

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Institut für Pathologie

Direktor: Prof. Dr. med. Guido Sauter

Prevalence of chromosomal rearrangements involving non-ETS genes
in prostate cancer

Dissertation

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

vorgelegt von:

Rami Julian Galal

aus Bamberg

Hamburg 2015

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 21.06.2016

Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Guido Sauter

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Thorsten Schlomm
Prüfungsausschuss, dritter Gutachter: Priv.-Doz. Dr. Georg Rosenberger

Inhaltsverzeichnis

1 Prevalence of chromosomal rearrangements involving non-ETS genes in prostate cancer (Publikation der Originalarbeit)	
2 Darstellung der Publikation.....	1
2.1 Einleitung.....	1
2.2 Material und Methoden.....	2
2.3 Ergebnisse.....	3
2.4 Diskussion.....	4
2.5 Zusammenfassung/Summary.....	7
2.6 Literaturverzeichnis.....	8
3 Erklärung des Eigenanteils an der Publikation.....	10
4 Danksagung.....	11
5 Lebenslauf.....	12
6 Eidesstattliche Versicherung.....	13

2. Darstellung der Publikation

2.1 Einleitung

Das Prostatakarzinom ist das häufigste Karzinom des Mannes und die dritthäufigste krebbedingte Todesursache in den westlichen Industrienationen (1). Allein in Deutschland erkrankten im Jahr 2010 mehr als 65.000 Männer an einem Prostatakarzinom (2). Auf Grund der verbesserten Screeningverfahren mittels gezielter Anamnese und klinischer Untersuchung bei Männern ab 45 Jahren sowie der PSA-Bestimmung (Prostata-spezifisches-Antigen) im Blut werden heute vermehrt Tumoren in einem frühen Stadium der Karzinogenese diagnostiziert (3). Ein Teil dieser diagnostizierten Karzinome wäre jedoch zeitlebens unerkannt geblieben, da viele Karzinome weder Beschwerden beim Patienten hervorrufen noch zu einem lebensbedrohlichen Krankheitsverlauf führen. Es existiert jedoch eine kleine Gruppe von hoch aggressiven Prostatakarzinomen die in jedem Fall einen lebensbedrohlichen Krankheitsverlauf entwickeln und damit zwingend einer Therapie bedürfen (2, 3). Ein immer noch bestehendes Problem in der Diagnostik des Prostatakarzinoms ist allerdings, dass die heutigen etablierten Prognoseparameter, wie das Gleason Grading und das Tumorstadium nicht ausreichen, um die hoch aggressiven Karzinome sicher von den indolenten Tumoren zu unterscheiden. Aus diesem Grund ist nach aktuellen Leitlinien die radikale Prostatektomie die Therapie der Wahl für Tumoren, bei denen eine kurative Behandlung möglich ist und wenn die Lebenserwartung des Patienten bei mindestens 10 Jahren liegt (3). Generell ist bei allen Tumorarten eine individualisierte Herangehensweise wünschenswert und notwendig. Beim Prostatakarzinom ist dies jedoch aufgrund der großen Variabilität des Krankheitsverlaufs und der Diversität an Behandlungsoptionen besonders wichtig. Auch die, die Lebensqualität stark einschränkenden möglichen Nebenwirkungen einer operativen Therapie, wie Impotenz und Inkontinenz, machen eine genaue Abwägung wichtig. Auch wenn, wie bereits erwähnt, ein Großteil der Tumoren in frühen Stadien diagnostiziert wird und in kurativer Absicht chirurgisch therapiert werden, ist ein weiteres Problem, dass circa 20 % der Tumoren in ein metastasiertes und später hormon-refraktäres Stadium fortschreiten. Da für diese Karzinome lediglich eine palliative Behandlung möglich ist, kommt es weltweit immer noch zu über 250.000 krebbedingten Todesfällen pro Jahr (1). Aus diesem Grund ist das wesentlichen Ziel der heutigen Prostatakarzinomforschung die molekularen Veränderungen, die zu einer Tumorprogression führen, besser zu verstehen. Es besteht die begründete Hoffnung, dass basierend darauf molekulare Prognosemarker identifiziert werden können, die eine bessere Prognoseeinschätzung ermöglichen. Des Weiteren könnten zudem Kandidatengene entdeckt werden, die für genspezifische Krebstherapien bei Versagen eines anti-hormonellen Therapieversuchs als effektive Alternative dienen könnten.

Aktuelle Gesamtgenomstudien zeigten, dass sich das Genprofil des Prostatakarzinoms stark von dem anderer solider Tumoren unterscheidet. Während zum Beispiel Brust- oder Kolonkarzinome durch eine hochgradige genetische Instabilität, multiple Mutationen, Deletionen und Amplifikationen charakterisiert sind, zu denen Kandidatengene für Gen-spezifische Krebstherapien, wie *HER2* und *EGFR* (4, 5)

zählen, zeigen Prostatakarzinome vergleichsweise wenige Mutationen und beinahe überhaupt keine Amplifikationen (6-9). Zu den häufigen chromosomalen Veränderungen beim Prostatakarzinom zählen typischerweise Translokationen, Deletionen und Genfusionen (7, 10). Letztere treten vor allem zwischen Androgen-abhängigen Genen und Transkriptionsfaktoren der E-Twenty-Six(*ETS*)-Familie auf (11). Die häufigste *ETS*-Fusion ist hier die *TMPRSS2:ERG*-Fusion, welche durch eine interstitielle Deletion oder Translokation einer 3,7 Megabasen großen Region zwischen der *TMPRSS2*-Serinprotease und dem *ERG*-Transskriptionsfaktor auf Chromosom 21q22 hervorgerufen wird und in circa 50% aller Prostatakarzinome vorkommt (12). Bedingt durch diese Fusion gelangt das Gen *ERG* unter die Kontrolle des Androgen-abhängigen *TMPRSS2* Promoters und es kommt zu einer *ERG*-Expression in den betroffenen Tumorzellen (13). Aus diesem Grund wurden die *ETS*-Fusionsproteine als potentielle Ziele für eine mögliche genspezifische Therapie beim Prostatakarzinom vorgeschlagen (14).

In einer kürzlich durchgeführten Studie im Rahmen des International Cancer Genome Consortium (ICGC) Projekts wurden innerhalb unserer Arbeitsgruppe Gesamtgenom, Transkriptom und DNA-Methylom Sequenzierungen an 11 frühen Prostatakarzinomen (early onset, EO-PCA) durchgeführt (7). Unter anderem konnten so insgesamt 156 einzelne Genfusionen identifiziert werden von denen 140 Genfusionen nicht im Zusammenhang mit *ETS*-Genen standen (7). Es ist außerdem denkbar, dass einige dieser Genfusionen zur Expression neuer Fusionsproteine führen können. Es besteht die Hoffnung, dass solche Genfusionen potentielle Genspezifische Therapieziele beim Prostatakarzinom darstellen könnten. Voraussetzung dafür ist allerdings, dass diese Gen-Neuanordnungen in einer ausreichenden Häufigkeit auftreten, so dass Bestrebungen zur Entwicklung von Medikamenten gerechtfertigt wären. Basierend darauf war das Ziel der vorliegenden Studie, die Prävalenz von 27 der im ICGC Projekt ermittelten Gen-Rearrangements mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) an einem Kollektiv aus 500 Prostatakarzinomen im Gewebemikroarray-Format (tissue microarray, TMA) zu klären.

2.2 Material und Methoden

Patientenkollektiv und Gewebemikroarray

Für die vorliegende Studie wurde ein Subset von 500 Tumoren des am Institut für Pathologie vorhandenen Prostata- TMA verwendet. Der TMA-Block enthielt pro Patient je eine 0,6 mm durchmessende Gewebestanze eines in Formalin-fixierten und in Paraffin-eingebetteten repräsentativen Tumorgewebeblocks von Patienten, bei denen in der Zeit von 1992 und 2004 in der Martini-Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf eine Prostatektomie durchgeführt wurde. Das Vorhandensein von Tumorzellen in den Gewebespots wurde in 478 Gewebespots mit 34βE12-Immunfärbung in einem angrenzenden TMA-Schnitt bestätigt. Die übrigen 22 Gewebespots wurden von der Analyse ausgeschlossen.

Fluoreszenz in-situ-Hybridisierung (FISH)

Um Rearrangements innerhalb der 27 Zielgene zu ermitteln, wurde eine FISH-Analyse mit Break-Apart-FISH-Sonden durchgeführt. Die Break-Apart-Sonden bestanden jeweils aus einer selbsthergestellten orangen- und grün-markierten FISH-Sonde, welche komplementär zum 5' und 3'-Ende der jeweiligen Gene waren. Die Auswertung der FISH erfolgte mit einem Fluoreszenzmikroskop. Ein Rearrangement wurde angenommen, wenn mindestens ein Split-Signal, bestehend aus einem separaten orangen und grünen Signal (Anzeichen für eine balanzierte Translokation) in über 60% der Tumorzellkerne sichtbar war oder wenn ein einzelnes orangenes oder grünes Signal eines überlappenden orange-grünen Signals ausgelöscht war (Anzeichen für Deletionen mit Bruchpunkt innerhalb des Genes oder unbalanzierte Translokationen). Das Vorhandensein nur eines überlappenden orange-grünen Signals bei über 60% der Tumorzellen wurde als heterozygote Deletion gewertet. Tumoren mit gänzlich fehlenden, überlappenden orange-grünen Signalen wurden als homozygote Deletionen angesehen, vorausgesetzt, dass in den benachbarten normalen Zellen FISH-Signale vorhanden waren.

2.3 Ergebnisse

Zur Klärung der Prävalenz von chromosomalen Rearrangements wurden insgesamt 27 Gene mittels einer spezifischen Break-Apart-FISH-Sonde untersucht. Insgesamt konnte in 13 (48%) der 27 getesteten Gene ein Bruch innerhalb des Genes nachgewiesen werden. Eine vollständige Darstellung der Ergebnisse ist in der beigefügten Publikation zu finden. Die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind:

1. Rekurrente Rearrangements von Nicht-ETS Genen treten selten beim Prostatakarzinom auf (5/13 veränderten Genen).
2. Von 13 Genen mit Nachweis von mindestens einem Bruch, war der Bruch bei 8 Genen in nur 1 Tumor, bei 2 Genen in 2 Tumoren und 3 Genen in 3 Tumoren nachweisbar.
3. Balanzierte Translokationen von Nicht-ETS Genen, die zu einem neuen Fusionsgen führen könnten, treten selten beim Prostatakarzinom auf und sind außerdem in der Regel nicht rekurrent (nur 1 von 4 translozierten Genen).
3. Genbrüche gehen häufig mit partiellen Deletionen des betroffenen Gens einher.
4. Rekurrente Deletionen sind wesentlich häufiger als rekurrente Rearrangements ($\leq 1\%$) beim Prostatakarzinom.

2.4 Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass einzelne chromosomale Rearrangements, wie balanzierte Translokationen und partielle Deletionen, die sich durch intragenische Brüche auszeichnen, sehr selten beim Prostatakarzinom vorkommen. Die Prävalenz der nachgewiesenen Genbrüche innerhalb der 27 analysierten Gene, betrug in der Regel weniger als 1%.

Mit Blick auf unsere Daten, ist es nicht überraschend, dass Studien in denen das Gesamtgenom von insgesamt 18 Prostatakarzinomen sequenziert wurde, mit Ausnahme der *TMPRSS2:ERG* Fusion, nur wenige rekurrente chromosomale Rearrangements nachweisen konnten (6, 7). Insgesamt fanden diese Studien über 250 individuelle Nicht-*ETS* Genfusionen, welche durch Translokationen, Inversionen und Duplikationen verursacht wurden. Allerdings waren nur 16 dieser Nicht-*ETS* Gene in der Studie von Berger *et al.* (6) und 1 Nicht-*ETS* Gen in der Studie von Weischenfeldt *et al.* (7) mehrfach von strukturellen Rearrangements betroffen. Zudem waren in allen Fällen unterschiedliche Fusionspartner betroffen. Lediglich *ETS*-Fusionen konnten in diesen Studien in mehreren Tumoren nachgewiesen werden. So konnte die *TMPRSS2:ERG*-Fusion in 12 der insgesamt 18 untersuchten Prostatakarzinome nachgewiesen werden (6, 7).

Über die Prävalenz einzelner Gen-Rearrangements ist mit Ausnahme der *TMPRSS2:ERG*-Fusion beim Prostatakarzinom wenig bekannt. In der Studie von Reid *et al.* und einer in der eigenen Arbeitsgruppe durchgeführten Studie, wurden intragenische Brüche innerhalb des Tumorsuppressorgens *PTEN* untersucht. In diesen Studien konnte ein Bruch im *PTEN* Gen in 7% (13/187) (15) bzw. 3% (162/5.404) (7) der untersuchten Tumoren festgestellt werden. Diese Brüche gingen außerdem typischerweise mit Deletionen des zweiten *PTEN*-Allels einher. Zusätzlich dazu konnten wir in einer weiteren Studie eine intragenische Bruchrate von 1,2% für das 3p13-Tumorsuppressorgen *FOXP1* nachweisen (16). Diese Daten lassen darauf schließen, dass Rearrangements sogar bei Genen mit einer nachgewiesenen Schlüsselrolle innerhalb der Tumorprogression, beim Prostatakarzinom eher selten sind. Die Rearrangement-Rate von 0,2%-1%, die in der Hälfte der in der vorliegenden Studie analysierten Gene gefunden wurde, steht damit in Einklang mit den oben beschriebenen Studienergebnissen.

Die Auswahl der 27 analysierten Gene in dieser Studie basierte auf den Ergebnissen der eigenen Arbeitsgruppe innerhalb des International Cancer Genom Project (ICGC). In diesem Projekt werden mittels „paired end Deep Sequencing“ insbesondere Genbrüche, Translokationen und Genfusionen untersucht. In dieser Studie konnten insgesamt 140 Rearrangements in Nicht-*ETS* Genen ermittelt werden (7). Für die vorliegende Studie wurden aus diesen 140 Genen stichprobenartig 27 Gene ausgewählt, welche potentiell von einer Nicht-*ETS* Genfusion zwischen zwei proteinkodierenden Genen oder einer Geninaktivierung durch Translokation oder Genbruch betroffen waren. Solche Gene sind putative Kandidaten für eine duale tumorrelevante Funktion. Nämlich einer möglichen Tumorsuppressorfunktion basierend auf einer Inaktivierung durch einen Genbruch,

sowie einer möglichen onkogenen Funktion im Falle einer Fusions-vermittelten Expression der betroffenen Gene.

In der vorliegenden Studie traten Deletionen in den analysierten Regionen häufiger auf als Rearrangements. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen vorheriger Untersuchungen in denen gezeigt werden konnte, dass die Mehrzahl der von uns untersuchten Gene in häufig deletierten chromosomalen Regionen des Prostatakarzinoms lokalisiert sind. Zu diesen Genen zählen zum Beispiel *PANK1*, *VCL* und *SLC16A12* (10q22-q23, deletiert in 20-30%), *NCKAP5* (2q21, deletiert in 10-30%), oder *ARNTL2* (12p11-p12, deletiert in 15-60%) (17, 18). Allerdings war die Deletionsrate dieser Gene in der vorliegenden Studie deutlich niedriger als in den vorherigen Studien. Dies lässt sich jedoch dadurch erklären, dass in unserer Studie keine Deletions-spezifische FISH-Analyse durchgeführt wurde, in der eine Kombination aus einer Lokus-spezifischen FISH-Sonde und eine Centromer-Referenzsonde verwendet wird. Mit der in unserer Studie verwendeten Break-Apart-FISH-Sonde konnten lediglich absolute Deletionen detektiert werden, die einen eindeutigen Verlust von mindestens einem rot-grünen Signalpaar zeigten. Relative Deletionen, die bei aneuploiden bzw. polyploiden Krebsarten häufig auftreten, konnten mit der hier verwendeten FISH-Probe nicht nachgewiesen werden.

Mehrere der in dieser Studie analysierten Gene, wie zum Beispiel *NCKAP5:MGAT5*, *C11orf41:RAG1*, *SH3BGR:RIPK4*, *FAM154A:IRAK3* und *CCNT1:PANK1*, waren in unserer vorherigen Studie an Genfusionen beteiligt, die zu einer Überexpression des Fusionspartners führten (7). Solche Fusionsgene sind potentielle Kandidaten für neue Gen-spezifische Therapieansätze beim Prostatakarzinom, da es sich hier um für die Krebszellen spezifische Veränderungen handelt. Jedoch war die überwiegende Mehrheit der in unserer Studie detektierten Genbrüche unbalanziert. Dies bedeutend, dass entweder ein Verlust der 3'- oder der 5'-Genregion vorlag, was auf eine partielle Deletion dieser Gene hinweist. Lediglich für die 4 Gene *ZNF587*, *SH3BGR*, *LRP12* und *ZHX2* konnte eine balanzierte Translokation nachgewiesen werden, welche zu einer Fusion mit einem anderen Gen führen könnte. Diese Erkenntnisse lassen vermuten, dass intragenische Brüche in den meisten Fällen auf einen Deletionsbruchpunkt innerhalb eines kodierenden Gens hinweisen. Dagegen scheint die Bildung einer speziellen chromosomalen Neuordnung, die ein mögliches funktionelles Fusionsgen hervorbringt, vergleichsweise selten zu sein.

In der vorliegenden Studie wurden Break-Apart-Sonden hergestellt, um mögliche Rearrangements in 27 Kandidatengenen im TMA-Format zu untersuchen. Die Verwendung unseres TMAs in Kombination mit der FISH ermöglicht eine schnelle und kostengünstige Analyse von Gen-Rearrangements, um häufige rekurrente Genveränderungen zu identifizieren. Mit Hilfe der Break-Apart-Assays können alle Arten von Gen-Rearrangements detektiert werden. Dazu zählen balanzierte und unbalanzierte Translokationen, (partielle) Deletionen und Inversionen. Daher sind diese Assays in Kombination mit der TMA-Technik optimal geeignet zur Abschätzung der Prävalenz von genomischen Rearrangements eines bestimmten Gens. In der vorliegenden Studie wurde von einer chromosomalen Neuordnung eines Gens ausgegangen, wenn

mindestens 60% der Tumorzellkerne die Veränderung in der FISH-Analyse zeigten. Dieser Grenzwert wurde verwendet, um falsch positive Ergebnisse auf Grund von zum Beispiel Schnittartefakten zu vermeiden. Die Bestimmung dieses Grenzwertes basiert auf vorherigen Studien der Arbeitsgruppe, in der Brüche in den beiden Genen *ERG* und *PTEN* analysiert wurden (7, 12, 18). Mit dem hier verwendeten Grenzwert konnte in der *ERG*-Studie einer Übereinstimmung von 95% zwischen dem Vorhandensein von *ERG*-Brüchen in der FISH-Analyse und der mittels Immunohistochemie nachgewiesenen *ERG*-Expression erzielt werden (7, 12). Dies unterstützt die Validität unserer Vorgehensweise zum Nachweis von rekurrenten Gen-Rearrangements.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Studie, dass eine Vielzahl von Genen beim Prostatakarzinom von chromosomalen Rearrangements betroffen sein kann. Die Häufigkeit von rekurrenten und spezifischen Gen-Neuanordnungen beträgt jedoch in der Regel weniger als 1%. In den meisten Fällen führen diese Rearrangements außerdem zu Deletionen, die in einer Inaktivierung der betroffenen Gene resultieren. Translokationen, die zu Fusionsgenen führen könnten, sind dahingehend vergleichsweise selten.

2.5 Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist charakterisiert durch strukturelle Rearrangements. Am häufigsten handelt es sich dabei um Translokationen zwischen Androgen-abhängigen Genen und Mitgliedern der *ETS*-Genfamilie. Die häufigste Translokation ist hier die *TMPRSS2:ERG*-Fusion. In einer kürzlich durchgeführten Sequenzierstudie des Gesamtgenoms von 11 Prostatakarzinomen konnten wir 140 Genfusionen nachweisen, an denen keine *ETS*-Gene beteiligt waren. Das Ziel der vorliegenden Studie war daher, die Prävalenz von einigen dieser Nicht-*ETS* Genfusionen zu klären. Dazu wurden 27 der 140 Gene randomisiert ausgewählt und mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) an 500 Prostatakarzinomen im Gewebemikroarrayformat (tissue microarray, TMA) auf chromosomale Rearrangements untersucht. Mittels der verwendeten Break-Apart-FISH-Sonden konnten in 13 (48%) der 27 analysierten Gene Rearrangements in 300 bis 400 auswertbaren Prostatakarzinomen nachgewiesen werden. Rekurrente Genbrüche, häufig begleitet von partiellen Deletionen, wurden für die Gene *NCKAP5*, *SH3BGR* und *TTC3* in jeweils 3 (0,8%) und für die Gene *ARNTL2* und *ENOX1* in jeweils 2 (0,5%) der auswertbaren Tumoren gefunden. Je eine Tumorprobe zeigte einen Genbruch in den Genen *VCL*, *ZNF578*, *IMMP2L*, *SLC16A12*, *PANK1*, *GPHN*, *LRP1* und *ZHX2*. Balanzierte Translokationen, die auf mögliche Genfusionen hinweisen, wurden lediglich in jeweils einer Karzinomprobe für die Gene *ZNF578*, *SH3BGR*, *LPR12* und *ZHX2* nachgewiesen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass Rearrangements unter der Beteiligung von Nicht-*ETS*-Genen beim Prostatakarzinom auftreten können, typischerweise jedoch nicht rekurrent sind.

Summary

Prostate cancer is characterised by structural rearrangements. Most frequently translocations occur between androgen-responsive genes and members of the *ETS* family. Hereby, the most common translocation is the *TMPRSS2:ERG*-Fusion. In a recent sequency study we could detect 140 gene fusions without *ETS*-genes. Hence, aim of the study was to measure the prevalence of some of these non-ets gene fusions. In a randomized study, 27 of the 140 non-ets genes were analyzed by FISH in 500 prostate cancers in tissue microarray regarding chromosomal rearrangements. Using break-apart FISH probes for one fusion partner each, we found rearrangements of 13 (48%) of the 27 analyzed genes in 300-400 analyzable cancers per gene. Recurrent breakage, often accompanied by partial deletion of the genes, was found for *NCKAP5*, *SH3BGR* and *TTC3* in 3 (0.8%) tumors each, as well as for *ARNTL2* and *ENOX1* in 2 (0.5%) cancers each. One rearranged tumor sample was observed for each of *VCL*, *ZNF578*, *IMMP2L*, *SLC16A12*, *PANK1*, *GPHN*, *LRP1* and *ZHX2*. Balanced rearrangements, indicating possible gene fusion, were found for *ZNF578*, *SH3BGR*, *LPR12* and *ZHX2* in individual cancers only. The results of the present study confirm that rearrangements involving non-*ETS* genes occur in prostate cancer, but demonstrate that they are highly individual and typically non-recurrent.

2.6 Literaturverzeichnis

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E and Forman D: Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians* 61: 69-90, 2011.
2. Rohde V, Katalinic A, Wasem J and Aidelsburger P: Gesundheitsberichterstattung des Bundes; Heft 36: Prostataerkrankungen. 2007.
3. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF): Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html>, p Registernummer: 043/022OL.
4. Sjoblom T, Jones S, Wood LD, et al.: The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 314: 268-274, 2006.
5. Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al.: The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 318: 1108-1113, 2007.
6. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F, et al.: The genomic complexity of primary human prostate cancer. *Nature* 470: 214-220, 2011.
7. Weischenfeldt J, Simon R, Feuerbach L, et al.: Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer cell* 23: 159-170, 2013.
8. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, et al.: Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nature genetics* 44: 685-689, 2012.
9. Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, et al.: The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature* 487: 239-243, 2012.
10. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, et al.: Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer cell* 18: 11-22, 2010.
11. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al.: Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 310: 644-648, 2005.
12. Minner S, Enodien M, Sirma H, et al.: ERG Status Is Unrelated to PSA Recurrence in Radically Operated Prostate Cancer in the Absence of Antihormonal Therapy. *Clinical cancer research* 17: 5878-5888, 2011.
13. Tomlins SA, Bjartell A, Chinnaiyan AM, et al.: ETS gene fusions in prostate cancer: from discovery to daily clinical practice. *European urology* 56: 275-286, 2009.
14. Shao L, Tekedereli I, Wang J, et al.: Highly specific targeting of the TMPRSS2/ERG fusion gene using liposomal nanovectors. *Clinical cancer research* 18: 6648-6657, 2012.
15. Reid AH, Attard G, Brewer D, et al.: Novel, gross chromosomal alterations involving PTEN cooperate with allelic loss in prostate cancer. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 25: 902-910, 2012.
16. Krohn A, Seidel A, Burkhardt L, et al.: Recurrent deletion of 3p13 targets multiple tumour suppressor genes and defines a distinct subgroup of aggressive ERG fusion-positive prostate cancers. *The Journal of pathology* 231: 130-141, 2013.
17. Korbel JO, Urban AE, Affourtit JP, et al.: Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. *Science* 318: 420-426, 2007.

18. Krohn A, Diedler T, Burkhardt L, et al.: Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. *The American journal of pathology* 181: 401-412, 2012.

3. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

Eigenanteil

Im Rahmen meiner Dissertation habe ich FISH-Auswertungen an 40 Genorten bei insgesamt 20.000 Gewebeproben durchgeführt, die von 500 verschiedenen Prostatakarzinomen stammen. Für diese Analysen habe ich unter Anleitung geeignete BAC-Klone zur Sondenherstellung ausgewählt, bei der Sondenherstellung mitgearbeitet und (mit Wiederholungen) Hybridisierungs-Experimente von insgesamt 29.000 Gewebeproben durchgeführt. In die Publikation eingegangen sind hiervon 6.217 erfolgreiche Analyseergebnisse von 27 Genorten. Die erste Version des Manuskriptes der vorliegenden Publikation habe ich eigenständig verfasst und die dazu erforderliche Literaturrecherche durchgeführt.

Anteil der Co-Autoren

- Konzeption der Studie: Joachim Weischenfeldt, Sarah Minner, Guido Sauter, Ronald Simon, Thorsten Schlomm
- Datenanalyse, FISH-Präparation, Sondenherstellung und FISH-Auswertung: Lisa Paustian, Ramin Ahrary, Malik Ahmed, Sekander Scherzai, Anne Meyer, Martina Kluth, Hüseyin Sirma
- Datenanalyse und Auswahl der Zielgene aus dem ICGC-Projekt: Jan Korbel, Antje Krohn, Joachim Weischenfeldt, Ronald Simon
- Pathologische Befundung der Tumoren: Christina Tsourlakis, Sarah Minner
- Erstellen des Manuskripts: Martina Kluth, Ronald, Simon, Thorsten Schlomm, Guido Sauter, Sarah Minner

4. Danksagung

Prof. Dr. Guido Sauter möchte ich für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und die Möglichkeit an seinem Institut zu promovieren danken.

PD Dr. Ronald Simon danke ich für die ständige Begleitung des Projekts und das Einbringen seiner Erfahrung und seines Wissens.

Mein ganz besonderer Dank gilt Martina Kluth für das Vorantreiben der Arbeit, für die Organisation und die beständige Unterstützung während der gesamten Zeit. Ohne Sie wäre diese Dissertation wohl nie entstanden.

Ich danke auch Bianca Kelp und dem gesamten Laborteam der molekularen Pathologie.

Meinen Eltern Helene und Tarek Galal und meinen Geschwistern Randa und Kerim bin ich für immer dankbar, dass sie mich immer gefördert haben, mich liebevoll groß gezogen haben und mich bis heute in allen Lebenslagen bedingungslos unterstützten.

Ich danke auch meinen Schwiegereltern Christa und Rakib Helal, sowie meinen Schwägerinnen Nadia und Elaine für ihre tatkräftige Unterstützung in den letzten Jahren.

Meiner Frau Jana danke ich dafür, dass Sie alle Wege mit mir geht und ich jeden Tag durch sie neue Kraft schöpfen kann.

5. Lebenslauf

Persönliche Daten

Rami Julian Galal

Agathenstraße 11
20357 Hamburg

geb. am 21.06.1987 in Bamberg
Nationalität: Deutsch
E-Mail: rami.galal@hotmail.com

Ausbildung

- | | |
|-----------------|--|
| 10/2008-10/2014 | Universität Hamburg
Studium der Humanmedizin
Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note „gut“
bestanden |
| 10/2007-7/2008 | UMFT Victor Babes, English Section , Timisoara, Rumänien
Studium der Humanmedizin |
| 1997-2006 | Kaiser-Heinrich-Gymnasium , Bamberg
Allgemeine Hochschulreife, Note 1,9 |

Praktisches Jahr

- | | |
|-----------------|---|
| 04-07/2014 | Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf
Wahltertial Urologie |
| 12/2013-03/2014 | Albertinenkrankenhaus Hamburg
Tertial Innere |
| 10-12/2013 | Royal North Shore Hospital Sydney, Australien
Tertial Chirurgie 2. Teil |
| 08-10/2013 | Krankenhaus Reinbek
Tertial Chirurgie 1. Teil |

Hamburg, den 16.11.2015

6. Eidesstattliche Versicherung

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

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

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

Unterschrift: