

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Pathologie

Prof. Dr. med. Guido Sauter

Eine aberrante Expression des Mikrotubuli-assoziierten Proteins Tau ist ein unabhängiger prognostischer Marker bei Prostatakrebs

Publikationspromotion

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

vorgelegt von:

Jan Grell
aus Lübeck

Hamburg 2020

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 17.06.2021**

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

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Markus Graefen

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

Inhaltsverzeichnis

I.	Artikel	S. 1
II.	Darstellung der Publikation	S. 16
	1.0 Einleitung	S. 16
	2.0 Material und Methoden	S. 18
	2.1 Patienten	S. 18
	2.2 Immunhistochemie	S. 18
	3.0 Ergebnisse	S. 19
	4.0 Diskussion	S. 20
	5.0 Zusammenfassung	S. 22
	6.0 Abstract	S. 23
	7.0 Abkürzungsverzeichnis	S. 23
	8.0 Literaturverzeichnis	S. 24
III.	Darstellung des Eigenanteils	S. 29
IV.	Danksagung	S. 29
V.	Lebenslauf	S. 30
VI.	Eidesstattliche Versicherung	S. 31

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Aberrant expression of the microtubule-associated protein tau is an independent prognostic feature in prostate cancer



Cornelia Schroeder^{2†}, Jan Grell^{1†}, Claudia Hube-Magg¹, Martina Kluth¹, Dagmar Lang¹, Ronald Simon^{1*} , Doris Höflmayer¹, Sarah Minner¹, Eike Burandt¹, Till S. Clauditz¹, Franziska Büscheck¹, Frank Jacobsen¹, Hartwig Huland³, Markus Graefen³, Thorsten Schlomm⁴, Guido Sauter¹ and Stefan Steurer¹

Abstract

Background: Microtubule-associated protein Tau (MAPT) overexpression has been linked to poor prognosis and decreased response to taxane-based therapies in several cancer types, but its relevance in prostate cancer is unknown.

Methods: In this study, MAPT expression was analyzed by immunohistochemistry on a tissue microarray containing 17,747 prostate cancers.

Results: MAPT was absent in normal prostate epithelial cells but detectable in 1004 (8.2%) of 12,313 interpretable cancers. Its expression was associated with advanced tumor stage, high Gleason grade, positive lymph nodes, and early biochemical recurrence ($p < 0.0001$ each). For example, MAPT was found in 3.6% of 2072 Gleason $\leq 3 + 3$ cancers but in 14.4% of 704 Gleason $\geq 4 + 4$ cancers. High-level MAPT staining was also linked to *TMPRSS2:ERG* fusions ($p < 0.0001$). MAPT staining was seen in 15.2 and 16% of cancers with *TMPRSS2:ERG* fusion detected by immunohistochemistry and fluorescence in-situ hybridization, but in only 3.5 and 3.9% of cancers without ERG staining or *ERG* rearrangements. Moreover, an association was found between MAPT expression and *PTEN* deletions, with 19% MAPT positivity in 948 *PTEN* deleted cancers but only 7% MAPT positivity in 3895 tumors with normal *PTEN* copy numbers ($p < 0.0001$). Multivariate analysis revealed that the prognostic value of MAPT was independent from established parameters. Conventional large section analyses showed intratumoral MAPT heterogeneity in all three analyzed cancers.

Conclusions: The results of our study identify MAPT, as a moderate prognostic marker in prostate cancer, whose clinical impact, however, may be limited due to the rarity and heterogeneity of its expression.

Keywords: MAPT, Tau, ERG, PTEN, Deletion, Prostate cancer

Background

In men with Western lifestyle the most prevalent cancer is prostate cancer [1]. Although most cancers show an indolent course, the disease still represents the third most common cause of cancer related death in men. Therefore a specific and sensitive prediction of aggressive forms is warranted to improve decision-making [2, 3]. At

present Gleason grade and tumor extent on biopsies, pre-operative prostate-specific antigen (PSA), and clinical stage are established pretreatment prognostic parameters. These parameters are statistically powerful but not sufficiently reliable for optimal individual outcome prediction. For example the Gleason grade suffers from substantial interobserver variation [4]. Therefore the identification of new clinically applicable molecular markers may enable a more reliable prediction of prostate cancer aggressiveness in the future.

MAPT facilitates tubulin assembly and microtubule stabilization [5]. MAPT is mainly expressed in neuronal axons and glial cell cytoplasm, but is also present in

* Correspondence: r.simon@uke.de

[†]Cornelia Schroeder and Jan Grell contributed equally to this work.

¹Institute of Pathology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20246 Hamburg, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



various non-neuronal cells including lymphocytes, epithelial and glandular cells [5–8]. Aberrant expression of MAPT has been reported for many cancer types such as gastric, breast, and colorectal cancer [9–12], and has been linked to adverse tumor features and poor prognosis in some of them [12]. Little is known about the role of MAPT in prostate cancer. Only a few studies demonstrated MAPT expression in prostate cancer cell lines and in clinical samples but did not attempt to link MAPT expression to clinical features of the disease [13–15]. However, MAPT might be of interest in prostate cancer since overexpression has been found to represent a prognostic marker in several cancers [12, 16, 17]. MAPT overexpression has also been linked to resistance to taxane-based therapies in various other cancer types [10–12, 18]. To date, taxanes are the most important cytotoxic agents for advanced and hormone-refractory prostate cancer [19–21].

Here, we employed a large - more than 17,000 prostate cancers - and highly annotated tissue microarray (TMA) to elucidate the role of MAPT expression in this disease.

Methods

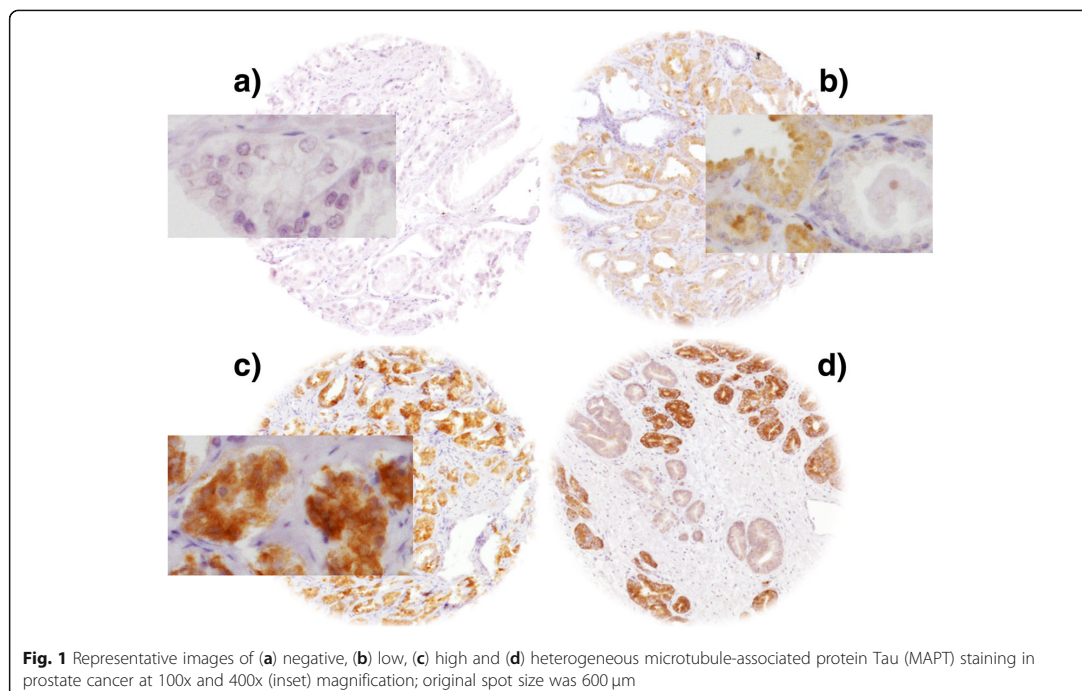
Patients

The 17,747 patients had radical prostatectomy between 1992 and 2014 at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf (Department of Urology and the Martini Clinics). Follow-up was available for 14,464

patients with a median follow-up of 48 months (range: 1 to 275 months; Table S1). PSA recurrence was defined as a postoperative PSA of 0.2 ng/ml and increasing in subsequent measurements. Histological analysis was done by a standard method [22]. Quantitative Gleason grading was performed using the percentage of Gleason 4 and tertiary Gleason 5 patterns as described before [23]. The TMA spot size was 0.6 mm and each TMA had internal controls with normal prostate tissue [24, 25]. The highly annotated TMA contained data on ERG expression [26], ERG break apart fluorescence in situ hybridization (FISH) [27] and deletion status of 5q21 (*CHD1*) [28], 6q15 (*MAP3K7*) [29], 10q23 (*PTEN*) [30] and 3p13 (*FOXP1*) [31] cancers.

Immunohistochemistry (IHC)

Freshly cut TMA sections were stained the same day and in one experiment. Slides were deparaffinized and exposed to heat-induced antigen retrieval for 5 min in an autoclave at 121 °C in pH 7.8 Tris-EDTA-citrate buffer. Primary antibody specific for MAPT (mouse monoclonal antibody, clone 2B2.100, Biomol GmbH, Germany; cat#T1029; dilution 1:450) was applied at 37 °C for 60 min. Bound antibody was visualized with the EnVision Kit (Dako, Glostrup, Denmark) according to the manufacturer's directions. MAPT staining was found in the cytoplasm of cells. In MAPT positive cancers, staining was mostly seen in all



(100%) tumor cells. Accordingly, the average staining intensity in prostate cancer cells was recorded in three categories as negative (no detectable staining), low and high staining (Fig. 1).

Statistical analysis

Contingency tables and the chi-square test were computed to study association between MAPT expression and clinico-pathological variables. Kaplan-Meier analysis and the log-rank test were employed with PSA recurrence as the endpoint. Cox proportional hazards were calculated in a uni- and a multivariate model to test for independence and significance of the variables. JMP 12 (SAS Institute Inc., NC, USA) was used.

Results

A total of 12,313 (69%) of tumor samples were interpretable. Reason for non-informative cases (5434 spots; 31%) included lack of tissue samples or absence of unequivocal cancer tissue in the TMA spot. Normal prostate tissues showed no staining. In tumors, MAPT staining was seen in 8.2% (1004 / 12,313) samples and was considered low in 7.1% and high in 1.1% of cancers. Typical pictures of MAPT immunostaining are given in Fig. 1. Because heterogeneous findings were occasionally seen in TMA spots (Fig. 1d), three cancers with high MAPT expression were selected for analysis of intratumoral heterogeneity. In these cases, additional IHC analysis was done on conventional large sections of all available tumor-containing tissue blocks. Ten slides per cancer were analyzed. All cancers showed distinct areas with and without MAPT staining.

Association with *TMPRSS2:ERG* fusion status and ERG protein expression

MAPT staining and *TMPRSS2:ERG* fusion status by FISH were available from 5028 and by IHC from 7500 cases. In 96% (4644/4849) of the cases ERG FISH and IHC results were concordant. MAPT staining was linked to *TMPRSS2:ERG* rearrangement and ERG positivity (Additional file 1: Figure S1).

Association with tumor phenotype and PSA recurrence

MAPT expression levels were significantly associated with advanced tumor stage, high Gleason grade, positive nodal stage, and positive resection margin ($p \leq 0.0011$ each, Table 1). These associations held also true in the subsets of ERG negative and ERG positive cancers, although not all p values remained significant probably due to the overall small numbers of MAPT positive cancers (Additional file 1: Table S2 and S3). High MAPT expression levels were also associated with a higher risk for biochemical recurrence in all cancers and in the subsets of ERG positive and ERG negative cancers ($p < 0.0001$ each,

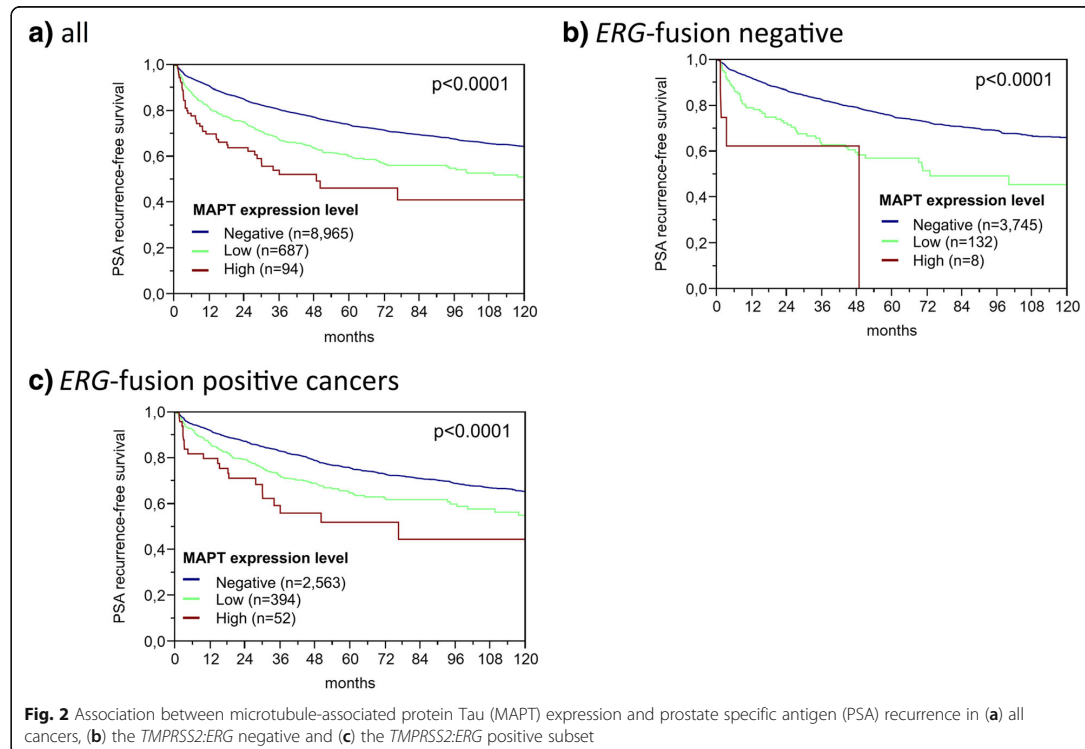
Table 1 Association between microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining and prostate cancer phenotype

Parameter	N	MAPT (%)			P
		Negative	Low	High	
All cancers	12,313	91.8	7.1	1.1	
Tumor stage					
pT2	7764	94.2	5.2	0.6	< 0.0001
pT3a	2809	88.9	9.6	1.5	
pT3b-pT4	1688	85.7	11.7	2.6	
Gleason grade					
≤ 3 + 3	2072	96.4	3.3	0.3	< 0.0001
3 + 4	6702	92.6	6.7	0.8	
3 + 4 Tertiary 5	614	91.0	8.1	0.8	
4 + 3	1257	88.5	9.7	1.8	
4 + 3 Tertiary 5	925	86.3	10.9	2.8	
≥ 4 + 4	704	85.5	11.6	2.8	
Lymph node metastasis					
N0	7604	91.3	7.5	1.2	< 0.0001
N+	943	85.9	11.7	2.4	
Preoperative PSA level (ng/ml)					
< 4	1418	89.6	8.9	1.6	0.0506
4–10	7278	92.3	6.7	1.0	
10–20	2629	91.8	7.2	1.0	
> 20	918	91.8	7.3	0.9	
Surgical margin					
Negative	9733	92.3	6.7	1.0	0.0011
Positive	2536	90.0	8.6	1.3	

Fig. 2). To further validate the prognostic power of MAPT, we tested within subsets of identical classical and quantitative Gleason score. In line with the Cox hazard ratio analysis (Additional file 1: Table S4), MAPT staining provided prognostic information beyond the Gleason score in subsets defined by an identical traditional Gleason score (Fig. 3a) and in the subgroup with 50–60% Gleason 4 pattern (Fig. 3g) defined by the quantitative Gleason score (Fig. 3b-h).

Association with other key genomic deletions

Previous studies showed that prostate cancers could be grouped by various somatic mutations including *TMPRSS2:ERG* fusions and *PTEN*, 3p13, 5q21 and 6q15 genomic deletions. These alterations are of interest because they are linked to poor prognosis and either to the ERG-fusion positive (*PTEN*, 3p) or the ERG-fusion negative subset (5q, 6q). A comparison of MAPT expression levels with these deletions revealed a significant association between high MAPT expression and *PTEN* deletions irrespectively of the ERG status ($p < 0.0001$, Fig. 4). MAPT expression was largely unrelated to other deletions.



Multivariate analysis

Four different scenarios were performed evaluating the clinical relevance of MAPT expression (Table 2). For example the preoperative scenario 4 included the Gleason grade obtained on the original biopsy, the PSA level, the cT stage and the MAPT expression. MAPT proved to be an independent prognostic parameter in all four scenarios when all tumors were analyzed ($p < 0.0001$ each, Table 2). This held also true for ERG negative and ERG positive cancers ($p \leq 0.02$, Table 2). The hazard ratios for PSA recurrence-free survival after prostatectomy for the univariate and multivariate model of the established preoperative prognostic parameters and MAPT expression (scenario 4) are shown in the Table S4. MAPT expression was an equally strong prognostic marker as the other known preoperative prognostic markers in both analyses.

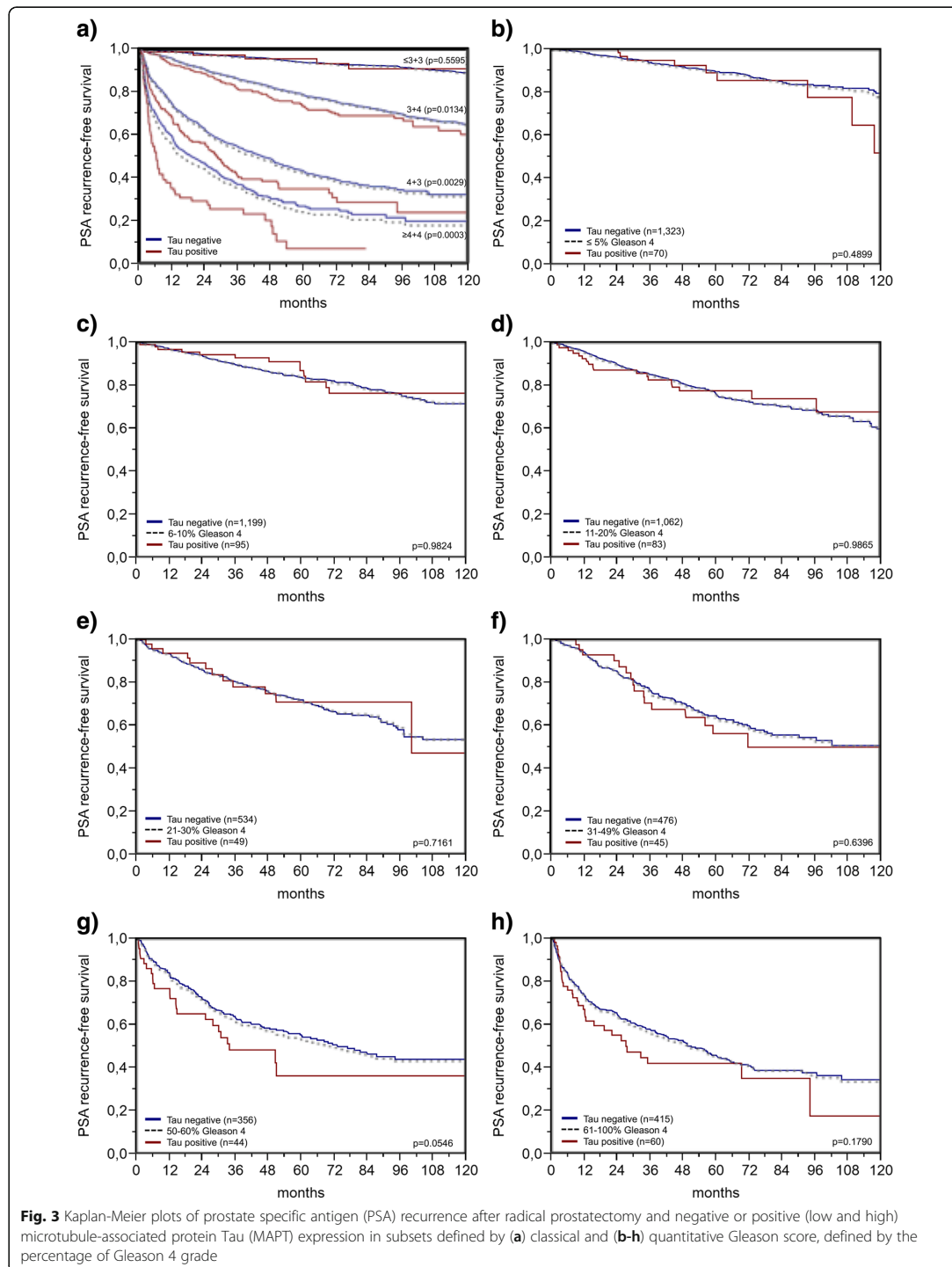
Discussion

The results of our study identify MAPT overexpression as a moderate prognostic feature occurring in a relatively small subset of prostate cancers.

In this study, detectable MAPT expression was seen in about 8% of prostate cancers whereas normal prostate tissues remained negative under the selected experimental conditions. Only one study has analyzed MAPT expression

by IHC in prostate cancer before. Cirak et al. reported 23% MAPT positive cases in a series of 30 prostate cancers [13]. It is well possible, that the large section approach of Cirak et al. lead to a higher detection rate of tumors with a heterogeneous MAPT expression. Our data indeed suggest that MAPT expression might be heterogeneous in a considerable fraction of tumors. Clear-cut heterogeneity was even found in some TMA spots (Fig. 1d) and a thorough analysis of all cancer-containing tissue blocks of three of our cancers with high MAPT expression on TMA spots always revealed both MAPT positive and MAPT negative cancer areas. Such heterogeneity represents a limitation for TMA studies analyzing only single spots per tumor.

MAPT overexpression was associated with to unfavorable tumor phenotype and early biochemical recurrence in this study ($p < 0.0001$ each). The independent prognostic impact of MAPT overexpression from established prognostic parameters and the difference in the five-year recurrence rate of more than 20% between patients with and without detectable MAPT expression argues for a potential clinical relevance of this molecular feature. A similarly strong prognostic role has recently been described for aberrant β III-tubulin (TUBB3) expression in prostate cancer. TUBB3 is a microtubule protein, which is normally expressed in cells of neuronal origin but



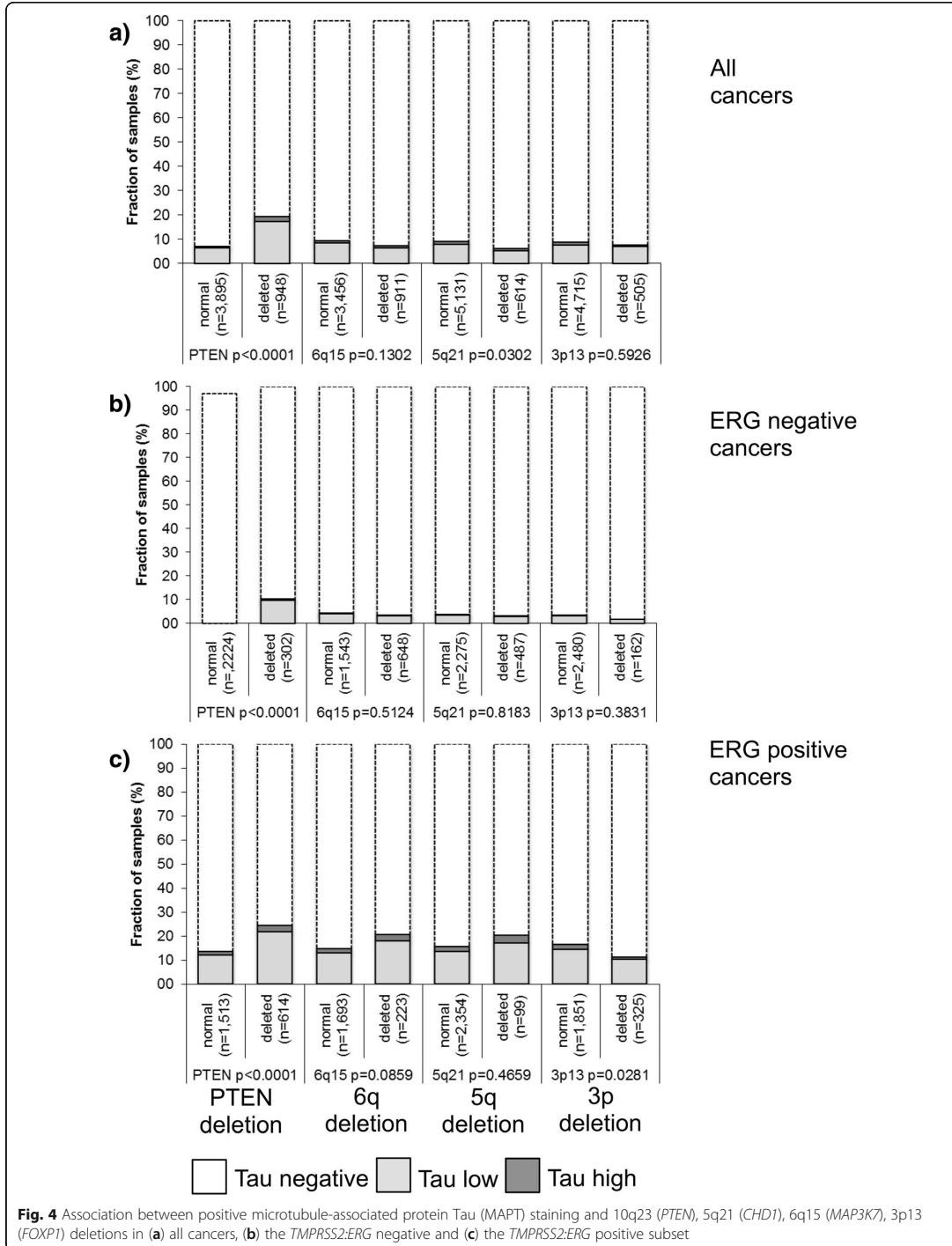


Table 2 Multivariate analyses including microtubule-associated protein Tau (MAPT) expression in all cancers, the *ERG* negative and *ERG* positive subset

Subset	Scenario ^a	N	P for PSA recurrence-free survival after prostatectomy							
			Preoperative PSA-level	pT-stage	cT-stage	Gleason prostatectomy	Gleason biopsy	pN-stage	R-status	MAPT-expression
All cancers										
	1	6467	< 0.0001	< 0.0001	–	< 0.0001	–	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	2	9690	< 0.0001	< 0.0001	–	< 0.0001	–	–	< 0.0001	< 0.0001
	3	9545	< 0.0001	–	< 0.0001	< 0.0001	–	–	–	< 0.0001
	4	8146	< 0.0001	–	< 0.0001	–	< 0.0001	–	–	< 0.0001
ERG-negative										
	1	2541	0.0215	< 0.0001	–	< 0.0001	–	0.0005	0.0601	0.0195
	2	3873	0.0013	< 0.0001	–	< 0.0001	–	–	< 0.0001	0.0180
	3	3833	< 0.0001	–	< 0.0001	< 0.0001	–	–	–	0.0013
	4	3779	< 0.0001	–	< 0.0001	–	< 0.0001	–	–	< 0.0001
ERG-positive										
	1	1900	0.0005	< 0.0001	–	< 0.0001	–	0.0145	0.0010	0.0122
	2	2995	< 0.0001	< 0.0001	–	< 0.0001	–	–	< 0.0001	0.0185
	3	2944	< 0.0001	–	< 0.0001	< 0.0001	–	–	–	0.0115
	4	2900	< 0.0001	–	< 0.0001	–	< 0.0001	–	–	0.0003

^aScenario 4 combines preoperatively available parameters (preoperative PSA, clinical tumor (cT) stage, and Gleason grade obtained on the original biopsy) with the postoperative MAPT expression. In scenario 3 the biopsy Gleason is replaced by the Gleason grade obtained on radical prostatectomy. In scenario 2 cT stage is superseded by pathological tumor (pT) stage and surgical margin (R) status. In scenario 1 the lymph node (pN) stage is added

not in prostate epithelium [32]. Overall, the striking prognostic impact of the expression of proteins influencing structure and maintenance of microtubules suggest a considerable impact of composition and function of the cytoskeleton on the behavior of cancer cells.

The extensive molecular database attached to our TMA allowed us to further study the role of MAPT expression in prostate cancer and to search for possible interactions. About 50% of prostate cancers carry gene fusions linking the androgen-regulated *TMPRSS2* with the transcription factor *ERG* [26, 33]. As a result of this rearrangement, *ERG* becomes androgen regulated and massively overexpressed. Our data demonstrate strikingly higher MAPT expression levels in *ERG* positive than in *ERG* negative cancers. This finding is consistent with data suggesting that *ERG* may have a regulatory role in microtubule dynamics [17, 34] and that *ERG* can even destabilize microtubules by binding soluble tubulin in the cytoplasm [35]. The exact molecular mechanism for this is unknown. According to the eukaryotic promoter database [36] MAPT is not a direct target of the *ERG* transcription factor. It is possible, however, that *ERG* has an indirect impact on MAPT transcription through at least one of its more than 1600 target genes [37–39]. Our comparison of MAPT expression with frequent genomic deletions identified *PTEN* as the only deletion linked to high MAPT expression. This fits well

to earlier work in neurodegenerative diseases reporting that *PTEN* can affect MAPT phosphorylation, aggregation or it's binding to microtubules [40, 41].

The existing data suggest a general role of MAPT protein in cancer. High rates of MAPT positivity have been reported from several other important cancer types including 43–52% in breast cancer [16, 42, 43], 63–74% in ovarian cancer [12, 44], and 55–70% in gastric cancer [11, 45, 46]. The clinical and prognostic value of MAPT may greatly depend on the tumor type. For example, high MAPT protein expression level has been linked to good prognosis in breast cancer [47], but to poor prognosis in ovarian cancer [12]. It is unknown why MAPT exerts a different impact on tumor cell aggressiveness in different cancer types. As the microtubule composition varies between cell types, it may be speculated that MAPT induced modifications of the microtubule dynamics may have a diverse impact on cell behavior depending on the tissue of origin. It is also known that MAPT interacts with other cancer related proteins and pathways. For example, it has been shown that MAPT can cooperate with various growth related kinases such PI3K, Fyn, cSrc, and Fgr [14, 48, 49]. Such kinases may have a different role in different cell types. Moreover, MAPT interactions depend on its phosphorylation status. Substantial differences in cell lines derived from prostate and brain cancers suggest that MAPT phosphorylation might strongly depend on the tumor type [14, 50–52].

In several tumor types, MAPT has been suggested to represent a potential predictive marker in patients treated with taxanes [12, 46, 53–57]. MAPT competes with taxanes for the same binding site at the microtubules. Although MAPT stabilizes microtubules in the same way as paclitaxel, its binding is more reversible [18]. Consequently, overexpression of MAPT has been suggested to render microtubules insensitive to paclitaxel therapy [18, 58, 59]. In prostate cancer, taxanes are the most important cytotoxic agents for advanced metastatic disease. However, response rates in clinical studies (measured as a 50% decline of PSA) are about 45–50% [60]. It would be interesting to study the relationship between expression of proteins related to the microtubules system - such as MAPT and TUBB3 - and response to taxanes in prostate cancer in clinical trials.

Conclusions

MAPT expression is a moderate and independent prognostic factor in prostate cancer, which is particularly linked to *PTEN*-deleted cancers. Heterogeneity of expression within tumors may limit the practical use of MAPT measurement in clinical practice, however.

Additional file

Additional file 1: Table S1. Pathological and clinical data of the arrayed prostate cancers. **Table S2.** Association between microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining results and prostate cancer phenotype in *ERG* fusion negative tumors. **Table S3.** Association between microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining results and prostate cancer phenotype in *ERG* fusion positive tumors. **Table S4.** Cox proportional hazards for PSA recurrence-free survival after prostatectomy of established preoperative prognostic parameter and MAPT expression. **Figure S1.** Association between positive microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining and *ERG* status (IHC/FISH) in all cancers. (PDF 231 kb)

Abbreviations

CHD1: Chromodomain-Helicase-DNA-Binding Protein 1; FISH: Fluorescence in-situ hybridization; FOXP1: Forkhead box protein P1; IHC: Immunohistochemistry; MAP3K7: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 7; MAPT: Microtubule-associated protein Tau; PSA: Prostate specific antigen; PTEN: Phosphatase and tensin homolog; RPE: Radical prostatectomy; TMA: Tissue microarray; TMPRSS2:ERG: Transmembrane protease, serine 2: ETS-related gene fusion; TUBB3: Tubulin beta 3

Acknowledgments

We thank Julia Schumann, Sünje Seekamp and Inge Brandt for excellent technical assistance.

Funding

This work was supported by the Federal Ministry for Education and Research of Germany (BMBF) (grant no. 01KU1505B) to GS. The funding body had no involvement in the design of the study, collection, analysis, and interpretation of data and in writing the manuscript.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article [and its additional files].

Author's contributions

CS, JG, RS, SS and GS designed the study, and drafted the manuscript. HH, MG and TS participated in study design. CS, JG, DH and SM performed IHC analysis and scoring. FB, FJ, TC and EB participated in pathology data analysis. CH, CS and RS performed statistical analysis. TS, MK, and DL participated in data interpretation, and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Ethics approval and consent to participate

The ethics committee of the Ärztekammer Hamburg approved this study (WF-049/09). According to local laws (HmbKHG, §12a) informed consent was not required for this study.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

¹Institute of Pathology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20246 Hamburg, Germany. ²General, Visceral and Thoracic Surgery Department and Clinic, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20246 Hamburg, Germany.

³Martini-Clinic, Prostate Cancer Center, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse 52, D-20246 Hamburg, Germany.

⁴Department of Urology, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, D-10117 Berlin, Germany.

Received: 7 December 2018 Accepted: 20 February 2019

Published online: 01 March 2019

References

- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87–108.
- Wilt TJ, Brawer MK, Jones KM, Barry MJ, Aronson WJ, Fox S, Gingrich JR, Wei JT, Gilhooly P, Grob BM, et al. Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *N Engl J Med.* 2012;367(3):203–13.
- Thompson IM Jr, Tangen CM. Prostate cancer—uncertainty and a way forward. *N Engl J Med.* 2012;367(3):270–1.
- Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in total prostatectomy specimens. *J Urol.* 2002;168(5):2006–10.
- Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975;72(5):1858–62.
- Thurston VC, Zinkowski RP, Binder LI. Tau as a nucleolar protein in human nonneural cells in vitro and in vivo. *Chromosoma.* 1996;105(1):20–30.
- Cross DC, Munoz JP, Hernandez P, Maccioni RB. Nuclear and cytoplasmic tau proteins from human nonneural cells share common structural and functional features with brain tau. *J Cell Biochem.* 2000;78(2):305–17.
- Vanier MT, Neuville P, Michalik L, Launay JF. Expression of specific tau isoforms in normal and tumoral pancreatic acinar cells. *J Cell Sci.* 1998;111(Pt 10):1419–32.
- He W, Zhang D, Jiang J, Liu P, Wu C. The relationships between the chemosensitivity of human gastric cancer to paclitaxel and the expressions of class III beta-tubulin, MAPT, and survivin. *Med Oncol.* 2014;31(5):950.
- Koo DH, Lee HJ, Ahn JH, Yoon DH, Kim SB, Gong G, Son BH, Ahn SH, Jung KH. Tau and PTEN status as predictive markers for response to trastuzumab and paclitaxel in patients with HER2-positive breast cancer. *Tumour Biol.* 2015;36(8):5865–71.
- Mimori K, Sadanaga N, Yoshikawa Y, Ishikawa K, Hashimoto M, Tanaka F, Sasaki A, Inoue H, Sugimachi K, Mori M. Reduced tau expression in gastric cancer can identify candidates for successful paclitaxel treatment. *Br J Cancer.* 2006;94(12):1894–7.
- Smoter M, Bodnar L, Grala B, Stec R, Zieniuk K, Kozłowski W, Szczylik C. Tau protein as a potential predictive marker in epithelial ovarian cancer patients

- treated with paclitaxel/platinum first-line chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2013;32:25.
13. Cirak Y, Sarsik B, Cakar B, Sen S, Simsir A, Uslu R. Predictive and prognostic values of tau and BubR1 protein in prostate cancer and their relationship to the Gleason score. *Med Oncol.* 2013;30(2):526.
 14. Souter S, Lee G. Microtubule-associated protein tau in human prostate cancer cells: isoforms, phosphorylation, and interactions. *J Cell Biochem.* 2009;108(3):555–64.
 15. Sangrajrang S, Denoulet P, Millot G, Tatoud R, Podgorniak MP, Tew KD, Calvo F, Fellous A. Estramustine resistance correlates with tau over-expression in human prostatic carcinoma cells. *Int J Cancer.* 1998;77(4):626–31.
 16. Pusztai L, Jeong JH, Gong Y, Ross JS, Kim C, Paik S, Rouzier R, Andre F, Hortobagyi GN, Wolmark N, et al. Evaluation of microtubule-associated protein-tau expression as a prognostic and predictive marker in the NSABP-B 28 randomized clinical trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(26):4287–92.
 17. Birdsey GM, Dryden NH, Shah AV, Hannah R, Hall MD, Haskard DO, Parsons M, Mason JC, Zvelebil M, Gottgens B, et al. The transcription factor *erg* regulates expression of histone deacetylase 6 and multiple pathways involved in endothelial cell migration and angiogenesis. *Blood.* 2012;119(3):894–903.
 18. Smoter M, Bodnar L, Duchnowska R, Stec R, Grala B, Szczylik C. The role of tau protein in resistance to paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011; 68(3):553–7.
 19. Attard G, Parker C, Eeles RA, Schroder F, Tomlins SA, Tannock I, Drake CG, de Bono JS. Prostate cancer. *Lancet.* 2016;387(10013):70–82.
 20. Tannock IF, Fizazi K, Ivanov S, Karlsson CT, Flechon A, Skoneczna I, Orlandi F, Gravis G, Matveev V, Bavbek S, et al. Afibercept versus placebo in combination with docetaxel and prednisone for treatment of men with metastatic castration-resistant prostate cancer (VENICE): a phase 3, double-blind randomised trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(8):760–8.
 21. Tannock IF, de Wit R, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Oudard S, Theodore C, James ND, Turesson I, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med.* 2004;351(15):1502–12.
 22. Erbersdobler A, Hammerer P, Huland H, Henke RP. Numerical chromosomal aberrations in transition-zone carcinomas of the prostate. *J Urol.* 1997;158(4): 1594–8.
 23. Sauter G, Steurer S, Clauditz TS, Krech T, Wittmer C, Lutz F, Lennartz M, Janssen T, Hakimi N, Simon R, et al. Clinical utility of quantitative Gleason grading in prostate biopsies and prostatectomy specimens. *Eur Urol.* 2016; 69(4):592–8.
 24. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med.* 1998; 4(7):844–7.
 25. Miralcher M, Simon R. Recipient block TMA technique. *Methods Mol Biol.* 2010;664:37–44.
 26. Weischenfeldt J, Simon R, Feuerbach L, Schlangen K, Weichenhan D, Minner S, Wuttig D, Warnatz HJ, Stehr H, Rausch T, et al. Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer Cell.* 2013;23(2):159–70.
 27. Minner S, Enodien M, Sirma H, Luebke AM, Krohn A, Mayer PS, Simon R, Tennstedt P, Muller J, Scholz L, et al. ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of antihormonal therapy. *Clin Cancer Res.* 2011;17(18):5878–88.
 28. Burkhardt L, Fuchs S, Krohn A, Masser S, Mader M, Kluth M, Bachmann F, Huland H, Steuber T, Graefen M, et al. CHD1 is a 5q21 tumor suppressor required for ERG rearrangement in prostate cancer. *Cancer Res.* 2013;73(9): 2795–805.
 29. Kluth M, Hesse J, Heini A, Krohn A, Steurer S, Sirma H, Simon R, Mayer PS, Schumacher U, Grupp K, et al. Genomic deletion of MAP3K7 at 6q12-22 is associated with early PSA recurrence in prostate cancer and absence of TMPRSS2:ERG fusions. *Mod Pathol.* 2013;26(7):975–83.
 30. Krohn A, Diedler T, Burkhardt L, Mayer PS, De Silva C, Meyer-Kornblum M, Kotschau D, Tennstedt P, Huang J, Gerhauser C, et al. Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate Cancer. *Am J Pathol.* 2012; 181(2):401–12.
 31. Krohn A, Seidel A, Burkhardt L, Bachmann F, Mader M, Grupp K, Eichenauer T, Becker A, Adam M, Graefen M, et al. Recurrent deletion of 3p13 targets multiple tumor suppressor genes and defines a distinct subgroup of aggressive ERG fusion positive prostate cancers. *J Pathol.* 2013;231(1):130–41.
 32. Tsoulakis MC, Weigand P, Grupp K, Kluth M, Steurer S, Schlomm T, Graefen M, Huland H, Salomon G, Steuber T, et al. beta11-tubulin overexpression is an independent predictor of prostate cancer progression tightly linked to ERG fusion status and PTEN deletion. *Am J Pathol.* 2014;184(3):609–17.
 33. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, Varambally S, Cao X, Tchinda J, Kuefer R, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science.* 2005;310(5748):644–8.
 34. Chow A, Amemiya Y, Sugar L, Nam R, Seth A. Whole-transcriptome analysis reveals established and novel associations with TMPRSS2:ERG fusion in prostate cancer. *Anticancer Res.* 2012;32(9):3629–41.
 35. Galletti G, Matov A, Beltran H, Fontugne J, Miguel Mosquera J, Cheung C, MacDonald TY, Sung M, O'Toole S, Kench JG, et al. ERG induces taxane resistance in castration-resistant prostate cancer. *Nat Commun.* 2014;5:5548.
 36. Perier RC, Praz V, Junier T, Bonnard C, Bucher P. The eukaryotic promoter database (EPD). *Nucleic Acids Res.* 2000;28(1):302–3.
 37. Bawa P, Zackaria S, Verma M, Gupta S, Srivatsan R, Chaudhary B, Srinivasan S. Integrative analysis of Normal long intergenic non-coding RNAs in prostate Cancer. *PLoS One.* 2015;10(5):e0122143.
 38. Brase JC, Johannes M, Mannsperger H, Falth M, Metzger J, Kacprzyk LA, Andrasiuk T, Gade S, Meister M, Sirma H, et al. TMPRSS2-ERG -specific transcriptional modulation is associated with prostate cancer biomarkers and TGF-beta signaling. *BMC Cancer.* 2011;11:507.
 39. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, Arora VK, Kaushik P, Cerami E, Reva B, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell.* 2010;18(1):11–22.
 40. Zhang X, Li F, Bulloj A, Zhang YW, Tong G, Zhang Z, Liao FF, Xu H. Tumor-suppressor PTEN affects tau phosphorylation, aggregation, and binding to microtubules. *FASEB J.* 2006;20(8):1272–4.
 41. Kerr F, Rickle A, Nayeem N, Brandner S, Cowburn RF, Lovestone S. PTEN, a negative regulator of PI3 kinase signalling, alters tau phosphorylation in cells by mechanisms independent of GSK-3. *FEBS Lett.* 2006;580(13):3121–8.
 42. Li ZH, Xiong QY, Tu JH, Gong Y, Qiu W, Zhang HQ, Wei WS, Hou YF, Cui WQ. Tau proteins expressions in advanced breast cancer and its significance in taxane-containing neoadjuvant chemotherapy. *Med Oncol.* 2013;30(3):591.
 43. Shao YY, Kuo KT, Hu FC, Lu YS, Huang CS, Liao JY, Lee WC, Hsu C, Kuo WH, Chang KJ, et al. Predictive and prognostic values of tau and ERCC1 in advanced breast cancer patients treated with paclitaxel and cisplatin. *Jpn J Clin Oncol.* 2010;40(4):286–93.
 44. Steffensen KD, Smoter M, Waldstrom M, Grala B, Bodnar L, Stec R, Szczylik C, Jakobsen A. Resistance to first line platinum paclitaxel chemotherapy in serous epithelial ovarian cancer: the prediction value of ERCC1 and tau expression. *Int J Oncol.* 2014;44(5):1736–44.
 45. Wang Q, Wang N, Shao G, Qian J, Shen D, Fei Y, Mao W, Wu D. Relationship between gastric cancer tau protein expression and paclitaxel sensitivity. *Pathol Oncol Res.* 2013;19(3):429–35.
 46. Yu J, Gao J, Lu Z, Gong J, Li Y, Dong B, Li Z, Zhang X, Shen L. Combination of microtubule associated protein-tau and beta-tubulin III predicts chemosensitivity of paclitaxel in patients with advanced gastric cancer. *Eur J Cancer.* 2014;50(13):2328–35.
 47. Bonneau C, Gurard-Levin ZA, Andre F, Pusztai L, Rouzier R. Predictive and prognostic value of the TauProtein in breast Cancer. *Anticancer Res.* 2015; 35(10):5179–84.
 48. Lee G, Newman ST, Gard DL, Band H, Panchemoorthy G. Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases. *J Cell Sci.* 1998;111(Pt 21):3167–77.
 49. Reynolds CH, Garwood CJ, Wray S, Price C, Kellie S, Perera T, Zvelebil M, Yang A, Sheppard PW, Vardell IM, et al. Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase Cgamma1, Grb2, and Src family kinases. *J Biol Chem.* 2008; 283(26):18177–86.
 50. Brandt R, Lee G, Teplow DB, Shalloway D, Abdel-Ghany M. Differential effect of phosphorylation and substrate modulation on tau's ability to promote microtubule growth and nucleation. *J Biol Chem.* 1994;269(16):11776–82.
 51. Utton MA, Vandecastelaere A, Wagner U, Reynolds CH, Gibb GM, Miller CC, Bayley PM, Anderton BH. Phosphorylation of tau by glycogen synthase kinase 3beta affects the ability of tau to promote microtubule self-assembly. *Biochem J.* 1997;323(Pt 3):741–7.
 52. Drewes G, Trinczek B, Illenberger S, Biernat J, Schmitt-Ulms G, Meyer HE, Mandelkow EM, Mandelkow E. Microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase (p110mark). A novel protein kinase that regulates tau-microtubule interactions and dynamic instability by phosphorylation at the Alzheimer-specific site serine 262. *J Biol Chem.* 1995;270(13):7679–88.

53. Rouzier R, Rajan R, Wagner P, Hess KR, Gold DL, Stec J, Ayers M, Ross JS, Zhang P, Buchholz TA, et al. Microtubule-associated protein tau: a marker of paclitaxel sensitivity in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(23):8315–20.
54. Wu H, Huang M, Lu M, Zhu W, Shu Y, Cao P, Liu P. Regulation of microtubule-associated protein tau (MAPT) by miR-34c-5p determines the chemosensitivity of gastric cancer to paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;71(5):1159–71.
55. Zhou J, Qian S, Li H, He W, Tan X, Zhang Q, Han G, Chen G, Luo R. Predictive value of microtubule-associated protein tau in patients with recurrent and metastatic breast cancer treated with taxane-containing palliative chemotherapy. *Tumour Biol*. 2015;36(5):3941–7.
56. Wang K, Deng QT, Liao N, Zhang GC, Liu YH, Xu FP, Zu J, Li XR, Wu YL. Tau expression correlated with breast cancer sensitivity to taxanes-based neoadjuvant chemotherapy. *Tumour Biol*. 2013;34(1):33–8.
57. Wosnitzer MS, Domingo-Domenech J, Castillo-Martin M, Ritch C, Mansukhani M, Petrylack DP, Benson MC, McKiernan JM, Cordon-Cardo C. Predictive value of microtubule associated proteins tau and stathmin in patients with nonmuscle invasive bladder cancer receiving adjuvant intravesical taxane therapy. *J Urol*. 2011;186(5):2094–100.
58. Ikeda H, Taira N, Hara F, Fujita T, Yamamoto H, Soh J, Toyooka S, Nogami T, Shien T, Doihara H, et al. The estrogen receptor influences microtubule-associated protein tau (MAPT) expression and the selective estrogen receptor inhibitor fulvestrant downregulates MAPT and increases the sensitivity to taxane in breast cancer cells. *Breast Cancer Res*. 2010;12(3):R43.
59. Wagner P, Wang B, Clark E, Lee H, Rouzier R, Pusztai L. Microtubule associated protein (MAP)-tau: a novel mediator of paclitaxel sensitivity in vitro and in vivo. *Cell Cycle*. 2005;4(9):1149–52.
60. Hwang C. Overcoming docetaxel resistance in prostate cancer: a perspective review. *Ther Adv Med Oncol*. 2012;4(6):329–40.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Table S1 Pathological and clinical data of the arrayed prostate cancers

	Study cohort on TMA (n= 17 747)	Biochemical relapse among category
Follow-up	14 464	3 612 (25%)
Mean/ median (month)	56.3 / 48.0	-
Age (y)		
≤50	433	66 (15%)
51-59	4 341	839 (19%)
60-69	9 977	2 073 (21%)
≥70	2 936	634 (22%)
Pretreatment PSA (ng/ml)		
<4	2 225	313 (14%)
4-10	10 520	1 696 (16%)
10-20	3 662	1 043 (29%)
>20	1 231	545 (44%)
pT stage (AJCC 2002)		
pT2	11 518	1 212 (11%)
pT3a	3 842	1 121 (29%)
pT3b	2 233	1 213 (54%)
pT4	85	63 (74%)
Gleason grade		
≤3+3	3 570	264 (7%)
3+4	9 336	1 436 (15%)
3+4 Tertiary 5	1 697	165 (10%)
4+3	2 903	683 (24%)
4+3 Tertiary 5	1 187	487 (41%)
≥4+4	999	531 (53%)
Nodal (pN) stage		
pN0	10 636	2 243 (21%)
pN+	1 255	700 (56%)
Surgical margin (R) status		
Negative	14 297	2 307 (16%)
Positive	3 388	1 304 (39%)

NOTE: Numbers do not always add up to 17 747 in the different categories because of cases with missing data. Abbreviation: AJCC, American Joint Committee on Cancer.

Table S2 Association between microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining results and prostate cancer phenotype in *ERG* fusion *negative* tumors

Parameter	n evaluable	Tau			p value
		negative (%)	low (%)	high (%)	
All cancers	4,207	96.5	3.3	0.2	
Tumor stage					
pT2	2,792	97.9	1.9	0.1	<0.0001
pT3a	864	94.8	5.2	0.0	
pT3b-pT4	538	91.8	7.4	0.7	
Gleason grade					
≤3+3	794	98.5	1.4	0.1	<0.0001
3+4	2,242	97.4	2.6	0.0	
3+4 Tert.5	199	95.0	5.0	0.0	
4+3	465	94.0	5.8	0.2	
4+3 Tert.5	267	93.3	6.0	0.7	
≥4+4	237	91.6	7.2	1.3	
Lymph node metastasis					
N0	2,498	95.8	4.0	0.2	0.0719
N+	249	92.8	6.4	0.8	
Preop. PSA level (ng/ml)					
<4	418	93.5	5.7	0.7	0.0005
4-10	2,485	96.9	2.9	0.2	
10-20	933	97.5	2.5	0.0	
>20	347	94.2	5.8	0.0	
Surgical margin					
negative	3,321	96.7	3.1	0.2	0.3312
positive	874	95.7	4.1	0.2	

Table S3 Association between microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining results and prostate cancer phenotype in *ERG* fusion *positive* tumors

Parameter	n evaluable	Tau			p value
		negative (%)	low (%)	high (%)	
All cancers	3,293	84.8	13.4	1.8	
Tumor stage					
pT2	1,950	87.7	11.2	1.1	<0.0001
pT3a	884	81.7	16.2	2.1	
pT3b-pT4	447	78.5	17.4	4.0	
Gleason grade					
≤3+3	644	93.0	6.4	0.6	<0.0001
3+4	1,901	85.7	13.0	1.2	
3+4 Tert.5	102	75.5	21.6	2.9	
4+3	323	77.1	19.5	3.4	
4+3 Tert.5	189	74.1	19.6	6.3	
≥4+4	131	73.3	22.9	3.8	
Lymph node metastasis					
N0	1,871	82.5	15.2	2.3	0.3988
N+	211	78.7	18.5	2.8	
Preop. PSA level (ng/ml)					
<4	451	83.1	14.4	2.4	0.2247
4-10	2,030	86.1	12.3	1.6	
10-20	589	81.8	16.1	2.0	
>20	198	84.8	13.6	1.5	
Surgical margin					
negative	2,548	85.6	12.8	1.7	0.114
positive	732	82.4	15.6	2.0	

Table S4 Cox proportional hazards for PSA recurrence-free survival after prostatectomy of established preoperative prognostic parameter and MAPT expression

Variable	Univariate analysis	Multivariate analysis
Gleason grade biopsy		
3+4 vs. \leq 3+3	2.20 (2.00-2.41) ***	1.79 (1.59-2.00) ***
4+3 vs. 3+4	1.85 (1.66-2.05) ***	1.74 (1.54-1.97) ***
\geq 4+4 vs. 4+3	1.48 (1.32-1.66) ***	1.33 (1.17-1.53) ***
cT-stage		
T3a vs. T1c	2.16 (1.73-2.66) ***	1.49 (1.12-1.94) *
Preoperative PSA-level (ng/μl)		
4-10 vs. <4	1.26 (1.12-1.42) **	1.33 (1.13-1.57) **
10-20 vs. 4-10	2.08 (1.93-2.25) ***	1.58 (1.42-1.75) ***
>20 vs. 10-20	1.95 (1.76-2.16)***	1.63 (1.42-1.86) ***
MAPT expression		
Positive vs. negative	1.78 (1.58-2.01) ***	1.49 (1.29-1.70) ***
Strong vs. negative	2.68 (1.94-3.57)***	-

Confidence interval (95%) in brackets; asterisk indicate significance level: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.001$, *** $p \leq 0.0001$.

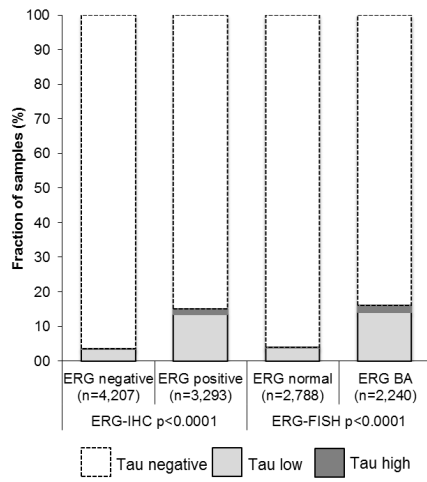


Fig. S1 Association between positive microtubule-associated protein Tau (MAPT) staining and ERG status (IHC/FISH) in all cancers.

II. Darstellung der Publikation

1.0 Einleitung

Das Prostatakarzinom ist bei Männern mit westlichen Lebensstil die am häufigsten diagnostizierte Krebsart [1]. Mit schätzungsweise 58.780 Neuerkrankungen im Jahr 2016 ist das Prostatakarzinom die häufigste Tumorerkrankung des Mannes in Deutschland. Die Anzahl der Sterbefälle lag bei 14.417. Die altersstandardisierte Erkrankungsrate ist nach einem Anstieg über fast zwei Jahrzehnte seit 2003 weitgehend konstant und verlief zwischen 2011 und 2016 sogar deutlich rückläufig. Eine ähnliche Entwicklung ist in vielen anderen westlichen Industrienationen zu beobachten und dürfte auf eine lange Zeit steigende, zuletzt aber wohl eher zurückgehende Nutzung des PSA-Tests (prostataspezifisches Antigen) als Früherkennungsuntersuchung zurückzuführen sein [2]. Es ist anzunehmen, dass es aufgrund der demographischen Entwicklung zu einer Zunahme der Prostatakarzinomerkrankungen in den nächsten Jahrzehnten kommen wird.

Obwohl die meisten Prostatakreberkrankungen einen indolenten Verlauf zeigen und die überwiegende Zahl der Patienten nicht an der Erkrankung sterben, verlaufen hochgradig aggressive, unbehandelte Formen gewöhnlich tödlich und stellen immer noch die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache bei Männern in Deutschland dar [2]. Prätherapeutisch sind derzeit das prostataspezifische Antigen, das Patientenalter, mögliche Komorbiditäten, der Gleason-Score und das Tumorausmaß bei Biopsien sowie das klinische Stadium etablierte prognostische Parameter, aber für eine optimale, individuelle Einschätzung des Progressionsrisikos nicht ausreichend zuverlässig. So ist das prostataspezifische Antigen zwar ein organspezifischer Marker, jedoch kein spezifischer Tumormarker. Denn eine PSA-Wert-Erhöhung ist nicht nur nachweisbar bei Karzinomen, sondern unter anderem auch bei der benignen Prostatahyperplasie, einer Prostatitis und nach Manipulation an der Prostata.

Der Gleason-Score ist zwar maßgeblich für die Behandlung verantwortlich und der wichtigste prätherapeutisch verfügbare Prognosefaktor beim Prostatakarzinom, leidet jedoch unter einer erheblichen Interobserver-Schwankung und ist somit abhängig vom Untersucher und dessen Erfahrung [3]. Die Reproduzierbarkeit des Gleason-Scores ist daher gering und nicht mit leitliniengerechter Präzision durchführbar. Die Übermittlung der Gleason-Rohdaten (quantitativer Gleason-Score) reduziert die klinische Relevanz der Interobserver-Schwankung und erlaubt eine feinere Einschätzung der Patientenprognose als die traditionelle Einteilung in fünf Kategorien [4].

Die Therapie des Prostatakarzinoms richtet sich nach Alter, Operationsrisiko, Wachstumsgeschwindigkeit des Tumors und persönlichen Lebensumständen sowie eventuellen Begleiterkrankungen des Patienten. Neben der perkutanen Strahlentherapie, Brachytherapie sowie der aktiven, engmaschigen Beobachtung bzw. Überwachung (Active Surveillance), reichen die Behandlungsoptionen bis zur vollständigen Entfernung der Prostata (radikale Prostatektomie) durch eine offene oder eine minimalinvasive, roboterassistierte Operation. Um eine optimale Therapie zu gewährleisten, ist eine spezifische und sensible Vorhersage der aggressiven Formen zur

Entscheidungsfindung erforderlich [5, 6]. Dabei kann die Identifizierung neuer klinisch anwendbarer molekularer Marker zukünftig eine zuverlässigere Vorhersage der Aggressivität von Prostatakrebs ermöglichen und dabei helfen, klinisch relevante Karzinome von indolenten Karzinomen klar zu unterscheiden. Daher ist es ein primäres Ziel der Prostatakarzinomforschung am Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, neue molekulare Prognosemarker durch Untersuchungen an einem großen Kollektiv zu identifizieren.

Das Mikrotubuli-assoziierte Protein Tau (MAPT) ermöglicht den Zusammenbau und die Stabilisierung der Mikrotubuli und fungiert als signifikantes regulatorisches Element [7]. MAPT wird hauptsächlich in neuronalen Axonen und im Cytoplasma von Gliazellen exprimiert, ist aber auch in verschiedenen nichtneuronalen Zellen, einschließlich Lymphozyten, Epithel- und Drüsenzellen, vorhanden [7-10]. Eine aberrante Expression von MAPT wurde für viele Krebsarten, wie dem Magenkarzinom, Mammakarzinom und kolorektalen Karzinom, berichtet [11-14] und in einigen Fällen mit ungünstigen Tumormerkmalen in Verbindung gebracht [14]. Über die Rolle von MAPT bei Prostatakrebs ist wenig bekannt. Nur wenige Studien demonstrierten eine MAPT-Expression in Prostatakrebszelllinien und klinischen Proben. Sie versuchten jedoch nicht, die MAPT-Expression mit den klinischen Merkmalen der Krankheit in Verbindung zu bringen [15-17]. Jedoch könnte MAPT beim Prostatakarzinom von Interesse sein, seitdem festgestellt werden konnte, dass die Überexpression bei einigen Krebsarten mit einer ungünstigen Prognose assoziiert ist [14, 18, 19]. Die Überexpression von MAPT wurde bei verschiedenen anderen Krebsarten auch mit Resistenz gegenüber taxanbasierten Therapien in Verbindung gebracht [12, 13, 14, 20]. Taxane sind bis heute die wichtigsten zytotoxischen Wirkstoffe bei fortgeschrittenem und hormonrefraktärem Prostatakrebs im Rahmen einer Chemotherapie [21-23].

Das Ziel dieser Studie war die Rolle der MAPT-Expression beim Prostatakarzinom aufzuklären. Dabei wurde ein großer, mehr als 17.000 Prostatakrebs umfassender TMA (tissue microarray) verwendet. Die Ergebnisse stellten MAPT als einen unabhängigen Prognosemarker beim Prostatakarzinom heraus.

2.0 Material und Methoden

2.1 Patienten

Im Rahmen der Studie wurden Präparate der Prostata von 17.747 Patienten verwendet, die sich in der Zeit von 1992 bis 2014 in Behandlung der Abteilung für Urologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und der Martini-Kliniken befanden und an denen eine radikale Prostatektomie durchgeführt wurde. Follow-up-Daten waren von insgesamt 14.464 Patienten von 1 bis 275 Monate (Median: 48 Monate) verfügbar. Ein PSA-Rezidiv wurde bei 0,2 ng/ml und einem weiteren Anstieg nach erstmaliger Messung definiert. Die Prostatapräparate wurden nach einem Standardprozedere unter Anwendung des quantitativen Gleason-Scores analysiert [24, 25]. Aus den Gewebeproben der Prostatapräparate wurden 0,6mm messende Stanzen aus je einem Paraffinblock eines repräsentativen Tumorareals entnommen und auf mehrere TMA-Blöcke appliziert. Die hergestellten TMA-Blöcke enthielten normales Prostatagewebe als Kontrollgewebe [26, 27]. Die im TMA untersuchten Prostatakarzinome enthielten zudem Daten zur ERG-Expression [28], ERG-break-apart Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) [29] und zu einigen der häufigsten Deletionen beim Prostatakarzinom 5q21 (CHD1) [30], 6q15 (MAP3K7) [31], 10q23 (PTEN) [32] und 3p13 (FOXP1) [33].

2.2 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ist eine immunchemische Methode zur Anfärbung eines Antigens. Es ermöglicht mithilfe von Antikörpern den spezifischen Nachweis von Proteinen und dient in der Regel der Identifikation und Klassifizierung von Tumorzellen, die bestimmte Antigene exprimieren. Dabei werden histologische Gewebeschnitte mit einem monoklonalen Antikörper, also von einem Plasmazellklon abstammend, oder einem polyklonalen Antikörper, welcher von vielen verschiedenen Plasmazellen gebildet wird, inkubiert. Diese Antikörper-Antigen-Reaktion, die auf der Affinität von Antikörpern zu einer bestimmten Gewebeeigenschaft (Epitop) des Antigens beruht, kann direkt oder indirekt mit einem Farbstoff sichtbar gemacht werden.

Für den Nachweis von MAPT wurde der spezifische Primärantikörper Klon 2B2.100, ein monoklonaler Maus-Antikörper der Biomol GmbH, verwendet. Der genaue Versuchsablauf ist der Originalpublikation zu entnehmen.

MAPT-Färbung wurde im Zytoplasma von Zellen gefunden. Bei MAPT-positiven Tumoren wurde die Färbung meist in allen (100%) Tumorzellen beobachtet. Die Intensität der Färbung wurde in drei nachfolgende Kategorien gegliedert: negativ (keine nachweisbare Färbung), gering und stark (Abb. 1).

3.0 Ergebnisse

Mittels IHC waren 12.313 (69%) der Tumorproben interpretierbar. Die restlichen 5434 Fälle (31%) konnten aufgrund fehlender Gewebeproben oder dem Fehlen von eindeutigen Krebsgewebe im TMA nicht beurteilt werden. Normales Prostatagewebe zeigte keine Färbung. In insgesamt 1004 der 12.313 interpretierbaren Prostatakarzinome (8,2%) konnte eine MAPT-Färbung detektiert werden, wobei 7,1% eine starke und 1,1% eine geringe Färbung zeigten. Gelegentlich zeigten sich jedoch auch heterogene Färbungen. Entsprechende Abbildungen zu den unterschiedlichen Färbungen sind der Originalpublikation zu entnehmen. Um die intratumorale Heterogenität genauer zu quantifizieren, wurden drei Tumoren mit starker MAPT-Färbung in zusätzlichen Großschnittanalysen aller verfügbaren tumorhaltigen Gewebelöcke mittels IHC validiert. 10 Schnitte wurden pro Tumor analysiert. Dabei zeigten die Tumoren unterschiedliche Bereiche mit und ohne MAPT-Färbung.

Die ausführlichen Ergebnisse sind in der beigefügten Originalpublikation dargestellt. Die wichtigsten Erkenntnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Eine MAPT-Färbung ist signifikant assoziiert mit der TMPRSS2:ERG-Genfusion ($p < 0.0001$).
2. Eine MAPT-Expression ist signifikant mit einem ungünstigen Tumorphänotyp, d.h. mit einem fortgeschritten pathologischen Tumorstadium ($p < 0.0001$), hohem Gleason-Grad ($p < 0.0001$), positiven Lymphknotenstatus ($p < 0.0001$) und positiven Resektionsrand ($p < 0.0011$) assoziiert. Diese Assoziation bestand grundsätzlich sowohl bei ERG-positiven als auch ERG-negativen Tumoren. Abweichungen sind der Anlage der Originalpublikation zu entnehmen und traten vermutlich aufgrund der kleinen Anzahl von MAPT-positiven Tumoren auf.
3. Eine MAPT-Expression ist signifikant mit dem Auftreten eines PSA-Rezidivs assoziiert. Dies bezieht sich auf alle Karzinome, inklusive der ERG-positiven und ERG-negativen Karzinome (jeweils $p < 0.0001$).
4. Eine MAPT-Expression ist signifikant assoziiert mit einer PTEN-Deletion unabhängig vom ERG-Status ($p < 0.0001$).
5. Eine MAPT-Expression ist weitgehend unabhängig von anderen Deletionen.

In einer multivariaten Analyse wurde in vier unterschiedlichen klinischen Szenarien die klinische Relevanz von MAPT evaluiert. Verwendete Parameter sind der Originalpublikation zu entnehmen. MAPT erwies sich als signifikant unabhängiger Prognoseparameter in allen vier Szenarien bei Analyse aller Tumoren (jeweils $p < 0.0001$), sowie bei ERG-negativen und ERG-positiven Tumoren ($p \leq 0.02$).

4.0 Diskussion

Die Ergebnisse der Studie identifizieren eine MAPT-Überexpression als einen Prognosemarker, welcher aber nur bei einer verhältnismäßig kleinen Anzahl von Prostatakarzinomen positiv ist.

In dieser Studie war eine nachweisbare MAPT-Expression in ungefähr 8% der Prostatakarzinome zu sehen, wohingegen normales Prostatagewebe unter den gewählten Versuchsbedingungen immer negativ blieb. Zuvor hat nur eine Studie die MAPT-Expression mittels IHC bei Prostatakrebs analysiert. Cirak et al. berichteten von 23% MAPT-positiven Fällen in einer Serie von 30 Prostatakarzinomen [15]. Es ist möglich, dass der Ansatz über Großschnittanalysen von Cirak et al. zu einer höheren Erkennungsrate von Tumoren mit einer heterogenen MAPT-Expression führte. Tatsächlich legen die gewonnenen Daten nahe, dass die MAPT-Expression in einem beträchtlichen Anteil von Tumoren heterogen sein könnte. Eine eindeutige Heterogenität wurde sogar in einigen TMA-Spots gefunden (Abb. 1d) und eine genauere Analyse aller krebshaltigen Gewebelöcke von drei Karzinomen mit hoher MAPT-Expression auf TMA-Spots zeigte immer beides, MAPT-positive und MAPT-negative Krebsbereiche. Eine solche Heterogenität stellt eine Limitierung für TMA-Studien dar, die nur einzelne Spots pro Tumor analysieren.

In dieser Studie war eine MAPT-Überexpression mit einem ungünstigen Tumorphänotyp und einem frühen biochemischen Rezidiv assoziiert (jeweils $p < 0,0001$). Die unabhängige prognostische Auswirkung der MAPT-Überexpression von etablierten prognostischen Parametern und die Differenz in der 5-Jahres-Rezidivrate zwischen Patienten mit und ohne nachweisbarer MAPT-Expression von mehr als 20% sprechen für eine mögliche klinische Relevanz dieses molekularen Markers. Eine ähnlich starke prognostische Rolle wurde kürzlich für eine aberrante Expression von β III-Tubulin (TUBB3) im Prostatakarzinom beschrieben. TUBB3 ist ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein, welches normalerweise in Zellen neuronalen Ursprungs exprimiert wird, jedoch nicht im Prostataepithel [34]. Insgesamt deuten die auffälligen prognostischen Auswirkungen der Expression von Proteinen, welche die Struktur und Aufrechterhaltung von Mikrotubuli beeinflussen, darauf hin, dass die Zusammensetzung und Funktion des Zytoskeletts erheblichen Einfluss auf das Verhalten von Krebszellen hat.

Die umfangreiche molekulare Datenbank, verbunden mit dem TMA, ermöglichte es, die Rolle der MAPT-Expression bei Prostatakrebs weiter zu untersuchen und nach möglichen Interaktionen mit wichtigen molekularen Parametern zu suchen. Bei etwa 50% der Prostatakarzinome kommt es zu Genfusionen, die das androgenregulierte TMPRSS2-Gen mit dem Transkriptionsfaktor ERG verbinden [28, 35]. Infolge dieses genetischen Rearrangements wird ERG androgenreguliert und massiv überexprimiert. Die gewonnenen Daten zeigen eine deutlich höhere MAPT-Expression bei ERG-positiven als bei ERG-negativen Karzinomen. Dieses Erkenntnis steht im Einklang mit Daten, welche nahelegen, dass ERG eine regulatorische Rolle in der Dynamik der Mikrotubuli spielen könnte [19, 36] und diese sogar destabilisieren kann, indem es lösliches Tubulin im Zytoplasma bindet [37]. Der exakte molekulare Mechanismus ist unbekannt. Laut Datenbank eukaryotischer Promotoren [38] ist MAPT kein direktes

Ziel des Transkriptionsfaktors ERG. Es ist jedoch möglich, dass ERG durch mindestens eines seiner über 1600 Zielgene einen indirekten Einfluss auf die Transkription von MAPT hat [39–41]. Ein Vergleich der MAPT-Expression mit häufigen genomischen Deletionen identifizierte PTEN als die einzige Deletion, die mit einer hohen MAPT-Expression verbunden war. Dies korreliert mit früheren Arbeiten über neurodegenerative Krankheiten, welche darüber berichten, dass PTEN die MAPT-Phosphorylierung, -Aggregation oder -Bindung an Mikrotubuli beeinflussen kann [42, 43].

Die existierenden Daten deuten eine generelle Rolle von MAPT bei Krebs an. Von einer Überexpression von MAPT wurde bei mehreren anderen wichtigen Krebsarten berichtet, einschließlich Mammakarzinom (43-52%) [18, 44, 45], Ovarialkarzinom (63-74%) [14, 46] und Magenkarzinom (55-70%) [13, 47, 48]. Der klinische und prognostische Wert von MAPT kann stark von der Tumorart abhängen. Eine hohe MAPT-Expression wurde zum Beispiel beim Mammakarzinom mit einer günstigen Prognose verbunden [49], jedoch mit einer ungünstigen Prognose beim Ovarialkarzinom [14]. Es ist unbekannt, warum MAPT bei verschiedenen Tumorarten einen unterschiedlichen Einfluss auf die Aggressivität der Tumorzellen ausübt. Da die Zusammensetzung der Mikrotubuli zwischen den Zelltypen variiert, kann spekuliert werden, dass MAPT-induzierte Veränderungen an der Dynamik der Mikrotubuli, je nach Herkunftsgewebe, unterschiedliche Auswirkungen auf das Zellverhalten haben könnten. Es ist ebenfalls bekannt, dass MAPT mit anderen krebsrelevanten Proteinen und Signalwegen interagiert. Man konnte beispielsweise zeigen, dass MAPT mit unterschiedlichen wachstumsbezogenen Kinasen, wie PI3K, Fyn, cSrc und Fgr kooperieren kann [16, 50, 51]. Solche Kinasen können in verschiedenen Zelltypen eine unterschiedliche Rolle spielen. Außerdem hängen MAPT-Interaktionen von dem Grad der Phosphorylierung ab. Substantielle Unterschiede in Zelllinien von Prostata- und Hirntumoren deuten darauf hin, dass die MAPT-Phosphorylierung stark von der Tumorart abhängen könnte [16, 52, 53, 54].

Bei mehreren Tumorarten, bei denen die Patienten mit Taxanen behandelt werden, wurde angenommen, dass MAPT einen potentiellen prädiktiven Marker darstellt. [14, 48, 55-59]. MAPT konkurriert mit Taxanen um die gleiche Bindungsstelle an die Mikrotubuli. Obwohl MAPT die Mikrotubuli auf die gleiche Weise wie Paclitaxel stabilisiert, ist seine Bindung reversibler [20]. Folglich wurde angenommen, dass eine Überexpression von MAPT die Mikrotubuli unempfindlich gegenüber der Therapie mit Paclitaxel macht. [20, 60, 61]. Taxane sind bei Prostatakrebs die wichtigsten Zytostatika bei einer fortgeschrittenen, metastasierenden Erkrankung. Allerdings liegen die Ansprechraten in klinischen Studien (gemessen als 50%-ige Abnahme des PSA) nur bei etwa 45–50% [62]. Es wäre interessant, die Beziehung zwischen der Expression von Proteinen im Zusammenhang mit dem Mikrotubulus, wie MAPT und TUBB3, und der Reaktion auf Taxane bei Prostatakrebs in klinischen Studien zu untersuchen.

5.0 Zusammenfassung

Eine Überexpression des Mikrotubuli-assoziierten Proteins Tau (MAPT) wurde mit einer ungünstigen Prognose und einem verminderten Ansprechen auf taxanbasierte Therapien bei mehreren Krebsarten in Verbindung gebracht. Die Relevanz beim Prostatakarzinom ist jedoch unbekannt.

In dieser Studie wurde die MAPT-Expression mithilfe der Immunhistochemie an einen 17.747 Prostatakrebs umfassenden TMA analysiert.

Dabei war MAPT in normalen Epithelzellen der Prostata nicht nachweisbar, aber in 1004 (8,2%) von 12.313 interpretierbaren Karzinomen nachweisbar. Die Expression konnte mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium, hohen Gleason-Score, positiven Lymphknotenstatus und frühen biochemischen Rezidiv (jeweils $p < 0.0001$) assoziiert werden. Beispielsweise wurde eine MAPT-Expression bei 3,6% von 2072 Gleason $\leq 3 + 3$ aber bei 14,4% von 704 Gleason $\geq 4 + 4$ Karzinomen gefunden. Eine MAPT-Färbung wurde auch mit TMPRSS2:ERG-Fusionen in Verbindung gebracht ($p < 0,0001$). Diese wurde bei 15,2 und 16% der Karzinome mit TMPRSS2:ERG-Fusion beobachtet, die durch Immunhistochemie bzw. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung nachgewiesen wurde, jedoch nur bei 3,5 und 3,9% der Karzinome ohne ERG-Färbung oder ERG-Rearrangement. Darüber hinaus wurde eine Assoziation zwischen der MAPT-Expression und PTEN-Deletionen gefunden, mit 19% MAPT-positiven bei 948 PTEN-deletierten Karzinomen, aber nur 7% MAPT-positiven bei 3895 Tumoren mit normalen PTEN-Kopien ($p < 0,0001$). Eine multivariate Analyse ergab, dass der prognostische Wert von MAPT unabhängig von etablierten prognostischen Parametern war. Großschnittvalidierungen zeigten eine intratumorale MAPT-Heterogenität bei allen drei analysierten Karzinomen.

Die Ergebnisse der Studie identifizieren MAPT beim Prostatakarzinom als einen moderaten prognostischen Marker, dessen Aussagekraft jedoch aufgrund der Seltenheit und Heterogenität seiner Expression limitiert zu sein scheint.

6.0 Abstract

Microtubule-associated protein Tau (MAPT) overexpression has been linked to poor prognosis and decreased response to taxane-based therapies in several cancer types, but its relevance in prostate cancer is unknown.

In this study, MAPT expression was analyzed by immunohistochemistry on a tissue microarray containing 17,747 prostate cancers.

MAPT was absent in normal prostate epithelial cells but detectable in 1004 (8.2%) of 12,313 interpretable cancers. Its expression was associated with advanced tumor stage, high Gleason grade, positive lymph nodes, and early biochemical recurrence ($p < 0.0001$ each). For example, MAPT was found in 3.6% of 2072 Gleason $\leq 3 + 3$ cancers but in 14.4% of 704 Gleason $\geq 4 + 4$ cancers. High-level MAPT staining was also linked to TMPRSS2:ERG fusions ($p < 0.0001$). MAPT staining was seen in 15.2 and 16% of cancers with TMPRSS2:ERG fusion detected by immunohistochemistry and fluorescence in-situ hybridization, but in only 3.5 and 3.9% of cancers without ERG staining or ERG rearrangements. Moreover, an association was found between MAPT expression and PTEN deletions, with 19% MAPT positivity in 948 PTEN deleted cancers but only 7% MAPT positivity in 3895 tumors with normal PTEN copy numbers ($p < 0.0001$). Multivariate analysis revealed that the prognostic value of MAPT was independent from established parameters. Conventional large section analyses showed intratumoral MAPT heterogeneity in all three analyzed cancers.

The results of our study identify MAPT, as a moderate prognostic marker in prostate cancer, whose clinical impact, however, may be limited due to the rarity and heterogeneity of its expression.

7.0 Abkürzungsverzeichnis

IHC	Immunhistochemie (Immunhistochemie)
MAPT	Microtubule-associated protein Tau (Mikrotubuli-assoziiertes Protein Tau)
PSA	Prostate specific antigen (prostataspezifisches Antigen)
PTEN	phosphatase and tensin homolog
TMA	Tissue microarray
TMPRSS2:ERG	Transmembrane protease, serine 2: ETS-related gene fusion (TMPRSS2:ERG Genfusion)
TUBB3	Tubulin beta 3

8.0 Literaturverzeichnis

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87–108.
2. Robert-Koch-Institut, Zentrum für Krebsregisterdaten (2019) Krebs in Deutschland für 2015/2016. Berlin
[Online im Internet] URL:
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf__blob=publicationFile
[Stand: 08.01.2020, 9:00]
3. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in total prostatectomy specimens. *J Urol.* 2002;168(5):2006–10.
4. Sauter G, Steurer S, Clauditz TS, Krech T, Wittmer C, Lutz F, Lennartz M, Janssen T, Hakimi N, Simon R, et al. Clinical utility of quantitative Gleason grading in prostate biopsies and prostatectomy specimens. *Eur Urol.* 2016;69(4):592–8.
5. Wilt TJ, Brawer MK, Jones KM, Barry MJ, Aronson WJ, Fox S, Gingrich JR, Wei JT, Gilhooly P, Grob BM, et al. Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *N Engl J Med.* 2012;367(3):203–13.
6. Thompson IM Jr, Tangen CM. Prostate cancer--uncertainty and a way forward. *N Engl J Med.* 2012;367(3):270–1.
7. Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975;72(5):1858–62.
8. Thurston VC, Zinkowski RP, Binder LI. Tau as a nucleolar protein in human nonneural cells in vitro and in vivo. *Chromosoma.* 1996;105(1):20–30.
9. Cross DC, Munoz JP, Hernandez P, Maccioni RB. Nuclear and cytoplasmic tau proteins from human nonneuronal cells share common structural and functional features with brain tau. *J Cell Biochem.* 2000;78(2):305–17.
10. Vanier MT, Neuville P, Michalik L, Launay JF. Expression of specific tau exons in normal and tumoral pancreatic acinar cells. *J Cell Sci.* 1998;111(Pt 10):1419–32.
11. He W, Zhang D, Jiang J, Liu P, Wu C. The relationships between the chemosensitivity of human gastric cancer to paclitaxel and the expressions of class III beta-tubulin, MAPT, and survivin. *Med Oncol.* 2014;31(5):950.
12. Koo DH, Lee HJ, Ahn JH, Yoon DH, Kim SB, Gong G, Son BH, Ahn SH, Jung KH. Tau and PTEN status as predictive markers for response to trastuzumab and paclitaxel in patients with HER2-positive breast cancer. *Tumour Biol.* 2015;36(8):5865–71.
13. Mimori K, Sadanaga N, Yoshikawa Y, Ishikawa K, Hashimoto M, Tanaka F, Sasaki A, Inoue H, Sugimachi K, Mori M. Reduced tau expression in gastric cancer can identify candidates for successful paclitaxel treatment. *Br J Cancer.* 2006;94(12):1894–7.

14. Smoter M, Bodnar L, Grala B, Stec R, Zieniuk K, Kozłowski W, Szczylik C. Tau protein as a potential predictive marker in epithelial ovarian cancer patients treated with paclitaxel/platinum first-line chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2013;32:25.
15. Cirak Y, Sarsik B, Cakar B, Sen S, Simsir A, Uslu R. Predictive and prognostic values of tau and BubR1 protein in prostate cancer and their relationship to the Gleason score. *Med Oncol.* 2013;30(2):526.
16. Souter S, Lee G. Microtubule-associated protein tau in human prostate cancer cells: isoforms, phosphorylation, and interactions. *J Cell Biochem.* 2009;108(3):555–64.
17. Sangrajang S, Denoulet P, Millot G, Tatoud R, Podgorniak MP, Tew KD, Calvo F, Fellous A. Estramustine resistance correlates with tau over-expression in human prostatic carcinoma cells. *Int J Cancer.* 1998;77(4):626–31.
18. Puzstai L, Jeong JH, Gong Y, Ross JS, Kim C, Paik S, Rouzier R, Andre F, Hortobagyi GN, Wolmark N, et al. Evaluation of microtubule-associated protein-tau expression as a prognostic and predictive marker in the NSABP-B 28 randomized clinical trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(26):4287–92.
19. Birdsey GM, Dryden NH, Shah AV, Hannah R, Hall MD, Haskard DO, Parsons M, Mason JC, Zvelebil M, Gottgens B, et al. The transcription factor *erg* regulates expression of histone deacetylase 6 and multiple pathways involved in endothelial cell migration and angiogenesis. *Blood.* 2012;119(3):894–903.
20. Smoter M, Bodnar L, Duchnowska R, Stec R, Grala B, Szczylik C. The role of tau protein in resistance to paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011; 68(3):553–7.
21. Attard G, Parker C, Eeles RA, Schroder F, Tomlins SA, Tannock I, Drake CG, de Bono JS. Prostate cancer. *Lancet.* 2016;387(10013):70–82.
22. Tannock IF, Fizazi K, Ivanov S, Karlsson CT, Flechon A, Skoneczna I, Orlandi F, Gravis G, Matveev V, Bavybek S, et al. Aflibercept versus placebo in combination with docetaxel and prednisone for treatment of men with metastatic castration-resistant prostate cancer (VENICE): a phase 3, double-blind randomised trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(8):760–8.
23. Tannock IF, de Wit R, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Oudard S, Theodore C, James ND, Turesson I, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med.* 2004;351(15):1502–12.
24. Erbersdobler A, Hammerer P, Huland H, Henke RP. Numerical chromosomal aberrations in transition-zone carcinomas of the prostate. *J Urol.* 1997;158(4): 1594–8.
25. Sauter G, Steurer S, Clauditz TS, Krech T, Wittmer C, Lutz F, Lennartz M, Janssen T, Hakimi N, Simon R, et al. Clinical utility of quantitative Gleason grading in prostate biopsies and prostatectomy specimens. *Eur Urol.* 2016; 69(4):592–8.
26. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med.* 1998; 4(7):844–7.
27. Mirlacher M, Simon R. Recipient block TMA technique. *Methods Mol Biol.* 2010;664:37–44.

28. Weischenfeldt J, Simon R, Feuerbach L, Schlangen K, Weichenhan D, Minner S, Wuttig D, Warnatz HJ, Stehr H, Rausch T, et al. Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer Cell*. 2013;23(2):159–70.
29. Minner S, Enodien M, Sirma H, Luebke AM, Krohn A, Mayer PS, Simon R, Tennstedt P, Muller J, Scholz L, et al. ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of antihormonal therapy. *Clin Cancer Res*. 2011;17(18):5878–88.
30. Burkhardt L, Fuchs S, Krohn A, Masser S, Mader M, Kluth M, Bachmann F, Huland H, Steuber T, Graefen M, et al. CHD1 is a 5q21 tumor suppressor required for ERG rearrangement in prostate cancer. *Cancer Res*. 2013;73(9):2795–805.
31. Kluth M, Hesse J, Heidl A, Krohn A, Steurer S, Sirma H, Simon R, Mayer PS, Schumacher U, Grupp K, et al. Genomic deletion of MAP3K7 at 6q12-22 is associated with early PSA recurrence in prostate cancer and absence of TMPRSS2:ERG fusions. *Mod Pathol*. 2013;26(7):975–83.
32. Krohn A, Diedler T, Burkhardt L, Mayer PS, De Silva C, Meyer-Kornblum M, Kotschau D, Tennstedt P, Huang J, Gerhauser C, et al. Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate Cancer. *Am J Pathol*. 2012;181(2):401–12.
33. Krohn A, Seidel A, Burkhardt L, Bachmann F, Mader M, Grupp K, Eichenauer T, Becker A, Adam M, Graefen M, et al. Recurrent deletion of 3p13 targets multiple tumor suppressor genes and defines a distinct subgroup of aggressive ERG fusion positive prostate cancers. *J Pathol*. 2013;231(1):130–41.
34. Tsourlakis MC, Weigand P, Grupp K, Kluth M, Steurer S, Schlomm T, Graefen M, Huland H, Salomon G, Steuber T, et al. betaIII-tubulin overexpression is an independent predictor of prostate cancer progression tightly linked to ERG fusion status and PTEN deletion. *Am J Pathol*. 2014;184(3):609–17.
35. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, Varambally S, Cao X, Tchinda J, Kuefer R, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005;310(5748):644–8.
36. Chow A, Amemiya Y, Sugar L, Nam R, Seth A. Whole-transcriptome analysis reveals established and novel associations with TMPRSS2:ERG fusion in prostate cancer. *Anticancer Res*. 2012;32(9):3629–41.
37. Galletti G, Matov A, Beltran H, Fontugne J, Miguel Mosquera J, Cheung C, MacDonald TY, Sung M, O'Toole S, Kench JG, et al. ERG induces taxane resistance in castration-resistant prostate cancer. *Nat Commun*. 2014;5:5548.
38. Perier RC, Praz V, Junier T, Bonnard C, Bucher P. The eukaryotic promoter database (EPD). *Nucleic Acids Res*. 2000;28(1):302–3.
39. Bawa P, Zackaria S, Verma M, Gupta S, Srivatsan R, Chaudhary B, Srinivasan S. Integrative analysis of Normal long intergenic non-coding RNAs in prostate Cancer. *PLoS One*. 2015;10(5):e0122143.
40. Brase JC, Johannes M, Mannsperger H, Falth M, Metzger J, Kacprzyk LA, Andrasiuk T, Gade S, Meister M, Sirma H, et al. TMPRSS2-ERG -specific

- transcriptional modulation is associated with prostate cancer biomarkers and TGF-beta signaling. *BMC Cancer*. 2011;11:507.
41. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, Arora VK, Kaushik P, Cerami E, Reva B, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*. 2010;18(1):11–22.
 42. Zhang X, Li F, Bulloj A, Zhang YW, Tong G, Zhang Z, Liao FF, Xu H. Tumor-suppressor PTEN affects tau phosphorylation, aggregation, and binding to microtubules. *FASEB J*. 2006;20(8):1272–4.
 43. Kerr F, Rickle A, Nayeem N, Brandner S, Cowburn RF, Lovestone S. PTEN, a negative regulator of PI3 kinase signalling, alters tau phosphorylation in cells by mechanisms independent of GSK-3. *FEBS Lett*. 2006;580(13):3121–8.
 44. Li ZH, Xiong QY, Tu JH, Gong Y, Qiu W, Zhang HQ, Wei WS, Hou YF, Cui WQ. Tau proteins expressions in advanced breast cancer and its significance in taxane-containing neoadjuvant chemotherapy. *Med Oncol*. 2013;30(3):591.
 45. Shao YY, Kuo KT, Hu FC, Lu YS, Huang CS, Liao JY, Lee WC, Hsu C, Kuo WH, Chang KJ, et al. Predictive and prognostic values of tau and ERCC1 in advanced breast cancer patients treated with paclitaxel and cisplatin. *Jpn J Clin Oncol*. 2010;40(4):286–93.
 46. Steffensen KD, Smoter M, Waldstrom M, Grala B, Bodnar L, Stec R, Szczylik C, Jakobsen A. Resistance to first line platinum paclitaxel chemotherapy in serous epithelial ovarian cancer: the prediction value of ERCC1 and tau expression. *Int J Oncol*. 2014;44(5):1736–44.
 47. Wang Q, Wang N, Shao G, Qian J, Shen D, Fei Y, Mao W, Wu D. Relationship between gastric cancer tau protein expression and paclitaxel sensitivity. *Pathol Oncol Res*. 2013;19(3):429–35.
 48. Yu J, Gao J, Lu Z, Gong J, Li Y, Dong B, Li Z, Zhang X, Shen L. Combination of microtubule associated protein-tau and beta-tubulin III predicts chemosensitivity of paclitaxel in patients with advanced gastric cancer. *Eur J Cancer*. 2014;50(13):2328–35.
 49. Bonneau C, Gurard-Levin ZA, Andre F, Pusztai L, Rouzier R. Predictive and prognostic value of the TauProtein in breast Cancer. *Anticancer Res*. 2015; 35(10):5179–84.
 50. Lee G, Newman ST, Gard DL, Band H, Panchamoorthy G. Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases. *J Cell Sci*. 1998;111(Pt 21):3167–77.
 51. Reynolds CH, Garwood CJ, Wray S, Price C, Kellie S, Perera T, Zvelebil M, Yang A, Sheppard PW, Varndell IM, et al. Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase Cgamma1, Grb2, and Src family kinases. *J Biol Chem*. 2008; 283(26):18177–86.
 52. Brandt R, Lee G, Teplow DB, Shalloway D, Abdel-Ghany M. Differential effect of phosphorylation and substrate modulation on tau's ability to promote microtubule growth and nucleation. *J Biol Chem*. 1994;269(16):11776–82.
 53. Utton MA, Vandecandelaere A, Wagner U, Reynolds CH, Gibb GM, Miller CC, Bayley PM, Anderton BH. Phosphorylation of tau by glycogen synthase kinase 3beta affects the ability of tau to promote microtubule self-assembly. *Biochem J*. 1997;323(Pt 3):741–7.

54. Drewes G, Trinczek B, Illenberger S, Biernat J, Schmitt-Ulms G, Meyer HE, Mandelkow EM, Mandelkow E. Microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase (p110mark). A novel protein kinase that regulates tau-microtubule interactions and dynamic instability by phosphorylation at the Alzheimer-specific site serine 262. *J Biol Chem*. 1995;270(13):7679–88.
55. Rouzier R, Rajan R, Wagner P, Hess KR, Gold DL, Stec J, Ayers M, Ross JS, Zhang P, Buchholz TA, et al. Microtubule-associated protein tau: a marker of paclitaxel sensitivity in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(23):8315–20.
56. Wu H, Huang M, Lu M, Zhu W, Shu Y, Cao P, Liu P. Regulation of microtubule-associated protein tau (MAPT) by miR-34c-5p determines the chemosensitivity of gastric cancer to paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;71(5):1159–71.
57. Zhou J, Qian S, Li H, He W, Tan X, Zhang Q, Han G, Chen G, Luo R. Predictive value of microtubule-associated protein tau in patients with recurrent and metastatic breast cancer treated with taxane-containing palliative chemotherapy. *Tumour Biol*. 2015;36(5):3941–7.
58. Wang K, Deng QT, Liao N, Zhang GC, Liu YH, Xu FP, Zu J, Li XR, Wu YL. Tau expression correlated with breast cancer sensitivity to taxanes-based neoadjuvant chemotherapy. *Tumour Biol*. 2013;34(1):33–8.
59. Wosnitzer MS, Domingo-Domenech J, Castillo-Martin M, Ritch C, Mansukhani M, Petrylack DP, Benson MC, McKiernan JM, Cordon-Cardo C. Predictive value of microtubule associated proteins tau and stathmin in patients with nonmuscle invasive bladder cancer receiving adjuvant intravesical taxane therapy. *J Urol*. 2011;186(5):2094–100.
60. Ikeda H, Taira N, Hara F, Fujita T, Yamamoto H, Soh J, Toyooka S, Nogami T, Shien T, Doihara H, et al. The estrogen receptor influences microtubule-associated protein tau (MAPT) expression and the selective estrogen receptor inhibitor fulvestrant downregulates MAPT and increases the sensitivity to taxane in breast cancer cells. *Breast Cancer Res*. 2010;12(3):R43.
61. Wagner P, Wang B, Clark E, Lee H, Rouzier R, Puszta L. Microtubule associated protein (MAP)-tau: a novel mediator of paclitaxel sensitivity in vitro and in vivo. *Cell Cycle*. 2005;4(9):1149–52.
62. Hwang C. Overcoming docetaxel resistance in prostate cancer: a perspective review. *Ther Adv Med Oncol*. 2012;4(6):329–40.

III. Darstellung des Eigenanteils

Eigenanteil:

- Literaturrecherche zum Protein Tau bei Tumoren, zu Prognose-Parametern beim Prostatakarzinom und molekularen bzw. genetischen Veränderungen beim Prostatakarzinom
- Auswahl des Proteins Tau für die Untersuchung und Etablierung des IHC-Antikörpers
- immunhistochemische Analyse und Beurteilung der Tau-Expression unter Anleitung
- statistische Auswertung der Ergebnisse
- Mithilfe bei der Erstellung einer ersten Version des Manuskriptes
- Mitarbeit bei der Erstellung des Studiendesigns
- Anfertigung von TMA

Anteil der Co-Autoren:

- IHC-Analyse und pathologische Beurteilung der Tumoren: Cornelia Schroeder, Doris Höflmayer, Sarah Minner
- Datenakquisition, Datenbankgenerierung und statistische Analyse: Franziska Büscheck, Frank Jacobsen, Till S. Clauditz, Eike Burandt, Claudia Hube-Magg, Cornelia Schroeder, Ronald Simon, Thorsten Schlomm, Martina Kluth, Dagmar Lang
- Erstellen des Manuskriptes: Cornelia Schroeder, Ronald Simon, Stefan Steurer, Guido Sauter, Thorsten Schlomm, Martina Kluth, Dagmar Lang
- Studiendesign, Studienkoordination und fachliche Revision des Manuskriptes: Cornelia Schroeder, Ronald Simon, Stefan Steurer, Guido Sauter, Hartwig Huland, Markus Graefen, Thorsten Schlomm

IV. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei Prof. Dr. Guido Sauter, Claudia Hube, Dr. Martina Kluth und PD Dr. Ronald Simon für die exzellente Betreuung und Unterstützung bedanken.

Daneben danke ich Christina Koop, Inge Brandt, Sünje Seekamp und Julia Schumann für die tatkräftige und uneingeschränkte Mithilfe sowie meiner Familie, meiner Freundin und meinen Freunden für die motivierende Unterstützung.

V. Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

VI. 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: