1	1	69/69	0:2
Magen	35 (21,5)	9	10	62,5/64	1:1,3
Duodenum	7 (4,3)	-	2	53,8/51,5	1:2
Pankreas	60 (36,8)	6	29	54/55	1:1,1
Gallenblase	1 (0,6)	-	1	59/59	1:0
Gallengang	1 (0,6)	-	-	52/52	1:0
Dünndarm	14 (8,6)	11	12	56,3/57,5	1:3
Appendix	27 (16,6)	2	1	38,6/31	1,7:1
Zökum	4 (2,5)	-	2	66,8/65	1:3
Colon ascendens	3 (1,8)	-	6	62,7/60	0:3
Colon sigmoideum	-	2	-	84/84	1:0
Rektum	9 (5,5)	3	2	65/66	1:1
mehrere PT	-	4	10	-	-
• Magen + Dünndarm		-	3		
• Duodenum + Jejunum		-	1		
• Pankreas + Duodenum		1	3		
• Dünndarm + Zökum		-	2		
• Dünndarm + Zökum + Appendix		3	1		
CUP	-	23	9	68/71	1:1,7
Gesamt	163	61	85	56,6/59	1:1,2

Eine Übersicht über die Verteilung der hämatogenen Metastasen befindet sich in Tabelle 15.

Tabelle 15: Übersicht über die Verteilung der hämatogenen Metastasen der IHC-Analyse

Lage Meta- stase Lage PT	Leber	Peritone- um	Retropri- toneum	Lunge	Knochen	Uterus	Ovar	Spinal- kanal	Neben- niere	D. chole- dochus	Gesamt
Ösophagus	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Magen	6	-	-	-	-	-	-	-	3	-	9
Pankreas	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	6
Dünndarm	6	3	-	-	-	-	1	1	-	-	11
Appendix	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Colon sigmoideum	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Rektum	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3
mehrere PT	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1	4
• Pankreas + Duodenum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
• Dünndarm + Zökum + Appendix	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
CUP	17	3	-	1	1	1	-	-	-	-	23
Gesamt	38	11	2	2	1	1	1	1	3	1	61

Für die miRNA-Analyse wurde insgesamt 121 GEP-NEN- Proben von 79 Patienten untersucht. Sowohl aus insgesamt 76 FFPE PT von GEP-NEN, davon 46 aus dem Vorderdarm, 24 aus dem Mitteldarm und 6 aus dem Hinterdarm, wurde die miRNA isoliert, als auch aus 45 FFPE Metastasen von GEP-NEN, davon 14 hämatogene und 31 lymphogene Metastasen. Der Altersmittelwert der Patienten bei ED lag bei 53,4 Jahren, mit einer Altersspanne von 14-86 Jahren, der Median bei 55 Jahren. Es wurden Proben von 39 weiblichen und 40 männlichen Patienten untersucht (w:m = 1:1,03).

Tabelle 16 zeigt eine Übersicht über die Organverteilung der untersuchten Proben, sowie den Mittelwert und den Median des Patientenalters bei ED und das Geschlechterverhältnis auf die einzelnen Organe bezogen.

Tabelle 16: Übersicht PT und Metastasen miRNA: Lokalisation PT, Altersverteilung, Geschlechterverteilung

Lage des PT	Anzahl (%) der Proben)	Anzahl hämatogene Metastasen	Anzahl lymphogene Metastasen	Mittelwert/ Median Alter bei ED	Geschlechterverhältnis (w:m)
Magen	9 (11,8)	5	5	61/64	1,4:1
Pankreas	37 (48,7)	3	4	52,2/51	1,4:1
Dünndarm	11 (14,5)	4	8	56,3/57,5	1:3
Appendix	8 (10,5)	-	-	30,6/25	1:1,7
Zökum	2 (2,6)	-	-	59/59	0:2
Colon ascendens	3 (3,9)	-	6	62,7/60	0:3
Rektum	6 (7,9)	-	2	67,2/71,5	1:1
mehrere PT	-	2	6		
• Magen +Dünndarm		-	3		
• Dünndarm + Zökum		-	2		
• Dünndarm + Zökum + Appendix		2	1		
Gesamt	76	14	31	53,4/55	1:1,03

Eine Übersicht über die Verteilung der hämatogenen Metastasen liefert die Tabelle 17.

Tabelle 17: Übersicht über die Verteilung der hämatogenen Metastasen der miRNA-Analyse

Lage Metastase Lage PT	Leber	Peritoneum	Spinalkanal	Nebenniere	Gesamt
Magen	3	-	-	2	5
Pankreas	2	1	-	-	3
Dünndarm	3	-	1	-	4
mehrere PT:					
• Dünndarm + Zökum + Appendix	1	1	-	-	2
Gesamt	9	2	1	2	14

3.2 Morphologische und immunhistochemische Untersuchungen

Eine Übersicht über die Ergebnisse jeder einzelnen Färbung von jeder untersuchten Probe befindet sich im Anhang Tabelle 32. In den folgenden Unterpunkten werden die relevanten Ergebnisse mit den durchgeführten Tests hervorgehoben und beschrieben.

3.2.1 Wachstumsmuster

Die Einteilung nach dem Wachstumsmuster wurde anhand der Einteilung nach Soga [73] vorgenommen. In die Analyse konnten insgesamt 156 PT einbezogen werden. Auf alle analysierten PT bezogen, ist mit 53 Proben (34%) das drüsenartige Wachstum (Wachstumsmuster C) das häufigste. Unter den einzelnen Organen variiert die Häufigkeit der unterschiedlichen Wachstumsmuster. Bei pNEN ist das trabekuläre Wachstumsmuster B mit 28 Proben (39,6%) das häufigste. gNEN weisen mit 16 Proben (45,7%) am häufigsten das drüsenartige Wachstumsmuster C auf. Alle drei untersuchten NEN des Colon ascendens hingegen zeigen ein diffuses Wachstumsmuster D. Tabelle 18 zeigt die Ergebnisse der Analyse.

Tabelle 18: Ergebnisse der Auswertung des Wachstumsmusters der Primärtumore am HE-gefärbten Schnittpräparat nach Soga [73]

Lage PT		Wachstumsmuster					Gesamt
		A	B	C	D	E	
Ösophagus	Anzahl	0	0	0	2	0	2
	%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
Magen	Anzahl	6	2	16	10	1	35
	%	17,1%	5,7%	45,7%	28,6%	2,9%	100,0%
Duodenum	Anzahl	0	3	3	1	0	7
	%	0,0%	42,9%	42,9%	14,3%	0,0%	100,0%
Pankreas	Anzahl	6	21	11	8	7	53
	%	11,3%	39,6%	20,8%	15,1%	13,2%	100,0%
Gallen- blase	Anzahl	0	0	0	1	0	1
	%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
Gallengang	Anzahl	0	1	0	0	0	1
	%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
Dünndarm	Anzahl	4	0	8	0	2	14
	%	28,6%	0,0%	57,1%	0,0%	14,3%	100,0%
Appendix	Anzahl	9	3	12	1	2	27
	%	33,3%	11,1%	44,4%	3,7%	7,4%	100,0%
Zökum	Anzahl	2	0	0	2	0	4
	%	50,0%	0,0%	0,0%	50,0%	0,0%	100,0%
Colon ascendens	Anzahl	0	0	0	3	0	3
	%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
Rektum	Anzahl	0	5	3	1	0	9
	%	0,0%	55,6%	33,3%	11,1%	0,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl	27	35	53	29	12	156
	%	17,3%	22,4%	34,0%	18,6%	7,7%	100,0%

Ein Unterschied in der Verteilung der Wachstumsmuster bei männlichen und weiblichen Gewebeproben konnte nicht festgestellt werden. Tabelle 33, im Anhang befindlich, zeigt eine Übersicht der Verteilung.

Bei der Analyse des Wachstumsmusters anhand des embryologischen Derivates kamen in den Vorderdarmderivaten das drüsenartige Wachstumsmuster C mit 53 Proben (34,0%) und das trabekuläre Wachstumsmuster B mit 27 Proben (27,3%) am häufigsten vor. Bei den Mitteldarmderivaten war das drüsenartige Wachstumsmuster C mit 20 Proben (41,7%) das häufigste und bei den Hinterdarmderivaten war das trabekuläre Wachstumsmuster B mit 5 Proben (55,6%) am häufigsten vertreten [Tabelle 19]. Die Korrelation des Wachstumsmusters mit dem embryologischen Derivat beträgt nach Pearson -0,094 mit einem p-Wert von 0,245.

Tabelle 19: Übersicht des Wachstumsmusters unterteilt nach embryologischem Derivat

Lage PT		Wachstumsmuster					Gesamt
		A	B	C	D	E	
Vorderdarm	Anzahl	12	27	30	22	8	99
	%	12,1%	27,3%	30,3%	22,2%	8,1%	100,0%
Mitteldarm	Anzahl	15	3	20	6	4	48
	%	31,2%	6,3%	41,7%	12,5%	8,3%	100,0%
Hinterdarm	Anzahl	0	5	3	1	0	9
	%	0,0%	55,6%	33,3%	11,1%	0,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl	27	35	53	29	12	156
	%	17,3%	22,4%	34,0%	18,6%	7,7%	100,0%

3.2.2 MIB und PPH3

Bei der Proliferationsrate, gemessen an den MIB1-positiven Zellen in Prozent, konnten insgesamt 155 PT und 89 Metastasen (ohne CUP) in die Analyse einbezogen werden. Sowohl bei den Primärtumoren als auch bei den Metastasen zeigte sich eine große Spannbreite von 1-95%. Der Mittelwert unter den Primärtumoren betrug 9,8%, unter den Metastasen war er mit 12,8% nicht signifikant höher ($p=0,322$). Es besteht eine hohe Korrelation zwischen der Proliferationsrate der Primärtumore und der Metastase. Der Korrelationskoeffizient r nach Pearson beträgt 0,826, bei einem p-Wert $<0,01$.

Bei den CUP-Fällen konnten insgesamt 31 Metastasen in die Analyse mit einbezogen werden. Der Proliferationsindex lag hier im Mittel bei 31,7% mit einer Spannbreite von 1-95%.

Bei der Proliferationsrate gemessen, an den PPH3 positiven Zellen in Prozent, konnten insgesamt 161 Primärtumore und 109 Metastasen (ohne CUP) ausgewertet werden. Bei den Primärtumoren gab es eine Spannbreite von 0-6%, bei den Metastasen von 0-12%. Der Mittelwert bei den Primärtumoren lag bei 0,5%, den Metastasen lag er bei 1,1%.

Bei den CUP-Fällen konnten 31 Metastasen analysiert werden. Hier ergab sich ein Mittelwert von 3,3% mit einer Spannweite von 0-10%.

Eine hohe Korrelation besteht, bei dem Vergleich der Primärtumore, zwischen der Proliferationsrate gemessen an den MIB1-positiven Zellen und an den PPH3 positiven Zellen in Prozent ($r = 0,726$, $p < 0,01$).

Tabelle 20 zeigt eine Auflistung des Gradings eingeteilt nach dem Ki67/MIB-1-Index im Vergleich zu PPH3. In dieser Tabelle sind lediglich die Primärtumore eingeschlossen, welche sowohl in der MIB-1- als auch in der PPH3-Färbung ein verwertbares Ergebnis gezeigt haben, insgesamt 154 an der Zahl. Hier zeigt sich, dass die prozentuale Verteilung der Proliferationsrate nach den unterschiedlichen Bestimmungsarten durchaus voneinander abweichen. Und bei der Bestimmung nach PPH3 kein Primärtumor eine Proliferationsrate G3 (0,0%) aufweist und sich auch die prozentualen Werte von G1 (90,3%) und G2 (9,7%) stark unterscheiden. In der MIB-1-Färbung ergibt sich die Verteilung der Proliferationsrate zu 76,5% G1, 20,8% G2 und 11,7% G3.

Tabelle 20: Vergleich des Gradings nach Ki67/MIB-1-Index und PPH3 anhand der untersuchten Primärtumore

Grading	MIB-1	PPH3
G1	104 (76,5%)	139 (90,3%)
G2	32 (20,8%)	15 (9,7%)
G3	18 (11,7%)	0 (0,0%)

Im direkten Vergleich der Proliferationsrate bestimmt durch MIB-1 IHC und PPH3, zeigt sich in den 154 Fällen eine Abweichung des Gradings in 49 Fällen (31,8%). Insgesamt zeigt sich, in 31,2% der Fälle, also in 48 Fällen, dass das Grading nach MIB1 höher eingestuft wird als nach PPH3. Der Großteil der Abweichungen spielen sich im Bereich G1 zu G2 oder umgekehrt ab (59,2%). In 40,8% der Fälle wird ein Tumor in der PPH3 IHC, von G3 in MIB-1, auf G2 heruntergestuft. Tabelle 21 zeigt die Übersicht über die unterschiedliche Proliferationsrate der Fälle im Überblick.

Tabelle 21: Änderung im Grading im Vergleich der Proliferationsrate analysiert durch Ki67/MIB-1 zu PPH3

Proliferationsrate MIB-1 → PPH3		Anzahl n (%)
heruntergestuft	G3 → G2	12 (24,5%)
	G2 → G1	28 (57,1%)
	G3 → G1	8 (16,3%)
hochgestuft	G1 → G2	1 (2,0%)

3.2.3 CDX2

CDX2 wurde dichotom ausgewertet und als positiv oder negativ angegeben. Es konnten insgesamt 159 Primärtumore und 95 Metastasen in die Analyse einbezogen werden. Metastasen bei CUP und solche, die nicht eindeutig einem Primärtumore zugeordnet werden konnten (mehrere

Primärtumore), wurden für diese Analyse ausgeschlossen. Unter den Primärtumoren gab es 80 CDX2-negative (50,3%) und 79 CDX2-positive (49,7%) Ergebnisse. Bei den Metastasen gab es insgesamt 44 CDX2-negative (46,3%) und 51 CDX2-positive (53,7%) Ergebnisse. [95] Tabelle 22 zeigt eine Übersicht der Ergebnisse für die Primärtumore als auch für die Metastasen.

Tabelle 22: Übersicht CDX2 PT und Metastasen nach Organen sortiert.

Lage PT		CDX2 negativ	CDX2 positiv
Ösophagus	PT	1	1
	Metastase	1	1
Magen	PT	16	18
	Metastase	5	14
Duodenum	PT	0	7
	Metastase	0	2
Pankreas	PT	54	3
	Metastase	26	8
Gallenblase	PT	0	1
	Metastase	0	1
Gallengang	PT	1	0
	Metastase	-	-
Dünndarm	PT	0	14
	Metastase	2	18
Appendix	PT	0	27
	Metastase	0	2
Zökum	PT	2	2
	Metastase	2	0
Colon ascendens	PT	1	2
	Metastase	2	4
Colon sigmoideum	PT	-	-
	Metastase	2	0
Rektum	PT	5	4
	Metastase	4	1
Gesamt	PT	80	79
	Metastase	44	51

Besonders häufig zeigten sich gastrointestinalen NEN (GI-NEN) CDX2-positiv, sowohl bei den Primärtumoren mit 75% als auch bei den Metastasen mit 70%. Bei anderen Lokalisationen lag der Anteil der CDX2-positiven Fälle bei den Primärtumoren bei 6,8%, bei den Metastasen bei 25,7%. Unter den GEP-NEN ist die CDX2-Expression bei GI-NEN signifikant höher als bei nicht-GI-NEN ($p < 0,001$). Die CDX2-Expression war in allen Primärtumoren des Duodenums, des Dünndarms und der Appendix positiv und bei den Metastasen von Duodenum- und Appendix-NEN waren auch alle Metastasen CDX2-positiv. Bei den gNEN hingegen waren nur 52,9% der Primärtumore und 73,7% der Metastasen CDX2-positiv. [95]

Der positive prädiktive Wert (ppW) bei CDX2-positiven GEP-NEN-Metastasen für einen gastrointestinalen Ursprung liegt bei 82,7%. Bei CDX2-Negativität liegt der negative prädiktive

Wert (npW) bei 59,1%. Die Sensitivität beträgt 70,5%, die Spezifität 74,3%. Bei den pNEN sind 5,3% der Primärtumore CDX2-positiv, bei den Metastasen sind es hingegen 23,5% ($p = 0,000025$). Den CUP-Fällen konnten 31 Proben analysiert werden. 12 Proben waren CDX2-positiv (38,7%), 19 Proben waren CDX2-negativ (61,3%). [95]

3.2.4 SSTR2A

In die Analyse der Expression des SSTR2A konnten 160 Primärtumore und 97 Metastasen einbezogen werden. Es wurde der IRS nach Remmele für die Auswertung verwendet [127]. Unter den Primärtumoren waren 74,4% SSTR2A-positiv, bei den Metastasen waren es 68,5%. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied der SSTR2A-Expression zwischen den Primärtumor und den Metastasen ($p=0,336$). Eine Auflistung über die SSTR2-Expression der einzelnen PT zeigt Tabelle 23. Bei den CUP-Fällen konnten 32 Proben analysiert werden. Hier ergab sich eine positive SSTR2A-Expression in 37,5% der Fälle.

3.2.5 Östrogenrezeptor

In die Analyse der Östrogenrezeptoren konnten 159 Primärtumore und 95 Metastasen eingeschlossen werden [Tabelle 23]. Der Östrogenrezeptor war in 27% aller Primärtumore und in 18% aller Metastasen positive. Ein signifikanter Unterschied zeigte sich in der Analyse aufgeteilt nach Geschlecht. In 20% der männlichen und in 36% der weiblichen Proben waren die Östrogenrezeptoren positiv ($p= 0,019$). In Primärtumoren von pNEN (7%) zeigte sich die Östrogenrezeptorexpression signifikant weniger häufig positiv als in nicht-pankreatischen NEN (38%, $p<0,001$). Im Vergleich der Metastasen von pankreatischen und nicht-pankreatische NEN zeigt sich dieser Unterschied nicht mehr so deutlich und es konnte kein signifikanter Unterschied in der ER-Expression gezeigt werden. (12% vs. 21%, $p=0,287$). [95]

3.2.6 Progesteronrezeptor

Die Analyse der Progesteronrezeptorexpression konnte anhand von 159 Primärtumoren und 95 Metastasen durchgeführt werden [Tabelle 23]. Die Progesteronrezeptorexpression zeigte sich in 32% aller Primärtumore positive und in 18% aller Metastasen. 28% der männlichen und 38% der weiblichen Patientenproben wiesen einen PR positive Tumor auf ($p= 0,182$). In den pankreatischen NEN wurden mit 77% am häufigsten PR positive Tumore detektiert. In den Metastasen der pankreatischen NEN wurden mit 46% ebenfalls häufig PR nachgewiesen. Im Vergleich zu nicht-

pankreatischen NEN wurden hier die PR-Rezeptoren sowohl in den Primärtumoren mit 8% als auch in den Metastasen mit 3% deutlich seltener nachgewiesen. Es zeigt sich hier ein signifikanter Unterschied zwischen pankreatischen und nicht-pankreatischen NEN ($p<0,001$). Der positive prädiktive Wert von PR-positiven Metastasen von GEP-NEN, für ihren Ursprung im Pankreas, beträgt 88%, der negative prädiktive Wert 76%. Die Sensitivität beläuft sich auf 46%, die Spezifität auf 97%. [95]

Tabelle 23: Übersicht IHC-Färbung PR, ER und SSTR2A

Lage PT		PR		ER		SSTR2A	
		-	+	-	+	-	+
Ösophagus	PT	2	0	1	1	1	1
	Metastase	1	1	2	0	1	1
Magen	PT	33	2	17	18	9	26
	Metastase	19	0	12	7	7	12
Duodenum	PT	6	1	7	0	3	4
	Metastase	2	0	2	0	1	1
Pankreas	PT	13	43	52	4	16	42
	Metastase	18	15	29	4	9	25
Gallenblase	PT	1	0	1	0	1	0
	Metastase	1	0	1	0	0	1
Gallengang	PT	1	0	0	1	0	1
	Metastase	-	-	-	-	-	-
Dünndarm	PT	14	0	13	1	1	13
	Metastase	22	0	19	3	3	19
Appendix	PT	24	3	14	13	5	22
	Metastase	1	1	0	2	2	1
Zökum	PT	3	1	3	1	2	2
	Metastase	2	0	2	0	2	0
Colon ascendens	PT	3	0	2	1	2	1
	Metastase	6	0	5	1	6	0
Colon sigmoideum	PT	-	-	-	-	-	-
	Metastase	2	0	1	1	2	0
Rektum	PT	8	1	6	3	1	7
	Metastase	4	0	3	1	1	3
Gesamt	PT	108	51	116	43	41	119
	Metastase	78	17	76	19	34	63

3.3 *miRNA Analyse*

3.3.1 *Klinische Daten und histopathologische Charakteristika*

Insgesamt wurden Proben von 121 GEP-NEN von 79 Patienten untersucht, davon waren 76 Proben von Primärtumoren, 31 Lymphknotenmetastasen und 14 Fernmetastasen. Die Mehrheit der Proben stammt mit 48,68% aus Primärtumoren des Pankreas, es folgen Tumore des Ileums mit 14,47%, des Magens mit 11,84%, der Appendix mit 10,53%, des Rektums mit 7,89% sowie 3,95% des Colon ascendens und 2,63% des Zökums. [58]

Patienten mit NEN der Appendix waren, hinsichtlich des mittleren Alters bei Probenentnahme, signifikant jünger als Patienten mit NEN anderen gastroenteropankreatischen Ursprungs (PT Appendix 30,6 Jahre vs. 52,2-67,2 Jahre; $p = 0,0014$). [58]

Für den Großteil der Primärtumore zeigte sich zwischen den Geschlechtern eine relativ ausgeglichene Verteilung. Lediglich bei Primärtumoren des Ileums, Colon ascendens und des Zökums zeigte sich eine höhere Prävalenz bei Männern [58] (w:m = Ileum 1:3; Colon ascendens 0:3; Zökum 0:2).

Hinsichtlich des TNM-Stadiums zeigte sich bei der Hälfte der Patienten ein lokaler Befund mit der Einstufung pT1 und pT2 (38 Fälle, 50%). Mehr als ein Fünftel der Fälle zeigte keine Lymphknotenmetastasierung (17 Fälle, 22,37%). Diese Charakteristik spiegelt sich ebenfalls in der UICC-Einteilung wider. Hier werden etwas weniger als die Hälfte der Fälle in die Stadien UICC I und II eingeteilt (30 Fälle, 39,47%) [58]. In Tabelle 24 wird ein detaillierter Überblick über die Lage der Primärtumoren, die Geschlechterverteilung, das Alter der Patienten bei Probenentnahme sowie das Grading, die TNM-Klassifikation und das UICC-Stadium (in Anlehnung an die 8. Edition, 2017) gezeigt.

Tabelle 24: Charakteristika der GEP-NEN hinsichtlich der Lage des PT, des Alters, der Geschlechterverteilung, des Gradings, der TNM-Klassifikation und des UICC-Stadiums (8.Edition, 2017). [58]

PT	Magen	Pankreas	Ileum	Appendix	Zökum	Colon ascendens	Rektum
N	9	37	11	8	2	3	6
Alter in Jahren (mittleres/medianes)	61/64	52,5/51	56,3/57,5	30,6/25	59/59	62,7/60	67,2/71
Geschlecht (w:m)	1,4:1	1,4:1	1:3	1:1,7	0:2	0:3	1:1
Grading							
G1	5	25	6	8	2	0	4
G2	2	8	5	0	0	0	0
G3	2	4	0	0	0	3	2
Infiltrationstiefe							
pT1	3	16	0	7	1	0	4
pT2	0	9	3	0	0	0	0
pT3	3	8	5	1	0	1	0
pT4	1	3	3	0	0	2	2
pTX	2	1	0	0	1	0	0
Lymphknotenbefall							
N0	0	19	1	0	0	0	0
N1	4	9	9	1	2	3	2
NX	5	9	1	7	0	0	4
Fernmetastasen							
M1a	3	4	2	0	0	0	0
M1b	0	5	0	0	0	1	0
M1c	0	1	1	1	1	0	0
M0	6	7	8	7	0	2	6
UICC-Stadium							
I	3	15	0	0	6	0	4
II	0	6	1	1	1	0	0
III	2	6	7	7	0	1	2
IV	3	10	3	3	1	1	0
nicht auswertbar	1	0	0	0	0	0	0

3.3.2 Analyse der miRNA-Profile in Bezug auf die Lokalisation des Primärtumors

In der Analyse der miRNA-Profile in Bezug auf die Lokalisation des Primärtumors zeigte sich, dass Primärtumore NEN des Pankreas, des Ileums, der Appendix und des Rektums wenigstens eine spezifisch exprimierte miRNA besitzen, welche nur in den Primärtumoren des jeweiligen

Ursprungsorgans exprimiert wird. Die höchste Anzahl an spezifischen miRNAs ließ sich mit 13 miRNAs in pNEN nachweisen, gefolgt von 9 miRNAs in NEN des Ileums, 3 miRNAs in NEN der Appendix und 1 miRNA in NEN des Rektums. Die jeweiligen miRNAs sind im Gewebe, im Vergleich zu den Primärtumoren anderer GEP-NEN-Ursprungsorgane, entweder in einer erhöhten Expression zu finden oder ihre Expression ist vergleichsweise runterreguliert. In NEN des Magens und des Colon ascendens ließ sich keine spezifische miRNA-Expression nachweisen. In Tabelle 25 ist eine Übersicht über die jeweiligen spezifischen miRNAs der unterschiedlichen Ursprungsorgane der Primärtumore zusammengefasst. In Abbildung 3 wird beispielhaft die unterschiedliche miRNA-Expression von Primärtumoren des Pankreas im Vergleich zu allen anderen untersuchten GE-NEN dargestellt. [58]

Tabelle 25: Überblick über die spezifische miRNA-Expression in GEP-NEN-PT unterschiedlicher Ursprungsorgane [58]

Primärtumor	Pankreas	Ileum	Appendix	Rektum
miRNA-Überexpression	let-7e miR-126 miR-127 miR-30a-3p miR-409-3p miR-539 miR-652 miR-95	let-7g miR-16 miR-200a miR-320 miR-324-3p miR-331 miR-342-3p miR-744	miR-125b	miR-151-3p
mi-RNA-Herunterregulierung	miR-155 miR-193b miR-28-3p miR-642 miR-886-5p	miR-92a	miR-223 miR-24	

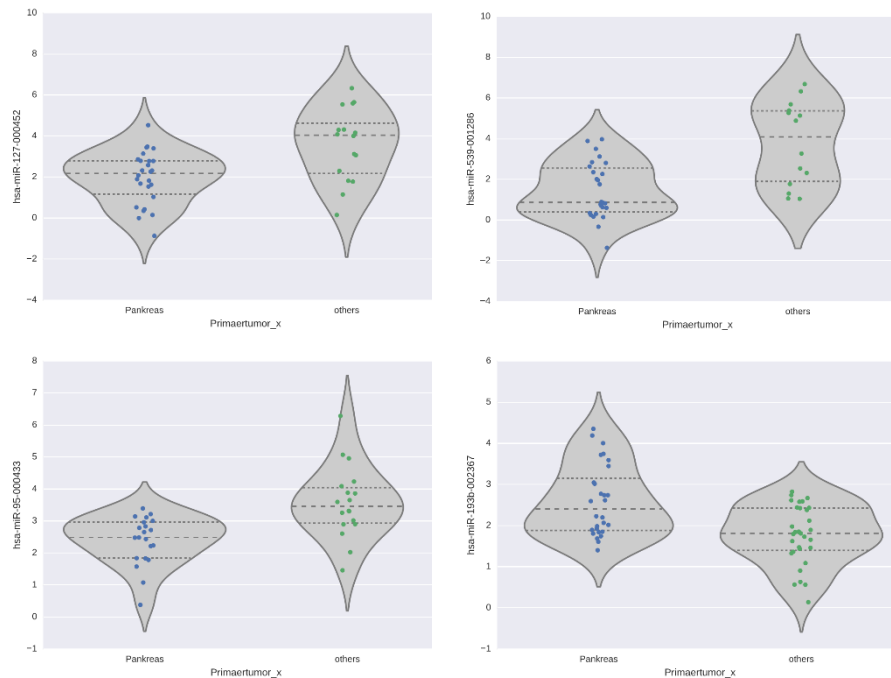


Abbildung 3: Beispiele für signifikant unterschiedliche miRNA-Expression in PT von pankreatischen NEN im Vergleich zu allen anderen untersuchten GE-NEN. Die Violin-Plots zeigen die ΔCt -Werte für unterschiedliche exprimierte miRNA. Die farblichen Punkte stellen die Verteilung der ΔCt -Werte in der jeweiligen Gruppe dar. Die Plots mit den blauen Punkten stehen für Fälle pankreatischer NEN, die mit den grünen Punkten für alle anderen GE-NEN. Niedrige ΔCt -Werte stehen für eine höhere miRNA Expression und umgekehrt.

3.3.3 Korrelation der miRNA-Expression in PT mit Metastasen

In der miRNA-Analyse der GEP-NEN Primärtumore zeigten sich im Vergleich von metastasierten, sowohl hämatogen als auch lymphogen, und nicht metastasierten Primärtumoren insgesamt 7 miRNAs, welche sich in ihrer Expression unterschieden. Bei metastasierten Primärtumoren zeigte sich eine geringere Expression von let-7b und miR-150 ($p=0,022$ und $0,038$). Eine höhere Expression zeigte sich in den metastasierten Primärtumoren von miR-21, miR-30a-5p, miR-320, miR-331 und miR-660 ($p=0,038$, $0,038$, $0,038$, $0,022$ und $0,038$) [Abbildung 4] [58].

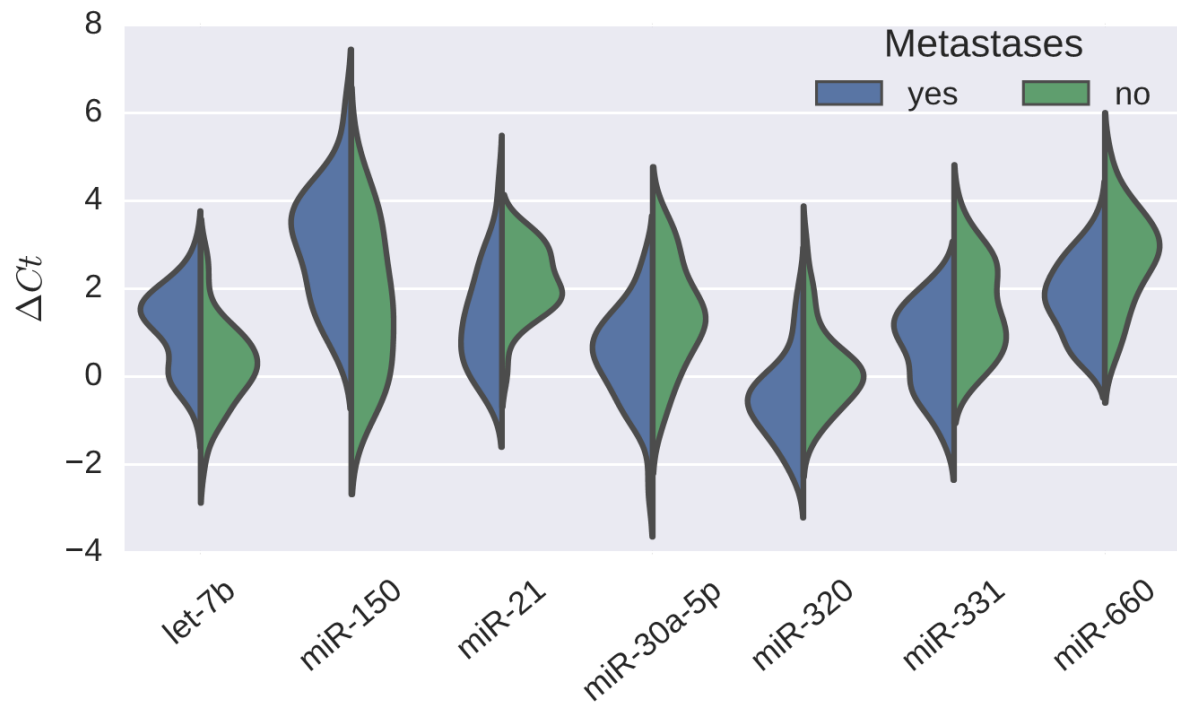


Abbildung 4: Vergleich der miRNA-Expression von Fällen mit und ohne Metastasierung. Die Violin-Plots zeigen die ΔCt -Werte für unterschiedliche exprimierte miRNA. Die blauen Anteile der Plots stehen für Fälle mit nachgewiesenen Metastasen, die grünen Anteile für Fälle ohne Metastasierung. Jede Hälfte des Violin-Plots stellt die Verteilung der ΔCt -Werte in der jeweiligen Gruppe dar. Plots von links nach rechts: ΔCt -Werte für let-7b ($p = 0,022$), miR-150 ($p = 0,038$), miR-21 ($p = 0,038$), miR-30a-5p ($p = 0,038$), miR-320 ($p = 0,038$), miR-331 ($p = 0,022$) und miR-660 ($p = 0,038$). Niedrige ΔCt -Werte stehen für eine höhere miRNA Expression und umgekehrt. [58]

Im Hinblick auf die Fernmetastasierung (Leber, Peritoneum, Knochen und Nebenniere), zeigten sich 5 miRNAs, welche in den metastasierenden Primärtumoren höher exprimiert wurden. Es handelte sich um miR-30a-5p, miR-210, miR-339-3p, miR-345 und miR-660. Sämtliche p-Werte zeigten sich zwischen 0,0001 und 0,01 [Abbildung 5] [58].

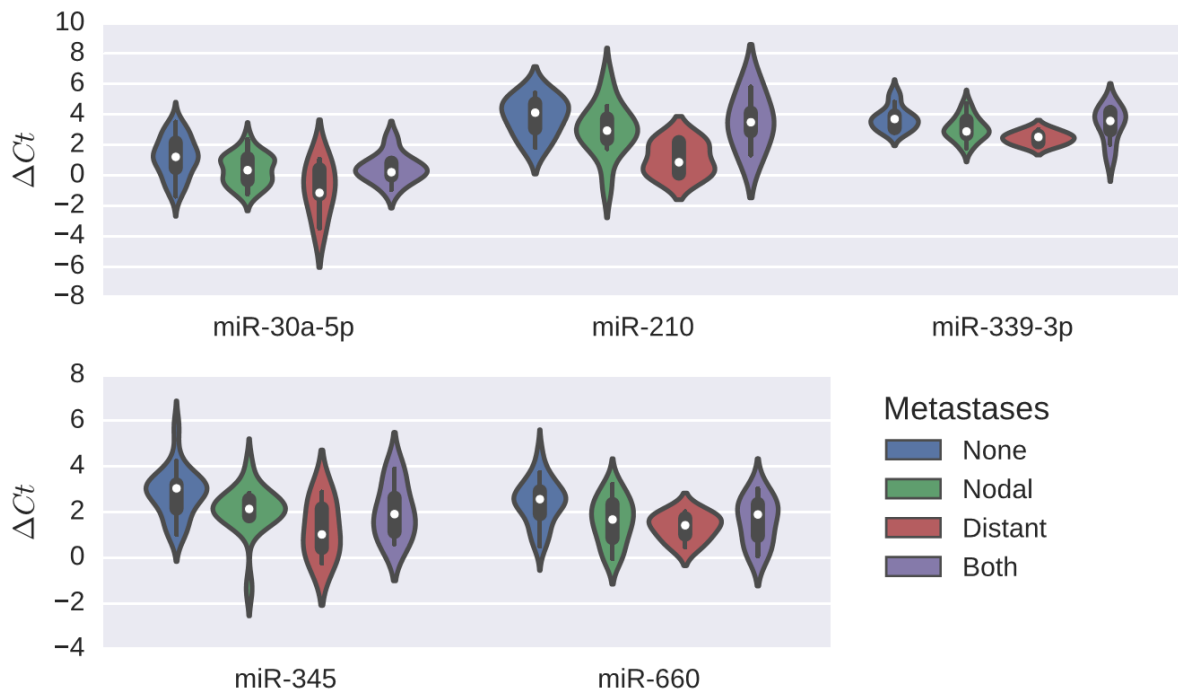


Abbildung 5: Übersicht über die unterschiedliche miRNA Expression von Fällen mit und ohne hämatogener Metastasierung. Die Violin-Plots zeigen die ΔCt -Werte für signifikant unterschiedlich exprimierte miRNA. Die blauen Plots stehen für Fälle ohne Metastasierung, grüne Violin-Plots stehen für Fälle mit Lymphknotenmetastasen, rote Violin-Plots für hämatogene Metastasen und lila Violin-Plots stehen für Fälle sowohl mit Lymphknoten- als auch mit hämatogenen Metastasen. Im Zentrum eines jeden Violin-Plots steht ein Box-Plot. Der weiße Punkt zeigt den Median-Wert an. Plots von links nach rechts: obere Reihe: ΔCt -Werte für miR-30a-5p ($p = 0,0045$), miR-210 ($p = 0,0001$), miR-339-3p ($p = 0,0005$). Untere Reihe: ΔCt -Werte für miR-345 ($p = 0,0045$) und miR-660 ($p = 0,0127$). Niedrige ΔCt -Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt. [58]

Im Fokus auf die Lymphknotenmetastasierung, zeigten sich 32 miRNA, welche im Vergleich zu den nicht metastasierenden Primärtumoren unterschiedlich exprimiert wurden. 21 miRNAs wurden vermehrt exprimiert (miR-15b, miR-17, miR-19a, miR-19b, miR-20a, miR-25, miR-106a, miR-106b, miR-135b, miR-185, miR-210, miR-331, miR-339-3p, miR-345, miR-374, miR-425-5p, miR-454, miR-484, miR-642, miR-660, miR-1243; p-Werte zwischen 0,0001 und 0,042), 11 miRNAs wurden weniger exprimiert (miR-26b, miR-30a-5p, miR-30e-3p, miR-125b, miR-127, miR-142-3p, miR-149, miR-150, miR-183#, miR-214, miR-1275; p-Werte zwischen $< 0,0001$ und 0,033) [Abbildung 6] [58].

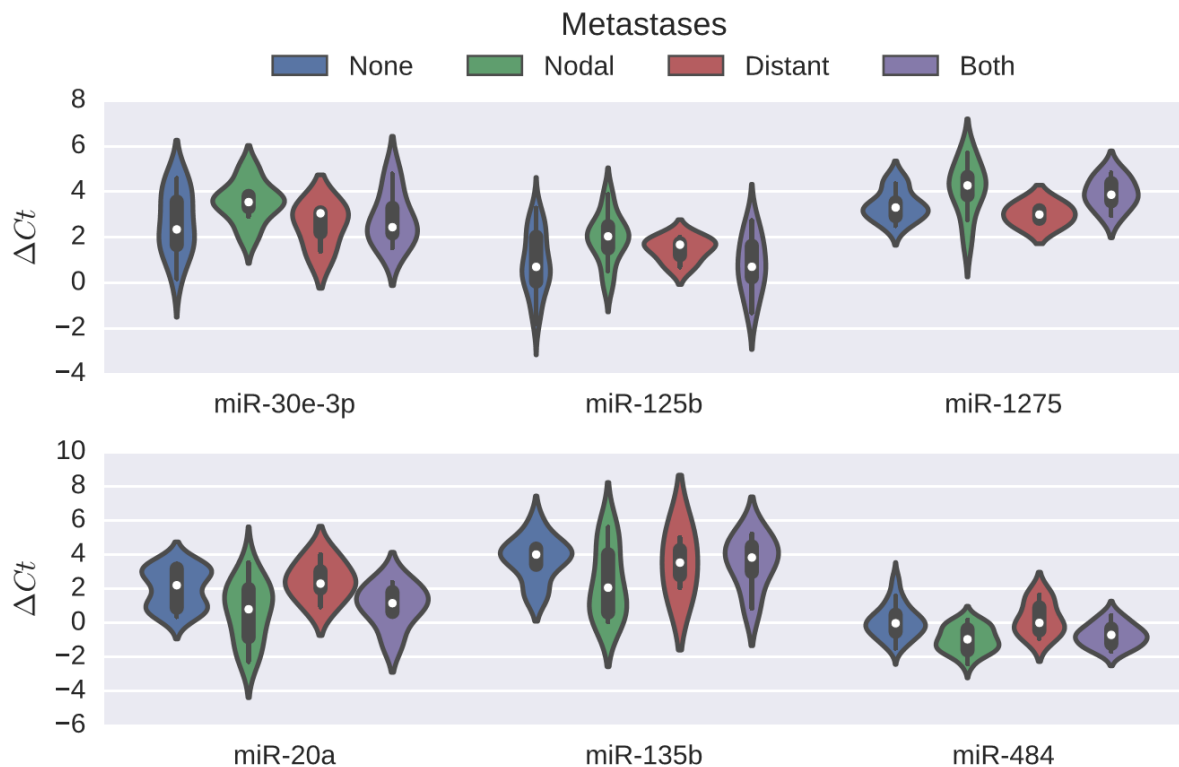


Abbildung 6: Übersicht über die unterschiedliche miRNA Expression von Fällen mit und ohne Lymphknotenmetastasen. Die Violin-Plots zeigen die ΔCt -Werte für signifikant unterschiedlich exprimierte miRNA. Die blauen Plots stehen für Fälle ohne Metastasierung, grüne Violin-Plots stehen für Fälle mit Lymphknotenmetastasen, rote Violin-Plots für hämatogene Metastasen und lila Violin-Plots stehen für Fälle sowohl mit Lymphknoten- als auch mit hämatogenen Metastasen. Im Zentrum eines jeden Violin-Plots steht ein Box-Plot. Der weiße Punkt zeigt den Median-Wert an. Plots von links nach rechts: obere Reihe: exemplarische ΔCt -Werte für runterregulierte miRNA-Expression: miR-30e-3p ($p = 0,00049$), miR-125b ($p = 0,013$), miR-1275 ($p < 0,00001$). Untere Reihe: exemplarische ΔCt -Wert für hochregulierte miRNA-Expression: miR-20a ($p = 0,00069$), miR-135b ($p = 0,00049$), miR-484 ($p = 0,0015$). Niedrige ΔCt -Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt. [58]

3.3.4 Korrelation der miRNA-Expression mit der Proliferationsrate

Der Proliferationsrate in Primärtumoren der GEP-NEN zeigte in 44 unterschiedlichen miRNAs eine signifikante Korrelation. Eine inverse Korrelation mit dem Expressionslevel der miRNA zeigte sich bei 27 miRNAs (let-7e, let-7g, miR-103, miR-125a-5p, miR-126, miR-145, miR-16, miR-194, miR-199a-3p, miR-200b, miR-24, miR-27b, miR-28-3p, miR-29a, miR-30b, miR-324-3p, miR-324-5p, miR-342-3p, miR-375, miR-429, miR-484, miR-532, miR-532-3p, miR-574-3p, miR-642, miR-660 and miR-744; alle p-Werte zwischen $<0,001$ und $0,049$). Bei 17 miRNAs zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Expression und der Proliferationsrate (miR-106a, miR-106b, miR-10a, miR-10b, miR-135b, miR-142-3p, miR-146a, miR-150, miR-155, miR-17, miR-19b, miR-20a, miR-21, miR-222, miR-92a, miR-1274A and miR-93#; alle p-Werte zwischen $<0,001$ und $0,049$) [58].

3.3.5 Vergleich der signifikanten miRNA-Expressionsprofile hinsichtlich der Metastasierung mit der Korrelation der Proliferationsrate

Im Vergleich der miRNA-Expressionsprofile von Fällen mit Metastasenbildung mit der Proliferationsrate, zeigt sich eine Überlappung von 3 miRNAs. Die miR-150 zeigt eine signifikant niedrigere Expression in Fällen mit Metastasenbildung ($p=0,038$) und eine positive Korrelation mit der Proliferationsrate ($p=0,026$; Korrelationskoeffizient $-0,43$). Die miR-21 und die miR-660 zeigen eine höhere Expression in Fällen mit Metastasenbildung (jeweils $p=0,038$). MiR-21 zeigt ebenfalls eine positive Korrelation mit der Proliferationsrate ($p=0,003$; Korrelationskoeffizient $-0,54$), wohingegen miR-660 eine inverse Korrelation aufweist ($p=0,047$; Korrelationskoeffizient $0,38$) [58]. Abbildung 7 zeigt die Korrelation der miRNA-Expression mit der Proliferationsrate.

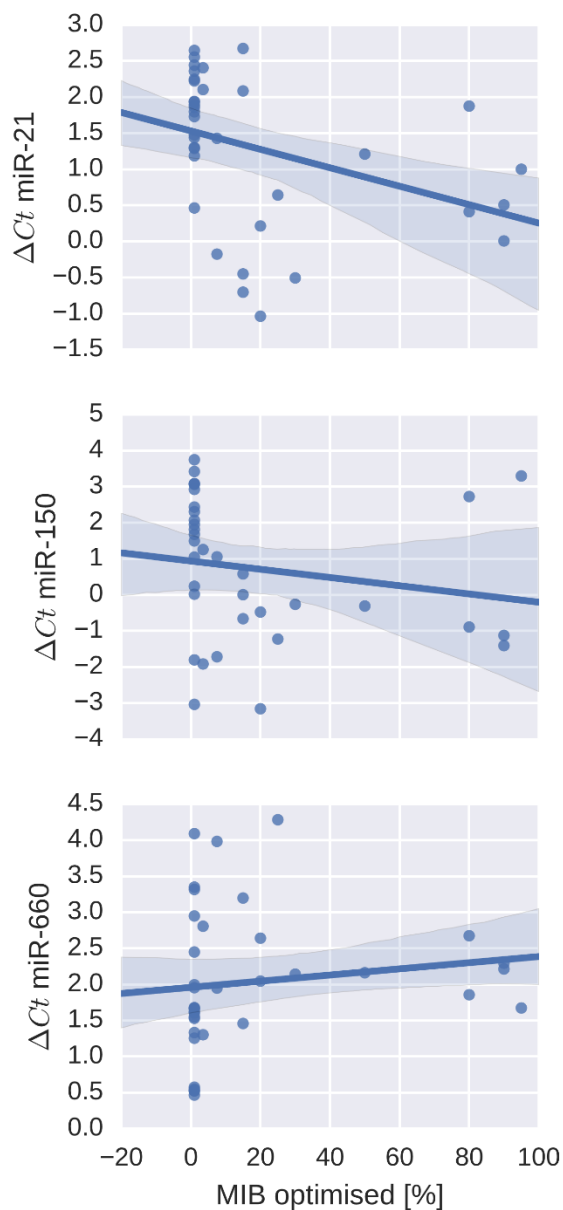


Abbildung 7: Darstellung der Korrelation der miRNA-Expression mit dem Proliferationsindex (MIB1-Färbung) in Fällen mit Metastasierung. Oberer Graph: ΔCt -Wert für miR-21 ($p = 0,003$; Korrelationskoeffizient $-0,54$). Mittlerer Graph: ΔCt -Wert für miR-150 ($p = 0,026$; Korrelationskoeffizient $-0,43$). Unterer Graph: miR-660 ($p = 0,047$; Korrelationskoeffizient $0,38$). Niedrige ΔCt -Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt. [58]

3.3.6 Analyse der miRNA-Profile von GEP-NEN-Metastasen im Hinblick auf die Lokalisation des Primärtumors

In der Analyse der GEP-NEN-Metastasen, sowohl hämatogen als auch lymphogen, zeigen sich in Metastasen von drei unterschiedlichen Ursprungsorganen diverse spezifische miRNA-Expressionen. In Metastasen des Ileums zeigten sich 13 spezifische miRNAs, 7 miRNAs wurden in Metastasen des Colon ascendens gefunden und 5 miRNAs in denen des Pankreas. In den restlichen untersuchten Metastasen anderer Ursprungsorgane, konnten keine spezifischen miRNAs nachgewiesen werden. In Metastasen des Magen zeigten sich keine magenspezifischen miRNAs und Metastasen von Rektum und Appendix fielen aufgrund der geringen Fallzahl aus der Analyse heraus [58]. In Tabelle 26 ist ein Überblick über die spezifischen miRNAs der Metastasen hinsichtlich der Ursprungsorgane der Primärtumore dargestellt.

Tabelle 26: miRNA-Expression in Metastasen spezifisch für das jeweilige Ursprungsorgan [58]

Ursprungsorgan der Metastasen	Pankreas	Ileum	Colon ascendens
Überexpression der miRNA	let-7b miR-127 miR-1274B miR-200c miR-720	let-7g miR-151-5p miR-194 miR-200a miR-200b miR-28-3p miR-30c miR-331 miR-375 miR-484 miR-744	miR-10b miR-135b miR-146a miR-19b miR-93#
Runterregulierte Expression der miRNA		miR-345 miR-886-3p	miR-125a-5p miR-125b

3.3.7 Vergleich der miRNA-Profile von Primärtumoren mit ihren Metastasen

Im Vergleich der miRNA-Profile der Primärtumore mit ihren Metastasen, konnten diverse Übereinstimmungen gesehen werden. In pNEN und in deren Metastasen zeigte die miR-127 eine signifikant höhere Expression als alle anderen Primärtumore und Metastasen anderen Ursprungs ($p=0,014$ (PT) und $p=0,006$ (Metastasen)).

In Primärtumoren des Ileums fanden sich gemeinsam mit den Metastasen 3 überlappende miRNAs, welche jeweils eine höhere Expression zeigten für let-7g (jeweils $p < 0,0001$), miR-200a ($p = 0,029$ (PT) und $p = 0,0004$ (Metastasen)) und miR-331 ($p = 0,0079$ (PT) und $p = 0,0013$ (Metastasen)). Für die Ursprungsorgane Magen und Colon ascendens konnten keine mit den Metastasen überlappenden miRNAs gefunden werden. Die Ursprungsorgane Rektum und Appendix wurden auch hier aufgrund der geringen Fallzahl ausgeschlossen [58].

In Abbildung 8 wird das Verhältnis der unterschiedlichen miRNA-Expression noch einmal dargestellt.

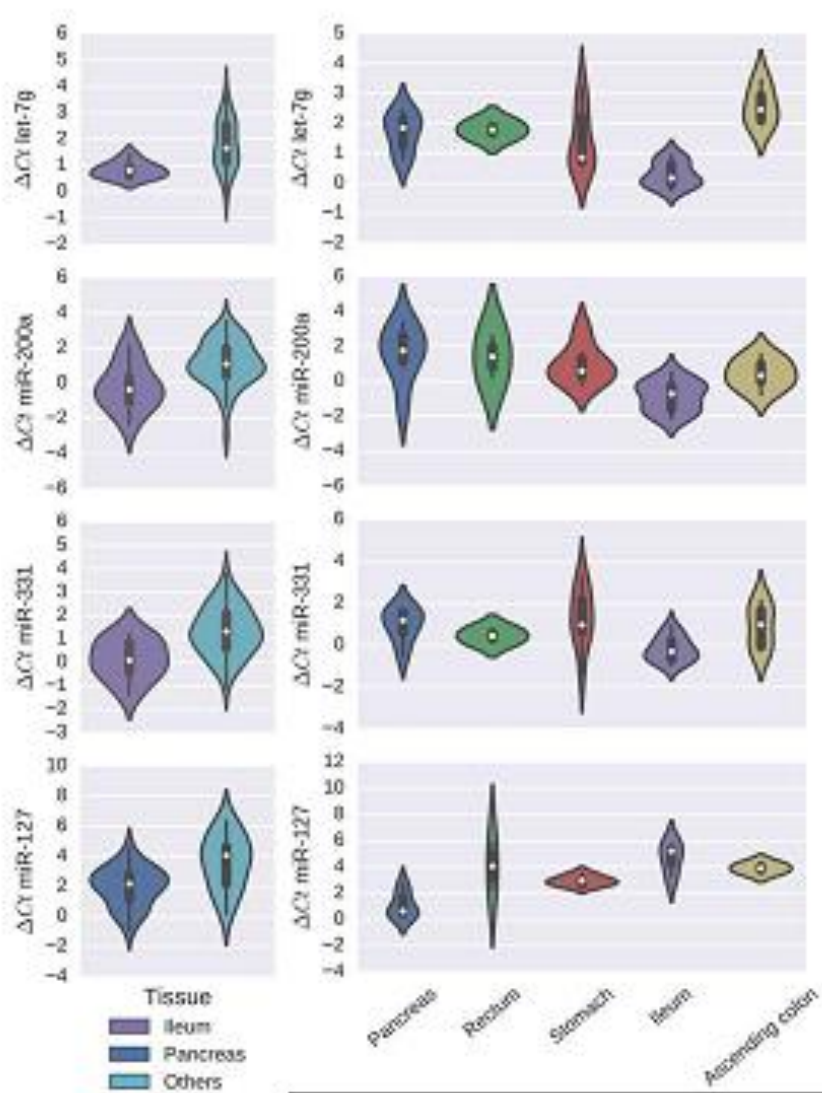


Abbildung 8: Darstellung der Überlappung von miRNA-Expressionsprofilen von Primärtumoren und ihren jeweiligen Metastasen. Links: Violin-Plots mit ΔCt -Werten für unterschiedliche miRNA-Expression in Primärtumoren. Violette Plots stellen Primärtumore des Ileums dar, blaue Plots Fälle mit dem Primärtumor im Pankreas und in den türkisen Plots sind jeweils alle anderen Primärtumore zusammengefasst. Rechts: Die Violin-Plots zeigen ΔCt -Werte für GEP-NEN-Metastasen, der Lokalisation ihres Ursprungstumors zugeordnet (blau = Pankreas, grün = Rektum, rot = Magen, violett = Ileum und gelb = Colon ascendens). Im Zentrum eines jeden Violin-Plots steht ein Box-Plot. Der weiße Punkt zeigt den Median-Wert an. Von links nach rechts: 1. Reihe: ΔCt -Wert für let-7g (Primärtumor $p < 0,0001$, Metastasen $p < 0,0001$). 2. Reihe: ΔCt -Wert für miR-200a (PT $p = 0,029$, Metastasen $p = 0,0004$). 3. Reihe: ΔCt -Wert für miR-331 (PT $p = 0,0079$, Metastasen $p = 0,0013$). Unterste Reihe: ΔCt -Wert für miR-127 (PT $p = 0,014$, Metastasen $p = 0,006$). Niedrige ΔCt -Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt. [58]

4. Diskussion

Grundlegend zeigt unsere Probenauswahl nicht die in der Literatur dargestellte prozentuale Organverteilung [5]. Wir haben prozentual einen deutlich höheren Anteil an pNEN (36,8% vs. 0,8%). Dies ist vor allem damit zu erklären, dass die Universität zu Lübeck ein Pankreas-Zentrum ist und somit mehr Fälle generiert wurden, als auch damit, dass sich bereits ein Forschungsschwerpunkt auf pNEN in der Pathologie der Universität zu Lübeck gebildet hat.

In Bezug auf das durchschnittliche Alter der Patienten bei Erstdiagnose, fallen die NEN der Appendix sowohl bei uns als auch in der vorbeschriebenen Literatur deutlich aus der Reihe [5]. Sie zeigen in unserer Analyse einen Mittelwert von 30,6 Jahren. Dies ist durch die relativ häufig in jungen Jahren durchgeführte Appendektomie und dem daraus erfolgten Zufallsbefund einer NEN zu begründen.

Immunhistochemische Analyse der GEP-NEN

Aus unseren Ergebnissen der immunhistochemischen Auswertung von insgesamt 163 Proben der GEP-NEN Primärtumore und 146 Proben der Metastasen lassen sich diverse Schlussfolgerungen ziehen. Wir legten unser Augenmerk sowohl auf die Untersuchung von immunhistochemischen Markern in den Metastasen zur besseren Zuordnung des Sitzes des Primärtumors als auch auf die Untersuchung der Primärtumore und Metastasen auf ihre Steroidrezeptorexpression, um ggf. weitere Therapieoptionen zu generieren. Auch die Einteilung des Proliferationsindex nach Ki67/MIB-1-Index und PHH3 wurde verglichen. Ein weiterer Bestandteil war die Analyse der Aussagekraft des Wachstumsmusters des Primärtumors und der Metastasen auf die Organlokalisation bzw. die Zuteilung zu einem embryologischen Derivat.

CDX2 kann auch in Metastasen von pankreatischen NEN positiv sein

Der Transkriptionsfaktor CDX2 ist einer der Hauptregulatoren der Entwicklung des Darmes und seiner Homöostase [128]. In unseren Untersuchungen zeigte sich in sämtlichen NEN-Proben des Duodenums, Ileums und der Appendix eine CDX2 Expression. Diese Daten stimmen somit mit denen aus den Untersuchungen von Barbareschi et al. überein [129]. In der Studie wurde die CDX2-Expression in 299 neuroendokrinen Neoplasien unterschiedlichen Ursprungs untersucht. Es zeigte sich eine CDX2-Expression in gastrointestinalen NEN, jedoch nur zu einem geringen Prozentsatz in NEN anderen Ursprungs.

In unserer Untersuchung zeigte sich eine CDX2 Expression in gastrointestinalen NEN Metastasen mit einer Sensitivität von 71% und einer Spezifität von 74%. Nicht zu unterschlagen ist jedoch das auch in 24% der pankreatischen NEN Metastasen eine CDX2 Expression festgestellt wurde. Im Vergleich von Primärtumor und Metastasen bei pNEN ist die CDX2-Expression in den Metastasen

signifikant häufiger als in den Primärtumoren ($p=0,000025$). Dies ist in jedem Fall wichtig zu berücksichtigen, wenn bei CUP-Fällen anhand der Metastase nach dem Primärtumor gesucht wird. Auch Barbareschi et al. weisen in ihrer Studie auf das Vorhandensein von CDX2-Expression in nicht gastrointestinalen NEN und ihren Metastasen hin [129].

Östrogenrezeptorexpression kommt bei Tumoren von Patientinnen häufiger vor

Die Östrogenrezeptorexpression ist aktuell am Besten im Bereich des Brustkrebses sowie der Ovarial- und Uterustumoren erforscht. Häufig wird die Östrogenrezeptorbestimmung bei CUP durchgeführt, um einen potenziellen Tumor im Bereich der Brust, des Uterus oder der Ovarien zu identifizieren. In den letzten Jahren wurde jedoch auch in der Erforschung von Tumoren anderen Ursprungs die ER-Expression untersucht [130] [131] [132]. Die bisherigen Daten der ER-Expression in GEP-NEN sind widersprüchlich und unterscheiden sich im Hinblick auf ER α und ER β . In der Veröffentlichung von Viale et al. [100] wurden 156 NEN des Pankreas, Gastrointestinaltraktes, Respirationstraktes und des Haut untersucht. Es wurde keine ER α Expression in pankreatischen NEN gefunden. In anderen Untersuchungen, zum Beispiel von Alabraba et al. wird jedoch in 40% der Insulinome [102] und von Arnason et al. in 12,5% der pankreatischen NEN [101] eine Expression beschrieben.

Eine Expression von ER β wird von Estrella et al. in pankreatischen NEN beschrieben, 30% mit einer starken Expression, 66% mit einer schwachen Expression [103].

In unserer Untersuchung haben wir ER α Expression (IRS ≥ 2) in einer kleinen Anzahl pankreatischer NEN (7%) gefunden. Signifikant häufiger wurde ER α in nicht pankreatischen NEN (38%, $p<0,001$) detektiert. Außerdem wurde die Expression von ER α häufiger in Proben weiblicher Patienten gefunden (20% männlich, 36% weiblich; $p=0,019$). Anhand dieser Ergebnisse stellt sich die Frage, ob eine Hormonbehandlung in der Therapie von ER-positiven NEN in Erwägung gezogen werden sollte. Es sollte auch weiter untersucht werden, ob diese Tumore unterschiedliche biologische Verhaltensweisen zeigen im Vergleich von männlichen Patienten sowie prä- und postmenopausalen weiblichen Patienten. Aufgrund unserer geringen Studiengröße sind diesbezüglich weitere Forschungen notwendig.

Die PR-Expression in GEP-NEN Metastasen weist auf einen pankreatischen Primärtumor hin

Ebenso wie die Östrogenrezeptorexpression, ist auch die Progesteronrezeptorexpression im Bereich der Brustkrebstumoren sowie den Ovarial- und Uterustumoren am intensivsten untersucht. Jedoch ist die Expression nicht nur auf diese Tumore und auf weibliche Patienten beschränkt. Eine PR-Expression wird in der Literatur häufig in Meningeomen beschrieben und auch in Karzinomen der Gallenblase [108], der Prostata [106], der Harnblase [107] und vielen weiteren Karzinomen wurde

sie nachgewiesen. Im Hinblick auf GEP-NEN, wurde die Progesteronrezeptor-Expression bereits 1992 von Viale et al. [100] beschrieben, in 58,3% der pankreatischen NEN. Außerdem ist die Bestimmung der PR-Expression ein Teil des immunhistochemischen Algorithmus für CUP-NEN [35].

In unseren Untersuchungen hat sich im Vergleich zu Viale et al. [100] eine häufigere PR-Expression in pankreatischen NEN gezeigt mit 77% zu 58,3%. Zudem konnten wir zeigen, dass die PR-Expression signifikant weniger Fällen bei den Metastasen der pankreatischen NEN erhalten geblieben ist, die pankreatische NEN Metastasen aber trotzdem signifikant häufiger Progesteronrezeptor-positiv zeigten ($p < 0,001$). Eine PR-Expression in GEP-NEN Metastasen hat somit einen hohen positiven als auch negativen prädiktiven Wert (88% und 76%) sowie eine hohe Spezifität (97%) mit einer Sensitivität von 46% für einen Primärtumor im Pankreas. Dies ist eine wichtige Erkenntnis für die Suche eines Primärtumors bei Progesteronrezeptor-positiven Metastasen. Ein Unterschied in der Verteilung der Progesteronrezeptorexpression in männlichen und weiblichen Proben konnte weder von Viale et al. noch von uns nachgewiesen werden ($p = 0,182$).

Vergleich von Primärtumor und Metastasen

In diversen Studien wurden bereits die Unterschiede zwischen Primärtumoren und Metastase im Hinblick auf die Morphologie, die Immunhistochemie und die molekulare Ebene für verschiedene Tumorentitäten untersucht [133] [134] [135]. In unseren Untersuchungen zeigte sich lediglich ein geringer Unterschied zwischen Primärtumor und Metastasen. Abbildung 9 zeigt eine prozentuale Übersicht über die Verteilung der positiven Fälle der jeweils durchgeführten Färbungen.

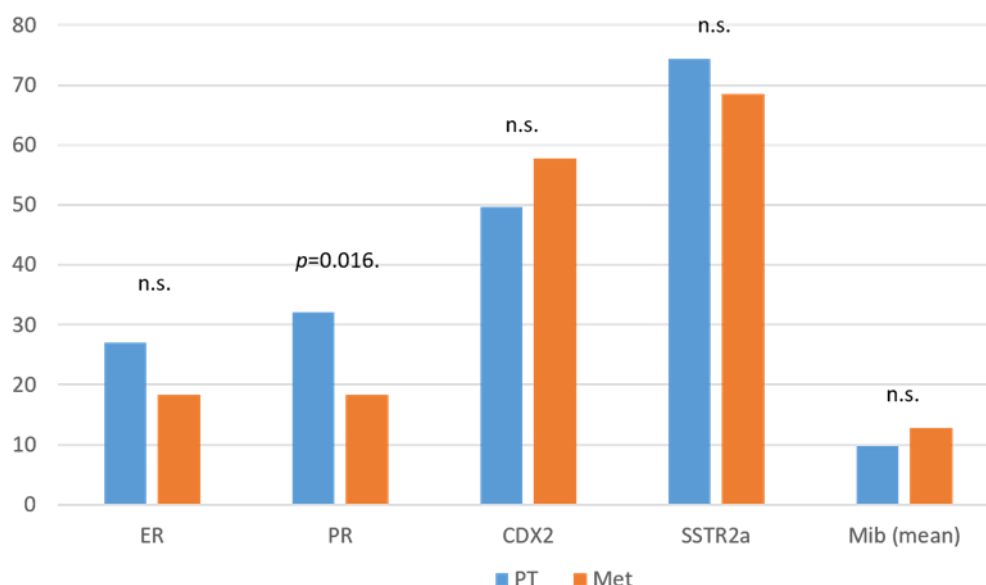


Abbildung 9: Unterschiede zwischen Primärtumoren und Metastasen. ER, PR, CDX2 und SSTR2a zeigen den prozentualen Anteil der positiven Fälle. Mib (mean) zeigt den Mittelwert sämtlicher Proben an. n.s. (nicht signifikant). Met (Metastasen) [95]

Im Hinblick auf alle Primärtumore zeigte sich lediglich bei der PR-Expression ein signifikanter Unterschied zwischen Primärtumoren und Metastasen. Hier zeigte sich im Hinblick auf sämtliche GEP-NEN die Progesteronrezeptorexpression in den Metastasen signifikant seltener positiv als es bei den Primärtumoren der Fall ist ($p=0,016$). Bei allen weiteren untersuchten Markern zeigten sich keine signifikanten Unterschiede von Primärtumor und Metastase.

Zu bemerken ist weiterhin, dass in unseren Untersuchungen der Proliferationsindex (Ki67/MIB-1-Index) in den Metastasen nicht signifikant höher war als in den Primärtumoren. Ebenso war die Expression von SSTR2a in den Metastasen ähnlich hoch wie in den Primärtumoren (68,5% und 74,4%). Somit zeigen unsere Daten nicht die in der Literatur bereits beschriebene aggressive Dedifferenzierung der Metastasen aus einer Fallbeschreibung von Poiana et al. aus dem Jahr 2013 [136].

In den pankreatischen NEN scheint sich der immunhistochemische Typ jedoch in den Metastasen substanziell zu verändern, wie wir es am Beispiel von CDX2 bereits zeigen konnten und auch in der Studie von Barbareschi et al. beschrieben wurde [129]. Dies kann die Identifikation des Primärtumors bei CUP deutlich erschweren und muss in der Analyse berücksichtigt werden.

Ki67/MIB und PHH3 sind Mitosemarker mit einer hohen Korrelation

In der Analyse unserer Proben zeigt sich eine hohe Korrelation von Ki67/MIB und PHH3 ($r=0,726$). Verglichen mit der Literatur zeigt sich, ebenfalls in der Arbeitsgruppe von Voss et al. in ihrer Analyse von 63 pNEN ebenfalls, dass es eine hohe Korrelation zwischen den beiden Verfahren zur Ermittlung der Proliferationsrate gibt. Sie verglichen das Auszählen der Mitosen in der HE-Färbung mit dem Ki67-Index und der Färbung mit PHH3 [78]. Des Weiteren zeigt sich in der Literatur in einer Studie an 63 pNEN von Tracht et al. [79] ebenfalls eine hohe Korrelation von Ki67/MIB-1-Index und PHH3 ($r=0,67$) und kein signifikanter Unterschied in der Proliferationsrate und in der Einteilung der Tumorgade. Es werden lediglich in einem sehr geringen Anteil der Fälle Abweichungen der Einteilung des Gratings beschrieben (G1: Ki67 52% und PHH3 57%; G2: Ki67 41% und PHH3 38%; G3: Ki67 6% und PHH3 5%). Verglichen mit unseren Ergebnissen, zeigt sich eine ähnliche Verteilung im Grating, wobei hervorzuheben ist, dass wir in der Einteilung nach PHH3 keine G3 Tumoren identifizieren konnten (G1: Ki67 76,5% und PHH3 90,3%; G2: Ki67 20,8% und PHH3 9,7%; G3: Ki67 11,7% und PHH3 0%).

Insgesamt wird in der Einteilung nach Ki67/MIB-1-Index auch in der Analyse von Tracht et al. [79] sowie von Draganova-Tacheva et al. [137], einer Analyse von 23 pNEN, eine größere Bandbreite der positiv angezeigten Zellen beschrieben als in der Färbung mit PHH3. Dies stimmt mit unseren Ergebnissen überein. Zu erklären ist dies vor allem damit, dass in der Färbung mit MIB-1 auch Apoptosen markiert werden, in der Färbung mit PHH3 werden lediglich die Mitosen markiert, keine Apoptosen oder andere Zelluntergänge [79] [138].

In unseren Untersuchungen zeigte sich im Vergleich des Ki67/MIB-1-Index und der PHH3-Färbung von 154 Primärtumoren in der Einteilung des Gratings nach der Proliferationsrate ebenfalls eine tendenziell höhere Einstufung nach MIB-1 im Vergleich zu PHH3. In 49 von 154 Fällen (31,8%) gab es beim Proliferationsindex bestimmt nach Ki67/MIB-1-Index und PHH3 eine unterschiedliche Einteilung im Grading. In Bezug auf diese Fälle, wurde das Grading zu 31,2% in der Einteilung nach PHH3 niedriger eingestuft, nur in einem Fall (0,006%) zeigte ein höheres Grading durch PHH3. Insgesamt kam es in 59,2% der Fälle zu einem Wechsel zwischen G1 und G2, in 40,8% zu einem Wechsel von G3 zu G2 oder G1. In der bisherigen Literatur gibt es noch keine vergleichbaren Studien. Bislang wurden diese Untersuchungen vor allem in der Analyse von Brustkrebs durchgeführt, jedoch primär mit dem Vergleich von PHH3 mit der Anzahl der Mitose in der HE-Färbung, wie es in der Studie von Woo et al. beschrieben ist [139]. Weitere Studien zur Vergleichbarkeit des Gratings mit Ki67/MIB-1-Index und PHH3 in GEP-NEN sollten somit durchgeführt werden.

Wachstumsmuster lässt keinen Rückschluss auf das embryologische Derivat zu

Bei der Untersuchung der Wachstumsmuster im Hinblick auf ihr embryologisches Derivat, konnten wir die in der Literatur von Soga [73] angegebenen Verteilungen nicht vollständig bestätigen.

Im Vorderdarm wurde bei uns das drüsenartige Wachstumsmuster C mit 30,3% am häufigsten in den Primärtumoren vorgefunden, gefolgt von Wachstumsmuster B mit 27,3%. Nach Soga et al. wird das trabekuläre Wachstumsmuster B am häufigsten im Vorderdarm beschrieben. Im Mitteldarm wurde nach Soga et al. am häufigsten das lobuläre Wachstumsmuster A beschrieben. In unserer Studie war das drüsenartige Wachstumsmuster C mit 41,7% am häufigsten vertreten, gefolgt von Wachstumsmuster A mit 31,2%. In den Metastasen der Primärtumore des Mitteldarms war ebenfalls das Wachstumsmuster C am häufigsten vertreten mit 37,0%. Im Hinterdarm war B das häufigste Wachstumsmuster mit 55,6%, in der Literatur wird das gemischte Wachstumsmuster E als typisch beschreiben. In unserer Untersuchung sind jedoch nur 9 Proben aus den Primärtumoren des Hinterdarms in die Analyse eingegangen, was die Aussagen der statistischen Auswertung deutlich abschwächt.

Eine Korrelation zwischen embryologischem Derivat und dem Wachstumsmuster konnte anhand unserer Daten nicht dargestellt werden ($r = -0,094$; $p = 0,245$).

miRNA-Analysen in GEP-NEN

Im zweiten Teil unserer Studie haben wir aus einer Kohorte von 76 GEP-NEN und 45 dazugehörigen lymphogenen und hämatogenen Metastasen microRNA-Profile erstellt, um Expressionsmuster für bestimmte anatomische Primärtumorlokalisationen und deren Metastasen zu identifizieren. Zusätzlich legten wir ein Augenmerk auf die Korrelation zwischen miRNA-Muster der Primärtumore und dem Proliferationsindex als Aggressivitätsmarker. Weiterhin haben wir die miRNA-Profile von metastasierten und nicht metastasierten Primärtumoren miteinander verglichen. Darüber hinaus konnten wir spezifische miRNA-Muster für Primärtumore des Pankreas, Ileums, der Appendix und des Rektums identifizieren, sowie für Metastasen von NEN des Pankreas, Ileums und des Colon ascendens. Die Identifizierung von charakteristischen miRNA-Profilen in GEP-NEN-Metastasen könnte zu einer erheblichen Verbesserung der Diagnostik von CUP führen, um anhand der Profile die wahrscheinlichste Lokalisation des Primärtumors weiter einzugrenzen [58].

Trotz zunehmender Bekanntheit sind die bis heute erhobenen Daten über die miRNA-Expression bei neuroendokrinen Tumoren im Vergleich zu verschiedenen anderen Tumorarten, wie zum Beispiel das Adenokarzinom oder das Plattenepithelkarzinom noch sehr spärlich. Dennoch haben einige Studien eine Vielzahl an dysregulierenden miRNAs im Vergleich zu angrenzendem Normalgewebe identifizieren können. Diese Studien haben sich hauptsächlich auf neuroendokrine Tumore im Dünndarm und im Pankreas fokussiert. MiRNAs, die in diesen Studien als beteiligt an der Entstehung des Tumors identifiziert wurden, sind zum Beispiel miR-19, miR-129-5p, miR-10b und miR-200 [140] [141]. Ein Vergleich der GEP-NEN untereinander anhand der miRNA-Profile von Primärtumoren unterschiedlichen Organursprungs wurde jedoch noch nicht durchgeführt [58].

Organspezifische miRNAs in GEP-NEN

In unserer Studie wurden erstmals ortsspezifische miRNA-Profile in GEP-NEN identifiziert. Wir konnten den einzelnen Ursprungsorganen unterschiedliche miRNA-Expressionen zuordnen. Für das Pankreas zeigten sich 13 spezielle miRNAs, im Ileum konnten wir 9 miRNA nachweisen, im Rektum 1 miRNA und in der Appendix 4 miRNAs. Für pNEN gehörten zu den detektierten miRNAs nur zwei miRNAs (miR-126 und miR-155), welche bereits in anderen Studien zu Adenokarzinomen des Pankreas als dysregulierende miRNAs berichtet wurden [142] [143]. In beiden Fällen scheinen sich die Funktionen jedoch zu unterscheiden. Für die miR-126 wurde eine verringerte Expression in Adenokarzinomen des Pankreas beschrieben, was zu einer KRAS Erhöhung führt [142]. Für die miR-155 wurde die vermehrte Expression mit dem Fortschreiten des Karzinome in Verbindung gebracht [143], wohingegen eine verringerte Expression von miR-155 für pNEN beschrieben wird [120] [121]. Diese Forschungsergebnisse stehen zum Teil im Gegensatz zu unseren Daten, die eine erhöhte Expression von miR-126 und eine verminderte Expression von miR-155 in pNEN zeigen.

Im Hinblick auf NEN des Ileums und des Rektums, ergibt sich keine Übereinstimmung mit bisher veröffentlichten Untersuchungen anderer bösartiger Tumore gleichen Ursprungsorgans, obwohl es nachweislich auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa eine erhöhte Expression von miR-16, miR-151 und miR-200c gibt [144].

Bei den Primärtumoren der Appendix-NEN und den spezifischen miRNA-Profilen, konnten in anderen Studien bei Adenokarzinomen der Appendix eine Überlappung von zwei miRNAs gezeigt werden [145]. MiR-200c und miR-223 waren jedoch bei Adenokarzinomen vermehrt exprimiert, bei neuroendokrinen Tumoren eine verringerte Expression gezeigt wurde.

Die in unserer Studie erhobenen Daten können möglicherweise organspezifische Unterschiede in NEN widerspiegeln. Allerdings ist eine Untersuchung größerer Serien notwendig, um wirklich belastbare Daten zu generieren. Bei der Recherche zeigte sich auch, dass es anscheinend auch erhebliche Unterschiede in den miRNA-Profilen unterschiedlicher Tumorarten im gleichen Ursprungsorgan gibt. Somit konnten wir einige bereits gut untersuchte spezifische miRNAs anderer Tumorarten des gleichen Ursprungsorgans in unserer Untersuchung der NEN nicht nachweisen.

Vergleich mit microRNA-Profilen der tumorfreien Gewebe

Im Weiteren haben wir uns mit den spezifischen miR-Profilen aus verschiedenen Normalgeweben, also tumorfreien Geweben, beschäftigt und diese mit unseren Profilen verglichen. Hierfür haben wir die Daten des „Human miRNA Tissue Atlas“ herangezogen [146]. In dieser Studie wurde von einzelnen miRNAs berichtet, die spezifisch für bestimmte Gewebe sind. Für das Colon wurden die hsa-miR-205-5p, hsa-miR-514a-3p und hsa-miR-192-5p beschrieben. Dem Dünndarm wurden die hsa-miR-449c-5p und die hsa-miR-449b-5p zugeschrieben. Zusätzlich wurde beschrieben, dass miRNAs der -3p-Familie spezifisch für das Pankreas zu sein scheinen, wohingegen die -5p-Familie spezifisch für den Magen zu sein schien.

Wir haben somit unsere Ergebnisse der unterschiedlichen miRNA-Expression in neuroendokrinen Tumoren unterschiedlicher Ursprungsorgane mit diesen Daten des Gewebeatlas verglichen und konnten einige Übereinstimmungen der miRNAs finden.

Im Normalgewebe des Pankreas als auch in den pNEN wurde die hsa-miR-539-5p, hsa-miR-652-5p und die hsa-miR-155-5p gefunden. Hsa-miR-200a-5p und hsa-miR-324-3p wurden sowohl im Normalgewebe des Dünndarms als auch in NEN des Ileums gefunden. Für Normalgewebe und NEN des Colons und der Appendix konnten die hsa-miR-200c-3p, hsa-miR-24-3p und hsa-miR-151a-3p als Übereinstimmung gefunden werden [146] [147].

Die miR-193b wurde laut Thorns et al. in pNEN stärker exprimiert als in gesundem pankreatischen Gewebe [148] und laut einer Studie von Roldo et al. ist eine typische miRNA-Konstellation für pNEN eine Überexpression von miR-103 und miR-107 in Kombination mit einer verminderten

Expression der miR-155 [149]. In unseren Untersuchungen konnte lediglich die verminderte Expression der miR-155 bestätigt werden.

In der Studie von Li et al. zeigte sich, dass eine verminderte Expression der miR-31, miR-129-5p, miR-133a und miR-215 vorliegt, wenn man gesunde enterochromaffine Zellen des Dünndarms mit Zellen eines Primärtumors eines Dünndarm-NEN vergleicht. Noch geringer ist die Expression eben dieser miRNA in den Metastasen der Dünndarm NEN [150]. Eine weitere Studie von Miller et al. konnte insgesamt 39 miRNAs nachweisen, die in Dünndarm-NEN, verglichen mit gesundem Dünndarmgewebe, dysreguliert sind. Es zeigte sich eine erhöhte Expression der miR-204-5p, miR-7-5p und miR-375 im PT im Vergleich zu gesundem Gewebe. Eine erniedrigte Expression der miR-1 und miR-143-3p wurde in den Lebermetastasen und Lymphknotenmetastasen gemessen im Vergleich zum PT. MiR-1 und miR-143-3p regulieren die Onkogene FOSC und NUA2, welche durch eine verminderte miRNA-Expression vermehrt gebildet werden [151]. In einer Studie von Ruebel et al. waren die miR-133a, miR-145, miR-146, miR-222 und miR-10b in den Metastasen von Dünndarm-NEN in ihrer Expression runterreguliert, die miR-183, miR-488, miR-19a und miR-19b hingegen zeigten eine höhere Expression im Vergleich zu den Primärtumoren. Bei der miR-133 waren die Ergebnisse am deutlichsten nachweisbar [152]. Wir konnten in unserer Untersuchungsreihe keine der genannten miRs als spezifisch für den Dünndarm ausweisen.

Leider wurden sowohl unsere Studie als auch die zum Vergleich herangezogenen Studien nur mit einer geringen Anzahl an Proben durchgeführt. Es zeigte sich bei in den Daten des „Human miRNA Tissue Atlas“ [146] eine Überlappung der miR-Expression von verschiedenen Geweben, vor allem im Gehirn, den Nieren, der Milz und des Nervengewebes. Dies führt dazu, dass eine Spezifität der miRNA-Profile für unterschiedliche Gewebe nicht immer gegeben ist. Weitere Forschungen sind somit notwendig.

Vergleich der microRNA-Profile von Tumoren mit und ohne Metastasen

Wenn wir unsere Daten im Hinblick auf Unterschiede in der miRNA-Expression von Tumoren mit und ohne Metastasen mit bereits vorhandenen Veröffentlichungen von Forschungsergebnissen vergleichen, stimmen unsere Untersuchungen zum Teil mit den bereits bekannten Daten überein. In einer Studie von Bowden et al. wurden miRNAs von Dünndarm-NEN untersucht. Es zeigte sich in Tumoren mit Ausbildung von Metastase eine erhöhte Expression von miR-21 und miR-600. Eine geringe Expression wurde beschrieben bei miR-150 [153]. Die miR-200a zeigt in einer weiteren Studie von Li et al. eine höhere Expressionsrate im Stadium der Lebermetastasierung als in Stadien ohne Lebermetastasen [154], dies konnten wir nicht bestätigen.

Darüber hinaus wurde berichtet, dass die miR-21 häufig mit Lebermetastasen von Pankreas-Neoplasien in Verbindung gebracht wird [149]. Dies lässt auf eine aggressive Tumorbilogie rückschließen. Zudem zeigten die oben genannten miRNAs (miR-21, miR-150 und miR660) eine

starke und konkordante Assoziation mit dem Proliferationsindex Ki67/MIB-1. Zusätzlich haben wir 41 weitere miRNAs gefunden, die entweder eine inverse oder positive Korrelation mit dem Proliferationsindex Ki67/MIB-1 aufweisen. Außerdem haben wir in unseren 37 untersuchten Proben von pNEN eine Korrelation von miR-642 und dem Proliferationsindex nachweisen können [148]. Des Weiteren wird berichtet, dass eine hohe Expression von miR-155, miR-221 und miR-222 eine hohe Korrelation mit einem erhöhten Proliferationsindex in Pankreaskarzinomen aufweist [143] [149] [155].

Die Rolle der miR-196a bei pNEN wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Ergebnisse aus zwei verschiedenen Studien aus dem Jahr 2015 zeigen zum einen, dass eine hohe miR-196a-Expression nicht mit dem Tumorwachstum assoziiert ist [156], zum anderen jedoch, dass es eine Verbindung zwischen hoher miR-196a-Expression und hohem Tumorstadium, einem hohen Ki67-Proliferationsindex und einer geringeren Überlebenszeit und nach chirurgischer Resektion, auch eine kürzere tumorfreie Zeit gibt [157] [158]. Die Erhöhung der miR-27b ist laut einer Studie aus dem Jahr 2014 ein prognostischer Marker für die Entwicklung eines Rezidivs bei resezierten pNEN [158]. In unserer Untersuchung konnten wir die miR-196a in pNEN nicht als spezifisch identifizieren und auch eine Korrelation mit dem Ki67-Proliferationsindex konnte nicht nachgewiesen werden. Ebenso zeigte sich bei der miR-27b bei uns keine Korrelation mit dem Ki67-Proliferationsindex.

Somit konnten wir insgesamt einige bereits zuvor beschriebene Zusammenhänge zwischen der miRNA Expression und der Tumorphiliferation bestätigen, aber auch weitere miRNAs identifizieren, welche ebenfalls in einem engen Zusammenhang mit dem Ki67/MIB-1 Proliferationsindex stehen. Diese neu identifizierten miRNA können möglicherweise als zusätzlicher Marker für die Proliferationsrate in weiteren Studien dienen, vor allem wenn in speziellen Fällen die mitotische Auszählung unter dem Mikroskop genau auf einen Grenzbereich zwischen zwei Proliferationsgruppen fällt.

Unterschiede in den miRNA-Profilen zwischen Primärtumoren mit lymphogener und hämatogener Metastasierung

Nachdem wir miRNA-Profile für Fälle mit Metastasen insgesamt erstellt und analysiert haben, haben wir die Fälle aufgeteilt in lymphogene und hämatogene Metastasen und diese näher angeschaut. Bei der Analyse der miRNA-Profile von Primärtumoren mit hämatogener Metastasierung fanden wir insgesamt 5 miRNAs, die im Vergleich zu Primärtumoren mit lymphogener Metastasierung eine veränderte Expression aufwiesen. Auf der anderen Seite zeigten die Primärtumore mit lymphogener Metastasierung in insgesamt 32 miRNAs eine veränderte Expression. Dieser große Unterschied lässt sich am ehesten auf die Tatsache zurückführen, dass wir insgesamt deutlich mehr Fälle mit lymphogener Metastasierung untersucht haben mit insgesamt 56 Fällen im Vergleich zu nur 19 Fällen mit hämatogener Metastasierung. Zusätzlich entspricht die lymphogene Metastasierung eher

einer homogenen Gruppe im Vergleich zur hämatogenen Metastasierung mit einer sehr heterogenen Gruppe von befallenen Organen.

In Übereinstimmung mit den zuvor veröffentlichten Daten, konnten wir die Überexpression von miR-19a und miR-19b in Fällen mit Lymphknotenmetastasen bestätigen [123] [124] [150] [151] [154].

Keine Überschneidung gab es jedoch zwischen unseren Daten und den bereits veröffentlichten Daten in der Literatur im Hinblick auf metastasierte NEN des Ileums. In der Literatur wird eine verringerte Expression von miR-1, miR-10b, miR-129-5p, miR-133a, miR-143-3p, miR-145, miR-146, miR-215, miR-222 und miR-31 beschrieben, sowie eine vermehrte Expression von miR-183, miR-19a, miR-19b, miR-200a und miR-488. MiRNA wie zum Beispiel miR-10b und miR-17 wurden in Verbindung mit Invasivität, Tumorausbreitung und generell schlechterem Überleben der Patienten mit Pankreaskarzinomen gebracht [159] [160], obwohl eine direkte Verbindung zur Bildung von Metastasen bis jetzt nicht nachgewiesen werden konnte.

Bei wiederum anderen miRNAs, wie zum Beispiel miR-125b, konnte ein direkter Zusammenhang für die lymphogene Metastasierung in kolorektalen Karzinomen und Magenkarzinomen gezeigt werden [161] [162]. In der Studie von Mitsuhashi et al. konnte eine hohe Expression der miR-885-5p mit einer Invasion der Lymphgefäße assoziiert werden [126].

Wir konnten insgesamt mehrere miRNAs bestätigen, von denen bereits berichtet wurde, dass diese mit der Bildung von Lymphknotenmetastasen assoziiert sind. Zusätzlich konnten wir mehrere miRNAs aufweisen, die entweder mit einer lymphogenen oder hämatogenen Metastasierung im Zusammenhang stehen. Ob diese Ergebnisse für die Patienten klinische Relevanz haben, um den Krankheitsverlauf voraussehen zu können, muss in weiteren Studien eingehend geprüft werden.

miRNA-Profil von GEP-NEN Metastasen können Hinweise auf den Primärtumor geben

In unseren Untersuchungen haben wir spezifische miRNA-Profile von GEP-NEN Metastasen identifizieren können, die anhand ihrer Charakteristika Rückschlüsse auf den Primärtumor ziehen lassen. Dies konnten wir für Metastasen des Pankreas, des Ileums und des Colon ascendens nachweisen. Wir konnten für Metastasen von pNEN insgesamt 5 dysregulierte miRNAs aufzeigen, für Metastasen von NEN des Ileums 13 miRNAs und für Metastasen von NEN des Colon ascendens insgesamt 7 miRNAs.

Bis heute gibt es keine vergleichbare Studie, die sich auf die Unterschiede der miRNA-Profile von GEP-NEN Metastasen unterschiedlicher Ursprungsorgane konzentriert. Nur eine Studie berichtet über Unterschiede zwischen NEN des Ileums und ihren Metastasen, wobei 5 dysregulierte miRNAs beschrieben werden. Eine vermehrte Expression von miR-204-5p, miR-7-5p und miR-375 in den Metastasen sowie eine verringerte Expression von miR-1 und miR-143-3p wird berichtet. Zu unseren

Ergebnissen gibt es dahingehend lediglich eine Überlappung mit der miR-375, welche auch in unserer Untersuchung spezifisch in Metastasen von NEN des Ileums dysreguliert war [151]. Da es jedoch keine vergleichbaren Studien gibt, vor allem nicht bei pNEN, die den größten Anteil unserer Untersuchten Proben ausgemacht haben, bleibt abzuwarten, ob die von uns identifizierten Profile und Muster der miRNA in noch ausstehenden Studien bestätigt und verfeinert werden können.

Um der Verbindung von miRNA-Profilen von Primärtumor und Metastase weiter nachzugehen, haben wir nach möglichen Überschneidungen von dysregulierten spezifischen miRNAs von Primärtumoren und Metastasen gesucht. Eine solche Studie wurde bisher auch noch nicht durchgeführt. Wir haben eine dysregulierte miRNA spezifisch für Primärtumor und Metastase von pNEN gefunden, die miR-127. Spezifisch für Primärtumor und Metastase von NEN des Ileums konnten wir drei miRNAs identifizieren, let-7g, miR-200a und miR-331.

Anhand dieser Ergebnisse und noch weiteren Folgestudien könnte eine Klassifizierung von Metastasen bei unbekannten Primärtumoren ermöglicht werden, um die wahrscheinlichste Lokalisation des Primärtumors bei einem GEP-NEN zu benennen. Selbstverständlich immer in Kombination mit weiteren immunhistochemischen Analysen und der Zusammenschau aller erhobenen Befunde.

Aufgrund der in unserer Studie geringen Anzahl von NEN des Magens, des Rektums und der Appendix mit entsprechenden ausgebildeten und untersuchten Metastasen, lässt sich mit den erhobenen Daten aktuell noch keine Schlussfolgerung für spezifische miRNA Profile dieser Tumorentität tätigen.

In CUP-NEN, bei denen der Primärtumor auch nach gründlicher Diagnostik und intensiver Suche nicht gefunden werden kann, könnten unsere Ergebnisse in Zusammenarbeit mit weiteren molekularen und immunhistochemischen Analysen [95], den Kollegen in der Klinik jedoch helfen die beschriebenen Fälle in Zusammenschau aller Befunde in diagnostische Gruppen einzuteilen und somit eine Hilfestellung für mögliche Therapieoptionen oder die Indikationsstellung für weitere gezielte Diagnostik zu stellen.

5. Zusammenfassung

Neuroendokrine Neoplasien (NEN) entwickeln sich aus Zellen des neuroendokrinen Systems und machen ca. 1% aller bösartigen Erkrankungen aus. Somit gehören sie zu den seltenen Erkrankungen. Etwa 30% der NEN entwickeln sich funktionell aktiv und produzieren und speichern Neuropeptide und Hormone. 70% sind funktionell inaktiv und fallen daher häufig erst als Zufallsbefund bei Sonographien auf oder durch Schmerzen, obstruktives Wachstum oder funktionell aktive Metastasen. Bei Diagnosestellung haben ca. 40-50% der NEN bereits Metastasen gebildet.

In dieser Arbeit wurden Primärtumoren und Metastasen von neuroendokrinen Tumoren des Gastrointestinaltraktes immunhistochemisch und bezüglich des miRNA-Expressionsmusters untersucht. Es wurden 163 Primärtumoren und 146 Metastasen immunhistochemisch und 76 Primärtumoren und 45 Metastasen bezüglich des miRNA-Expressionsmusters analysiert.

In den immunhistochemischen Untersuchungen zeigte sich, dass Tumoren von weiblichen Patienten signifikant häufiger Östrogenrezeptor positiv waren als von männlichen Patienten. Zudem waren pankreatische NEN signifikant häufiger Progesteronrezeptor-positiv als die nicht-pankreatischen NEN.

In der miRNA Analyse konnten wir Primärtumoren von Pankreas, Ileum, Appendix und Rektum jeweils mindestens eine spezifische miRNA zuordnen. Zusätzlich konnten wir spezifische miRNA bei Metastasen von Ileum, Colon ascendens und Pankreas nachweisen, welche zum Teil mit denen der Primärtumore übereinstimmen. Des Weiteren wurden sieben miRNAs detektiert, die in metastasierenden und nicht metastasierenden Primärtumoren unterschiedlich stark exprimiert wurden.

Unsere Untersuchungen bestätigen in der immunhistochemischen Analyse zum Großteil bereits veröffentlichte Studien. Hinsichtlich der miRNA Analyse von GEP-NEN gibt es bisher keine vergleichbare Studie. Im Datenvergleich der miRNA Analyse von gastroenteropankreatischen Neoplasien anderen Zellursprungs und Vergleichsproben gesunder Organe des gastroenteropankreatischen Systems, lassen jedoch Rückschlüsse zu, dass die miRNA-Profile von Primärtumoren Hinweise auf die Metastasierung geben können und bei der Analyse von Metastasen Rückschlüsse auf den Primärtumor gezogen werden können.

Hinsichtlich unserer geringen Anzahl der untersuchten Proben sollten diese Ergebnisse jedoch vorsichtig interpretiert werden. Es bedarf noch weiterer intensiver Forschung auf diesem Gebiet, um die Daten zu validieren und belastbare Aussagen treffen zu können.

6. Literaturverzeichnis

- [1] E. D. Williams und M. Sandler, „The classification of carcinoid tumours,“ *Lancet*, pp. 238-239, Februar 1963.
- [2] M. Kulke und R. Mayer, „Carcinoid tumors,“ *New England Journal of Medicine*, pp. 858-868, 18 März 1999.
- [3] G. Rindi, R. Arnold, F. T. Bosman, C. Capella, D. S. Klimstra, G. Klöppel, P. Komminoth und E. Solcia, „Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system,“ in *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*, 4 Hrsg., Lyon, IARC, 2010, pp. 13-14.
- [4] B. I. Gustafsson, M. Kidd und I. M. Modlin, „Neuroendocrine tumors of the diffuse neuroendocrine system,“ *Current opinion in oncology*, Nr. 20(1), pp. 1-12, Januar 2008.
- [5] I. M. Modlin, K. D. Lye und M. Kidd, „A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors,“ *Cancer*, Bd. 97, Nr. 4, pp. 934-959, 15 Februar 2003.
- [6] A. Rinke und R. Arnold, „Aktuelle Therapie neuroendokriner Tumoren,“ *Arzneimitteltherapie*, 2014.
- [7] N. V. Adsay und D. S. Klimstra, „Neuroendocrine Tumors of the Gastrointestinal and Pancreatobiliary Tracts,“ in *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas*, 3 Hrsg., Elsevier, 2015, pp. 803-820.
- [8] A. Rinke, „net register,“ 2015. [Online]. Available: http://www.net-register.org/wDeutsch/ne_tumore/allgemein/index.php?navanchor=1110006. [Zugriff am 12 Februar 2017].
- [9] C. Mosquera, N. J. Koutlas und T. L. Fitzgerald, „Localized high-grade gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: Defining prognostic and therapeutic factors for a disease of increasing clinical significance,“ *European journal of surgical oncology*, Nr. 42(10), pp. 1471-1477, Oktober 2016.
- [10] D. T. Chan, A. O. Luk, W. Y. So, A. P. Kong, F. C. Chow, R. C. Ma und A. W. Lo, „Natural history and outcome in Chinese patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: - a 17-year retrospective analysis,“ *BMC endocrine disorders*, Februar 2016.
- [11] A. Vinik, E. Feliberti und R. R. Perry, „Carcinoid tumors,“ *endotext.org*, Januar 2014.
- [12] G. Klöppel, „Tumoren des endokrinen Pankreas,“ *Pathologe*, Nr. 24, pp. 265-271, 2003.
- [13] D. K. Andersen, „Current diagnosis and management of Zollinger-Ellison syndrome,“ *Annals of surgery*, Nr. 210(6), pp. 685-703, 1989.
- [14] J. Wei, X. Song, X. Liu, Z. Li, N. Ranasinha, J. Wu und Y. Miao, „Glucagonoma and Glucagonoma Syndrome: One Center's Experience of Six Cases,“ *Journal of pancreatic cancer*, Nr. 4(1), pp. 11-16, Mai 2018.

- [15] D. Schizas, A. Mastoraki, G. Bagias, R. Patras, D. Moris, I. I. Lazaridis, N. Arkadopoulos und E. Felekouras, „Clinicopathological data and treatment modalities for pancreatic vipomas: a systematic review,“ *Journal of B.U.ON.*, Nr. 24(2), pp. 415-423, 2019.
- [16] M. Díez, A. Teulé und R. Salazar, „Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: diagnosis and treatment,“ *Annals of Gastroenterologie*, pp. 29-36, 2013.
- [17] M. Schott, G. Klöppel, A. Raffel, A. Saleh, W. T. Knoefel und W. A. Scherbaum, „Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien,“ *Ärzteblatt*, 2011.
- [18] I. Modlin, M. Kidd, I. Latich, M. Zikusoka und M. Shapiro, „Current Status of Gastrointestinal Carcinoids,“ *Gastroenterologie*, Nr. 128, pp. 1717-1751, Mai 2005.
- [19] P. Kuiper, H. Verspaget, L. Overbeek, I. Biemond und C. Lamers, „An overview of the current diagnosis and recent developments in neuroendocrine tumours of the gastroenteropancreatic tract: the diagnostic approach,“ *The Netherlands Journal of Medicine*, Nr. 69, Januar 2011.
- [20] N. Begum, U. Wellner, C. Thorns, G. Brabant, M. Hoffmann, C. Bürk, H. Lehnert und T. Keck, „CUP Syndrome in Neuroendocrine Neoplasia: Analysis of Risk Factors and Impact of Surgical Intervention,“ *World Journal of Surgery*, Nr. 39, pp. 1443-1451, Juni 2015.
- [21] R. Moll, „Initiale CUP-Situation und CUP-Syndrom,“ in *Der Pathologe*, 2009.
- [22] M. Cassidy, „Abdominal Carcinomatosis with probable Adrenal Involvement,“ *Proc R Soc Med.*, pp. 139-141, Dezember 1930.
- [23] G. Herold und Mitarbeiter, *Innere Medizin*, 2014, pp. 506-510.
- [24] B. Göke, H. Fürst, M. Reincke und C. Auernhammer, Hrsg., "Endokrine Tumoren" Manual TZM, München: Zuckschwerdt, 2013.
- [25] M. Pavel, D. O'Toole, F. Costa, J. Capdevila, D. Gross, R. Kianmanesh, E. Krenning, U. Knigge, R. Salazar, U. F. Pape, K. Öberg und Vienna Consensus Conference participants , „ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Distant Metastatic Disease of Intestinal, Pancreatic, Bronchial Neuroendocrine Neoplasms (NEN) and NEN of Unknown Primary Site.,“ *Neuroendocrinology*, Nr. 103(2), pp. 172-185, 2016.
- [26] M. Riihimäki, A. Hemminki, K. Sundquist, J. Sundquist und K. Hemminki, „The epidemiology of metastases in neuroendocrine tumors.,“ *International journal of cancer.*, Nr. 139(12), pp. 2679-2686, Dezember 2016.
- [27] D. R. Spigel, J. D. Hainsworth und F. A. Greco, „Neuroendocrine carcinoma of unknown primary site.,“ *Seminars in oncology*, Nr. 36(1), pp. 52-59, Februar 2009.
- [28] K. Fizazi, F. A. Greco, N. Pavlidis, G. Pentheroudakis und ESMO Guidelines Working Group, „Cancers of unknown primary site: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up.,“ *Annals of oncology*, Nr. 22, pp. 64-68, September 2011.
- [29] N. Pavlidis und K. Fizazi, „Cancer of unknown primary (CUP),“ *Critical reviews in Oncology hematology*, Nr. 54(3), pp. 243-250, Juni 2005.

- [30] S. Dhar, C. E. Grossman und T. Kokroo, „Metastatic neuroendocrine tumor of unknown primary presenting as acute pancreatitis,“ *The American journal of the medical sciences*, Nr. 335(4), pp. 304-306, April 2008.
- [31] L. Catena, E. Bichisao, M. Milione, M. Valente, M. Platania, S. Pusceddu, M. Ducceschi, N. Zilembo, B. Formisano und E. Bajetta, „Neuroendocrine tumors of unknown primary site: gold dust or misdiagnosed neoplasms?,“ *Tumori.*, Nr. 97(5), pp. 564-567, September-Oktober 2011.
- [32] V. Prasad, V. Ambrosini, M. Hommann, D. Hoersch, S. Fanti und R. P. Baum, „Detection of unknown primary neuroendocrine tumours (CUP-NET) using (68)Ga-DOTA-NOC receptor PET/CT,“ *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, Nr. 37(1), pp. 67-77, Januar 2010.
- [33] S. C. Wang, J. R. Parekh, M. B. Zuraek, A. P. Venook, E. K. Bergsland, R. S. Warren und E. K. Nakakura, „Identification of unknown primary tumors in patients with neuroendocrine liver metastases,“ *Archives of surgery*, Nr. 145(3), pp. 276-280, März 2010.
- [34] D. Kaemmerer, N. Posorski, F. von Eggeling, G. Ernst, D. Hörsch, R. P. Baum, V. Prasad, R. Langer, I. Esposito, G. Klöppel, S. Sehner, T. Knösel und M. Hommann, „The search for the primary tumor in metastasized gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm,“ *Clinical and experimental metastasis.*, Nr. 31(7), pp. 817-827, Oktober 2014.
- [35] J. E. Maxwell, S. K. Sherman, K. M. Stashek, T. M. O'Dorisio, A. M. Bellizzi und J. R. Howe, „A practical method to determine the site of unknown primary in metastatic neuroendocrine tumors,“ *Surgery*, Nr. 156(6), pp. 1359-1365, Dezember 2014.
- [36] European Neuroendocrine Tumor Society, „The 2016 ENETS Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Neuroendocrine Tumors,“ European Neuroendocrine Tumor Society, 2019. [Online]. Available: https://www.enets.org/current_guidelines.html.
- [37] N. Begum, C. Hubold, I. Buchmann, C. Thorns, R. Bouchard, A. Lubienski, E. Schlöricke, M. Zimmermann, H. Lehnert, H. P. Bruch und C. G. Bürk, „Diagnostics and therapy for neuroendocrine neoplasia of an unknown primary - a plea for open exploration,“ *Zentralblatt für Chirurgie*, Nr. 139(3), pp. 284-291, Juni 2014.
- [38] E. K. Bergsland und E. K. Nakakura, „Neuroendocrine tumors of unknown primary: is the primary site really not known?,“ *JAMA surgery.*, Nr. 149(9), pp. 889-890, September 2014.
- [39] F. M. Watzka, C. Fottner, M. Miederer, A. Schad, M. M. Weber, G. Otto, H. Lang und T. J. Musholt, „Surgical therapy of neuroendocrine neoplasm with hepatic metastasis: patient selection and prognosis,“ *Langenbecks archives of surgery.*, Nr. 400(3), pp. 349-358, April 2015.
- [40] F. Bosman, F. Carneiro, R. Hruban und N. Theise, WHO Classification of Tumours of the digestive System, 4 Hrsg., IARC, 2010.
- [41] H. J. Meyer und C. Wittekind, TNM Klassifikation maligner Tumoren, Wiley-VGH, 2009.
- [42] I. M. Modlin, M. D. Shapiro und M. Kidd, „An analysis of rare carcinoid tumors: clarifying these clinical conundrums,“ *World journal of surgery*, Nr. 29(1), pp. 92-101, Januar 2005.

- [43] C. Bordi, T. D'Adda, C. Azzoni, F. P. Pilato und P. Caruana, „Hypergastrinemia and gastric enterochromaffin-like cells.,“ *Amerriican journal of surgical pathology*, Nr. 19, pp. 8-19, 1995.
- [44] G. Rindi, C. Bordi, S. Rappel, S. La Rosa, M. Stolte und E. Solcia, „Gastric carcinoids and neuroendocrine carcinomas: pathogenesis, pathology, and behavior.,“ *World journal of surgery*, Nr. 20(2), pp. 168-172, Februar 1996.
- [45] A. P. Burke, L. H. Sobin, B. H. Federspiel, K. M. Shekitka und E. B. Helwig, „Carcinoid tumors of the duodenum. A clinicopathologic study of 99 cases.,“ *Archives of pathology and laboratory medicine*, Nr. 114(7), pp. 700-704, Juli 1990.
- [46] N. Garbrecht, M. Anlauf, A. Schmitt, T. Henopp, B. Sipos, A. Raffel, C. F. Eisenberger, W. T. Knoefel, M. Pavel, C. Fottner, T. J. Musholt, A. Rinke, R. Arnold, U. Berndt, U. Plöckinger, B. Wiedenmann, H. Moch, P. U. Heitz, P. Komminoth, A. Perren und G. Klöppel, „Somatostatin-producing neuroendocrine tumors of the duodenum and pancreas: incidence, types, biological behavior, association with inherited syndromes, and functional activity.,“ *Endocrine-related cancer*., Nr. 15(1), pp. 229-241, März 2008.
- [47] T. A. Broughan, J. D. Leslie, J. M. Soto und R. E. Hermann, „Pancreatic islet cell tumors.,“ *Surgery*., Nr. 99(6), pp. 671-678, Juni 1986.
- [48] S. Venkatesh, N. G. Ordonez, J. Ajani, P. N. Schultz, R. C. Hickey, D. A. Johnston und N. A. Samaan, „Islet cell carcinoma of the pancreas. A study of 98 patients.,“ *Cancer*., Nr. 65(2), pp. 354-357, Januar 1990.
- [49] R. B. Kent 3rd, J. A. van Heerden und L. H. Weiland, „Nonfunctioning islet cell tumors.,“ *Annals of surgery*., Nr. 193(2), pp. 185-190, Februar 1981.
- [50] G. Rindi, D. Paolotti, S. LaRosa und E. Solcia, „The tumours of the endocrine pancreas.,“ *European journal of histochemistry*, Nr. 42, pp. 63-66, 1998.
- [51] C. V. Reyes und T. Wang, „Undifferentiated small cell carcinoma of the pancreas: a report of five cases.,“ *Cancer*., Nr. 47(10), pp. 2500-2502, Mai 1981.
- [52] J. D. Godwin 2nd, „Carcinoid tumors. An analysis of 2,837 cases.,“ *Cancer*., Nr. 36(2), pp. 560-569, August 1975.
- [53] C. G. Moertel, W. G. Sauer, M. B. Dockerty und A. H. Baggenstoss, „Life history of the carcinoid tumor of the small intestine.,“ *Cancer*., Nr. 14, pp. 901-012, September-Oktober 1961.
- [54] A. P. Burke, R. M. Thomas, A. M. Elsayed und L. H. Sobin, „Carcinoids of the jejunum and ileum: an immunohistochemical and clinicopathologic study of 167 cases.,“ *Cancer*., Nr. 79(6), pp. 1086-1093, März 1997.
- [55] A. P. Lyss, „Appendiceal malignancies.,“ *Seminars in oncology*., Nr. 15(2), pp. 129-137, April 1988.
- [56] C. G. Moertel, M. B. Dockerty und E. S. Judd, „Carcinoid tumors of the vermiform appendix.,“ *Cancer*, Nr. 21(2), pp. 270-278, Februar 1968.

- [57] A. C. Goede, M. E. Caplin und M. C. Winslet, „Carcinoid tumour of the appendix.,“ *The british journal of surgery.*, Nr. 90(11), pp. 1317-1322, November 2003.
- [58] N. Zimmermann, J. Knief, T. Kacprowski, P. Lazar-Karsten, T. Keck, F. Billmann, S. Schmid, K. Luley, H. Lehnert, G. Brabant und C. Thorns, „MicroRNA analysis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors and metastases,“ *Oncotarget*, Juni 2018.
- [59] I. M. Modlin und A. Sandor, „An analysis of 8305 cases of carcinoid tumors.,“ *Cancer*, Nr. 79(4), pp. 813-829, Februar 1997.
- [60] T. Konishi, T. Watanabe, J. Kishimoto, K. Kotake, T. Muto, H. Nagawa und Japanese Society for Cancer of the Colon & Rectum, „Prognosis and risk factors of metastasis in colorectal carcinoids: results of a nationwide registry over 15 years.,“ *Gut.*, Nr. 56(6), pp. 863-868, Juni 2007.
- [61] P. E. Bernick, D. S. Klimstra, J. Shia, B. Minsky, L. Saltz, W. Shi, H. Thaler, J. Guillem, P. Paty, A. M. Cohen und W. D. Wong, „Neuroendocrine carcinomas of the colon and rectum.,“ *Diseases of the colon and rectum.*, Nr. 47(2), pp. 163-169, Februar 2004.
- [62] R. S. Berardi, „Carcinoid tumors of the colon (exclusive of the rectum): review of the literature.,“ *Disease of the colon and rectum.*, Nr. 15(5), pp. 383-391, September 1972.
- [63] J. M. Rosenberg und J. P. Welch, „Carcinoid tumors of the colon. A study of 72 patients.,“ *American journal of surgery.*, Nr. 149(6), pp. 775-779, Juni 1985.
- [64] M. R. Kwaan, J. E. Goldberg und R. Bleday, „Rectal carcinoid tumors: review of results after endoscopic and surgical therapy.,“ *Archives of surgery.*, Nr. 143(5), pp. 471-475, Mai 2008.
- [65] A. B. Jetmore, J. E. Ray, J. B. Gathright Jr, K. M. McMullen, T. C. Hicks und A. E. Timmcke, „Rectal carcinoids: the most frequent carcinoid tumor.,“ *Diseases of the colon and rectum.*, Nr. 35(8), pp. 717-725, August 1992.
- [66] B. Stinner, O. Kisker, A. Zielke und M. Rothmund, „Surgical management for carcinoid tumors of small bowel, appendix, colon, and rectum.,“ *World journal of surgery.*, Nr. 20(2), pp. 183-188, Februar 1996.
- [67] S. E. Mills, J. K. Greenson, J. L. Hornick, T. A. Langacre und V. E. Reuter, Sternbergs Diagnostic Surgical Pathology, 6 Hrsg., Bd. 2, Wolters Kluwer, 2015.
- [68] B. Wiedenmann, M. John, G. Ahnert-Hilger und E. Riecken, „Molecular and cell biological aspects of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system,“ *Journal of Molecular Medicine*, Nr. 76, pp. 637-647, August 1998.
- [69] B. Wiedenmann, W. Franke, C. Kuhn, R. Moll und V. Gould, „Synaptophysin: a marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms,“ *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, Nr. 83, pp. 3500-3504, Mai 1986.
- [70] R. V. Lloyd und L. A. Erickson, „Neuroendocrine an Paracrine Systems,“ in *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*, 6 Hrsg., Bd. 1, Wolters Kluwer, 2015, pp. 489-499.
- [71] M. Cimitan, A. Buonadonna, R. Cannizzaro, V. Canzonieri, E. Borsatti, R. Ruffo und L. De Apollonia, „Somatostatin receptor scintigraphy versus chromogranin A assay in the

management of patients with neuroendocrine tumors of different types: clinical role,“ *Annals of oncology*, Nr. 14, pp. 1135-1141, 2003.

- [72] S. Pålman, T. Esscher, P. Bergvall und L. Odelstad, „Purification and characterization of human neuron-specific enolase: radioimmunoassay development,“ *Tumour Biology*, Nr. 5, pp. 127-139, 1984.
- [73] J. Soga und K. Tazawa, „Pathologic analysis of carcinoids - Histologic reevaluation of 62 cases,“ *Cancer*, Nr. 28(4), pp. 990-998, 1971.
- [74] M. R. Nasr und O. El-Zammar, „Comparison of pHH3, Ki-67, and survivin immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions,“ *The American Journal of Dermatopathology*, Nr. 30, pp. 117-122, April 2008.
- [75] I. Skaland, E. A. Janssen, E. Gudlaugsson, L. Hui Ru Guo und J. P. Baak, „The prognostic value of the proliferation marker phosphohistone H3 (PPH3) in luminal, basal-like and triple negative phenotype invasive lymph node-negative breast cancer,“ *Cellular oncology*, Nr. 31, pp. 261-271, 2009.
- [76] Y. J. Kim, R. Ketter, W. I. Steudel und W. Feiden, „Prognostic significance of the mitotic index using the mitosis marker anti-phosphohistone H3 in meningiomas,“ *American journal of clinical pathology*, Nr. 128, pp. 118-125, Juli 2007.
- [77] A. D. Fung, C. Cohen, S. Kavuri, D. Lawson, X. Gao und M. D. Reid, „Phosphohistone H3 and Ki-67 labeling indices in cytologic specimens from well-differentiated neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and pancreas: a comparative analysis using automated image cytometry,“ *Acta cytologica*, Nr. 57, 2013.
- [78] S. M. Voss, M. P. Riley, P. M. Lokhandwala, M. Wang und Z. Yang, „Mitotic count by phosphohistone H3 immunohistochemical staining predicts survival and improves interobserver reproducibility in well-differentiated neuroendocrine tumors of the pancreas,“ *The American journal of surgical pathology*, Nr. 39, pp. 13-24, Januar 2015.
- [79] J. Tracht, K. Zhang und D. Peker, „Grading and Prognostication of Neuroendocrine Tumors of the Pancreas: A Comparison Study of Ki67 and PPH3,“ *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, Nr. 65(7) 399 –405, p. 399 –405, 2017.
- [80] Y. Patel und C. Srikant, „Somatostatin Receptors,“ *Trends in Endocrinology and Metabolism*, Nr. 8, pp. 398-405, Dezember 1997.
- [81] C. Bruns, G. Weckbecker, F. Raulf, K. Kaupmann, P. Schoeffler, D. Hoyer und H. Lübbert, „Molecular pharmacology of somatostatin-receptor subtypes,“ *Annals of the New York Academy of Science*, Nr. 733, pp. 138-146, September 1994.
- [82] W. De Herder, L. Hofland, A. Van der Lely und S. Lamberts, „Somatostatin receptors in gastroentero-pancreatic neuroendocrine tumours,“ *Endocrine related cancer*, Nr. 10, pp. 451-458, Dezember 2003.
- [83] K. Ono, T. Suzuki, Y. Miki, Y. Taniyama, Y. Nakamura, Y. Noda, M. Watanabe und H. Sasano, „Somatostatin receptor subtypes in human non-functioning neuroendocrine tumors and effects of somatostatin analogue SOM230 on cell proliferation in cell line NCI-H727,“ *Anticancer Research*, Nr. 27, pp. 2231-2239, Juli-August 2007.

- [84] G. Klöppel, A. Couvelard, A. Perren und et al., „ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: towards a standardized approach to the diagnosis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors and their prognostic stratification,“ *Neuroendocrinologie*, pp. 162-166, 2009.
- [85] E. Wolin, „The Expanding Role of Somatostatin Analogs in the Management of Neuroendocrine Tumors,“ *Gastrointestinal Cancer Research*, Nr. 5, pp. 161-168, September-Oktober 2012.
- [86] B. Wängberg, O. Nilsson, V. Johanson, E. Forssell-Aronsson, P. Andersson, M. Fjälling, L. Tisell und H. Ahlman, „Somatostatin Receptors in the Diagnosis and Therapy of Neuroendocrine Tumors,“ *The Oncologist*, Nr. 2, pp. 50-58, 1997.
- [87] H. Sasano, S. Iida und A. Kasajima, „Immunohistochemische Beurteilung von Somatostatinrezeptorsubtypen im Entnahmematerial neuroendokriner Tumoren,“ *Der Pathologe*, Nr. 2, pp. 199-203, 2010.
- [88] M. K. Li und A. L. Folpe, „CDX-2, a new marker for adenocarcinoma of gastrointestinal origin,“ *Advances in anatomic pathology*, Nr. 11, pp. 101-105, März 2004.
- [89] R. M. Mazziotta, A. C. Borczuk, C. A. Powell und M. Mansukhani, „CDX2 immunostaining as a gastrointestinal marker: expression in lung carcinomas is a potential pitfall,“ *Applied immunohistochemistry & molecular morphology*, Nr. 13, pp. 55-60, März 2005.
- [90] R. W. Werling, H. Yaziji, C. E. Bacchi und A. M. Gown, „CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas,“ *The American journal of surgical pathology*, Nr. 27, pp. 303-310, März 2003.
- [91] E. S. Chan, J. Alexander, P. E. Swanson, D. Jain und M. M. Yeh, „PDX-1, CDX-2, TTF-1, and CK7: a reliable immunohistochemical panel for pancreatic neuroendocrine neoplasms,“ *The American journal of surgical pathology*, Nr. 36, pp. 737-743, Mai 2012.
- [92] A. Srivastava und J. L. Hornick, „Immunohistochemical staining for CDX-2, PDX-1, NESP-55, and TTF-1 can help distinguish gastrointestinal carcinoid tumors from pancreatic endocrine and pulmonary carcinoid tumors.,“ *The American journal of surgical pathology*, Nr. 33, pp. 626-632, April 2009.
- [93] L. A. Erickson, B. Papouchado, H. Dimashkieh, S. Zhang, N. Nakamura und R. V. Lloyd, „Cdx2 as a marker for neuroendocrine tumors of unknown primary sites,“ *Endocrine pathology*, Nr. 15, pp. 247-252, 2004.
- [94] X. Lin, R. S. Saad, T. M. Luckasevic, J. F. Silverman und Y. Liu, „Diagnostic value of CDX-2 and TTF-1 expressions in separating metastatic neuroendocrine neoplasms of unknown origin,“ *Applied immunohistochemistry & molecular morphology*, Nr. 15, pp. 407-414, Dezember 2007.
- [95] N. Zimmermann, P. Lazar-Karsten, T. Keck, F. Billmann, S. Schmid, G. Brabant und C. Thorns, „Expression Pattern of CDX2, Estrogen and Progesterone Receptors in Primary Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors and Metastases,“ *Anticancer research*, Nr. 36, pp. 921-924, März 2016.

- [96] H. J. Burstein, A. A. Prestrud, J. Seidenfeld, V. Anderson, T. A. Buchholz, N. E. Davidson, K. E. Gelmon, Giordano, S. H. Giordano, C. A. Hudis, J. Malin, E. P. Mamounas, D. Rowden, A. J. Solky, M. R. Sowers, V. Stearns, E. P. Winer, M. R. Somerfield, J. J. Griggs und American Society of Clinical Oncology, „American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline: update on adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer.,“ *Journal of clinical oncology*, Nr. 28, pp. 3784-3796, August 2010.
- [97] R. W. Carlson, C. A. Hudis, K. I. Pritchard, NCCN Breast Cancer Guidelines , American Society of Clinical Oncology und St Gallen International Expert Consensus , „Adjuvant endocrine therapy in hormone receptor-positive postmenopausal breast cancer: evolution of NCCN, ASCO, and St Gallen recommendations.,“ *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, Nr. 4, pp. 971-979, November 2006.
- [98] A. B. Effi, N. A. Aman, B. S. Kouï, K. D. Koffi, Z. C. Traoré und M. Kouyate, „Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptors in breast cancer: relationship with clinicopathologic factors in 302 patients in Ivory Coast.,“ *BMC Cancer*, Nr. 17, p. 115, Februar 2017.
- [99] W. L. McGuire, „Estrogen receptors in human breast cancer.,“ *The Journal of Clinical Investigation*, Nr. 52, pp. 73-77, Januar 1973.
- [100] G. Viale, C. Doglioni, M. Gambacorta, G. Zamboni, G. Coggi und C. Bordi, „Progesterone receptor immunoreactivity in pancreatic endocrine tumors. An immunocytochemical study of 156 neuroendocrine tumors of the pancreas, gastrointestinal and respiratory tracts, and skin.,“ *Cancer*, Nr. 70 (9), pp. 2268-2277, November 1992.
- [101] T. Arnason, H. L. Sapp, P. J. Barnes, M. Drewniak, M. Abdoell und D. Rayson, „Immunohistochemical expression and prognostic value of ER, PR and HER2/neu in pancreatic and small intestinal neuroendocrine tumors.,“ *Neuroendocrinology*, Nr. 93(4), pp. 249-258, 2011.
- [102] E. B. Alabraba, P. Taniere, G. M. Reynolds, P. M. Stewart, S. J. Wigmore und S. R. Bramhall, „Expression and functional consequences of oestrogen and progesterone receptors in human insulinomas.,“ *Endocrine-related Cancer*, Nr. 14(4), pp. 1081-1088, Dezember 2007.
- [103] J. S. Estrella, L. T. Ma, D. R. Milton, J. C. Yao, H. Wang, A. Rashid und R. R. Broaddus, „Expression of estrogen-induced genes and estrogen receptor β in pancreatic neuroendocrine tumors: implications for targeted therapy.,“ *Pancreas*, Nr. 43(7), pp. 996-1002, Oktober 2014.
- [104] C. G. Yu, X. Y. Jiang, B. Li, L. Gan und J. F. Huang, „Expression of ER, PR, C-erbB-2 and Ki-67 in Endometrial Carcinoma and their Relationships with the Clinicopathological Features.,“ *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Nr. 16(15), pp. 6789-6794, 2015.
- [105] I. A. Voutsadakis, „Hormone Receptors in Serous Ovarian Carcinoma: Prognosis, Pathogenesis, and Treatment Considerations.,“ *Clinical Medicine Insights. Oncology.*, Nr. 10, pp. 17-25, März 2016.
- [106] T. Grindstad, S. Andersen, S. Al-Saad, T. Donnem, Y. Kiselev, C. Nordahl Melbø-Jørgensen, K. Skjefstad, L. T. Busund, R. M. Bremnes und E. Richardsen, „High

progesterone receptor expression in prostate cancer is associated with clinical failure.,“ *PLoS One*, Nr. 10(2), Februar 2015.

- [107] R. Mashhadi, G. Pourmand, F. Kosari, A. Mehraei, S. Salem, M. R. Pourmand, S. Alatab, M. Khonsari, F. Heydari, L. Beladi und F. Alizadeh, „Role of steroid hormone receptors in formation and progression of bladder carcinoma: a case-control study.,“ *Urology Journal*, Nr. 11(6), pp. 1968-1973, November 2014.
- [108] R. Saranga Bharathi, R. Singh, R. Gupta, G. R. Verma, N. Kalra, K. Kiran und K. Joshi, „Female sex hormone receptors in gallbladder cancer.,“ *Journal of Gastrointestinal Cancer*, Nr. 46(2), pp. 143-148, Juni 2015.
- [109] L. He und G. J. Hannon, „MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation.,“ *Nature reviews. Genetics*, Nr. 5(7), pp. 522-531, Juli 2004.
- [110] D. P. Bartel, „MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function.,“ *Cell*, Nr. 116(2), pp. 281-297, Januar 2004.
- [111] C. Caldas und J. D. Brenton, „Sizing up miRNAs as cancer genes.,“ *Nature medicine*, Nr. 11(7), pp. 712-714, Juli 2005.
- [112] K. S. Kim, J. S. Kim, M. R. Lee, H. S. Jeong und J. Kim, „A study of microRNAs in silico and in vivo: emerging regulators of embryonic stem cells.,“ *The FEBS Journal*, Nr. 276(8), pp. 2140-2149, April 2009.
- [113] V. K. Gangaraju und H. Lin, „MicroRNAs: key regulators of stem cells.,“ *Nature reviews. Molecular cell biology*, Nr. 10(2), pp. 116-125, Februar 2009.
- [114] „miRBase,“ [Online]. Available: http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_summary.pl?org=hsa. [Zugriff am 3 März 2017].
- [115] A. L. Kasinski und F. J. Slack, „Epigenetics and genetics. MicroRNAs en route to the clinic: progress in validating and targeting microRNAs for cancer therapy.,“ *Nature reviews. Cancer*, Nr. 11(12), pp. 849-864, November 2011.
- [116] A. Ventura, A. G. Young, M. M. Winslow, L. Lintault, A. Meissner, S. J. Erkeland, J. Newman, R. T. Bronson, D. Crowley, J. R. Stone, R. Jaenisch, P. A. Sharp und T. Jacks, „Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters.,“ *Cell*, Nr. 132(5), pp. 875-886, März 2008.
- [117] J. Lu, G. Getz, E. A. Miska, E. Alvarez-Saavedra, J. Lamb, D. Peck, A. Sweet-Cordero, B. L. Ebert, R. H. Mak, A. .. Ferrando, J. R. Downing, T. Jacks, H. L. Horvitz und T. R. Golub, „MicroRNA expression profiles classify human cancers.,“ *Nature*, Nr. 435(7043), Juni 2005.
- [118] A. Esquela-Kerscher und F. J. Slack, „Oncomirs - microRNAs with a role in cancer.,“ *Nature reviews. Cancer*, Nr. 6(4), pp. 259-269, April 2006.
- [119] G. A. Calin und C. M. Croce, „MicroRNA signatures in human cancers.,“ *Nature reviews. Cancer*, Nr. 6(11), pp. 857-866, November 2006.
- [120] G. Pentheroudakis, N. Pavlidis, G. Fountzilas, D. Krikelis, A. Goussia, A. Stoyianni, M. Sanden, B. St.Cyr, N. Yerushalmi, H. Benjamin, E. Meiri, A. Chajut, S. Rosenwald, R. Aharonov und Y. Spector, „Novel microRNA-based assay demonstrates 92% agreement

with diagnosis based on clinicopathologic and management data in a cohort of patients with carcinoma of unknown primary," *Molecular Cancer*, Nr. 12, Juni 2013.

- [121] E. Meiri, W. C. Mueller, S. Rosenwald, M. Zepeniuk, E. Klinke, T. Bocker Edmonston, M. Werner, U. Lass, I. Barshack, M. Feinmesser, M. Huszar, F. Fogt, K. Ashkenazi, M. Sanden, E. Goren, N. Dromi, O. Zion, I. Burnstein, A. Chajut, Y. Spector und R. Aharonov, „A Second-Generation MicroRNA-Based Assay for Diagnosing Tumor Tissue Origin," *The Oncologist*, Nr. 17(6), pp. 801-812, Juni 2012.
- [122] K. A. Lloyd, A. R. Moore, B. N. Parsons, A. O'Hara, M. Boyce, G. J. Dockray, A. Varro und D. M. Pritchard, „Gastrin-induced miR-222 promotes gastric tumor development by suppressing p27kip1," *Oncotarget*, Nr. 7(29), pp. 45462-45478, Juli 2016.
- [123] H. Q. Zhou, Q. C. Chen, Z. T. Qiu, W. L. Tan, C. Q. Mo und S. W. Gao, „Integrative microRNA-mRNA and protein-protein interaction analysis in pancreatic neuroendocrine tumors," *European review for medical and pharmacological sciences*, Nr. 20(13), pp. 2842-2852, Juli 2016.
- [124] M. M. Rahman, Z. R. Qian, E. L. Wang, R. Sultana, E. Kudo, M. Nakasono, T. Hayashi, S. Kakiuchi und T. Sano, „Frequent overexpression of HMGA1 and 2 in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours and its relationship to let-7 downregulation," *British journal of cancer*, Nr. 100(3), pp. 501-510, Februar 2009.
- [125] A. Fusco und M. Fedele, „Roles of HMGA proteins in cancer," *Nature reviews. Cancer*, Nr. 7(12), pp. 899-910, Dezember 2007.
- [126] K. Mitsuhashi, I. Yamamoto, H. Kurihara, S. Kanno, M. Ito, H. Igarashi, K. Ishigami, Y. Sukawa, M. Tachibana, H. Takahashi, T. Tokino, R. Maruyama, H. Suzuki, K. Imai, Y. Shinomura, H. Yamamoto und K. Nosho, „Analysis of the molecular features of rectal carcinoid tumors to identify new biomarkers that predict biological malignancy," *Oncotarget*, Nr. 6(26), pp. 22114-22125, September 2015.
- [127] W. Remmele und H. E. Stegner, „Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue," *Pathologe*, Nr. 8(3), pp. 138-140, Mai 1987.
- [128] J. Freund, J. Duluc, J. Reimund, I. Gross und C. Domon-Dell, „Extending the functions of the homeotic transcription factor CDX2 in the digestive system through nontranscriptional activities," *World J Gastroenterology*, pp. 1436-43, 12(5) 2015.
- [129] M. Barbareschi, C. Roldo, G. Zamboni, P. Capelli, A. Cavazza, E. Macri, M. G. Cangi, M. Chilosi und C. Doglioni, „CDX-2 homeobox gene product expression in neuroendocrine tumors: its role as a marker of intestinal neuroendocrine tumors," *Am J Surg Pathol*, Nr. 28(9), pp. 1169-76, 2004.
- [130] E. Di Zazzo, G. Galasso, P. Giovannelli, M. Di Donato, A. Di Santi, G. Cernera, V. Rossi, C. Abbondanza, B. Moncharmont, A. A. Sinisi, G. Castoria und A. Migliaccio, „Prostate cancer stem cells: the role of androgen and estrogen receptors," *Oncotarget*, pp. 193-208, 5;7(1) Jan 2016.
- [131] C. Doll, R. Arsenic, H. Lage, K. Jöhrens, S. Hartwig, K. Nelson und J. D. Raguse, „Expression of Estrogen Receptors in OSCC in relation to histopathological grade," *Anticancer Res*, pp. 5867-72, 35(11) Nov 2015.

- [132] H. Saeidi, M. R. Nasiri, S. Shahidsales, A. T. Kermani, S. Hematti, S. S. Roodbari, M. H. Shahri und S. Chagharvand, „Evaluation of estrogen receptor expression and its relationship with clinicopathologic findings in gastric cancer,“ *Adv Biomed Res.*, 4:177 2015.
- [133] N. Gebauer, C. Schmidt-Werthern, V. Bernard, A. C. Feller, T. Keck, N. Begum, D. Rades, H. Lehnert, G. Brabant und C. Thorns, „Genomic landscape of pancreatic neuroendocrine tumors,“ *World J Gastroenterol.*, Nr. 20(46), pp. 17498-506, 2014.
- [134] M. Gerlinger, S. Horswell, J. Larkin, A. J. Rowan, M. P. Salm, I. Varela, R. Fisher, N. McGranahan, N. Matthews, C. R. Santos, P. Martinez, B. Phillimore, S. Begum, A. Rabinowitz, B. Spencer-Dene, S. Gulati, P. A. Bates, G. Stamp, L. Pickering, M. Gore, D. L. Nicol, S. Hazell, P. A. Futreal, A. Stewart und C. Swanton, „Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing,“ *Nat Genet.*, Nr. 46(3), pp. 225-33, 2014.
- [135] M. Gerlinger, A. J. Rowan, S. Horswell, J. Larkin, D. Endesfelder, E. Gronroos, P. Martinez, N. Matthews, A. Stewart, P. Tarpey, I. Varela, B. Phillimore, S. Begum, N. Q. McDonald, A. Butler, D. Jones, K. Raine, C. Latimer, C. R. Santos, M. Nohadani, A. C. Eklund, B. Spencer-Dene, G. Clark, L. Pickering, G. Stamp, M. Gore, Z. Szallasi, J. Downward, P. A. Futreal und C. Swanton, „Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing,“ *N Engl J Med*, Nr. 366(10), pp. 883-92, 2012.
- [136] C. Poiana, M. C. Neamtu, E. T. Avramescu, M. Carsote, R. Trifnescu, D. Terzea, O. M. Neamtu und R. Danciulescu Miulescu, „The dedifferentiation of neuroendocrine tumor metastases: myth or reality?,“ *Rom J Morphol Embryol.*, Nr. 54(1), pp. 201-3, 2013.
- [137] R. Draganova-Tacheva, M. Bibbo, R. Birbe, C. Daskalakis und C. Solomides, „The potential value of phosphohistone-h3 mitotic index determined by digital image analysis in the assessment of pancreatic endocrine tumors in fine-needle aspiration cytology specimens,“ *Acta cytologica*, Nr. 57(3), pp. 291-5, 2013.
- [138] N. J. Hendzel, K. W. Nishioka, Y. Raymond, C. D. Allis, D. P. Bazett-Jones und J. P. Th'ng, „Chromatin condensation is not associated with apoptosis,“ *The journal of biological chemistry*, Nr. 273(38), pp. 24470-8., September 1998.
- [139] J. S. Woo, N. A. Moatamed, P. S. Sullivan, D. Y. Lu, R. Callahan und S. Apple, „Comparison of Phosphohistone H3 Immunohistochemical Staining, Ki-67, and H&E Mitotic Count in Invasive Breast Carcinoma,“ *JOURNAL OF BRAIN AND SPINAL CANCER*, 2015.
- [140] R. Garzon, G. Marcucci und C. M. Croce, „Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges,“ *Nature reviews Drug discovery.*, Nr. 9, pp. 775-789, 2010.
- [141] M. V. Iorio und C. M. Croce, „MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review,“ *EMBO molecular medicine*, Nr. 4, pp. 143-159, 2012.
- [142] L. R. Jiao, A. E. Frampton, J. Jacob, L. Pellegrino, J. Krell, G. Giamas, N. Tsim, P. Vlavianos, P. Cohen, R. Ahmad, A. Keller, N. A. Habib, J. Stebbing und L. Castellano, „MicroRNAs targeting oncogenes are down-regulated in pancreatic malignant transformation from benign tumors,“ *PloS one*, Nr. 7, p. e32068, 2012.

- [143] I. G. Papaconstantinou, A. Manta, M. Gazouli, A. Lyberopoulou, P. M. Lykoudis, G. Polymeneas und D. Voros, „Expression of microRNAs in patients with pancreatic cancer and its prognostic significance.,“ *Pancreas*, Nr. 42, pp. 67-71, 2013.
- [144] A. Paraskevi, G. Theodoropoulos, I. Papaconstantinou, G. Mantzaris, N. Nikiteas und M. Gazouli, „Circulating microRNA in inflammatory bowel disease,“ *Journal of Crohn's & colitis*, Nr. 6, pp. 900-904, 2012.
- [145] R. L. Wu, S. Ali , F. H. Sarker und R. Beydoun, „Identification of differentially expressed miRNAs in appendiceal mucinous cystadenocarcinoma from mucinous cystadenoma.,“ *Journal of cancer science & therapy*, Nr. 7, pp. 328-335, 2015.
- [146] N. Ludwig , P. Leidinger, K. Becker, C. Backes, T. Fehlmann, C. Pallasch, S. Rheinheimer, B. Meder, C. Stahler, E. Meese und A. Keller, „Distribution of miRNA expression of human tissues.,“ *Nucleic Acids Res.*, Nr. 44, pp. 3865-3877, 2016.
- [147] P. Landgraf, M. Rusu, R. Sheridan, A. Sewer, N. Iovino, A. Aravin, S. Pfeffer, A. Rice, A. O. Kamphorst, M. Landthaler, C. Lin, N. D. Socci und L. Hermida, „A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing,“ *Cell.*, Nr. 129, pp. 1401-1414, 2007.
- [148] C. Thorns, C. Schurmann, N. Gebauer, H. Wallaschofski, C. Kümpers, V. Bernard, A. C. Feller, T. Keck, J. K. Habermann, N. Begum, H. Lehnert und G. Brabant, „Global microRNA profiling of pancreatic neuroendocrine neoplasias.,“ *Anticancer research*, Nr. 34(5), pp. 2249-2254, Mai 2014.
- [149] C. Roldo, E. Missiaglia, J. P. Hagan, M. Falconi, P. Capelli, S. Bersani, G. A. Calin, S. Volinia, C. G. Liu, A. Scarpa und C. M. Croce, „MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior.,“ *Journal of clinical oncology*, Nr. 24(29), pp. 4677-4684, Oktober 2006.
- [150] S. C. Li, A. Essaghir, C. Martijn, R. V. Lloyd, J. B. Demoulin, K. Oberg und V. Giandomenico, „Global microRNA profiling of well-differentiated small intestinal neuroendocrine tumors.,“ *Modern pathology.*, Nr. 26(5), pp. 685-696, Mai 2013.
- [151] H. C. Miller, A. E. Frampton, A. Malczewska, S. Ottaviani, E. A. Stronach, R. Flora, D. Kaemmerer, D. Schwach, R. Pfragner, O. Faiz, B. Kos-Kudła, G. B. Hanna, J. Stebbing, L. Castellano und A. Frilling, „MicroRNAs associated with small bowel neuroendocrine tumours and their metastases.,“ *Endocrine-related cancer.*, Nr. 23(9), pp. 711-726, September 2016.
- [152] K. Ruebel, A. A. Leontovich, G. A. Stilling, S. Zhang, A. Righi, L. Jin und R. V. Lloyd, „MicroRNA expression in ileal carcinoid tumors: downregulation of microRNA-133a with tumor progression.,“ *Modern Pathology.*, Nr. 23(3), pp. 367-375, März 2010.
- [153] M. Bowden, C. W. Zhou, S. Zhang, L. Brais, A. Rossi, L. Naudin, A. Thiagalingam, E. Sicinska und M. H. Kulke, „Profiling of metastatic small intestine neuroendocrine tumors reveals characteristic miRNAs detectable in plasma,“ *Oncotarget*, April 2017.
- [154] S. C. Li, M. Khan, M. Caplin, T. Meyer, K. Öberg und V. Giandomenico, „Somatostatin Analogs Treated Small Intestinal Neuroendocrine Tumor Patients Circulating MicroRNAs.,“ *PLoS one.*, Nr. 10(5), Mai 2015.

- [155] C. Lee, H. He, Y. Jiang, Y. Di, F. Yang, J. Li, C. Jin und D. Fu, „Elevated expression of tumor miR-222 in pancreatic cancer is associated with Ki67 and poor prognosis.,“ *Medical oncology*, Nr. 30, p. 700, 2013.
- [156] S. C. Li, H. Shi, M. Khan, M. Caplin, T. Meyer, K. Öberg und V. Giandomenico, „Roles of miR-196a on gene regulation of neuroendocrine tumor cells.,“ *Molecular and cellular endocrinology.*, Nr. 412, pp. 131-139, September 2015.
- [157] Y. S. Lee, H. Kim, H. W. Kim, J. C. Lee, K. H. Paik, J. Kang, J. Kim, Y. S. Yoon, H. S. Han, I. Sohn, J. Cho und J. H. Hwang, „High Expression of MicroRNA-196a Indicates Poor Prognosis in Resected Pancreatic Neuroendocrine Tumor.,“ *Medicine*, Nr. 94(50), Dezember 2015.
- [158] B. K. Kang, I. K. Hwang, Y. S. Lee, J. Kim und J. H. Hwang, „Micro RNA-27b as a prognostic marker in pancreatic neuroendocrine tumor.,“ *Journal of clinical oncology.*, Nr. 32(3), 2014.
- [159] K. Nakata, K. Ohuchida, K. Mizumoto, T. Kayashima, N. Ikenaga, H. Sakai, C. Lin, H. Fujita, T. Otsuka, S. Aishima, E. Nagai, Y. Oda und M. Tanaka, „MicroRNA-10b is overexpressed in pancreatic cancer, promotes its invasiveness and correlates with a poor prognosis.,“ *Surgery*, Nr. 150, pp. 916-922, 2011.
- [160] J. Yu, K. Ohuchida, K. Mizumoto, H. Fujita, K. Nakata und M. Tanaka, „MicroRNA miR-17-5p is overexpressed in pancreatic cancer associated with poor prognosis and involved in cancer cell proliferation and invasion.,“ *Cancer biology & therapy*, Nr. 10, pp. 748-757, 2010.
- [161] Y. Fujino, S. Takeishi, K. Nishida, K. Okamoto, N. Muguruma, T. Kimura, S. Kitamura, H. Miyamoto, A. Fujimoto, J. Higashijima, M. Shimada, K. Rokutan und T. Takayama, „Downregulation of microRNA-100/microRNA-125b is associated with lymph node metastasis in early colorectal cancer with submucosal invasion.,“ *Cancer science*, Nr. 108, pp. 390-397, 2017.
- [162] S. Chang, S. He, G. Qiu, J. Lu, J. Wang, J. Liu, L. Fan, W. Zhao und X. Che, „MicroRNA-125b promotes invasion and metastasis of gastric cancer by targeting STARD13 and NEU1.,“ *Tumour biology: The journal of the international society for oncodevelopmental biology and medicine*, Nr. 37, pp. 12141-12151, 2016.

6. Anhänge

6.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Lokalisation der GEP-NEN (modifiziert nach Modlin et al [5]).....	2
Tabelle 2: Übersicht WHO-Klassifikation GEP-NEN 1980, 2000 und 2010 [40] (modifiziert nach Schott et al [17]).....	3
Tabelle 3: Proliferationsgrad/-index und WHO-Klassifikation der GEP-NEN (modifiziert nach Rindi et al [3])	4
Tabelle 4: UICC-Stadieneinteilung der NEN für Magen, Duodenum, Pankreas und Appendix	4
Tabelle 5: Wachstumsmuster und Verteilungsmuster der GEP-NEN nach Soga [73].....	7
Tabelle 6: Herstellung der TMAs.....	13
Tabelle 7: Auflistung der Antikörper mit ihrem Hersteller, dem Klon, der Verdünnung und der Vorbehandlung. ¹ Leica, Wetzlar, Deutschland; ² ZytoMed, Berlin, Deutschland; ³ Dako, Glostrup, Dänemark; ⁴ Biocare Medical, Concord, USA.....	14
Tabelle 8: Arbeitsschritte zur Isolierung der RNA aus FFPE	15
Tabelle 9: Master Mix für Reverse Transkription.....	16
Tabelle 10: Ansatz für reverse Transkription.....	16
Tabelle 11: Programm Thermocycler miRNA zu cDNA.....	17
Tabelle 12: Weiterverarbeitung der cDNA vor RT-PCR.....	17
Tabelle 13: Programm RT-PCR TaqMan	18
Tabelle 14: Übersicht PT und Metastasen Immunhistochemie: Lokalisation PT, Altersverteilung, Geschlechterverteilung.....	20
Tabelle 15: Übersicht über die Verteilung der hämatogenen Metastasen der IHC-Analyse.....	21
Tabelle 16: Übersicht PT und Metastasen miRNA: Lokalisation PT, Altersverteilung, Geschlechterverteilung.....	22
Tabelle 17: Übersicht über die Verteilung der hämatogenen Metastasen der miRNA-Analyse.....	22
Tabelle 18: Ergebnisse der Auswertung des Wachstumsmusters der Primärtumore am HE-gefärbten Schnittpräparat nach Soga [73]	23
Tabelle 19: Übersicht des Wachstumsmusters unterteilt nach embryologischem Derivat	24
Tabelle 20: Vergleich des Gratings nach Ki67/MIB-1-Index und PHH3 anhand der untersuchten Primärtumore.....	25
Tabelle 21: Änderung im Grading im Vergleich der Proliferationsrate analysiert durch Ki67/MIB-1 zu PHH3	25
Tabelle 22: Übersicht CDX2 PT und Metastasen nach Organen sortiert.....	26
Tabelle 23: Übersicht IHC-Färbung PR, ER und SSTR2A	28
Tabelle 24: Charakteristika der GEP-NEN hinsichtlich der Lage des PT, des Alters, der Geschlechterverteilung, des Gratings, der TNM-Klassifikation und des UICC-Stadiums (8.Edition, 2017).	30
Tabelle 25: Überblick über die spezifische miRNA-Expression in GEP-NEN-PT unterschiedlicher Ursprungsorgane	31
Tabelle 26: miRNA-Expression in Metastasen spezifisch für das jeweilige Ursprungsorgan.....	37
Tabelle 27: miRNA-Expression in pNEN [123].....	67
Tabelle 28: Färbeprotokoll Hämatoxylin Eosin manuell	68
Tabelle 29: Auflistung der Antikörper mit ihrem Hersteller, dem Klon, der Verdünnung und der Vorbehandlung. ¹ Leica, Wetzlar, Deutschland; ² DCS, Hamburg, Deutschland.....	68
Tabelle 30: Übersicht über die miRNA auf der Card „Human Megaplex Pool A“, gelb unterlegt = mitgelaufene Kontrollen, ‡ = weniger optimale Leistung im Pool	68
Tabelle 31: Übersicht über die miRNA auf der Card „Human Megaplex Pool B“, gelb unterlegt = mitgelaufene Kontrollen, ‡ = weniger optimale Leistung im Pool	77
Tabelle 32: Gesamtübersicht über alle Ergebnisse der gesamten Proben der IHC	87

Tabelle 33: Übersicht über das Wachstumsmuster der PT nach Geschlecht (w: weiblich; m: männlich).....	97
---	----

6.2 *Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1: Diagramm Materialfindung für TMA-Stanzen	11
Abbildung 2: Diagramm Materialfindung für miRNA-Isolierung.....	12
Abbildung 3: Beispiele für signifikant unterschiedliche miRNA-Expression in PT von pankreatischen NEN im Vergleich zu allen anderen untersuchten GE-NEN. Die Violin-Plots zeigen die Δ Ct-Werte für unterschiedliche exprimierte miRNA. Die farblichen Punkte stellen die Verteilung der Δ Ct-Werte in der jeweiligen Gruppe dar. Die Plots mit den blauen Punkten stehen für Fälle pankreatischer NEN, die mit den grünen Punkten für alle anderen GE-NEN. Niedrige Δ Ct-Werte stehen für eine höhere miRNA Expression und umgekehrt.....	32
Abbildung 4: Vergleich der miRNA-Expression von Fällen mit und ohne Metastasierung. Die Violin-Plots zeigen die Δ Ct-Werte für unterschiedliche exprimierte miRNA. Die blauen Anteile der Plots stehen für Fälle mit nachgewiesenen Metastasen, die grünen Anteile für Fälle ohne Metastasierung. Jede Hälfte des Violin-Plots stellt die Verteilung der Δ Ct-Werte in der jeweiligen Gruppe dar. Plots von links nach rechts: Δ Ct-Werte für let-7b ($p = 0,022$), miR-150 ($p = 0,038$), miR-21 ($p = 0,038$), miR-30-5p ($p = 0,038$), miR-320 ($p = 0,038$), miR-331 ($p = 0,022$) und miR-660 ($p = 0,038$). Niedrige Δ Ct-Werte stehen für eine höhere miRNA Expression und umgekehrt.	33
Abbildung 5: Übersicht über die unterschiedliche miRNA Expression von Fällen mit und ohne hämatogener Metastasierung. Die Violin-Plots zeigen die Δ Ct-Werte für signifikant unterschiedlich exprimierte miRNA. Die blauen Plots stehen für Fälle ohne Metastasierung, grüne Violin-Plots stehen für Fälle mit Lymphknotenmetastasen, rote Violin-Plots für hämatogene Metastasen und lila Violin-Plots stehen für Fälle sowohl mit Lymphknoten- als auch mit hämatogenen Metastasen. Im Zentrum eines jeden Violin-Plots steht ein Box-Plot. Der weiße Punkt zeigt den Median-Wert an. Plots von links nach rechts: obere Reihe: Δ Ct-Werte für miR-30a-5p ($p = 0,0045$), miR-210 ($p = 0,0001$), miR-339-3p ($p = 0,0005$). Untere Reihe: Δ Ct-Werte für miR-345 ($p = 0,0045$) und miR-660 ($p = 0,0127$). Niedrige Δ Ct-Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt.	34
Abbildung 6: Übersicht über die unterschiedliche miRNA Expression von Fällen mit und ohne Lymphknotenmetastasen. Die Violin-Plots zeigen die Δ Ct-Werte für signifikant unterschiedlich exprimierte miRNA. Die blauen Plots stehen für Fälle ohne Metastasierung, grüne Violin-Plots stehen für Fälle mit Lymphknotenmetastasen, rote Violin-Plots für hämatogene Metastasen und lila Violin-Plots stehen für Fälle sowohl mit Lymphknoten- als auch mit hämatogenen Metastasen. Im Zentrum eines jeden Violin-Plots steht ein Box-Plot. Der weiße Punkt zeigt den Median-Wert an. Plots von links nach rechts: obere Reihe: exemplarische Δ Ct-Werte für runterregulierte miRNA-Expression: miR-30e-3p ($p = 0,00049$), miR-125b ($p = 0,013$), miR-1275 ($p < 0,00001$). Untere Reihe: exemplarische Δ Ct-Wert für hochregulierte miRNA-Expression: miR-20a ($p = 0,00069$), miR-135b ($p = 0,00049$), miR-484 ($p = 0,0015$). Niedrige Δ Ct-Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt.	35
Abbildung 7: Darstellung der Korrelation der miRNA-Expression mit dem Proliferationsindex (MIB1-Färbung) in Fällen mit Metastasierung. Oberer Graph: Δ Ct-Wert für miR-21 ($p = 0,003$); Korrelationskoeffizient -0,54). Mittlerer Graph: Δ Ct-Wert für miR-150 ($p = 0,026$; Korrelationskoeffizient -0,43). Unterer Graph: miR-660 ($p = 0,047$; Korrelationskoeffizient 0,38). Niedrige Δ Ct-Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt.	36
Abbildung 8: Darstellung der Überlappung von miRNA-Expressionsprofilen von Primärtumoren und ihren jeweiligen Metastasen. Links: Violin-Plots mit Δ Ct-Werten für unterschiedliche miRNA-Expression in Primärtumoren. Violette Plots stellen Primärtumore des Ileums dar, blaue Plots Fälle	

mit dem Primärtumor im Pankreas und in den türkisen Plots sind jeweils alle anderen Primärtumore zusammengefasst. Rechts: Die Violin-Plots zeigen ΔCt -Werte für GEP-NEN-Metastasen, der Lokalisation ihres Ursprungstumors zugeordnet (blau = Pankreas, grün = Rektum, rot = Magen, violett = Ileum und gelb = Colon ascendens). Im Zentrum eines jeden Violin-Plots steht ein Box-Plot. Der weiße Punkt zeigt den Median-Wert an. Von links nach rechts: 1. Reihe: ΔCt -Wert für let-7g (Primärtumor $p < 0,0001$, Metastasen $p < 0,0001$). 2. Reihe: ΔCt -Wert für miR-200a (PT $p = 0,029$, Metastasen $p = 0,0004$). 3. Reihe: ΔCt -Wert für miR-331 (PT $p = 0,0079$, Metastasen $p = 0,0013$). Unterste Reihe: ΔCt -Wert für miR-127 (PT $p = 0,014$, Metastasen $p = 0,006$). Niedrige ΔCt -Werte stehen für höhere miRNA-Expression und umgekehrt. 38

Abbildung 9: Unterschiede zwischen Primärtumoren und Metastasen. ER, PR, CDX2 und SSTR2a zeigen den prozentualen Anteil der positiven Fälle. Mib (mean) zeigt den Mittelwert sämtlicher Proben an. n.s. (nicht signifikant). Met (Metastasen) 41

7.3 Tabellen

7.3.1 Tabellen Einleitung

Tabelle 27: miRNA-Expression in pNEN [123]

hochregulierte miRNA	hsa-miR-7-5p hsa-miR-129-1-3p hsa-miR-95 hsa-miR-301a-3p hsa-miR-129-2-3p hsa-miR-153 hsa-miR-129-5p hsa-miR-7-2-3p hsa-miR-148b-3p hsa-miR-98 hsa-miR-324-5p hsa-miR-744-5p hsa-miR-652-3p hsa-miR-99b-5p hsa-miR-183-5p hsa-miR-182-5p hsa-miR-429 hsa-miR-598
runter regulierte miRNA	hsa-miR-21-3p hsa-miR-216b hsa-miR-217 hsa-miR-146b-5p hsa-miR-216a hsa-miR-199b hsa-miR-144-3p hsa-miR-4299 hsa-miR-1225-5p hsa-miR-148a-3p

7.3.2 Tabellen Material und Methoden

Tabelle 28: Färbeprotokoll Hämatoxylin Eosin manuell

Arbeitsschritt	Reagenz	Zeit	Bemerkung
1.	Hämalaun	10 Min.	
2.	Fließendes Leitungswasser	5 Min.	bläuen
3.	Eosin	1 Min.	
4.	Leitungswasser		spülen
5.	Aufsteigende Alkoholreihe		
6.	Xylol		

Tabelle 29: Auflistung der Antikörper mit ihrem Hersteller, dem Klon, der Verdünnung und der Vorbehandlung. 1Leica, Wetzlar, Deutschland; 2DCS, Hamburg, Deutschland.

Antikörper	Hersteller	Klon	Verdünnung	Vorbehandlung
Chromogranin A	Leica ¹	5H7	1:200	Ohne Vorbehandlung
Synaptophysin	DCS ²	SP11	1:100	Citrat pH 6,0 30 Minuten

Tabelle 30: Übersicht über die miRNA auf der Card „Human Megaplex Pool A“, gelb unterlegt = mitgelaufene Kontrollen, ‡ = weniger optimale Leistung im Pool

Well location	Assay ID	Assay Name	Target Sequence	- PreAmp	+ PreAmp
A1	000377	hsa-let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	----	‡
A2	000379	hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	----	----
A3	002283	hsa-let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	----	----
A4	002406	hsa-let-7e	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	----	----
A5	000382	hsa-let-7f	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	----	‡
A6	002282	hsa-let-7g	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	----	----
A7	002222	hsa-miR-1	UGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAU	----	----
A8	000583	hsa-miR-9	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	----	----
A9	000387	hsa-miR-10a	UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUG	----	----
A10	002218	hsa-miR-10b	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG	----	----

A11	001973	U6 snRNA	GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCCUUGUCUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCCUGCAGAAAGC AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCACGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCCUGGACACACCCCGACCUCGG UGACAGGCACCUCAGAGGAGCAAGUGAGCU GGUGGGGCAGCGGGCAGACGGUCCUGGAGC AGGAAGCGGGCAGUGGGGGUGGCACCCGCC GCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAGG CAACCGGGGCCGGGCCACGGCACCUGGGGG UGGAGCCGCUUGUGCGGGCAUCUCGAGCUA AUCUGGUGGG	----	----
A12	001973	U6 snRNA	GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCCUUGUCUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCCUGCAGAAAGC AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCACGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCCUGGACACACCCCGACCUCGG UGACAGGCACCUCAGAGGAGCAAGUGAGCU GGUGGGGCAGCGGGCAGACGGUCCUGGAGC AGGAAGCGGGCAGUGGGGGUGGCACCCGCC GCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAGG CAACCGGGGCCGGGCCACGGCACCUGGGGG UGGAGCCGCUUGUGCGGGCAUCUCGAGCUA AUCUGGUGGG	----	----
A13	000389	hsa-miR-15a	UAGCAGCACAUAAUGGUUUUGUG	----	----
A14	000390	hsa-miR-15b	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	----	----
A15	000391	hsa-miR-16	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	----	----
A16	002308	hsa-miR-17	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	----	----
A17	002422	hsa-miR-18a	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	----	----
A18	002217	hsa-miR-18b	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAG	----	----
A19	000395	hsa-miR-19a	UGUGCAAAUCUAUGCAAAACUGA	----	----
A20	000396	hsa-miR-19b	UGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGA	----	----
A21	000580	hsa-miR-20a	UAAAGUGCUUUAUGUGCAGGUAG	----	----
A22	001014	hsa-miR-20b	CAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAG	----	----
A23	000397	hsa-miR-21	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	----	----
A24	000398	hsa-miR-22	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	----	----
B1	000399	hsa-miR-23a	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	----	✚
B2	000400	hsa-miR-23b	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	----	----
B3	000402	hsa-miR-24	UGGUCAGUUCAGCAGGAACAG	----	----
B4	000403	hsa-miR-25	CAUUGCACUUGUCUGGUCUGA	----	----
B5	000405	hsa-miR-26a	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	----	----
B6	000407	hsa-miR-26b	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	----	----
B7	000408	hsa-miR-27a	UUCACAGUGGCUAAGUUCGCG	----	----
B8	000409	hsa-miR-27b	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	----	----
B9	002446	hsa-miR-28-3p	CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA	----	----

B10	000411	hsa-miR-28	AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAG	----	----
			GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGU GAAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCA UGCCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACA GUCUGUCCUGUCUCUCCUGCUGCUCC UAUGGAAGCGAAGUUUCCGCUCUGCAG AAAGCAAAGUUACGACUCAGAGACGGCUG AGGAUGACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACC CAGCGCCUGGAGCUUCGGGAUGACGGGGC CUUCAGCACCCACCGGGGGUUCUGACA CCCUGGUGGGACCUCCUGGACACACCC CCGACCUCCUGACAGGCACCUAGAGGA GCAAGUGAGCUGGUGGGGCAGCGGGCAGA CGGUCCUGGAGCAGGAAGCGGGCAGUGGG GGUGGCACCCGCCGCCUCCCGGGCAGCCC AAGGCAAGCACAGGCAACCGGGGCCGGGC CACGGCACCUUGGGGUGGAGCCGUGGUG CGGGCAUCUCGAGCUAAUCUGGUGGG	----	----
B11	001973	U6 snRNA			
			GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCUGUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCUGCAGAAAGC AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCACGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCCUGGACACACCCCGACCUCCG UGACAGGCACCUAGAGGAGCAAGUGAGCU GGUGGGGCAGCGGGCAGACGGUCCUGGAGC AGGAAGCGGGCAGUGGGGUGGCACCCGCC GCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAGG CAACCGGGGCCGGGCCACGGCACCUUGGGG UGGAGCCGUGGUGCGGGCAUCUCGAGCUA AUCUGGUGGG	----	----
B12	001973	U6 snRNA			
B13	002112	hsa-miR-29a	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	----	----
B14	000413	hsa-miR-29b	UAGCACCAUUGAAAUCAGUGUU	----	----
B15	000587	hsa-miR-29c	UAGCACCAUUGAAAUCGGUUA	----	----
B16	000602	hsa-miR-30b	UGUAAACAUCUACACUCAGCU	----	----
B17	000419	hsa-miR-30c	UGUAAACAUCUACACUCUCAGC	----	----
B18	002279	hsa-miR-31	AGGCAAGAUGCUGGCAUAGCU	----	----
B19	002109	hsa-miR-32	UAUUGCACAUUACUAAGUUGCA	----	----
B20	002085	hsa-miR-33b	GUGCAUUGCUGUUGCAUUGC	----	----
B21	000426	hsa-miR-34a	UGGCAGUGUCUAGCUGGUUGU	----	----
B22	000428	hsa-miR-34c	AGGCAGUGUAGUAGCUGAUUGC	----	----
B23	000431	hsa-miR-92a	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	----	----
B24	001090	mmu-miR-93	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	----	----
C1	000433	hsa-miR-95	UUCAACGGGUUUUUUUAUUGAGCA	----	----
C2	000186	mmu-miR-96	UUUGGCACUAGCACAUUUUUGCU	----	----
C3	000577	hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	----	----
C4	000435	hsa-miR-99a	AACCCGUAGAUCGGAUCUUGUG	----	----
C5	000436	hsa-miR-99b	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	----	----
C6	000437	hsa-miR-100	AACCCGUAGAUCGGAUCUUGUG	----	----
C7	002253	hsa-miR-101	UACAGUACUGUGAUAAACUGAA	----	----
C8	000439	hsa-miR-103	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	----	----

C9	002167	hsa-miR-105	UCAA AUGCUCAGACUCCUGUGGU	----	----
C10	002169	hsa-miR-106a	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	----	----
C11	001094	RNU44	CCUGGAUGAUGAUAGCAA AUGCUGACUGAA CAUGAAGGUCUUAUUAGCUCU AACUGACU	----	----
C12	000442	hsa-miR-106b	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	----	----
C13	000443	hsa-miR-107	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUC	----	----
C14	002245	hsa-miR-122	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG	----	----
C15	001182	mmu-miR-124a	UAAGGCACGCGGUGAAUGCC	----	----
C16	002199	hsa-miR-125a-3p	ACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCC	----	----
C17	002198	hsa-miR-125a-5p	UCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGA	----	----
C18	000449	hsa-miR-125b	UCCCUGAGACCCU AACUUGUGA	----	----
C19	002228	hsa-miR-126	UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG	----	----
C20	000452	hsa-miR-127	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	----	----
C21	002229	hsa-miR-127-5p	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU	----	----
C22	002216	hsa-miR-128a	UCACAGUGAACCGGUCUCUUU	----	----
C23	001184	mmu-miR-129-3p	AAGCCCUUACCCCAAAAAGCAU	----	----
C24	000590	hsa-miR-129	CUUUUUGCGGUCUGGGCUUGC	----	✚
D1	000454	hsa-miR-130a	CAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAU	----	----
D2	000456	hsa-miR-130b	CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU	----	----
D3	000457	hsa-miR-132	UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG	----	----
D4	002246	hsa-miR-133a	UUUGUCCCCUUAACCAGCUG	----	----
D5	002247	hsa-miR-133b	UUUGUCCCCUUAACCAGCUA	----	----
D6	001186	mmu-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	----	----
D7	000460	hsa-miR-135a	UAUGGCUUUUAUCCUAUGUGA	----	----
D8	002261	hsa-miR-135b	UAUGGCUUUUAUCCUAUGUGA	----	----
D9	000592	hsa-miR-136	ACUCCA UUGUUUGAUGAUGGA	----	----
D10	001129	mmu-miR-137	UUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAG	----	----
D11	002284	hsa-miR-138	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG	----	----
D12	002313	hsa-miR-139-3p	GGAGACGCGGCCUGUUGGAGU	----	----
D13	002289	hsa-miR-139-5p	UCUACAGUGCACGUGUCUCCAG	----	----
D14	002234	hsa-miR-140-3p	UACCACAGGUAGAACCACGG	----	----
D15	001187	mmu-miR-140	CAGUGGUUUUACCCUAUGGUAG	----	----
D16	000463	hsa-miR-141	UAACACUGUCUGGUAAAGAUGG	----	----
D17	000464	hsa-miR-142-3p	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA	----	----
D18	002248	hsa-miR-142-5p	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU	----	----
D19	002249	hsa-miR-143	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	----	----
D20	002278	hsa-miR-145	GUCCAGUUUCCAGGAAUCCCU	----	----
D21	000468	hsa-miR-146a	UGAGAACUGAAUCCAUUGGUU	----	----
D22	002361	hsa-miR-146b-3p	UGCCCUGUGGACUCAGUUCUGG	----	----
D23	001097	hsa-miR-146b	UGAGAACUGAAUCCAUAGGCU	----	----
D24	002262	hsa-miR-147b	GUGUGCGGAAAUGCUUCUGCUA	----	----
E1	000470	hsa-miR-148a	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	----	----
E2	000471	hsa-miR-148b	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	----	----
E3	002255	hsa-miR-149	UCUGGCUCGUGUCUUCACUCCC	----	----
E4	000473	hsa-miR-150	UCUCCCAACCCUUGUACCAGUG	----	----
E5	000475	hsa-miR-152	UCAGUGCAUGACAGAACUUGG	----	----
E6	001191	mmu-miR-153	UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC	----	----
E7	000477	hsa-miR-154	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	----	----
E8	000480	hsa-miR-181a	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	----	----
E9	000482	hsa-miR-181c	AACAUUCAACCGUCGGUGAGU	----	----
E10	002334	hsa-miR-182	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	----	----
E11	001006	RNU48	GAUGACCCAGGUAACUCUGAGUGUCGC UGAUGCCAUCACCGCAGCGCUCUGACC	----	----
E12	002269	hsa-miR-183	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	----	----

E13	000485	hsa-miR-184	UGGACGGAGAACUGAUAAGGGU	----	----
E14	002271	hsa-miR-185	UGGAGAGAAAGGCAGUCCUGA	----	----
E15	002285	hsa-miR-186	CAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCU	----	----
E16	001193	mmu-miR-187	UCGUGUCUUGUGUUGCAGCCGG	----	----
E17	002106	hsa-miR-188-3p	CUCCCACAUGCAGGGUUUGCA	----	----
E18	000489	hsa-miR-190	UGAUAUGUUUGAUAUAUUAGGU	----	----
E19	002299	hsa-miR-191	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	----	----
E20	000491	hsa-miR-192	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC	----	----
E21	002250	hsa-miR-193a-3p	AACUGGCCUACAAAGUCCCAGU	----	----
E22	002281	hsa-miR-193a-5p	UGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA	----	----
E23	002367	hsa-miR-193b	AACUGGCCCUCAAAGUCCCGCU	----	----
E24	000493	hsa-miR-194	UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA	----	----
F1	000494	hsa-miR-195	UAGCAGCACAGAAAUAUUGGC	----	----
F2	002215	hsa-miR-196b	UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGG	----	----
F3	000497	hsa-miR-197	UUCACCACCUUCUCCACCCAGC	----	----
F4	002273	hsa-miR-198	GGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUC	----	----
F5	000498	hsa-miR-199a	CCCAGUGUUCAGACUACCUGUUC	----	----
F6	002304	hsa-miR-199a-3p	ACAGUAGUCUGCACAUUGGUUA	----	----
F7	000500	hsa-miR-199b	CCCAGUGUUUAGACUAUCUGUUC	----	----
F8	000502	hsa-miR-200a	UAACACUGUCUGGUAACGAUGU	----	----
F9	002251	hsa-miR-200b	UAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGA	----	----
F10	002300	hsa-miR-200c	UAAUACUGCCGGGUAUAUGAUGGA	----	----
F11	002363	hsa-miR-202	AGAGGUAUAGGGCAUGGGAA	----	----
F12	000507	hsa-miR-203	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	----	----
F13	000508	hsa-miR-204	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	----	----
F14	000509	hsa-miR-205	UCCUUCAUUCCACCGGAGUCUG	----	----
F15	002290	hsa-miR-208b	AUAAGACGAACAAAAGGUUUUGU	----	----
F16	000512	hsa-miR-210	CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA	----	----
F17	002306	hsa-miR-214	ACAGCAGGCACAGACAGGCAGU	----	----
F18	000518	hsa-miR-215	AUGACCUAUGAAUUGACAGAC	----	----
F19	002220	hsa-miR-216a	UAAUCUCAGCUGGCAACUGUGA	----	----
F20	002326	hsa-miR-216b	AAAUCUCUGCAGGCAAAUGUGA	----	----
F21	002337	hsa-miR-217	UACUGCAUCAGGAACUGAUUGGA	----	----
F22	000521	hsa-miR-218	UUGUGCUUGAUCUAACCAUGU	----	----
F23	000522	hsa-miR-219	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU	----	----
F24	000524	hsa-miR-221	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	----	----
G1	002276	hsa-miR-222	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	----	----
G2	002295	hsa-miR-223	UGUCAGUUUGUCAAAUACCCCA	----	----
G3	002099	hsa-miR-224	CAAGUCACUAGUGGUUCCGUU	----	----
G4	002101	hsa-miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCC	----	----
G5	000527	hsa-miR-296	AGGGCCCCCCCUCAAUCCUGU	----	----
G6	001015	hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAACCGCUU	----	----
G7	000600	hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCCAUAUCAU	----	----
G8	000528	hsa-miR-301	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGC	----	----
G9	002392	hsa-miR-301b	CAGUGCAAUGAUAUUGUCAAAAGC	----	----
G10	000529	hsa-miR-302a	UAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGA	----	----
G11	000338	ath-miR159a	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA	----	----
G12	000531	hsa-miR-302b	UAAGUGCUUCCAUGUUUUAGUAG	----	----
G13	000533	hsa-miR-302c	UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGG	----	----
G14	002277	hsa-miR-320	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	----	----
G15	002227	hsa-miR-323-3p	CACAUUACACGGUCGACCUCU	‡	‡
G16	002161	hsa-miR-324-3p	ACUGCCCCAGGUGCUGCUGG	----	----
G17	000539	hsa-miR-324-5p	CGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGU	----	----

G18	000542	hsa-miR-326	CCUCUGGGCCCUUCCUCCAG	----	----
G19	000543	hsa-miR-328	CUGGCCCUUCUGCCCUUCCGU	----	----
G20	001101	hsa-miR-329	AACACACCUGGUUAACCUUUU	----	----
G21	000544	hsa-miR-330	GCAAAGCACACGCCUGCAGAGA	----	----
G22	002230	hsa-miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGC	----	----
G23	000545	hsa-miR-331	GCCCCUGGGCCUAUCCUAGAA	----	----
G24	002233	hsa-miR-331-5p	CUAGGUUAUGGUCCAGGGAUCC	----	----
H1	000546	hsa-miR-335	UCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGU	----	----
H2	002156	hsa-miR-337-5p	GAACGGCUUCAUACAGGAGUU	----	----
H3	002252	hsa-miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUGAUUUUGUUG	----	----
H4	002184	hsa-miR-339-3p	UGAGCGCCUCGACGACAGAGCCG	----	----
H5	002257	hsa-miR-339-5p	UCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG	----	----
H6	002258	hsa-miR-340	UUAUAAAGCAAUGAGACUGAUU	----	----
H7	002623	hsa-miR-155	UUAUAGCUAAUCGUGAUAGGGGU	†	----
H8	002619	hsa-let-7b	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	----	----
H9	002260	hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	----	----
H10	002147	hsa-miR-342-5p	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	----	----
H11	002186	hsa-miR-345	GCUGACUCCUAGUCCAGGGCUC	----	----
H12	000554	hsa-miR-361	UUAUCAGAAUCUCCAGGGGUAC	----	----
H13	002117	hsa-miR-362-3p	AACACACCUAUUCAAGGAUUCA	----	----
H14	001273	hsa-miR-362	AAUCCUUGGAACCUAGGUGUGAGU	----	----
H15	001271	hsa-miR-363	AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA	----	----
H16	001020	hsa-miR-365	UAAUGCCCCUAAAAAUCCUUAU	----	----
H17	000555	hsa-miR-367	AAUUGCACUUUAGCAAUGGUGA	----	----
H18	000557	hsa-miR-369-3p	AAUAAUACAUGGUUGAUUCUUU	----	----
H19	001021	hsa-miR-369-5p	AGAUCGACCGUGUUUAUUAUCGC	----	----
H20	002275	hsa-miR-370	GCCUGCUGGGGUGGAACCUGGU	----	----
H21	002124	hsa-miR-371-3p	AAGUGCCGCCAUCUUUUUGAGUGU	----	----
H22	000560	hsa-miR-372	AAAGUGCUGCGACAUUUUGAGCGU	----	----
H23	000561	hsa-miR-373	GAAGUGCUUCGAUUUUUGGGGUGU	----	----
H24	000563	hsa-miR-374	UUAUAAUACAACCUGAUAAAGUG	----	----
I1	001319	mmu-miR-374-5p	AUAUAAUACAACCUGCUAAGUG	----	----
I2	000564	hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	----	----
I3	000565	hsa-miR-376a	AUCAUAGAGGAAAAUCCACGU	----	----
I4	001102	hsa-miR-376b	AUCAUAGAGGAAAAUCCAUGUU	----	----
I5	000566	hsa-miR-377	AUCACACAAAGGCAACUUUUGU	†	----
I6	001138	mmu-miR-379	UGGUAGACUAUGGAACGUAGG	----	----
I7	000569	hsa-miR-380-3p	UAUGUAAUAUGGUCCACAUCUU	----	----
I8	000571	hsa-miR-381	UAUACAAGGGCAAGCUCUCUGU	----	----
I9	000572	hsa-miR-382	GAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCG	----	----
I10	000573	hsa-miR-383	AGAUCAGAAGGUGAUUGUGGCU	----	----
I11	002331	hsa-miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU	----	----
I12	001274	hsa-miR-410	AAUAUAACACAGAUGGCCUGU	----	----
I13	001610	hsa-miR-411	UAGUAGACCGUAUAGCGUACG	----	----
I14	002297	hsa-miR-422a	ACUGGACUUAGGGUCAGAAGGC	----	----
I15	002340	hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	----	----
I16	000604	hsa-miR-424	CAGCAGCAAUUCAUUUUUUGAA	----	----
I17	001516	hsa-miR-425-5p	AAUGACACGAUCACUCCCGUUGA	----	----
I18	001024	hsa-miR-429	UAAUACUGUCUGGUAAAACCGU	----	----
I19	001979	hsa-miR-431	UGUCUUGCAGGCCGUAUGCA	----	----
I20	001028	hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU	----	----
I21	001030	hsa-miR-449	UGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGU	----	----
I22	001608	hsa-miR-449b	AGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGC	----	----

I23	002303	hsa-miR-450a	UUUUGCGAUGUGUCCUAAUUAU	----	----
I24	002208	hsa-miR-450b-3p	UUGGGAUCAUUUUGCAUCCAUA	----	----
J1	002207	hsa-miR-450b-5p	UUUUGCAAUAUGUCCUGAAUA	----	----
J2	001141	mmu-miR-451	AAACCGUUACCAUUACUGAGUU	----	----
J3	002329	hsa-miR-452	AACUGUUUGCAGAGGAAACUGA	----	----
J4	002318	hsa-miR-453	AGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCA	----	----
J5	002323	hsa-miR-454	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	----	----
J6	002244	hsa-miR-455-3p	GCAGUCCAUGGGCAUAUACAC	----	----
J7	001280	hsa-miR-455	UAUGUGCCUUUGGACUACAUCG	----	----
J8	002338	hsa-miR-483-5p	AAGACGGGAGGAAAGAAGGGAG	----	----
J9	001821	hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCCCUCCGGAU	----	----
J10	001277	hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	----	----
J11	001036	hsa-miR-485-5p	AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC	----	+
J12	002093	hsa-miR-486-3p	CGGGGCAGCUCAGUACAGGAU	----	----
J13	001278	hsa-miR-486	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	----	----
J14	001279	hsa-miR-487a	AAUCAUACAGGGACAUCCAGUU	----	----
J15	001285	hsa-miR-487b	AAUCGUACAGGGUCAUCCACUU	----	----
J16	002357	hsa-miR-488	UUGAAAGGCUAUUUCUUGGUC	----	----
J17	002358	hsa-miR-489	GUGACAUCACAUUAUACGGCAGC	----	----
J18	001037	hsa-miR-490	CAACCUGGAGGACUCCAUGCUG	----	----
J19	002360	hsa-miR-491-3p	CUUAUGCAAGAUUCCCUUCUAC	----	----
J20	001630	mmu-miR-491	AGUGGGGAACCCUCCAUGAGG	----	----
J21	002364	hsa-miR-493	UGAAGGUCUACUGUGGCCAGG	----	----
J22	002365	hsa-miR-494	UGAAACAUAACACGGGAAACCUC	----	----
J23	001663	mmu-miR-495	AAACAAACAUGGUGCACUUCUU	----	----
J24	001953	mmu-miR-496	UGAGUAUUACAUGGCCAAUCUC	----	----
K1	002427	hsa-miR-499-3p	AACAUCACAGCAAGUCUGUGCU	----	----
K2	001352	mmu-miR-499	UUAAGACUUGCAGUGAUGUUU	----	----
K3	002428	hsa-miR-500	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	----	----
K4	002435	hsa-miR-501-3p	AAUGCACCCGGGCAAGGAUUCU	----	----
K5	001047	hsa-miR-501	AAUCCUUUGUCCUGGGUGAGA	----	----
K6	002083	hsa-miR-502-3p	AAUGCACCGGGCAAGGAUUCA	----	----
K7	001109	hsa-miR-502	AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA	----	----
K8	001048	hsa-miR-503	UAGCAGCGGGAACAGUUCUGCAG	----	----
K9	002084	hsa-miR-504	AGACCCUGGUCUGCACUCUAUC	----	----
K10	002089	hsa-miR-505	CGUCAACACUUGCUGGUUCCU	----	----
K11	001051	hsa-miR-507	UUUUGCACCUUUUGGAGUGAA	----	----
K12	001052	hsa-miR-508	UGAUUGUAGCCUUUUGGAGUAGA	----	----
K13	002092	hsa-miR-508-5p	UACUCCAGAGGGCGUCACUCAUG	----	----
K14	002235	hsa-miR-509-5p	UACUGCAGACAGUGGCAAUCA	----	----
K15	002241	hsa-miR-510	UACUCAGGAGAGUGGCAAUCAC	----	----
K16	001823	hsa-miR-512-3p	AAGUGCUGUCAUAGCUGAGGUC	----	----
K17	001145	hsa-miR-512-5p	CACUCAGCCUUGAGGGCACUUUC	----	----
K18	002090	hsa-miR-513-5p	UUCACAGGGAGGUGUCAU	----	----
K19	002369	hsa-miR-515-3p	GAGUGCCUUCUUUUGGAGCGUU	----	----
K20	001112	hsa-miR-515-5p	UUCUCCAAAAGAAAGCACUUUCG	----	----
K21	002416	hsa-miR-516a-5p	UUCUCGAGGAAAGAAGCACUUUC	----	----
K22	001150	hsa-miR-516b	AUCUGGAGGUAGAAGACACUUU	----	----
K23	002402	hsa-miR-517a	AUCGUGCAUCCCUUUAGAGUGU	----	----
K24	001153	hsa-miR-517c	AUCGUGCAUCCCUUUAGAGUGU	----	----
L1	002397	hsa-miR-518a-3p	GAAAGCGCUUCCCUUUGCUGGA	----	----
L2	002396	hsa-miR-518a-5p	CUGCAAAGGGAAGCCCUUUC	----	----
L3	001156	hsa-miR-518b	CAAAGCGCUCCCUUUAGAGGU	----	----

L4	002401	hsa-miR-518c	CAAAGCGCUUCUCUUUAGAGUGU	----	----
L5	001159	hsa-miR-518d	CAAAGCGCUUCCCUUUGGAGC	----	+
L6	002389	hsa-miR-518d-5p	CUCUAGAGGGAAGCACUUUCUG	----	----
L7	002395	hsa-miR-518e	AAAGCGCUUCCCUUCAGAGUG	----	----
L8	002388	hsa-miR-518f	GAAAGCGCUUCUCUUUAGAGG	----	----
L9	002415	hsa-miR-519a	AAAGUGCAUCCUUUAGAGUGU	----	----
L10	002403	hsa-miR-519d	CAAAGUGCCUCCCUUAGAGUG	----	----
L11	002370	hsa-miR-519e	AAGUGCCUCCUUUAGAGUGUU	----	----
L12	001167	hsa-miR-520a	AAAGUGCUUCCCUUUGGACUGU	----	----
L13	001168	hsa-miR-520a#	CUCCAGAGGGAAGUACUUUCU	----	----
L14	002393	hsa-miR-520d-5p	CUACAAAGGGAAGCCCUUC	----	+
L15	001121	hsa-miR-520g	ACAAAGUGCUUCCCUUAGAGUGU	----	----
L16	001122	hsa-miR-521	AACGCACUCCCUUAGAGUGU	----	----
L17	002413	hsa-miR-522	AAAAUGGUUCCCUUAGAGUGU	----	----
L18	002386	hsa-miR-523	GAACGCGCUUCCCUAUAGAGGGU	----	----
L19	001982	hsa-miR-524-5p	CUACAAAGGGAAGCACUUUCUC	----	----
L20	002385	hsa-miR-525-3p	GAAGGCGCUUCCCUUAGAGCG	----	----
L21	001174	hsa-miR-525	CUCCAGAGGGAUGCACUUUCU	----	----
L22	002382	hsa-miR-526b	CUCUUGAGGGAAGCACUUUCUGU	----	----
L23	002355	hsa-miR-532-3p	CCUCCACACCCAAGGCUUGCA	----	----
L24	001518	hsa-miR-532	CAUGCCUUGAGUGUAGGACCGU	----	----
M1	001286	hsa-miR-539	GGAGAAAUUAUCCUUGGUGUGU	----	----
M2	002201	hsa-miR-541	UGGUGGGCACAGAAUCUGGACU	----	----
M3	001284	hsa-miR-542-3p	UGUGACAGAUUGAUAAACUGAAA	----	----
M4	002240	hsa-miR-542-5p	UCGGGGAUCAUAGUCACGAGA	----	----
M5	002265	hsa-miR-544	AUUCUGCAUUUUUAGCAAGUUC	----	----
M6	002267	hsa-miR-545	UCAGCAAACAUUUUUGUGUGC	----	----
M7	001538	hsa-miR-548a	CAAACUGGCAUUUACUUUUGC	----	+
M8	002412	hsa-miR-548a-5p	AAAAGUAAUUGCGAGUUUACC	----	----
M9	001541	hsa-miR-548b	CAAGAACCUCAGUUGCUUUUGU	----	+
M10	002408	hsa-miR-548b-5p	AAAAGUAAUUGUGUUUUGGCC	----	----
M11	001590	hsa-miR-548c	CAAAAAUCUCAUUUACUUUUGC	----	+
M12	002429	hsa-miR-548c-5p	AAAAGUAAUUGCGUUUUUGCC	----	----
M13	001605	hsa-miR-548d	CAAAAACCACAGUUUCUUUUGC	----	----
M14	002237	hsa-miR-548d-5p	AAAAGUAAUUGUGUUUUUGCC	----	----
M15	001535	hsa-miR-551b	GCGACCAUACUUGGUUUCAG	----	----
M16	002345	hsa-miR-556-3p	AUAUUACCAUAGCUCUUCUU	----	----
M17	002344	hsa-miR-556-5p	GAUGAGCUCAUUGUAAUAUGAG	----	----
M18	001528	hsa-miR-561	CAAAGUUUAAGAUCUUGAAGU	----	----
M19	002347	hsa-miR-570	CGAAAACAGCAUUUACUUUUGC	----	----
M20	002349	hsa-miR-574-3p	CACGCUAUGCACACCCACA	----	----
M21	002351	hsa-miR-576-3p	AAGAUGUGGAAAAUUGGAAUC	----	----
M22	002350	hsa-miR-576-5p	AUUCUAAUUCUCCACGUCUUU	----	----
M23	002398	hsa-miR-579	UUCAUUUGGUUAAACCGGAUU	----	----
M24	002399	hsa-miR-582-3p	UAACUGGUUGAACACUGAACC	----	----
N1	001983	hsa-miR-582-5p	UUACAGUUGUUAACAGUUACU	----	----
N2	002409	hsa-miR-589	UGAGAACCACGUCUGCUCUGAG	----	----
N3	001984	hsa-miR-590-5p	GAGCUUAUUCAUAAAAGUGCAG	----	----
N4	001551	hsa-miR-597	UGUGUCACUCGAUGACCACUGU	----	+
N5	001988	hsa-miR-598	UACGUCAUCGUUGUCAUCGUCA	----	----
N6	001960	mmu-miR-615	UCCGAGCCUGGGUCUCCCUUU	----	----
N7	002353	hsa-miR-615-5p	GGGGGUCCCCGGUGCUCGGAUC	----	----
N8	002414	hsa-miR-616	AGUCAUUGGAGGGUUUGAGCAG	----	----

N9	001593	hsa-miR-618	AAACUCUACUUGUCCUUCUGAGU	----	----
N10	002430	hsa-miR-624	CACAAGGUAAUUGGUAAUACCU	----	----
N11	002431	hsa-miR-625	AGGGGAAAGUUCUAUAGUCC	----	----
N12	001560	hsa-miR-627	GUGAGUCUCUAAGAAAAGAGGA	----	----
N13	002433	hsa-miR-628-5p	AUGCUGACAUUUUACUAGAGG	----	----
N14	002436	hsa-miR-629	UGGGUUUACGUUGGGAGAACU	----	----
N15	002088	hsa-miR-636	UGUGCUUGCUCGUCCCGCCGCA	----	----
N16	001592	hsa-miR-642	GUCCCUCUCCAAAUGUGUCUUG	----	----
N17	001604	hsa-miR-651	UUUAGGAUAAGCUUGACUUUUG	----	----
N18	002352	hsa-miR-652	AAUGGCGCCACUAGGGUUGUG	----	----
N19	002292	hsa-miR-653	GUGUUGAAACAAUCUCUACUG	----	----
N20	002239	hsa-miR-654-3p	UAUGUCUGCUGACCAUCACCUU	----	----
N21	001611	hsa-miR-654	UGGUGGGCCGCAGAACAUUGGC	----	----
N22	001612	hsa-miR-655	AUAAUACAUGGUUAACCUCUUU	----	----
N23	001515	hsa-miR-660	UACCCAUUGCAUAUCGGAGUUG	----	----
N24	002322	hsa-miR-671-3p	UCCGGUUCUCAGGGCUCCACC	----	----
O1	002327	hsa-miR-672	UGAGGUUGGUGUACUGUGUGUGA	----	----
O2	002021	hsa-miR-674	GCACUGAGAUGGGAGUGUGUGA	----	----
O3	002341	hsa-miR-708	AAGGAGCUUACAAUCUAGCUGGG	----	----
O4	002324	hsa-miR-744	UGCGGGGCUAGGGCUAACAGCA	----	----
O5	001990	hsa-miR-758	UUUGUGACCUGGUCCACUAACC	----	----
O6	002354	hsa-miR-871	UAUUCAGAUUAGUGCCAGUCAUG	----	----
O7	002264	hsa-miR-872	AAGGUUACUUGUUAGUUCAGG	----	----
O8	002356	hsa-miR-873	GCAGGAACUUGUGAGUCUCCU	----	----
O9	002268	hsa-miR-874	CUGCCCUGGCCCCGAGGGACCGA	----	----
O10	002204	hsa-miR-875-3p	CCUGGAAACACUGAGGUUGUG	----	----
O11	002225	hsa-miR-876-3p	UGGUGGUUUACAAAGUAAUUCA	----	----
O12	002205	hsa-miR-876-5p	UGGAUUUCUUUGUGAAUCACCA	----	----
O13	002372	hsa-miR-885-3p	AGGCAGCGGGGUGUAGUGGAUA	----	----
O14	002296	hsa-miR-885-5p	UCCAUUACACUACCCUGCCUCU	----	----
O15	002194	hsa-miR-886-3p	CGCGGGUGCUUACUGACCCUU	----	----
O16	002193	hsa-miR-886-5p	CGGGUCGGAGUUAGCUCAAGCGG	----	----
O17	002374	hsa-miR-887	GUGAACGGGCGCCAUCCGAGG	----	----
O18	002212	hsa-miR-888	UACUCAAAAAGCUGUCAGUCA	----	----
O19	002202	hsa-miR-889	UUAUAUCGGACAACCAUUGU	----	----
O20	002209	hsa-miR-890	UACUUGGAAAGGCAUCAGUUG	----	----
O21	002191	hsa-miR-891a	UGCAACGAACCUGAGCCACUGA	----	----
O22	002210	hsa-miR-891b	UGCAACUUACCUGAGUCAUUGA	----	----
O23	002195	hsa-miR-892a	CACUGUGUCCUUUCUGCGUAG	----	----
O24	000469	hsa-miR-147	GUGUGUGGAAAUGCUUCUGC	----	----
P1	000511	hsa-miR-208	AUAAGACGAGCAAAAAGCUUGU	----	----
P2	000514	hsa-miR-211	UUCCCUUUGUCAUCCUUCGCCU	----	----
P3	000515	hsa-miR-212	UAACAGUCUCCAGUCACGGCC	----	----
P4	002095	hsa-miR-219-1-3p	AGAGUUGAGUCUGGACGUCCCG	----	----
P5	002390	hsa-miR-219-2-3p	AGAAUUGUGGCUGGACAUCUGU	----	----
P6	000523	hsa-miR-220	CCACACCGUAUCUGACACUUU	----	----
P7	002206	hsa-miR-220b	CCACCACGUGUCUGACACUU	----	----
P8	002211	hsa-miR-220c	ACACAGGGCUGUUGUGAAGACU	----	----
P9	002190	hsa-miR-298	AGCAGAAGCAGGGAGGUUCUCCCA	----	----
P10	000540	hsa-miR-325	CCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGU	----	----
P11	000553	hsa-miR-346	UGUCUGCCCGCAUGCCUGCCUCU	----	----
P12	002122	hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUCCACGU	----	----

P13	000574	hsa-miR-384	AUCCUAGAAUUGUUCAUA	----	----
P14	001023	hsa-miR-412	ACUUCACCUGGUCCACUAGCCGU	----	----
P15	001029	hsa-miR-448	UUGCAUAUGUAGGAUGUCCCAU	----	----
P16	001039	hsa-miR-492	AGGACCUGCGGACAAGAUUCUU	----	----
P17	001050	hsa-miR-506	UAAGGCACCCUUCUGAGUAGA	----	----
P18	002155	hsa-miR-509-3-5p	UACUGCAGACGUGGCAAUCAUG	----	----
P19	001111	hsa-miR-511	GUGUCUUUUUGCUCUGCAGUCA	----	----
P20	001152	hsa-miR-517b	UCGUGCAUCCUUUAGAGUGUU	----	----
P21	001163	hsa-miR-519c	AAAGUGCAUCUUUUUAGAGGAU	----	----
P22	001116	hsa-miR-520b	AAAGUGCUUCCUUUUAGAGGG	----	----
P23	001119	hsa-miR-520e	AAAGUGCUUCCUUUUAGAGGG	----	----
P24	001120	hsa-miR-520f	AAGUGCUUCCUUUUAGAGGGUU	----	----

Tabelle 31: Übersicht über die miRNA auf der Card „Human Megaplex Pool B“, gelb unterlegt = mitgelaufene Kontrollen, ‡ = weniger optimale Leistung im Pool

Well location	Assay ID	Assay Name	Target Sequence	- PreAmp	+ PreAmp
A1	000268	dme-miR-7	UGGAAGACUAGUAAUUUGUUGU	----	----
A2	002909	hsa-miR-548I	AAAAGUAAUUGCGGAUUUUGCC	----	----
A3	000416	hsa-miR-30a-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	----	----
A4	000417	hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCUCGACUGGAAG	----	‡
A5	000420	hsa-miR-30d	UGUAAACAUCGCGACUGGAAG	----	----
A6	000422	hsa-miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	----	‡
A7	000427	hsa-miR-34b	UAGGCAGUGUCAUUAGCUGAUUG	----	----
A8	000451	hsa-miR-126#	CAUUAUUACUUUUGGUACGCG	----	----
A9	000478	hsa-miR-154#	AAUCAUACACGGUUGACCUAUU	----	----
A10	000483	hsa-miR-182#	UGGUUCUAGACUUGCCAACUA	----	----
A11	001973	U6 snRNA	GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCUGUCUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCUGCAGAAAGC AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCCAGGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCUCCUGGACACACCCCGACCUCGG UGACAGGCACCUCAGAGGAGCAAGUGAGCU GGUGGGGCAGCGGCAGACGGUCCUGGAGC AGGAAGCGGGCAGUGGGGGUGGCACCCGCC GCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAGG CAACCGGGGGCGGGCCACGGCACCUGGGGG UGGAGCCGCUUGUGCGGGCAUCUCGAGCUA AUCUGGUGGG	----	----
A12	001973	U6 snRNA	GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCUGUCUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCUGCAGAAAGC AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC	----	----

			UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCACGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCCUGGACACACCCCGACCUCG UGACAGGCACCUCAGAGGAGCAAGUGAGCU GGUGGGGCAGCGGGCAGACGGUCCUGGAGC AGGAAGCGGGCAGUGGGGGUGGCACCCGCC GCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAGG CAACCGGGGCCGGGCCACGGCACCUGGGGG UGGAGCCGCUUGGUGCGGGCAUCUCGAGCUA AUCUGGUGGG		
A13	000510	hsa-miR-206	UGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGG	----	----
A14	000516	hsa-miR-213	ACCAUCGACCGUUGAUUGUACC	----	----
A15	000534	hsa-miR-302c#	UUUAACAUGGGGUACCUGCUG	----	----
A16	000535	hsa-miR-302d	UAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGU	----	----
A17	000567	hsa-miR-378	CUCCUGACUCCAGGUCCUGUGU	----	----
A18	000570	hsa-miR-380-5p	UGGUUGACCAUAGAACAUGCGC	----	----
A19	002910	hsa-miR-1257	AGUGAAUGAUGGGUUCUGACC	----	----
A20	001011	hsa-miR-200a#	CAUCUUACCGGACAGUGCUGGA	----	----
A21	001026	hsa-miR-432	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG	----	----
A22	001027	hsa-miR-432#	CUGGAUGGCUCUCCAUGUCU	----	----
A23	001043	hsa-miR-497	CAGCAGCACACUGUGGUUUGU	----	----
A24	001046	hsa-miR-500	AUGCACCUGGGCAAGGAUUCUG	----	----
B1	002927	hsa-miR-1238	CUUCCUCGUCUGUCUGCCCC	----	----
B2	001106	hsa-miR-488	CCCAGAUAAUGGCACUCUCAA	----	----
B3	001113	hsa-miR-517#	CCUCUAGAUGGAAGCACUGUCU	----	----
B4	001149	hsa-miR-516-3p	UGCUUCCUUUCAGAGGGU	----	†
B5	001158	hsa-miR-518c#	UCUCUGGAGGGAAGCACUUUCUG	----	----
B6	001166	hsa-miR-519e#	UUCUCCAAAAGGGAGCACUUUC	----	----
B7	001170	hsa-miR-520h	ACAAAGUGCUUCCCUUUAGAGU	----	----
B8	001173	hsa-miR-524	GAAGGCGCUUCCCUUUGGAGU	----	----
B9	001178	mmu-let-7d#	CUAUACGACCUGCUGCCUUUCU	----	†
B10	001283	hsa-miR-363#	CGGGUGGAUCACGAUGCAAUUU	----	----
B11	001973	U6 snRNA	GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCUGUCUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCCUGCAGAAAGC AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCACGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCCUGGACACACCCCGACCUC GUGACAGGCACCUCAGAGGAGCAAGUGAGC UGGUGGGGCAGCGGGCAGACGGUCCUGGAG CAGGAAGCGGGCAGUGGGGGUGGCACCCGC CGCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAG GCAACCGGGGCCGGGCCACGGCACCUGGGG GUGGAGCCGCUUGGUGCGGGCAUCUCGAGCU AAUCUGGUGGG	----	----
B12	001973	U6 snRNA	GUGCUCGCUUCGGCAGCACAUUACUAAAA UUGGAACGAUACAGAGAAGAUUAGCAUGGC CCUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUG AAGCGUCCAUUUUUUACUGCCCUCCAUG CCUGCCCCACAAACGCUCUGAUAAACAGUC UGUCCUGUCUCUCUCCUGCUGCUCCUAUG GAAGCGAAGUUUCCGCUCCUGCAGAAAGC	----	----

			AAAGUUACGACUCAGAGACGGCUGAGGAUG ACAUCAGCGAUGUGCAGGGAACCCAGCGCC UGGAGCUUCGGGAUGACGGGGCCUUCAGCA CCCCACGGGGGUUCUGACACCCUGGUGG GCACCUCCUGGACACACCCCGACCUCCG UGACAGGCACCUACAGAGGAGCAAGUGAGCU GGUGGGGCAGCGGGCAGACGGUCCUGGAGC AGGAAGCGGGCAGUGGGGUGGCACCCGCC GCCUCCCGGGCAGCCCAAGGCAAGCACAGG CAACCGGGGCCGGGCCACGGCACCUGGGGG UGGAGCCGUGGUGCGGGCAUCUCGAGCUA AUCUGGUGGG		
B13	001338	rno-miR-7#	CAACAAAUCACAGUCUGCCAUA	----	----
B14	001510	hsa-miR-656	AAUAUUUAUACAGUCAACCUCU	----	----
B15	001511	hsa-miR-549	UGACAACUAUGGAUGAGCUCU	----	----
B16	001512	hsa-miR-657	GGCAGGUUCACCCUCUCUAGG	----	----
B17	001513	hsa-miR-658	GGCGGAGGGAAGUAGGUCCGUUGGU	----	----
B18	001514	hsa-miR-659	CUUGGUUCAGGGAGGGUCCCCA	----	----
B19	001519	hsa-miR-551a	GCGACCCACUCUUGGUUUCCA	----	----
B20	001520	hsa-miR-552	AACAGGUGACUGGUUAGACAA	----	----
B21	001521	hsa-miR-553	AAAACGUGAGAUUUUGUUUU	----	----
B22	001522	hsa-miR-554	GCUAGUCCUGACUCAGCCAGU	----	----
B23	001523	hsa-miR-555	AGGGUAAGCUGAACCCUCUGAU	----	----
B24	001525	hsa-miR-557	GUUUGCACGGGUGGGCCUUGUCU	----	----
C1	001526	hsa-miR-558	UGAGCUGCUGUACCAAAAU	----	----
C2	001527	hsa-miR-559	UAAAGUAAAUAUGCACCAAAA	----	----
C3	001529	hsa-miR-562	AAAGUAGCUGUACCAUUUGC	----	----
C4	001530	hsa-miR-563	AGGUUGACAUACGUUUCCC	----	----
C5	001531	hsa-miR-564	AGGCACGGUGUCAGCAGGC	----	----
C6	001533	hsa-miR-566	GGGCGCCUGUGAUCCCAAC	----	----
C7	001534	hsa-miR-567	AGUAUGUUCUCCAGGACAGAAC	----	----
C8	001536	hsa-miR-569	AGUUAUAUGAAUCCUGGAAAGU	----	----
C9	001539	hsa-miR-586	UAUGCAUUGUAUUUUUAGGUCC	----	----
C10	001540	hsa-miR-587	UUUCCAUAGGUGAUGAGUCAC	----	----
C11	001094	RNU44	CCUGGAUGAUGAUAGCAAAUGCUGACUGAA CAUGAAGGUCUUAUUAGCUCUAAACUGACU	----	----
C12	001542	hsa-miR-588	UUGGCCACAAUGGGUUAGAAC	----	----
C13	001543	hsa-miR-589	UCAGAACAAAUGCCGGUUCCAGA	----	----
C14	001544	hsa-miR-550	UGUCUUACUCCUCAGGCACAU	----	----
C15	001545	hsa-miR-591	AGACCAUGGGUUCUCAUUGU	----	----
C16	001546	hsa-miR-592	UUGUGUCAUAUAGCGAUGAUGU	----	----
C17	001547	hsa-miR-593	AGGCACCAGCCAGGCAUUGCUCAGC	----	----
C18	001550	hsa-miR-596	AAGCCUGCCCGGCUCCUCGGG	----	----
C19	001553	hsa-miR-622	ACAGUCUGCUGAGGUUGGAGC	----	----
C20	001554	hsa-miR-599	GUUGUGUCAGUUUAUCAAAC	----	----
C21	001555	hsa-miR-623	AUCCCUUGCAGGGGCUGUUGGGU	----	----
C22	001556	hsa-miR-600	ACUUACAGACAAGAGCCUUGCUC	----	----
C23	001557	hsa-miR-624	UAGUACCAGUACCUUGUGUUCA	----	----
C24	001558	hsa-miR-601	UGGUCUAGGAUUGUUGGAGGAG	----	†
D1	001559	hsa-miR-626	AGCUGUCUGAAAAUGUCUU	----	----
D2	001562	hsa-miR-629	GUUCUCCCAACGUAAGCCCAGC	----	----

D3	001563	hsa-miR-630	AGUAUUCUGUACCAGGGAAGGU	----	----
D4	001564	hsa-miR-631	AGACCUGGCCAGACCUCAGC	----	----
D5	001566	hsa-miR-603	CACACACUGCAAUUACUUUUGC	----	----
D6	001567	hsa-miR-604	AGGCUGCGGAAUUCAGGAC	----	----
D7	001568	hsa-miR-605	UAAAUCCCAUGGUGCCUUCUCCU	----	----
D8	001569	hsa-miR-606	AAACUACUGAAAAUCAAGAU	----	----
D9	001570	hsa-miR-607	GUUCAAAUCCAGAUUAUAAC	----	----
D10	001571	hsa-miR-608	AGGGGUGGUGUUGGGACAGCUCCGU	----	----
D11	001573	hsa-miR-609	AGGGUGUUUCUCUCAUCUCU	----	----
D12	001574	hsa-miR-633	CUAAUAGUAUCUACCACAAUAAA	----	----
D13	001576	hsa-miR-634	AACCAGCACCCCAACUUUGGAC	----	----
D14	001578	hsa-miR-635	ACUUGGGCACUGAAACAAUGUCC	----	----
D15	001581	hsa-miR-637	ACUGGGGGCUUUCGGGCUCUGCGU	----	----
D16	001582	hsa-miR-638	AGGGAUCGCGGGCGGGUGGCGGCCU	----	----
D17	001583	hsa-miR-639	AUCGCUGCGGUUGCGAGCGCUGU	----	----
D18	001584	hsa-miR-640	AUGAUCCAGGAACCUGCCUCU	----	----
D19	001585	hsa-miR-641	AAAGACAUAGGAUAGAGUACCUC	----	----
D20	001586	hsa-miR-613	AGGAAUGUCCUUCUUUGCC	----	----
D21	001587	hsa-miR-614	GAACGCCUGUUCUUGCCAGGUGG	----	----
D22	001589	hsa-miR-616	ACUCAAAACCCUUCAGUGACUU	----	----
D23	001591	hsa-miR-617	AGACUCCCCAUUUGAAGGUGGC	----	----
D24	001594	hsa-miR-643	ACUUGUAUGCUAGCUCAGGUAG	----	----
E1	001596	hsa-miR-644	AGUGUGGCUUUCUAGAGC	----	----
E2	001597	hsa-miR-645	UCUAGGCGGUACUGCUGA	----	†
E3	001598	hsa-miR-621	GGCUAGCAACAGCGCUUACCU	----	----
E4	001599	hsa-miR-646	AAGCAGCUGCCUCUGAGGC	----	----
E5	001600	hsa-miR-647	GUGGCUGCACUCACUCCUUC	----	----
E6	001601	hsa-miR-648	AAGUGUGCAGGGCACUGGU	----	----
E7	001602	hsa-miR-649	AAACCUGUGUUGUUAAGAGUC	----	----
E8	001603	hsa-miR-650	AGGAGGCAGCGCUCUCAGGAC	----	----
E9	001606	hsa-miR-661	UGCCUGGGUCUCUGGCCUGCGCGU	----	----
E10	001607	hsa-miR-662	UCCCACGUUGUGGCCAGCAG	----	----
E11	001006	RNU48	GAUGACCCCAGGUAACUCUGAGUGUGUCGC UGAUGCCAUCACCGCAGCGCUCUGACC	----	----
E12	001613	hsa-miR-571	UGAGUUGCCAUCUGAGUGAG	----	----
E13	001614	hsa-miR-572	GUCCGCUCGGCGUGGCCCA	----	----
E14	001615	hsa-miR-573	CUGAAGUGAUGUGUAAUCUGAUCAG	----	----
E15	001617	hsa-miR-575	GAGCCAGUUGGACAGGAGC	----	----
E16	001619	hsa-miR-578	CUUCUUGUGCUCUAGGAUUGU	----	----
E17	001621	hsa-miR-580	UUGAGAAUGAUGAAUCAUUAGG	----	----
E18	001622	hsa-miR-581	UCUUGUGUUCUCUAGAUCAGU	----	----
E19	001623	hsa-miR-583	CAAAGAGGAAGGUCCCAUUAC	----	†
E20	001624	hsa-miR-584	UUAUGGUUUGCCUGGGACUGAG	----	----
E21	001625	hsa-miR-585	UGGGCGUAUCUGUAUGCUA	----	----
E22	001818	rno-miR-29c#	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	----	----
E23	001986	hsa-miR-766	ACUCCAGCCCCACAGCCUCAGC	----	----
E24	001987	hsa-miR-595	GAAGUGUGCCGUGGUGUGUCU	----	----

F1	001992	hsa-miR-668	UGUCACUCGGCUCGGCCCACUAC	----	----
F2	001993	hsa-miR-767-5p	UGCACCAUGGUUGUCUGAGCAUG	----	----
F3	001995	hsa-miR-767-3p	UCUGCUCAUACCCCAUGGUUUCU	----	----
F4	001996	hsa-miR-454#	ACCCUAUCAUAUUGUCUCUGC	----	----
F5	001998	hsa-miR-769-5p	UGAGACCUCUGGGUUCUGAGCU	----	----
F6	002002	hsa-miR-770-5p	UCCAGUACCACGUGUCAGGGCCA	----	----
F7	002003	hsa-miR-769-3p	CUGGGAUCUCCGGGGUCUUGGUU	----	----
F8	002004	hsa-miR-802	CAGUAAACAAAGAUUCAUCCUUGU	----	----
F9	002005	hsa-miR-675	UGGUGCGGAGAGGGCCACAGUG	----	----
F10	002087	hsa-miR-505#	GGGAGCCAGGAAGUAUUGAUGU	----	----
F11	002094	hsa-miR-218-1#	AUGGUUCCGUCAAGCACCAUGG	----	----
F12	002096	hsa-miR-221#	ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU	----	----
F13	002097	hsa-miR-222#	CUCAGUAGCCAGUGUAGAUCU	----	----
F14	002098	hsa-miR-223#	CGUGUAUUUGACAAGCUGAGUU	----	----
F15	002100	hsa-miR-136#	CAUCAUCGUCUCAAUGAGUCU	----	----
F16	002102	hsa-miR-34b	CAAUCACUAAUCCACUGCCAU	----	----
F17	002104	hsa-miR-185#	AGGGGCUGGCUUCCUCUGGUC	----	----
F18	002105	hsa-miR-186#	GCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGG	----	----
F19	002107	hsa-miR-195#	CCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCC	----	----
F20	002108	hsa-miR-30c-1#	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	----	----
F21	002110	hsa-miR-30c-2#	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	----	----
F22	002111	hsa-miR-32#	CAAUUUAGUGUGUGUAUUAUU	††	††
F23	002113	hsa-miR-31#	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU	----	----
F24	002114	hsa-miR-130b#	ACUCUUUCCUGUUGCACUAC	----	----
G1	002115	hsa-miR-26a-2#	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	----	----
G2	002116	hsa-miR-361-3p	UCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUU	----	----
G3	002118	hsa-let-7g#	CUGUACAGGCCACUGCCUUGC	----	----
G4	002119	hsa-miR-302b#	ACUUUAACAUGGAAGUGCUUUC	----	----
G5	002120	hsa-miR-302d#	ACUUUAACAUGGAGGCACUUGC	----	----
G6	002121	hsa-miR-367#	ACUGUUGCUAAUAUGCAACUCU	----	----
G7	002125	hsa-miR-374a#	CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUU	----	----
G8	002126	hsa-miR-23b#	UGGGUUCUGGCAUGCUGAUUU	----	----
G9	002127	hsa-miR-376a#	GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA	----	----
G10	002128	hsa-miR-377#	AGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUC	----	----
G11	000338	ath-miR159a	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA	----	----
G12	002129	hsa-miR-30b#	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	----	----
G13	002130	hsa-miR-122#	AACGCCAUUAUCACACUAAAUA	----	----
G14	002131	hsa-miR-130a#	UUCACAUUGUGCUACUGUCUGC	----	----
G15	002132	hsa-miR-132#	ACCGUGGCUUUCGAUUGUUACU	----	----
G16	002134	hsa-miR-148a#	AAAGUUCUGAGACAUCCGACU	----	----
G17	002135	hsa-miR-33a	GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA	----	----
G18	002136	hsa-miR-33a#	CAAUGUUUCCACAGUGCAUCAC	----	----
G19	002137	hsa-miR-92a-1#	AGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCU	----	----
G20	002138	hsa-miR-92a-2#	GGGUGGGGAUUUGUUGCAUUAC	----	----
G21	002139	hsa-miR-93#	ACUGCUGAGCUAGCACUCCCG	----	----
G22	002140	hsa-miR-96#	AAUCAUGUGCAGUGCCAAUAUG	----	----

G23	002141	hsa-miR-99a#	CAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUG	----	----
G24	002142	hsa-miR-100#	CAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUG	----	----
H1	002143	hsa-miR-101#	CAGUUAUCACAGUGCUGAUGCU	----	----
H2	002144	hsa-miR-138-2#	GCUAUUUACGACACCAGGGUU	----	----
H3	002145	hsa-miR-141#	CAUCUUCAGUACAGUGUUGGA	----	----
H4	002146	hsa-miR-143#	GGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGU	----	†
H5	002148	hsa-miR-144#	GGAUAUCAUCAUUAUCUGUAAG	----	----
H6	002149	hsa-miR-145#	GGAUUCCUGGAAAUACUGUUCU	----	----
H7	002150	hsa-miR-920	GGGGAGCUGUGGAAGCAGUA	----	----
H8	002151	hsa-miR-921	CUAGUGAGGGACAGAACCAGGAUUC	----	----
H9	002152	hsa-miR-922	GCAGCAGAGAAUAGGACUACGUC	----	----
H10	002154	hsa-miR-924	AGAGUCUUGUGAUGUCUUGC	----	----
H11	002157	hsa-miR-337-3p	CUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUC	----	----
H12	002158	hsa-miR-125b-2#	UCACAAGUCAGGCUCUUGGGAC	----	----
H13	002159	hsa-miR-135b#	AUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGG	----	----
H14	002160	hsa-miR-148b#	AAGUUCUGUUAUACACUCAGGC	----	----
H15	002163	hsa-miR-146a#	CCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAG	----	----
H16	002164	hsa-miR-149#	AGGGAGGGACGGGGGUGUGC	----	----
H17	002165	hsa-miR-29b-1#	GCUGGUUUCAUAUGGUGUUUAGA	----	----
H18	002166	hsa-miR-29b-2#	CUGGUUUCACAUGGUGGCUUAG	----	----
H19	002168	hsa-miR-105#	ACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUA	----	----
H20	002170	hsa-miR-106a#	CUGCAAUGUAAGCACUUCUAC	----	----
H21	002171	hsa-miR-16-2#	CCAAUAAUACUGUGCUGCUUUA	†	†
H22	002172	hsa-let-7i#	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGCU	----	----
H23	002173	hsa-miR-15b#	CGAAUCAUUAUUUGCUGCUCUA	----	----
H24	002174	hsa-miR-27b#	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	----	----
I1	002176	hsa-miR-933	UGUGCGCAGGGAGACCUCUCCC	†	----
I2	002177	hsa-miR-934	UGUCUACUACUGGAGACACUGG	----	----
I3	002178	hsa-miR-935	CCAGUUAACGCUUCCGCUACCGC	----	----
I4	002179	hsa-miR-936	ACAGUAGAGGGAGGAAUCGCAG	----	----
I5	002180	hsa-miR-937	AUCCGCGCUCUGACUCUCUGCC	----	----
I6	002181	hsa-miR-938	UGCCCUUAAAGGUGAACCCAGU	----	----
I7	002182	hsa-miR-939	UGGGGAGCUGAGGCUCUGGGGGUG	----	----
I8	002183	hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGUGCACAUGUGC	----	----
I9	002185	hsa-miR-335#	UUUUUCAUUAUUGCUCCUGACC	----	----
I10	002187	hsa-miR-942	UCUUCUCUGUUUUGGCCAUGUG	----	----
I11	002188	hsa-miR-943	CUGACUGUUGCCGUCCUCCAG	----	----
I12	002189	hsa-miR-944	AAAUUAUUGUACAUCGGAUGAG	----	----
I13	002196	hsa-miR-99b#	CAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCG	----	----
I14	002197	hsa-miR-124#	CGUGUUCACAGCGGACCUUGAU	----	----
I15	002200	hsa-miR-541#	AAAGGAUUCUGCUGCGGUCCACU	----	----
I16	002203	hsa-miR-875-5p	UAUACCUCAGUUUUUAUCAGGUG	----	----
I17	002213	hsa-miR-888#	GACUGACACCUCUUUGGGUGAA	----	----
I18	002214	hsa-miR-892b	CACUGGCUCUUUCUGGGUAGA	----	----
I19	002231	hsa-miR-9#	AUAAGCUAGAUAAACGAAAGU	----	----
I20	002238	hsa-miR-411#	UAUGUAAACGGUCCACUAACC	----	----

I21	002243	hsa-miR-378	ACUGGACUUGGAGUCAGAAGG	----	⚡
I22	002254	hsa-miR-151-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	----	----
I23	002259	hsa-miR-340#	UCCGUCUCAGUUACUUUUAUAGC	----	----
I24	002263	hsa-miR-190b	UGAUAUGUUUGAUUUGGGUU	----	----
J1	002266	hsa-miR-545#	UCAGUAAAUGUUUUAUAGAUGA	----	----
J2	002270	hsa-miR-183#	GUGAAUUACCGAAGGGCCAUAA	----	----
J3	002272	hsa-miR-192#	CUGCCAAUUCCAUAGGUCACAG	----	----
J4	002274	hsa-miR-200b#	CAUCUUACUGGGCAGCAUUGGA	----	⚡
J5	002286	hsa-miR-200c#	CGUCUUACCCAGCAGUGUUUGG	----	----
J6	002287	hsa-miR-155#	CUCCUACAUAUUAGCAUUAACA	----	----
J7	002288	hsa-miR-10a#	CAAAUUCGUAUCUAGGGGAUA	----	----
J8	002293	hsa-miR-214#	UGCCUGUCUACACUUGCUGUGC	----	----
J9	002294	hsa-miR-218-2#	CAUGGUUCUGUCAAGCACCGCG	----	----
J10	002298	hsa-miR-129#	AAGCCCUUACCCCAAAAAGUAU	----	----
J11	002301	hsa-miR-22#	AGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUA	----	----
J12	002302	hsa-miR-425#	AUCGGGAAUGUCGUGCCGCC	----	----
J13	002305	hsa-miR-30d#	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	----	----
J14	002307	hsa-let-7a#	CUAUACAAUCUACUGUCUUUC	----	⚡
J15	002309	hsa-miR-424#	CAAAACGUGAGGCGCUGCUAU	----	----
J16	002310	hsa-miR-18b#	UGCCCUAAAUGCCCUUCUGGC	----	----
J17	002311	hsa-miR-20b#	ACUGUAGUAUGGGCACUCCAG	----	----
J18	002312	hsa-miR-431#	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU	----	----
J19	002314	hsa-miR-7-2#	CAACAAAUCCAGUCUACCUA	----	----
J20	002315	hsa-miR-10b#	ACAGAUUCGAUUCUAGGGGAU	----	----
J21	002316	hsa-miR-34a#	CAAUCAGCAAGUAUACUGCCCU	----	----
J22	002317	hsa-miR-181a-2#	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	----	----
J23	002325	hsa-miR-744#	CUGUUGCCACUAACCUCACCU	----	----
J24	002330	hsa-miR-452#	CUCAUCUGCAAAGAAGUAAGUG	----	----
K1	002332	hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	----	----
K2	002333	hsa-miR-181c#	AACCAUCGACCGUUGAGUGGAC	----	----
K3	002336	hsa-miR-196a#	CGGCAACAAGAAACUGCCUGAG	----	----
K4	002339	hsa-miR-483-3p	UCACUCCUCUCCUCCGUCUU	----	----
K5	002342	hsa-miR-708#	CAACUAGACUGUGAGCUUCUAG	----	----
K6	002343	hsa-miR-92b#	AGGGACGGGACGCGGUGCAGUG	----	----
K7	002346	hsa-miR-551b#	GAAAUCAAGCGUGGGUGAGACC	----	----
K8	002362	hsa-miR-202#	UUCCUAUGCAUAUACUUCUUUG	----	----
K9	002366	hsa-miR-193b#	CGGGGUUUUGAGGGCGAGAUGA	----	----
K10	002368	hsa-miR-497#	CAAACCACACUGUGGUGUUAGA	----	----
K11	002371	hsa-miR-518e#	CUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUG	----	----
K12	002376	hsa-miR-543	AAACAUUCGCGGUGCACUUCUU	----	----
K13	002378	hsa-miR-125b-1#	ACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCU	----	----
K14	002379	hsa-miR-194#	CCAGUGGGGCGUCUGUUAUCUG	----	----
K15	002380	hsa-miR-106b#	CCGCACUGUGGGUACUUGCUGC	----	----
K16	002381	hsa-miR-302a#	ACUUAACGUGGAUGUACUUGCU	----	----
K17	002384	hsa-miR-519b-3p	AAAGUGCAUCCUUUAGAGGUU	----	----
K18	002387	hsa-miR-518f#	CUCUAGAGGGAAGCACUUUCUC	----	----

K19	002391	hsa-miR-374b#	CUUAGCAGGUUGUAUUUAUCAUU	----	----
K20	002400	hsa-miR-520c-3p	AAAGUGCUUCCUUUUAGAGGGU	----	‡
K21	002404	hsa-let-7b#	CUAUACAACCUACUGCCUCCCC	----	‡
K22	002405	hsa-let-7c#	UAGAGUUACACCCUGGGAGUUA	----	----
K23	002407	hsa-let-7e#	CUAUACGGCCUCCUAGCUUCC	----	----
K24	002410	hsa-miR-550	AGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCC	----	----
L1	002411	hsa-miR-593	UGUCUCUGCUGGGGUUUUCU	----	----
L2	002417	hsa-let-7f-1#	CUAUACAAUCUAUUGCCUCCCC	----	----
L3	002418	hsa-let-7f-2#	CUAUACAGUCUACUGUCUUCC	----	----
L4	002419	hsa-miR-15a#	CAGGCCAUUUUGUGCUGCCUCA	----	----
L5	002420	hsa-miR-16-1#	CCAGUAUUAAACUGUGCUGCUGA	----	----
L6	002421	hsa-miR-17#	ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAG	----	----
L7	002423	hsa-miR-18a#	ACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGG	----	----
L8	002424	hsa-miR-19a#	AGUUUUGCAUAGUUGCACUACA	----	----
L9	002425	hsa-miR-19b-1#	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	----	‡
L10	002432	hsa-miR-625#	GACUAUAGAACUUUCCCCCUCA	----	‡
L11	002434	hsa-miR-628-3p	UCUAGUAAGAGUGGCAGUCGA	----	----
L12	002437	hsa-miR-20a#	ACUGCAUUUAUGAGCACUAAAAG	----	----
L13	002438	hsa-miR-21#	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	----	----
L14	002439	hsa-miR-23a#	GGGUUCCUGGGGAUGGGAUUU	----	----
L15	002440	hsa-miR-24-1#	UGCCUACUGAGCUGAUUUCAGU	----	----
L16	002441	hsa-miR-24-2#	UGCCUACUGAGCUGAAACACAG	----	----
L17	002442	hsa-miR-25#	AGGCGGAGACUUGGGCAAUUG	----	----
L18	002443	hsa-miR-26a-1#	CCUAUUCUUGGUUACUUGCACG	----	----
L19	002444	hsa-miR-26b#	CCUGUUCUCCAUAUACUUGGCUC	----	----
L20	002445	hsa-miR-27a#	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	----	----
L21	002447	hsa-miR-29a#	ACUGAUUUUUUUGGUGUUCAG	----	----
L22	002642	hsa-miR-151-5P	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	----	----
L23	002643	hsa-miR-765	UGGAGGAGAAGGAAGGUGAUG	----	----
L24	002658	hsa-miR-338-5P	AACAAUAUCCUGGUGCUGAGUG	‡	‡
M1	002672	hsa-miR-620	AUGGAGAUAGAUUAUAGAAAU	----	----
M2	002675	hsa-miR-577	UAGAUAAAAUAUUGGUACCUG	----	----
M3	002676	hsa-miR-144	UACAGUAUAGAUGAUGUACU	----	----
M4	002677	hsa-miR-590-3P	UAAUUUUUAUGUAUAAGCUAGU	----	----
M5	002678	hsa-miR-191#	GCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCC	----	----
M6	002681	hsa-miR-665	ACCAGGAGGCUGAGGCCCCU	----	----
M7	002743	hsa-miR-520D-3P	AAAGUGCUUCUCUUUGGUGGGU	----	----
M8	002752	hsa-miR-1224-3P	CCCCACCUCUCUCUCCUCAG	----	----
M9	002867	hsa-miR-1305	UUUUAACUCUAAUGGGAGAGA	----	‡
M10	002756	hsa-miR-513C	UUCUCAAGGAGGUGUCGUUUAU	----	----
M11	002757	hsa-miR-513B	UUCACAAGGAGGUGUCAUUUUAU	----	----
M12	002758	hsa-miR-1226#	GUGAGGGCAUGCAGGCCUGGAUGGGG	----	----
M13	002761	hsa-miR-1236	CCUCUCCCCUUGUCUCUCCAG	----	----
M14	002763	hsa-miR-1228#	GUGGGCGGGGCGAGGUGUGUG	----	----
M15	002766	hsa-miR-1225-3P	UGAGCCCCUGUGCCGCCCCCAG	----	----
M16	002768	hsa-miR-1233	UGAGCCCUGUCCUCCCGCAG	----	----

M17	002769	hsa-miR-1227	CGUGCCACCCUUUCCCCAG	----	----
M18	002773	hsa-miR-1286	UGCAGGACCAAGAUGAGCCCU	----	----
M19	002775	hsa-miR-548M	CAAAGGUAUUUGUGGUUUUUG	----	----
M20	002776	hsa-miR-1179	AAGCAUUCUUUCAUUGGUUGG	----	----
M21	002777	hsa-miR-1178	UUGCUCACUGUUCUCCCUAG	----	----
M22	002778	hsa-miR-1205	UCUGCAGGGUUUGCUUUGAG	----	----
M23	002779	hsa-miR-1271	CUUGGCACCUAGCAAGCACUCA	----	----
M24	002781	hsa-miR-1201	AGCCUGAUUAAACACAUGCUCUGA	----	----
N1	002783	hsa-miR-548J	AAAAGUAAUUGCGGUCUUUGGU	----	----
N2	002784	hsa-miR-1263	AUGGUACCCUGGCAUACUGAGU	----	----
N3	002785	hsa-miR-1294	UGUGAGGUUGGCAUUGUUGUCU	----	----
N4	002789	hsa-miR-1269	CUGGACUGAGCCGUGCUACUGG	----	----
N5	002790	hsa-miR-1265	CAGGAUGUGGUCAAGUGUUGUU	----	----
N6	002791	hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	----	----
N7	002792	hsa-miR-1303	UUUAGAGACGGGGUCUUGCUCU	----	----
N8	002796	hsa-miR-1259	AUAUAUGAUGACUUAGCUUUU	----	----
N9	002798	hsa-miR-548P	UAGCAAAACUGCAGUUACUUU	----	----
N10	002799	hsa-miR-1264	CAAGUCUUUUUGAGCACCUGUU	----	----
N11	002801	hsa-miR-1255B	CGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUU	----	----
N12	002803	hsa-miR-1282	UCGUUUGCCUUUUUCUGCUU	----	----
N13	002805	hsa-miR-1255A	AGGAUGAGCAAAGAAAGUAGAUU	----	----
N14	002807	hsa-miR-1270	CUGGAGAUUUGGAAGAGCUGUGU	----	----
N15	002810	hsa-miR-1197	UAGGACACAUGGUCUACUUCU	----	----
N16	002815	hsa-miR-1324	CCAGACAGAAUUCUAUGCACUUUC	----	----
N17	002816	hsa-miR-548H	AAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUC	----	----
N18	002818	hsa-miR-1254	AGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGU	----	----
N19	002819	hsa-miR-548K	AAAAGUACUUGCGGAUUUUGCU	----	----
N20	002820	hsa-miR-1251	ACUCUAGCUGCCAAAGGCGCU	----	----
N21	002822	hsa-miR-1285	UCUGGGCAACAAAGUGAGACCU	----	----
N22	002823	hsa-miR-1245	AAGUGAUCUAAAGGCCUACAU	----	----
N23	002824	hsa-miR-1292	UGGGAACGGGUUCCGGCAGACGUG	----	----
N24	002827	hsa-miR-1301	UUGCAGCUGCCUGGGAGUGACUUC	----	----
O1	002829	hsa-miR-1200	CUCCUGAGCCAUUCUGAGCCUC	----	----
O2	002830	hsa-miR-1182	GAGGGUCUUGGGAGGGAUGUGAC	----	----
O3	002832	hsa-miR-1288	UGGACUGCCCUGAUCUGGAGA	----	----
O4	002838	hsa-miR-1291	UGGCCUGACUGAAGACCAGCAGU	----	----
O5	002840	hsa-miR-1275	GUGGGGGAGAGGCUGUC	----	----
O6	002841	hsa-miR-1183	CACUGUAGGUGAUGGUGAGUGGGCA	----	----
O7	002842	hsa-miR-1184	CCUGCAGCGACUUGAUGGCUUCC	----	----
O8	002843	hsa-miR-1276	UAAAGAGCCCUGUGGAGACA	----	----
O9	002844	hsa-miR-320B	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCAA	----	----
O10	002845	hsa-miR-1272	GAUGAUGAUGGCAGCAAAUUCUGAAA	----	----
O11	002847	hsa-miR-1180	UUUCCGGCUCGCGUGGGUGUGU	----	----
O12	002850	hsa-miR-1256	AGGCAUUGACUUCUCACUAGCU	----	----
O13	002851	hsa-miR-1278	UAGUACUGUGCAUAUCAUCUAU	----	----
O14	002852	hsa-miR-1262	AUGGGUGAAUUUGUAGAAGGAU	----	----

O15	002854	hsa-miR-1243	AACUGGAUCAUUUAUAGGAGUG	----	----
O16	002857	hsa-miR-663B	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	----	----
O17	002860	hsa-miR-1252	AGAAGGAAAUUGAAUUCAUUUUA	‡	----
O18	002861	hsa-miR-1298	UUCAUUCGGCUGUCCAGAUUGUA	----	----
O19	002863	hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	----	----
O20	002868	hsa-miR-1249	ACGCCCUUCCCCCCCUCUUCA	----	----
O21	002870	hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAA	----	----
O22	002871	hsa-miR-1289	UGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUUU	‡	----
O23	002872	hsa-miR-1204	UCGUGGCCUGGUCUCCAUAU	----	----
O24	002873	hsa-miR-1826	AUUGAUCaucGACACUUCGAACGCAAU	----	----
P1	002874	hsa-miR-1304	UUUGAGGCUACAGUGAGAUGUG	----	----
P2	002877	hsa-miR-1203	CCCGGAGCCAGGAUGCAGCUC	----	----
P3	002878	hsa-miR-1206	UGUUCAUGUAGAUGUUUAAGC	----	----
P4	002879	hsa-miR-548G	AAAACUGUAAUACUUUUGUAC	----	‡
P5	002880	hsa-miR-1208	UCACUGUUCAGACAGGCGGA	----	----
P6	002881	hsa-miR-548E	AAAAACUGAGACUACUUUUGCA	----	----
P7	002883	hsa-miR-1274A	GUCCCUGUUCAGGCGCCA	----	‡
P8	002884	hsa-miR-1274B	UCCCUGUUCGGGCGCCA	----	----
P9	002885	hsa-miR-1267	CCUGUUGAAGUGUAAUCCCCA	----	----
P10	002887	hsa-miR-1250	ACGGUGCUGGAUGUGGCCUUU	----	----
P11	002888	hsa-miR-548N	CAAAAGUAAUUGUGGAUUUUGU	----	----
P12	002890	hsa-miR-1283	UCUACAAAGGAAAGCGCUUUCU	----	----
P13	002893	hsa-miR-1247	ACCCGUCCCCGUUCGUCCCCGGA	----	----
P14	002894	hsa-miR-1253	AGAGAAGAAGAUCCAGCCUGCA	----	----
P15	002895	hsa-miR-720	UCUCGUGGGGCCUCCA	----	----
P16	002896	hsa-miR-1260	AUCCCACCUCUGCCACCA	----	----
P17	002897	hsa-miR-664	UAUUCAUUUAUCCCCAGCCUACA	----	----
P18	002901	hsa-miR-1302	UUGGGACAUACUUAUGCUAAA	----	----
P19	002902	hsa-miR-1300	UUGAGAAGGAGGCUGCUG	----	----
P20	002903	hsa-miR-1284	UCUAUACAGACCCUGGCUUUUC	----	----
P21	002904	hsa-miR-548L	AAAAGUAUUUGCGGUUUUGUC	----	----
P22	002905	hsa-miR-1293	UGGGUGGUCUGGAGAUUUUGUC	----	----
P23	002907	hsa-miR-1825	UCCAGUGCCCUCCUCUCC	----	‡
P24	002908	hsa-miR-1296	UUAGGGCCCUGGCUCCAUCUCC	----	----

7.3.3 Tabellen Ergebnisse

Tabelle 32: Gesamtübersicht über alle Ergebnisse der gesamten Proben der IHC

Probennummer	NET-ID	Geschlecht	Alter bei ED	Lage PT	Metastasen	Material	Grading	ER	PR	CDX2	MIB (%)	WM	PHH3 (%)	SSTR2A
1	pNET 74	w	45	Pankreas	Ja	Rezidiv	G1	0	0	0	n.a.	E	1	3
2	pNET 74	w	45	Pankreas	Ja	PT	G1	0	6	0	n.a.	C	0	3
3	pNET 415	w	34	Appendix	k.a.	PT	G1	3	0	1	1	A	0	8
4	pNET 119	w	62	Magen	Ja	LKM1	G1	0	0	1	1	A	0	9
5	pNET 119	w	62	Magen	Ja	M Leber1	G1	0	0	1	1	A	0	2
6	pNET 119	w	62	Magen	Ja	M Leber2	G1	6	0	1	5	A	0	0
7	pNET 119	w	62	Magen	Ja	PT	G1	0	0	1	1	A	0	12
8	pNET 416	m	57	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	C	0	4
9	pNET 417	w	23	Appendix	k.a.	PT	G1	8	6	1	1	A	0	8
10	pNET 418	m	69	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	B	0	0
11	pNET 75	m	55	Pankreas	k.a.	PT	G1	0	12	0	n.a.	A	0	0
12	pNET 429	m	41	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	C	0	2
13	pNET 76	w	76	Pankreas	Ja	Rezidiv	G3	0	0	0	n.a.	D	0	0
14	pNET 76	w	76	Pankreas	Ja	PT	G3	2	0	1	n.a.	D	3	0
15	pNET 120	w	65	Magen	nein	PT	G3	1	0	1	30	D	0	1
16	pNET 9	m	32	Pankreas	Ja	LKM1	G2	0	0	0	n.a.	C	0	3
17	pNET 9	m	32	Pankreas	Ja	LKM2	G2	0	0	0	n.a.	C	0	8
18	pNET 9	m	32	Pankreas	Ja	LKM3	G2	0	0	0	n.a.	C	0	n.a.
19	pNET 9	m	32	Pankreas	Ja	PT	G2	0	0	0	3,5	D	0	0
20	pNET 121	w	52	Magen	k.a.	PT	G1	6	0	1	1	B	1	8
21	pNET 122	w	82	Magen	Ja	PT	G1	3	0	1	70	D	0	0
22	pNET 72	w	56	Pankreas	k.a.	PT	G2	0	8	0	10	E	0	8
23	pNET 10	w	59	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	C	0	12
24	pNET 14	w	33	Pankreas	ja	M Leber	G2	0	4	1	n.a.	B	0	12
25	pNET 14	w	33	Pankreas	ja	LKM	G2	0	12	0	n.a.	B	1	12
26	pNET 14	w	33	Pankreas	ja	PT	G2	0	12	0	7,5	B	0	12
27	pNET 123	m	43	Magen	ja	LKM1	G3	0	0	0	20	A	1	0

28	pNET 123	m	43	Magen	ja	PT	G3	0	0	0	40	D	1	0
29	pNET 77	m	45	Pankreas	k.a.	PT	G1	1	2	0	n.a.	n.a.	n.a.	12
30	pNET 78	w	76	Pankreas	ja	PT	G3	0	12	0	n.a.	C	0	0
31	pNET 131	m	70	Magen	nein	PT	G3	0	0	1	40	D	2	0
32	pNET 419	w	24	Appendix	ja	PT	G1	3	0	1	1	A	0	8
33	pNET 56	m	43	Pankreas	ja	LKM1	G1	0	12	0	1	D	0	12
34	pNET 56	m	43	Pankreas	ja	LKM2	G1	0	12	0	3,5	A	0	12
35	pNET 56	m	43	Pankreas	ja	LKM3	G1	2	12	0	7,5	C	2	12
36	pNET 56	m	43	Pankreas	ja	LKM4	G1	0	12	0	5	B	1	12
37	pNET 11	w	49	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	C	0	4
38	pNET 124	m	69	Magen	ja	LKM1	G3	8	0	1	30	D	0	4
39	pNET 124	m	69	Magen	ja	PT	G3	3	0	1	40	B	1	0
40	pNET 420	w	31	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	B	0	0
41	pNET 12	m	49	Pankreas	k.a.	PT	G1	0	4	0	1	B	0	2
42	pNET 125	m	73	Magen	k.a.	PT	G3	8	0	1	90	D	5	0
43	pNET 803	m	59	Duodenum	ja	PT1 Rezidiv	G1	0	0	1	3,5	B	0	1
44	pNET 803	m	59	Duodenum + Jejunum	ja	LKM1	G1	2	0	1	1	B	1	2
45	pNET 803	m	59	Dünndarm	ja	PT2	G1	0	0	1	1	C	0	8
46	pNET 803	m	59	Duodenum	ja	PT1	G1	0	2	1	1	B	0	4
47	pNET 132	m	64	Oesophagus	ja	M Lunge	G3	0	0	1	10	D	1	1
48	pNET 132	m	64	Oesophagus	ja	PT	G3	4	0	1	30	D	3	0
49	pNET 421	m	19	Appendix	k.a.	PT	G1	8	0	1	1	B	0	1
50	pNET 422	w	60	Appendix	k.a.	PT	G1	6	0	1	1	C	0	12
51	pNET 126	m	47	Magen	k.a.	PT	G1	4	0	1	30	C	1	2
52	pNET 13	w	15	Pankreas	ja	LKM1	G2	0	1	1	n.a.	D	0	0
53	pNET 13	w	15	Pankreas	ja	M Peritoneum	G2	n.a.	n.a.	0	n.a.	n.a.	0	0
54	pNET 13	w	15	Pankreas	ja	LKM2	G2	0	2	0	n.a.	D	1	0
55	pNET 13	w	15	Pankreas	ja	LKM3	G2	0	2	1	n.a.	D	0	0
56	pNET 13	w	15	Pankreas	ja	LKM4	G2	0	4	1	n.a.	D	0	0
57	pNET 13	w	15	Pankreas	ja	PT	G2	n.a.	n.a.	0	15	n.a.	3	n.a.
58	pNET 127	m	48	Magen	nein	PT	G1	0	0	1	1	C	0	12
59	pNET 423	w	76	Appendix	ja	M Perito- neum1	G1	0	0	1	1	A	0	1
60	pNET 423	w	76	Appendix	ja	M Leber1	G1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0

61	pNET 423	w	76	Appendix	ja	PT1	G1	0	0	1	1	A	0	1
62	pNET 424	w	18	Appendix	k.a.	PT	G1	8	8	1	1	C	0	8
63	pNET 1	m	41	Pankreas + Duodenum	ja	LKM1	G1	0	2	1	1	C	0	12
64	pNET 1	m	41	Pankreas	ja	PT1	G1	0	12	0	1	B	0	12
65	pNET 1	m	41	Duodenum	ja	PT2	G1	0	0	1	1	C	0	12
66	pNET 128	m	59	Magen	ja	LKM1	G3	6	0	1	1	C	0	12
67	pNET 128	m	59	Magen	ja	PT	G3	3	0	1	20	C	0	4
68	pNET 425	w	21	Appendix	ja	LKM1	G1	0	6	1	1	A	n.a.	4
69	pNET 425	w	21	Appendix	ja	PT1	G1	6	0	1	1	E	0	2
70	pNET 426	w	16	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	A	0	4
71	pNET 301	m	65	Dünndarm	ja	M Leber	G1	0	0	1	3,5	E	1	2
72	pNET 301	m	65	Dünndarm	ja	LKM	G1	0	0	n.a.	1	C	0	6
73	pNET 301	m	65	Dünndarm	ja	PT	G1	0	0	1	1	C	0	8
74	pNET 2	w	45	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	7,5	D	0	0
75	pNET 427	w	67	Appendix	k.a.	PT	G1	1	0	1	1	C	0	6
76	pNET 430	w	33	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	A	0	4
77	pNET 129	m	63	Magen	ja	LKM1	G3	3	0	0	5	B	0	8
78	pNET 129	m	63	Magen	ja	PT	G3	8	0	0	5	A	0	8
79	pNET 130	m	31	Magen	ja	LKM1	G3	2	0	1	90	D	5	4
80	pNET 130	m	31	Magen	ja	PT	G3	2	0	1	70	D	0	1
81	pNET 428	w	77	Appendix	k.a.	PT	G1	2	0	1	1	A	0	2
82	pNET 3	m	72	Pankreas	ja	PT	G1	n.a.	n.a.	0	1	n.a.	0	12
83	pNET 4	m	57	Pankreas	ja	PT	G2	0	1	0	7,5	B	0	12
84	pNET 55	m	57	Pankreas	ja	PT, Probe 2	G2	0	4	0	3,5	B	1	12
85	pNET 5	m	61	Pankreas	nein	PT	G1	0	0	0	3,5	D	1	0
86	pNET 79	w	62	Pankreas	ja	LKM1	G1	0	0	0	n.a.	A	1	0
87	pNET 79	w	62	Pankreas	ja	LKM2	G1	0	1	0	n.a.	D	1	0
88	pNET 79	w	62	Pankreas	ja	LKM3	G1	0	0	0	n.a.	C	1	0
89	pNET 508	m	53	Rektum	ja	Rezidiv	G1	0	0	0	5	B	0	4
90	pNET 508	m	53	Rektum	ja	M Retroperitoneum2	G1	3	0	0	1	B	0	12
91	pNET 508	m	53	Rektum	ja	M Leber		n.a.	n.a.	0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
92	pNET 508	m	53	Rektum	ja	M Retroperitoneum1	G1	0	0	0	1	B	0	8
93	pNET 508	m	53	Rektum	ja	PT	G1	2	0	0	1	B	0	3

94	pNET 6	w	32	Pankreas	nein	PT	G2	0	12	0	1	D	0	0
95	pNET 311	w	61	Dünndarm	ja	M Spinalkanal	G2	3	0	1	1	B	1	8
96	pNET 311	w	61	Dünndarm	ja	PT	G1	0	0	1	1	A	0	0
97	pNET 7	m	56	Pankreas	ja	M Leber	G1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	12
98	pNET 7	m	56	Pankreas	ja	PT	G1	1	4	0	10	B	0	12
99	pNET 15	m	52	Pankreas	ja	PT	G1	0	8	0	3,5	B	0	12
100	pNET 16	m	30	Pankreas	nein	PT	G1	1	12	0	3,5	A	0	0
101	pNET 17	m	56	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	B	0	12
102	pNET 18	w	49	Pankreas	ja	PT	G2	0	3	0	15	E	0	8
103	pNET 19	m	67	Pankreas	k.a.	PT	G1	0	12	0	1	B	0	8
104	pNET 20	w	33	Pankreas	k.a.	PT	G1	2	6	1	1	C	0	2
105	pNET 21	w	49	Pankreas	k.a.	PT	G1	9	8	0	3,5	B	0	1
106	pNET 22	w	80	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	n.a.	0	n.a.
107	pNET 23	m	58	Pankreas	ja	PT	G1	0	12	0	1	E	0	2
108	pNET 24	w	57	Pankreas	nein	PT	G1	2	12	0	1	A	0	0
109	pNET 25	m	86	Pankreas	k.a.	PT	G1	1	12	0	1	A	0	8
110	pNET 26	w	59	Pankreas	nein	PT	G1	0	8	0	1	B	0	0
111	pNET 27	w	45	Pankreas + Duodenum	ja	M. D. choledochus	G2	0	12	0	n.a.	A	0	6
112	pNET 27	w	45	Pankreas + Duodenum	ja	LKM2	G2	0	0	1	5	B	0	12
113	pNET 27	w	45	Pankreas + Duodenum	ja	LKM1	G2	0	2	1	1	C	0	12
114	pNET 27	w	45	Pankreas	ja	PT1	G2	0	12	0	1	B	0	2
115	pNET 27	w	45	Duodenum	ja	PT2	G2	0	1	1	1	C	0	12
116	pNET 28	w	40	Pankreas	nein	PT	G1	n.a.	n.a.	n.a.	1	n.a.	0	6
117	pNET 73	m	68	Pankreas	nein	PT	G1	n.a.	n.a.	n.a.	1	n.a.	0	4
118	pNET 29	w	40	Pankreas	k.a.	PT		0	12	0	1	n.a.	0	0
119	pNET 30	w	51	Pankreas	ja	LKM1	G2	2	12	0	n.a.	B	0	12
120	pNET 30	w	51	Pankreas	ja	LKM3	G2	0	1	0	1	D	0	12
121	pNET 30	w	51	Pankreas	ja	LKM2	G2	0	12	0	n.a.	A	0	12
122	pNET 30	w	51	Pankreas	ja	LKM4	G2	3	12	0	n.a.	B	0	12
123	pNET 30	w	51	Pankreas	ja	PT	G2	0	12	0	1	B	0	12
124	pNET 118	m	63	Magen	k.a.	PT	G1	0	0	0	n.a.	A	0	8
125	pNET 31	m	49	Pankreas	ja	M Peritoneum	G3	0	0	0	n.a.	A	0	0
126	pNET 31	m	49	Pankreas	ja	PT	G3	0	0	0	15	D	0	0

127	pNET 32	m	57	Pankreas	ja	PT	G3	0	12	0	1	B	0	0
128	pNET 106	w	70	Magen	ja	LKM1	G3	0	0	1	15	C	2	0
129	pNET 106	w	70	Magen	ja	M Leber	G3	0	0	0	15	D	1	0
130	pNET 106	w	70	Magen	ja	LKM2	G3	4	0	1	80	D	4	2
131	pNET 106	w	70	Magen	ja	PT	G3	0	0	1	15	A	0	0
132	pNET 57	w	32	Pankreas	ja	M Leber	G2	1	0	0	7,5	B	2	12
133	pNET 57	w	32	Pankreas	ja	PT	G2	1	0	0	1	B	0	12
134	pNET 57	w	32	Pankreas	ja	LKM	G2	0	0	0	7,5	C	2	12
135	pNET 400	w	25	Appendix	k.a.	PT	G1	3	1	1	1	C	0	12
136	pNET 401	m	28	Appendix	k.a.	PT	G1	1	1	1	1	C	0	12
137	pNET 402	m	15	Appendix	k.a.	PT	G1	1	1	1	1	C	5	8
138	pNET 403	m	24	Appendix	k.a.	PT	G1	0	1	1	1	C	1	4
139	pNET 304	w	43	Dünndarm	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	C	0	2
140	pNET 701	w	52	Gallengang	nein	PT	G3	2	1	0	1	B	1	3
141	pNET 50	w	51	Pankreas	ja	PT	G2	0	12	0	1	C	0	12
142	pNET 50	w	51	Pankreas	ja	LKM	G2	0	12	0	1	A	0	12
143	pNET 104	m	78	Magen	ja	PT	G3	0	0	1	95	D	3	0
144	pNET 104	m	78	Magen	ja	M Leber	G3	0	0	1	15	A	3	2
145	pNET 802	m	56	Magen	ja	PT1	G1	0	0	0	1	A	0	8
146	pNET 802	m	56	Dünndarm	ja	PT2	G1	2	0	1	1	E	0	8
147	pNET 802	m	56	Magen + Dünndarm	ja	LKM1	G1	0	0	0	1	C	0	4
148	pNET 802	m	56	Magen + Dünndarm	ja	LKM2	G1	3	0	1	1	A	0	3
149	pNET 802	m	56	Magen + Dünndarm	ja	LKM3	G1	1	0	1	1	C	0	8
150	pNET 103	m	67	Magen	k.a.	PT	G1	0	0	0	3,5	C	0	8
151	pNET 103	m	67	Magen	k.a.	Rezidiv	G1	0	0	n.a.	3,5	C	0	8
152	pNET 502	w	78	Rektum	ja	PT	G3	0	0	1	90	C	1	0
153	pNET 502	w	78	Rektum	ja	LKM	G3	0	0	0	30	A	2	0
154	pNET 102	w	29	Magen	ja	PT	G2	0	0	1	7,5	D	0	12
155	pNET 102	w	29	Magen	ja	LKM	G2	0	0	1	7,5	C	2	12
156	pNET 404	m	47	Appendix	k.a.	PT	G1	0	0	1	1	C	0	4
157	pNET 53	w	48	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	B	0	8
158	pNET 408	m	54	Colon ascendens	ja	PT	G3	0	0	1	90	D	5	0
159	pNET 408	m	54	Colon ascendens	ja	LKM	G3	0	0	1	95	C	1	0

160	pNET 405	w	23	Appendix	k.a.	PT	G1	4	12	1	1	C	0	8
161	pNET 100	w	61	Magen	ja	PT	G2	0	0	0	1	C	0	3
162	pNET 100	w	61	Magen	ja	M Leber	G2	0	0	0	1	D	0	8
163	pNET 52	w	54	Pankreas	ja	PT	G1	0	12	0	1	B	0	12
164	pNET 305	m	47	Dünndarm	ja	PT	G1	0	0	1	1	C	0	2
165	pNET 305	m	47	Dünndarm	ja	LKM1	G1	0	0	1	1	A	0	0
166	pNET 305	m	47	Dünndarm	ja	LKM2	G1	0	0	0	1	C	0	0
167	pNET 305	m	47	Dünndarm	ja	M Leber1	G1	0	0	1	1	C	0	12
168	pNET 305	m	47	Dünndarm	ja	M Leber2	G1	0	0	1	1	C	0	6
169	pNET 305	m	47	Dünndarm	ja	M Leber3	G1	0	0	1	1	C	0	4
170	pNET 501	m	46	Rektum	k.a.	PT	G1	1	1	0	1	B	0	12
171	pNET 51	w	59	Pankreas	nein	PT	G3	1	12	0	3,5	C	0	12
172	pNET 54	w	67	Pankreas	nein	PT	G1	0	8	0	1	C	0	12
173	pNET 500	m	75	Rektum	nein	PT	G1	6	2	0	1	B	0	12
174	pNET 101	w	57	Magen	k.a.	PT	G1	0	2	0	1	C	1	12
175	pNET 117	w	51	Magen	ja	PT		3	0	1	60	D	5	2
176	pNET 117	w	51	Magen	ja	M Neben-niere2		0	0	1	20	C	3	0
177	pNET 117	w	51	Magen	ja	LKM1		0	0	1	15	A	3	2
178	pNET 117	w	51	Magen	ja	M Neben-niere3		0	0	1	15	D	4	0
179	pNET 117	w	51	Magen	ja	M Neben-niere1		2	0	1	50	D	4	1
180	pNET 117	w	51	Magen	ja	M Leber1		0	0	0	20	D	2	3
181	pNET 605	m	80	CUP	ja	M LWK		0	0	0	15	D	1	0
182	pNET 112	m	74	Oesophagus	ja	PT	G3	1	0	0	80	D	4	12
183	pNET 112	m	74	Oesophagus	ja	LKM	G3	1	3	0	85	D	4	12
184	pNET 603	w	63	CUP	ja	LKM1		2	0	0	25	D	5	2
185	pNET 603	w	63	CUP	ja	LKM2		0	4	0	35	D	6	3
186	pNET 503	w	68	Rektum	k.a.	PT	G1	1	0	1	1	B	0	12
187	pNET 604	w	59	CUP	ja	M Leber		0	0	0	3,5	B	1	0
188	pNET 604	w	59	CUP	ja	M Lunge		0	0	0	1	n.a.	0	0
189	pNET 604	w	59	CUP	ja	LKM1		0	0	n.a.	30	B	3	0
190	pNET 604	w	59	CUP	ja	LKM2	G3	1	0	0	30	B	5	0
191	pNET 602	w	72	CUP	ja	M Leber		4	2	0	85	D	10	0
192	pNET 602	w	72	CUP	ja	LKM1	G3	1	0	0	95	A	4	0

193	pNET 602	w	72	CUP	ja	LKM2	G3	8	0	0	95	D	5	0
194	pNET 105	w	66	Magen	nein	PT	G1	4	0	0	1	C	1	8
195	pNET 105	w	66	Magen	k.a.	Rezidiv1	G1	1	0	1	1	C	0	12
196	pNET 105	w	66	Magen	k.a.	Rezidiv2	G1	0	0	0	1	C	0	12
197	pNET 601	w	74	CUP	ja	M Leber		12	12	0	3,5	A	1	0
198	pNET 200	w	54	Duodenum	ja	PT	G1	0	1	1	3,5	C	0	0
199	pNET 200	w	54	Duodenum	ja	LKM2	G1	0	0	1	1	B	0	0
200	pNET 200	w	54	Duodenum	ja	LKM1	G1	0	0	1	1	C	0	2
201	pNET 201	m	49	Duodenum	k.a.	PT	G3	0	0	1	90	D	5	0
202	pNET 409	m	60	Colon ascendens	ja	PT	G3	0	0	0	85	D	6	12
203	pNET 409	m	60	Colon ascendens	ja	LKM1	G3	0	0	0	90	D	3	0
204	pNET 409	m	60	Colon ascendens	ja	LKM2	G3	0	0	0	50	D	3	0
205	pNET 606	m	74	CUP	ja	M Leber	G3	0	0	1	70	D	7	3
206	pNET 600	m	73	CUP	ja	M Leber	G3	0	0	0	80	D	7	0
207	pNET 607	w	61	CUP	ja	M Leber	G1	4	0	1	1	A	0	12
208	pNET 300	m	49	Dünndarm	ja	M Leber	G2	0	0	1	3,5	A	0	12
209	pNET 609	w	75	CUP	ja	M Peritoneum	G3	0	0	0	15	D	2	0
210	pNET 609	w	75	CUP	ja	M Uterus	G3	0	0	0	30	D	2	0
211	pNET 60	m	71	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	C	1	12
212	pNET 64	m	49	Pankreas	k.a.	PT	G1	0	12	0	1	B	0	12
213	pNET 611	m	72	CUP	ja	LKM	G1	2	0	1	1	A	0	12
214	pNET 107	w	59	Magen	k.a.	PT	G1	2	0	0	1	C	0	12
215	pNET 59	m	65	Pankreas	ja	PT	G2	0	0	1	3,5	A	0	8
216	pNET 59	m	65	Pankreas	ja	LKM2	G2	0	0	1	3,5	C	0	12
217	pNET 59	m	65	Pankreas	ja	LKM1	G2	1	0	1	3,5	E	1	12
218	pNET 108	m	77	Magen	k.a.	PT	G1	1	0	0	1	C	0	12
219	pNET 610	m	72	CUP	ja	M Leber	G3	1	6	1	70	D	7	9
220	pNET 61	w	30	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	C	0	0
221	pNET 302	m	56	Dünndarm	ja	PT	G1	0	0	1	1	C	0	4
222	pNET 302	m	56	Dünndarm	ja	LKM2	G1	0	0	1	1	C	0	1
223	pNET 302	m	56	Dünndarm	ja	LKM1	G1	4	0	1	1	C	0	8
224	pNET 309	m	50	Dünndarm	ja	PT	G2	0	0	1	1	C	0	12
225	pNET 309	m	50	Dünndarm	ja	LKM1	G2	0	0	1	3,5	B	1	12

226	pNET 309	m	50	Dünndarm	ja	LKM2	G2	1	0	1	3,5	A	1	8
227	pNET 504	w	84	Rektum	ja	PT	G3	0	0	1	80	D	2	2
228	pNET 504	w	84	Rektum	ja	LKM	G3	0	0	1	25	C	2	6
229	pNET 63	m	77	Pankreas	ja	PT	G2	1	2	0	3,5	D	1	12
230	pNET 63	m	77	Pankreas	ja	LKM	G2	4	4	1	3,5	D	0	12
231	pNET 62	m	74	Pankreas	nein	PT	G2	0	12	0	3,5	E	1	8
232	pNET 111	w	73	Magen	k.a.	PT	G2	8	0	0	3,5	D	0	12
233	pNET 65	m	61	Pankreas	ja	PT	G2	0	8	0	1	B	0	12
234	pNET 65	m	61	Pankreas	ja	LKM	G2	0	4	0	1	n.a.	1	12
235	pNET 612	w	72	CUP	ja	LKM	G2	0	0	1	1	E	2	8
236	pNET 410	m	74	Colon ascendens	ja	PT	G3	2	0	1	40	D	3	1
237	pNET 410	m	74	Colon ascendens	ja	LKM1	G3	0	0	1	80	D	2	0
238	pNET 410	m	74	Colon ascendens	ja	LKM2	G3	2	0	1	80	D	2	0
239	pNET 410	m	74	Colon ascendens	ja	LKM3	G3	0	0	1	90	D	4	0
240	pNET 66	m	64	Pankreas	ja	PT	G3	0	0	0	1	E	0	8
241	pNET 66	m	64	Pankreas	ja	LKM2	G3	0	0	0	1	B	1	8
242	pNET 66	m	64	Pankreas	ja	LKM1	G3	0	0	0	1	B	2	8
243	pNET 67	m	56	Pankreas	ja	PT	G2	0	1	0	1	E	0	12
244	pNET 700	w	59	Gallenblase	ja	PT	G3	1	0	1	15	D	3	1
245	pNET 700	w	59	Gallenblase	ja	LKM	G3	1	0	1	15	D	3	2
246	pNET 58	m	55	Pankreas	ja	PT	G2	0	0	n.a.	3,5	B	1	4
247	pNET 58	m	55	Pankreas	ja	LKM2	G2	0	0	0	3,5	B	3	3
248	pNET 58	m	55	Pankreas	ja	LKM1	G2	0	0	0	3,5	B	0	12
249	pNET 608	m	67	CUP	ja	M Leber		2	0	1	70	D	5	0
250	pNET 306	m	65	Dünndarm	ja	PT	G2	1	0	1	1	A	1	3
251	pNET 306	m	65	Dünndarm	ja	M Peritoneum	G2	6	0	0	7,5	n.a.	3	12
252	pNET 306	m	65	Dünndarm	ja	M Leber	G2	n.a.	n.a.	1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
253	pNET 800	m	59	Dünndarm	ja	PT1	G1	0	0	1	1	C	0	12
254	pNET 800	m	59	Zökum	ja	PT2	G1	0	4	1	1	A	0	12
255	pNET 800	m	59	Dünndarm + Zökum	ja	LKM1	G1	0	0	1	1	C	0	12
256	pNET 800	m	59	Dünndarm + Zökum	ja	LKM2	G1	0	0	1	1	C	0	12
257	pNET 617	m	83	CUP	ja	M Leber	G2	8	0	0	25	D	2	0
258	pNET 505	w	64	Rektum	k.a.	PT	G1	2	0	1	1	C	0	12

259	pNET 310	w	43	Dünndarm	ja	PT	G2	0	0	1	1	E	0	6
260	pNET 310	w	43	Dünndarm	ja	LKM	G2	0	0	1	1	C	0	2
261	pNET 307	m	69	Dünndarm	ja	PT	G1	0	0	1	1	C	0	2
262	pNET 307	m	69	Dünndarm	ja	LKM	G1	0	0	1	1	E	0	2
263	pNET 68	m	72	Pankreas	k.a.	PT	G3	1	4	0	3,5	A	n.a.	12
264	pNET 69	w	48	Pankreas	ja	M Leber	G1	0	0	1	1	E	0	8
265	pNET 616	m	72	CUP	ja	M Leber	G2	4	0	1	70	D	2	0
266	pNET 618	m	68	CUP	ja	M Leber	G2	0	0	1	1	A	0	8
267	pNET 613	m	61	CUP	ja	M Leber		0	9	0	30	D	10	0
268	pNET 506	m	52	Rektum	k.a.	PT	G1	0	0	0	1	C	0	n.a.
269	pNET 308	w	52	Dünndarm	ja	M Peritoneum1		0	0	1	1	C	0	12
270	pNET 308	w	52	Dünndarm	ja	M Peritoneum2		0	0	1	1	C	0	12
271	pNET 308	w	52	Dünndarm	ja	LKM1		0	0	1	1	C	0	12
272	pNET 308	w	52	Dünndarm	ja	M Ovar		0	1	1	1	C	0	4
273	pNET 407	w	14	Appendix	k.a.	PT	G1	6	0	1	1	E	0	6
274	pNET 109	w	72	Magen	k.a.	PT	G1	2	0	0	1	A	0	12
275	pNET 801	m	59	Dünndarm	ja	PT1	G2	0	0	1	1	A	0	8
276	pNET 801	m	59	Zökum	ja	PT2	G2	0	0	1	1	A	0	3
277	pNET 801	m	59	Appendix	ja	PT3	G2	0	0	1	1	A	0	8
278	pNET 801	m	59	Dünndarm + Zökum + Appendix	ja	LKM	G2	0	0	1	1	A	0	6
279	pNET 801	m	59	Dünndarm + Zökum + Appendix	ja	M Leber1	G2	0	0	1	1	D	0	8
280	pNET 801	m	59	Dünndarm + Zökum + Appendix	ja	M Peritoneum1	G2	0	0	1	1	A	0	8
281	pNET 801	m	59	Ileum + Zökum + Appendix	ja	M Leber2	G2	0	0	1	1	E	0	1
282	pNET 303	m	67	Dünndarm	ja	PT	G2	0	0	1	1	A	0	8
283	pNET 303	m	67	Dünndarm	ja	LKM2	G2	0	0	1	1	A	0	8
284	pNET 303	m	67	Dünndarm	ja	LKM1	G2	1	0	1	1	C	1	8
285	pNET 110	m	58	Magen	k.a.	PT	G1	4	2	0	1	C	0	12
286	pNET 615	w	65	CUP	ja	M Leber	G3	0	3	0	25	D	5	0
287	pNET 614	m	74	CUP	ja	M Leber	G3	0	0	0	3,5	D	1	0
288	pNET 614	m	74	CUP	ja	M Peritoneum	G3	0	0	0	3,5	B	2	0
289	pNET 406	m	25	Appendix	k.a.	PT	G1	4	0	1	1	D	0	8

290	pNET 70	m	68	Pankreas	nein	PT	G1	0	12	0	1	B	0	12
291	pNET 620	m	49	CUP	ja	M Leber	G3	1	4	0	n.a.	n.a.	1	12
292	pNET 202	m	75	Duodenum	k.a.	PT	G1	0	1	1	1	B	1	2
293	pNET 507	w	84	Colon sigmoideum	ja	M Leber	G3	2	0	0	20	D	5	0
294	pNET 507	w	84	Colon sigmoideum	ja	M Peritoneum	G3	0	0	0	20	D	3	0
295	pNET 113	m	74	Magen	k.a.	PT		8	0	0	1	C	0	8
296	pNET 411	w	51	Appendix	k.a.	PT	G1	3	0	1	1	A	0	2
297	pNET 621	m	70	CUP	ja	M Leber	G3	4	0	1	60	D	5	0
298	pNET 622	m	64	CUP	ja	M Peritoneum	G2	4	0	1	3,5	E	0	4
299	pNET 114	m	69	Magen	k.a.	PT	G1	8	0	1	1	C	0	8
300	pNET 115	w	87	Magen	k.a.	PT	G2	8	0	1	1	C	0	8
301	pNET 413	m	78	Zökum	ja	PT	G3	0	0	0	25	D	3	0
302	pNET 413	m	78	Zökum	ja	LKM2	G3	0	0	0	3,5	D	2	0
303	pNET 413	m	78	Zökum	ja	LKM1	G3	0	0	0	15	D	3	0
304	pNET 116	m	70	Magen	k.a.	PT	G1	8	1	0	1	E	0	4
305	pNET 623	w	64	CUP	ja	M Leber	G2	3	0	1	5	D	1	3
306	pNET 414	w	71	Zökum	k.a.	PT	G3	4	1	0	30	D	1	0
307	pNET 624	m	49	CUP	ja	LKM1		0	2	1	1	E	0	9
308	pNET 71	m	52	Pankreas	ja	PT	G1	0	0	0	1	C	0	8
309	pNET 412	w	64	Appendix	ja	PT	G1	0	0	1	1	C	0	0

Tabelle 33: Übersicht über das Wachstumsmuster der PT nach Geschlecht (w: weiblich; m: männlich)

Lage PT		Wachstumsmuster (w/m)					Gesamt
		A	B	C	D	E	
Ösophagus	Anzahl	0	0	0	0/2	0	0/2
	%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0/100,0%	0,0%	100,0%
Magen	Anzahl	3/3	1/1	7/9	5/5	0/1	16/19
	%	18,8/15,8%	6,3/5,3%	43,8/47,4%	31,3/26,3%	0/5,3%	100,0%
Duodenum	Anzahl	0	0/3	2/1	0/1	0	2/5
	%	0,0%	0,0/60,0%	100/20,0%	0,0/20,0%	0,0%	100,0%
Pankreas	Anzahl	1/5	8/13	9/2	4/4	3/4	25/28
	%	4,0/17,9%	32,0/46,4%	36,0/7,1%	16,0/14,3%	12,0/14,3%	100,0%
Gallen- blase	Anzahl	0	0	0	1/0	0	1/0
	%	0,0%	0,0%	0,0%	100/0,0%	0,0%	100,0%
Gallen- gang	Anzahl	0	1/0	0	0	0	1/0
	%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
Dünndarm	Anzahl	1/3	0	1/7	0	1/1	3/11
	%	33,3/27,3%	0,0%	33,3/63,3%	0,0%	33,3/9,1%	100,0%
Appendix	Anzahl	8/1	1/2	6/6	0/1	2/0	17/10
	%	47,1/10,0%	5,9/20,0%	35,3/60,0%	0,0/10,0%	11,8/0,0%	100,0%
Zökum	Anzahl	0/2	0	0	1/1	0	1/3
	%	0,0/66,7%	0,0%	0,0%	100/33,3%	0,0%	100,0%
Colon ascendens	Anzahl	0	0	0	0/3	0	0/3
	%	0,0%	0,0%	0,0%	0/100,0%	0,0%	100,0%
Rektum	Anzahl	0	1/4	2/1	1/0	0	4/5
	%	0,0%	25,0/80,0%	50,0/20,0%	25,0/0,0%	0,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl	13/14	12/23	27/26	12/17	6/6	70/86
	%	18,6/16,3%	17,1/26,7%	38,6/30,2%	17,1/19,8%	8,6/7,0%	100,0%

8. Danksagung

Es ist mir ein großes Anliegen mich bei all den wichtigen Personen zu bedanken, ohne die die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zunächst möchte ich meinen größten Dank meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Christoph Thorns aussprechen für die stets zuverlässige, kompetente und ausdauernde Betreuung. Durch konstruktive Kritik, ehrliche, kritische, fachlich fundierte und stets mit der angemessenen Portion Humor versehene Ratschläge und Hinweise sowie einer beneidenswerten Geduld, konnte diese Arbeit erst entstehen.

Für die Möglichkeit, meine Promotion am Institut für Pathologie im UKSH, Campus Lübeck, durchzuführen danke ich Herrn Prof. Dr. med. A.C. Feller und Herrn Prof. Dr. med. S. Perner. Vielen Dank für die Überlassung und Vermittlung dieses äußerst interessanten Themas und für die Unterstützung des Projekts und Zur-Verfügungstellung sämtlicher notwendiger Materialien, Geräte und Räumlichkeiten.

Mein Dank geht auch an die Firma IPSEN Pharma GmbH für die finanzielle Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Tim Kacprowski und dem Institut für Genetik und funktionelle Genomforschung der Universität Greifswald danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der gewaltigen Datenmengen der MicroRNA-Analyse. Ohne die fachliche Beratung und Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Ein ebenfalls großer Dank geht an Annette Aufseß für ihre unermüdliche Unterstützung im Labor und ihren großen Einsatz bei der Durchführung der Experimente sowie die hilfreichen Erklärungen und Tipps.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Labors des Instituts für Pathologie in Lübeck danke ich für die Anfertigung zahlreicher Schnittpräparate und Durchführung immunhistochemischer Färbungen.

Ein großer Dank geht an Fr. Dr. med. Juliana Knief für die stetige Motivation, Beratung, Wegbegleitung und durchgehende moralische Unterstützung vor allem in Zeiten nahe der Verzweiflung.

Selbstverständlich möchte ich auch meiner gesamten Familie danken, ganz besonders meinen Eltern. Ohne eure moralische Unterstützung und euren unermüdlichen Glauben an mich, wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Vielen Dank für euer Verständnis und euer Vertrauen.

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Nadine Zimmermann
Geburtsdatum: 20.10.1984, Hamburg

Bildungsweg

08/1991-06/1995 Peter-Lunding-Schule, Grundschule Hasloh
06/2004 Abitur, Elsensee-Gymnasium Quickborn

02/2005-01/2008 Ausbildung zur Operationstechnischen Assistentin (OTA),
Albertinen-Krankenhaus in Hamburg
02/2008-06/2009 OTA, Albertinen-Krankenhaus in Hamburg
07/2009-09/2009 OTA, HAX-Marketing
12/2009-05/2010 OTA, Schön-Klinikum Eilbek in Hamburg

10/2010-11/2016 Humanmedizinstudium, Universität zu Lübeck
04/2014 Beginn Dissertation, Institut für Pathologie, Universität zu Lübeck
03/2015 Posterpräsentation „Östrogen- und Progesteronrezeptorexpression
in gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren“, 58.
Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie
05/2015 E-Poster “Role of estrogen and progesterone receptors in
pathogenesis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors”,
17. European Congress of Endocrinology
03/2016 Publikation “Expression pattern of CDX2, estrogen- and
progesterone receptors in primary gastroenteropancreatic
neuroendocrine tumors and metastases”, Anticancer Research
März 2016; 36(3):921-924

12/2016-09/2017 Promotionssemester
09/2017-01/2018 Wilhelmsburger Krankenhaus Groß-Sand, Assistenzärztin
Chirurgie, Hamburg
Seit 02/2018 Klinikum Itzehoe, Weiterbildungsassistentin Gefäßchirurgie,
Itzehoe
06/2018 Publikation “MicroRNA analysis of gastroenteropancreatic
neuroendocrine tumors and metastases”, Oncotarget 2018

Itzehoe, den 22.09.2021