

AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR UROLOGIE  
PROF. DR. MED. WOLF F. WIELAND  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

Auswirkung der TMPRSS2:ERG Genfusion sowie  
Einfluß der Mutation des Tumorsuppressorgens PTEN auf das  
klinische Outcome und die Pathologie des Prostatakarzinoms.

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnmedizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Silvia Ophoff

2011



AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR UROLOGIE  
PROF. DR. MED. WOLF F. WIELAND  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

Auswirkung der TMPRSS2:ERG Genfusion sowie  
Einfluß der Mutation des Tumorsuppressorgens PTEN auf das  
klinische Outcome und die Pathologie des Prostatakarzinoms.

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Zahnmedizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Silvia Ophoff

2011

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter: PD Dr. Maximilian Burger

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Peter Proff

Tag der mündlichen Prüfung: 07.07.2011

Gewidmet meinen Eltern Roswitha und Walter Winklmeier

## Inhaltsverzeichnis

Auswirkung der TMPRSS2:ERG Genfusion sowie Einfluß der Mutation des Tumorsuppressorgens PTEN auf das klinische Outcome und die Pathologie des Prostatakarzinoms	1
1. Einleitung	7
1.1 Embryogenese der Prostata	7
1.2 Anatomie der Prostata	7
1.3 Physiologie der Prostata	8
1.4 Historischer Abriß	8
1.5 Pathologie der Prostata	9
1.5.1 Einteilung der Prostatakarzinome	9
1.5.2 Äthiologie, Inzidenz und Prävalenz des Prostata-CA	10
1.5.3 Diagnostik	12
1.5.4 Staging und Grading	12
1.6 Therapiemöglichkeiten	17
1.6.1 Radikale Prostatektomie	18
1.6.2 Hormontherapie	19
1.6.3 Beidseitige subkapsuläre Orchiektomie	19
1.6.4 LHRH-Analoga	19
1.6.5 Antiandrogene	20
1.6.5.1 Cyproteronacetat	20
1.6.5.2 Nichtsteroidale Antiandrogene	20
1.6.5.3 Östrogene	20
1.6.5.4 Estramustinphosphat	20
1.6.5.5 Chemotherapeutika	21
1.6.6 Strahlentherapie	21
1.6.6.1 Externe Strahlentherapie	21
1.6.6.2 Interstitielle Strahlentherapie	21
1.7 Prognose und Auswirkung auf die Lebenserwartung	22
1.8 Allgemeine Molekularbiologie und Genetik	23
1.9 Molekularbiologie des Prostatakarzinoms	25

1.9.1	TMPRSS2	26
1.9.2	ETS-Gene	26
1.9.3	PTEN-Gen	27
2.	Fragestellung und Zielsetzung	29
3.	Material und Methoden	30
3.1	Patientenkollektiv	30
3.1.1	Patientenkollektiv allgemein	30
3.1.2	Stadieneinteilung des Patientenkollektivs	31
3.2	Tissue-Microarrays	33
3.2.1	Herstellung der Tissue-Microarrays	33
3.3	Analyseverfahren	34
3.3.1	Immunhistochemie	34
3.3.2	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung	35
3.4	Statistisches Auswertungsverfahren	39
4.	Ergebnisse	40
4.1	Analyse des Chromosoms 21 und dessen Aberrationen	40
4.1.1	Verteilung der strukturellen und numerischen Aberrationen	40
4.1.2	Verteilung der Aberrationen im Hinblick auf das klinische Erscheinungsbild	41
4.1.2.1	Strukturelle Aberrationen	41
4.1.2.2	Numerische Aberrationen	42
4.2	Analyse des PTEN durch IHC in Bezug zur strukturellen Aberration am Chromosom 21	43
4.2.1	PTEN des Zytoplasmas in Bezug zur T oder T+D bei Chromosom 21	43
4.2.2	PTEN des Zellkerns in Bezug zur T oder T+D bei Chromosom 21	44
4.3	Klinische und pathologische Eigenschaften im Hinblick auf strukturelle und numerische Aberrationen des Chromosoms 21 in Verbindung mit der Mutation von PTEN	45
4.4	Einfluß der chromosomalen Veränderungen auf die rezidivfreie	

Überlebenszeit	49
4.5 Einfluß der chromosomalen Veränderungen auf die Gesamtüberlebenszeit	51
5. Diskussion	53
6. Zusammenfassung und Aussicht	59
7. Abkürzungsverzeichnis	60
8. Literaturverzeichnis	62
9. Danksagung	73
10. Lebenslauf	74

## **1. Einleitung**

### 1.1 Embryogenese der Prostata

Die Entwicklung des prostatistischen Gewebes erfolgt ab der 12. Schwangerschaftswoche durch Einfluß von 5- $\alpha$ -Dihydro-Testosteron aus Mesenchym, welches den Sinus urogenitalis umgibt. Das Gewicht der Prostata beträgt zum Zeitpunkt der Geburt etwa 2 g, wächst während der Pubertät und wiegt im Alter zwischen 20 und 40 Jahren etwa 20 g. Im höheren Alter ist ein Gewicht von 40 g normal.

### 1.2 Anatomie der Prostata

Die Prostata, auch Vorsteherdrüse genannt, hat in etwa die Form und die Größe einer Esskastanie. Sie grenzt nach oben an die Harnblase, nach kaudal an das Diaphragma urogenitale, nach ventral an die Symphyse und nach dorsal an die Rektumampulle; letzteres ermöglicht eine Palpation zur Beurteilung von evtl. pathologischen Veränderungen. Die Prostata besteht aus 30-50 tubuloalveolären Einzeldrüsen, umgeben von glatten Muskelzellen und Bindegewebe. Die Prostata wird klinisch unterschiedlich eingeteilt: zum einen in vier Zonen, eine Transitionalzone, eine anteriore Zone, eine periphere Zone (70% der Prostatakarzinome entstehen hier) und eine zentrale Zone, und zum anderen wird sie von anderen Autoren in drei Zonen, die Übergangszone, die periphere Zone und die zentrale Zone, aufgeteilt. Anatomisch unterteilt man sie in einen Lobus dexter, einen Lobus sinister und einen Lobus medius und funktionell in eine Innendrüse und eine Außendrüse. Die Drüse selbst ist von Bindegewebe und glatter Muskulatur umgeben, welche die Organkapsel darstellen.

### 1.3 Physiologie der Prostata

Die Prostata sondert ein dünnflüssiges, milchiges Sekret (pH 6,4 – 6,8), welches Phosphatasen und Spermin (biogenes Amin zur Zellproliferation) enthält, ab. Es ist Hauptbestandteil (60-70 Vol.%) des Ejakulates und wirkt auf die Spermien bewegungsauslösend.

### 1.4 Historischer Abriß

Der Nachweis des ältesten bekannten Prostatakarzinoms ist Forschern der Universität Göttingen gelungen. Anhand von typischen Knochenveränderungen in einem Skelett eines Skythen-Fürsten (in Sibirien), welches 2700 Jahre alt ist, konnte ein metastasiertes Prostatakarzinom nachgewiesen werden [33].

Die Prostata selbst wurde bereits 1536 von dem Anatom Niccolo Massa beschrieben und 1538 von Andreas Vesalius illustriert. Jedoch war das Prostatakarzinom bis 1853 unbekannt [1]. Es galt wegen der schlechten diagnostischen Möglichkeiten und der im Allgemeinen eher niedrigeren Lebenserwartung als seltene Erkrankung.

1904 führte Hugh Young im Johns Hopkins Hospital die erste radikale Prostatektomie durch [110].

Charles Brenton Huggins behandelte inoperable Prostatakarzinome, indem er die Testosteron-Produktion mittels Östrogen hemmte; 1941 veröffentlichte er seine Studienergebnisse. Für die Entdeckung der „chemischen Kastration mittels Östrogenen“ erhielt er 1966 den Nobelpreis [27].

Die Strahlentherapie (mit Radium-Implantaten) wurde Anfang des 20. Jahrhunderts entwickelt und durch die perkutane Bestrahlung etwa Mitte des letzten Jahrhunderts erweitert.

1983 wurde von Patrick C. Walsh die radikale retropubische Prostatektomie entwickelt und die Brachytherapie erstmals beschrieben.

## 1.5 Pathologie der Prostata

Die Palette der Erkrankungen, welche die Prostata befallen können, reicht von der Prostatitis über die benigne Prostatahyperplasie (BPH) bis hin zum Prostatakarzinom. Die Erkrankungen, besonders im Hinblick auf das Prostatakarzinom, zeigen anfänglich keinerlei Beschwerden. Meistens tauchen diese erst auf, wenn z. B. durch den Tumor angrenzende Strukturen in Mitleidenschaft gezogen werden.

### 1.5.1 Einteilung der Prostatakarzinome

Als Carcinoma in situ wird das Übergangsstadium zum manifesten Krebs bezeichnet. Im Fall des Prostatakarzinoms spricht man in der peripheren Zone von der prostatistischen intraepithelialen Neoplasie (PIN) und in der Übergangszone, die jedoch seltener ein Karzinom entwickelt, von der sog. atypischen glandulären Hyperplasie.

Das manifeste Prostatakarzinom ist eine der häufigsten Tumorerkrankungen bei Männern über dem 40. Lebensjahr. Unter dem inzidentellen Prostatakarzinom versteht man ein Karzinom, welches bei der Behandlung einer BPH in ca. 3-5% durch den Pathologen bei der Untersuchung von Operationsmaterial diagnostiziert wird. Ein latentes Prostatakarzinom war vorher nicht bekannt und wird erst bei der Autopsie diagnostiziert. Beim okkulten Prostatakarzinom erfolgt die Manifestation durch Metastasen, wobei der rektale Befund unauffällig war.

Der überwiegende Anteil (nämlich 97%) der Prostatatumoren sind Adenokarzinome, welche sich aufgrund des Wachstumsmusters in glanduläre bzw. azinäre, kribriforme und solide einteilen lassen. Ein kleiner Anteil (weniger als 3%) der Prostatakarzinome sind urothelialer Herkunft; auch Sarkome (Leiomyosarkom, Fibrosarkom, Rhabdomyosarkom) des Stromas sind sehr selten.

### 1.5.2 Ätiologie, Inzidenz und Prävalenz der Prostatakarzinome

Es ist leider noch nicht geklärt, wodurch das Prostatakarzinom entsteht.

Diskutiert wird eine genetische Disposition, da festgestellt wurde, dass ein Mann ein doppelt so hohes Erkrankungsrisiko hat, wenn bereits ein Verwandter 1. Grades (also Vater oder Bruder) an einem Prostatakarzinom erkrankt ist [93].

Aber nicht nur die genetische Komponente ist entscheidend, wie ein Vergleich der Rassen und der Migration zeigt. Während die Inzidenz des Prostatakarzinoms der Japaner bei 12 von 100 000 Einwohnern liegt, die von US-Bürgern bei 120 (Weiße) bzw. 200 (Farbige) und in Deutschland bei 100 von 100 000, zeigt sich, dass, wenn Japaner in die USA (Kalifornien) ziehen, sich ihr Risiko, an einem Prostatakarzinom zu erkranken, steigert [47]. Grund dafür ist wahrscheinlich die Umstellung der Ernährung. So wies eine prospektive Studie darauf hin, dass der Verzehr von rotem Fleisch das Risiko, an einem metastasierenden Prostatakarzinom zu erkranken, um 60% erhöhte [56]. Aber evtl. spielt nicht nur die Menge an Fleisch, sondern auch die Zubereitung für die Karzinomentstehung eine Rolle. Denn beim Braten, Schmoren und Grillen entstehen heterozyklische Amine und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, die wiederum als klassische Kanzerogene gelten. Die kontroversen Zusammenhänge erklären nicht immer, wie und in welcher Dosis verschiedene Komponenten zusammen welche Wirkung ergeben. Beim Verzehr von Milchprodukten nimmt man Calcium und Proteine vermehrt zu sich. Calciummengen von über 2g/Tag erhöhen das Prostatakarzinomrisiko um das mindestens 2,5-fache [18]. Der Grund dafür ist vermutlich, dass die hohe Calciumzufuhr zu einem verminderten Vitamin-D3-Spiegel führt. Interessant ist auch die Beobachtung eines Nord-Süd-Gefälles der Erkrankung. Eine Erklärung wäre die Sonnenintensität, mit der die körpereigene Vitamin-D-Produktion der Haut korreliert [54].

Auch Selenmangel kann zu einem Prostatakarzinom führen. Selen wirkt antioxidativ, verbessert die Zellproliferation durch Bremsung des Zellzyklus

und verbessert die Immunfunktion. Lycopene senken das Risiko, an einem Karzinom zu erkranken; Beta-Carotin und Vitamin-E-Mangel erhöhen das Risiko für ein Prostatakarzinom. Es konnte nicht nachgewiesen werden, dass ein pathologisch veränderter Sexualhormonspiegel zur Bildung eines Prostatakarzinoms führt; jedoch muß ein ausreichend hoher Androgenspiegel vorhanden sein, damit sich das Karzinom weiter entwickelt [2].

Die Inzidenzrate in Europa liegt bei ca. 110/100000 Männern mit neu diagnostizierten Prostatakarzinomen/Jahr; d. h. für 2006 wurden ca. 60 000 Neuerkrankungen registriert bei 11 577 Sterbefällen; dies entspricht einer stand. Sterberate (Europa) von 21,2 % [81].

Wie in Tabelle 1 dargestellt, zeigt sich ein deutlicher Anstieg der Neuerkrankungen in Deutschland innerhalb von 25 Jahren [81].

Der Anstieg der Inzidenz liegt vermutlich an den besseren diagnostischen Möglichkeiten (z. B. der Bestimmung des PSA-Wertes).

Tabelle 1:

<u>Jahr</u>	<u>1980</u>	<u>1985</u>	<u>1990</u>	<u>1995</u>	<u>2000</u>	<u>2005</u>
Jährliche Neuerkrankungsrate in Deutschland pro 100 000	55	69	83	94	105	111

Die jährliche Mortalität in Deutschland liegt bei ca. 12000 Sterbefällen/ Jahr aufgrund eines Prostatakarzinoms. Tabelle 2 zeigt die Altersverteilung der Sterbefälle [91].

Tabelle 2:

<u>Alter</u>	<u>35- 40</u>	<u>40- 45</u>	<u>45- 50</u>	<u>50- 55</u>	<u>55- 60</u>	<u>60- 65</u>	<u>65- 70</u>	<u>70- 75</u>	<u>75- 80</u>	<u>80- 85</u>	<u>85- 90</u>	<u>ab 90</u>
Anzahl	2	6	20	82	261	545	1450	1961	2536	2626	1852	793

### 1.5.3 Diagnostik

Es ist sinnvoll, ab dem 50. LJ regelmäßig zur Krebsvorsorgeuntersuchung zu gehen. Die Untersuchungsmethode der Wahl, welche auch von der Krankenkasse übernommen wird, ist die DRU (digital-rektale Untersuchung). Durch die transrektale Sonographie können suspekte Befunde kontrolliert werden und auffällige Areale mittels ultraschallgesteuerter Stanzbiopsie (mind. 6 Stanzbiopsien transrektal oder perineal) gesichert werden. Bei der Computertomographie ist nur eine Darstellung von Lymphknoten möglich, die massiv vergrößert sind. Die Skelettszintigraphie ist sinnvoll, um Knochenmetastasen – welche die häufigsten Fernmetastasen beim Prostatakarzinom sind - sichtbar zu machen. Ein weiterer Parameter für die Diagnostik ist der PSA-Wert, welcher nicht nur bei der Diagnose sondern auch bei der Verlaufkontrolle des Prostatakarzinoms eine wichtige Rolle spielt. Hier ist allerdings zu erwähnen, dass ein erhöhter PSA-Wert auch durch eine Prostatitis oder ein großes Adenom verursacht werden kann. Auch ist es möglich, dass ein Karzinom PSA-negativ ist; diese anaplastischen Tumoren sind nicht mehr in der Lage, das prostataspezifische Antigen zu synthetisieren. PSA (Prostata-spezifisches Antigen) ist ein Glykoprotein, das in der Prostata gebildet wird und der Sperma-Verflüssigung dient. Der PSA-Wert ist organspezifisch und nicht tumorspezifisch und somit für die Früherkennungsuntersuchung nur eingeschränkt aussagekräftig, während er bei der Verlaufkontrolle eines bereits bestehenden Karzinoms durchaus von großem Wert ist.

### 1.5.4 Staging und Grading

#### Grading

Die Einordnung des Malignitätsgrades von Tumorgewebe durch den Pathologen wird als Grading bezeichnet. Es gibt verschiedene Grading-Schemata, von welchen das Grading nach Gleason und das Grading nach Mostofi zu den gebräuchlichsten gehören. Wichtig bei Gradingssystemen ist

die Reproduzierbarkeit zum einen durch den gleichen Untersucher und zum anderen durch andere Untersucher. Dabei zeigte sich das Gleason-Gradingssystem mit einer Reproduzierbarkeit von fast 80% (durch einen Untersucher) und 90% (durch mehrere Untersucher) dem Mostofi-Gradingssystem, welches jeweils ca. 10% unterhalb dieser Werte liegt, überlegen.

### Grading nach Mostofi (Harada et al. 1977)

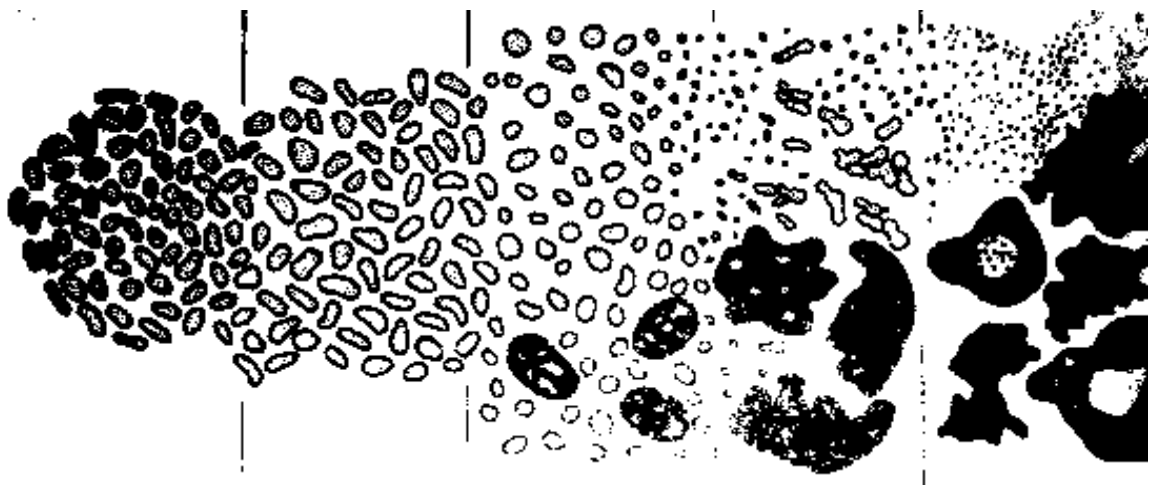
Aus der Architektur und dem Kernbild kombiniertes Grading:

I: Hoch differenziertes Adenokarzinom, leichte nukleäre Anaplasie

II: Adenokarzinom mit mässiger nukleärer Anaplasie

III: Adenokarzinome mit ausgeprägter nukleärer Anaplasie oder undifferenzierte, diffuse Karzinome ohne erkennbare Drüsenbildung

### Grading nach Gleason ( Glason et al. 1974)



Wachstumsmuster	1	2	3	4	5
Drüsenform	einzel,	einzel,	einzel,	verschmolzene	einige winzige

	rund	gerundet, variabler als Muster 1	unregelmäßig oder papilläres o. kribriiformes Epithel	glanduläre Massen o. "hypernephroid"	Drüsen o. Siegelringzellen oder wenige kleine Lumina in solidem Epithel, zentrale Nekrose
Drüsengröße	mittel	mittel	klein, mittel, groß mittel o. groß	klein	klein  klein
Drüsenabstand	dicht gepackt	bis zu 1 Drüsendurch- messer (DD) Voneinander getrennt	mehr als 1 DD voneinander entfernt  rundliche Massen mit glattem, scharfen Rand	verschmolzen	anaplastische Epithelmasse  rundliche Massen u. Stränge mit glatten, scharfen Rändern
Herdgrenze	scharf	weniger scharf	schwer erkennbar  schwer erkennbar	unscharf infiltrierend	unscharf infiltrierend  schwer erkennbar
Stromainvasion	minimal	mild	mäßig  ausgedehnt	stark	sehr stark  ausgedehnt

Taschenlehrbuch Urologie Thieme 2007

Beim Gleason–Grading werden die beiden quantitativ vorherrschenden Komponenten zusammengezählt und dieser Wert (der sog. Gleason–Grade),

der zwischen 2 und 10 liegt, liefert für die Prognose eine wertvolle Aussage: Je niedriger der Wert nämlich ist, desto höher ist die Überlebensrate bzw. besser ist die Prognose für den Verlauf.

### G Histopathologisches Grading

GX keine Beurteilung möglich

G1 hochdifferenziert

G2 mäßig differenziert

G3 schlecht differenziert

G4 undifferenziert

### Übersetzung Histopathologisches Grading – Gleasonsystem

G1 = Gleason 2 - 4

G2 = Gleason 5 - 6

G3 – G4 = Gleason 7 – 10

### Staging

Aber nicht nur das Grading, welches vom Pathologen durchgeführt wird, sondern auch das Staging ist für die Prognose wichtig. Das Staging erfolgt anhand des UICC–Schemas:

### T Primärtumor

TX Keine Beurteilung möglich

T0 Kein Primärtumor

T1 Klinisch nicht erkennbarer Befund

T1a Zufälliger histologischer Befund (incidental carcinoma) in weniger als oder 5% des Resektates

- T1b Zufälliger histologischer Befund (incidental carcinoma) in mehr als  
oder 5% des Resektates
- T1c Tumordiagnose durch Prostatabiopsie (z. B. bei PSA – Erhöhung)
- T2 Tumor auf die Prostata begrenzt.
- T2a Tumorbefall der Hälfte eines Prostatalappens oder weniger
- T2b Tumorbefall von mehr als der Hälfte eines Lappens, aber einseitig.
- T2c Tumorbefall beider Seitenlappen.
  
- T3 Tumorausbreitung durch die Prostatakapsel in extrakapsuläres  
Gewebe.
- T3a Einseitig extrakapsuläre Ausbreitung.
- T3b Beidseitig extrakapsuläre Ausbreitung.
- T3c Samenblaseninfiltration (ein- oder beidseitig).
  
- T4 Tumor ist fixiert oder infiltriert benachbarte Strukturen, außer  
Samenblase
- T4a Tumorinfiltration des Blasenhalses, Sphincter externus und/oder  
Rektums.
- T4b Tumorinfiltration des M. levator oder Fixation an der Beckenwand.

#### N    Regionäre Lymphknoten

- NX Keine Beurteilung möglich
- N0 Keine regionären Lymphknotenmetastasen
- N1 Solitäre Lymphknotenmetastase, kleiner als 2 cm im  
Durchmesser
- N2 Solitäre Lymphknotenmetastase zwischen 2 und 5 cm oder  
multiple Lymphknotenmetastasen kleiner als 5 cm im Durchmesser
- N3 Lymphknotenmetastasen, mehr als 5 cm im Durchmesser

## M Fernmetastasen

MX keine Beurteilung möglich

M0 keine Fernmetastasen

M1 Vorhandensein von Fernmetastasen

## Abgrenzungsränder

R0 = Tumor überschreitet Resektionsränder nicht

R1 = Tumor überschreitet Resektionsränder

## 1.6 Therapiemöglichkeiten

Die Wahl der jeweiligen Therapie ist von verschiedensten Faktoren abhängig: zum einen vom Alter und dem Gesundheitszustand des Patienten und zum anderen vom Stadium des Tumors und der Überlegung, ob man ihn palliativ bzw. kurativ behandeln möchte. Nicht zuletzt ist allerdings auch der Wunsch des Patienten entscheidend, da es bei den zur Verfügung stehenden Therapien nicht nur positive Effekte gibt, sondern auch Nebenwirkungen und Komplikationen, welche auf die Lebensqualität einen entscheidenden Einfluß haben.

Allgemein gilt, dass bei einem lokal begrenzten Prostatakarzinom und einer Lebenserwartung von mehr als 10 Jahren einer chirurgischen Therapie der Vorzug gegeben werden sollte. Bei älteren Patienten mit gut differenzierten Tumoren hat man die Möglichkeit, eine abwartende Haltung einzunehmen; andererseits ist eine weiter gefasste OP-Indikation wegen der gesunkenen Mortalität nach einer radikalen Prostatektomie sinnvoll. Bei latenten Prostatakarzinomen mit einem Tumolvolumen von weniger als 0,5 ml ist eine Therapie nicht zwingend. Standardtherapie bei Karzinomen mit Lymphknotenbefall ist die Hormontherapie. Allerdings zeigte sich eine niedrigere Progressionsrate, wenn man die radikale Prostatektomie mit einer Hormontherapie kombinierte. Zu den Therapiemöglichkeiten im Einzelnen zählen:

### 1.6.1 Radikale Prostatektomie

#### Radikale retropubische Prostatektomie (RRP)

Die RRP ist heute am weitesten verbreitet. Sie erlaubt die Durchführung einer pelvinen Lymphadenektomie; hierbei ist die Schonung der Nervi erigentes eher möglich. Bezüglich der Tumorkontrolle hat der retropubische Zugang allerdings keinen Vorteil gegenüber dem perinealen Zugang.

#### Radikale perineale Prostatektomie (RPP)

Dieses ursprüngliche Verfahren über einen perinealen Zugang ist im Moment das zweithäufigste Verfahren. Die postoperative Rekonvaleszenz ist rascher und der intraoperative Blutverlust geringer im Vergleich zum retropubischen Zugang. Ein Nachteil ist, dass ein zweiter Eingriff zur laparoskopischen pelvinen Lymphadenektomie nötig wird.

#### Laparoskopische radikale Prostatektomie

Hierbei handelt es sich um ein „minimal-invasives“ Verfahren, das allerdings meist eine höhere Rate positiver Resektionsränder aufweist.

#### Roboter-assistierte radikale Prostatektomie

Der Vorteil bei dieser Technik ist die bessere Sicht und eine gute Beweglichkeit der Instrumente; jedoch kann dieses Verfahren nicht an allen Kliniken angeboten werden, da die Anschaffung und der Unterhalt der Instrumente sehr kostspielig ist.

Es wird neben der Prostatektomie auch eine Lymphadenektomie durchgeführt, auf die jedoch evtl. unter bestimmten Umständen, z. B. bei einem PSA-Wert unter 10 ng/ml und einem Gleason-Score unter 4 in der Biopsie, verzichtet werden kann, da hier die Wahrscheinlichkeit von Lymphknotenmetastasen nicht sehr groß ist. Auch wird versucht, den sog. Sentinel-Lymphknoten radioaktiv zu markieren und dann gezielt zu entfernen. Die Samenblase zeigt zu 6–26% eine Tumordinfiltration und wird

deshalb meist ebenso entfernt, außer bei Patienten mit einem geringen Risiko, da dann der Vorteil in der Schonung der kavernen Nerven besteht. Wie jedes Therapiemittel hat auch eine Operation nicht nur Vorteile, sondern bringt auch u. U. Komplikationen, die entweder intraoperativ, frühpostoperativ oder lange danach (Spätkomplikationen) auftreten. Hier sind zu erwähnen zum einen der Blutverlust, Rektumsverletzungen, Harninkontinenz, Lymphozelen, Thrombosen, Harninkontinenz, Urethrastrikturen, erektile Dysfunktion (in mehr als 50% der Fälle), postoperative Mortalität (weniger als 0,4 %; unabhängig von der Technik), Nachblutungen, Strikturen und Nebenhodenentzündungen (die allerdings selten sind).

#### 1.6.2 Hormontherapie

1941 hat Huggins dargelegt, dass die Funktion und die Entwicklung der Prostata sowie des Prostatakarzinoms von androgenen Substanzen abhängt. 80% der Prostatakarzinome sind hormonsensitiv, und dies ermöglicht wiederum eine Therapie auf diesem Wege. Jedoch hängt der Erfolg der Hormonbehandlung von der Intaktheit der zellulären Hormonrezeptoren und des zellulären Enzymsystems ab.

#### 1.6.3 Beidseitige subkapsuläre Orchiektomie (Hormonentzug mittels OP)

Das androgenproduzierende Hodengewebe wird ausgeschält, jedoch die Hodenhülle und der Nebenhoden belassen. Dies hat die Folge, dass der Testosteronspiegel auf ein Niveau von 10 % des Normalwertes sinkt. Schwierigkeiten entstehen allerdings bei der intermittierenden Therapie.

#### 1.6.4 GnRH–Analoga bzw. LHRH–Analoga

GnRH–Analoga (Gonadotropin–Releasing–Hormon) bzw. LHRH–Analoga (luteinisierendes Hormon–Releasing Hormon) hemmen die hypophysären Gonadotropinrezeptoren und reduzieren indirekt die Produktion von Sexualhormonen in den Gonaden. Es kommt zu einem Abfall des Testosteronspiegels in den Kastrationsbereich. Der Nachteil besteht darin,

dass es initial zu einem Anstieg des Testosteronspiegels kommt. Deshalb sollten in den ersten Wochen zusätzlich Antiandrogene verabreicht werden.

### 1.6.5 Antiandrogene

#### 1.6.5.1 Cyproteronacetat

Cyproteronacetat hat sowohl eine antiandrogene als auch eine antigonadotrope Wirkung. Es hemmt die Testosteronbildung in den Leydig-Zellen der Hoden, senkt auf zellulärer Ebene den Dihydrotestosteronspiegel und greift in den Rückkopplungsmechanismus der Hypothalamus–Hypophysen–Gonadenachse ein. Es hat im Gegensatz zu den nichtsteroidalen Antiandrogeneren neben der direkten antiandrogenen Wirkung eine Senkung des Testosteron–Serum–Spiegels zur Folge. Eine besondere Nebenwirkung stellen gastrointestinale Beschwerden dar.

#### 1.6.5.2 Nichtsteroidale Antiandrogene

Nichtsteroidale Antiandrogene hemmen die Bindung von Testosteron oder Dihydrotestosteron bzw. die Aufnahme von Testosteron an den sog. Androgenrezeptoren in der Zelle. Der Testosteron–Serum–Spiegel wird nicht gesenkt. Die obligate Nebenwirkung jeder Antiandrogenbehandlung, nämlich die erektile Dysfunktion, tritt hier nicht ein.

#### 1.6.5.3 Östrogene

Die Wirkung der Östrogene besteht in der Rückkopplungshemmung der Hypophysensekretion auf das Luteinisierungshormon. Jedoch werden die Östrogene wegen der kardiovaskulären Komplikationen nicht in der Dauertherapie verwendet.

#### 1.6.5.4 Estramustinphosphat

Estramustinphosphat besteht aus einer Kombination aus Östrogen und einem Zytostatikum und wird bei der Behandlung eines fortgeschrittenen Prostatakarzinoms verwendet.

#### 1.6.5.5 Chemotherapeutika

Sie sind aufgrund der Nebenwirkungen erst im sekundären Stadium (bei Therapieversagern) anzuwenden.

#### 1.6.6 Strahlentherapie

##### 1.6.6.1 Externe Strahlentherapie

Die Indikation sind lokal fortgeschrittene Karzinome, welche die Organgrenzen überschritten, aber noch nicht zu Lymphknoten- oder Fernmetastasen geführt haben. Zu den Nebenwirkungen zählen die erektile Dysfunktion, Blasenfunktionsstörung, entzündliche Reaktionen der Blasen – und Rektumsschleimhaut.

##### 1.6.6.2 Interstitielle Strahlentherapie

###### Low-dose-Brachytherapie

Es werden kleine Strahlenkörper mittels Ultraschallsteuerung in die Prostata appliziert, die dann dort dauerhaft verbleiben. Dieses Verfahren ist Mittel der Wahl bei kleinen Karzinomen, einem PSA-Wert kleiner als 10 und einem niedrigen Gleason-Score.

###### High-dose-Brachytherapie

Bei dieser Methode werden radioaktive Nadeln für Minuten in die Prostata eingeführt; dann wird die Strahlendosis durch eine perkutane Behandlung vervollständigt. Dieses Verfahren findet bei T3-Prostatakarzinomen Anwendung.

Ob eine Strahlentherapie kurativ oder nur adjuvant ist, hängt vom Tumorstadium ab. Während frühe Stadien heilbar sind, ist bei lokal fortgeschrittenen Tumoren und positiven Abgrenzungsrändern eine palliative Senkung der Lokalrezidive das Ziel.

### 1.7 Prognose und Auswirkung auf die Lebenserwartung

Die Prognose ist von den unterschiedlichsten Faktoren abhängig: einerseits von der Komorbidität des Patienten, andererseits vom präoperativen PSA-Wert, dem T-Stadium, dem Gleason-Score, welcher der Heterogenität des Tumors besonders gerecht wird, dem R-Status (wichtig ist hier die Lokalisation des positiven Abgrenzungsrandes) und von der Frage, ob Lymphknoten befallen oder Fernmetastasen aufgetreten sind. Auch die weitere PSA-Wert-Erhöhung ist für die Prognose interessant. Zudem ist die Art des Prostatakarzinoms entscheidend, denn es macht einen großen Unterschied, ob es sich um ein Adenokarzinom der Prostata oder eines der seltenen neuroendokrinen oder kleinzelligen Prostatakarzinome handelt, welche eine viel schlechtere Prognose haben.

Betrachtet man die Differenzierung, zeigte sich, dass die 5-Jahres-Überlebensquote bei G1 (Gleason 2 - 4) 93%, bei G2 (Gleason 5 – 6) 84% und G3 (Gleason 7 – 10) 51% betrug und die 10 Jahres-Überlebensquote 81%, 58% und 26% [102].

War der Tumor auf die Drüse begrenzt, dann lag die Überlebensquote bei 80 – 99% [76], bei gestreuten Tumoren allerdings nur noch bei 35% [3].

Die 1. Partin-Tabelle wurde 1997 von den Urologen Dr. Alan W. Partin und Dr. Patrick C. Walsh (Baltimore, USA) entwickelt. Mittlerweile ist diese Tabelle überarbeitet, aktualisiert und erweitert worden. Sie sollen den Patienten und ihren behandelnden Ärzten dabei helfen, den definitiven pathologischen Zustand vorherzusagen und somit auch die weitere Behandlung besser abzustimmen [72].

Aber nicht nur die Ausgangssituation des Tumors, sondern auch die drauffolgende Therapie war für die Prognose wichtig. So erwies sich das Watchfull waiting gerade bei jüngeren Patienten (<65 Jahre) als nicht sinnvoll [99]. Wurde ein Prostatakarzinom in einem frühen Stadium erkannt und mittels Operation vollständig entfernt, dann lag die Langzeitheilungswahrscheinlichkeit bei etwa 90%, wohingegen die Wahrscheinlichkeit auf Langzeitheilung bei einem Karzinom, welches die Kapsel durchbrochen hat, nur noch bei 50% lag [6].

## 1.8 Allgemeine Molekularbiologie und Genetik

Chromosome sind hochgradig strukturiert und bestehen aus zwei Chromatiden, welche über ein Zentromer miteinander verbunden sind und durch dieses in zwei Teile unterteilt werden. Der lange Arm wird als q-Arm bezeichnet und der kurze Arm als p-Arm. Der Chromosomensatz des Menschen besteht aus 46 Chromosomen; d. h. ein Mann hat 44 Autosomen und ein X- sowie ein Y-Chromosom (Karyotyp 46, XY), während eine Frau 44 Autosomen und zwei X-Chromosome (Karyotyp 46, XX) besitzt.

Chromosomenaberrationen können sehr komplex sein, dennoch werden sie grundsätzlich in nur zwei Gruppen unterteilt:

Zum einen in numerische Veränderungen – auch Aneuploidien genannt – die sich dadurch auszeichnen, dass anstatt der im normalen Karyotyp vorhandenen Disomie ein Chromosom nicht zweifach vorliegt, sondern entweder dreifach oder nur einfach. Bekannte Beispiele sind das Down-Syndrom (Trisomie 21, das Chromosom 21 ist hier dreimal vorhanden), das Patau-Syndrom (Trisomie 13), das Edwards-Syndrom (Trisomie 18), das Ullrich-Turner-Syndrom (Karyotyp 45, X) und das Klinefelter-Syndrom (Karyotyp 47, XXY). Es ist allerdings auch möglich, dass der komplette Chromosomensatz drei- bzw. vierfach vorliegt; in diesen Fällen spricht man dann von Triploidie bzw. Tetraploidie.

Zum anderen gibt es neben den numerischen Veränderungen auch strukturelle Aberrationen, wie z. B. die Übertragung eines Chromosomenabschnittes auf ein anderes Chromosom (Translokation), die Drehung eines Chromosomenstückes um 180° (Inversion), die Verdopplung eines Chromosomenstückes (Duplikation) oder der Verlust eines Chromosomenabschnittes (Deletion). Diese Strukturveränderungen können durch die Erstellung eines Karyogramms aufgedeckt werden.

Die Analyse der Chromosomen erfolgt mittels Trypsin-Giemsa-Färbung (G-bands by trypsin using Giemsa, GTG). Durch den Vergleich der Abfolge von Bändern, welche für jedes Chromosom spezifisch ist, lassen sich Veränderungen in der Struktur ermitteln.

Mit der konventionellen Chromosomenanalyse ist es allerdings nicht oder nur schwer möglich, den Austausch gleich großer oder sehr kleiner Chromosomenabschnitte nachzuweisen; auch die Insertion kleiner Teilstücke eines Chromosoms in ein anderes ist ebenso schwer nachzuweisen.

Änderungen bzw. Störungen in einem einzelnen Gen, dessen Verlust oder auch nur der Verlust eines Genabschnittes lassen sich mittels Chromosomenanalyse nicht erkennen.

Tumoren stellen nach derzeitigem Wissensstand häufig das Ergebnis genetischer Veränderungen dar. Diese führen zu Störungen grundlegender zellulärer Prozesse, besonders im Bereich der Zellteilungsregulation.

Wandelt sich eine normale Zelle in eine Tumorzelle um, sind genetische Elemente betroffen, die die Proliferation, die Apoptose sowie das Zellwachstum kontrollieren.

Die Gene, welche an der Tumorentstehung beteiligt sind, lassen sich in zwei Gruppen einteilen:

- Einerseits die (Proto-) Onkogene, welche für Proteine in Signaltransduktionswegen kodieren. Werden sie aktiviert, dann wird die Zellproliferation angeregt. Zu den (Proto-) Onkogenen gehören die Wachstumsfaktoren (z.B. sis, hst), membrangebundene G-Proteine (z.B. Ras, LCK), Rezeptor-Tyrosin-Proteinkinasen (EGFR, HER-2/neu, bcr/abl) und Gene für Cyclin-D-verwandte Proteine, die den Zellzyklus regulieren. Es stellt sich die Frage, warum es bei (Proto-) Onkogenen zu einem Funktionsgewinn kommt. Mögliche Ursachen sind eine Mutation in einer regulatorischen, im Normalfall inhibitorischen Domäne oder deren Verlust. Aber auch durch die Kombination mit einer aktivierenden Domäne via Translokation kann es zum Funktionsgewinn kommen oder durch eine Überexpression, bedingt durch die veränderte Transkriptionsaktivität oder die Amplifikation des Gens oder durch beides zusammen.
- Andererseits sind Tumorsuppressorgene an der Tumorentstehung beteiligt. Sie kodieren normalerweise für Produkte, die die Zellproliferation inhibieren. Führt eine Mutation oder ein Genverlust, Deletionen, Rekombinationen oder Genkonversionen zum Funktionsausfall, dann

begünstigt dies wiederum eine unkontrollierte Zellteilung. Entscheidend ist jedoch, dass ein intaktes Allel die regulatorische Funktion aufrechterhalten kann und folglich nur der Funktionsverlust beider Allele einer Zelle phänotypisch relevant wird.

### 1.9 Molekularbiologie des Prostatakarzinoms

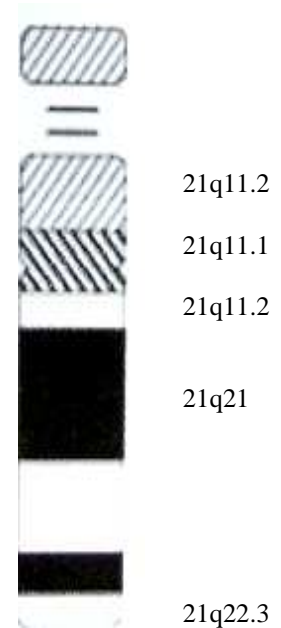
Aufgrund der Heterogenität des Prostatakarzinoms, der Tatsache, daß es sich mit 26% um die häufigste Krebserkrankung bei Männern und die zweit häufigste Todesursache beim Mann handelt [81] und der noch immer nicht hinreichend geklärten Ätiologie – familiär oder durch Umwelteinflüsse erworben – ist es wichtig, in der Diagnose und auch in der Therapie neue Wege zu beschreiten. Dazu gehört auch, die Spezifität und die Sensitivität verschiedener Diagnoseverfahren zu verbessern. Wie bereits erwähnt, ist z. B. der PSA-Wert zwar spezifisch für das Prostatagewebe allerdings nicht für das Prostatakarzinom. Auch die ultraschallgesteuerte Stanzbiopsie zeigt nicht in jedem Fall das Ausmaß der Erkrankung, denn es kann u. U. vorkommen, dass ein PIN entdeckt wird, aber ein invasives Prostatakarzinom, welches kleiner bzw. am Rand ist, nicht erfasst wird. Zeigt die Biopsie eine PIN und eine atypische Prostata-drüse, dann stellt sich für die Therapie die Frage, wie schnell die Progression des Tumors verläuft bzw. wie radikal die Therapie eingeleitet werden muß.

Chromosomale Veränderungen im Sinne von Translokationen wurden bereits bei Leukämie, Sarkomen und Lymphomen nachgewiesen. Bekannt ist z. B. bei der chronisch myeloischen Leukämie die Translokation der Chromosome 9 und 22 („Philadelphia-Chromosom“). Hier fusionierten die Gene BCR und ABL1. Durch diese Erkenntnis konnte ein spezifischer Inhibitor des BCR-ABL1-Genfusionsproduktes entwickelt werden.

In jüngster Zeit konnte man mit Hilfe der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) nachweisen, dass bei 50% der Prostatakarzinome eine Fusion von TMPRSS2 mit dem ERG-Gen vorliegt.

### 1.9.1 TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2)

Das Gen TMPRSS2 ist für ein prostataspezifisches Transmembranprotein mit bisher noch nicht geklärt biologischer Wirkung kodiert. Es sitzt auf dem Chromosom 21 und wird von Androgenen reguliert. Dieses Protein befindet sich vornehmlich auf den Prostata-Basalzellen, wie in-situ-Hybridisierungsversuche gezeigt haben. Es fusioniert mit Genen der ETS-Gengruppe; und diese Genfusion, welche einen potentiellen Biomarker darstellt, scheint nachgeschaltet zu Veränderungen zu führen, welche das klinische Verhalten des Tumors beeinflussen. Man konnte diese Fusionsgene in Gewebeproben aus



**Chromosom 21**

Prostatakarzinomen und in Zelllinien nachweisen [97,98].

Bei der Untersuchung von Xenograftmodellen und

Gewebeproben, welche Androgenrezeptor-negativ waren, zeigte sich, dass diese Fusionsgene zwar da waren, aber nicht exprimiert wurden [24]. Weiter wird vermutet, dass die Aktivierung eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors, nämlich PAR2 (protease-activated receptor 2), zu den Eigenschaften von TMPRSS2 gehört. Dieser Rezeptor lässt die Kalziumkonzentration intrazellulär ansteigen. Es wird diskutiert, dass TMPRSS2 über die Aktivierung von PAR2 einen Beitrag zur Metastasierung leisten könnte [108].

### 1.9.2 ETS-Gene

Die ETS-Gene sind eine Gruppe Genen, die für Transkriptionsfaktoren kodieren. Zu ihnen gehören ERG (21q22.3), ETV1 (7p21.2) und ETV4 (17q21). Es werden immer neue Fusionspartner aus der ETS-Familie identifiziert. ERG ist ein Estrogen-reguliertes Gen, welches, wie auch das TMPRESS2-Gen, auf dem 21. Chromosom sitzt. Die TMPRSS2-ERG-Genfusion ist mittels FISH am zuverlässigsten nachzuweisen und gilt beim Prostatakarzinom als repräsentativer Marker für die ETS-Genfusion. ETV1 (7p21.2) und ETV4 (17q21), welche beide auf anderen Chromosomen liegen, sind die Gene, welche nicht so häufig mit TMPRSS2 fusionieren.

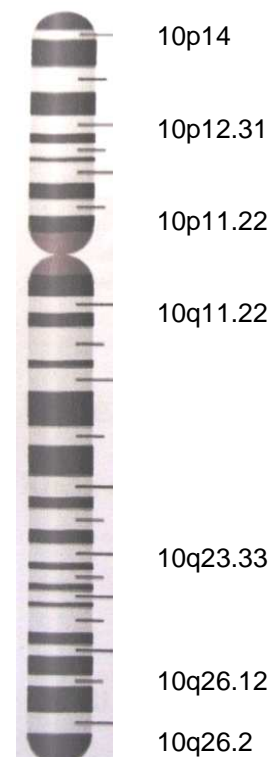
Dadurch, dass das Prostatakarzinom eine relativ hohe Inzidenz und Prävalenz hat und zudem ein wiederum relativ hoher Prozentsatz der Karzinome TMPRSS2-ETS-positiv ist, gehört diese Genfusion zu einer der am häufigsten vorkommenden Alterationen auf chromosomaler Ebene, die bei einer Neoplasie beim Menschen beschrieben wurden.

TMPRSS2-ERG-positive Karzinome zeigten eine spezifische Konstellation von morphologischen Eigenschaften, welche auch bei der unabhängigen Betrachtung von aggressiv verlaufenden Prostatakarzinomen zu beobachten waren. Zu ihnen gehören ein kribriformes Wachstumsmuster, Siegelringzellen, Makronukleolen, bläuliches Muzin und eine intraduktale Ausbreitung. Es waren auch ein deutlich aggressiverer Krankheitsverlauf und ein höheres Tumorstaging zu beobachten; ein Watchfull waiting erwies sich bei TMPRSS2-ERG-positiven Karzinomen als kontraindiziert.

Ziel ist es, mittels spezifischer Biomarker die bisherigen Diagnose- und Prognosemöglichkeiten zu optimieren, eine weitere, genauere Einteilung des Prostatakarzinoms in molekulare Untergruppen zu finden und zugleich attraktive therapeutische Möglichkeiten zu erschließen, um z. B. die Progression des Tumors zu verhindern. Inzwischen ist es möglich, das TMPRSS2-ERG-Fusionstranskript in Urinproben nach Prostatamassage nachzuweisen. Auch der Nachweis in zirkulierenden Prostatazellen und Prostatagewebe ist möglich.

### 1.9.3 PTEN-Gen

Zeitgleich wurde 1997 von zwei Arbeitsgruppen das PTEN-Gen entdeckt. Li et al. bezeichneten es als PTEN-Gen (Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosom TEN) und veröffentlichten diese Entdeckung im März 1997 unter obigem Namen. Steck et al. beschrieben das gleiche Gen im April 1997 unter dem Namen MMAC1 (Multated in Multiple Advanced



Chromosom 10

Cancers). Das PTEN-Gen ist für die Synthese der Lipidphosphatase PTEN verantwortlich. Sie besteht aus 403 Aminosäuren und spielt bei verschiedenen Signaltransduktionswegen eine Rolle, hauptsächlich im AKT-Kinase-Weg. Die Aktivität dieser Phosphatase wird im normalen Zellzustand durch TGF- $\beta$  unterdrückt, und so wird der Zelltod der Zelle verhindert. Zum Tumorsuppressor wird PTEN, wenn es nicht mehr unterdrückt wird und die Proliferation betroffener Zellen und die Metastasierung unterbindet. Eine Überexpression führt zur Apoptose in den meisten Krebszellen.

Kommt es zu einer Mutation des PTEN-Gens, dann führt diese zu Defekten beim PTEN-Enzym und damit u. U. zu einer unkontrollierten Zellvermehrung. Dies kann wiederum zur Entstehung einer Reihe von Erkrankungen und Tumoren führen [40].

Prostatatumoren - besonders im Spätstadium – weisen Deletionen des PTEN-Gens. In den frühen Stadien jedoch war das PTEN-Gen intakt, d. h. mit der initialen Prostatakarzinomentstehung konnte das PTEN-Gen nicht in Verbindung gebracht werden[40, 64, 92].

Bei den Prostatakarzinomen unterscheidet man androgenabhängige von androgenunabhängigen Karzinomen. Eine Erklärung könnte sein, dass die TMPRSS2-ERG-Fusion nicht nur durch Androgene, sondern auch durch Östrogene reguliert wird. Die TMPRSS2-Promotorregion kann stimuliert (durch den Östrogenrezeptor  $\alpha$ ) und gehemmt (durch den Östrogenrezeptor  $\beta$ ) werden. Die Möglichkeit des Ausschaltens der Genfusion stellt eine weitere therapeutische Option dar. Bei Patienten mit androgensensitiven Karzinomen ist die antiandrogene Therapie am sinnvollsten.

## **2. Fragestellung und Zielsetzung**

Ziel der folgenden Arbeit war es, die Auswirkung der TMPRSS2:ERG Genfusion sowie den Einfluß der Mutation des Tumorsuppressorgens PTEN auf das klinische Outcome und die Pathologie des Prostatakarzinoms zu untersuchen und im Hinblick darauf einen Vorhersageparameter für das frühe Rezidiv des Prostatakarzinoms zu definieren, welcher der Parameter einen direkten Einfluß auf die Therapie haben könnte.

### **3. Material und Methoden**

#### 3.1 Patientenkollektiv

##### 3.1.1 Patientenkollektiv allgemein

Die Untersuchung wurde anhand von 678 Patienten durchgeführt, welche sich zum Teil (378 Patienten) einer radikalen Prostatektomie am Klinikum St. Josef, Lehrstuhl für Urologie der Universität Regensburg (Direktor: Prof. Dr. W. F. Wieland) unterzogen hatten. Der zweite Teil (300 Proben) wurde vom Universitätsspital in Zürich zur Verfügung gestellt. Der überwiegende Teil hatte ein Prostatakarzinom; etwa 45 Proben waren von Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie. Die Regensburger Patientenproben wurden am Lehrstuhl für Pathologie der Universität Regensburg (Direktor: Prof. Dr. F. Hofstädter) aufbereitet und in Paraffinblöckchen konserviert. Für die Herstellung des Tissue-Microarrays (TMA) wurden pro Patient ein oder mehrere Paraffinblöckchen herausgesucht und die Tumoreale markiert. Die Herstellung der Tissue-Microarrays erfolgte durch den Lehrstuhl für Urologie der Universität Regensburg, während die Bearbeitung der Tissue-Microarrays am Institut für klinische Pathologie am Universitätsspital Zürich (Direktor: Prof. Dr. Holger Moch) unter der Leitung von PD Dr. Peter Johannes Wild erfolgte.

### 3.1.2 Stadieneinteilung des Patientenkollektivs

Das Alter der Patienten lag bei Diagnosestellung durchschnittlich bei 64 Jahren und reichte insgesamt vom 46. Lebensjahr bis zum 82. Lebensjahr. Nicht ganz die Hälfte (47,5%) des Patientengutes war jünger als 64, die andere Hälfte (51,8%) war älter. Bei 10 Proben konnte das Alter zum Diagnosezeitpunkt nicht mehr nachvollzogen werden.

Der Gleason Score lag bei 28,2% der Patienten bei 5-6, bei 45,3% wurde ein Score von 7 diagnostiziert, und 26,5% der Patienten wiesen einen Score von 8-10 auf. Bei 78 Proben war kein Gleason Score angegeben.

Das Staging zeigte bei etwas mehr als der Hälfte (53,5%) der Fälle ein Tumorstadium von pT2 a-c, 43,7% befanden sich im Stadium pT3 a-b, und nur ein kleiner Teil, nämlich 2,7%, hatte das Tumorstadium T4 erreicht. Bei 3 Proben war kein Stadium angegeben.

Es konnten bei 542 Patienten, das entspricht 89,3%, keine Lymphknotenmetastasen durch den Pathologen nachgewiesen werden. Das Stadium pN1 hatten 65 Patienten (10,7%). Von 71 Patienten war das Lymphknotenstadium nicht bekannt.

Bei der Bewertung der negativen bzw. positiven Resektionsränder zeigte sich, dass 63,6% der Resektionsränder tumorfrei waren und 36,4% einen positiven Resektionsrand aufwiesen; und von 7 Patienten war die Qualität des Resektionsrandes nicht bekannt.

Die Analyse des präoperativen PSA-Wertes ergab bei 44,7% einen Wert kleiner als 10 ng/ml und bei 55,3% einen Wert, der größer bzw. gleich 10 ng/ml war. Jedoch war bei ca. der Hälfte der Patienten der präoperative PSA-Wert nicht angegeben (Tabelle 1).

Diagnosealter (durchschnittlich 64, Alter 46-82)		n	%
	< 64 Jahre	317	47,5
	≥ 64 Jahre	351	51,8
	unbekannt	10	
Gleason score			
	5-6	169	28,2
	7	272	45,3
	8-10	159	26,5
	unbekannt	78	
Tumorstadium			
	pT2a-c	361	53,5
	pT3a-b	296	43,7
	pT4	18	2,7
	unbekannt	3	
Lymphknotenstatus			
	pN0	542	89,3
	pN1	65	10,7
	unbekannt	71	
Resektionsrand			
	negativer Resektionsrand	427	63,6
	positiver Resektionsrand	244	36,4
	unbekannt	7	
Präoperativer PSA Wert			
	< 10 ng/ml	136	44,7
	≥ 10 ng/ml	168	55,3
	unbekannt	374	

**Tabelle 1**

## 3.2 Tissue-Microarrays

Bei den Tissue-Microarrays (TMA) handelt es sich um Untersuchungsverfahren, welche es ermöglichen, Veränderungen auf Proteinebene nachzuweisen. Ziel ist es, potentielle Biomarker dadurch zu definieren. Der Vorteil der Microarrays liegt darin, dass viele Datensätze in relativ kurzer Zeit mit wenig Materialverbrauch gewonnen werden können. Ein Nachteil besteht jedoch darin, dass u. U. bei komplexen Geweben das aus der Gewebeprobe gewonnene Material nicht repräsentativ ist. Im Hinblick auf das Tumorgewebe ist allerdings die Betrachtung des Ergebnisses insgesamt entscheidend. Anhand von Tissue-Microarrays sind Analysen mittels immunhistologischen Methoden oder durch In-situ-Hybridisierung möglich.

### 3.2.1 Herstellung von Tissue-Microarrays

Damit die Tissue-Microarrays aus dem zu untersuchenden Prostatakarzinomgewebe hergestellt werden konnten, musste zuerst ein HE-Schnitt der einzelnen Proben angefertigt werden. Diese wurden dann unter dem Lichtmikroskop untersucht und eindeutige Tumorareale mit einem Foliestift markiert. Anschließend wurden die entsprechenden Areale aus den Paraffinblöckchen mittels Stanze entnommen und in vorgestanzte Paraffin-Roh-Blöcke übertragen. Über ein festgelegtes Schema konnten die einzelnen Proben innerhalb des so entstandenen TMAs dem Spenderblock und somit dem Patienten zugeordnet werden. Im Anschluß erfolgten anhand von Schnitten, welche aus den Tissue-Microarrays angefertigt wurden, immunhistologische Untersuchungen sowie Untersuchungen mittels FISH.

### 3.3 Analyseverfahren

#### 3.3.1 Immunhistochemie

Bei der Immunhistochemie (IHC) werden Proteine unter Zuhilfenahme von speziellen Antikörpern sichtbar gemacht. Es wird die direkte von der indirekten Methode unterschieden. Für die Antikörperfärbung wird fixiertes Gewebe, hier aus einem TMA gewonnen, verwendet.

Die Immunhistochemie ermöglicht nicht nur den reinen Nachweis von Proteinen mittels Antikörpern im Gewebe, sondern es ist auch möglich, den Bereich der Zelle zu lokalisieren, in dem das Protein vorhanden ist, z. B. Transkriptionsfaktoren im Zellkern oder andere Proteine nur in der Membran. Kann man Tumorzellen anhand von Antigenen, welche sie exprimieren, klassifizieren, dann ist es evtl. möglich, Tumoren, die sich zwar morphologisch gleichen, aber sich im Verlauf unterschiedlich zeigen, zu unterscheiden.

Das Prinzip der IHC beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion.

Bei der direkten Methode wird das Protein (Antigen) mit einem Antikörper in Verbindung gebracht. An diesen Antikörper ist wiederum direkt ein Enzym gebunden, welches bei einem weiteren Arbeitsschritt, bei dem ein Substrat zugegeben wird, zu einem Farbstoff reagiert. Anhand dieses Farbstoffes kann die immunchemische Reaktion dargestellt werden.

Bei der indirekten Methode bindet der primäre Antikörper zuerst am Antigen, danach wird der sekundäre Antikörper, an welchen das farbgebende Enzym gekoppelt ist, aufgebracht. Dieser Sekundärantikörper richtet sich gegen den Primärantikörper. Zusammen mit einem Enzym wird wieder eine Reaktion ausgelöst, welche die immunologische Reaktion durch eine sichtbare Färbung darstellt.

Das Ergebnis der IHC ist durch eine Reihe von Faktoren wie z. B. Fixierungsart, Fixierungsdauer, Einbettungsmethoden, Temperatur, Konzentration, Inkubationszeit ect. beeinflussbar.

### 3.3.2 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) wird zur Aufdeckung chromosomaler Veränderungen auf genomischer Ebene benutzt. Einzelsträngige DNA-Sequenzen, sogenannte DNA-Sonden, welche mit Markermolekülen markiert und zu bestimmten Abschnitten der Chromosomen komplementär sind, werden mit der einzelsträngigen Ziel-DNA hybridisiert und ermöglichen so die Darstellung der Ziel-DNA und eventueller Veränderungen.

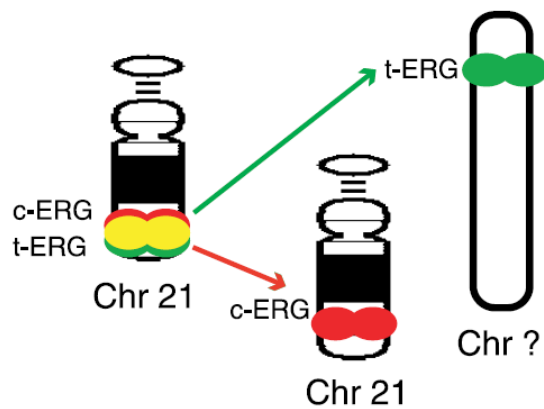
Die Zellen wurden zuerst vom sie umgebenden Paraffin befreit und auf einen gereinigten Objektträger gebracht. Im Anschluß wurden die Objektträger bei Raumtemperatur inkubiert. Danach folgten sechs Waschschrte. Die Denaturierung der Zell-DNA erfolgte anschließend im Wasserbad bei 70°C in 70%igem Formamid für 4 Minuten. Die Dehydrierung wurde mittels einer Folge von aufsteigenden, eiskalten Ethanolkonzentrationen durchgeführt. Die markierte DNA-Probe wurde ebenso denaturiert und im Anschluß auf den Objektträger mit der denaturierten Patienten-DNA gebracht, danach verschlossen und über Nacht in einer Feuchtkammer hybridisiert.

Anschließend erfolgte eine Serie von Post-Hybridisierungs-Waschschrten. Dann wurden die Zellkerne gefärbt und die Signale ausgewertet.

Da die Gene für ETV1 und ETV4 jeweils auf einem anderen Chromosom liegen als TMPRSS2, liegen die FISH-Signale für jedes Gen beider Allele im Zellkern räumlich auseinander. TMPRSS2 und ETV1 bzw. ETV4 sind farblich markiert und lassen sich gut unterscheiden. Liegen die farblich markierten Punkte eng nebeneinander und/oder überschneiden sie sich, dann spricht das für eine Fusion.

Anders verhält es sich bei TMPRSS2 und ERG, welche sich beide auf dem gleichen Chromosom, nämlich Chromosom 21, zu eng beieinander befinden, um mit einem Fusionsassay exakt ermittelt werden zu können. Hier müssen Translokationsassays (break-apart assays) angewandt werden. Aus der Translokation wird dann auf die Fusion geschlossen.

Beim break-apart assay werden die unterschiedlich markierten Sonden um den Bruchspalt gelagert. Findet nun eine Translokation bzw. eine Translokation durch Deletion statt, so sind die Farbsignale getrennt bzw. ein Signal evtl. sogar verschwunden (Skizze 1).



Skizze 1

## Negative Fusion

Zwei nebeneinander stehende rote und grüne Signale, die zu zwei gelben Signalen werden (Abbildung 1).

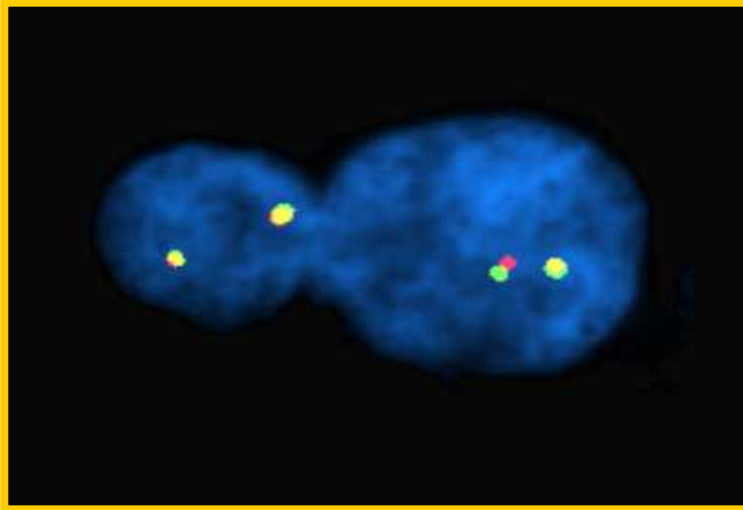


Abb. 1

## Translokation (T)

Findet eine Translokation statt bei welcher der DNA-Anteil, der sich zwischen den Genen TMPRSS2 und ERG befindet, an einer anderen Stelle des Genoms inseriert, sind die Signale (rot für c-ERG und grün für t-ERG) unter dem Mikroskop deutlich zu erkennen (Abbildung 2).

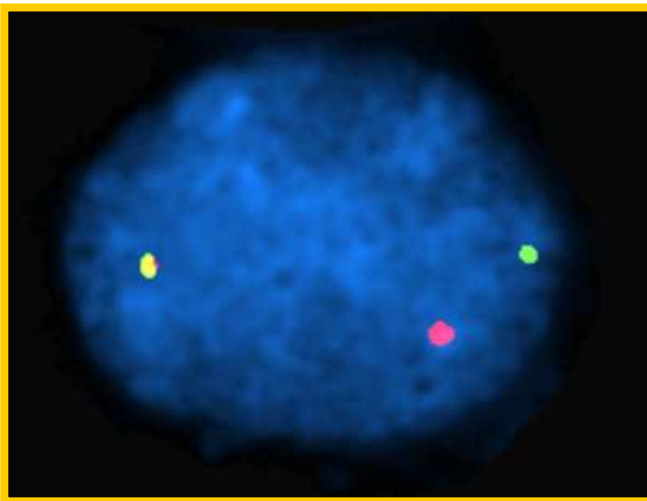


Abb. 2

### Translokation durch Deletion (T+D)

Findet eine Translokation durch Deletion statt, dann wird dies unter dem Mikroskop durch den Verlust des grünen Signals (Markierung des Telomers) sichtbar (Abbildung 3).

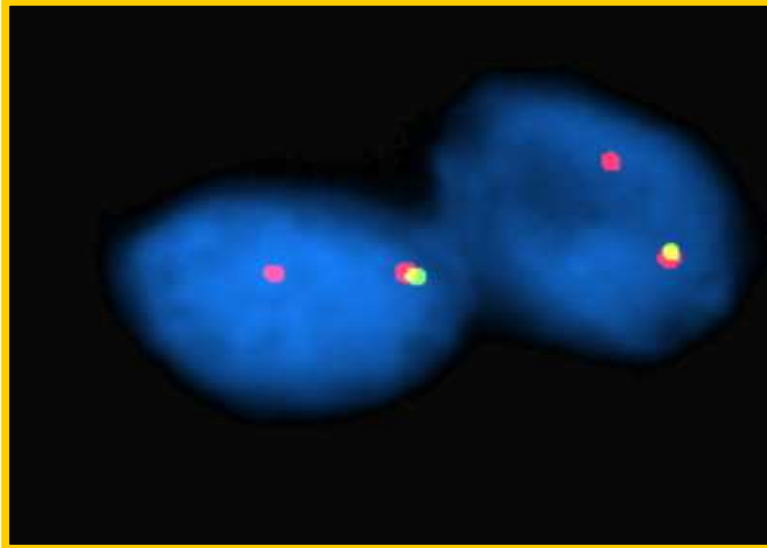


Abb. 3 Verlust des Telomers (grün)

### 3.4 Statistisches Auswertungsverfahren

Mit Hilfe des Fisher-Exakt-Testes (2-seitig) wurde der Zusammenhang zwischen den molekularbiologischen Variablen und den klinischen sowie pathologischen Parametern ermittelt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde mit 5% ( $p=0,05$ ) angenommen. Das bedeutet, dass der Vergleich von zwei Proben dann als signifikant gilt, wenn für einen Zufallsbefund die Wahrscheinlichkeit von  $\leq 5\%$  ( $p \leq 0,05$ ) ist. Soll getestet werden, ob Merkmale sich gegenseitig negativ beeinflussen, dann ist der Fisher-Exakt-Test (1-seitig) zu verwenden. Soll hingegen die allgemeine Abhängigkeit nachgewiesen werden, dann ist der zweiseitige Test (Fisher-Exakt-Test (2-seitig)) anzuwenden.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Analyse des Chromosoms 21 und dessen Aberrationen

#### 4.1.1 Verteilung der strukturellen und numerischen Aberrationen

Zur Analyse der strukturellen Veränderungen wurden 678 Proben der ERG break-apart FISH Analyse unterzogen. Dabei zeigten 538 eine Reaktion. Bei 55,4% (n=298) dieser 538 Proben war es möglich, eine Translokation (T) bzw. eine Translokation durch Deletion (T+D) nachzuweisen, während bei 240 Proben, das entspricht 44,6%, weder eine T noch eine T+D nachzuweisen war.

Weitere angefertigte Schnitte der 678 Proben wurden auf numerische Veränderungen des Chromosoms 21 untersucht:

Eine Polysomie war bei 15,2 % von 541 auszuwertbaren Proben - in absoluten Zahlen ausgedrückt waren es 82 Patienten - nachweisbar, wohingegen bei 84,8% - das entspricht 459 Patienten - kein Nachweis einer Polysomie des Chromosoms 21 möglich war.

Bei 137 Proben war weder ein Nachweis einer vorhandenen Polysomie noch der Nachweis, dass diese nicht vorhanden war, möglich. (Tabelle 2)

<i>Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH):</i>			%
ERG b/a FISH Analyse			
	normal	240	44,6
	Translokation oder Translokation durch Deletion	298	55,4
	unbekannt	140	
Polysomie (Chromosome 21)			
	nein	459	84,8
	ja	82	15,2
	unbekannt	137	

**Tabelle 2**

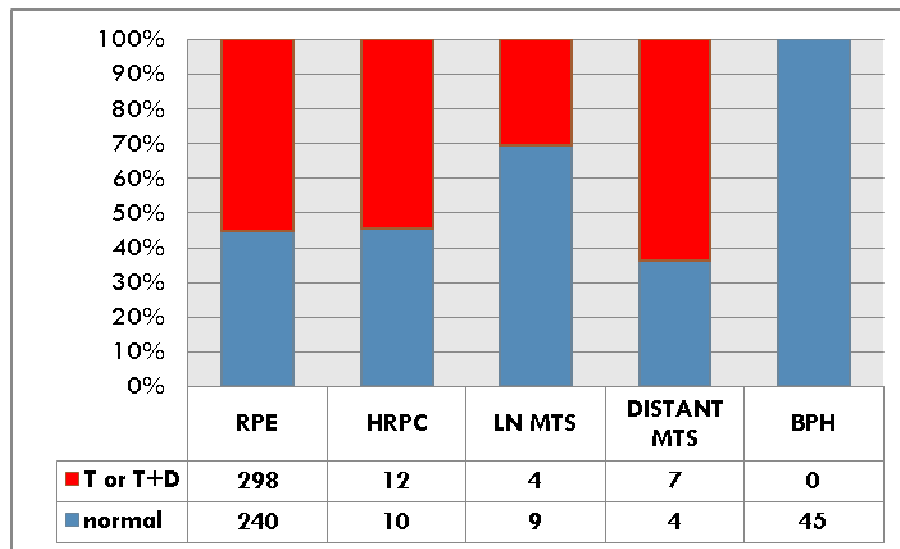
## 4.1.2 Verteilung der Aberrationen im Hinblick auf das klin. Erscheinungsbild

### 4.1.2.1 Strukturelle Aberrationen

Wie bereits erwähnt, zeigte die ERG b/a FISH-Analyse von 538 Präparaten, die durch eine radikale Prostatektomie (RPE) gewonnen wurden, dass bei 55,4% der untersuchten Proben eine Translokation (T) oder eine Translokation durch Deletion (T+D) vorhanden waren. Schlüsselt man diese Fälle anhand der dokumentierten klinischen Parameter auf, so zeigt sich, dass bei 55% (n=12) der insgesamt 22 hormonrefraktären Prostatakarzinome (HRPC) sich entweder eine T oder eine T+D nachweisen ließ.

64 % (n=7) der Fernmetastasen (distant MTS), zeigten eine T oder T+D, hingegen waren bei den Lymphknotenmetastasen (LN MTS) nur in 31% (n=4) der insgesamt 13 Fälle diese nachweisbar.

Benigne Prostatahyperplasien (BPH) zeigten zu 100% (n=45) weder eine T noch eine T+D. (Graphik 1)



P<0,001

Graphik 1

#### 4.1.2.2 Numerische Aberrationen

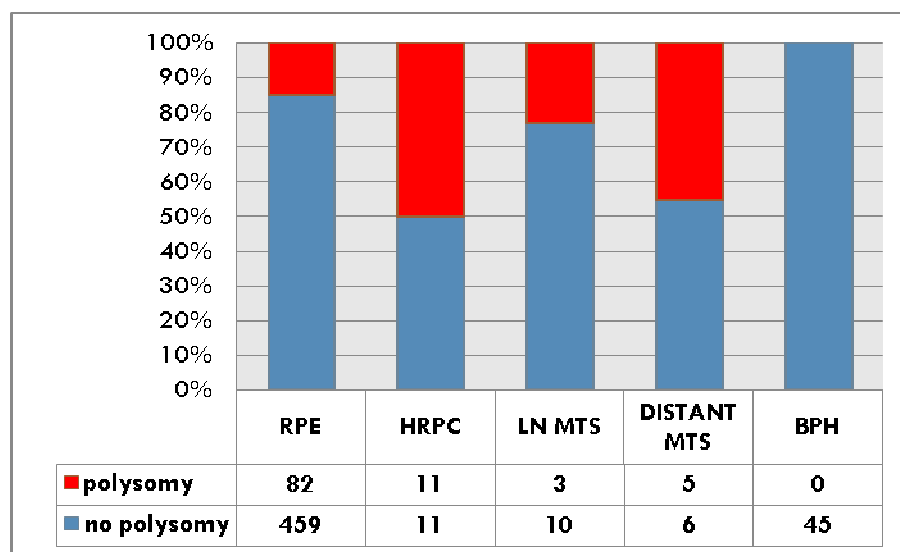
Die Analyse von 541 Fällen nach radikaler Prostatektomie (RPE) zeigte bei 15,2% (n=82) der Fälle eine Polysomie des Chromosoms 21.

Untersuchte man die hormonrefraktären Prostatakzinome (HRPC) gesondert, so zeigte sich bei 50% (n=11) diese Polysomie.

Bei den Lymphknotenmetastasen (LN MTS) lies sich im untersuchten Material zu 23% (n=3) die numerische Aberration des Chromosoms 21 nachweisen.

Fernmetastasen (distant MTS) wiesen eine in 45% der Fälle (n=5) vorhandene Polysomie des Chromosoms 21 auf.

Bei benignen Prostatahyperplasien war wiederum zu 100% (n=45) auch eine Polysomie des Chromosoms 21 in keinem Fall nachweisbar. (Graphik 2)



P<0,001

**Graphik 2**

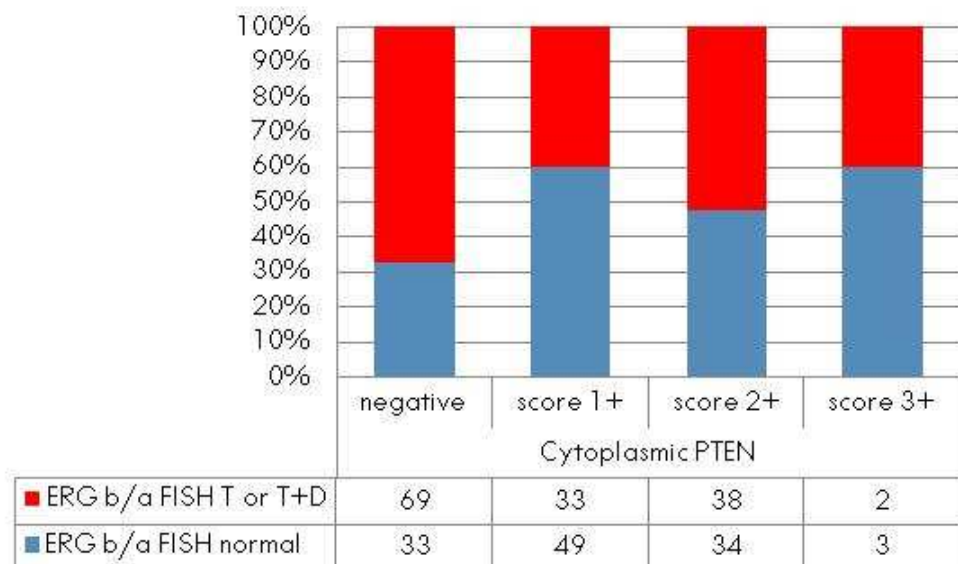
## 4.2 Analyse des PTEN durch IHC in Bezug zur strukturellen Aberration am Chromosom 21

### 4.2.1 PTEN des Zytoplasmas in Bezug zur T oder T+D bei Chromosom 21

Die immunhistochemische Analyse des zytoplasmatischen PTEN anhand von 261 Fällen zeigte bei 39%, das entspricht 102 Fällen eine negative Reaktion. Dem Score 1+ waren 82 Proben (31,4%) zuzuordnen. 27,59%, also 72 Fälle, entsprachen dem Score 2+ und 5 Proben (1,9%) ließen sich in den Score 3+ einordnen.

Die Auswertung der Proben, die sich in der immunhistochemischen Analyse als negativ erwiesen zeigte, dass bei 67,65% (n=69) eine T oder eine T+D vorhanden war. Beim Score 1+ waren dies 40,24% (n=33).

Ein Anstieg auf 52,78% (n=38) war im Score 2+ zu verzeichnen. In Score 3+ waren in 40% (n=2) der Fälle eine T oder T+D zu erkennen, wobei die Fallzahl mit insgesamt 5 Proben sehr gering war (Graphik 3).



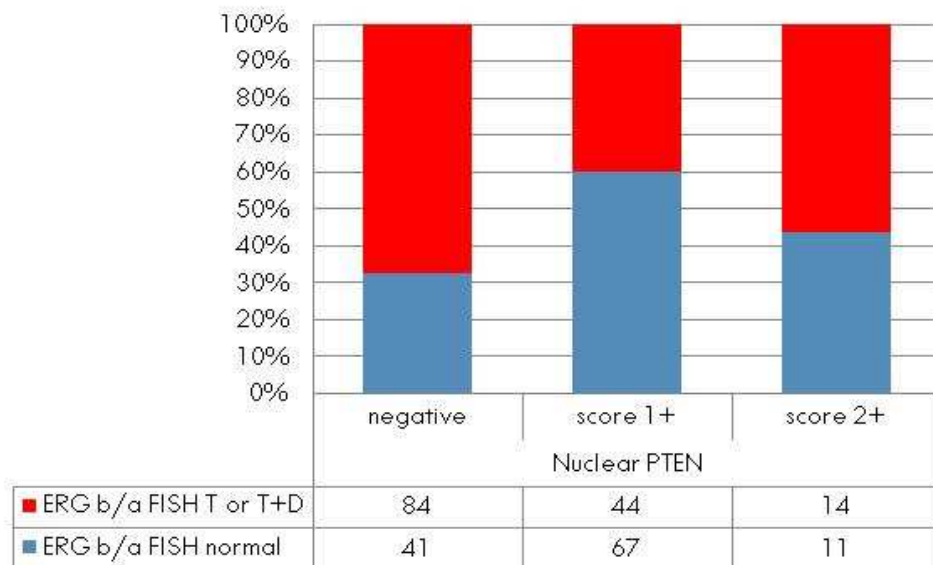
**Graphik 3**

#### 4.2.2 PTEN des Zellkerns in Bezug zur T oder T+D bei Chromosom 21

Bei der immunhistochemischen Analyse des nukleären PTEN ließen sich von den 261 Proben 111, das entspricht 42,52%, dem Score 1+ und 25 (9,58%) dem Score 2+ zuordnen; dagegen waren 125 (47,9%) negativ.

In Bezug zur ERG break-apart FISH Analyse ist zu erkennen, dass bei einer eher kleineren Fallzahl von 25 Proben in Score 2+ 56% (n=14) eine T oder eine T+D zeigten.

Im Score 1+ waren bei 39,64% (n=44) der 111 Proben strukturelle Aberrationen nachweisbar, in Score 2+ lagen diese zu 56% (n=14) vor und in den Fällen, in denen die immunhistochemische Analyse negativ war, zeigte sich bei 67,2 % (n=125) eine T oder T+D (Graphik 4).



**Graphik 4**

### 4.3 Klinische und pathologische Eigenschaften im Hinblick auf strukturelle und numerische Aberationen des Chromosom 21 in Verbindung mit der Mutation von PTEN

Strukturelle Aberrationen wurden mittels ERG b/a FISH untersucht und im Anschluß mit klinischen und pathologischen Eigenschaften der Prostatakarzinome in Beziehung gesetzt. Dabei stellte sich heraus, dass Patienten, bei denen ein Prostatakarzinom im Durchschnitt vor dem 64. Lebensjahr diagnostiziert wurde, einen leichten Anstieg der T oder T+D aufzuweisen hatten.

Diejenigen Tumoren, die als Gleason-Score 7 (n=135 davon n=78 (57,78%) mit T o. T+D) oder 5-6 (n=211 davon n=123 (58,29%) mit T oder T+D) gradet wurden, zeigten häufiger T oder T+D als jene, die in Score 8-10 (n=133 davon n=66 (49,6%) mit T oder T+D) eingeordnet wurden.

Beurteilt man die Ergebnisse des ERG b/a FISH in Bezug auf das Staging, dann ist ein deutlicher Anstieg der T oder T+D im Stadium pT4 (76,9%) zu verzeichnen; jedoch ist zu bedenken, dass die Fallzahl mit 14 Fällen im Gegensatz zu den Stadien pT2 a-c (n=276) und pT3 a-b (n=249), welche mit 51,09% und 59,04% keinen so deutlichen Anstieg zeigen, relativ klein war.

Die durch Pathologen gesicherten Lymphknotenstadien wiesen bei den Patienten, welche einen Tumor mit solitären Lymphknotenmetastasen hatten, deren Durchmesser kleiner als 2 cm war (pN1), ein mit 44% (n=33) gehäuftes Vorkommen einer T oder T+D auf. Jedoch ist zu erwähnen, dass bei den 479 bekannten Lymphknotenbefunden lediglich 57 dem Stadium pN1 zuzuordnen waren. Dies entspricht 11,48% der gesamten Befunde. Weitere Stadien wie pN2 und pN3 waren nicht vorhanden, dies liegt aber wahrscheinlich daran, dass die Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom nicht mehr einer radikalen Therapie durch eine Operation unterzogen werden, sondern in diesen Fällen ist die Hormontherapie Mittel der Wahl.

Analysiert man den Zusammenhang zwischen positiven Resektionsrändern und dem Auftreten von T oder T+D, dann zeigt sich bei 38% (n=203) der Prostatakarzinome ein positiver Resektionsrand und davon ist wiederum bei 56,16% (n=114) eine T oder T+D nachzuweisen.

Die statistische Auswertung der klinischen und pathologischen Parameter wie Alter, Gleason-Score, Tumorstadium, Lymphknotenstatus und Resektionsränder in Bezug zur TMPRSS2:ERG-Genfusion durch die Analyse mittels FISH zeigte bei keinem Parameter einen signifikanten Zusammenhang.

Die Analyse der klinischen und pathologischen Eigenschaften der Karzinome in Bezug zur numerischen Veränderung des Chromosom 21 zeigte, dass bei einem durchschnittlichen Diagnosealter von unter 64 Jahren 14,4% (n=37) eine Polysomie 21 aufwiesen. Bei Patienten, welche 64 oder älter waren es hingegen 15,27% (n=42).

Betrachtet man jedoch den Gleason Score, so zeigte sich, dass je undifferenzierter das Prostatakarzinom war, desto höher war die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Polysomie des Chromosoms 21. Von den insgesamt 481 analysierten Proben waren 135 dem Score 5-6 zuzuordnen und davon war bei 11,11% (n=15) eine Polysomie 21 nachzuweisen. Für den Score 7 waren von 212 Proben 17,45% (n=37) und bei Score 8-10 von 134 Proben 20,15% (n=27) Polysomie-21-positiv.

Die für das Tumorstadium gewonnenen Werte zeigten mit 18,3% (n=46) ein häufigeres Vorkommen einer Polysomie des Chromosoms 21 im Stadium pT3 a-b gefolgt von 12,6% (n=35) im Stadium pT2a-c. Bei Tumoren der Kategorie pT4 ließ sich zu 7,69% (n=1) eine Polysomie 21 nachweisen, wobei hier jedoch auch wieder die geringe Fallzahl bezogen auf das Gesamtkollektiv von nur 2,4% (n=13) berücksichtigt werden muß.

Weniger offensichtlich, jedoch auch deutlich zeigte sich bei der Analyse der Polysomie des Chromosoms 21 (n=11), dass diese bei bereits diagnostizierten Lymphknotenmetastasen mit 18,96% (n=11) vermehrt vorlag im Vergleich zu 16,27% (n=69) der mit pN0 bewerteten Fälle.

Prostatakarzinome, die einen positiven Resektionsrand aufwiesen, hatten zu 17,15% (n=35) eine Polysomie 21, wohingegen bei Patienten mit negativem Resektionsrand 13,86% (n=46) eine Polysomie hatten.

Eine statistische Signifikanz der oben genannten klinischen und pathologischen Parameter in Bezug zur Polysomie des Chromosoms 21 konnte jedoch nicht ermittelt werden.

Zieht man nun die immunhistochemische Analyse von PTEN hinzu zeigt sich, betrachtet man das nukleäre PTEN, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen verändertem nukleärem PTEN und Translokationen bei der Analyse durch ERG b/a FISH gibt. 67,2% (n=84) der Proben, die sich bei der immunhistochemischen Analyse als negativ erwiesen, zeigten eine T oder T+D. Beim Score 1+ waren es 39,6% (n=44) und bei Score 2+ 56% (n=14).

Ebenso verhielt es sich, wenn man das zytoplasmatische PTEN mittels Immunhistochemie analysiert und in Bezug zur break-apart FISH Untersuchung bringt. 67,64% (n=69) der negativen Fälle hatten eine T oder T+D, bei Score 1+ waren es 40,24% (n=33), in Score 2+ waren es 52,78% (n=38) und in Score 3+ 40% (n=2) mit nachgewiesener T oder T+D.

Betrachtet man die Polysomie des Chromosoms 21, so wird deutlich, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Mutation des nukleären PTEN und dem Auftreten einer Polysomie des Chromosoms 21 gibt. 15,2% (n=19) der in der immunhistochemischen Analyse als negativ gewerteten Fälle zeigten eine Polysomie 21. Im Score 1+ waren dies 13,3% (n=15) und im Score 2+ 30,7% (n=8).

Beim zytoplasmatischen PTEN in Bezug zur Polysomie 21 liegt jedoch eine Signifikanz vor. Hier stellten sich 19,38% (n=19) als positiv in Bezug auf das Vorhandensein einer Polysomie 21 dar. Im Score 1+ waren es 7,2% (n=6), im Score 2+ 21,92% (n=16) und im Score 3+ 20% (n=1). (Tabelle 3)

		ERG b/a FISH			Polysomie (Chr 21)		
		normal	Translokation	p	nein	ja	p
<b><i>Klinische und pathologische Eigenschaften</i></b>							
Diagnosealter							
	< 64 Jahre	108	148	0,336	220	37	0,808
	≥ 64 Jahre	127	146		233	42	
Gleason score							
	5-6	57	78	0,249	120	15	0,11
	7	88	123		175	37	
	8-10	67	66		107	27	
Tumorstadium							
	pT2a-c	135	141	0,056	242	35	0,145
	pT3a-b	102	147		205	46	
	pT4	3	10		12	1	
Lymphknotenstatus							
	pN0	189	233	0,777	355	69	0,576
	pN1	24	33		47	11	
Resektionsränder							
	negativer Resektionsrand	148	183	0,858	286	46	0,321
	positive Resektionsrand	89	114		169	35	
<b><i>Immunohistochemie (IHC)</i></b>							
Nuklear PTEN IHC							
	negativ	41	84	<b>&lt;0.001</b>	106	19	0,099
	score 1+	67	44		97	15	
	score 2+	11	14		18	8	
Cytoplasmatisches PTEN IHC							
	negativ	33	69	<b>0</b>	83	19	<b>0,036</b>
	score 1+	49	33		77	6	
	score 2+	34	38		57	16	
	score 3+	3	2		4	1	

Fisher-Exakt-Test (2-seitig)

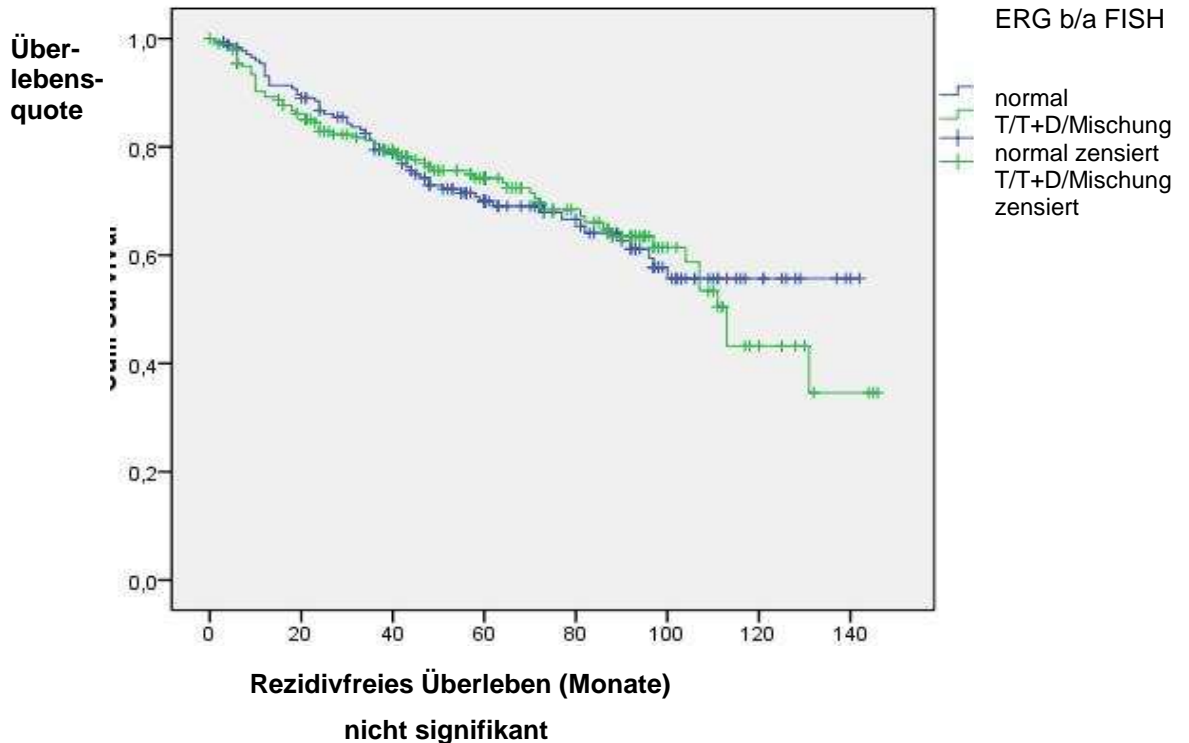
**Tabelle 3**

#### 4.4 Einfluß der chromosomalen Veränderungen auf die rezidivfreie Überlebenszeit

In Relation zur rezidivfreien Überlebenszeit auf der x-Achse und der Überlebensquote auf der y-Achse zeigen Patienten ohne T oder T+D anfänglich die gleiche Überlebensrate wie Patienten, bei denen diese strukturelle Veränderung festgestellt wurde. Der Verlauf ist relativ linear. Erst zu einem späten Zeitpunkt etwa nach 105 Monaten ist eine geringere rezidivfreie Überlebenswahrscheinlichkeit für Patienten, bei welchen eine T oder T+D diagnostiziert wurde, ersichtlich.

Während die Quote bei Patienten ohne Translokation auf einem Niveau von etwa 50% stagniert, zeigt sich beim anderen Patientenkollektiv ein Absinken der Quote um 20% in den darauffolgenden 20 Monaten.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Translokation oder Translokation durch Deletion konnte im Hinblick auf die rezidivfreie Überlebensquote nicht ermittelt werden. (Graphik 1)

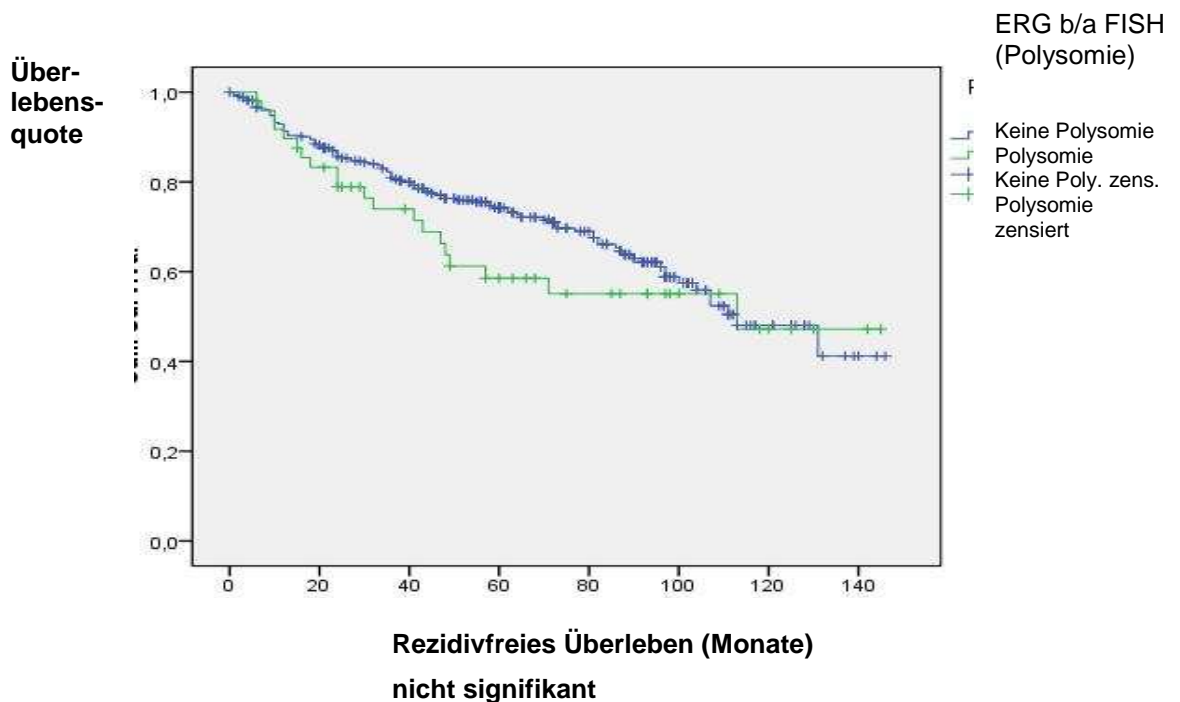


Graphik 1

Betrachtet man die rezidivfreie Überlebenszeit in Monaten in Relation zur Überlebensquote in Bezug zur Polysomie des Chromosoms 21, dann lässt sich die ersten 17 Monate kaum ein Unterschied zwischen Patienten mit Polysomie bzw. ohne Polysomie erkennen. Jedoch zeigt der weitere Verlauf in den darauffolgenden 100 Monaten bei Prostatakarzinompatienten ohne eine Polysomie des Chromosoms 21 einen eher linearen Rückgang der rezidivfreien Überlebensquote, wohingegen sich bei Patienten mit Polysomie in den darauffolgenden ca. 100 Monaten ein deutlich stärkerer Rückgang dieser Quote, zum Teil bis zu 20% unter das Niveau derjenigen ohne Polysomie, abzeichnet.

Nach etwa 9 Jahren befindet sich die Quote der Rezidivfreiheit bei Patienten mit bzw. ohne Polysomie in etwa auf gleichem Niveau. Es findet eine Stagnation während der darauffolgenden 20 Monate bei einer Quote von ca. 50%. Danach zeigt sich ein deutlicher Abfall von 10% bei Patienten ohne Polysomie.

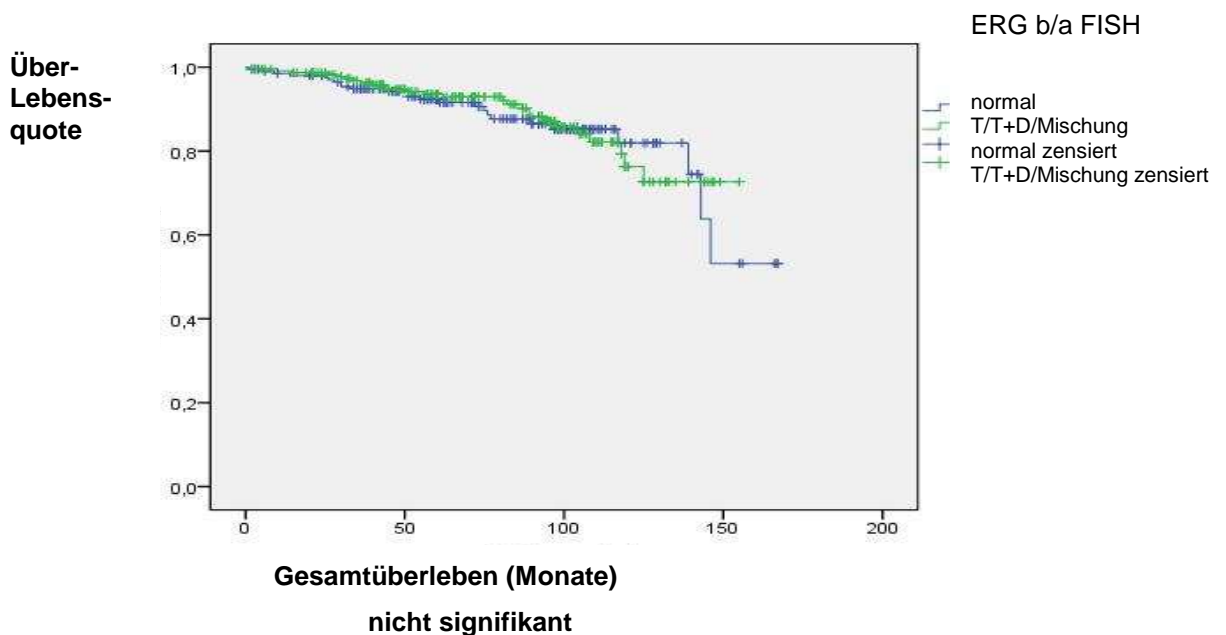
Es ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem rezidivfreien Überleben und dem Vorliegen einer Polysomie des Chromosom 21 nachweisen (Graphik 2).



Graphik 2

#### 4.5 Einfluß der chromosomalen Veränderungen auf die Gesamtüberlebenszeit

Betrachtet man nun die gesamte Überlebenszeit (x-Achse), dann ist während der ersten 50 Monate kaum ein Unterschied zwischen Patienten mit diagnostizierter T oder T+D im Vergleich mit Patienten, die keine aufwiesen, zu erkennen. Zum Teil liegt die Überlebensquote derer ohne Translokation unter der von Patienten mit. Ab einem Zeitraum von etwa 70 Monaten ist die Überlebensquote derer mit Translokation deutlich höher, nähert sich jedoch bis zum 100. Monat wieder an die „Normalen“ an. Ein deutlicher Abfall der Überlebensquote ist dann ab dem 120 Monat bei Patienten mit T oder T+D zu beobachten, wohingegen sich eine Stagnation beim Patientengut ohne Translokation zeigt. Jedoch zeigt sich ab einer Gesamtüberlebenszeit von etwa 145 Monaten ein rapider Abfall der Überlebensquote bei Patienten mit nicht diagnostizierter T oder T+D und eine Stagnation bei denen mit Translokation. Ein signifikanter Unterschied zwischen T oder T+D - ermittelt durch eine ERG break-apart FISH Analyse - und einer tendenziell verkürzten Überlebensquote konnte nicht festgestellt werden (Graphik 3).

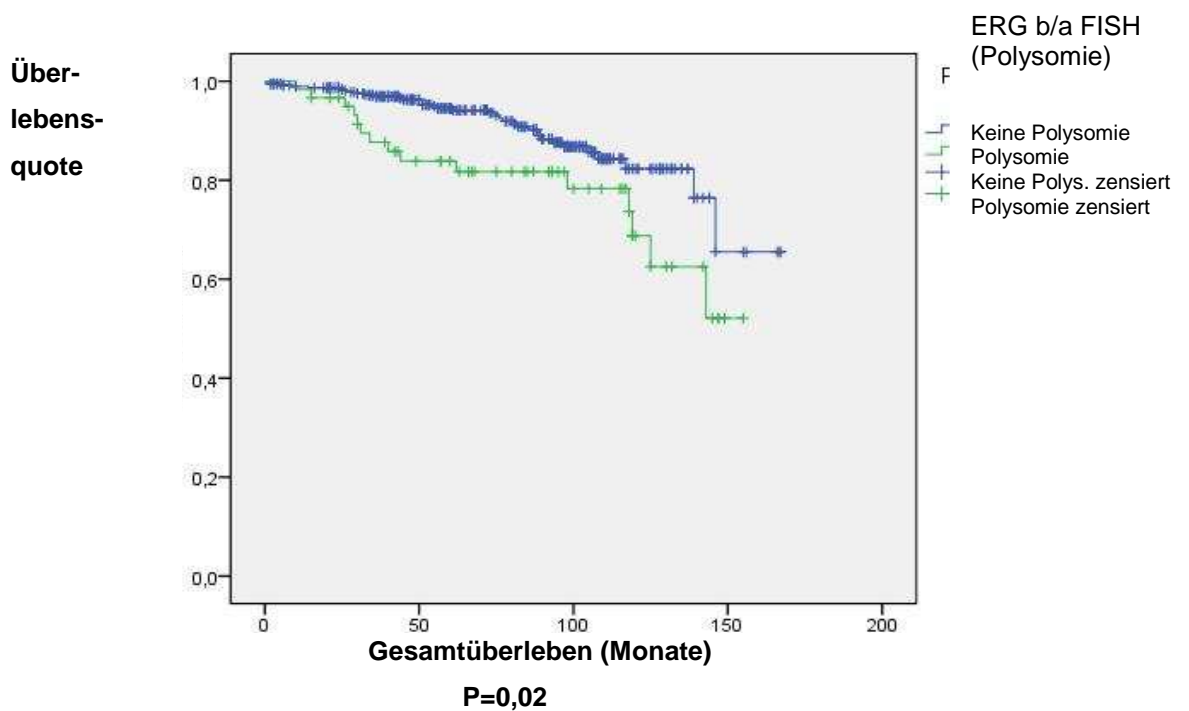


Graphik 3

Legt man die Gesamtüberlebenszeit auf die x-Koordinate und die Überlebensquote auf die y-Koordinate, dann lässt sich graphisch gut darstellen, dass bei Prostatakarzinompatienten mit bzw. ohne diagnostizierte Polysomie des Chromosoms 21 anfänglich, etwa bis zum 2. Jahr, die Überlebensquote relativ gleich war. Danach jedoch zeigte sich ein deutlich reduziertes Überleben bei Patienten mit einer festgestellten Polysomie. In der Graphik ist auch gut ersichtlich, dass, während bei Patienten ohne Polysomie ein eher linearer Rückgang der Überlebensquote zu verzeichnen ist, sich bei Patienten mit nachgewiesener Polysomie ein eher sprunghafter Rückgang zeigt.

Ab einer Gesamtüberlebenszeit von etwa 125 Monaten stagniert bei Patienten ohne Polysomie die Überlebensquote, wohingegen die der mit Polysomie nochmals deutlich sinkt. Nach einem weiteren Jahr ist allerdings sowohl bei Patienten mit als auch ohne Polysomie nochmals ein starker Rückgang der Überlebensquote zu verzeichnen.

Es zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang ( $P=0,02$ ) zwischen Polysomie und Überlebensquote (Graphik 4).



Graphik 4

## 5. Diskussion

In dieser Untersuchung konnte mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung bei 55% der Prostatakarzinompatienten, die sich einer radikalen Prostatektomie unterzogen hatten, gezeigt werden, dass eine TMPRSS2-ERG-Genfusion vorhanden war.

Die Datenlage anderer Autoren hierzu ist kontrovers: So wird die prozentuale Verteilung von einigen Studien mit 59% weitgehend bestätigt; andere Studien, welche in kleineren Patientenkollektiven (n=214) die Häufigkeit von TMPRSS2-ERG-Genfusionen untersuchten, fanden in nur 35,5% der Fälle diese Fusion.

Eine weitere Untersuchung von 96 Prostatakarzinompatienten aus den USA zeigte, dass 70% der Prostatakarzinome eine Fusion von TMPRSS2 und der ETS-Familie aufwiesen und davon waren 54% Fusionen von TMPRSS2 und ERG. [15, 55, 105]

Es konnte in der vorliegenden Arbeit kein Nachweis für ein Auftreten von T oder T+D bei Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie erbracht werden.

Dies bestätigt eine kanadische Studie, welche jedoch nur fünf benigne Prostatahyperplasien auswertete. [80]

Auch Untersuchungen von Perner et al. zeigten ebenso deutlich keinen Nachweis dieser Art von Genfusion bei benignen Prostatahyperplasien. Jedoch wiesen in dessen Untersuchung 19% der prostatistischen intraepithelialen Neoplasien (PIN) und 48,5% der klinisch lokalisierten Prostatakarzinome eine Genfusion auf.

Bei der Analyse der hormonnaiven Metastasen erwiesen sich 30% als TMPRSS2-ERG-Fusions-positiv und 33% der hormonrefraktären Metastasen ebenso. [79]

Wir konnten, wie schon erwähnt, bei 55% der hormonrefraktären Prostatakarzinome T oder T+D nachweisen. Lymphknotenmetastasen

zeigten zu 31% (n=4) und Fernmetastasen zu 64% (n=7) TMPRSS2-ERG-Genfusionen.

Mosquera et al. stellten bei der Analyse spezifischer morphologischer Eigenschaften, welche schon früher bei Karzinomen mit aggressiverem klinischem Verlauf auffielen, einen Zusammenhang zwischen TMPRSS2-ERG-Fusion und deren häufigerem Auftreten fest. [61]

Bei der Betrachtung des Gleason Scores zeigte sich, dass eine Häufung der T oder T+D bei Score 7 auftrat; jedoch auch bei Score 5-6 war dies im gleichen Ausmaß festzustellen. Bei Score 8-10 konnte keine auffällige Steigerung festgestellt werden. Die statistische Auswertung zeigte keinen signifikanten Zusammenhang. Dies wird durch Studien aus den USA bestätigt und ebenso als nicht signifikant gewertet. Untersuchungen der TMPRSS2:ERG-Fusion zeigen eine Vergesellschaftung mit kleineren Gleason-Scores. Höhere Gleason-Scores in Verbindung mit TMPRSS2:ERG-Fusionen zeigten sich dann, wenn ein CNI (copy number increase) mit oder ohne Rearrangement stattfand. [101, 14, 111, 15, 80]

Im Hinblick auf eine neue Einteilung der Prostatakarzinome anhand von Duplikationen der TMPRSS2-ERG-Fusionsgene und der damit festgestellten ungünstigeren Prognose ist, wie Studien von Attard et al. zeigen, nicht nur entscheidend, ob eine Genfusion zwischen TMPRSS2 und ERG zustande gekommen ist, sondern auch ob es zu einer Vervielfachung derer kam. Attard et al. bezeichneten eine ERG-Modifikation, welche sich durch zwei oder mehr ERG-Kopien pro Zelle auszeichnet, als 2+ Edel und wiesen für 6,6% der von ihnen untersuchten Fälle eine wesentlich ungünstigere Prognose der Karzinome nach als bei jenen, welche nur eine ERG-Kopie (1 Edel) hatten. [4]

Diesbezüglich ist es künftig evtl. sinnvoll, nicht nur wie in der vorliegenden Arbeit die Fusion der Gene TMPRSS2 und ERG im Hinblick auf die klinischen und pathologischen Eigenschaften zu untersuchen, sondern auch

genau zu analysieren, ob es zu einer Erhöhung der Zahl der Genabschnitte kommt und welche Tumoreigenschaften damit verbunden sind.

Bei unserem Patientenkollektiv konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Überlebensquote bezogen auf die Überlebenszeit im Vergleich der Patienten mit bzw. ohne diagnostizierte Translokation festgestellt werden.

Die bereits oben aufgeführte Studie von Fitzgerald et al. aus den USA, die Prostatakarzinompatienten (n=214) untersuchte, konnte ebenso keinen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von TMPRSS2-ERG-Fusionen und einer reduzierten Überlebenszeit nachweisen. Eine weitere Unterteilung in reine Translokation bzw. Deletion ergab ebenfalls keinen Unterschied bei der Überlebenszeit. [15]

Betrachtet man allerdings die in einer schwedischen Studie von Lindström et al. ermittelten Ergebnisse der genetische Veränderungen von ERG, in der 2760 Prostatakarzinompatienten (PCA) und eine Vergleichsgruppe von 1647 Patienten untersucht und miteinander verglichen wurden, so zeigte sich ein erhöhtes Risiko, an einem PCA zu versterben; auch die TMN-Klassifikation jener Patienten mit Genfusion war höher. Jedoch zeigte die statistische Auswertung keine Signifikanz. [42]

Der Vergleich der rezidivfreien Überlebenszeit ließ in dieser Studie keinen signifikanten Unterschied im Bezug auf das Vorhandensein einer T oder T+D erkennen. Die 5-Jahres-Rezidivrate lag sogar bei Patienten ohne Translokation etwas höher.

Demgegenüber konnte dies von einer anderen Studien jedoch nicht bestätigt werden: Eine Untersuchung von Nam et al. zeigte bei 26 PCA - Patienten mit gleichem Gleason-Score bei 42,3% (n=11) eine TMPRSS2:ERG - Fusion. Bei diesen Patienten war eine signifikant höhere 5-Jahres-Rezidivrate (79,5%) ermittelt worden als bei jenen ohne Genfusion (37,5%). [65]

Ein ganz anderes Bild der TMPRSS2:ERG-Fusion zeigt sich in einer Studie von Demichelis et al., die eine Kohorte von Patienten mit Prostatakarzinom während des watchful waitings beobachteten. Es stellte sich - entgegen der Untersuchung von Fitzgerald und auch entgegen vorliegender Arbeit - ein signifikanter Zusammenhang zwischen krebsspezifischer Mortalität und TMPRSS2:ERG-Fusion dar. [9]

Im Hinblick auf die Metastasierung sind die Ergebnisse der Untersuchung von Demichelis et al. konträr zu unseren Ergebnissen. So war es ihnen möglich, den Nachweis eines signifikanten Zusammenhangs zwischen ermittelter Fusion der Gene TMPRSS2 und ERG und gehäufte Metastasierung zu erbringen. [9]

In unserem Patientenkollektiv stellten wir keine signifikante Beziehung zwischen Lymphknotenmetastasen bzw. Fernmetastasen und dem Vorliegen einer T bzw. T+D fest.

Ein erhöhtes Staging von Prostatakarzinompatienten, bei denen eine T oder T+D nachgewiesen wurde, zeigte sich sowohl in dieser Untersuchung als auch bei Untersuchungen von Perner et al. Die statistische Auswertung konnte allerdings keine Signifikanz nachweisen. [75]

Eine Studie aus den USA, die anhand von 541 Prostatakarzinomen und 40 Metastasen die Auswirkung einer TMPRSS2-ERG Fusion auf das Outcome des PCA untersuchte, kam zu dem Schluß, dass eine Fusion allein mit geringeren Stadien des Karzinoms assoziiert war. Eine Erhöhung der Kopienzahl mit oder ohne Fusion war mit höheren Stadien der Erkrankung verbunden. Es zeigte sich, dass Tumoren mit TMPRSS2:ERG-Fusion und einer erhöhten Kopienzahl dieser Sequenz anaploid/tetraploid waren im Gegensatz zu jenen ohne erhöhter Kopienzahl, welche hauptsächlich diploid waren. Die Autoren folgerten, dass das klinische Outcome eines Prostatakarzinoms nicht mit der Translokation von TMPRSS2:ERG zusammenhängt, sondern mit einer numerischen Veränderung des

Chromosoms 21. Gopalan et al. stellten fest, dass Karzinome, die eine Polysomie des Chromosoms 21 aufwiesen, zu 51% ein biochemisches Rezidiv entwickelten. Zudem gab es in dieser Gruppe mehr Todesfälle als bei den Karzinompatienten ohne Polysomie. [19]

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich ebenso das rezidivfreie Überleben bei Patienten mit Polysomie reduzierter; jedoch konnte nach statistischer Auswertung kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei der Auswertung der Gesamtüberlebenszeit bezüglich der Überlebensquote zeigte eine signifikant schlechtere Prognose bzw. eine signifikant verminderte Überlebenszeit bei Patienten mit Polysomie des Chromosoms 21.

Während Gopalan et al. Tumoren mit Polysomie 21 analysierten und feststellten, dass 26% der Tumoren Metastasen aufwiesen im Vergleich zu 5% Metastasen bei diploiden Karzinomen zeigte sich in unserer Untersuchung hinsichtlich der Fernmetastasen eine in 45% der Fälle vorhandene Polysomie; und 23% der Lymphknotenmetastasen hatten ebenso eine nachweisbare numerische Aberration. Betrachtet man unser gesamtes Patientenkollektiv, dann konnten allerdings nur zu 15,2% eine Polysomie des Chromosoms 21 nachgewiesen werden.

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen den klinischen und pathologischen Eigenschaften sowie einem frühen biochemischen Rezidiv und dem Vorhandensein einer TMPRSS2:ERG-Fusion und/oder einer PTEN - Mutation konnte Yoshimoto et al. anhand von 125 Patientenproben zeigen. Das Auftreten einer TMPRSS2:ERG-Fusion und/oder einer PTEN-Mutation wurde deshalb von ihnen als Vorhersageparameter für ein frühes biochemisches Rezidiv des Prostatakarzinoms gewertet [111].

Dagegen zeigte unsere Untersuchung zwar einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Mutation von PTEN und der Polysomie des Chromosoms 21 sowie dem Auftreten einer TMPRSS2:ERG-Fusion und der Mutation von PTEN. Es war es uns jedoch im Gegensatz zu

Yoshimoto et al. nicht möglich einen signifikanten Zusammenhang zu vorliegenden klinischen und pathologischen Parametern darzustellen.

## 6. Zusammenfassung und Aussicht

Ziel meiner Arbeit war es, Biomarker zu definieren, welche es ermöglichen sollten Prostatakarzinome auf genetischer Ebene einzuteilen und damit auch eine zielgerichtete Therapie zu erleichtern. Mittels FISH- und IHC-Untersuchung wurden TMPRSS2:ERG-Fusionen und Mutationen von PTEN analysiert.

Es konnte zwar ein signifikanter Zusammenhang zwischen der TMPRSS2:ERG-Fusion und der Mutation von PTEN sowie der Polysomie des Chromosoms 21 und der Veränderung von PTEN dargestellt werden, jedoch war es nicht möglich, eine signifikante Verknüpfung von klinischen und pathologischen Eigenschaften des Prostatakarzinoms mit den oben genannten Parametern darzustellen.

Die Entstehung und der Verlauf des Prostatakarzinoms sind aufgrund der Heterogenität und der Komplexität der molekularen Mechanismen noch lange nicht geklärt. Erschwerend kommt hinzu, dass nicht eine einzelne genetische Veränderung, sondern eher die Summe mehrerer genetischer Veränderungen bzw. Ereignisse zur Entstehung und Progression beitragen. Ziel wird es in Zukunft sein, diese sich akkumulierenden Faktoren zu finden und präzise Biomarker zu definieren, welche eine zuverlässige Diagnose und Prognose ermöglichen.

Eine Unterteilung der Prostatakarzinome auf genetischer Ebene hätte zudem den Vorteil, durch eine zielgenauere Therapie die individuelle Überlebenszeit und auch die Qualität der Lebenszeit der Patienten zu verbessern.

## 7. Abkürzungsverzeichnis:

Abb.	Abbildung
Androgene	Sammelbegriff f. männliche Sexualhormone
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
bzw	beziehungsweise
d. F.	der Fälle
DRU	digitale rektale Untersuchung
ETS	E-twenty six
ERG	Estrogen-reguliertes Gen
et al	et altera
HRPC	Hormonrefraktäres Prostatakarzinom
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
i. d. R.	in der Regel
IHC	Immunhistochemie
LM MTS	Lymphknotenmetastasen
MTS	Fernmetastasen
OS	overall survival, Gesamtüberleben
PCA	Prostatakarzinom
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PIN	prostatistische intraepitheliale Neoplasie
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosom TEN
RPE	Radikale Prostatektomie
RFS	relapse-free survival, rezidivfreie Überlebenszeit
RRP	Radikale retropubische Prostatektomie
RPP	Radikale perineale Prostatektomie
R-Status	Status der Resektionsflächen
Tab.	Tabelle
T	Translokation
T + D	Translokation durch Deletion
TMA	Tissue-Microarray

TMPRSS2 transmembrane protease serine 2

z. T. zum Teil

u. U. unter Umständen

## 8. Literatur:

1. **Adams J**; The case of scirrhus of the prostate gland with corresponding affliction of the lymphatic glands in the lumbar region and in the pelvis. In: Lancet (1853)
2. **Altwein JE/ Mohandessi B et al** (2003)
3. **American Cancer Society**
4. **Attard G** Duplication of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer (2008)
5. **Caims P et al.**; Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. (1997)
6. **Chetcuti A et al.**; Identification of differentially expressed genes in organ-confined prostate cancer by gene expression array. (2001)
7. **Clark J et al.**; Diversity of TMPRSS2-ERG fusion transcripts in the human prostate (2007).
8. **Davis M A et al.**; Regulation of Akt/PKB activity, cellular growth and apoptosis in prostate carcinoma cell by MMAC/PTEN. (1999)
9. **Demichelis F et al.**; TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort (2007)
10. **Deutsche Gesellschaft für Urologie**
11. **Dhanasekaran SM et al.**; Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. (2001)

12. **Diatchenko** L et al.; Suppression subtractive hybridisation: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. (1996)
13. **Di Cristofano** A et al.; The multiple roles of PTEN in tumor suppression. (2000)
14. **Fine** SW et al.; TMPRSS2-ERG gene fusion is associated with low Gleason scores and not with high-grade morphological features. (2010)
15. **Fitzgerald** LM et al.; Association of TMPRSS2-ERG gene fusion with clinical characteristics and outcomes: results from a population-based study of prostate cancer (2008)
16. **Ford** S et al.; Rearrangement of the Long Arm of Chromosome 10 in the Prostate Adenocarcinoma Cell Line LNCaP (1998).
17. **Garnik** und Fair; Bessere Chancen im Kampf gegen Prostatakrebs (1999)
18. **Giovannucci** E et al.; A prospective study of calcium intake and incident and fatal prostate cancer (2006).
19. **Gopalan** A et al.; TMPRSS2-ERG gene fusion is not associated with outcome in patients treated by prostatectomy. (2009)
20. **Gu** J et al.; Tumor suppressor PTEN inhibits integrin – and growth factor-mediated mitogen-activated protein (MAP) kinase signaling pathways. (1998)

21. **Hamilton** JA et al.; The expression profile for the tumor suppressor gene PTEN and associated polymorphic markers. (2000)
22. **Hautmann, Huland**; Urologie 2. Auflage 2001
23. **Helgeson** BE et al.; Characterization of TMPRSS2: ETV5 and SLC45A3:ETV5 gene fusion in prostate cancer (2008)
24. **Hermans** KG et al.; TMPRSS2:ERG fusion by translocation or interstitial deletion is highly relevant in androgen-dependent prostate cancer, but is bypassed in late-stage androgen receptor-negative prostate cancer. (2006)
25. **Hudson** M. A. et al; Clinical use of prostatic-specific antigen in patients with prostatic cancer (1989)
26. **Hohbach** C et al.; Pathologie of prostatic cancer. (1980)
27. **Huggins** C et al.; Studies on Prostatic Cancer – 1. The effect of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. In: Cancer Res 1 (1941)
28. **Hull** GW et al; Cancer control with radical prostatectomy alone in 1000 consecutive patients (2002)
29. **Isaacs** WB et al.; Molekular biology of prostate cancer. (1994)
30. **Ittmann** M et al.; Allelic loss on chromosome 10 in prostate adenocarcinoma. (1996)
31. **Johansson** et al.; Fifteen-year survival in prostate cancer. A prospective, population-based study in Sweden (1997).

32. **King CR** et al.; Postoperative prostate-specific antigen velocity independently predicts for failure of salvage radiotherapy after prostatectomy (2008)
33. **Konradin Medien GmbH**; Metastasen beim Skythen-Fürst: In Bild der Wissenschaft (2008).
34. **Kopeccky AA** et al; Radical retropubic prostatectomy in the treatment of prostatic carcinoma (1970)
35. **Kumar-Sinha C** et al.; Recurrent gene fusion in prostate cancer (2008)
36. **Kwabi-Addo B** et al.; Haploinsufficiency of the PTEN tumor suppressor gene promotes prostate cancer progression. (2001)
37. **Lara PN** et al.; Molecular biology of prostate carcinogenesis. (1999)
38. **Lee F** et al.; Transrectal ultrasound in the diagnosis of prostate cancer location, echogenicity, histopathology and staging
39. **Leube B** et al.; Refined mapping of allele loss at chromosome 10q23-26 in prostate cancer. (2002)
40. **Li** et al; PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer; (1997)
41. **Lin B** et al.; Prostate-localized and androgen-regulated expression of the membrane-bound serine protease TMPRSS2 (1999)
42. **Lindström S** et al.; Genetic variation in the upstream region of ERG and prostate cancer. (2009)

43. **Lu-Yao** et al.; Survival following primary androgen deprivation therapy among men with localized prostate cancer (2008)
44. **Macaluso-Pavone** M; Does family history influence the risk of prostatic cancer?
45. **Mac Donald** O K et al.; Radiotherapy for men with isolated increase in serum prostate specific antigen after radical prostatectomy (2003)
46. **MacDonald** O K et al.; Predicting men at high risk for PSA failure after salvage radiotherapy for rising PSA following prostatectomy (2006)
47. **Matsuda** T et al.; Comparison of time trends in prostate cancer incidence in East Asia, Europe and USA, from Cancer Incidence in Five Continents (2007)
48. **Maier** C et al.; A genomewide linkage analysis for prostate cancer susceptibility genes in families from Germany (2005).
49. **Mao** X et al.; Detection of TMPRSS2:ERG fusion gene in circulating prostate cancer cells (2008).
50. **Mayer** R et al.; Postprostatectomy radiotherapy for high risk prostate cancer (2002)
51. **Mc Cullough** DL et al.; Morbidity of pelvic lymphadenectomy and radical prostatectomy for prostatic cancer (1977)
52. **Mc Neal** JE; Origin and development of carcinoma of the prostate
53. **Mc Neal** JE; Normal histology of the prostate. (1988)

54. **Medical Tribune**; Sonnenmangel fördert Krebs (2007)
55. **Mehra R et al.**; Comprehensive assessment of TMPRSS2 and ETS family gene aberrations in clinically localized prostate cancer. (2007)
56. **Michaud et al.**; A prospective study on intake of animal products and risk of prostate cancer (2001)
57. **Mendelsohn et al.**; The molecular basis of cancer. (2001)
58. **Merkle W.**; Urologie; MLP Duale Reihe Hippokrates Verlag (1997)
59. **Michel MS et al.**; Bewährte und neue urologische Therapien des Prostatakarzinoms (2003).
60. **Morris DS et al.**; The discovery and application of gene fusion in prostate cancer (2008).
61. **Mosquera JM et al.**; Morphological features of TMPRSS2-ERG gene fusion prostate cancer. (2007)
62. **Müller-Lisse UL et al.**; Urologische Diagnostik des Prostatakarzinoms (2003)
63. **Mukesh G et al.**; Noninvasive Detection of Clinically occult Lymph-Node Metastases in Prostate Cancer (2003)
64. **Myers MP et al.**; PTEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. (1997)

65. **Nam** RK et al.; Expression of TMPRSS2:ERG gene fusion in prostate cancer cells is an important prognostic factor for cancer progression (2007)
66. **Netter** F; Farbatlanten der Medizin Band 3 "Genitalorgane" (1987)
67. **Noldus** J et al.; Treatment of prostate cancer – the clinical use of radical prostatectomy (2003)
68. **Oesterling** JE et al.; Influence of patient age on the serum PSA concentration. An important clinical observation (1993)
69. **Oliver** SE et al.; International Trends in Prostate-Cancer Mortality in the "PSA Era" (2001)
70. **Paiss** T et al.; Hereditary prostate cancer in Germany (2001).
71. **Partin** AW et al.; Combination of prostatic-specific antigen, clinical stage, and gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer (1997)
72. **Partin** et al.; Contemporary update of the prostate cancer staging nomograms for the new Millennium. Urology (2001)
73. **Peitsch** MC et al.; DNA fragmentation during apoptosis is caused by frequent single-strand cuts.(1993)
74. **Perner** S. et al.; Die TMPRSS2-ETS-Genfusion beim Prostatakarzinom (2007)
75. **Perner** S et al.; TMPRSS2:ERG fusion-associated deletions provide insight into the heterogeneity of prostate cancer. (2006)

76. **Perner S** et al.; TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer: an early molecular event associated with invasion (2007)
77. **Pinto F** et al.; Clinical and pathological characteristics of patients presenting with biochemical progression after radical retropubic prostatectomy for pathologically organ-confined prostate cancer (2006)
78. **Podsypanina K** et al.; Mutation of PTEN/MMAC1 in mice causes neoplasia in multiple organ systems. (1999)
79. **Porter** et al; 25-year prostate cancer control and survival outcomes: a 40-year radical prostatectomy single institution series. J Urol. (2006)
80. **Rajput AB** et al.; Frequency of the TMPRSS2: ERG gene fusion is increased in moderate to poorly differentiated prostate cancers (2007).
81. **RKI** (Robert Koch-Institut) und **GEKID** (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister e. V.; Krebs in Deutschland 2005/2006 Häufigkeiten und Trends (2010)
82. **Ross RK** et al.; The ethiology of prostate cancer: what does epidemiology suggest? (1983)
83. **Roylance R** et al.; The genetic analysis of prostate carcinoma. (1997)
84. **Saad F** et al.; A randomized, placebo-controlled trial of zoledronic acid in patients with hormone- refractory metastatic prostate carcinoma (2002).
85. **Sauter G** et al.; Zytogenetische Veränderungen des Prostatakarzinoms. (1998)

86. **Setlur** SR et al.; Estrogen-dependent signaling in a molecularly distinct subclass of aggressive prostate cancer. (2008)
87. **Sharrard** RM et al.; Phenotypic effects of overexpression of the MMAC1 gene in prostate epithelial cell. (2000)
88. **Slattery** M L et al.; French Food consumption trends between adolescent and adult years and subsequent risk of prostate cancer (1990)
89. **Sökeland**, Schulze, Rübber; Urologie 14. Auflage 2007
90. **Spigelman** S S et al.; Rectal examination in volume determination of carcinoma of the prostate: clinical and anatomical correlations (1986)
91. **Statistisches Bundesamt**, Fachserie 12, Reihe 4 (2008)
92. **Steck** et al., Identifikation of a candidate tumor suppressor gene MMAC 1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers;
93. **Steinberg** et al; Family history and the risk of prostate cancer.
94. **Steiner** U et al.; Das local fortgeschrittene Prostatakarzinom im Operationspräparat – was tun? (1998)
95. **Stephenson** AJ et al.; Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy (2006)
96. **Tamura** M et al.; Inhibition of Cell Migration, Spreading and Focal Adhesions by Tumor Suppressor PTEN (1998)

97. **Tomlins** SA, Mehra R, Rhodes DR, Smith LR, Roulston D;  
TMPRSS2:ETV4 gene fusions define a third molecular subtype of  
prostate cancer
98. **Tomlins** SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM; Recurrent fusion  
of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer  
(2005)
99. **Tomlins** SA et al.; Distinct classes of chromosomal rearrangement create  
oncogenic ETS gene fusion in prostate cancer (2007).
100. **Trinca** P J et al.; Study shows no increased risk of prostate cancer in  
vasectomied men (1994)
101. **Tu** JJ et al.; Gene fusions between TMPRSS2 and ETS family genes in  
Prostate cancer: frequency and transcript variant analysis by RT-PCR  
and FISH on paraffin-embedded tissues. (2007)
102. **Tumorzentrum München**; Manual Urogenitale Tumore
103. **Van der Poel** HG et al.; Sequential treatment for recurrent localized  
prostate cancer (2008)
104. **Vlietstra** RJ et al.; Frequent inactivation of PTEN in prostate cancer  
cell lines and Xenografts. (1998)
105. **Wang** J et al.; Expression of variant TMPRSS2/fusion messenger  
RNAs is associated with aggressive prostate cancer. (2006)
106. **Walker** PR et al.; Detection of the initial stages of DNA fragmentation  
in apoptosis. (1993)

107. **Whittemore AS** et al.; PSA as a predictor of prostate cancer in black men and white men (1995)
108. **Wilson S**, Greer B, Hooper J, Zijlstra A; The membrane-anchored serine protease, TMPRSS2 activates PAR-2 in Prostate cancer cells
109. **Wirth MP** et al.; PSA-Rezidiv nach primär kurativer Therapie – lokal oder systemisch? Wann ist eine kurativer Zweittherapie noch möglich? (2005)
110. **Young H H**; Four cases of radical prostatectomy. In: Johns Hopkins Bull. (1905)
111. **Yoshimoto M** et al.; Absence of TMPRSS2:ERG fusion and PTEN losses in prostate cancer is associated with a favorable outcome (2008)
112. **Yamamoto T** et al.; The role of surviving as a new target of diagnosis and treatment in human cancer. (2001)
113. **Yablon CM** et al.; Complications of prostate cancer treatment: spectrum of imaging findings (2004)

Mein herzlicher Dank gilt:

Herrn PD Dr. Maximilian Burger, Oberarzt am Lehrstuhl für Urologie der Universität Regensburg, für die Überlassung des Themas, die stets hilfsbereite und freundliche Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit sowie die Übernahme des Referates;

Herrn PD Dr. Peter Johannes Wild vom Lehrstuhl für klinische Pathologie am Universitätsspital Zürich für die zur Verfügung gestellten Züricher Proben.

Frau Nina Niessl aus dem Forschungslabor der urologischen Universitätsklinik für die Erstellung der Tissue-Microarrays (TMA).

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Geboren in Regensburg am 21.05.1977 als erstes von zwei Kindern der Eheleute Walter und Roswitha Winklmeier; Familienstand: verheiratet, keine Kinder.

### Ausbildung

Juli 1999	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife
1999 – 2004	Studium der Zahnmedizin an der Universität Regensburg
Dezember 2004	Approbation als Zahnärztin
März 2005 – Sept. 2006	allgemeinzahnärztliche Assistentin
Okt. 2006 – Jan. 2010	Weiterbildung im Fach Kieferorthopädie
Seit Februar 2010	Fachzahnärztin für Kieferorthopädie