

„Dangerous liaisons“ im Prostatakarzinom

Klinische und biologische Bedeutung rekurrenter Genfusionen

Die Grundlage für das Verständnis der klinischen Heterogenität des Prostatakarzinoms ist die Entschlüsselung seiner molekularen Veränderungen. Die Einteilung des Prostatakarzinoms in genetische Subtypen – vergleichbar mit der gängigen Subklassifikation der Leukämien und Lymphome – könnte helfen, Patienten frühzeitig nach ihrem klinischen Verlauf und Therapieansprechen zu stratifizieren. Im Folgenden wird darüber hinaus dargestellt, wie die Entdeckung häufiger Genfusionen im Prostatakarzinom sowie deren konsequente klinische und biologische Charakterisierung hilft, die Heterogenität dieses Leidens besser zu verstehen.

Genfusion beim Prostatakarzinom – ein Paradigmenwechsel

Bisher ging man davon aus, dass rekurrente Genfusionen in erster Linie Charakteristika von Leukämien, Lymphomen und Sarkomen seien. Epitheliale Tumoren (Karzinome), die die häufigsten Tumoren beim Menschen darstellen und bei Morbidität und Mortalität von Krebserkrankungen führend sind, waren bisher in weniger als 1% der Fälle durch krankheitsspezifische rekurrente Genfusionen charakterisiert [1, 2, 3]. Unsere Entdeckung der *TMPRSS2-ETS*-Genfusionen im Jahr 2005 veränderte das Verständnis über Genrearrangements in soliden Tumoren daher dramatisch [4].

Der Schlüssel zur Entdeckung der *TMPRSS2-ETS*-Genfusion im Prostatakarzinom war ein einfacher bioinforma-

tischer Ansatz zur Entschlüsselung onkogener Profile aus Expressionsdatensätzen und die daraus resultierende Identifikation überexprimierter Gene, die häufig mit Genrearrangements in anderen Tumoren einhergehen. Bei diesen Untersuchungen zeigten zwei Gene, nämlich *ERG* und *ETV1*, konstant hohe Expressionswerte bei Prostatakarzinom-Microarrays. Diese beiden Gene sind Teil der Familie der ETS-Transkriptionsfaktoren, in der Mehrheit der Prostatakarzinomfälle überexprimiert und in einem jeweiligen Tumor gegenläufig in ihrem Expressionsprofil. Dies legte den Schluss nahe, dass diese beiden Gene bei der Entstehung des Prostatakarzinoms funktionell redundant sind.

Da die Transkriptionsfaktoren der *ETS*-Familie bis dato nur in der Translokation von Ewing-Sarkomen, der akuten myeloischen Leukämie (AML) und anderen seltenen Tumoren beobachtet werden konnten, wurde exploriert, ob diese Gene Teil einer Translokation beim Prostatakarzinom sein könnten. Bei der Evaluation des *ERG*-cDNA-Transkriptes mittels „Exon-Walking“ wurde eine Überexpression der Exone am distalen (3'-) Ende, nicht aber am proximalen (5'-) Ende festgestellt. Durch Sequenzierung der cDNA-Transkripte wurden Fusionen der nicht-translatierten 5'-Region des *TMPRSS2*-Gens (21q22.3) mit einem der beiden Transkriptionsfaktoren der *ETS*-Familie, *ERG* (21q22.2) oder *ETV1* (7p21.2), identifiziert, was die Überexpression der *ETS*-Gene beim Prostatakarzinom erklärt.

Neben der *TMPRSS2-ERG*-Fusion, die die häufigste Fusion darstellt, wurden wei-

tere, jedoch wesentlich seltenere und bisher wenig charakterisierte Fusionsereignisse beschrieben [5]. Diese weniger häufigen Fusionen demonstrieren die Neigung der *ETS*-Gene, sich an Rearrangements zu beteiligen.

Genomische Subtypen der *TMPRSS2-ERG*-Genfusion

Als Goldstandard für den Fusionsnachweis im Gewebe dient die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) als kombinierter zytogenetisch-histomorphologischer Test. Zum Nachweis einer Fusion von *TMPRSS2* mit *ERG* konnten wir keinen direkten Fusions-Assay anwenden, da beide Gene auf dem gleichen Chromosom (21q) nicht ausreichend weit voneinander entfernt liegen (Distanz lediglich etwa 3 Megabasenpaare). Daher mussten wir einen Translokations-Assay etablieren, der das Rearrangement eines der beiden Fusionspartner, z. B. des *ERG*-Gens, detektiert. Ein positives Translokationssignal wurde in diesem Falle als eine Fusion von *ERG* mit *TMPRSS2* interpretiert. Durch Vergleich der Ergebnisse aus Polymerase-Ketten-Reaktions- (PCR-)Analysen (womit auf Transkriptionsebene die Fusion nachgewiesen werden konnte) und FISH-Analysen (womit die Translokation des *ERG*-Gens nachgewiesen werden konnte) war dieser Rückschluss zulässig [4].

Das Manuskript entspricht in weiten Teilen der Habilitationsschrift des Autors.

Allerdings haben sich bei Anwendung des *ERG*-Translokations-Assays zwei verschiedene Rearrangement-Muster gezeigt. Zum einen, wie erwartet, ein „Break-apart“ der differenziell Fluorochrom-markierten *ERG*-flankierenden Sonden in zwei Einzelsignale. Zum anderen beobachteten wir überraschenderweise, dass in der Mehrzahl der Fälle die telomerische 5'-*ERG*-Sonde verloren ging, was nahe legte, dass genomisches Material zwischen *ERG* und *TMPRSS2* einer Deletion unterlag [6]. Daraufhin analysierten wir 30 Prostatakarzinomproben mittels 100 K-Oligonucleotid-SNP-Arrays und fanden heraus, dass sich zwischen *TMPRSS2* und *ERG* eine homogene Deletion befand.

Durch die Beobachtungen aus der FISH-Analyse und den Ergebnissen aus den SNP-Array-Analysen konnten wir somit zeigen, dass der *TMPRSS2-ERG*-Genfusion zwei unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen: Der häufigere der beiden Mechanismen war eine Fusion durch Deletion genetischen Materials zwischen den beiden Genen. Für den anderen, etwas selteneren Mechanismus wurde bisher eine Translokation oder Insertion favorisiert. Eine biologische Bedeutung der unterschiedlichen Mechanismen konnte allerdings bisher nicht herausgearbeitet werden.

Häufigkeit der Genfusion beim Prostatakarzinom

Viele unabhängige Studien konnten unsere Beobachtung bestätigen, dass die *TMPRSS2-ERG*-Fusion ein häufiges Ereignis beim Prostatakarzinom ist [5]. Die meisten Studien beschränkten sich auf das dominante Rearrangement der *TMPRSS2-ERG*-Fusion. Eine Vielzahl anderer Fusionen, u. a. *TMPRSS2* und weitere 5'-Partner, wurden beschrieben, scheinen aber deutlich weniger häufig vorzukommen und betreffen maximal 1–5% aller Prostatakarzinome. Für die Prävalenz der *TMPRSS2-ERG*-Prostatakarzinome reichen die Werte je nach Kohorte und Untersuchungsmethode von 15–70% [5, 7], wobei Kohorten mit inzidentell diagnostizierten Prostatakarzinomen signifikant geringere Häufigkeiten aufweisen als PSA-gescreente Kohorten oder Kohorten

mit hohem Anteil aggressiv verlaufender Tumoren.

Die *TMPRSS2-ERG*-Genfusion – ein frühes, klonales und prostatakarzinomspezifisches Ereignis

Eine unserer ersten Erkenntnisse bei der Untersuchung des Prostatakarzinoms auf die *TMPRSS2-ERG*-Fusion mittels FISH-Assays war, dass diese Alteration ausschließlich in neoplastischen Zellen vorkommt. In einer großen Studie über ein breites Spektrum benigner Prostataläsionen und potenzieller Vorläuferläsionen des Prostatakarzinoms konnten wir zeigen, dass die *TMPRSS2-ERG*-Fusion nicht in normalen Prostataadrüsen, benigner prostaticher Hyperplasie (BPH) oder entzündlich/atrophischen Veränderungen des Prostataepithels vorkommt [8]. Interessanterweise fanden wir aber die *TMPRSS2-ERG*-Fusionen in knapp 1/5 der „High-grade-PIN- (prostatichen intraepitheliale Neoplasie-) Läsionen“, die in unmittelbarer Nähe von Karzinomherden mit demselben Fusionsmuster lagen.

Eine von uns groß angelegte Studie und eine unabhängige Studie zur Bedeutung der *TMPRSS2-ERG*-Genfusion in „High-grade-PIN-Läsionen“ bestätigte unsere initiale Beobachtung [9, 10]. Wir werten dies als ein Indiz, dass diese „High-grade-PINs“ eine Untergruppe von Vorstufen des *TMPRSS2-ERG*-positiven Prostatakarzinoms sind.

Ein signifikanter klinischer Nutzen dieser Erkenntnis ist die Bestimmung des *TMPRSS2-ERG*-Fusionsstatus bei Prostatastanzbiopsien mit „High-grade-PIN“ und/oder mit kleinen atypischen azinären Drüsenformationen (ASAP) ohne gleichzeitigen Prostatakarzinomnachweis. Aufgrund der Klonalität der *TMPRSS2-ERG*-Genfusion innerhalb eines Fokus und der Tatsache, dass diese Genfusion schon in der potenziellen Vorläuferläsion PIN vorkommt, glauben wir, dass die Genfusion ein frühes Ereignis in der Entwicklung und Progression von Prostatakarzinomen darstellt.

Es ist bekannt, dass das Prostatakarzinom in der großen Mehrzahl der Fälle multifokal auftritt. Erst mit der FISH-basierten Identifizierung der rekurrenten *TMPRSS2-ERG*-Fusion steht uns ein In-

situ-Klonalitätsmarker zur Verfügung. Wir konnten zeigen, dass die *TMPRSS2-ERG*-Fusion in allen Tumorzellkernen innerhalb eines distinkten Tumorfokus nachweisbar ist [8]. Folglich muss die Genfusion innerhalb dieses Fokus sehr früh stattfinden. Andererseits stellten wir beim Vergleich der Genfusion zwischen verschiedenen Tumorherden innerhalb einer Prostata fest, dass jeder Tumorfokus unabhängig vom anderen eine Genfusion aufweisen kann [11]. In darauf aufbauenden Untersuchungen konnten wir auch zeigen, dass bei multifokalen Prostatakarzinomen immer der Fokus, der durch ein *ERG*-Rearrangement charakterisiert ist, auch für die Metastasierung in regionäre Lymphknoten verantwortlich ist [12].

Ein weiterer wesentlicher Punkt in der Charakterisierung des *ERG*-Rearrangements war die Frage, ob diese Alteration ein prostatakarzinomspezifisches Ereignis darstellt oder auch in anderen epithelialen Tumoren vorkommt. Wir konnten in einer erst kürzlich erschienenen Studie an über 2000 Tumorgewebeproben von über 20 Tumorentitäten herausarbeiten, dass das *ERG*-Rearrangement nur im Prostatakarzinom und sonst in keinen anderen Karzinomen vorkommt [13]. Interessanterweise konnten wir im Rahmen dieser Untersuchungen auch zeigen, dass die seltene, aber aggressive Erscheinungsform der kleinzelligen Prostatakarzinome wahrscheinlich keine eigene Tumorentität ist, sondern die dedifferenzierte Variante der azinären Prostatakarzinome darstellt [14].

Zusammenhang der *TMPRSS2-ERG*-Genfusion mit einem aggressiveren klinischen Verlauf

Unsere Gruppe beobachtete anfangs vermehrt Fälle von *TMPRSS2-ERG*-Fusion bei fortgeschrittenen Prostatakarzinomen. Daraufhin untersuchten wir, ob ein Zusammenhang zwischen der *TMPRSS2-ERG*-Fusion und dem klinischen Outcome in einer populationsbasierten Studie besteht [15]. In der „Watchful-Waiting-Kohorte“ inzidenteller Prostatakarzinompatienten aus Örebro (Schweden) wurde in 15% der Fälle eine *TMPRSS2-ERG*-Genfusion festgestellt und eine signifikante Assoziation mit prostataspezifischem Tod

gezeigt. Damit gewannen wir durch ein einzigartiges Studiendesign Hinweise auf die biologischen Auswirkungen des *TMPRSS2-ERG*-Prostatakarzinoms unter Ausschluss früher Intervention. Diese Ergebnisse wurden durch eine größer angelegte Studie aus Großbritannien gestützt [16]. Insgesamt zeigten dort Karzinome ohne die *TMPRSS2-ERG*-Fusion eine 8-Jahres-Überlebensrate von 90%. Diese Studie unterstützt die These, dass *TMPRSS2-ERG* eine Bedeutung für ein aggressives biologisches Verhalten hat.

In der Zwischenzeit wurden zahlreiche retrospektive Studien über den Zusammenhang zwischen *TMPRSS2-ERG* und Wiederanstieg des PSA-Wertes nach radikaler Prostatektomie mit unterschiedlichen Ergebnissen durchgeführt [5]. Es ist allerdings sehr schwierig, Studien mit dem PSA-Rezidiv als Endpunkt mit solchen zu vergleichen, die den krebspezifischen Tod als Endpunkt werten. Auf der Basis der beiden großen publizierten Studien mit langem Follow-up steht immer noch die These, dass das *TMPRSS2-ERG*-Prostatakarzinom unbehandelt einen aggressiveren Verlauf nimmt als ein Fusionsnegativer Tumor. Für die Bewertung chirurgischer oder anderer Interventionen fehlen noch ausreichende Daten. Wir hoffen, diese kontroversen Ergebnisse durch Untersuchung großer prospektiver populationsbasierter Kohorten zu klären.

Weitere kritische Ereignisse im Zusammenhang mit der Genfusion im Prostatakarzinom

Angeichts der phänotypischen Veränderungen beim *TMPRSS2-ERG*-Fusions-Prostatakarzinom und aggressivem klinischem Verlauf könnte man annehmen, dass Fusions-Prostatakarzinome ein individuelles molekulares Profil zeigen. Wir berichteten vor Kurzem von einer molekularen Signatur für das *TMPRSS2-ERG*-Prostatakarzinom, basierend auf den Daten von 455 Prostatakarzinompatienten aus der schwedischen „Watchful-Waiting-Kohorte“ und der „Physicians-Health-Study-Kohorte“ aus den USA [17]. Eine Genexpressionssignatur für Prostatakarzinome mit der *TMPRSS2-ERG*-Fusion wurde bestimmt und ergab eine robuste Expressionssignatur bestehend aus

Pathologie 2010 · [Suppl 2] 31:121–125 DOI 10.1007/s00292-010-1345-7
© Springer-Verlag 2010

S. Perner

„Dangerous liaisons“ im Prostatakarzinom. Klinische und biologische Bedeutung rekurrenter Genfusionen

Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist ein häufiges und im klinischen Verlauf sehr heterogenes Malignom des Mannes. Um Fortschritte in der Behandlung von Prostatakarzinompatienten zu erzielen, ist es von höchster Relevanz, die Tumorbiologie dieses Malignoms besser zu verstehen. Damit soll das Risiko für eine Tumorprogression erfasst und Grundlagen für neue rationale Therapeutika geschaffen werden, die das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen oder aufhalten. Die Entdeckung und Charakterisierung von rekurrenten Rearrangements der *ETS*-Gene – wobei es sich am häufigsten um ein Rearrangement des *ERG*-Gens handelt – war ein Meilenstein der translationalen Prostatakarzinomforschung. Obwohl schon eine Vielzahl von molekularen Veränderungen im Prosta-

takarzinom bekannt sind, sollte ein genaues Verständnis der Genfusionen im Prostatakarzinom dazu beitragen, die klinische und biologische Vielgestaltigkeit des Prostatakarzinoms besser zu verstehen. Die könnte auch Grundlage für eine molekulare Subklassifikation dieses Malignoms sein. Diese Übersichtsarbeit beschreibt den Weg von der Entdeckung der Genfusionen im Prostatakarzinom, über Anwendungsmöglichkeiten in der klinischen Versorgung von Patienten mit Prostatakarzinom bis hin zu daraus folgenden wissenschaftlichen Fragestellungen.

Schlüsselwörter

Prostatakarzinom · Genfusion · *ERG* Rearrangement · *ETS* Gene · Fluoreszenz in-situ Hybridisierung

Dangerous liaisons in prostate cancer. Clinical and biological implications of recurrent gene fusions

Abstract

Prostate cancer is a common and clinically heterogeneous disease. Understanding the biology of prostate cancer is necessary to best determinate the risk of disease progression and develop novel therapeutic approaches to prevent or slow down disease progression. The recent discovery and subsequent characterization of recurrent gene rearrangements of *ETS* genes – most frequently *ERG* – in the majority of prostate cancers is a milestone in translational prostate cancer research. Although multiple molecular alterations have been detected in prostate cancer, a detailed understanding of gene fusion in

prostate cancer should help explain the clinical and biologic diversity in addition to providing a rationale for a molecular sub-classification of the disease. This review describes the path from the identification of common *ETS* gene rearrangements in prostate cancer to possible applications in the treatment of patients, on to the potential scientific implications arising from their discovery.

Keywords

Prostate cancer · Gene fusion · *ERG* rearrangement · *ETS* genes · In situ hybridization, fluorescence

87 Genen, die den *TMPRSS2-ERG*-Fusions-Tumor als diskrete molekulare Entität abgrenzte. In-silico-Analysen von Signaltransduktionswegen ergaben, dass die oben genannte Genfusionssignatur mit einer Östrogenrezeptor- (ER-) assoziierten Signalübermittlung einhergeht. Anschließend In-vitro-Tests zeigten, dass eine Stimulation von ER- α zu einer Überexpression des *TMPRSS2-ERG*-Transkriptes in Fusions-positiven NCI H-660-Prostatakarzinomzellen führt. Außerdem konnten wir einen ER-Bindungsort innerhalb des *TMPRSS2*-Promotors mittels Chromatin-Immunpräzipitations-Assays nachweisen.

Die Beobachtung der ER-abhängigen Signaltransduktionswege beim *TMPRSS2-ERG*-Prostatakarzinom hat potenzielle klinische Auswirkungen. Die Expression des *TMPRSS2-ERG*-Fusions-Transkriptes beim kastrationsresistenten Prostatakarzinom legt nahe, dass der *TMPRSS2*-Promotor auch durch ER- α -Stimulation aktiv bleiben kann. Man fand heraus, dass eine erhöhte Expression des ER- α mit Tu-

morprogression, Metastasierung und dem kastrationsresistenten Phänotyp einhergeht [18]. Daher könnte die klinische Anwendung von selektiven Östrogenmodulatoren (SERM), welche ER- α -stimulierende Wirkung haben, die Progression *TMPRSS2-ERG*-abhängiger Prostatakarzinome fördern.

Diese Daten lassen auch einen Mechanismus vermuten, mit dem ER- β als Tumorsuppressor wirken könnte, da es die *TMPRSS2-ERG*-Expression negativ reguliert [19]. In Experimenten an Zelllinien fanden wir heraus, dass die Aktivierung von ER- β die Expression von *TMPRSS2-ERG* tatsächlich vermindert. Diese Ergebnisse verdeutlichen die Notwendigkeit, ER- β -spezifische Agonisten in der Behandlung des Prostatakarzinoms zu testen und die therapeutische Verwendung von Arzneimitteln mit ER- α -agonistischer Aktivität mit großer Aufmerksamkeit zu beobachten und zu hinterfragen.

Als vielleicht wichtigsten Punkt lassen unsere Ergebnisse einen Mechanismus vermuten, mit dem Prostatakarzi-

nome eine Androgenunabhängigkeit entwickeln können, obwohl sie initial androgenabhängig waren. Insbesondere wird das *TMPRSS2-ERG*-Onkogen durch Östrogenrezeptoren reguliert, wobei ER- α -Agonisten (z. B. endogene Östrogene) die Onkogenexpression stimulieren können. Diese Experimente legen nahe, dass eine pharmakologische Inhibition der *TMPRSS2-ERG*-Expression mittels ER- α -Antagonisten mit ER- β -agonistischer Aktivität ein viel versprechender neuer Therapieansatz für das Prostatakarzinom sein kann.

Genfusionen in anderen häufigen epithelialen Tumoren

Mit der Entdeckung rekurrenter Genfusionen im Prostatakarzinom als einem der häufigsten Tumoren des Mannes hat sich ein Paradigmenwechsel vollzogen. Mit dieser Entdeckung wurde postuliert, dass auch andere häufige epitheliale Tumoren ähnliche organspezifische Rearrangements aufweisen müssten. Schon im Jahr

r steht eine Anzeige.

2007 haben zwei unabhängige Gruppen eine rekurrente Genfusion im nichtkleinzelligen Lungenkarzinom aufdecken können [20, 21]. Dabei handelt es sich um die Fusion zwischen der anaplastischen Lymphomkinase (*ALK*) und *EML4*, einem noch sehr unbekanntem Gen. *ALK* kodiert eine Tyrosinkinase, die schon in anaplastischen Lymphomen als Teil einer Fusion beschrieben ist. Diese Fusion wurde in knapp 7% einer Gruppe von japanischen Lungenkarzinompatienten nachgewiesen [20]. Durch eine Studie konnten wir den ersten In-situ-Nachweis erbringen, dass die beiden Gene *EML4* und *ALK* tatsächlich rearrangiert sind [22].

Da schon bald nach der *TMPRSS2-ETS*-Genfusion im Prostatakarzinom eine rekurrente Genfusion auch in einem anderen sehr häufigen Tumor entdeckt wurde, gehen wir davon aus, dass sich auch im nichtkleinzelligen Lungenkarzinom und anderen häufigen epithelialen Tumoren wie dem Mamma- und Kolonkarzinom weitere pathognomonische Genfusionen mit klinischer Bedeutung finden lassen.

Fazit für die Praxis

Die kürzliche Entdeckung rekurrenter Genfusionen im Prostatakarzinom gilt als wissenschaftlicher Meilenstein in der Genetik solider Tumoren. Damit hat sich ein neues Forschungsfeld aufgetan, das mehr neue Fragen aufwirft, als es bisher beantworten kann. Die Herausforderung wird sein, u. a. folgende Fragen zu beantworten:

- **Kommen charakteristische Genfusionen in allen humanen Malignomen vor?**
- **Warum gibt es Genfusionen? DNA-Doppelstrangbrüche sind die Basis für alle Genrearrangements und resultieren aus hochenergetischer Strahlung oder Karzinogenen. Wie beim Prostatakarzinom konnte für die meisten Genrearrangements keine spezifische Ursache identifiziert werden.**
- **Wann entsteht eine Genfusion? Für viele Tumoren, die durch eine Genfusion charakterisiert sind, gibt es keine präneoplastischen Zellen, die man auf die Genfusion untersuchen kann.**

- **Sind Genfusionen als alleiniges Ereignis für eine neoplastische Transformation ausreichend?**
- **Können Genfusionen als zuverlässige prognostische oder prädiktive Marker und als Grundlage einer rationalen Therapie herangezogen werden?**

Korrespondenzadresse

PD Dr. S. Perner



Institut für Pathologie,
Comprehensive Cancer Center,
Universitätsklinikum Tübingen
Liebermeisterstr. 8,
72076 Tübingen
sven.perner1972@gmail.com

Danksagung. Mein besonderer Dank gilt meinen wissenschaftlichen und klinisch-pathologischen Lehrern Professor Dr. P. Möller, Professor Dr. M. Rubin und Professor F. Fend, deren Mitarbeitern, den Mitarbeitern meiner Arbeitsgruppe und allen Kooperationspartnern. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) danke ich für die Förderung meiner Arbeiten im Rahmen von Forschungsstipendien und der Möglichkeit des Aufbaus einer eigenen Arbeitsgruppe im Rahmen eines Emmy-Noether-Nachwuchsgruppenprogramms.

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist auf folgende Beziehung hin: PD Dr. S. Perner ist Co-Patenthalter für den diagnostischen Einsatz der *ETS*-Gen-Rearrangements. Das Patent wurde von Gen-Probe Inc. lizenziert.

Literatur

1. Mitelman F (2000) Recurrent chromosome aberrations in cancer. *Mutat Res* 462(2–3):247–253
2. Mitelman F, Johansson B, Mertens F (2004) Fusion genes and rearranged genes as a linear function of chromosome aberrations in cancer. *Nat Genet* 36(4):331–334
3. Mitelman F, Johansson B, Mertens F (2007) The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nat Rev Cancer* 7(4):233–245
4. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al (2005) Recurrent fusion of *TMPRSS2* and *ETS* transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 310(5748):644–648
5. Tomlins SA, Bjartell A, Chinnaiyan AM et al (2009) *ETS* gene fusions in prostate cancer: from discovery to daily clinical practice. *Eur Urol* 56(2):275–286
6. Perner S, Demichelis F, Beroukhi R et al (2006) *TMPRSS2:ERG* fusion-associated deletions provide insight into the heterogeneity of prostate cancer. *Cancer Res* 66(17):8337–8341
7. Braun M, Scheble VJ, Scharf G et al (o J) Relevance of cohort design for studying the prevalence of the *ERG* rearrangement in prostate cancer. (manuscript in review)
8. Perner S, Mosquera JM, Demichelis F et al (2007) *TMPRSS2-ERG* fusion prostate cancer: an early molecular event associated with invasion. *Am J Surg Pathol* 31(6):882–888

9. Mosquera JM, Perner S, Genega EM et al (2008) Characterization of *TMPRSS2-ERG* fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. *Clin Cancer Res* 14(11):3380–3385
10. Cerveira N, Ribeiro FR, Peixoto A et al (2006) *TMPRSS2-ERG* gene fusion causing *ERG* overexpression precedes chromosome copy number changes in prostate carcinomas and paired HGPIN lesions. *Neoplasia* 8(10):826–832
11. Barry M, Perner S, Demichelis F et al (2007) *TMPRSS2-ERG* fusion heterogeneity in multifocal prostate cancer: clinical and biologic implications. *Urology* 70(4):630–633
12. Perner S, Svensson MA, Hossain RR et al (2009) *ERG* rearrangement metastasis patterns in locally advanced prostate cancer. *Urology* 75(4):762–767
13. Scheble VJ, Braun M, Wilbertz T et al (2010) *ERG* rearrangement is specific to prostate cancer and does not occur in any other common tumor. *Mod Pathol*
14. Scheble VJ, Braun M, Wilbertz T et al (2010) *ERG* rearrangement in small cell prostatic and lung cancer. *Histopathology* 56(7):937–943
15. Demichelis F, Fall K, Perner S et al (2007) *TMPRSS2:ERG* gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene* 26(31):4596–4599
16. Attard G, Clark J, Ambroisine L et al (2008) Duplication of the fusion of *TMPRSS2* to *ERG* sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene* 27(3):253–263
17. Setlur SR, Mertz KD, Hoshida Y et al (2008) Estrogen-dependent signaling in a molecularly distinct subclass of aggressive prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 100(11):815–825
18. Bonkhoff H, Fixemer T, Hunsicker I et al (2001) Progesterone receptor expression in human prostate cancer: correlation with tumor progression. *Prostate* 48(4):285–291
19. Cheng J, Lee EJ, Madison LD et al (2004) Expression of estrogen receptor beta in prostate carcinoma cells inhibits invasion and proliferation and triggers apoptosis. *FEBS Lett* 566(1–3):169–172
20. Soda M, Choi YL, Enomoto M et al (2007) Identification of the transforming *EML4-ALK* fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 448(7153):561–566
21. Rikova K, Guo A, Zeng Q et al (2007) Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell* 131(6):1190–1203
22. Perner S, Wagner PL, Demichelis F et al (2008) *EML4-ALK* fusion lung cancer: a rare acquired event. *Neoplasia* 10(3):298–302