

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Christian Stief

Evaluation und prognostische Bedeutung der Expression
von Uridindiphosphat-N-Acetylglucosamin-Pyrophosphorylase 1
(UAP1) in Prostatakarzinomgewebe.

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Jana Anna Hohloch

aus
Lindau
2017

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Patrick J. Bastian

Mitberichterstatterinnen: Priv. Doz. Dr. Ute Gauswindt
Priv. Doz. Dr. Ursula Zimmer-Strobl

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. Philipp Nuhn

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 20.07.2017

Meinen Eltern.

Teile dieser Arbeit wurden mit Genehmigung des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, der Forschungsgruppe der urologischen Fachklinik zu translationaler Prostatakarzinomforschung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf sowie des Zentrums für Prostatakarzinome der Martini-Klinik am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf unter dem Titel veröffentlicht:

„UAP1 is overexpressed in prostate cancer and is protective against inhibitors of N-linked glycosylation“.

Itkonen, H.M., Engedal, N., Babaie, E., Luhr, M., Guldvik, I.J., Minner, S., Hohloch, J., Tsourlakis, M.C., Schlomm, T., Mills, I.G. (2015). UAP1 is overexpressed in prostate cancer and is protective against inhibitors of N-linked glycosylation. *Oncogene*. 34(28), 3744-3750.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	8
1.1	Prostata und Prostatakarzinom	8
1.2	Karzinogenese des Prostatakarzinoms.....	10
1.3	Diagnostik.....	13
1.4	Therapieoptionen	15
1.5	Klinische Prognosefaktoren (PSA/TNM/Resektionsrand/Gleason).....	16
1.6	Molekularbiologische Methoden.....	20
1.7	Molekulare Biomarker: PTEN, AR, mTOR, ERG	20
1.8	UAP1	24
1.9	Ziel der Arbeit	25
2	Material und Methoden.....	26
2.1	Patientenkollektiv und Gewebekollektiv	26
2.2	TMA-Herstellung	26
2.3	Immunhistochemie	29
2.4	Auswertung.....	32
2.5	Statistik	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Zytoplasmatische UAP1-Expression.....	35
3.1.1	Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren	35
3.1.2	Vergleich mit PTEN-Deletionsstatus	37
3.1.3	Vergleich mit AR-Expressionsstatus	37
3.1.4	Vergleich mit mTOR-Expressionsstatus	38
3.1.5	Vergleich mit ERG-Expressionsstatus	39

3.1.6	Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Prognosefaktoren	40
3.1.7	Überlebensanalyse bei ERG-Negativität.....	42
3.1.8	Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren	43
3.1.9	Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status.....	44
3.2	Zytoplasmatische/nukleäre UAP1-Expression	46
3.2.1	Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren	46
3.2.2	Vergleich mit ERG-, AR- und mTOR-Expressionsstatus.....	47
3.2.3	Überlebensanalyse bei zytoplasmatischer/nukleärer UAP1-Expression.....	49
3.2.4	Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Prognosefaktoren	49
3.2.5	Überlebensanalyse bei ERG-Negativität.....	51
3.2.6	Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren	52
3.2.7	Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status.....	54
4	Diskussion.....	56
4.1	Zusammenhang von UAP1-Expression mit klinischen Prognosefaktoren.....	56
4.2	Zusammenhang von UAP1-Expression mit ERG-Expression	61
4.3	Zusammenhang von UAP1-Expression mit mTOR-Expression.....	64
4.4	Zusammenhang von UAP1-Expression mit PTEN-Status	65
4.4.1	Zusammenhang von UAP1-Expression mit IGF-1R	65
4.5	Zusammenhang von UAP1-Expression mit AR-Expression.....	67
4.6	Limitationen.....	69
4.7	Ausblick.....	70
4.7.1	Regulatorische Aktivität von UAP1	70
4.7.2	Einfluss von UAP1 auf die ER-Stressantwort.....	71
5	Zusammenfassung.....	73
6	Abbildungsverzeichnis.....	75
7	Abkürzungsverzeichnis	76
8	Literaturverzeichnis	79

9	Danksagung.....	101
10	Eidesstattliche Versicherung	102

1 Einleitung

1.1 Prostata und Prostatakarzinom

Die Prostata ist eine exokrine Drüse des inneren männlichen Genitales, die im kleinen Becken in topographischer Nähe zu Urethra, Harnblase, Samenblasen, Diaphragma urogenitale und Rektumampulle liegt (Sökeland et al., 2004; Benninghoff & Drenckhahn, 2008). Makroskopisch lässt sich die Prostata in drei Lappen und den ventral gelegenen Isthmus Prostatæ einteilen. Eine straffe Bindegewebskapsel umschließt die Prostata, deren fibromuskuläres Stroma tubuloalveoläre Drüsen enthält, welche in die Harnröhre münden. Diese produzieren ein dünnflüssiges Sekret, das bis zu einem Drittel des Ejakulats ausmacht (Sarosdy, 1997; Lippert, 2011).

Nach klinisch-histologischen Aspekten erfolgt die Gliederung der Prostata, wie in Abbildung 1.1 dargestellt, in die periurethrale Übergangszone mit 5%-10% der Prostatadrüsenmasse, die zentrale Zone mit 25% und die periphere Zone mit 70% des Drüsengewebes. Das anterior gelegene fibromuskuläre Stroma gilt als drüsenfrei (McNeal, 1981; Schünke et al., 2005 ; Benninghoff & Drenckhahn, 2008).

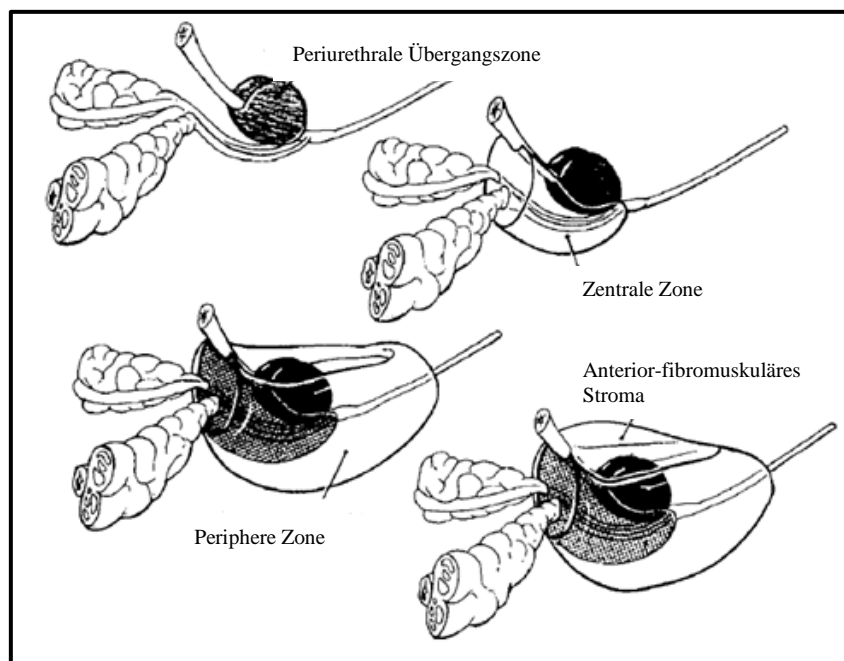


Abb. 1.1 Zoneneinteilung der Prostata nach McNeal; Schematische Darstellung des zonalen Aufbaus der Prostata, von periurethral nach peripher/anterior gegliedert unter topographischer Beziehung zu Urethra und Samenblasen. Nach (Hammerich et al., 2008)

Das Adenokarzinom der Prostata gilt als häufigster maligner Tumor des Mannes und stellt mit 10% Gesamtkrebsmortalität deutschlandweit die maligne Erkrankung des Mannes dar, die

neben Malignomen von Lunge und Darm die höchste Mortalitätsrate führt (Robert Koch-Institut, 2013).

Die Prostatakarzinogenese ist multifaktoriell, wobei die Einzelkomponenten teilweise kontrovers diskutiert werden. Als wichtigster Risikofaktor gilt ein Alter über 60 Jahre, gefolgt von positiver Familienanamnese, wobei generell davon ausgegangen wird, dass 85% der Prostatakarzinome sporadisch und nur 15% familiär bedingt sind (Zeegers et al., 2003; Rohde et al., 2007; Kral et al., 2011). Einen weiteren Risikofaktor stellt die ethnische Zugehörigkeit dar, wobei höchste Prostatakarzinominzidenzen für afroamerikanische und niedrigste für asiatische Männer gelten: Neben genetischen Polymorphismen scheint dieser Unterschied auch in ethnientypischen Ernährungsgewohnheiten zu gründen, wobei lykopenhaltige Tomatenprodukte, Soja und Grüntee als präventiv beschrieben werden (Hebert et al., 1998; Cussenot & Valeri, 2001; Quinn & Babb, 2002; Bostwick et al., 2004a; Gupta, 2007; Kimura, 2011).

Mehr als 90% der Prostatakarzinome sind Adenokarzinome mit hauptsächlich azinärem Wachstumsmuster (Bostwick et al., 2003; Eble et al., 2004). Zu 68% kann der Tumorausprung der peripheren Zone, zu 24% der periurethralen und zu 8% der zentralen Zone zugeordnet werden, insgesamt sind jedoch über 50% aller Prostatakarzinome multifokal nachweisbar (McNeal et al., 1988; Shannon et al., 2003). Als prämaligener Vorläufer gilt die prostatistische intraepitheliale Neoplasie (PIN), ein Carcinoma in situ, welches in niedriggradige und hochgradige PINs unterteilt wird. Eine Adenom-Karzinom-Sequenz wie beim Kolonkarzinom ist bis dato nicht bekannt, das Vorliegen eines hochgradigen PIN gilt jedoch als relevant für den Progress zu höhergradigen Prostatakarzinomen der peripheren Zone (Bostwick et al., 2004b ; Bonkhoff, 2006; Bonkhoff, 2007).

Kapselüberschreitende Tumoren der Prostata infiltrieren vor allem die Samenblasen, die erektilen Nervenstränge, Blase und Rektum. Eine erste lymphogene Absiedelung erfolgt iliakal, retroperitoneal und paraaortal. Im Rahmen der hämatogenen Metastasierung kommt es vor allem zu ossären Filiae mit osteoplastisch-osteolytischer Morphe, die insbesondere das Achsenskelett und dabei aufgrund des venösen Abstroms vornehmlich die lumbale Wirbelsäule betreffen. Die weitere hämatogene Metastasierung betrifft Lunge, Leber, Pleura und Nebennieren (Bubendorf et al., 2000; Brössner et al., 2001; Ye et al., 2007).

1.2 Karzinogenese des Prostatakarzinoms

Für die Transformation einer Zelle in eine Tumorzelle sind genetische Änderungen der kontrollierenden Zellzyklusgene essentiell. Diese betreffen vor allem Protoonkogene und Tumorsuppressorgene. *Hanahan* und *Weinberg* beschreiben die sechs Charakteristika der Karzinogenese, die in Abbildung 1.2 dargestellt sind und im Folgenden näher erläutert werden sollen (Hanahan & Weinberg, 2000).

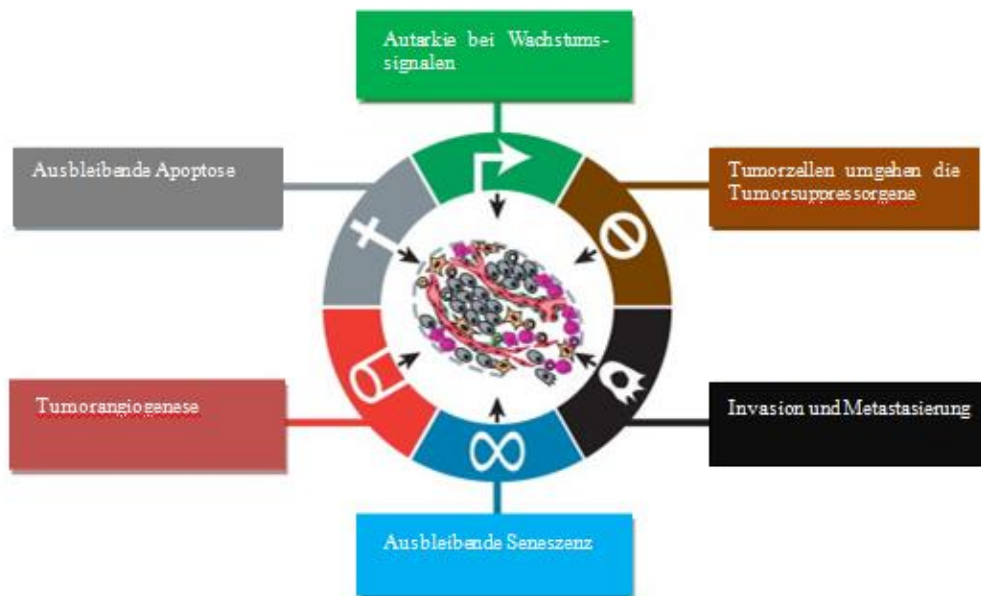


Abb. 1.2 Charakteristika der Karzinogenese; Schematische Darstellung des Karzinogenese-Modells nach Hanahan & Weinberg (Hanahan & Weinberg, 2011)

Autarkie bei Wachstumssignalen

Die physiologische Zellproliferation wird durch Wachstumsfaktoren wie IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor 1) gesteuert. Zur Signaltransduktion bindet der Wachstumsfaktor an eine Rezeptor-Tyrosinkinase, die durch Autophosphorylierung das Signal ins Zellinnere weiterleitet. Die Signaltransduktion verläuft als Kaskade über zyttoplasmatische Kinasen und regt über Transkriptionsfaktoren, die Kernlokalisationssequenzen besitzen und so in den Nukleus vordringen können, die Transkription an (Ritter, 2005; Korbmacher, 2010).

Tumorzellen hingegen besitzen die Fähigkeit, eigene Signaltransduktionskaskaden zu generieren. Hier kann der extrazelluläre Anteil, die Funktion des transmembranösen Rezeptors, oder die intrazelluläre Kaskade bis hin zur Transkription modifiziert sein (Hanahan & Weinberg, 2000).

So können Wachstumsfaktoren in Form von Rezeptor-Liganden-Komplexen beispielsweise den Androgenrezeptor (AR) phosphorylieren und somit aktivieren. Zusätzlich besteht durch Fehlfunktion des Rezeptors die Möglichkeit der Entstehung einer autokrinen Wachstumsschleife, in der der Tumor seine wachstumsfördernden Faktoren selbst generiert. Diese ligandenunabhängige Aktivierung des AR spielt vor allem bei der Entwicklung des Prostatakarzinoms hin zur Androgenresistenz eine elementare Rolle (Glynn-Jones et al., 1996; Gil-Diez de Medina et al., 1998; Giri et al., 2001; Culig et al., 2002; Börgermann et al., 2014).

Tumorzellen umgehen die Tumorsuppressorgene

Während des Zellzyklus sorgen Tumorsuppressorgene als Kontrollpunkte für ein Proliferationsgleichgewicht: Zellen verlassen den aktiven Zellzyklus und gehen in die Ruhephase über, aus der sie jedoch über extrazelluläre Signale reaktiviert werden können. Alternativ treten Zellen in postmitotische Stadien ein, in denen sie sich u.a. zu Gewebezellen differenzieren. Durch Mutation, Deletion, aber auch durch epigenetische Veränderungen können Tumorsuppressorgene inaktiviert werden (Hanahan & Weinberg, 2000).

Bisher wurden beim Prostatakarzinom zahlreiche Tumorsuppressorgene analysiert. Beispielhaft soll die Rolle des in dieser Arbeit als Marker verwendete PTEN (Phosphatase and Tensin homolog) unter Kapitel 1.7 erläutert werden.

Uneingeschränkte Teilungsfähigkeit durch ausbleibende Seneszenz

Im Gegensatz zu normalem Gewebe schützen in hochproliferativen Geweben sowie in Stammzellen repetitive Sequenzen die Chromosomenenden, sogenannte Telomere.

Ohne Telomere träte eine Chromosomenendverkürzung bei jeder einzelnen Zellteilung auf mit resultierender Seneszenz und Zelltod. Im Laufe der Karzinogenese gewinnen Tumorzellen ebenfalls eine Telomeraseaktivität, die sie vor Zellalterung schützt. So lässt sich in circa 90% der untersuchten Prostatakarzinomproben eine Telomeraseaktivität nachweisen, die bei gesundem Prostatagewebe inexistent ist (Shay & Bacchetti, 1997; Zhang et al., 1998; Heaphy et al., 2011).

Ausbleibende Apoptose

Im gesunden Gewebe dient die Apoptose der Homöostase und kann sowohl intrinsisch über Caspasen als auch extrinsisch über Tumornekrosefaktorrezeptoren initiiert werden. Dem Zelltod zu entgehen stellt neben Proliferation einen wichtigen Faktor in der Karzinogenese dar, der über den Funktionsverlust von Proto-Onkogenen, Überexpression deren Antagonisten sowie dem Funktionsverlust von Tumorsuppressorgenen gewonnen wird. Eine wesentliche Rolle hinsichtlich ausbleibender Apoptose bei Prostatakarzinomen wird hierbei den Protoonkogenen und Antagonisten der sogenannten Bcl-2-Familie zugeschrieben, die im Rahmen des PI3K/Akt/mTOR-Signalwegs fungieren, auf den in Kapitel 1.7 näher eingegangen werden soll (Quinn et al., 2005; Adams & Cory, 2007).

Tumorangiogenese

Die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen stellt eine wachstumslimitierende Größe dar. Tumorzellen besitzen die Fähigkeit, diese zu umgehen, indem sie mittels angiogenetischer Faktoren die Gefäßpermeabilität erhöhen, Endothelzellen zu Proliferation und perivaskulärer Migration stimulieren und schließlich über Neuordnung dieser Endothelzellen ein Kapillarsystem mit Gefäßnetzanschluss generieren (Folkman et al., 1989). Die Expression dieser Faktoren kann sowohl durch Hypoxie, aktivierte Onkogene, als auch inhibierte Tumorsuppressorgene getriggert werden und aus strukturellen Änderungen des kapillären Gefäßnetzes in Mikroblutungen und Mikrothromben resultieren. Diese gelten als wichtige Karzinomkomplikationen und begünstigen wiederum eine Metastasierung (Verheul et al., 2000; van Moorselaar & Voest, 2002; Baeriswyl & Christofori, 2009; Labelle et al., 2011; Nagy & Dvorak, 2012). Einige Studien zu Prostatakarzinomen zeigen, dass Neoangiogenese bereits in Tumorfrühstadien eine wichtige Rolle spielt und mit schlechterer Prognose und Tumorprogress assoziiert ist (Chevalier et al., 2002; Raica et al., 2009).

Tumorwachstumsverhalten: Invasion und Metastasierung

Ungebremstes Wachstum und das Herauslösen aus dem epithelialen Zellverband erlaubt es Tumoren, hämatogen und lymphogen zu metastasieren. Werden im normalen Gewebe über direkten Zellkontakt wachstumsregulatorische Signalkaskaden angeregt, so lässt sich bei

tumorös veränderten Zellen eine Inaktivierung dieser feststellen. Eine wichtige Rolle für die Metastasierungsfähigkeit des Prostatakarzinoms scheint der Verlust von transmembranen Adhäsionsproteinen zu spielen. Die Kopplung dieser mit Tyrosinrezeptorkinasen resultiert in einer zellverbandstabilisierenden und antiproliferativen Signalkaskade. Bei Inaktivierung der Adhäsionsproteine aufgrund Allelverlust, epigenetischer Veränderung des entsprechenden Promotors oder Funktionsverlust der Adhäsionsproteinuntergruppen kommt es in Folge zu Zellproliferation, Tumorwachstum und Destabilisierung von Zell-Zell-Kontakten, was als wichtigster Faktor zur Erlangung von Metastasierungs- und Invasionsfähigkeit gesehen wird (Graff et al., 1995; Rowley & Mason, 1997; Hirohashi, 1998; Demarzo et al., 2003; Hanahan & Weinberg, 2011).

1.3 Diagnostik

Etwa 5-15% der Prostatakarzinome werden inzidentell ohne vorbestehenden Tumorverdacht im Rahmen einer transurethralen Resektion der Prostata (TURP) diagnostiziert, die beispielsweise bei urethraler Stenose im Rahmen einer benignen Prostatahyperplasie (BPH) vorgenommen wird. Latente Karzinome werden postmortem durch Obduktion diagnostiziert und zeigten sich zu Lebzeiten symptomlos. Als insignifikante Karzinome werden organbegrenzte, niedriggradige Prostatakarzinome bezeichnet, die wie die anderen angeführten Karzinomformen in der Regel nicht therapiebedürftig sind. Es bedarf daher einer Differenzierung nicht-therapiebedürftiger von therapiebedürftigen Karzinomerscheinungen wie den manifesten Prostatakarzinomen, welche klinisch diagnostiziert und histologisch gesichert werden, sowie von okkulten Prostatakarzinomen, die klinisch erstmalig durch Metastasen in Erscheinung treten (Martino et al., 2004; Melchior et al., 2009; Hakenberg, 2010).

Der Gefahr der Übertherapie bei Detektion insignifikanter Tumoren muss in der Diagnostik Rechnung getragen werden, um durch frühe, richtig-positive Erfassung und Beurteilung eines Karzinombefundes die Therapiemaßnahmen auswählen zu können, die die Lebensqualität des Patienten so wenig wie möglich belasten und doch ein optimales Behandlungsergebnis erzielen.

Bei der digitalen rektalen Untersuchung (DRU) ist aus anatomischen Gründen lediglich die dorsale Seite der Prostata palpabel. Ein positiver Tastbefund ist zudem nur möglich, solange das Karzinom ein Mindestvolumen von 0,2ml besitzt. Nur 18% der Karzinome werden

isoliert durch einen auffälligen Tastbefund diagnostiziert. Aufgrund dessen eignet sich die DRU nur in Kombination mit weiteren diagnostischen Mitteln als Früherkennungsmethode ab dem 40. Lebensjahr für Prostatakrebs (Heidenreich et al., 2010; Börgermann et al., 2014).

Das Prostataspezifische Antigen (PSA) ist eine Serinprotease aus der Familie der glandulären Kallikreine, die 1979 erstmalig als gewebespezifisches Antigen der Prostata identifiziert wurde (Wang et al., 2002, Rao et al., 2008). Das Glykoprotein wird androgenreguliert von Prostataepithelzellen produziert und in Seminalplasma sowie zu einem geringeren Anteil ins Serum sezerniert (Lilja, 1985). Erhöhte Zellaktivität durch das Vorliegen eines Prostatatumors spiegelt sich in erhöhten PSA-Spiegeln wider. PSA ist jedoch nicht karzinomspezifisch: BPH, Prostatitiden, Harnverhalt oder Manipulationen können sich temporär erhöhend auf den PSA-Wert auswirken (Wirth et al., 2014). Die Gliederung der altersspezifischen Referenzwerte nach Osterling ist Abb. 1.3 zu entnehmen.

Altersgruppe in Jahren	Grenzwerte PSA in ng/ml
40 - 49	< 2,5
50 - 59	< 3,5
60 - 69	< 4,5
70 - 79	< 6,5

Abb. 1.3 Altersspezifische PSA-Grenzwerte; nach Oesterling, aus (Vanherpe & Osieka, 2003).

Durch die PSA-Screeninguntersuchung wurde seit 1990 die Sterblichkeitsrate des Prostatakarzinoms um 20% reduziert (Robert Koch-Institut & die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V., 2010; Schröder et al., 2012). Gleichzeitig erhöhte sich jedoch die Inzidenzrate mit Aufkommen des Prostatakarzinomscreenings und im Rahmen des demographischen Wandels, im Intervall von 1980 bis 2004 beispielsweise um bis zu 240% (Potosky et al., 1995; Robert Koch-Institut, 2010; Robert Koch-Institut, 2013b).

Mit der Zahl der detektierten Prostatakarzinome stieg auch die Zahl der detektierten insignifikanten, klinisch silenten Prostatakarzinome. Dabei werden durch das Screening Patienten als erkrankt erfasst, welche zeitlebens jedoch keine klinischen Symptome zeigen und durch Therapie ihres latenten Prostatakarzinoms keinen Gewinn im Sinne von Lebensqualität oder Lebensverlängerung erfahren (Schröder et al., 2009).

Mithilfe des transrektalen Ultraschalls (TRUS) ist eine Beurteilung der Prostatamorphologie, des Volumens, extraglandulären Wachstums und potentieller Läsionen möglich.

Unspezifische Tumorpräsentation und schwieriges Erkennen von multiplen Kleinstläsionen setzen die Sensitivität für einen Tumornachweis bei etwa 50% an. Aufgrund dessen wird der TRUS vor allem als Visualisierungshilfe zur Biopsie oder bei Platzierung lokaler Radiotherapeutika empfohlen (Salo et al., 1987; Sedelaar et al., 2001; Raja et al., 2006; Hricak et al., 2007; Mueller-Lisse, 2008).

Die transrektale oder transperineale Stanzbiopsie gilt in der Prostatakarzinomdiagnostik als obligat. Standardmäßig wird sie unter sonographischer Bildgebung mittels Biopsiepistole und unter perioperativer Antibiotikaphylaxe durchgeführt, wobei standardmäßig zwölfmal lateral und parasagittal aus Apex, Mitte und Basis gestanzt wird (Eichler et al., 2006; Raja et al., 2006; Bootsma et al., 2008). Eine Biopsieindikation basiert auf der Höhe des (kontrollierten) PSA-Spiegels oder einer auffälligen DRU (Catalona et al., 1994; Börgermann et al. 2010, Mottet et al., 2014). Bei initial negativen Stanzergebnissen kann bei weiterbestehendem Tumorverdacht eine Re-Biopsie nach sechs Wochen vorgenommen werden, bei der Detektionsraten von 10-20% beschrieben werden (Djavan et al., 2002).

Im Rahmen der Stagingdiagnostik stehen Verfahren wie Sonographie, Computertomographie, Magnetresonanztomographie, Magnetresonanzspektroskopie, Urethrozystoskopie, intravenöse Urographie oder Skelettszintigraphie zur Verfügung, um Tumorausdehnung, Infiltration, Metastasierung oder einen zeitlichen Verlauf beurteilen zu können (Carroll et al., 2006; Wirth et al., 2014).

1.4 Therapieoptionen

Unter Berücksichtigung von Lokalisation, Erstmanifestation oder Rezidiv, Lebenserwartung bezogen auf 10 Jahre, Komorbiditäten, Metastasierung, Androgenrezeptorstatus sowie Risikostratifizierung mittels klinischer Prognosefaktoren erfolgt die Therapieauswahl (National Collaboration Centre for Cancer, 2014; Wirth et al., 2014).

Für lokale Prostatakarzinome bei gleichzeitiger Lebenserwartung über 10 Jahre bieten sich die Möglichkeiten von „Active Surveillance“ (aktive Überwachung bei Niedrigrisikotumor. Kurative Intervention jederzeit möglich), radikaler Prostatatektomie mit oder ohne Lymphadenektomie oder Radiatio (perkutan, lokal als Brachytherapie) an. Bei Lokalrezidiv oder nach unvollständiger Tumorresektion besteht die Möglichkeit einer anschließenden, adjuvanten Radiatio bzw. frühzeitiger Kombination mit Hormontherapie, welche auf die

Androgenabhängigkeit des Karzinomwachstums abzielt. Sind weniger als 10 Jahre Überleben zu erwarten, kann die Strategie „Watchful-Waiting“ (beobachtendes Abwarten) mit Symptomkontrolle versucht werden (Ohuri & Scardino, 2002; Bott et al., 2003; Bastian et al., 2009; Heidenreich et al., 2010).

Zur Nachsorge nach lokal kurativ intendierter Therapie erfolgt die regelmäßige PSA-Bestimmung: Erstmalig wird der PSA-Spiegel spätestens 12 Wochen postinterventionell, innerhalb der folgenden 2 Jahre vierteljährlich, im 3. und 4. Jahr halbjährlich und vom 5. Jahr an in jährlichen Intervallen erfasst. Etwa 3 Monate nach radikaler Prostatatektomie sollte der PSA-Wert unter der Nachweisgrenze liegen. Ein biochemisches Rezidiv gilt bei Wiederanstieg des PSA-Wertes als gesichert, wenn mindestens zwei Messergebnisse im Abstand von 2 Wochen steigende Tendenz von $>0,2\text{ng/ml}$ boten (Heidenreich et al., 2010; Wirth et al., 2014).

Im metastasierten Stadium ist eine kurative Therapie nicht mehr möglich, das mediane Überleben bei Vorliegen von Fernmetastasen wird mit 28-53 Monaten beschrieben (Heidenreich et al., 2010). Durch hormonablative Therapie kann das androgenabhängige Tumorwachstum für wenige Jahre verzögert werden. Die 10 Jahre-Überlebensrate wird dennoch auf lediglich 7% angesetzt, da die Progression im weiteren Verlauf zu androgenunabhängigem Tumorwachstum führt (Tangen et al., 2003). Auch durch Applikation von Chemotherapeutika kann in diesem androgenunabhängigen Stadium nur eine kurzzeitige Wachstumsverzögerung erreicht werden, sodass eine Symptomkontrolle zur Verhinderung beispielsweise pathologischer Frakturen in den Vordergrund rückt (von Eschenbach, 1981; Ye et al., 2007; Keil, 2012).

1.5 Klinische Prognosefaktoren (PSA/TNM/Resektionsrand/Gleason)

Bei der Analyse von Biomarkern mit möglicher prognostischer Relevanz müssen diese in klinischen Bezug gebracht werden. Dies wird versucht, indem sie mit etablierten, klinisch bedeutsamen Prognosefaktoren wie PSA-Wert, TNM-Stadien, Resektionsrand und Gleason korreliert werden. Auf die in dieser Arbeit verwendeten klinischen Prognosefaktoren soll im Folgenden eingegangen werden. Auf PSA wurde bereits in Kapitel 1.4 Bezug genommen.

TNM-Staging

Ausarbeitung und Weiterentwicklung der TNM-Klassifikation erfolgten durch die Union Internationale Contre Le Cancer (UICC) und das American Joint Committee on Cancer (AJCC). Die TNM-Klassifikation dient der Stadieneinteilung maligner Tumoren sowie der individuellen Risikostratifizierung bzw. Therapiekonzepterstellung und wird in Abbildung 1.4 dargestellt.

TX	Primärtumor nicht beurteilbar
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Klinisch nicht erkennbarer Tumor, nicht palpabel, in Bildgebung nicht erfassbar
T1a	„Inzidentelles Karzinom. <5% des resezierten Gewebes
T1b	„Inzidentelles Karzinom“. > 5% des resezierten Gewebes
T1c	Diagnose in Nadelbiopsie (z.B. mit PSA erhöht)
T2	Tumor begrenzt auf Prostata
T2a	Tumor befällt ≤ Hälfte eines Lappens
T2b	Tumor befällt ≥ Hälfte eines Lappens
T2c	Tumor in beiden Lappen
T3	Tumor durchbricht Prostatakapsel
T3a	Extrakapsuläre Ausbreitung (ein-/beidseitig/mikroskopisch nachgewiesene Infiltration Blasenhal)
T3b	Tumor infiltriert Samenblasen
T4	Tumor infiltriert weitere benachbarte Strukturen/ist an Beckenwand fixiert
Nx	Regionäre Lymphnoten nicht beurteilbar
N0	Keine regionären Lymphknoten-Metastasen
N1	Regionäre Lymphknoten-Metastasen
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Nichtregionäre/r Lymphknoten
M1b	Knochen
M1c	Weitere Lokalisation/en

Abb. 1.4 TNM-Klassifikation; nach (Wittekind & Meyer, 2010)

Die Facettenklassifikation TNM basiert auf dem klinischen Bild von Neoplasien und wird auch als cTNM bezeichnet. Sie beschreibt die Ausdehnung des Primarius und eine eventuell zusätzliche Metastasierung zu einem festgelegten Zeitpunkt. Hierbei steht T für Ausdehnung, Infiltration und Wachstumsverhalten des Primärtumors, N für regionären Lymphknotenbefall, bzw. Lymphknotenmetastasen und M für Fernmetastasen, wozu auch befallene, nicht-regionäre Lymphknoten zählen. Zusätzlich existiert eine pathologische Klassifikation, pTNM. Diese wird intraoperativ bzw. postoperativ mittels histopathologischer Untersuchung gebildet und bietet Anhalt für die Wahl einer adjuvanten Therapie und weiteren Prognoseeinschätzung (Greene et al., 2002; Wittekind & Meyer, 2010).

Resektionsrand (englisch „margin“)

Intraoperativ wird entnommenes Prostatagewebe randständig eingefärbt und im pathologischen Institut mikroskopisch untersucht. Der Nachweis von Tumorzellen am Absetzungsrand wird als „Resektionsrand-positiv“ bezeichnet. Die Einteilung erfolgt mit dem Buchstaben R für Residualtumor und wird mit X (nicht beurteilbar), 0 (kein Residuum), 1 (mikroskopisch nachweisbares Residuum) oder 2 (makroskopisch nachweisbares Residuum) zusätzlich bezeichnet (Wittekind & Meyer, 2010).

Der positive Resektionsrand wird als unabhängiger Prädiktor für ein biochemisches Rezidiv diskutiert. Einige Studien zeigten jedoch auf, dass der Resektionsstatus vor allem für Tumoren mit extrakapsulärer Ausdehnung und mäßiger Differenzierung als Prädiktor funktioniert, nicht jedoch für organbegrenzte, frühe Tumoren, da in diesen Fällen trotz positiven Resektionsrandes nur wenige Lokalrezidive zu beobachten sind. Der multifaktoriellen Genese des positiven Absetzungsrandes (Tumorgröße, -lokalisierung, Operationstechnik, Erfahrung des Operateurs) wird eine wichtige Rolle zugesprochen: Mehrere Autoren sprechen sich dafür aus, dass unter optimalen Operationsbedingungen ein positiver Resektionsstatus seltenst bei organbegrenzten, sondern vielmehr bei aggressiven und infiltrativen Karzinomen auftritt, denen bereits präoperativ ein erhöhtes Rezidivrisiko zugeschrieben würde (Ohuri et al., 1995; Graefen, 2006; Vis et al., 2006).

Trotz einiger kontroverser Aussagen wird der Resektionsrandstatus weiterhin als wichtiger Prognosefaktor gehandelt, muss aber im Kontext mit Tumolvolumen, Gleason-Score und weiteren Prognosefaktoren gesehen werden, bevor eine Therapiestrategie durchgeführt (Wieder & Soloway, 1998; Swindle et al., 2008).

Grading nach Gleason

Die histologische Graduierung bei Neoplasien der Prostata erfolgt über den Zelldifferenzierungsgrad, der mit zunehmender Entdifferenzierung ein steigendes malignes Potential aufweist. Die Graduierung erfolgt von G1, gut differenziert, über G2, mäßig differenziert, zu G3/4, schlecht differenziert/entdifferenziert (Greene, 2002).

Zahlreiche histologische Wachstumsmuster lassen sich beim Prostatakarzinom unterscheiden, die häufig gleichzeitig geboten werden. Aufgrund dieser erschwerten Klassifikation wurde die

Einteilung nach Gleason geschaffen. Hierbei lassen sich die Wachstumsmuster der Drüsenarchitektur nach dem Gleason-System in 5 histomorphologische Grade unterteilen, die jeweils einen Punktwert von 1 bis 5 erhalten (Gleason, 1992). Abbildung 1.5 führt diese Einteilung auf.

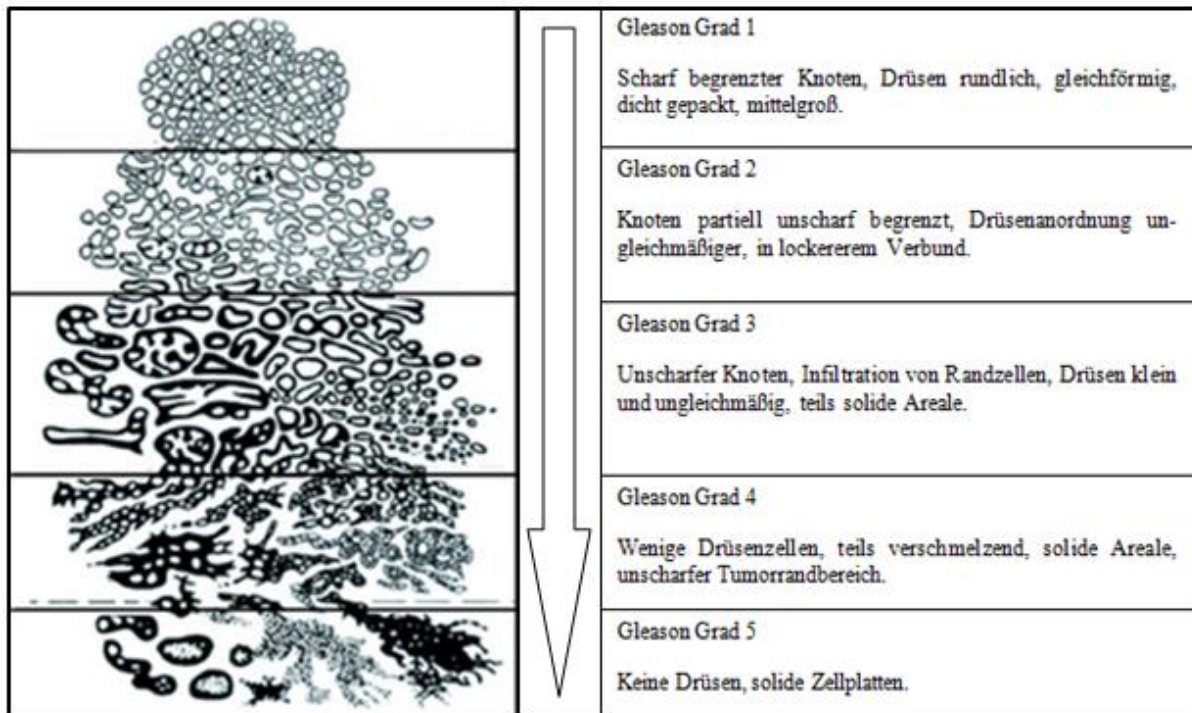


Abb. 1.5 Gleason Grading; schematische Darstellung der Drüsenmorphologie, nach (Helpap & Rübben, 1998; Humphrey, 2004)

Aus der Summe der Grade des visuell dominierenden primären und sekundären Wachstumsmusters bildet sich der Gleason-Score, der von minimal 2 (1+1) bis maximal 10 (5+5) rangiert. Das sekundäre Wachstumsmuster muss hier mindestens 3% der Gesamtläsionen bieten. Eine Summe aus (3+4) gilt als prognostisch günstiger als der gleiche Score aus der Summe (4+3), da bei letzterem das primäre Wachstumsmuster eine höhere Entdifferenzierung aufweist und somit höheres Malignitätspotential bietet (Humphrey, 2004).

Aufgrund der Korrelation des Gleason-Grades mit Malignität und Entdifferenzierung gilt dieser als einer der wichtigsten Faktoren, mit dem sich eine prognostische Aussage zur Prostatakarzinomentwicklung treffen lässt und somit die Wahl des Therapieschemas beeinflusst. Dies trifft jedoch lediglich auf primäre, unbehandelte Karzinome zu (Gleason et al., 2002; Bonkhoff, 2005; Epstein, 2010).

1.6 Molekularbiologische Methoden

In Kombination mit der Verwendung großer Gewebekollektive und umfassenden klinischen Informationen zum Patientengut finden in dieser Arbeit bezüglich molekularbiologischer Methoden vor allem die Immunhistochemie (IHC), die Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH), sowie die Tissue-Microarray-Methode (TMA) Verwendung.

Die TMA-Methode bietet zahlreiche Vorteile: Umfangreiche Gewebekollektive - bis zu 1000 Proben auf einem Objektträger - können mit großer Geschwindigkeit und vergleichsweise geringem Aufwand untersucht werden. Zudem verläuft die Färbung und Behandlung aller Proben eines TMA-Schnittes gleichzeitig, unter gleichen Bedingungen und somit standardisiert ab, was eine Streuung der Ergebnisse durch systematische Fehler reduziert. Ergebnisse aus großen Gewebekollektiven ermöglichen zudem ein höheres Signifikanzniveau als entsprechend kleinere. Weiterhin besteht eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, da zur Gewebeanalyse nur 0,6mm Gewebe des Originalgewebeblocks entnommen werden müssen, sodass dieser für weitere Untersuchungen zur Verfügung steht. Schließlich können an jedem einzelmem TMA-Block vielfache Schnitte mittels Mikrotom vorgenommen werden, die eine Reproduktion und somit Kontrolle der Analyseergebnisse ermöglichen (Kramer et al., 2007; Dancau et al., 2010).

1.7 Molekulare Biomarker: PTEN, AR, mTOR, ERG

Um nach Durchführung einer radikalen Prostatektomie die Überlebenschwarscheinlichkeit abschätzen zu können, werden Prognosefaktoren wie Gleason-Score, Resektionsrand, PSA im Serum und TNM-Stadium verwendet. Molekularbiologische Marker lassen direkte Rückschlüsse auf Zellaktivität zu. Da dies in Verbindung mit klinischen Prognosefaktoren als Ansatz für individualisierte Diagnostik gilt, liegt die Wichtigkeit der erweiterten Suche nach Markern, welche als diagnostische bzw. prognostische Biomarker für das Prostatakazinom herangezogen werden könnten, auf der Hand. Die in dieser Arbeit verwendeten, bereits etablierten, Biomarker sollen im Folgenden aufgeführt werden.

PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog deleted on chromosome 10) gilt als Tumorsuppressorgen am Genlokus 10q23 und stellt einen zentralen Punkt in der Karzinogenese des Prostatakazinoms dar, indem es für eine Lipidphosphatase der Zellzyklusregulation und Zelladhäsion kodiert. (Gray et al., 1995). Wird das Tumorsuppressorgen durch Verlust der Heterozygotie inaktiviert, so entfällt die

Antagonisierung der PI3K/Akt-Kaskade, welche über Transkriptionsfaktoren Zellproliferation, -überleben, -migration und -wachstum stimuliert (Davies et al., 1999; Chow & Baker, 2006). In der Literatur wird beschrieben, dass bei 28%-70% der Prostatakarzinome am Genlocus von PTEN Deletionen vorhanden sind (Gray et al., 1995; Cairns et al., 1997; Reid et al., 2010). Bereits im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass ein PTEN-Funktionsverlust die Prostatakarzinomentwicklung begünstigt und sich im Verlauf ein proliferierendes und invasives Wachstum einstellte (Wang et al., 2003; Ma et al., 2005). Durch zahlreiche Studien konnten der Deletionsstatus von PTEN mit wichtigen Tumorcharakteristika wie Zellproliferation bei gleichzeitig verminderter Apoptose (Pourmand et al. 2007), lokal fortgeschrittenem Tumorstadium (Verhagen et al., 2006; de Muga et al., 2010) und Tumorprogress (Halvorsen et al., 2003; Eble et al., 2004) assoziiert werden.

Desweiteren wird nach heutiger Studienlage der Funktionsverlust von PTEN als zusammenhängend mit aggressivem Wachstumsverhalten, Metastasierung und Hormonresistenz, interpretiert (Wu et al., 2007; Pourmand et al., 2007; Mulholland et al., 2011; Krohn et al., 2012).

Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass eine Aktivierung von Signalkaskaden wie der proteinphosphorylierenden Akt-Kaskade (besser bekannt als Proteinkinase-B) und von Wachstumsfaktoren wie IGF-1R (Insulin-like growth Faktor-1-Rezeptor) aufgrund eines Funktionsverlusts des PTEN-Gens mit schlechterer Prognose bzw. verkürzter Überlebenszeit zu assoziieren sind (Saal et al., 2007; Tennant et al., 2009; Zu et al., 2013). Reid et al. diskutieren hierzu die Möglichkeit, mittels FISH einen Genverlust bei Prostatakarzinomproben zu detektieren und so einen Biomarker zur Hand zu haben, der ein Patientenkollektiv bezüglich Überleben bei Prostata Tumoren besser differenzieren könne (Reid et al., 2010).

Der Androgenrezeptor (AR) zählt zur Familie der nukleären Rezeptoren und bildet einen Rezeptor-Liganden-Komplex mit Testosteron bzw. 5 α -Dihydrotestosteron aus. Dieser Komplex mit Transkriptionsfaktorfunktion bewirkt über Expression zahlreicher Zielgene unter anderem Zelldifferenzierung und Wachstum der Prostata. Während der Karzinogenese des Prostatakarzinoms lassen sich vielfältige Genveränderungen des AR bzw. dessen epigenetische Regulation beobachten (Schulz & Hoffmann, 2009; Waltering et al., 2012). An vorderster Front dieser Veränderungen stehen Punktmutationen und alternatives Splicing, welche die Ligandenspezifität des Androgenrezeptors aufheben, Überexpression von AR

sowie Amplifikation des AR-Gens (Trapman & Brinkmann, 1996; Holzbeierlein et al., 2004; Waltering et al., 2012).

Es wurde aufgezeigt, dass in metastasierten, hormonresistenten Prostatakarzinomzellen der Androgenrezeptor bzw. dessen Gentranskripte hochexprimiert vorliegen (Stanbrough et al., 2006; Taplin et al., 1995). Linja et al. beschreiben eine im Mittel sechsfache Expression von AR bei androgenresistenten Prostatakarzinomen, im Vergleich zu androgenabhängigen Prostatakarzinomen oder BPH (Linja et al., 2001). Aufgrund AR-Überexpression können Tumorzellen auf niedrigste Androgendosen reagieren und so proliferieren (Zegarra-Moro et al., 2002; Linja & Visakorpi, 2004; Waltering et al., 2009). Weiterführend zeigt die Studienlage auf, dass ein hoher AR-Expressionsstatus mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines Tumorrezidivs korreliert (Li et al., 2004; Donovan et al., 2010) und AR als Marker für Metastasierung, Hormonsensitivität, Tumorpheriferation und Rezidivrisiko gilt, solange AR im Kontext mit Stadium und Therapieschema interpretiert wird (Quinn et al., 2005; Grivas et al., 2012).

mTOR (mammalian target of rapamycin) stellt einen Teil des PI3K-AKT-mTOR-Signalweges (Phosphatidylinositol-3-Kinase/Proteinkinase B der Gene AKT1-3) dar, welcher über Transkriptionsfaktoren Zellproliferation, -überleben, -migration und -wachstum stimuliert (Chow & Baker, 2006), dessen komplexe Interaktionen trotz mehrjähriger Untersuchungen nicht gänzlich geklärt sind. Für den PI3K-AKT-mTOR-Signalweg spielen die Komplexformen von mTOR eine Schlüsselrolle, die wie folgt vorliegen können: Durch den mTOR-complex1 mit dem sogenannten Protein Raptor (regulatory associated protein of TOR) erfolgt die Kontrolle von Proteinbiosynthese und Zellzyklus, indem bei Nährstoffmangel die Komplexform mTORC1 stabilisiert wird und damit negativ regulierend auf die phosphorylierende mTOR-Kinase wirkt (Kim et al., 2002). Dieser Komplex 1 ist durch das Immunsuppressivum Rapamycin (Sirolimus/Tenisirolimus) und seine Analoga inhibierbar (Oshiro et al., 2004). Der mTOR-complex 2 mit Rictor (rapamycin insensitive companion of mTOR) gilt als Rapamycin-unempfindlich. Seine Rolle wird als Regulator für Proliferation und Aktivierung des AKT-Signalweges diskutiert (Jacinto et al., 2004; Hresko & Mueckler, 2005). In nicht-tumorösem Gewebe stellt mTOR einen Regulator für Wachstumssignale, Nährstoffverfügbarkeit, Verfügbarkeit von Sauerstoff und den Energiestatus der Zelle dar. mTOR-abhängige Phosphorylierung aktiviert Signalkaskaden, welche u.a. zur Expression von Genen wie AKT führen und damit Zellproliferation anregen. In der Karzinogenese spielt der PI3K/AKT/mTOR-Signalweg vor allem bezüglich der

Entwicklung fortgeschrittener Prostatakarzinomstadien eine wichtige Rolle: Nur in Karzinomgewebe lässt sich eine Überexpression von mTOR feststellen (Kremer et al., 2006). Müller et al. assoziieren darüber hinaus den aktivierten mTOR-Signalweg bei ERG-positiven Proben mit fortgeschrittenem Tumorstadium, hohem Gleason-Grade, frühem Tumorrezidiv sowie Lymphknotenmetastasen (Müller et al., 2013).

ERG (Eythroblast transformation-specific Related Gene) aus der Genfamilie der ETS-Gene (E-26 transformation specific sequence) stellt ein Protoonkogen auf 21q22.2 dar. Durch die nahe Lage zu dem Genlocus 21q22.3, welcher dem androgen-regulierten Gen TMPRSS2 (transmembrane serine protease 2 gene) zugeordnet wird, ist in 50% der Prostatakarzinomproben eine Fusionierung der beiden Gene zu TMPRSS2:ERG zu beobachten (Tomlins et al., 2005; Petrovics et al., 2005; Salagierski & Schalken, 2012). Ruhende Protoonkogene können durch eine Positionierung neben regulatorisch-aktivierenden Genloci aktiviert werden, wie es bei der Genfusion von TMPRSS2:ERG zu beobachten ist (Tomlins et al., 2007). Eine solche Repositionierung und Fusion kann über den Androgenrezeptor vermittelt werden (Shafi et al., 2013). Androgeninduziert resultiert eine Überexpression des ERG-Genprodukts in Form des Transkriptionsfaktors ERG. Die Überexpression von ERG Genprodukten treibt über Signalkaskaden die Tumorentstehung voran (Tomlins et al., 2007; Ribeiro et al., 2011).

Mehrere Autoren thematisieren ERG in seiner Rolle als Fusionsgen TMPRSS2-ERG im Zusammenhang mit der Karzinogenese des Prostatakarzinoms, wobei die Überexpression des TMPRSS2:ERG-Genprodukts mit aggressivem Tumorphänotyp assoziiert wird, im Speziellen mit der Tendenz zu höheren Tumorstadien und ungünstiger Überlebensrate (Demichelis et al., 2007; Gopalan et al., 2009; Salagierski & Schalken, 2012).

Petrovics et al. suggerieren, dass ERG eine Möglichkeit als Marker für tumorfreie Überlebenszeit darstellen könne, indem nach radikaler Prostatektomie die ERG-Expression quantitativ in Bezug auf tumorfreie Zellen evaluiert werde (Petrovics et al., 2005). Auch eine Rolle als spezifischer, da nur in Prostatakarzinomgewebe nachweisbarem, nicht-invasiven Biomarker für die Prostatakarzinomdiagnostik bzw. zur Kontrolle falsch-negativer Biopsien wird in der Literatur diskutiert (Hessels et al., 2007; Nguyen et al., 2011).

1.8 UAP1

Das Gen UAP1 (Uridindiphosphat-N-Acetylglucosamin Pyrophosphorylase 1), welches sich auf Chromosom 1q23.3 befindet, codiert für das zytoplasmatische Protein UAP1 (Mio et al. 1999) und ist ein Enzym der Aminozuckermetabolisierung, kurz HBP (Hexosamine Biosynthesis Pathway) (Mio et al., 1998). Dessen Funktion besteht in der Aktivierung der N-acetylierten Aminozucker N-Acetylglucosamin-1-Phosphat (GlcNAc-1-P) und N-Acetylgalactosamin-1-Phosphat (GalNAc-1-P), da der Einbau acetylierter Aminozucker als Metabolit in Glykoproteinen, Glykolipiden und Proteoglykanen nur als aktivierte Uridindiphosphat-Derivate (UDP) funktioniert. Hierbei katalysiert UAP1 im letzten Schritt der Aminozuckerbiosynthese (unter Verwendung von Uridintriphosphat (UTP) die Phosphorylierung von GlcNAc-1-P und GalNAc-1-P zu UDP-N-Acetylglucosamin (UDP-GlcNAc) und UDP-N-Acetylgalactosamin (UDP-GalNAc) (Mio et al., 1998; Peneff et al., 2001; Linnemann & Kühl, 2005).

UAP1 wird als spermaassoziiertes Antigen beschrieben (Mio et al., 1998), von dem angenommen wird, dass es androgenreguliert arbeitet (DePrimo et al., 2002) und mit männlicher Infertilität (Diekman & Goldberg, 1994) sowie aggressivem Prostatakarzinomwachstum (Luo et al., 2002) assoziiert ist. Bei einer Untersuchung zu Expressionsorten von UAP1 konnte festgestellt werden, dass UAP1 vor allem in der peripheren bzw. zentralen Zone der Prostata exprimiert wird, dem Ausgangsort aggressiverer Tumoren, was die Aussage von Luo et al. zu tendenziell aggressivem Wachstum unterstreicht (Van der Heul-Nieuwenhuijsen et al., 2006).

UDP-GlcNAc dient als Substrat für die Glycosyltransferase OGT (O-N-Acetylglucosamin-Transferase), welche zytosolische und nukleäre Proteine posttranslational modifiziert und so zellregulatorisch wirkt (Hart et al., 2011). Ein Zusammenhang zwischen der Überexpression OGT-modifizierter Proteine mit Karzinogenese bzw. Tumorprogress wird für zahlreiche Karzinomentitäten, u.a. für das Prostatakarzinom, beschrieben (Lynch & Reginato, 2011; Lynch et al., 2012).

Eine wichtige Analyse zur klinischen Relevanz von UAP1-Expression erfolgte durch Guyon et al. Hierbei wurde Überexpression von vier sogenannten „Signaturgenen“ UAP1, PDLIM5 (PDZ and LIM domain protein 5), IMPDH2 (Inosin-5'-Monophosphat-Dehydrogenase-2) und HSPD1 (Heat Shock 60kDa Protein 1) als mögliches Unterscheidungskriterium zwischen Tumorgewebe und Normalgewebe beschrieben. In Zusammenschau von Karzinomspezifität

und dem zu beobachtenden Zusammenhang zwischen Genexpression und Gleason Score 3/4 in Prostatakarzinomzellen wurde UAP1 eine potentielle Rolle als diagnostischer Marker zgedacht (Guyon et al., 2009). Weitere Charakteristika des Gens UAP1 bzw. seines Genprodukts, vor allem mit klinischem Bezug zu Prostatakarzinomen, liegen nach derzeitiger Studienlage noch nicht vor.

1.9 Ziel der Arbeit

Das Prostatakarzinom ist der häufigste maligne Tumor des Mannes. Trotz hoher Inzidenzen (63710 Männer in Deutschland im Jahre 2012) ist bei einem relativ geringen Anteil der Prostatakarzinome mit einem progressiven, letalen Verlauf zu rechnen - die relative 5-Jahres-Überlebensrate lag 2012 bei 93% (Robert Koch-Institut, 2013). Diesem Umstand müssen die Therapiemaßnahmen Rechnung tragen und so wenig aggressiv wie nötig und möglich gestaltet werden, um den Patienten ein maximales Maß an Lebensqualität zu ermöglichen. Für derart individuelle Therapieschemata ist eine Diagnosestellung in frühen Stadien von größter Wichtigkeit. Weitverbreitet ist hierbei die Screeningmethode mittels PSA, woraus sich jedoch keine eindeutige Schlussfolgerung auf zukünftiges Tumorverhalten und die entsprechende Therapiewahl treffen lässt. Die Suche nach Biomarkern, die eine individuellere Diagnostik sowie prognostische Aussagen hinsichtlich des Prostatakarzinoms ermöglichen, stellt somit ein wichtiges Ziel dar. In der Tissue-Microarray Methode besteht die Möglichkeit, anhand eines großen Gewebekollektivs und mittels zugehörigen klinischen Parametern (PSA/pT-Stadium/pN-Stadium/Gleason-Score/Resektionsrand) neue potentielle Tumormarker auf ihre klinische Funktion zu testen. Indem klinische Daten bereits untersuchter Biomarker (ERG, PTEN, AR, mTOR) mit dem Expressionsstatus des zytoplasmatische, androgenregulierten, karzinomspezifischen UAP1 und den entsprechenden klinischen Daten in Kontext gebracht werden, soll das spezifische Expressionsmuster und die prognostische Rolle von UAP1 in Prostatakarzinomgewebe analysiert und UAP1 als möglicher Biomarker evaluiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv und Gewebekollektiv

Der Datenbank des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf stehen Datensätze von 3261 Patienten zur Verfügung, die sämtlich im Urologischen Zentrum und der Martini-Klinik des UKE im Zeitraum 1992 bis 2005 radikal prostatektomiert wurden. Postoperativ wurden die Prostataresektate sodann mittels Formalin und Paraffin fixiert. Bei vorliegendem Patientenkollektiv fand keine neo-/adjuvante Therapie statt. Weiterführende Therapie (Salvage) wurde nur bei Auftreten eines biochemischen Rezidivs initiiert. Die Datensätze enthalten Informationen über klinische Verlaufsdaten wie Patientenalter, PSA-Wert präoperativ, pT-Stadium, pN-Stadium, Gleason-Score, Resektionsrand-Status und Nachsorgeergebnis bzw. biochemisches Rezidiv.

Der Beobachtungszeitraum der Nachbehandlung bzw. -betreuung erstreckte sich über einen Zeitraum von 1-219 Monaten (Mittelwert: $72 \pm 44,7$). In dieser Nachsorgephase erhielten die Patienten im ersten Jahr vierteljährlich, im zweiten Jahr halbjährlich und ab dem dritten Jahr jährlich einen Nachsorgebogen, in welchem die Dokumentation der regelmäßig in hausärztlicher Versorgung gemessenen postoperativen PSA-Werte stattfand, um ein Biochemisches Rezidiv (BCR) frühzeitig diagnostizieren zu können.

2.2 TMA-Herstellung

Dem Gewebearchiv wurden 3261 Gewebeproben entnommen, die als „whole-mount-sections“ (Komplettpräparate) gänzlich in Paraffin eingebettet vorlagen. Die Identifizierung der Gewebeblocke erfolgte über sogenannte „E-Nummern“ (automatisch zugeordnete, elektronische Nummerierung), die für die klinischen Patientendaten Geschlecht, Alter und zusätzliche histopathologische Detailinformationen wie Gleason-Score, PSA-Wert usw. kodierten. Weiterhin wurden die entsprechenden Hämatoxylin/Eosin (HE)-gefärbten Referenzschnitte entnommen, welche auf Objektträgern vorlagen. Gewebeblocke mit einer Tiefe von weniger als 3mm wurden verworfen, da diese zu wenig Gewebe enthielten. Die restlichen Gewebeblocke und deren entsprechende Referenzschnittpräparate wurden in Sammelkörben arrangiert. Dieses Arrangement entsprach der Anordnung des späteren TMA-Blocks und wurde analog in einem Rasterschema, „cartoon“ genannt, dokumentiert. Das Raster unterteilte sich in Quadranten, die je mit einem lateinischen Großbuchstaben (A-F)

gekennzeichnet waren. Innerhalb dieser Einzelquadranten kennzeichneten arabische Ziffern (1-9) in aufsteigender Ordnung die Längsachse, kleine lateinische Buchstaben (a-..) in aufsteigend-alphabetischer Anordnung die Querachse. Somit ergab sich für jeden Einzelspot des Rasters eine Kennzeichnung wie beispielsweise Eb4, was der Koordinate b4 im Quadrant E entspräche. Jeder dieser Einzelkoordinaten entsprach eine E-Nummer. Die Zuordnung Koordinate – E-Nummer wurde separat in einer Tabelle (sogenanntes „Punchfile“) notiert.

Die Referenzschnitte wurden von Pathologen beurteilt und Bereiche mit gruppierten Tumorzellen bzw. hohem Gleason-score farblich als Index-Tumor markiert. Hierbei galt: rot = Tumor, schwarz = Dysplasie/Carcinoma in situ, blau= normales Gewebe. Durch Auflage der markierten Referenzschnitte auf die entsprechenden Gewebeblöcke konnte das dort nativ vorliegende Gewebe festgelegt und analog des Index-Tumors markiert werden.

Die Apparatur des Tissue Microarrayer wurde speziell für das pathologische Institut Hamburg hergestellt und beinhaltet eine Halterung für die Paraffinblöcke, eine manuell absenkbare, scharf- und dünnwandige Hohlneedle und eine Nadel mit Bohrschliff, wie in Abbildung 2.1 dargestellt.

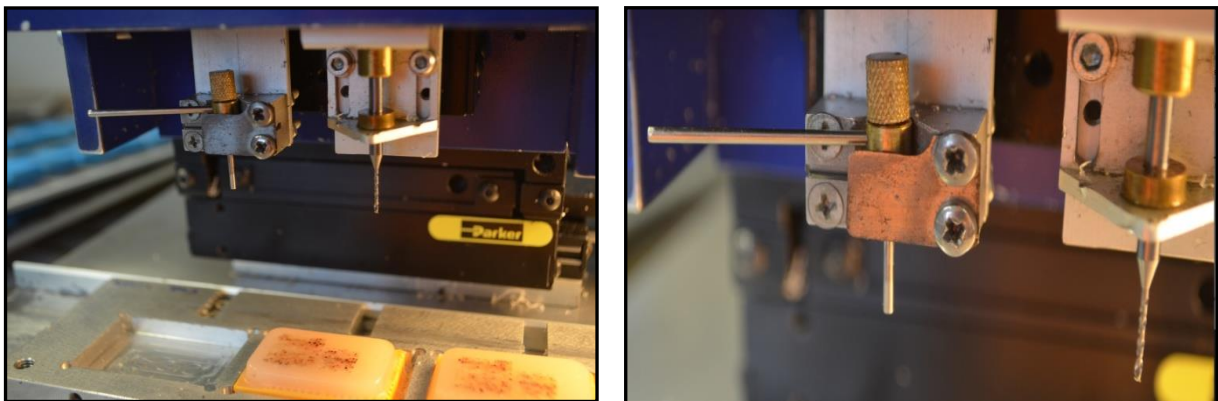


Abb. 2.1 TMA Herstellungsaufbauten; a) Tissue-Microarrayer mit Empfängerblöcken (Pathologisches Institut des UKE) b) Bohraufsatz rechts im Bild, Hohlneedleaufsatz links im Bild.

Die Bohrung verläuft PC-gesteuert (Software Pathologisches Institut UKE) über eine x-y-Motorik, wobei durch Koordinatenangabe die Bohrlöcher präzise positioniert werden können. Im ersten Schritt wurde bei Raumtemperatur ein Stanzzylinder von 0,6mm Durchmesser mit dem Bohrgewinde aus einem Leerparaffinblock (aus „Peel-A-Way“-Paraffin; Schmelztemperatur 53-55°C. Polysciences Inc., PA, Cat. No. 19797) entnommen und der Entnahmeort mit einem Pinsel von Paraffinspänen befreit. Die hierbei vorgenommene Bohrung entsprach dabei einer Koordinate des bereits erwähnten Koordinatenrasters

(cartoon). Zwischen den einzelnen Bohrlöchern im Leerparaffinblock wurde ein Abstand von 0,2mm, zum Rand des Blockes ein Abstand von 3-5mm belassen, um mehr Stabilität zu gewährleisten. Im nächsten Schritt wurde mit der Hohnadel ein Stanzzyylinder von ebenfalls 0,6mm aus dem Indextumor des Gewebeblocks (=Spenderblock) entnommen, zur Hälfte in das vorgebohrte Loch des Leerblocks (=Empfängerblock) eingebracht und vorsichtig mit einem Objektträgerglas bündig eingedrückt. Restparaffin wurde nach jedem Schritt mittels eines Pinsels entfernt. Schematisch sind diese Schritte in Abbildung 2.2 dargestellt.

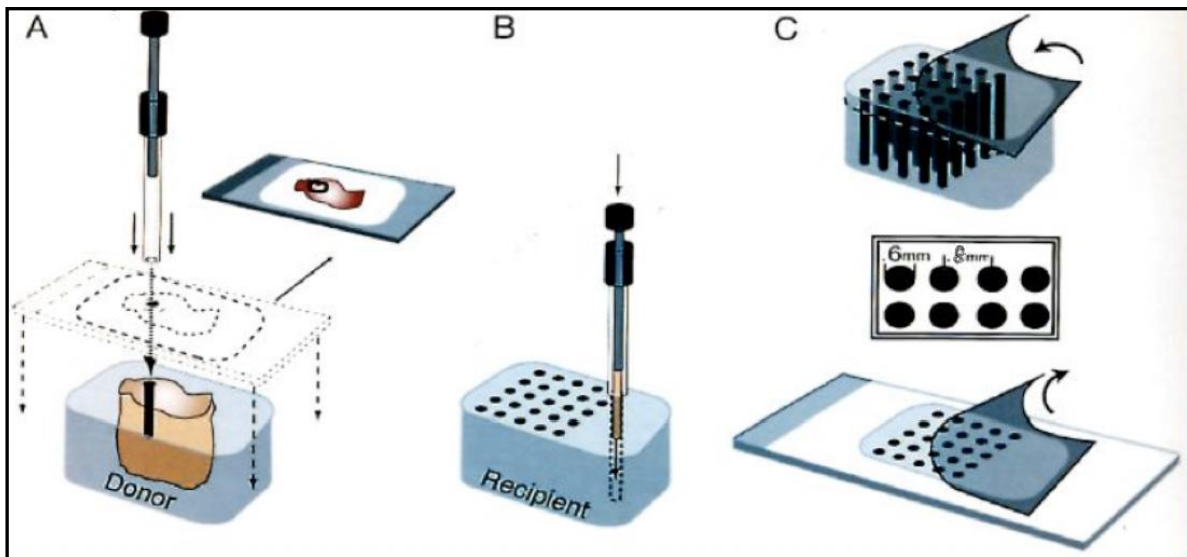


Abb. 2.2 Schematische Erstellung eines Tissue-Microarrays: A: Entnahme einer 0,6mm messenden Stanze aus dem Spenderblock (Donor) analog des markierten Indextumors. B: Anfertigung eines 0,6mm messenden Bohrlochs im Empfängerblock (Recipient). Einbringung der Tumorstanze. C: Schneiden des fertiggestellten Empfängerblocks. Aufbringen der jeweiligen Schnitte auf Objektträger. Nach (Kononen et al., 1998).

Die Schritte des Entnehmens und Einbringens wurden pro Leerblock 129-522-fach wiederholt, sodass 3261 Gewebestanden und zusätzliche Kontrollstanzen aus Normalprostatagewebe (Quadrant F) auf 7 TMA-Blöcken aufgeteilt waren. Diese wurden abschließend zur Fixierung der Gewebestanden 10min bei 40°C erwärmt, die Oberflächen durch sanftes Darüberstreichen mit einem Objektträgerende geglättet und damit versiegelt. Ein Beispiel fertiggestellter TMA-Blöcke mit Stanzen von Prostatakarzinomen ist in Abbildung 2.3 aufgeführt.

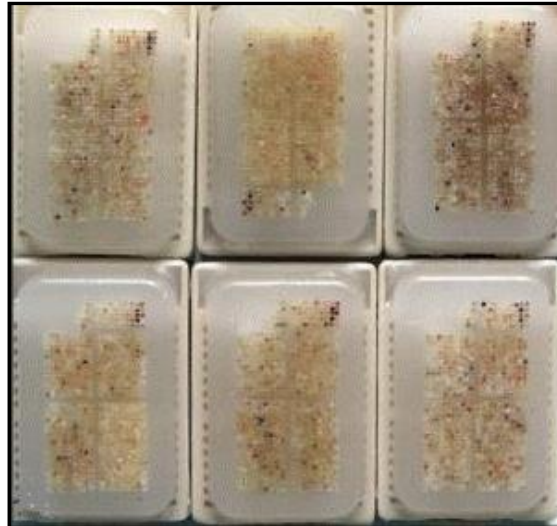


Abb. 2.3 Fertiggestellte TMA-Blöcke; Beispiele fertiggestellter Empfängerblöcke mit Prostatakarzinomstanzen des Pathologischen Instituts des UKE Hamburg.

Zur Herstellung der Einzelschnitte wurden die mit Gewebestücken versehenen Paraffinblöcke einzeln in das Rotationsmikrotom (Microm GmbH, HM 355s, Walddorf) eingespannt und bei Raumtemperatur angeschnitten. Diese ersten wenigen Anschnitte wurden verworfen, bis sämtliche Gewebestücken des Paraffinblocks gleichmäßig erfasst waren. Mit einer kleinen Handwalze wurde hierauf eine selbstklebende Folie (Tape Windows PSA System, HCE GmbH) auf den TMA-Block aufgebracht und ein Schnitt durchgeführt. Das so gefertigte 4µm dicke Schnittpräparat wurde auf einen mit Klebstoff beschichteten Adhäsions-Objektträger (Snowcoat PSA 4x Slides, Leica Biosystems) aufgewalzt und für 1min mit einer UV-Licht-Lampe (Diago, Medite Medizintechnik, Schweiz) bestrahlt. Die so eintretende polymerisierende Bindung verhindert ein Abschwimmen der Schnitte von den Objektträgern bei späteren aggressiven Verfahren, wie dem Autoklavieren oder Behandlungen unter pH 9,8. Das Lösen der selbstklebenden Folie wurde durch das Aufbringen von TPC-Lösung (TPC Solvent, Leica) ermöglicht. Nach Lufttrocknung für 1 Stunde bei Raumtemperatur stand das Präparat für weitere Arbeitsschritte zur Verfügung.

2.3 Immunhistochemie

Um die durch Formalinfixierung und Paraffineinbettung verdeckten Gewebeeptitope für die zu applizierenden Antikörper freizulegen und so eine Antikörperbindung herbeiführen zu können, wurde vor der immunhistochemischen Behandlung eine mehrteilige Gewebepreparation durchgeführt. Diese beinhaltete Deparaffinierung und Rehydrierung des Karzinomgewebes, Antigendemaskierung und Blockierung der endogenen Peroxidase.

Hierauf erfolgte das eigentliche immunhistochemische Verfahren, das nach folgendem Prinzip abläuft: Der von einem Kaninchen stammende Primärantikörper UAP1 bindet an entsprechende zelluläre Rezeptoren. An den Primärantikörper bindet ein Brückenantikörper (Maus anti Kaninchen bzw. Kaninchen anti Maus, je nach Primärantikörper), der an eine Peroxidase gekoppelt ist. Der Ort der Antikörperkomplexbildung kann über ein hinzupipettiertes DAB-Chromogen-Substrat in einer Braunfärbung detektiert und somit ausgewertet werden.

Die Entparaffinierung und Rehydrierung der Arrays erfolgte in absteigenden Reihen. Einbringung in Xylol für 60 min, aufeinanderfolgend einsenken für je 2min im Ethanolbad 100%, Ethanolbad 100%, Ethanolbad 96%, Ethanolbad 96%, Ethanolbad 80%, Ethanolbad 80%, Aqua destillata, Aqua destillata. Abschließend erfolgte ein Eintauchen der Arrays in TBST-Pufferlösung (Tris-Buffered Saline Tween, 3g Tris, 8g NaCl, 0,2g KCL, 2ml Tween, 20 je 1000ml, pH auf 7,6 einstellen), die während der 5-minütigen Dauer zweimal ausgewechselt wurde.

Durch Formalinfixierung kommt es zu möglichen Änderungen der Antigenstruktur, einer Maskierung von Epitopen und damit zu potentiellm Immunreaktivitätsverlust der Gewebeschnitte. Eine Verbesserung bzw. Wiederherstellung der Reaktivität war für den hier verwendeten Antikörper durch hitzeinduzierte Antigendemaskierung (heat induced epitope retrieval/HIER) möglich. Dabei wurden die Gewebeschnitte in TE- Pufferlösung (Tris 10mM, EDTA, 1mM, pH auf 7,8 einstellen) für 5min bei 121°C autoklaviert und danach bei geöffnetem Autoklaven allmählich abgekühlt. Anschließend wurden die Schnitte für 5min wiederum in TBST-Pufferlösung eingetaucht.

Um ein Hintergrundfarbsignal durch Mitreaktion der endogenen Peroxidase zu verhindern, wurde diese im Peroxidaseblock ausgeschaltet. Die TMA-Schnitte wurden 10min mit Blocking-Peroxidase Solution (Dako S2023 ready to use) bedeckt und hierauf zweimal für 5min in (jeweils frischer) TBST-Pufferlösung gespült.

Der Primärantikörper Anti-UAP1 (HPA014659 SIGMA, rabbit) wurde im Verhältnis 1:150 verdünnt mit Antibody Diluent (DAKO Real Antibody Diluent S2022) auf die Gewebeschnitte pipettiert. Bei den Antikörperinkubationen war ein Austrocknen der Schnitte zu verhindern und somit die o.g. Lösung ggf. nachzupipettieren. Nach mindestens 30-minütiger Inkubation erfolgte ein zweifacher Waschgang in jeweils frischer TBST-Pufferlösung, um überschüssiges Antikörpermaterial abzuspielen. Hierauf wurde ein

Brückenantikörper hinzugegeben. Dieser lag als enzymgekoppeltes Polymerkonjugat mit der Meerrettichperoxidase (HRP: horse radish peroxidase) (ChemMate DAKO EnVision Detection Kit K5007 gebrauchsfertig/Flasche A ChemMate DAKO EnVision/HRP, Rabbit/Mouse) vor. Bei 30-minütiger Inkubation bei 37°C band der enzymgekoppelte Brückenantikörper an den Primärantikörper. Wiederum wurde ein zweimaliger Waschgang für je 5min mit TBST-Pufferlösung durchgeführt. Die Visualisierung wurde bei Raumtemperatur durch Zugabe von DAB-Chromogen-Substrat (3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid) (ChemMate DAKO EnVision Detection Kit K5007 gebrauchsfertig/Flasche C Chem Mate DAB+ Chromogen) und einer Pufferlösung mit Wasserstoffperoxid (ChemMate DAKO EnVision Detection Kit K5007 gebrauchsfertig/Flasche B ChemMate Substrate Buffer) unter 10-minütiger Einwirkzeit erreicht. Hierbei setzte das o.g. antikörpergekoppelte Enzym HRP Wasserstoffperoxid und Chromogen zu einem braunen Farbkomplex und Wasser um.



Abb. 2.4 Immunhistochemische Färbung von Prostatakarzinomgewebe mit UAP1; Beispiel eines Objektträgers mit Prostatakarzinomstanzen nach immunhistochemischer Bearbeitung (Pathologisches Institut, UKE Hamburg). In der Übersichtsaufnahme zeigt sich die Expression von UAP1 als Braunfärbung.

Die Schnitte wurden im Anschluss mit Aqua destillata gespült und zur besseren Kontrastbildung einer einminütigen Gegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer unterzogen. Beim anschließenden „Bläuen“, erreichte man einen blauvioletten Farbton, indem man die Gewebeschnitte 5min mit Leitungswasser spülte und so den pH-Wert anhob. Zur Fixierung wurde eine aufsteigende Reihe (je 2min 80% Ethanol, 80% Ethanol, 96% Ethanol, 96%

Ethanol, 100% Ethanol, 100% Ethanol, Xylol, Xylol, Xylol) verwendet. Beim abschließenden sogenannten „Eindeckeln“ wurde Eukitt Kleber aufgebracht, der mit Xylol eine starke Verbindung eingeht. Nach Auflegen eines Deckglases standen die TMA-Schnitte sodann zur Auswertung bereit.

2.4 Auswertung

Nach Verblindung der klinischen Daten wurden die immunhistochemisch gefärbten TMAs unabhängig durch Frau Dr. M.-C. Tsourlakis, Ärztin für Pathologie des pathologischen Instituts des UKE Hamburg, am Mikroskop (Zeiss, Axioskop 40) untersucht. Rasterspots, an denen das zu untersuchende Gewebe verfahrensbedingt verloren gegangen war, oder bei welchen der Indextumor beim Stanzvorgang verfehlt wurde, wurden mit „kein Gewebe“ bzw. „kein Tumor“ bezeichnet und gingen nicht mit in die Auswertung ein. Die Ergebnisse wurden in ein dem TMA entsprechendes Raster-File eingetragen und schließlich in einer Exceltabelle notiert, in welcher zugleich die zugehörigen klinischen Patientendaten dokumentiert vorlagen.

Die Auswertung der einzelnen Gewebespots erfolgte nach dem Kriterium der Farbintensität, die durch Bindung des Markers UAP1 an Gewebeeptitope hervorgerufen wird. Hierbei wurde jeder Rasterspot für Zellkern sowie Zytoplasma analysiert. Die Expressionsintensität wurde nach einem subjektiven Intensitätsscore des pathologischen Institutes des UKE geschätzt und für Zellkern sowie Zytoplasma getrennt notiert. Dabei entsprachen die Werte der zytoplasmatischen sowie nukleären Färbintensitäten folgender tabellarischer Einteilung:

Intensität 0	Keine Anfärbung
Intensität 1	Schwache Anfärbung
Intensität 2	Mäßige Anfärbung
Intensität 3	Starke Anfärbung

Die möglichen Farbintensitäten sind in folgender Tabelle aufgeführt.

zytoplasmatisch	Intensität 0	Intensität 1	Intensität 2	Intensität 3
nukleär	Intensität 0	Intensität 1	Intensität 2	-

Beispiele der verschiedenen Färbintensitäten sind in Abbildung 2.5 dargestellt.

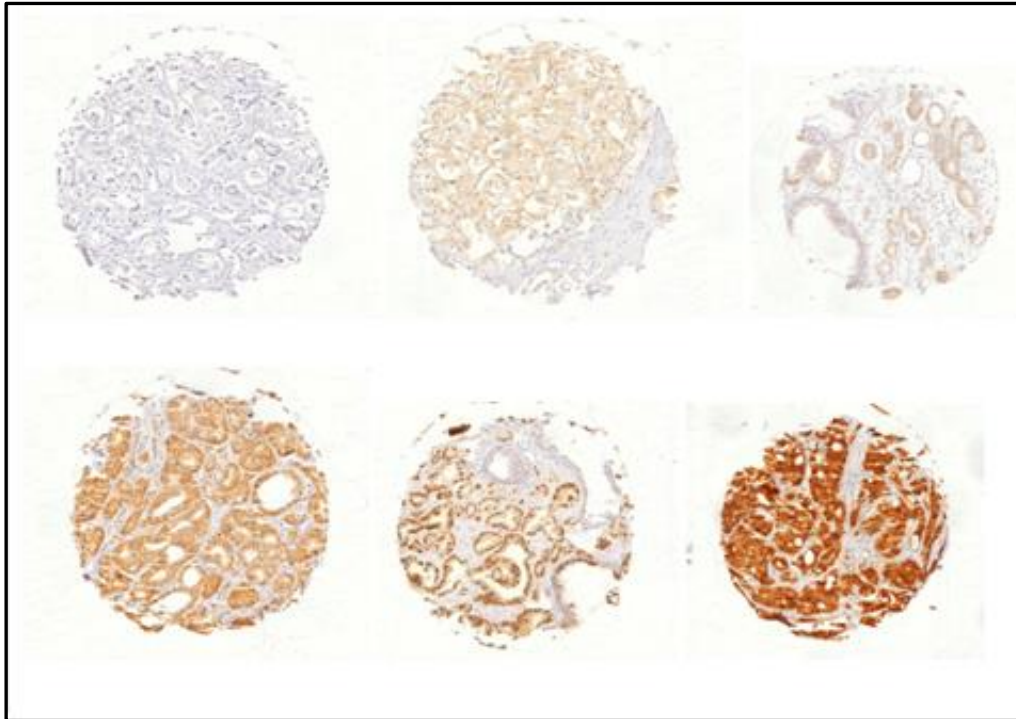


Abb. 2.5 Beispiele von UAP1-Färbeintensitäten; Abbildung von Mikrophotographien von immunhistochemisch mit UAP1 behandelten Prostatakarzinomstanzen zur Evaluation der UAP1-Expressionsintensität. Von oben links im Bild nach unten rechts: Keine UAP1-Färbung. Zytoplasmatische Intensität 1. Nukleäre Intensität 1. Zytoplasmatische Intensität 2. Nukleäre Intensität 2. Zytoplasmatische Intensität 3.

Zur weiteren Auswertung und Evaluation von UAP1 als prognostischen Biomarker wurde dieser mit den klinischen Standardparametern des untersuchten Gewebekollektivs sowie der Expression von ERG, PTEN, AR und mTOR verglichen. Die Daten dieser komparativen Biomarker wurden anhand desselben Gewebekollektivs gewonnen und stehen aus früheren Publikationen zur Verfügung. Die hier verwendete Datenbank verfügt somit über Ergebnisse von ERG-Expression in 2874 Gewebeslots, wobei ERG-positive Tumorzellen zu 98,5% ERG-Reorganisation, vereinbar mit TMPRSS2-ERG-Fusion, zeigten (Minner et al., 2011). PTEN-Deletionsstatus wurde anhand von 1406 Tumorslots (Krohn et al., 2012), AR-Expression bei 2665 Proben (Minner et al., 2011) und mTOR-Expression in 2871 Prostatakarzinomproben (Müller et al., 2013) erhoben.

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Gliederung der Standardparameter entspricht der standardmäßigen Variableneinteilung am pathologischen Institut des UKE (Schlomm et al., 2012; Tsourlakis et al., 2013) und wird in Tabelle 2.6 dargestellt.

PSA (ng/ml)	<4	4-10	10-20	>20
pT-Stadium	pT2	pT3a	pT3b	pT4
pN-Stadium	Nx	N0	N+	
Gleason-Score	≤3+3	3+4	4+3	≥4+4
Margin	R0	R1		
ERG	Positiv	Negativ		
PTEN (FISH)	Normal	Heterozygote Deletion	Homozygote Deletion	
AR-Expression	Negativ	Schwach	Moderat	Stark
mTOR	Negativ	Schwach	Moderat	Stark

Abb. 2.6 Einteilung der verwendeten Variablen; in der verwendeten Gruppierung der Standardparameter entspricht N+ einem Lymphknotenstatus von $\geq N1$. R0 entspricht „Resektionsrand negativ“, R1 „Resektionsrand positiv“.

Weiterhin wurde in Kaplan-Meier-Kurven das Überleben bis zum einem BCR, dem klinischen Endpunkt der Überlebenskurven, dargestellt. Als BCR wurde ein PSA-Wert von $\geq 0,2$ ng/ml mit einem Folgewert $> 0,2$ nach radikaler Prostatektomie definiert (Heidenreich et al., 2010). Bei Eintreten des klinischen Events eines biochemischen Rezidivs galten die Daten des entsprechenden Patienten als ausgefallen, woraufhin eine Salvage-Radiatio eingeleitet wurde. Wurde bis zum Abschluss der Datenerhebung kein Event dokumentiert, wurden diese Daten rechtszensiert. Ebenso wurde im Todesfall wie auch bei patienteneigenmächtiger Beendigung des Follow-Up zensiert.

2.5 Statistik

Die statistische Datenbearbeitung wurde mit der Software JMP 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) durchgeführt. In Kreuztabellen wurde zur Kontingenzanalyse die UAP1-Expressionsintensität mit den klinisch-pathologischen Variablen PSA-Wert, pT-Stadium, pN-Stadium, Gleason-Score und Resektionsrand assoziiert, um relative und absolute Häufigkeiten der Merkmalsausprägung zu erhalten. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson (likelihood-test) wurde durchgeführt, um die Signifikanz der aufgestellten Assoziationen zu untersuchen, wobei als Signifikanzniveau ein α -Fehler von 0,05 festgelegt wurde.

Weiterhin wurde in Kaplan-Meier-Kurven das Überleben bis zum BCR, dem klinischen Endpunkt der Überlebenskurven, dargestellt. Die Medianzeit berechnete sich durch Kreuzung zwischen Überlebenskurve und der Gerade $y=50\%$ -Überlebenswahrscheinlichkeit. Das mittlere Überleben wurde durch das arithmetische Mittel der Überlebensdaten beschrieben.

Mittels Log-Rank-Test wurde die Signifikanz eines Unterschiedes zwischen den Überlebenskurven untersucht.

3 Ergebnisse

Von insgesamt 3261 Gewebeslots waren 1829 auswertbar. 1432 entfielen, da sich in 592 Fällen das Gewebe in den ersten Arbeitsschritten der Array-Erstellung ablöste und so für weitere Prozessschritte nicht mehr zur Verfügung stand. Außerdem wiesen Stenzen in 840 Fällen trotz sorgfältiger Markierung der zu untersuchenden Tumorareale kein Tumormaterial auf.

3.1 Zytoplasmatische UAP1-Expression

3.1.1 Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren

Die zytoplasmatische UAP1 Expressionsintensität wurde in einer Kontingenztabelle mit tumorphänotypischen Standardparametern verglichen, die entsprechende deskriptive Statistik ist Abbildung 3.1 zu entnehmen. Eine nukleäre Expression wurde dabei nicht berücksichtigt.

	n gesamt	n auswertbar	Int 0	Int 1	Int 2	Int 3	P-Wert
Gewebeproben	3261	1829	323 (17.7)	580 (31.7)	866 (47.3)	60 (3.3)	
PSA							
<4	527	273	59 (21.6)	89 (32.6)	117 (42.9)	8 (2.9)	0.3989
4-10	1742	985	160 (16.2)	307 (31.2)	480 (48.7)	38 (3.9)	
10-20	668	386	74 (19.2)	120 (31.1)	181 (46.9)	11 (2.8)	
>20	231	140	23 (16.4)	49 (35)	66 (47.1)	2 (1.4)	
pT Stadium							
pT2	2150	1163	211 (18.1)	361 (31)	555 (47.7)	36 (3.1)	0.1209
pT3a	643	401	67 (16.7)	123 (30.7)	197 (49.1)	14 (3.5)	
pT3b	383	225	36 (16)	86 (38.2)	93 (41.3)	10 (4.4)	
pT4	42	20	5 (25)	2 (10)	13 (65)	0 (0)	
pN Stadium							
Nx	1527	883	164 (18.6)	290 (32.8)	402 (45.5)	27 (3.1)	0.5988
N0	1584	864	144 (16.7)	260 (30.1)	428 (49.5)	32 (3.7)	
N+	99	56	10 (17.9)	19 (33.9)	26 (46.4)	1 (1.8)	
Gleason Score							
≤3+3	1475	764	151 (19.8)	231 (30.2)	360 (47.1)	22 (2.9)	0.0045
3+4	1361	822	121 (14.7)	269 (32.7)	402 (48.9)	30 (3.6)	
4+3	325	191	35 (18.3)	66 (34.6)	86 (45)	4 (2.1)	
≥4+4	57	32	12 (37.5)	6 (18.8)	10 (31.3)	4 (12.5)	
Resektionsrand							
R0	2551	1402	259 (18.5)	437 (31.2)	661 (47.1)	45 (3.2)	0.3698
R1	665	406	60 (14.8)	135 (33.3)	197 (48.5)	14 (3.4)	

Abb. 3.1 Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren; ein signifikanter Unterschied lässt sich für Gleason-Score erkennen ($p = 0,0045$). Die p-Werte für den Vergleich mit PSA ($p = 0,3989$), pT-Stadium ($p = 0,1209$), pN-Stadium ($p = 0,5988$) und Resektionsrand ($p = 0,3698$) trafen nicht das Signifikanzniveau. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Bei einem signifikanten p-Wert von 0,0045 ließ sich ein Unterschied zwischen Gleason-Score verschiedener Ausprägung und UAP1-Expressionsstatus erkennen. Mit steigendem Gleason-Score von $\leq 3+3$ hin zu $\geq 4+4$ konnte beobachtet werden, dass die zytoplasmatische Expression sank. Abweichend wurde für Intensität 0 ein ähnlicher hoher Prozentsatz bei Gleason $\leq 3+3$ (19,8) und 4+3 (18,3) beobachtet, jedoch ließ sich eine zunehmend negative zytoplasmatische Expression von Gleason 3+4 zu $\geq 4+4$ nachvollziehen. Auch für die Gruppe Intensität 1 und 2 ließen sich Abweichungen in der sinkenden Expression feststellen, die bei Intensität 1 Gleason Score 3+4 (32,7%) und Gleason 4+3 (34,6%), bei Intensität 2 Gleason 3+4 (48,9%) betrafen. Bei nur 4 auswertbaren Spots von insgesamt 32 ließen sich die Gruppen Gleason 3+4 (3,6%) und Gleason $\geq 4+4$ (12,5%) mit UAP1-Expressionsintensität 3 keinem der genannten Expressionsmuster zuordnen.

Im Vergleich von UAP1-Expression mit PSA ($p = 0,3989$), pT-Stadium ($p = 0,1209$), pN-Stadium ($p = 0,5988$) oder Resektionsrand ($p = 0,3698$) konnte jeweils das Signifikanzniveau nicht getroffen werden. Die entsprechenden Daten werden ebenfalls in Abbildung 3.1 dargestellt.

3.1.2 Vergleich mit PTEN-Deletionsstatus

PTEN FISH	n gesamt	n auswertbar	Int 0	Int 1	Int 2	Int 3	P-Wert
normal	1781	886	160 (18.1)	292 (33)	408 (46)	26 (2.9)	0.1093
heterozygote Deletion	186	98	8 (8.2)	32 (32.7)	53 (54.1)	5 (5.1)	
homozygote Deletion	256	134	26 (19.4)	41 (30.6)	65 (48.5)	2 (1.5)	

Abb. 3.2 Vergleich mit PTEN-Deletionsstatus; eine signifikante Abhängigkeit zwischen UAP1-Expression und PTEN-Deletionsstatus lässt sich nicht erkennen ($p = 0,1093$). Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Der Vergleich von UAP1-Expression mit dem PTEN-Deletionsstatus in einer Kontingenztafel ergab einen p-Wert von 0,1093. Damit konnte keine signifikante Abhängigkeit zwischen UAP1 Expression und dem PTEN Deletionsstatus nachgewiesen werden. Die entsprechenden statistischen Daten und theoretischen Häufigkeiten werden in Abbildung 3.2 aufgezeigt.

3.1.3 Vergleich mit AR-Expressionsstatus

Abbildung 3.3 stellt die deskriptive Statistik des Vergleichs AR-Expressionsstatus mit UAP1-Expressionintensität dar. Das Signifikanzniveau wurde mit einem p-Wert von $< 0,0001$ getroffen. Einhergehend mit steigender AR-Expressionsintensität von negativ bis hin zu starker Expressivität zeigte sich ebenfalls eine höhere UAP1-Expressionsintensität. Deutlich trat diese tendenzielle Entwicklung bei Intensität 2 (16,4% bei negativem AR-Status, 53,1% bei starker AR-Expression) und bei Intensität 0 (52,2% bei negativem AR-Status, 11,8% bei starker AR-Expression) auf. Ebenfalls ließ sich ein prozentualer Anstieg für Intensität 3 nachvollziehen (1,5% bei negativem AR-Status, 4,5% bei starker AR-Expression), für schwache bzw. moderate AR-Expression wurden jedoch ähnliche Prozentsätze berechnet (1,5% und 1,1% respektive).

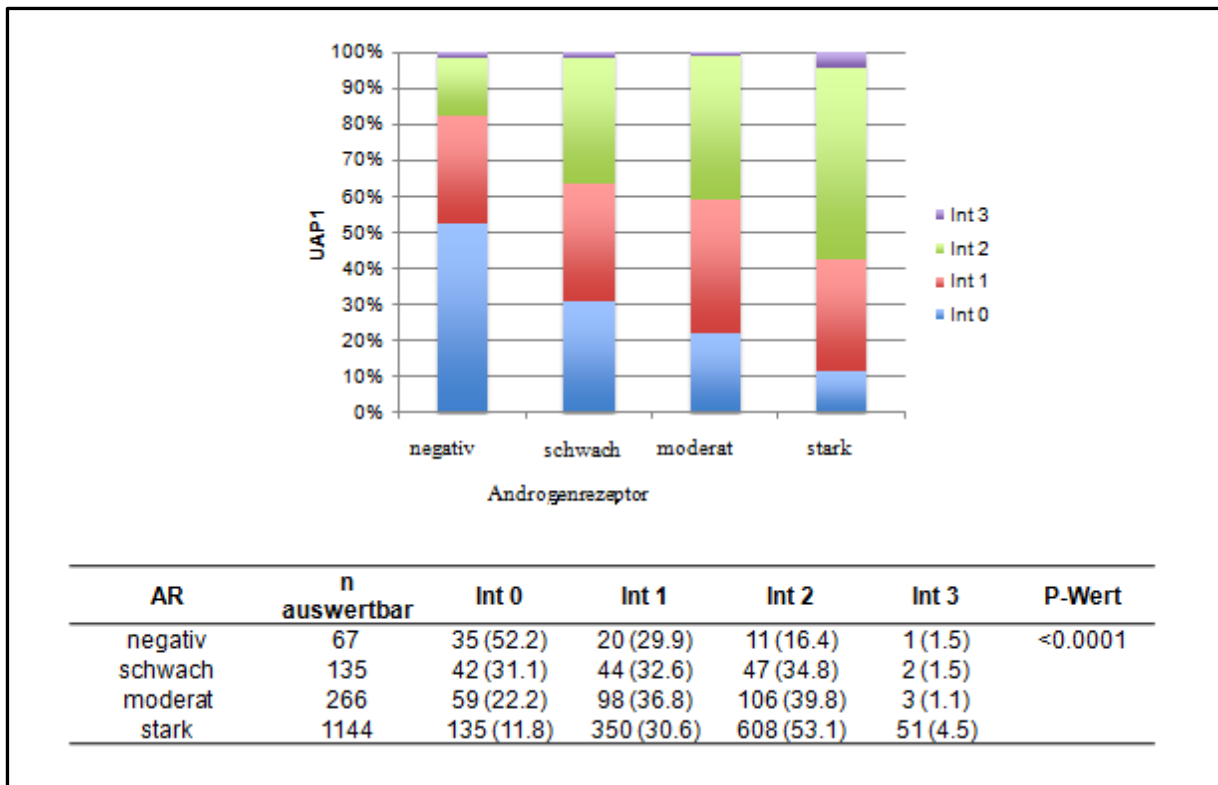


Abb. 3.3 Vergleich mit AR-Expressionsstatus; ein signifikanter Unterschied lässt sich zwischen den Gruppen der UAP1- Expression und des AR-Expressionsstatus erkennen ($p < 0,0001$). Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Zu beachten waren hierbei die geringen Fallzahlen bei negativem/schwachen/moderatem AR-Expressionsstatus (lediglich 1, 2 bzw. 3 Tumorspots respektive) im Gegensatz zu 51 Spots bei starker AR-Expression. Auch für UAP1-Expressivität der Intensität 2 wurde ein Abweichen von vorbeschriebenem Muster verzeichnet, da auf starke AR-Expression nur 30,6%, auf die Gruppe der moderaten AR-Expression jedoch 36,8% der auswertbaren Tumorstadien entfielen.

3.1.4 Vergleich mit mTOR-Expressionsstatus

Der Vergleich UAP1-Expression mit mTOR-Expressionsstatus lässt sich in der schematischen Darstellung der Abbildung 3.4 nachvollziehen und ergab einen signifikanten Unterschied bei einem p-Wert von $< 0,0001$.

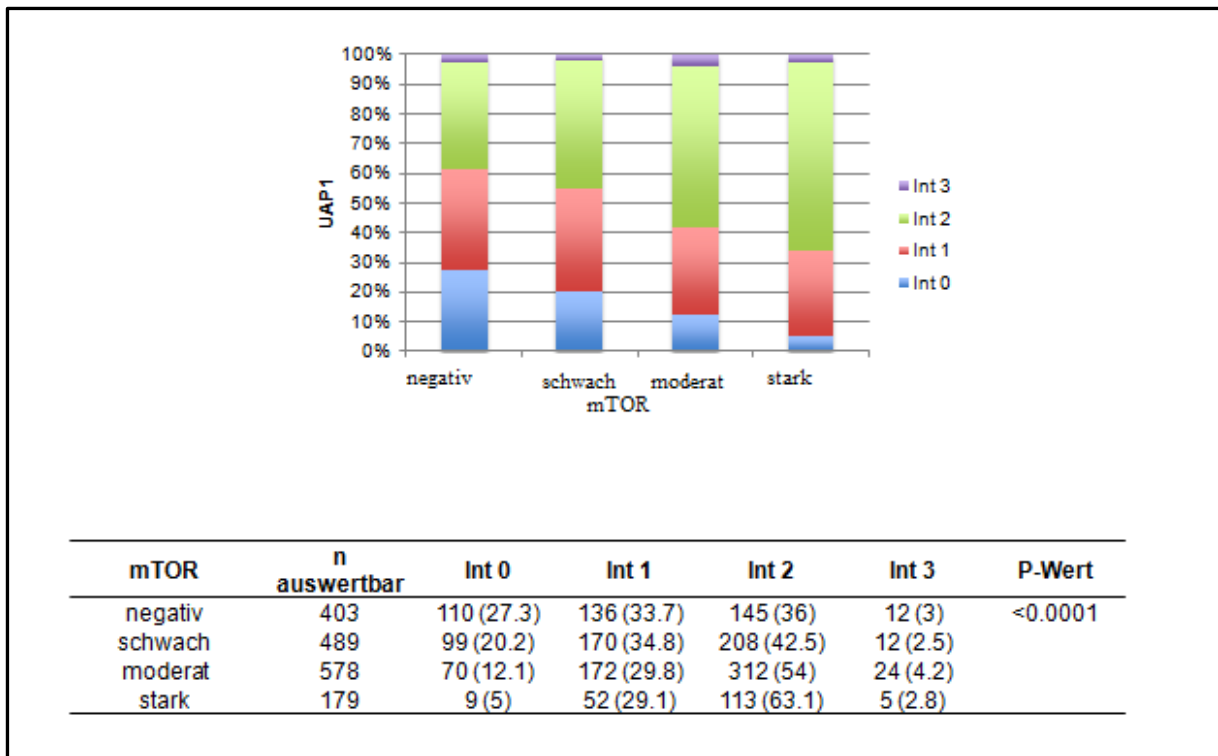


Abb. 3.4 Vergleich mit mTOR-Expressionsstatus; ein signifikanter Unterschied lässt sich in der Verteilung der relativen Häufigkeiten von UAP1-Expression und mTOR erkennen ($p < 0,0001$). Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Dabei ließ sich mit steigender Expression von mTOR von negativ hin zu stark eine ebenfalls steigende UAP1-Expression der Intensität 2 erkennen sowie eine entsprechend fallende Expression für Intensität 0. Bei UAP1-Expressionsintensität 1 zeigte sich ebenfalls ein Anstieg der Prozentzahlen von negativer (33,7%) zu schwacher (34,8%) mTOR-Expression, für moderate und starke mTOR-Expression blieb diese jedoch etwa konstant bzw. angedeutet sinkend (29,8% bzw. 29,1% respektive). Der Gruppe UAP1-Expression Intensität 3 ließ sich keinem eindeutigen Muster zuordnen, es fiel hier jedoch die geringe Anzahl an Tumorspots für starke mTOR-Expression auf, die bei lediglich 5 von 179 Gewebeproben lag.

3.1.5 Vergleich mit ERG-Expressionsstatus

In Abbildung 3.5 wird die Kontingenzanalyse von zytoplasmatischer UAP1-Expression mit dem ERG-Expressionsstatus schematisch dargestellt. Bei einem p-Wert von $p < 0,0001$ konnte ein signifikanter Unterschied in der Verteilung der relativen Häufigkeiten berechnet werden. Dabei traten bei einem positiven ERG-Expressionsstatus die höheren UAP1-Expressionsintensitäten Intensität 2 (62,2%) und Intensität 3 (5%) auf, bei einem negativen ERG-Expressionsstatus traten niedrigere (Intensität 1 39,3%) bzw. fehlende UAP1-

Expression (Intensität 0 31,4%) auf. Auf Intensität 3 entfielen insgesamt nur 58 von 1778 auswertbaren Tumorspots.

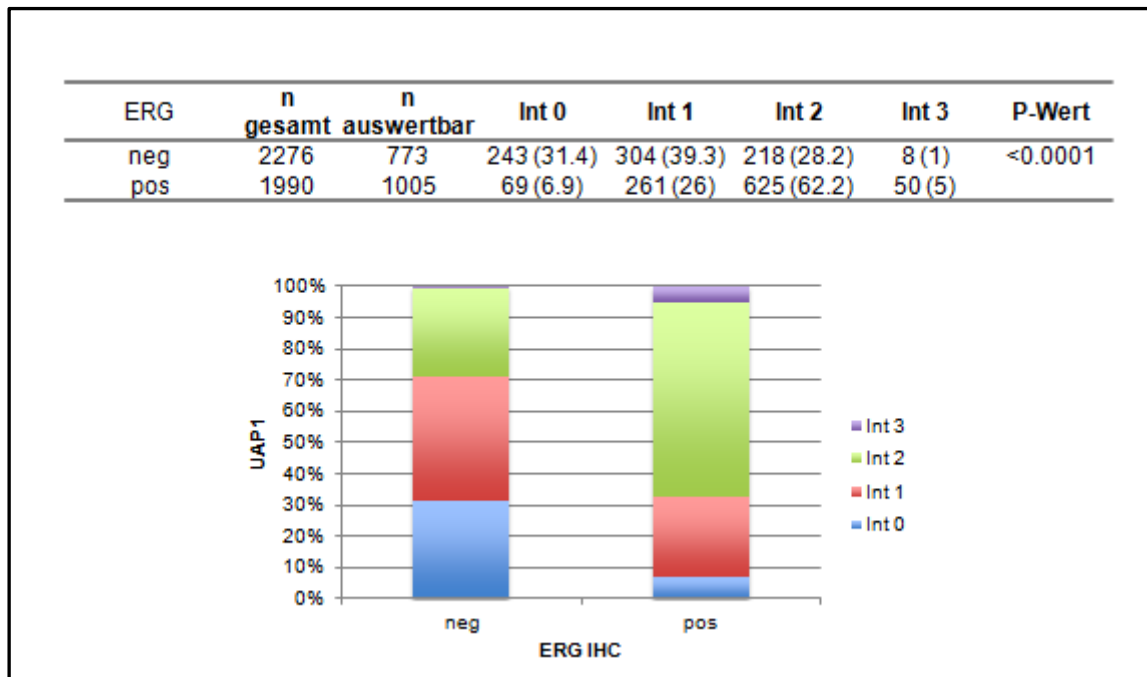


Abb. 3.5 Vergleich mit ERG-Expressionsstatus; ein signifikanter Unterschied lässt sich zwischen den relativen Häufigkeiten erkennen ($p < 0,0001$). Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

3.1.6 Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Prognosefaktoren

Zur weiteren Aufschlüsselung des UAP1-Expressionsmusters wurden 773 auswertbare Prostatakarzinomspots negativen ERG-Expressionsstatus mit tumorphänotypischen Standardmerkmalen verglichen. Abbildung 3.6 stellt die deskriptive Statistik dieses Vergleichs dar.

Bei p-Werten, die das festgelegte Signifikanzniveau nicht trafen, konnte kein Unterschied in der Verteilung der Häufigkeiten von zytoplasmatischer UAP1-Expression in ERG-negativen Prostatakarzinomspots in Bezug auf PSA-Wert ($p = 0,6825$) oder Resektionsrand ($p = 0,4521$) festgestellt werden.

Der Vergleich von UAP1-Expression in ERG-negativen Prostatakarzinomproben mit dem pT-Stadium ergab hingegen einen signifikanten p-Wert von 0,0125. Es zeigte sich, dass mit höherem pT-Stadium bzw. entsprechend Tumorgröße und -ausbreitung ein höherer Prozentsatz an UAP1-exprimierenden Karzinomproben der Intensität 2 einherging. Dabei

ließen sich in den Gruppen UAP1-Expression Intensität 0 sinkende, für Intensität 1 steigende Prozentzahlen von pT2-Stadium zu pT3b abgrenzen.

	n auswertbar	Int 0	Int 1	Int 2	Int 3	P-Wert
Gewebeproben	773	243 (31.4)	304 (39.3)	218 (28.2)	8 (1)	
PSA						
<4	115	43 (37.4)	40 (34.8)	30 (26.1)	2 (1.7)	0.6825
4-10	393	121 (30.8)	159 (40.5)	110 (28)	3 (0.8)	
10-20	186	58 (31.2)	73 (39.2)	52 (28)	3 (1.6)	
>20	65	17 (26.2)	25 (38.5)	23 (35.4)	0 (0)	
pT Stadium						
pT2	509	173 (34)	200 (39.3)	131 (25.7)	5 (1)	0.0125
pT3a	154	44 (28.6)	60 (39)	49 (31.8)	1 (0.6)	
pT3b	92	20 (21.7)	40 (43.5)	30 (32.6)	2 (2.2)	
pT4	11	4 (36.4)	0 (0)	7 (63.6)	0 (0)	
pN Stadium						
Nx	377	132 (35)	154 (40.8)	88 (23.3)	3 (0.8)	0.0448
N0	359	101 (28.1)	137 (38.2)	117 (32.6)	4 (1.1)	
N+	27	8 (29.6)	7 (25.9)	11 (40.7)	1 (3.7)	
Gleason Score						
≤3+3	335	130 (38.8)	131 (39.1)	73 (21.8)	1 (0.3)	0.0002
3+4	311	78 (25.1)	129 (41.5)	99 (31.8)	5 (1.6)	
4+3	97	22 (22.7)	35 (36.1)	39 (40.2)	1 (1)	
≥4+4	23	11 (47.8)	5 (21.7)	6 (26.1)	1 (4.3)	
Resektionsrand						
R0	593	194 (32.7)	232 (39.1)	161 (27.2)	6 (1)	0.4521
R1	173	47 (27.2)	68 (39.3)	56 (32.4)	2 (1.2)	

Abb. 3.6 Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Prognosefaktoren; ein signifikanter Unterschied ließ sich jeweils zwischen den Häufigkeiten von UAP1-Expression ERG-negativer Tumorspots und pT-Stadium ($p = 0,0125$), pN-Stadium ($p = 0,0448$) und Gleason-Score ($p = 0,0002$) erkennen. Die p-Werte für den Vergleich mit PSA ($p = 0,6825$) und Resektionsrand ($p = 0,4521$) trafen nicht das Signifikanzniveau. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Abweichend hierzu zeigten sich die Gewebegruppen mit pT4-Stadium und UAP1-exprimierende Proben mit Intensität 3. Dabei entfielen auf UAP1-Expressionsintensität 3 (8 von 766 auswertbaren Tumorspots) und pT4-Stadium (11 von 766 auswertbaren Tumorproben) nur geringe Fallzahlen.

Der Vergleich der immunhistochemischen Färbungsintensität UAP1-exprimierender, ERG-negativer Prostatakarzinomspots mit dem pN-Stadium ergab den signifikanten p-Wert von 0,0448. Es ließ sich beobachten, dass ein positiver Lymphknotenstatus vor allem mit den stärker UAP1-exprimierenden Gruppen der Intensitäten 2 und 3 einherging, ein negativer bzw. nicht zu definierender Befall regionärer Lymphknoten N0/Nx jedoch vor allem bei fehlender oder schwacher zytoplasmatischer UAP1-Expression Intensität 0 bzw. 1 abzugrenzen war.

Weiter wurden UAP1-exprimierende, ERG-negative Prostatakarzinomproben mit dem Parameter Gleason Score verglichen. Dies ergab einen signifikanten Unterschied bei einem p-Wert von 0,0002, bei dem sich mit ansteigendem Gleason-Score von $\leq 3+3$ hin zu $4+3$ ein Anstieg in der UAP1-Expressionsgruppe Intensität 2 bzw. entsprechend Absinken für Intensität 0 abzeichnete. Bei einer Fallzahl von 23 von 766 Proben grenzte sich jedoch die Gruppe Gleason $\geq 4+4$ von genanntem Muster ab. Auch die UAP1-exprimierenden Karzinome der Intensität 3 zeigten kein entsprechendes Muster bei lediglich 8 von 766 auswertbaren Proben. Zudem konnten für UAP1-Expression Intensität 1 zwar steigende Prozentzahlen von $\leq 3+3$ (39,1%) auf $3+4$ (41,5%) berechnet werden, neben dem o.g. Abweichen der Gleason-Gruppe $\geq 4+4$ zeigte sich jedoch auch die Gruppe $4+3$ als abweichend mit einem geringem Prozentsatz (36,1%) als bei $3+4$ (41,5%).

3.1.7 Überlebensanalyse bei ERG-Negativität

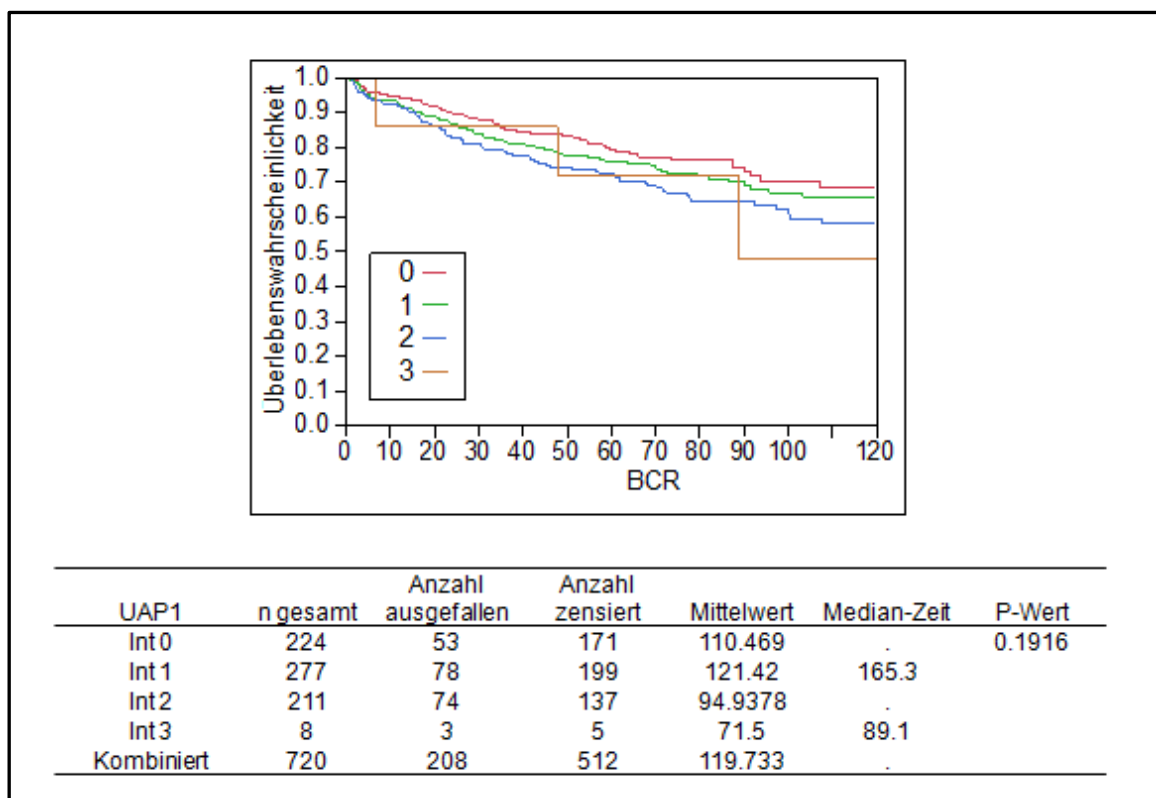


Abb. 3.7 Überlebensanalyse bei ERG-Negativität; ein signifikanter Unterschied lässt sich bei einem p-Wert von 0,1916 nicht ermitteln.

Weiterhin wurde untersucht, wie sich das rezidivfreie Überleben im Vergleich mit der Variable UAP1-Expression ERG-negativer Prostatakarzinome änderte. Hinsichtlich

Überlebens gab es bei einem p-Wert von 0,1916 keinen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe UAP1-exprimierender, ERG-negativer Prostatakarzinome und der Zeit bis zum gemessenen klinischen Event des Gewebekollektivs, dem biochemisch nachweisbaren Rezidiv. Die entsprechenden Kaplan-Meier-Überlebenskurven und die prozentuale Aufspaltung der gesamt 720 Karzinomproben sind in Abbildung 3.7 einsehbar.

3.1.8 Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren

	n auswertbar	Int 0	Int 1	Int 2	Int 3	P-Wert
Gewebeproben	1005	69 (6.9)	261 (26)	625 (62.2)	50 (5)	
PSA						
<4	146	13 (8.9)	47 (32.2)	80 (54.8)	6 (4.1)	0.3179
4-10	571	35 (6.1)	142 (24.9)	350 (63)	34 (6)	
10-20	188	14 (7.4)	42 (22.3)	125 (66.5)	7 (3.7)	
>20	71	6 (8.5)	22 (31)	41 (57.7)	2 (2.8)	
pT Stadium						
pT2	616	30 (4.9)	151 (24.5)	405 (65.7)	30 (4.9)	0.0155
pT3a	243	23 (9.5)	60 (24.7)	147 (60.5)	13 (5.3)	
pT3b	125	14 (11.2)	44 (35.2)	60 (48)	7 (5.6)	
pT4	9	1 (11.1)	2 (22.2)	6 (66.7)	0 (0)	
pN Stadium						
Nx	473	25 (5.3)	127 (26.8)	298 (63)	23 (4.9)	0.1265
N0	488	40 (8.2)	117 (24)	304 (62.3)	27 (5.5)	
N+	29	2 (6.9)	12 (41.4)	15 (51.7)	0 (0)	
Gleason Score						
≤3+3	408	14 (3.4)	95 (23.3)	279 (68.4)	20 (4.9)	0.0002
3+4	489	40 (8.2)	134 (27.4)	291 (59.5)	24 (4.9)	
4+3	88	13 (14.8)	27 (30.7)	45 (51.1)	3 (3.4)	
≥4+4	8	1 (12.5)	1 (12.5)	3 (37.5)	3 (37.5)	
Resektionsrand						
R0	768	57 (7.4)	191 (24.9)	482 (62.8)	38 (4.9)	0.3602
R1	224	11 (4.9)	66 (29.5)	136 (60.7)	11 (4.9)	

Abb. 3.8 Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren; ein signifikanter Unterschied der Verteilung lässt sich zwischen UAP1-Expression ERG-positiver Tumorspots und pT-Stadium ($p = 0,0155$) und Gleason-Score ($p = 0,0002$) erkennen. Die p-Werte für PSA ($p = 0,3179$), pN-Stadium ($p = 0,1265$) oder Resektionsrand ($p = 0,3602$) treffen nicht das Signifikanzniveau. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Ergänzend zu den bereits erfolgten Analysen wurden auch die Verhältnisse von zytoplasmatischer UAP1-Expression ERG-positiver Prostatakarzinome mit Tumorstandardparametern untersucht. Die zugehörige Kreuztabelle lässt sich Abbildung 3.8 entnehmen.

Im Vergleich mit PSA konnte wurde im Chi-Quadrat-Test ein p-Wert von 0,3179 ermittelt, sodass sich im Vergleich mit dem UAP1-Expressionsstatus ERG-positiver Prostatakarzinome

kein signifikanter Unterschied ergab. Die p-Werte für die Korrelation mit pN-Stadium ($p = 0,1265$) sowie Resektionsrand ($p = 0,3602$) trafen ebenfalls nicht das festgelegte Signifikanzniveau.

993 Tumorspots wurden für den Vergleich von UAP1-Expression ERG-positiver Prostatatumoren mit dem pT-Stadium ausgewertet. Dies ergab einen signifikanten Unterschied bei einem p-Wert von 0,0155. Dabei ließ sich bei einem Anstieg der Tumorstadien von pT2 zu pT3b ebenfalls ein Anstieg der UAP1-Expressionsintensität 0 bzw. 1 bei Abfallenden Prozentzahlen der Intensität 2 erkennen. Ein Abweichen von beschriebenem Muster wurde für die Gruppen Intensität 0, 1 und 2 jeweils im Stadium pT4 beobachtet, für das lediglich 9 von 993 Gewebeproben zur Analyse verfügbar waren. Zudem war für die UAP1-Expressionsintensität 3 zwar wie bei Intensität 2 ein Absinken der absoluten Fallzahlen mit steigendem pT-Stadium zu verzeichnen, die entsprechenden Prozentzahlen entsprachen jedoch bis auf pT4 (kein auswertbarer Tumorspot) einem annähernd ansteigenden Muster.

Für den Vergleich von UAP1-Expression bei ERG-positiven Prostatakarzinomproben mit dem Standardparameter Gleason-Score ergab sich ein signifikanter p-Wert von 0,0002. Von der Gruppe mit niedrigstem Malignitätspotential Gleason-Score $\leq 3+3$ hin zu Gleason-Score $4+3$ zeichnete sich ein deutlicher Anstieg in der UAP1-Expression Intensität 0 und Intensität 1 sowie ein Absinken für Intensität 2 und Intensität 3 ab. Die Gruppe Gleason-Score $\geq 4+4$ konnte bei einer auffallend geringen Fallzahl (8 von 993 auswertbaren Tumorspots) keinem der genannten Muster zugeordnet werden.

3.1.9 Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status

In Abbildung 3.9 werden die Kaplan-Meier-Überlebenskurven bzw. die deskriptive Statistik des Vergleichs von UAP1-Expression ERG-positiver Prostatakarzinome mit der Zeit bis zu einem BCR dargestellt, welches wie bereits erwähnt als Überschreiten eines Grenz-PSA-Werts von $\geq 0,2\text{ng/ml}$ mit einem Folgewert $> 0,2\text{ng/ml}$ definiert wurde. In Bezug auf das Überleben ergab sich dabei ein signifikanter Unterschied bei einem p-Wert von 0,0139. Hierbei wurde bei UAP1-Expressionsintensität Intensität 0 und Intensität 3 eine kürzere Zeit bis zu einem biochemischen Rezidiv notiert, als bei der Gruppe Intensität 1 oder Intensität 2. Die entsprechende Abbildung spiegelt dies in einem gruppierten Kurvenverlauf der

Intensitäten 0 und 3 - mit deutlichem Abfall bei ca. 118 Monaten der Intensität 0 - im Gegenzug zu den Überlebenskurven der Gruppen Intensität 1 und 2 wider.

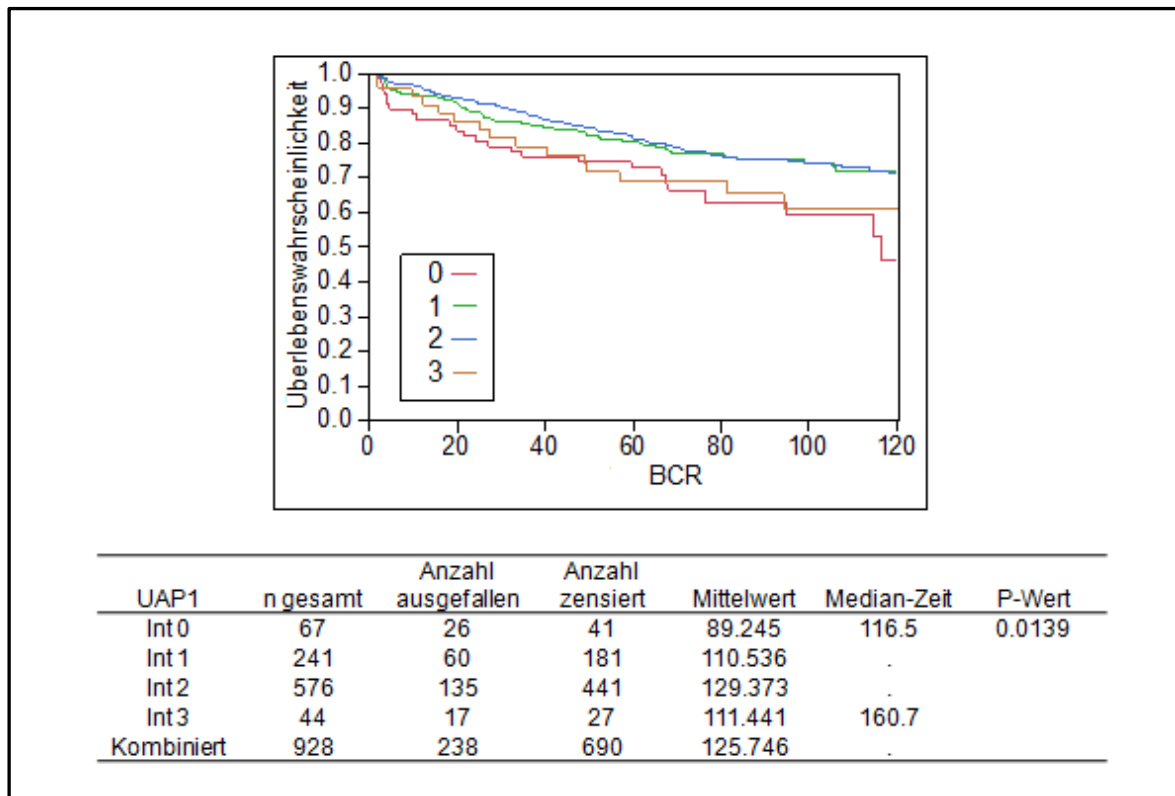


Abb. 3.9 Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status; ein p-Wert von 0,0139 lässt einen signifikanten Unterschied erkennen.

Im Einzelnen trat bei 26 von 67 Tumorspots (38,8%) der Intensität 0 ein BCR ein, diese galten als ausgefallen. Die restlichen 41 Patientendaten wurden zensiert. Die 50% Überlebenswahrscheinlichkeit wurde von der Intensität 0-Überlebenskurve bei 116,5 Monaten gekreuzt. Eine UAP1-Expressionsintensität 1 zeigte sich bei insgesamt 241 Spots, von denen 60 (24,9%) durch Erreichen des klinischen Events als ausgefallen galten und 181 zensiert wurden; die Medianzeit konnte nicht ermittelt werden. 576 Tumorspots wurden Intensität 2 zugeordnet, von denen in 135 Fällen (23,4%) ein BCR eintrat bzw. 441 Daten zensiert wurden. Die Medianzeit, bei der die Überlebenswahrscheinlichkeit 50% beträgt, wurde nicht erreicht. Von 44 Spots der Intensität 3 galten 17 (38,6%) nach Eintritt eines BCR als ausgefallen, 27 Gewebesspots wurden zensiert. Die Medianzeit wurde für die Intensität 3-Gruppe bei 160,7 Monaten erreicht.

3.2 Zytoplasmatische/nukleäre UAP1-Expression

Zur weiteren Charakterisierung der UAP1-Expressionsmuster wurden 1829 auswertbare Tumorspots getrennt für Zytoplasma und Zellkern analysiert. Mit „Negativ“ wurde eine fehlende Expression im Zytoplasma beschrieben, die isoliert-positive zytoplasmatische Expression wurde mit „Zytoplasma“ angegeben.

3.2.1 Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren

	n gesamt	n auswertbar	negativ	Zytoplasma	nukleär Int. 1	nukleär Int. 2	P-Wert
Gewebeproben	3261	1829	295 (16.1)	99 (5.4)	947 (51.8)	488 (26.7)	
PSA							0.4634
<4	527	273	55 (20.1)	11 (4)	136 (49.8)	71 (26)	
4-10	1742	986	146 (14.8)	50 (5.1)	534 (54.2)	256 (26)	
10-20	668	386	66 (17.1)	26 (6.7)	194 (50.3)	100 (25.9)	
>20	231	140	22 (15.7)	8 (5.7)	68 (48.6)	42 (30)	
pT Stadium							0.085
pT2	2150	1163	194 (16.7)	60 (5.2)	630 (54.2)	279 (24)	
pT3a	643	401	62 (15.5)	20 (5)	192 (47.9)	127 (31.7)	
pT3b	383	225	33 (14.7)	16 (7.1)	107 (47.6)	69 (30.7)	
pT4	42	20	2 (10)	1 (5)	9 (45)	8 (40)	
pN Stadium							<0.0001
Nx	1527	883	150 (17)	42 (4.8)	502 (56.9)	189 (21.4)	
N0	1584	864	132 (15.3)	52 (6)	407 (47.1)	273 (31.6)	
N+	99	56	8 (14.3)	2 (3.6)	27 (48.2)	19 (33.9)	
Gleason Score							0.0308
≤3+3	1475	764	141 (18.5)	46 (6)	398 (52.1)	179 (23.4)	
3+4	1361	822	110 (13.4)	42 (5.1)	432 (52.6)	238 (29)	
4+3	325	191	32 (16.8)	9 (4.7)	94 (49.2)	56 (29.3)	
≥4+4	57	32	8 (25)	0 (0)	14 (43.8)	10 (31.3)	
Resektionsrand							0.0014
R0	2551	1402	241 (17.2)	71 (5.1)	743 (53)	347 (24.8)	
R1	665	406	50 (12.3)	26 (6.4)	195 (48)	135 (33.3)	

Abb. 3.10 Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren; für den Vergleich von UAP1-Expression mit den Tumorcharakteristika pN-Stadium ($p < 0,0001$), Gleason-Score ($p = 0,0308$) und Resektionsrand ($p = 0,0014$) lassen die p-Werte jeweils auf einen signifikanten Unterschied schließen. Die P-Werte für den Vergleich mit PSA ($p = 0,4634$) und pT-Stadium ($p = 0,085$) trafen das Signifikanzniveau nicht. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

In Abbildung 3.10 wurden in einer Kreuztafel die Häufigkeiten zytoplasmatischer bzw. nukleärer UAP1-Expression gegen klinisch-pathologische Tumorcharakteristika aufgetragen.

Der Vergleich von UAP1-Expression mit PSA ($p = 0,4634$) und pT-Stadium ($p = 0,085$) traf nicht das festgelegte Signifikanzniveau. Ein Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen konnte demnach nicht bestätigt werden.

Für den Vergleich der UAP1-Expression auf nukleärer bzw. zytoplasmatischer Ebene mit Lymphknotenstatus errechnete sich ein signifikanter p-Wert $< 0,0001$. Zu beachten ist die geringe Fallzahl von 56 auswertbaren Proben bei positivem Lymphknotenbefall im Gegensatz zu 883 Tumorspots mit unklarem und 864 Gewebesspots mit negativem Lymphknotenstatus. Zwar wurde bei positivem Lymphknotenstatus eine anteilig höhere UAP1-Kernexpression n2 notiert, als bei negativem bzw. unklarem Lymphknotenstatus. Den weiteren Gruppen der positiven bzw. negativen zytoplasmatischen Expression sowie der Kernexpression n1 ließ sich kein eindeutiges Muster zuordnen.

Bei weiterer Untersuchung der UAP1-Expressionsmuster wurde der Ort der UAP1-Expression (nukleär/zytoplasmatisch) mit Gleason Score verglichen. Dies ergab mit einem p-Wert von 0,0308 einen signifikanten Unterschied. Mit ansteigendem Malignitätspotential der Gleason-Score-Untergruppen von $\leq 3+3$ hin zu $\geq 4+4$ stieg auch die UAP1-Kernexpression n2 bei gleichzeitig sinkender Kernexpression n1 und sinkender zytoplasmatischer UAP1-Expression. Gleichläufig hierzu zeigte sich in der Gruppe der negativen zytoplasmatischen Expression unter Ausnahme Gleason-Score $\leq 3+3$ (18,5%) ein Anstieg der prozentualen Häufigkeiten von Gleason 3+4 (13,4%) hin zu Gleason $\geq 4+4$ (25%). Entsprechend sank der Anteil der positiven UAP1-Expression.

Der Vergleich von UAP1-Expression auf zellulärer Ebene mit dem Tumorcharakteristikum Resektionsrand ergab einen signifikanten p-Wert von 0,0014. Es ließ sich für Proben mit positivem Resektionsrand eine steigende zytoplasmatische Expression bei entsprechend sinkender negativer zytoplasmatische Expression beobachten. Zudem ließ sich eine steigende UAP1-Kernexpression n2 bei gleichzeitig sinkender Kernexpression n1 abgrenzen.

3.2.2 Vergleich mit ERG-, AR- und mTOR-Expressionsstatus

Im Folgenden wurde die zytoplasmatische bzw. nukleäre UAP1-Expression mit dem Expressionsstatus von ERG, AR und mTOR verglichen. Die beschreibende Statistik zu genannten Vergleichen wird in Abbildung 3.11 aufgezeigt.

Für die UAP1-Expressionsmusteranalyse mittels AR-Status wurde ein signifikanter p-Wert von $< 0,0001$ errechnet. Es ließ sich mit steigender AR-Expressionsintensität - von negativer hin zu starker - eine entsprechend ansteigende UAP1-Kernexpressivität von sowohl Intensität n1 als auch Intensität n2 beobachten. Zudem zeigte die Gruppe der negativen

zytoplasmatischen Expression sinkende prozentuale Fallzahlen von AR-negativer zu starker AR-Expression. Die UAP1-Gruppe mit positiver zytoplasmatischer Expression hingegen bot aberrante Ergebnisse, die sich keinem eindeutigen Muster zuordnen ließen.

	n auswertbar	negativ	Zytoplasma	nukleär Int. 1	nukleär Int. 2	P-Wert
ERG						
negativ	773	227 (29.4)	71 (9.2)	385 (49.8)	90 (11.6)	<0.0001
positiv	1006	59 (5.9)	26 (2.6)	535 (53.2)	386 (38.4)	
	1779	286 (16.1)	97 (5.5)	920 (51.7)	476 (26.8)	
AR						
negativ	67	32 (47.8)	6 (9)	23 (34.3)	6 (9)	<0.0001
schwach	135	40 (29.6)	14 (10.4)	61 (45.2)	20 (14.8)	
moderat	266	58 (21.8)	27 (10.2)	130 (48.9)	51 (19.2)	
stark	1145	121 (10.6)	42 (3.7)	614 (53.6)	368 (32.1)	
mTOR						
negativ	403	103 (25.6)	27 (6.7)	174 (43.2)	99 (24.6)	<0.0001
schwach	490	90 (18.4)	32 (6.5)	241 (49.2)	127 (25.9)	
moderat	578	66 (11.4)	31 (5.4)	315 (54.5)	166 (28.7)	
stark	179	9 (5)	4 (2.2)	110 (61.5)	56 (31.3)	

Abb. 3.11 Vergleich mit ERG-, AR- und mTOR-Expressionsstatus; sowohl für den Vergleich mit dem ERG-, als auch dem AR- und mTOR-Expressionsstatus ergeben sich p-Werte, welche für jeweils $p < 0,0001$ einen signifikanten Unterschied nahelegen. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Bei einem p-Wert $< 0,0001$ konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den in der Kreuztabelle errechneten Häufigkeiten von mTOR-Expression und UAP1-Expressionsort in Zytoplasma oder Kern erkannt werden. Ähnlich wie bei der AR-Expression konnte mit höherer mTOR-Expression auch eine steigende nukleäre UAP1-Expression n1 und n2 festgestellt werden. Zudem reduzierte sich die negative zytoplasmatische Expression von negativem mTOR-Status hin zu starker mTOR-Expression. Gleichläufig wurde eine Abnahme der positiven zytoplasmatischen Expression notiert. Der Anteil der positiv zytoplasmatisch UAP1-exprimierenden Tumorproben zeigte sich deutlich geringer als der ohne UAP1-Expression im Zytoplasma.

In der Analyse UAP1-Expression in Zytoplasma oder Kern mit Bezug auf den ERG-Status ergab sich bei einem p-Wert von kleiner 0,0001 ein signifikanter Unterschied der Häufigkeitsverteilungen. Dabei ging – vergleichbar mit den Untersuchungen zu mTOR und AR - mit positivem ERG-Status eine erhöhte UAP1-Kernexpression der Intensität n1 und n2 einher, wie auch eine deutlich geringere prozentuale Anzahl an Tumorspots ohne zytoplasmatische UAP1-Expression. Die Karzinomproben mit negativem ERG-Status zeigten

höhere zytoplasmatische UAP1-Expression, insgesamt war der Anteil der zytoplasmatisch UAP1-exprimierenden Tumorspots geringer als der der negativen.

3.2.3 Überlebensanalyse bei zytoplasmatischer/nukleärer UAP1-Expression

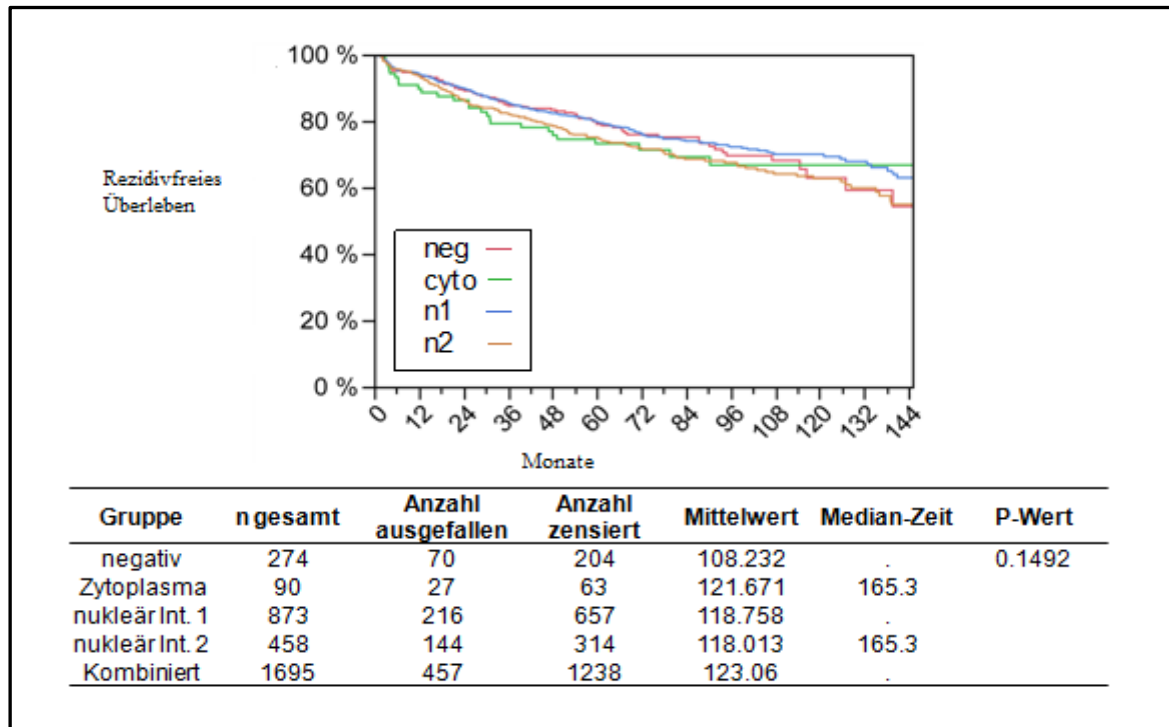


Abb. 3.12 Überlebensanalyse bei zytoplasmatischer/nukleärer UAP1-Expression; bei einem p-Wert von 0,1492 konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich Überleben erschlossen werden.

Abbildung 3.12 zeigt die deskriptive Statistik der Kaplan-Meier-Analyse und des vorgenommenen Log-Rank-Tests. Hierbei wurde untersucht, wie sich das rezidivfreie Überleben im Vergleich mit der Variable des UAP1-Expressionsortes (Zytoplasma bzw. Kern) änderte. Bei einem p-Wert von 0,1492 konnte bei einer Probengröße von 1695 Spots hinsichtlich Überlebens kein Unterschied bestätigt werden.

3.2.4 Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Prognosefaktoren

773 Gewebespsots wurden für den Vergleich der zytoplasmatischen bzw. nukleären UAP1-Expression ERG-negativer Prostatakarzinomzellen mit tumorphänotypischen Standardparametern ausgewertet. Die deskriptive Statistik ist Abbildung 3.13 zu entnehmen.

Der Vergleich von zytoplasmatischer/nukleärer UAP1-Expression mit PSA ergab bei einem p-Wert von 0,2983 keinen signifikanten Unterschied.

	n auswertbar	negativ	zytoplasmatisch	nukleär Int1	nukleär Int2	P-Wert
Gewebeproben	773	227 (29.4)	71 (9.2)	385 (49.8)	90 (11.6)	
PSA						
<4	115	41 (35.7)	11 (9.6)	53 (46.1)	10 (8.7)	0.2983
4-10	393	115 (29.3)	33 (8.4)	207 (52.7)	38 (9.7)	
10-20	186	50 (26.9)	19 (10.2)	90 (48.4)	27 (14.5)	
>20	65	17 (26.2)	5 (7.7)	30 (46.2)	13 (20)	
pT Stadium						
pT2	509	163 (32)	47 (9.2)	257 (50.5)	42 (8.3)	0.0049
pT3a	154	41 (26.6)	15 (9.7)	69 (44.8)	29 (18.8)	
pT3b	92	19 (20.7)	7 (7.6)	50 (54.3)	16 (17.4)	
pT4	11	2 (18.2)	0 (0)	6 (54.5)	3 (27.3)	
pN Stadium						
Nx	377	124 (32.9)	30 (8)	196 (52)	27 (7.2)	0.0028
N0	359	95 (26.5)	37 (10.3)	171 (47.6)	56 (15.6)	
N+	27	6 (22.2)	1 (3.7)	14 (51.9)	6 (22.2)	
Gleason Score						
≤3+3	335	125 (37.3)	36 (10.7)	154 (46)	20 (6)	<0.0001
3+4	311	72 (23.2)	26 (8.4)	170 (54.7)	43 (13.8)	
4+3	97	21 (21.6)	7 (7.2)	48 (49.5)	21 (21.6)	
≥4+4	23	7 (30.4)	0 (0)	10 (43.5)	6 (26.1)	
Resektionsrand						
R0	593	185 (31.2)	51 (8.6)	300 (50.6)	57 (9.6)	0.0047
R1	173	40 (23.1)	18 (10.4)	82 (47.4)	33 (19.1)	

Abb. 3.13 Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Tumorstandardparametern; ein signifikanter Unterschied kann jeweils im Vergleich mit pT-Stadium ($p = 0,0049$), pN-Stadium ($p = 0,0028$), Gleason-Score ($p < 0,0001$) und Resektionsrand ($p = 0,0047$) hergestellt werden. Der p-Wert der Assoziation mit PSA ($p = 0,2983$) trifft nicht das Signifikanzniveau. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

In der Analyse UAP1-Expression in Zytoplasma oder Kern mit Bezug auf das pT-Stadium wurde bei einem p-Wert von 0,0049 ein signifikanter Unterschied angenommen. Mit steigendem Tumorstadium von pT2 zu pT4 wurde ein gleichläufiger Anstieg der UAP1-Kernexpression mit Intensität n1 unter Ausnahme der Subgruppe pT3a (44,8%) festgestellt. Zudem sank der prozentuale Anteil der Tumorspots mit zytoplasmatisch negativer UAP1-Expression. Hingegen ließen sich die Ergebnisse der zytoplasmatisch- bzw. mit Kernintensität n2 UAP1-Expriemierenden keinem Muster zuordnen. Zudem standen für die Charakterisierung der UAP1-Expression nur 11 Tumorspots des pT4-Stadiums zur Verfügung.

Für die UAP1-Expressionsmusteranalyse mittels Lymphknotenstatus ergab sich ein signifikanter p-Wert von 0,0028. Bei positivem Lymphknotenstatus pN+ wurden im Gegensatz zu nicht sicher bestimmbar (pNx) bzw. negativem Lymphknotenstatus (pN0) eine höhere UAP1-Expression im Zellkern mit sowohl Intensität n1 als auch n2 beobachtet. Jedoch wurden bei pN+ für die Gruppen der negativ bzw. positiv UAP1-expriemierenden

Tumorspots niedrigere prozentuale Anteile als bei pNx/pN0 festgestellt, wobei insgesamt der Anteil von Proben ohne UAP1-Expression im Zytoplasma überwog.

Weiter ließ sich im Vergleich der UAP1-Expressivität ERG-negativer Prostatakarzinomproben mit Gleason-Score bei einem p-Wert von $< 0,0001$ ein signifikanter Unterschied annehmen. Hierbei konnte mit steigendem Gleason-Score bzw. höherem Malignitätspotential von Gleason $\leq 3+3$ zu $\geq 4+4$ eine ebenfalls ansteigende UAP1-Kernexpression n2 festgestellt werden. Die Gruppen von negativer bzw. positiver zytoplasmatischer UAP1-Expression zeigten sinkende Prozentzahlen analog zu steigendem Gleason-Score, unter Ausnahme der Subgruppe Gleason-Score $\geq 4+4$ der zytoplasmatisch negativ UAP1-Exprimierenden. Hierbei fiel eine geringe Fallzahl (23 von insgesamt 766 auswertbaren Tumorproben) für Gleason-Score $\geq 4+4$ auf. Insgesamt überwog der Anteil von Tumorproben ohne zytoplasmatische UAP1-Expression den der UAP1-positiv-Exprimierenden im Zytoplasma. Für die Gruppe mit Kernexpressivität n1 bot sich mit steigendem Gleason-Score eine sinkende UAP1-Expression unter Einschränkung der Subgruppe $\leq 3+3$ (46%).

Als weiterer Punkt der Expressionsanalyse von UAP1 wurde der Vergleich von UAP1-Expression im Zytoplasma bzw. Kern ERG-negativer Prostatakarzinomzellen mit dem klinischen Parameter Resektionsrand gezogen. Der errechnete p-Wert von 0,0047 legte einen signifikanten Unterschied nahe. Dabei konnte beobachtet werden, dass bei positivem Resektionsrand R1 eine höhere UAP1-Kernexpression n2 vorlag als bei R0, da hier tendenziell die Kernexpression n1 abzugrenzen war. Zudem war mit positivem Resektionsrand ein höherer Prozentsatz an positiver zytoplasmatischer UAP1-Expression zu beobachten, bei negativem Resektionsrand überwog der negative UAP1-Expressionsstatus.

3.2.5 Überlebensanalyse bei ERG-Negativität

In Abbildung 3.14 werden deskriptive Statistik und Grafik von Kaplan-Meier-Analyse und Log-Rank-Test zum Vergleich zwischen rezidivfreiem Überleben mit der Variable UAP1-Expressionsort (Zytoplasma bzw. Kern) dargestellt. Bei einem p-Wert von 0,0198 konnte ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Überlebensraten festgestellt werden. Ein mittleres kurzes rezidivfreies Überleben (100,1 Monate) wurde dabei für die nukleäre Expressionsintensität n2, ein etwas besseres Überleben (165,3 Monate) ließ sich für positive zytoplasmatische UAP1-Expression beobachten.

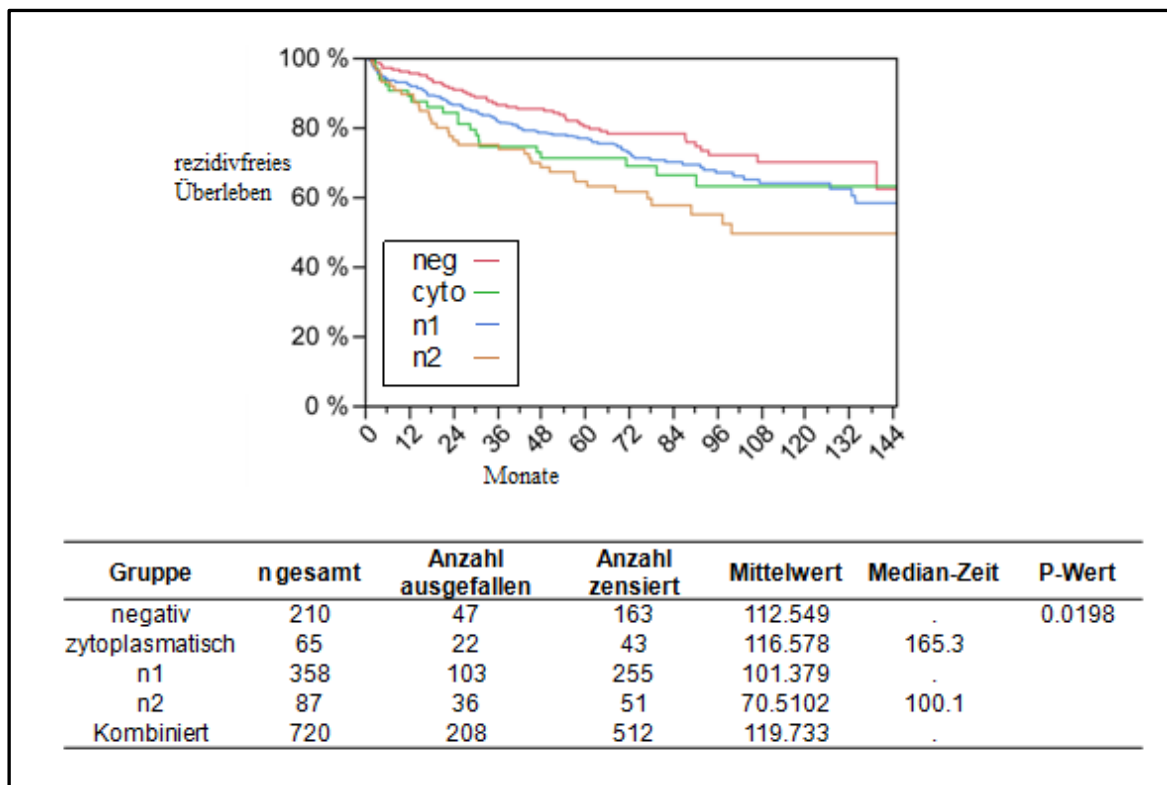


Abb. 3.14 Überlebensanalyse bei ERG-Negativität; bei einem p-Wert von 0,0198 besteht ein signifikanter Unterschied hinsichtlich Überleben.

Es zeigte sich, dass von 210 Spots ohne zytoplasmatische UAP1-Expression 47 (22,3%) mit einem biochemischen Rezidiv registriert wurden, der Rest wurde zensiert, da ein klinisches Event BCR nicht erreicht wurde. In der Gruppe der 65 Spots mit UAP1-Expression im Zytoplasma lag die Anzahl der Ausgefallenen mit Event bei 22 (33,8%), die der Zensierten bei 43. Die Überlebenskurve der zytoplasmatische UAP1-Expimierenden kreuzte die Gerade des 50%-Überlebens, woraus sich eine Median-Zeit von 165,3 Monaten ergab. Eine nukleäre UAP1-Färbung mit Intensität 1 ließ sich bei 358 Gewebespots auswerten. Von diesen galten 103 (28,8%) durch biochemisches Rezidiv als ausgefallen, 255 wurden zensiert. Weitere 87 Tumorspots (41,4%) zeigten nukleär eine UAP1-Expression der Intensität 2. Davon wurde bei 36 Patienten ein biochemisches Rezidiv notiert, 51 zeigten ein rezidivfreies Überleben und wurden zensiert. Der Median des Überlebens dieser Gruppe, dass 50% der Untersuchten noch ohne Rezidiv waren, lag bei 100,1 Monaten.

3.2.6 Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren

Es wurden 1006 Gewebespots für den Vergleich der zytoplasmatischen bzw. nukleären UAP1-Expression ERG-positiver Prostatakarzinomzellen mit tumorphänotypischen

Standardparametern ausgewertet. Die deskriptive Statistik der Kreuztabelle wird in Abbildung 3.15 abgebildet.

	n auswertbar	negativ	Zytoplasma	Nukleär In1	Nukleär Int2	P-Wert
Gewebeproben	1006	59 (5.9)	26 (2.6)	535 (53.2)	386 (38.4)	
PSA						0.2007
<4	146	11 (7.5)	0 (0)	76 (52.1)	59 (40.4)	
4-10	572	28 (4.9)	16 (2.8)	316 (55.2)	212 (37.1)	
10-20	188	14 (7.4)	7 (3.7)	98 (52.1)	69 (36.7)	
>20	71	5 (7)	2 (2.8)	35 (49.3)	29 (40.8)	
pT Stadium						0.0024
pT2	616	24 (3.9)	12 (1.9)	350 (56.8)	230 (37.3)	
pT3a	243	21 (8.6)	5 (2.1)	121 (49.8)	96 (39.5)	
pT3b	126	13 (10.3)	8 (6.3)	55 (43.7)	50 (39.7)	
pT4	9	0 (0)	1 (11.1)	3 (33.3)	5 (55.6)	
pN Stadium						0.0048
Nx	473	20 (4.2)	11 (2.3)	285 (60.3)	157 (33.2)	
N0	489	35 (7.2)	14 (2.9)	230 (47)	210 (42.9)	
N+	29	2 (6.9)	1 (3.4)	13 (44.8)	13 (44.8)	
Gleason Score						0.0131
≤3+3	408	10 (2.5)	9 (2.2)	233 (57.1)	156 (38.2)	
3+4	490	36 (7.3)	15 (3.1)	251 (51.2)	188 (38.4)	
4+3	88	11 (12.5)	2 (2.3)	41 (46.6)	34 (38.6)	
≥4+4	8	1 (12.5)	0 (0)	4 (50)	3 (37.5)	
Resektionsrand						0.0839
R0	769	50 (6.5)	19 (2.5)	419 (54.5)	281 (36.5)	
R1	224	8 (3.6)	7 (3.1)	110 (49.1)	99 (44.2)	

Abb. 3.15 Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren; für den in der Kreuztabelle abgebildeten Vergleich findet sich ein signifikanter Unterschied für pT-Stadium ($p = 0,0024$), pN-Stadium ($p = 0,0048$) und Gleason-Score ($p = 0,0131$). Für PSA ($p = 0,2007$) und Resektionsrand ($p = 0,0839$) wird das Signifikanzniveau nicht getroffen. Angaben in Klammern entsprechen prozentualen Häufigkeiten.

Im Vergleich mit dem Tumorparameter PSA ergab sich ein p-Wert von 0,2007, womit das Signifikanzniveau nicht getroffen wurde. Ebenso konnte für den Vergleich mit dem Parameter Resektionsrand kein signifikanter p-Wert bestimmt werden ($p = 0,0839$).

Für den Vergleich des UAP1-Expressionsortes ERG-positiver Prostatakarzinomproben mit dem Parameter Tumorstadium pT wurde das Signifikanzniveau mit einem p-Wert von $p = 0,0024$ getroffen. Unter Berücksichtigung der niedrigen pT4-Fallzahl von nur 9 Tumorspots (gesamt 994) ließ sich mit steigendem Tumorstadium von pT2 zu pT4 ein Absinken der Prozentzahlen der UAP1-Kernexpression n1 zugunsten einer steigenden Kernexpression n2 abgrenzen. Gleichläufig stieg zudem die Expression von UAP1 im Zytoplasma, wobei der prozentuale Anteil der negativen UAP1-Expression gesamt überwog.

Ein signifikanter p-Wert von 0,0048 konnte bei der Untersuchung der UAP1-Expressionslokalisierung ERG-positiver Prostatakarzinomzellen im Vergleich mit dem pN-

Stadium errechnet werden. Dabei dominierte für unklaren oder negativen Lymphknotenstatus die UAP1-Kernexpression n1, bei positivem Lymphknotenstatus hingegen die Kernexpression n2. Zudem war eine verstärkte zytoplasmatische UAP1-Expression bei positivem Lymphknotenbefall zu beobachten, wobei jedoch insgesamt der Anteil der Proben ohne zytoplasmatische UAP1-Expression überwog.

Im Vergleich der UAP1-Expression ERG-positiver Prostatakarzinomspots mit Gleason-Score konnte bei einem p-Wert von 0,0131 von einem signifikanten Unterschied ausgegangen werden. Unter Beachtung der geringen Fallzahl (8 von 994) der Subgruppe Gleason $\geq 4+4$ konnte mit fortschreitendem Gleason-Score ein Abfall der UAP1-Kernexpression n1 bei gleichzeitigem Anstieg der Kernexpression n2 notiert werden. Zudem ließ sich gleichläufig ein prozentualer Anstieg der Tumorproben ohne zytoplasmatische UAP1-Expression beobachten. Die Ergebnisse für positive zytoplasmatische UAP1-Expression konnten keinem der genannten Muster zugeordnet werden.

3.2.7 Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status

Bei einer Kollektivgröße von 929 Patienten wurde mittels Kaplan-Meier-Analyse und Log-Rank-Test untersucht, wie sich das rezidivfreie Überleben im Vergleich mit der Variable des UAP1-Expressionsortes (Zytoplasma bzw. Kern) in ERG-positiven Karzinomproben änderte. Abbildung 3.16 stellt die deskriptive Statistik und Grafik dieser Tests dar.

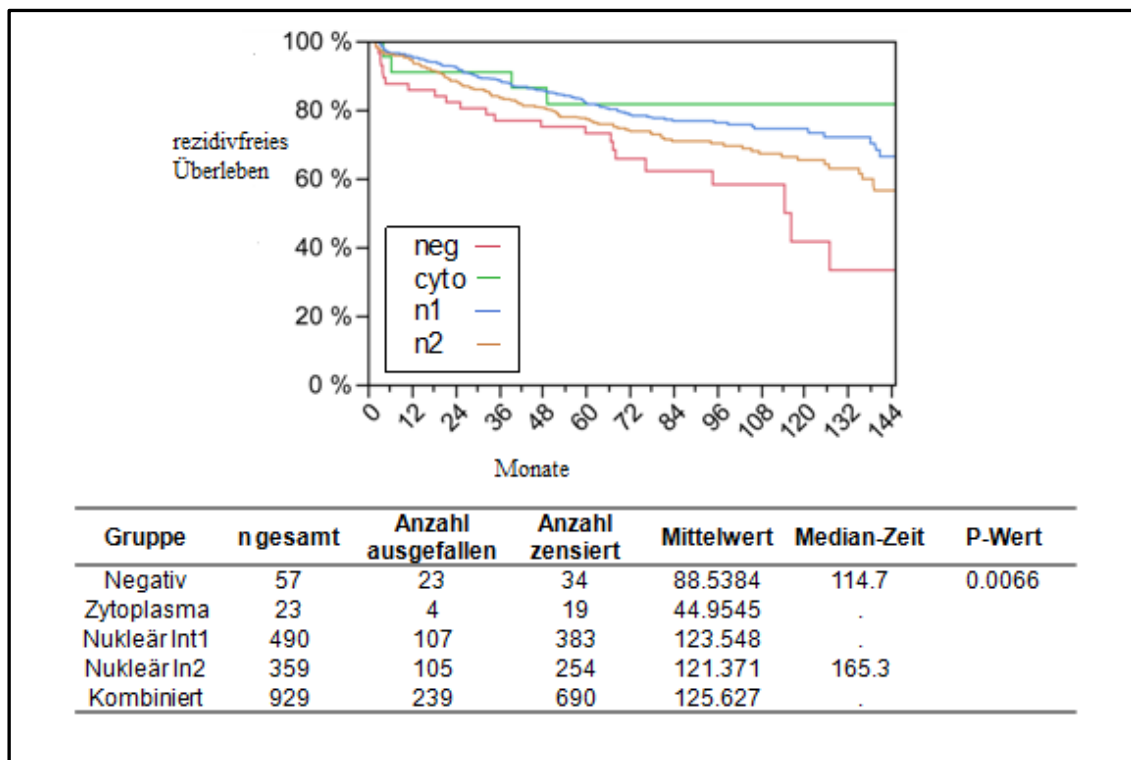


Abb. 3.16 Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status: es zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Überlebensraten ($p = 0,0066$).

Bei einem p-Wert von 0,0066 konnte ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Überlebensraten angenommen werden, wobei bei fehlender zytoplasmatischer UAP1-Expression das kürzeste, bei der nukleären Intensität n2 das zweitkürzeste rezidivfreie Überleben der Untersuchten zu beobachten war. 57 Gewebespts exprimierten kein UAP1 im Zytoplasma. Von diesen wurde bei 23 Patienten (40,4%) ein biochemisches Rezidiv festgestellt. Bei den restlichen 34 Patienten konnte kein Event ermittelt werden, weshalb eine Zensur erfolgte. Die Median-Zeit dieser Gruppe besagte, dass nach 114,7 Monaten bei 50% der Untersuchten ein biochemisches Rezidiv vorlag. Die Gruppe der zytoplasmatisch UAP1-Exprimierenden umfasste 23 Spots. 4 Gewebespts galten als ausgefallen (17,4%), 19 wurden ohne BCR zensiert. Von 490 Tumorspts mit nukleärer UAP1-Expression der Intensität 1 fielen 107 (21,8%) aus, 383 wurden zensiert. Eine UAP1-Expression im Kern mit Intensität 2 zeigten 359 auswertbare Spots. Davon fielen 105 Daten (29,2%) aufgrund biochemischen Rezidivs aus, 254 wurden ohne Auftreten eines klinischen Events zensiert und sodann die Medianzeit durch Kreuzen der Überlebenskurve dieser Gruppe mit der 50%-Überlebensgerade gebildet. Die so errechnete Medianzeit betrug 165,3 Monate.

4 Diskussion

Ziel dieser Studie war es, die Expression von UAP1 zu evaluieren und im Kontext bekannter klinisch-pathologischer Faktoren als möglichen prognostischen Biomarker zu charakterisieren.

UAP1 ist ein zytoplasmatisches Enzym der Aminosückermetabolisierung (Mio et al., 1998), dessen Überexpression neben den bereits genannten drei weiteren „Signaturgenen“ (PDLIM5, IMPDH2, HSPD1) spezifisch in Prostatakarzinomgewebe nachgewiesen werden konnte (Guyon et al., 2009).

Das Vorliegen von UAP1-Überexpression bei Prostatakarzinomen wurde zusätzlich durch Analysen basierend auf Daten der Oncomine-Datenbank bestätigt, in welcher molekularbiologische Daten aus onkologischen Microarray-Studien aufgeführt werden (Rhodes et al., 2004; Itkonen et al., 2013).

Mehrere Studien belegen, dass eine Überexpression von HBP-Enzymen (englisch Hexosamine Biosynthesis Pathway = Aminosückerstoffwechsellenzymen) mit Prostatakarzinomgenese bzw. der Karzinogenese anderer Tumorentitäten assoziiert wird (Mi et al., 2011; Krześlak et al., 2012; Lynch et al., 2012). Jedoch klärt die aktuelle Studienlage nur ansatzweise die Rolle der einzelnen HBP-Enzyme für die Karzinogenese des Prostatakarzinoms, UAP1 nicht ausgenommen.

4.1 Zusammenhang von UAP1-Expression mit klinischen Prognosefaktoren

Der Gleason-Score gilt als etablierter prognostischer Indikator, wobei ein hoher Score einem hohen Malignitätspotential bzw. der hohen Wahrscheinlichkeit eines postoperativen PSA-Rezidivs entspricht (Brimo et al., 2013). In vorliegender Studie wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen UAP1-Expression und Gleason-Score festgestellt. Mit steigendem Gleason-Score wurde eine gleichfalls steigende UAP1-Expression im Zellkern bei sinkender UAP1-Expression im Zytoplasma beobachtet.

Auch Ma et al. assoziierten UAP1-Expression mit dem Gleason-Score und entwickelten unter Verwendung dieses Zusammenhangs ein Schema, mit welchem sie bei 75% der insgesamt 141 untersuchten Patienten mit 99% Spezifität und 68% Sensitivität eine Vorhersage zu einem vorliegenden Prostatakarzinom mit Gleason-Score ≥ 7 treffen konnten. Hierbei wurden

neben UAP1 neun weitere Biomarker verwendet, unter anderem PSA und ERG. In zwei Algorithmen konnten mittels dieser Biomarker einerseits Malignome von BPH unterschieden, andererseits das Patientenkollektiv in Gleason-Score <7 oder ≥ 7 unterteilt werden. Beide Algorithmen zusammengeführt ergaben oben genanntes Prädiktionsschema zur Voraussage eines aggressiven, therapiebedürftigen Prostatakarzinoms mit Gleason-Score ≥ 7 (Ma et al., 2014).

Es fand bereits Erwähnung, dass UAP1 ein zytoplasmatisches Enzym sei. In dieser Studie wurde beobachtet, dass bei Gleason-Scores von $\leq 3+3$ UAP1 vornehmlich im Zytoplasma, bei Gleason-Scores von $4+3$ und höher hauptsächlich im Zellkern exprimiert wurde. Mit steigendem Gleason-Score zeigt sich ein erhöhtes Malignitätspotential. Eine Verlagerung der UAP1-Expression von Zytoplasma zu Nukleus könnte somit hinweisend auf ein höheres Malignitätspotential sein.

Nach aktueller Studienlage findet sich bei Prostatakarzinomen wie auch bei anderen Tumorentitäten häufig eine den Ergebnissen dieser Arbeit gegenläufige Biomarker-Expressionsverschiebung von Nukleus in das Zytoplasma. Am Prostatakarzinom zeigen Dhillon et al. diese Expressionsverlagerung anhand P63 auf, eines Biomarkers aus der P53-Familie, und assoziierend die Verschiebung mit höherer Mortalität (Dhillon et al., 2009). Eine weitere Studie zum Prostatakarzinom korreliert die Expressionsverlagerung des Androgenrezeptor-Kofaktors P44/MEP50 mit Androgenresistenz (Peng et al., 2008). Bei klarzelligen Nierenzellkarzinomen wurde eine hohe zytoplasmatische Expression bei physiologisch nukleär exprimierten Tumorsuppressors P27kip1 als Hinweis auf eine schlechte Prognose gewertet (Kruck et al., 2012). Ebenso wurde beim Kolonkarzinom eine zytoplasmatische Überexpression des Tumorsuppressorproteins ING5 (inhibitor of growth 5) mit schlechterer Prognose assoziiert, als vergleichsweise bei Expression im Nukleus (Zheng et al., 2011).

Eine mögliche Verlagerung der Expression von UAP1 zugunsten Expression im Kern im Verlauf der Prostatakarzinogenese lässt sich dergestalt jedoch nicht ausschließen. Weitere Untersuchungen zu diesem Thema, insbesondere mit Biomarkern, die wie UAP1 ein zytoplasmatisches Enzym bzw. einen Teil der Aminosäurestoffwechselkette darstellen, könnten Klärung bieten.

Ein signifikanter Zusammenhang mit UAP1-Expression wurde jeweils für Tumorstadium, Lymphknotenstatus und Resektionsrand festgestellt. Dabei zeichnete sich ab, dass mit

höherem Tumorstadium, positivem Lymphknotenstatus bzw. Resektionsrand eine stärkere Kernexpression von UAP1 abzugrenzen war. Gleichzeitig wurde bei höheren Tumorstadien und positivem Lymphknotenstatus ein Rückgang der zytoplasmatischen UAP1-Expression verzeichnet. Dies legt die Annahme nahe, dass eine erhöhte UAP1-Expression hinweisend auf einen Prostatakarzinomprogress sein könnte.

Eine Korrelation zwischen steigender Expression von Biomarkern mit ungünstigem Tumorphänotyp bzw. Tumorprogress bei Prostatakarzinompatienten wurde auch von Lu et al. untersucht. Es fand sich bei der Expressionsanalyse der Dipeptidylpeptidase CD26 ein signifikanter Unterschied zwischen Expression in Normal- zu Tumorgewebe. Zusätzlich korreliert CD26 mit PSA, Resttumormasse, Tumorstadium und Tumorgröße. Außerdem wurde mit CD26-Expressionsanstieg ein Progress in Tumorstadien notiert (Lu et al., 2013). Kritisch zu bewerten ist jedoch die Größe des Gewebekollektivs, welches aus nur 36 Prostatakarzinomproben und acht nicht-tumorösen Proben bestand. Größere Patientenkollektive, wie in vorliegender Arbeit, sind nötig, um die beobachteten Korrelationen zu verifizieren.

Weiterhin wurde ein ähnlicher Zusammenhang anhand eines Tumorkollektivs von 7478 Patienten untersucht (Tsourlakis et al., 2013). Hierbei wurde die Expressivität von DAXX (Death-domain-associated protein) analysiert, eines Proteins mit wichtiger regulatorischer Rolle bei Chromatinremodellierung, Transkription und Apoptose. Es wurde ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen DAXX als molekularem Marker und Prostatakarzinomentwicklung, -progress und ungünstigem Tumorphänotyp gestellt, wobei eine starke DAXX-Expression mit höherem Gleason-Score/Tumorstadium, gesteigertem Zellproliferationsindex und frühem BCR assoziiert wurde.

Ebenfalls wurde an einem Probenkollektiv von 8179 Prostatakarzinomen die Expressivität von β III-Tubulin untersucht, einem zytoskelettalen Protein, bei Überexpression assoziiert mit schlechter Prognose zahlreicher Tumorentitäten (Tsourlakis et al., 2014). In der entsprechenden Arbeit wurde ein signifikanter Zusammenhang zu hohem Gleason-Score, fortgeschrittenem pT-Stadium und frühem BCR beschrieben, und gezeigt, dass eine Überexpression von β III-Tubulin als unabhängiger Prädiktor für Karzinomprogress fungierte.

Lymphknotenstatus, Resektionsrand und Tumorstadium stellen klinische bzw. prognostische Verlaufparameter dar. Ludwig et al. postulieren, dass Biomarker im klinischen Staging ergänzend zu konventionell verwendeten diagnostischen Modalitäten Verwendung finden

sollten, da Biomarker direkte Rückschlüsse auf zelluläre Aktivität erlauben und somit eine weitere Möglichkeit der Subklassifizierung von Malignomen bieten (Ludwig & Weinstein, 2005). Diese zusätzlichen Informationen wiederum ermöglichen eine individualisierte Prognostik bzw. Therapieplanung. Der signifikante Zusammenhang ansteigender UAP1-Kernexpressivität mit höherer Adversität der klinischen Verlaufparameter könnte diese Anforderung erfüllen. Quantitative Untersuchungen zu UAP1-Expressionsgrenzwerten in Bezug auf Tumorstadien könnten dazu beitragen, UAP1 als möglichen Biomarker für das klinische Staging zu qualifizieren.

Wie aufgeführt zeigte sich eine steigende UAP1-Kernexpression bei zunehmend ungünstigem Verlauf der klinisch-prognostischen Parameter. Zusätzlich wurde jedoch vermerkt, dass teilweise auch bei prognostisch günstigeren Parametern wie niedrigem pT-Stadium, negativem Lymphknotenstatus oder negativem Resektionsrand eine UAP1-Kernexpression in geringer Expressionsintensität vorlag, wenngleich hier eine zytoplasmatische Expression zu erwarten gewesen wäre.

Eine mögliche Erklärung könnte darin zu finden sein, dass die isolierte Betrachtung einzelner klinischer Verlaufparameter, beispielsweise des pT-Stadiums, die Tumorrisikogruppen nicht adäquat wichtet. Da sich das pT-Stadium rein morphologisch auf die Tumorausdehnung bezieht, sollte insbesondere bei niedrigen pT-Stadien der Gesamtkontext von pTNM beachtet werden.

Die Einordnung von heterogenen Tumoren in Risikogruppen von niedrig, mäßig oder hochgradig lässt sich durch den Verbund prognostisch ungünstiger Risikofaktoren erzielen (D'Amico et al., 2002; Nguyen et al., 2009). Ein isoliert niedriges pT-Stadium bei noch nicht stattgefundener Metastasierung bzw. fehlender Infiltration umliegender Strukturen schließt ohne Hinzuziehung von PSA und Gleason-Score einen Hochrisiko-Tumor somit nicht aus. Ein solcher könnte sich in initialem pT-Stadium -bzw. bei negativem Lymphknotenstatus oder negativem Resektionsrand- bereits durch höhere UAP1-Kernexpression bemerkbar machen und oben genannte UAP1-Kernexpression niedriger Intensität bewirken. Weitere Untersuchungen mit Aufzeichnung von Hochrisiko- gegen Niedrigrisiko-Tumoren und nicht-Malignomen in Verbindung mit UAP1-Expression könnten diesen Ansatz weiterentwickeln.

Wie bereits erwähnt wurde bei Anstieg der Adversität der klinischen Verlaufparameter und bei höherer UAP1-Kernfärbintensität ein Rückgang der zytoplasmatischen UAP1-Expression verzeichnet. Eine Ausnahme stellte hierbei die Analyse zu UAP1-

Expressionsmustern mit dem klinischen Prognosefaktor Resektionsrand dar, da hier keine entsprechend sinkende zytoplasmatische UAP1-Expression nachgewiesen werden konnte.

Ein möglicher Grund könnte darin bestehen, dass sich aufgrund von Gewebeschäden, welche im Rahmen der Resektion insbesondere am Apex entstehen können, in einigen Fällen das Zuordnen eines Resektionsrandstatus schwierig gestaltet (Evans et al., 2008). Zudem wird die isolierte Auswirkung eines positiven Resektionsrandstatus auf die Wahrscheinlichkeit eines BCR kritisch diskutiert. Vielmehr wird die Berücksichtigung beziehungsweise das Zusammenspiel von Resektionsrandstatus mit weiteren Prognosefaktoren wie Gleason-Score, pT-Stadium und PSA konstatiert (Marks et al., 2007; van Oort et al., 2008; Alkhateeb et al., 2010; Yossepowitch et al., 2014).

Bei der Korrelation von UAP1-Expression mit PSA konnte in dieser Studie kein signifikanter Zusammenhang bewiesen werden.

Eine Erklärung könnte darin begründen, dass UAP1 und PSA in unterschiedlichen Medien untersucht wurden, was möglicherweise die Vergleichbarkeit eingeschränkt. Die Möglichkeit des Nachweises und der Quantifizierung von UAP1 im Plasma ist bekannt (Albitar et al., 2014; Ma et al., 2014). In vorliegender Arbeit hingegen lag das Hauptaugenmerk auf der Beurteilung der UAP1-Expression in Prostatagewebeproben, während die verwendeten PSA-Werte präoperativ im Serum gemessen wurden.

Zudem ist das verwendete Serum-PSA im Gegensatz zu UAP1 nicht karzinomspezifisch (Casadio et al., 2013). Zwar ist PSA ein etablierter klinischer Verlaufsparemeter, zahlreiche Studien diskutieren jedoch vielfache Limits des diagnostischen Serummarkers. Grundend auf der Unspezifität erhöhter PSA-Spiegel – auch BPH, Pharmaka oder Prostatitis können einen PSA-Anstieg bedingen – beziehungsweise der verminderten PSA-Produktion höhergradiger Prostatakarzinome findet sich keine Korrelation von PSA-Spiegel und pT-Stadium, PSA gilt nicht als unabhängiger Prädiktor für Tumolvolumen (Partin et al., 1990; Noldus & Stamey, 1996; Stamey et al., 2002). Nogueira et al. kritisieren zudem, dass die festgelegte PSA-Schwelle von 4,0 ng/mL eine Differenzierung von Hochrisiko und Niedrigrisiko-Prostatakarzinomen nicht gewährleiste. Unter zusätzlicher Berücksichtigung der Möglichkeit falsch-positiver und falsch-negativer Proben führe dies zu nicht-indizierten Biopsien und - unter Beachtung der Diskrepanz bei Prostatakarzinomen zwischen Lebenszeitrisiko (ca. 18%) und Mortalität (ca. 3%) - zu nicht-indizierten, übermäßigen Therapien, weshalb PSA isoliert

nicht als diagnostischer Parameter zu werten sei (Shariat & Karakiewicz, 2008; Nogueira et al., 2009; Stephan et al., 2014).

Es ist zu erwarten, dass sich bis 2050 durch den demographischen Wandel der Anteil der über 60-Jährigen verdoppeln wird. Damit einhergehend ist mit einer proportionalen Zunahme des Prostatakarzinoms zu rechnen (Beske, 2007; Wirth et al., 2014). Hierbei richtet sich das Hauptaugenmerk auf den Hoffnungsträger Molekulardiagnostik, der über Biomarker eine individualisierte Risikostratifizierung verspricht (Helfand et al., 2013; Fillmore et al., 2014). UAP1 ist prostatakarzinomspezifisch, im Serum quantifizierbar und zeigt mit zunehmender Adversität von klinischen Prognosefaktoren eine zunehmende Expressionsintensität sowie eine Expressionsverschiebung von Zytoplasma zu Nukleus und könnte somit dieser Hoffnung entsprechen.

4.2 Zusammenhang von UAP1-Expression mit ERG-Expression

In nicht-tumorösem Prostataepithel lässt sich eine Expression des Protoonkogens ERG (vergleiche Kapitel 1.7) nicht nachweisen. Die aktuelle Studienlage beschreibt jedoch in 40-80% der Prostatakarzinomzellen eine Fusionierung von ERG mit dem regulatorisch-aktivierenden Gen TMPRSS2 zu TMPRSS2/ERG. Bei Vorliegen eines TMPRSS2/ERG-Fusionsgens wird in über 90% der Fälle androgenreguliert eine Überexpression von ERG beobachtet, was im Vergleich mit ERG-negativen Prostatakarzinomzellen in aberranter Transkription, PTEN-Verlust, Zellmigration und -differenzierung resultiert. Die Androgen-Stimulation wiederum kann in ERG-positiven Prostatakarzinomzellen zu einer erhöhten Rate von Fusionierungen zu TMPRSS2/ERG führen (Yin et al., 2011). Ein positiver TMPRSS2/ERG-Fusionsgen-Status schließlich wird in der Literatur mit Karzinogenese sowie aggressiverem Tumorphänotyp des Prostatakarzinoms assoziiert (Demichelis et al., 2007; Tomlins et al., 2008; Wang et al., 2008; Attard et al., 2008; Rubio-Briones et al., 2010; Yu et al., 2010).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ergaben einen signifikanten Zusammenhang von ERG-Expression mit UAP1-Expression.

Dabei zeichnete sich bei der Untersuchung des Zusammenhangs von ERG-positiven Prostatakarzinomen mit UAP1-Expression ab, dass mit jeweils höherem Tumorstadium,

Lymphknotenstatus und Gleason-Score respektive eine deutlich geringere zytoplasmatische UAP1-Expression bei gleichzeitig steigender UAP1- Kernexpression vorlag.

Wie bereits bei den klinischen Prognoseparametern diskutiert (vgl. Kapitel 4.1) lässt sich auch für die ERG-positiven Prostatakarzinomzellen mit progredient ungünstigen klinischen Parametern eine Änderung der UAP1-Expressionsmuster von Zytoplasma zu Kern beobachten. Die aberrante ERG-Expression ist ein Ereignis, das mit Tumorprogress in Verbindung gesetzt wird (Carver et al., 2009; Berg et al., 2014), weshalb eine korrelierende UAP1-Expression ebenfalls auf Tumorprogress hindeuten könnte. Zusätzlich beschreibt die Studienlage einen durch TMPRSS2/ERG vermittelten Übergang von epithelialeem zu mesenchymalem Gewebe (Leshem, 2011), die Assoziation mit jüngerem Patientenalter (Steurer et al., 2014) sowie den möglichen Einsatz als Prognosemarker (Leyten et al., 2014). Weitere Untersuchungen zu ERG-UAP1-Assoziation - insbesondere mit hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomen im Gegensatz zu lokal begrenzten Prostatatumoren - könnten zusätzlich wegweisend hinsichtlich der Bedeutung von UAP1-Expression bei fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen sein, insbesondere auch da angenommen wird, dass bei multilokalen Prostatakarzinomen die Loci mit nachweisbaren TMPRSS2-ERG-Genfusionierungen zur Metastasierung neigen (Mehra et al., 2008; Perner et al., 2010; Guo et al., 2012).

Waren bei den bereits aufgeführten Expressionsanalysen dieser Arbeit gegenläufige Muster von UAP1-Kernexpression und Expression im Zytoplasma verzeichnet worden, so konnte dies für die Korrelation der ERG-negativen UAP1-exprimierenden Prostatakarzinomproben mit den klinischen Verlaufparametern nicht bestätigt werden. Es wurde mit höherem Tumorstadium, positivem Lymphknotenstatus oder höheren Gleason-Scores respektive vermehrt UAP1 im Zytoplasma exprimiert. Gleichzeitig fiel jedoch, wie auch bei den ERG-positiven Proben beschrieben, eine insgesamt prozentual höhere UAP1- Kernfärbeintensität auf.

Eine mögliche Ursache dieser inhomogenen Muster für Kern- bzw. Zytoplasmaexpression könnte in der Methodik vermutet werden. Müller et al. beschreiben den verzerrenden Effekt durch Fixierungsvorgänge, der in variabler immunhistochemischer Anfärbung bzgl. ERG-Status resultieren könne (Müller et al., 2013). Ebenfalls besteht die Möglichkeit von Bias-Effekten, die durch falsch-positive immunhistochemische Reaktionen bei Proteinüberschuss beziehungsweise -überlagerung entstehen (Tsourlakis et al., 2013). Zudem wurde die IHC-

Methode, angewandt bei fortgeschrittenen Prostatakarzinoma, als unbeständig-sensitiv zur Detektion von ERG-Fusionierungen beschrieben (Udager et al., 2014).

UAP1-Kernexpression wurde in vorliegender Arbeit mit adverser Klinik assoziiert. Zwar gilt das Hauptaugenmerk der Studienlage den TMPRSS2-ERG-Fusionsgenen bzw. der ERG-Überexpression, jedoch beschreiben einige Autoren ebenfalls Beobachtungen zu ERG-negativen Prostatakarzinomen. So wurde bei der Untersuchung von SEC14L1 (*Saccharomyces cerevisiae*-like 1), einem Regulator des Fettstoffwechsels, in Hinblick auf den ERG-Status festgestellt, dass mit ERG-positiven Karzinomzellen ein langes rezidivfreies Überleben sowie Ausbleiben von Lymphknotenmetastasen, mit ERG-negativen Zellen ein frühes biochemisches Rezidiv, höhere Gleason-Scores, pT-Stadien und höhere präoperative PSA-Spiegel einhergingen. Hieraus wurde auf verschiedene Rollen von SEC14L je nach ERG-Status geschlossen (Burdelski et al., 2015). Auch durch Nachweis einer Überexpression des bereits erwähnten Proteins DAXX konnte bei gleichzeitig ERG-negativen Prostatakarzinomproben ein signifikant früheres BCR beobachtet werden. Für DAXX wurden gleichfalls abweichende Rollen je nach ERG-Status vermutet. Ursächlich wurde angenommen, dass DAXX partiell durch ERG antagonisiert werde, indem DAXX - Effektorproteine über gemeinsame Schnittstellen durch ERG inaktiviert würde (Tsourlakis et al., 2013). Dies könnte auch eine mögliche weitere Ursache für die Korrelation UAP1-exprimierender, ERG-negativer Prostatakarzinomzellen mit ungünstigen klinischen Verlaufsparemtern darstellen.

Krohn et al. verzeichneten frühere BCR ERG-negativer Prostatakarzinomproben als bei ERG-positivem Status (Krohn et al., 2012). Dieser Sachverhalt konnte in den Untersuchungen dieser Arbeit zu BCR nachvollzogen werden: Im Gegenzug zu den anderen Biomarkern AR, mTOR und PTEN konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem ERG-Status und dem rezidiv-freien Überleben, gemessen in Monaten, festgestellt werden. Bei den ERG-negativen Karzinomen trat das früheste Rezidiv bei den Proben mit Kernfärbeintensität 2 auf, bei den ERG-positiven Proben zu einem späteren Zeitpunkt, bei negativer zytoplasmatischer Färbung.

Mehrere Autoren gruppierten anhand des ERG-Status die untersuchten Prostatakarzinome, welche wiederum durch unterschiedliche Prognosefaktoren unterteilt wurden. Zusätzlich zu der Tendenz, dass ERG-negative Prostatakarzinomproben mit früherem Rezidiv assoziiert werden, wurden jedoch für beide Gruppen vergleichbare Prognosen beschrieben (Gopalan et

al., 2009; Krohn et al., 2012; Rubio-Briones et al., 2010; Müller et al., 2013). Da in vorliegender Arbeit für UAP1-exprimierende Proben mit ERG-Negativität bzw. –positiven Status ein unterschiedlicher Zeitpunkt bis zum Eintreten des frühesten BCR beobachtet wurde, sollte dieser Zusammenhang sollte mit Hinblick auf UAP1 als möglichen prognostischen Biomarker weiter untersucht werden.

4.3 Zusammenhang von UAP1-Expression mit mTOR-Expression

Die Serin-Threonin-Kinase mTOR wirkt nach Aktivierung über Phosphorylierung positiv regulatorisch auf den PI3-Akt-Signalweg und induziert so Proteinbiosynthese und Zellwachstum (vgl. Kapitel 1.7). Demzufolge wird mTOR eine wichtige Rolle in der Kanzerogenese zahlreicher Tumoren zugesprochen, beim Prostatakarzinom im Besonderen wird die Aktivierung des PI3-Akt-mTOR-Signalwegs bei 30-50% der Tumoren beobachtet und mit Tumorprogress und Metastasierung assoziiert (Reid et al., 2010; Taylor et al., 2010; Morgan et al., 2009).

Zwischen mTOR und UAP1 konnte in vorliegender Arbeit ein signifikanter Zusammenhang bestätigt werden. Bei gleichzeitig signifikantem Zusammenhang mit ungünstigen klinischen Parametern, wie bereits dargelegt, könnte mittels UAP1 die klinische Bedeutung des mTOR-Wegs spezifiziert werden, die als unzureichend erforscht beschrieben wird (Müller et al., 2013). Der mTOR-Signalweg gilt insofern als elementar, da die Hemmung der Signaltransduktion therapeutisch Verwendung findet.

Unter den Inhibitoren des PI3K/Akt/mTOR-Wegs wird den mTOR-Hemmern das größte Interesse entgegengebracht; diese stellen bei Tumoren wie Nierenzellkarzinomen und pankreatisch-neuroendokrinen Tumoren wichtige Therapeutika dar (Bjornsti & Houghton, 2004; Yao et al., 2011). Das Makrolid-Antibiotikum und Immunsuppressivum Rapamycin bindet als Komplexform an mTOR und inhibiert dessen Funktion. Über die Hemmung von mTOR wird durch Rapamycin folglich der PI3-Akt-mTOR-Signalweg inhibiert. Der therapeutische Effekt wird jedoch beim Prostatakarzinom als variabel diskutiert. Armstrong et al. zeigten beispielsweise, dass bei nur kurzzeitiger präoperativer Behandlung mit Rapamycin die Phosphorylierung und damit Aktivität der folgenden Enzyme adäquat reduziert, ein Effekt auf Tumorwachstum oder -differenzierung der Prostatakarzinomzellen jedoch nicht erzielt werden konnte (Armstrong et al., 2010). Relevante Nebenwirkungen einer Langzeittherapie machen eine zusätzliche Prognostik mittels Biomarkern erstrebenswert. So könnte ein

karzinomspezifisches Ansprechen auf die Therapie vorbestimmt beziehungsweise das Patientenkollektiv selektiert werden, das von einer mTOR-Inhibition profitieren könnte (Guertin & Sabatini, 2007; Morgan et al., 2009). UAP1 ist prostatakarzinomspezifisch und bietet aufgrund des Zusammenhangs mit klinischen Prognosefaktoren und der mTOR-Expression eine vielversprechende Basis für weitere Untersuchungen, um zu eruieren, ob sich UAP1 als Biomarker bei der Wahl therapeutischer Ansätze bezüglich mTOR-Inhibition anwenden ließe.

4.4 Zusammenhang von UAP1-Expression mit PTEN-Status

Durch PTEN wird der PI3K/Akt/mTOR-Signalweg (vgl. Kapitel 1.7) negativ reguliert. Der Verlust des Tumorsuppressorgens resultiert in einer Daueraktivierung des Signalwegs und gilt als eine der Hauptkomponenten, die Wachstum, Proliferation und Zellüberleben von Tumorzellen begünstigt (Vivanco & Sawyers, 2002; Chow & Baker, 2006).

Zwischen den Parametern PTEN und UAP1-Expression wurde keine signifikante Assoziation gefunden. Eine mögliche Ursache könnte darin zu finden sein, dass PTEN und UAP1-Expression aufgrund unterschiedlicher Wirkmechanismen auf zellulärer Ebene unabhängig voneinander stattfinden. Über mTOR wird UAP1 zwar mit dem PI3K/Akt/mTOR-Signalweg assoziiert, welcher über PTEN negativ reguliert wird. Die fehlende Signifikanz im Vergleich von UAP1-Expression mit dem PTEN-Deletionsstatus könnte jedoch darauf hinweisen, dass UAP1 als Enzym des Aminosäurestoffwechsels dieser Regulation nicht unterliegt. Weitere Untersuchungen hierzu sind nötig, um das Verhältnis von PTEN und UAP1 näher zu beleuchten.

4.4.1 Zusammenhang von UAP1-Expression mit IGF-1R

Ein vielfach untersuchter Zusammenhang wird für PTEN und IGF-1R (Insulin-Like Growth Factor-1-Rezeptor) beschrieben, welche beide Einfluss auf den PI3-Akt-Weg nehmen. Dabei entfällt auf IGF-1R eine zentrale Rolle, indem der PI3-Akt-Weg durch IGF-1R direkt aktiviert wird und in Zellproliferation, veränderter Differenzierung sowie erhöhtem zellulärem Überleben resultiert. Eine erhöhte IGF-1R-Expression wird insbesondere bei gleichzeitigem Verlust des Gegenspielers PTEN mit ungünstiger Prognose beim Prostatakarzinom in Verbindung gebracht, weiterhin mit Entwicklung von Therapieresistenzen bezüglich

Chemotherapie und Radiatio bei multiplen Tumorentitäten (Gennigens et al., 2006; Samani et al., 2007; Lee et al., 2007; Bussink et al., 2008; Isebaert et al., 2011; Zu et al., 2013).

Zusätzlich wird in der Literatur eine Assoziation zwischen dem PI3K/Akt/mTOR-Weg und AR beschrieben: IGF-1R und AR interagieren über Rückkopplungsmechanismen und stimulieren sich gegenseitig. Nach Anregen durch Androgengabe konnte eine zehnfache Aktivität des IGF-1R nachgewiesen werden, woraus wiederum eine erhöhte Glykosylierung des AR resultierte (Pandini et al., 2005; Wu et al., 2006; Sayeed et al., 2012). Itkonen et al. schlossen daraus, dass unter Androgeneinfluss eine Glykosylierung von IGF-1R notwendig für eine vollständige AR-Aktivierung sei und somit eine mögliche therapeutische Ansatzstelle vertreten könnte. Durch die Gabe von Tunicamycin, eines Inhibitors der Glykoproteinsynthese, konnte die androgenabhängige Plasmamembranbindung von IGF-1R erzielt werden (Itkonen & Mills, 2013).

IGF-1R als direkter Aktivator des PI3K/Akt/mTOR-Wegs, der damit assoziierte und bereits beschriebene Tumorprogress sowie die erwähnten Interaktionen mit PTEN und AR begründen die Rolle von IGF-1R-Inhibitoren als interessanten Ansatzpunkt in der Therapie des Prostatakarzinoms. Jedoch wurden bei diesbezüglich getesteten Therapeutika wie auch bei Langzeit-Antiandrogentherapie einheitlich Nebenwirkungen wie Hyperglykämie und Hyperlipidämie festgestellt, von denen angenommen wurde, dass sie in Insulinresistenz und -dysregulation begründet und zusätzlich mit raschem Therapieversagen der Antiandrogentherapie assoziiert seien (Braga-Basaria et al., 2006; Busaidy et al., 2012; Bitting & Armstrong, 2013; Gunter et al., 2013). Hyperglykämie und Hyperlipidämie stellen wesentliche Faktoren des Metabolischen Syndroms dar, das als Hauptrisikofaktor der koronaren Herzkrankheit ursächlich die meisten Todesfälle der Industrienationen begründet (World Health Organisation (WHO), 2008). Um das zusätzliche Mortalitätsrisiko durch das Metabolische Syndrom zu reduzieren wird empfohlen, die antiandrogene Therapie mit Therapeutika zu koppeln, die Hyperglykämie bzw. Hyperlipidämie adressieren (Busaidy et al., 2012; Malaguarnera et al., 2014).

Des Weiteren wird das Vorliegen eines Metabolischen Syndroms mit aggressiveren Prostatatumoren assoziiert (Ozbek et al., 2014). Dies scheint konkordant mit der Beobachtung zusätzlicher antikanzero gener beziehungsweise kanzeroprotektiver Effekte bei suffizienter Therapie des metabolischen Syndroms, wobei mehrere Angriffspunkte beschrieben werden: Del Barco et. al zeigen auf, dass Metformin unter anderem über die Inhibition von mTOR die

PI3K/Akt/mTOR-Signalkaskade negativ beeinflusst (Del Barco et al., 2011), eine Auswirkung auf die Zeit bis zu einem BCR wurde von Michl et al. jedoch verneint (Michl et al., 2014). Weitere Studien begründen, dass durch Therapie der Hyperinsulinämie auch die Kaskade um den IGF-1-Rezeptor negativ reguliert wird, wodurch eine antikanzerogene Wirkung erzielt werden kann, da Insulin neben dem Insulinrezeptor auch Affinität zu IGF-1R besitzt (Vigneri et al., 2009; Pierce, 2012). Auch unter Therapie der Hyperlipidämie mittels Statinen beziehungsweise Fibraten wurde von antikanzerogenen Effekten berichtet, die unter anderem in oxidativem Stress der Prostatakarzinomzellen und reduzierter AR-Expression resultierten (Yang et al., 2011; Zhao et al., 2013).

Die Entwicklung einer Insulinresistenz wird mit erhöhten UDP-GlcNAC-Spiegeln in der Skelettmuskulatur assoziiert (Patti et al., 1999). Durch Inhibition der UAP1-Expression konnte ein signifikantes Absinken dieser UDP-GlcNAC-Spiegel beobachtet werden (Itkonen et al., 2014). Diese Beobachtung stellt UAP1 als möglichen Angriffspunkt in der Pharmakotherapie der Insulinantwort dar. Zusätzliche Untersuchungen und direkte Korrelation von UAP1 mit IGF-1R sind vonnöten, um weitere Aspekte der Rolle von UAP1 zu beleuchten, vor allem auch in Hinblick auf Hyperglykämie, Insulinantwort und antiandrogene Therapie.

4.5 Zusammenhang von UAP1-Expression mit AR-Expression

Der AR stellt einen zentralen Punkt für Wachstum- und Entwicklung der Prostata dar, ebenfalls jedoch auch für die Karzinogenese des Prostatakarzinoms sowie die Entwicklung androgen-unabhängigen Wachstums (vgl. Kapitel 1.7). Die Schlüsselrolle des AR für fokal beziehungsweise metastasierend wachsende Prostatakarzinome erklärt die Anstrengungen, den AR therapeutisch ins Auge zu fassen. Eine Herausforderung stellt jedoch weiterhin die unausweichliche Entwicklung der Prostatakarzinome zur Androgenunabhängigkeit dar, in welcher eine antiandrogene Therapie die AR-Aktivität nicht mehr suffizient beeinflussen kann (Lonergan & Tindall, 2011; Bluemn & Nelson, 2012; Waltering et al., 2012; Itkonen & Mills, 2013).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ergaben einen signifikanten Zusammenhang für AR-Expression mit UAP1-Expression. Dabei zeichnete sich ab, dass mit steigender AR-Expression eine gleichzeitig steigende UAP1-Kernexpression vorlag, die anteilig die zytoplasmatische UAP1-Expression überwog.

Es wird angenommen, dass der Steroidrezeptor AR vor Ligandenbindung hauptsächlich im Zytoplasma vorliegt, wo er in Komplexform mit heat-shock-Proteinen nachzuweisen ist. Nach Androgenbindung dimerisiert und transloziert der AR in den Zellkern, in welchem folgend die Expression androgenabhängiger Protein erfolgen kann (Barboro et al., 2013).

Das zytoplasmatische UAP1-Gen wird als androgenabhängig beschrieben (DePrimo et al., 2002; Guyon et al., 2009), zudem konnte im Rahmen dieser Arbeit wiederholt im Zusammenhang mit adversen Tumorcharakteristika eine Verschiebung von zytoplasmatischer zu nukleärer UAP1-Expression verzeichnet werden. Eine gegenseitige Interaktion zwischen dem AR und UAP1 könnte neben der androgenabhängigen UAP1-Expression diese Beobachtung erklären.

Die AR-Überexpression wird in erster Linie mit Tumorprogress hin zu hormonunabhängigem Wachstum assoziiert. Zusätzlich wird darauf basierend ein schlechtes klinisches Outcome beziehungsweise ein höheres Rezidivrisiko assoziiert (Henshall et al., 2001; Linja & Visakorpi, 2004; Chen et al., 2004; Taylor et al., 2010).

Die initial effektive pharmakologische Androgen-Ablation durch Blockade der freizirkulierenden Androgene führt innerhalb eines überschaubaren Zeitraums zu einem Rezidiv sowie androgen-unabhängigem, metastasierendem Prostatakarzinomwachstum. Zeigt sich auch trotz Chemotherapie mit Docetaxel ein Tumorprogress, lassen sich durch das seit 2012 zugelassene Abirateron, ein Inhibitor der Testosteronsynthese, sowie durch Enzalutamid, ein ebenfalls 2012 zugelassener Inhibitor der AR-Funktion, ein prolongiertes Überleben um etwa 4-5 Monate erzielen (De Bono et al., 2011; Scher et al., 2012).

Zusätzlich konzentrieren sich aktuelle Therapieansätze unter anderem auf die Inhibition der Feedbackmechanismen zwischen AR und dem PI3K/Akt/mTOR-Weg. Zudem konnte in Zelllinien sowie im Mausmodell mittels sogenannter SARM (selektiver AR-Modulatoren) die Androgenkonzentration durch Synthesehemmung prostataspezifisch inhibiert werden, wobei gleichzeitig die anabole Androgenwirkung auf das muskuloskelettale System erhalten blieb. Die Emphase auf Entwicklung beziehungsweise Weiterentwicklung neuer therapeutischer Schemata liegt auf der Hand. Die gewichtige Bedeutung, die molekularbiologischen Vorgänge vor allem der progressiv und metastasierend wachsenden Prostatakarzinomzellen zu verstehen und individuell therapeutisch begegnen zu können unterstreicht wiederum die Bedeutsamkeit von möglichen Biomarkern wie UAP1, die mit AR

assoziiert werden (Bitting & Armstrong, 2013; Schmidt et al., 2014; Lorente & De Bono, 2014).

4.6 Limitationen

Vorliegende Arbeit wurde retrospektiv gestaltet. Die Nachteile retrospektiver Studien, wie beispielsweise die eingeschränkte Möglichkeit einer endgültigen Klärung kausaler Zusammenhänge, insbesondere auch unter Berücksichtigung potentieller Störfaktoren, sind hinlänglich bekannt (Keyes et al., 2014). Aufgrund des retrospektiven Charakters konnte kein Einfluss auf bereits erhobene klinische Daten genommen werden, weshalb einzelne untersuchte Gruppen wie pT4-Stadium oder Gleason-Score $\geq 4+4$ teils nur geringe Fallzahlen aufwiesen.

Die Auswertung und Gruppierung der verschiedenen Intensitäten der UAP1-Expression erfolgte durch eine Einzelperson über mehrere Tage. Auch wenn zu Beginn jeder neuen Auswertungssitzung stichprobenartig mehrere bereits ausgewertete Proben erneut analysiert wurden, ist von einer Intraobserver-Variabilität auszugehen, bei welcher zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedliche Ergebnisse gleicher Proben bei nur einem Untersucher beobachtet werden (Keyes et al., 2014). Für mehr Untersucherunabhängigkeit der Ergebnisse sollte somit der gleichzeitige Einsatz mehrerer gleichqualifizierter bzw. -angeleiteter Untersucher erwogen werden.

3261 Gewebeproben wurden immunhistochemisch behandelt, jedoch standen zur Auswertung schließlich nur 1829 Proben zur Verfügung. Die nicht auszuwertenden Stenzen enthielten in 840 Fällen kein Tumormaterial und in 592 Fällen insgesamt kein Gewebe. Es ist davon auszugehen, dass einzelne Behandlungsschritte, vor allem die Exposition gegenüber aggressiver alkalischer Reagenzien, zu einem Abschwimmen der Gewebeschnitte von den Objektträgern führen. Dem sollte, wie geschehen, durch die Verwendung beschichteter Objektträger vorgebeugt werden. Zudem wird empfohlen, die Schnitte mit einem Schutzfilm aus Celloidin vollständig zu bedecken, der trotzdem eine Durchlässigkeit für beispielsweise Färbereagenzien gewährleistet (Lang, 2012). Andere Gründe für das Abschwimmen von Gewebeschnitten können in der Schnittdicke oder in einem zu hohen Fettgewebe der Probe gründen, was bei der Anfertigung der Gewebestanden zu beachten ist (Lang, 2012; Osterwalder, o.D.). Auch sollte bei der Stenzenentnahme noch sorgfältiger auf Konkordanz zwischen Tumormarkierung auf dem Objektträger und zu stanzender Region auf dem

Paraffinblock geachtet werden, um die Anzahl der Gewebeproben ohne Tumornachweis zu reduzieren.

4.7 Ausblick

4.7.1 Regulatorische Aktivität von UAP1

Der signifikante Zusammenhang zwischen AR-Überexpression, IGF-1R und UAP1 sowie die Assoziation von UAP1 - als Enzym der Aminosuckerbiosynthese - mit adversen klinischen Verlaufsparemtern lässt, wie bereits erwähnt, ein mechanistisches Zusammenspiel mit Rückkopplungsmechanismus vermuten.

Der Einfluss des Aminosuckerstoffwechsels wurde mit Hinblick auf die Karzinogenese bei mehreren Tumorentitäten untersucht. So wurde ein Zusammenhang von Tumorprogress und Metastasierung des Mammakarzinoms mit erhöhten Spiegeln an O-GlcNAc-modifizierten Proteinen festgestellt (Krześlak et al., 2012). Auch wurde erhöhte O-GlcNAcylierung sowie OGT-Expression bei Tumorprogress und -invasion weiterer Tumorentitäten wie Bronchial- und Kolonkarzinome bestätigt (Mi et al., 2011). Zudem stellten Sreekumar et al. bei Prostatakarzinomen hohe Spiegel an N-Acetylglucosamin und N-Acetylgalaktosamin fest (Sreekumar et al., 2009).

Die Stoffwechselprodukte der Aminosuckerbiosynthese dienen, wie unter Kapitel 1.8 bereits erwähnt, als Metabolite für membranständige oder zu sezernierende Proteine sowie als Substrat für die OGT-Transferase zur posttranslationalen Modifikation von regulatorisch wirksamen Proteinen. Diese Modifikation wird unter anderem durch nutritiven Stress reguliert und findet sich gehäuft bei Karzinomen wie dem Prostatakarzinom (Hart et al., 2011; Lynch et al., 2012). Insbesondere spielt OGT eine zentrale Rolle für Tumorwachstum und Metastasierung (Caldwell et al., 2010; Gu et al., 2010; Mi et al., 2011; Ferrer et al., 2014). Darauf basierend und unter Berücksichtigung der Funktion, dass UAP1 als letztes Enzym der Aminosuckerbiosynthese das Substrat der OGT bereitstellt, lässt sich eine regulatorische Auswirkung von UAP1-Expression auf OGT und deren Rolle in der Karzinogenese annehmen (Itkonen et al., 2013).

Eine generalisierte Überexpression um bis zu 50% von Enzymen des Aminosuckerbiosynthese-Stoffwechselwegs (HBP), insbesondere auch von UAP1, konnte bei AR-überexprimierenden Prostatakarzinomzellen nachgewiesen werden (Itkonen et al., 2013).

Wurde die Glykosylierung pharmakologisch inhibiert, so war das Zellüberleben um 20% rückläufig. Gleichzeitig wurde eine 50% reduzierte Expression von androgenabhängigen Genen beobachtet. Dies wurde als Möglichkeit der Karzinomzellen interpretiert, durch Überexpression von HBP-Enzymen abweichende Zellwachstumregulation und AR-Aktivität zu generieren (Lynch et al., 2012; Itkonen & Mills, 2013). Dieser Zusammenhang unterstützt die Annahme einer regulatorischen Wirkung von UAP1-Expression und stimmt mit dem in vorliegender Arbeit beobachteten signifikanten Zusammenhang zwischen AR- und UAP1-Expression überein.

4.7.2 Einfluss von UAP1 auf die ER-Stressantwort

Mediiert durch AR-Aktivierung konnte eine erhöhte Aktivität der HBP-Enzyme mit einer resultierenden erhöhten Stressantwort des Endoplasmatischen Retikulums (ER) beobachtet werden (Segawa et al., 2002). Diese ER-Stressantwort resultiert in Aktivierung von Caspasen und Zellapoptose, wenn nicht zuvor eine Homöostase wiederhergestellt wird (Breckenridge et al., 2003; Samali et al., 2010). Das Vorliegen einer ER-Stressantwort wird durch den Nachweis der sogenannten ER-Stressmarker CHOP (C/EBP Homologous Protein), GRP78 (Glucose-Regulated Protein 78) und GRP94 (Glucose-Regulated Protein 97) demonstriert (Kurtoglu et al., 2007; Xi et al., 2011).

In einer aktuellen Studie, basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit, konnte eine erhöhte ER-Stressantwort in Zusammenhang mit UAP1-Inhibition beobachtet werden. Dabei wurde die UAP1-Expression in verschiedenen Prostatakarzinom-Zelllinien mittels siRNA inhibiert, worauf um bis zu 60% erniedrigte UDP-GlcNAc-Spiegel resultierten (Itkonen et al., 2015). UDP-GlcNAc wird, wie bereits erwähnt, für die O-GlcNAcylierung in Zytoplasma, Nukleus und Mitochondrien sowie für die O- bzw. N-Glykosylierung von Proteinen in Golgi-Apparat und ER benötigt (Butkinaree et al., 2010; Schwarz & Aebi, 2011). Mittels Tunicamycin, eines Inhibitors der Glykoproteinsynthese, und 2-DG (2-Desoxy-D-Glucose), eines Glukoseanalogons und Glykolyseinhibitors, wurde die O-/N-Glykosylierung in Zellreihen inhibiert, worauf ein deutlicher Anstieg der ER-Stressmarker abzugrenzen war. Es wurde folglich angenommen, dass eine höhere UAP1-Expression zu einer erhöhten Resistenz gegenüber Inhibitoren der N-Glykosylierung und damit höherer Widerstandsfähigkeit gegen ER-Stress führe (Itkonen et al., 2015).

Um diese Hypothese weiterzuverfolgen wurde untersucht, ob eine UAP1-Inhibition Zellen auf N-Glykosylierungs-Inhibitoren sensibilisiere. Bei niedrigen Dosen von Tunicamycin ohne Auswirkung auf Zellwachstum wurde die UAP1-Expression inhibiert, woraufhin es zu einer Reduktion der Wachstumsrate der Zelllinien kam. In nicht-neoplastischem Prostatagewebe konnte durch Gabe von Tunicamycin/2-DG keine zusätzlich erhöhte Apoptoserate erreicht werden, weshalb angenommen wurde, dass keine entsprechende Sensibilisierung auf N-Glykosylierungs-Inhibitoren vorliege. Eine hohe UAP1-Expression scheint daher einen spezifischen Wachstumsvorteil für Karzinomzellen unter ER-Stress darzustellen (Itkonen et al., 2015).

Dies weckt die Hoffnung, mittels UAP1-Inhibierung eine Sensibilisierung auf N-Glykosylierungs-Inhibitoren und folglich mittels erhöhter ER-Stressantwort und Apoptose einen prostatakarzinomspezifischen, therapeutischen Effekt erreichen zu können. Zudem steht UAP1 mit adversen klinischen Verlaufsparemtern sowie mTOR, ERG und AR in Zusammenhang und zeigt mit zunehmend ungünstiger Klinik eine Expressionsverlagerung von Zytoplasma in den Zellkern, was in Zusammenschau eine zentrale Rolle für Karzinogenese und Tumorprogress des Prostatakarzinoms vermuten lässt. Zusätzliche Untersuchungen sollten angestrebt werden, um die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen weiter aufzuschlüsseln und UAP1 als mögliches therapeutisches Ziel neben einer Funktion als Biomarker in Erwägung zu ziehen.

5 Zusammenfassung

Als häufigster maligner Tumor des Mannes zeigt das Prostatakarzinom bei einer relativen 5-Jahres-Überlebensrate von 93% einen vergleichsweise geringen Anteil an progressiven, tödlichen Verläufen, weshalb Diagnostik und Therapiegestaltung diesem Umstand Rechnung tragen müssen. Biomarker werden hier als Hoffnungsträger erachtet, konventionelle Diagnostik- und Screeningmethoden zu ergänzen und zu individualisieren. UAP1 gilt als androgenabhängiges, zytoplasmatisches Enzym der Aminozuckerbiosynthese, ist im Blutplasma quantifizierbar und zeigt sich in Prostatakarzinomen überexprimiert.

Ziel dieser Arbeit war es, die Expressionsmuster von UAP1 in Prostatakarzinomzellen in Zusammenhang mit den klinischen Standardparametern Gleason-Score, PSA, pT-Stadium, pN-Stadium und Resektionsrand sowie den Markern PTEN, AR, mTOR und ERG zu charakterisieren und in diesem Kontext als möglichen prognostischen Biomarker zu evaluieren.

Unter Verwendung der TMA-Methode konnte nach immunhistochemischer Färbung von 3261 Prostatakarzinomproben ein signifikanter Zusammenhang zwischen erhöhter UAP1-Expression und klinisch ungünstigem Tumorphänotyp gezeigt werden. Zudem verlagerte sich mit zunehmender Malignität der Tumorcharakteristika die UAP1-Expression vom Zytoplasma in den Zellkern. Üblicherweise wird in der Literatur bei klinisch zunehmend ungünstigem Tumorphänotyp eine Biomarker-Expressionsshift vom Zellkern in das Zytoplasma beobachtet. Trotzdem liegt die Vermutung nahe, dass UAP1 eine relevante Rolle im Zusammenhang mit Tumorprogress des Prostatakarzinoms spielt.

Eine erhöhte UAP1-Expression stand darüber hinaus im signifikanten Zusammenhang mit der Überexpression von AR, mTOR und ERG, die sämtlich entscheidenden Einfluss auf die Karzinogenese des Prostatakarzinoms haben. Dies legt die Vermutung nahe, dass auch UAP1 im mechanistischen Zusammenspiel eine bedeutende Relevanz in der Karzinogenese hält.

Darüber hinaus sollte die klinische Aussagekraft der UAP1-Expressionsmuster insbesondere in Hinsicht auf IGF-1R und das metabolische Syndrom weiter untersucht werden, um einen möglichen Einzug in die klinische Diagnostik ausreichend beurteilen zu können.

In Zusammenschau verspricht UAP1 bedeutende Relevanz für eine Rolle als prognostischer Biomarker.

Auf den Ergebnissen dieser Arbeit aufbauend konnte weiterführend gezeigt werden, dass eine Inhibition der UAP1-Expression unter Gabe von N-Glykosylierungs-Inhibitoren spezifisch in Prostatakarzinomzellen zu einer Stressantwort des Endoplasmatischen Retikulums führte. Diese karzinomspezifische Sensibilisierung resultiert in einer reduzierten Tumorstadiumsrate und weckt somit die Hoffnung, mittels erhöhter ER-Stressantwort und Apoptose einen prostatakarzinomspezifischen, therapeutischen Effekt erreichen zu können.

Dies unterstreicht zusätzlich den Stellenwert der Ergebnisse vorliegender Arbeit und stellt UAP1 aufgrund seiner zentralen Rolle für Karzinogenese und Tumorprogress nicht nur als möglichen prognostischen Biomarker, sondern auch als vielversprechendes Ziel bei der Therapie des Prostatakarzinoms in Aussicht.

6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1 Zoneneinteilung der Prostata nach McNeal	8
Abb. 1.2 Charakteristika der Karzinogenese.....	10
Abb. 1.3 Altersspezifische PSA-Grenzwerte	14
Abb. 1.4 TNM-Klassifikation	17
Abb. 1.5 Gleason Grading.....	19
Abb. 2.1 TMA Herstellungsaufbauten.	27
Abb. 2.2 Schematische Erstellung eines Tissue-Microarrays.	28
Abb. 2.3 Fertigestellte TMA-Blöcke.....	29
Abb. 2.4 Immunhistochemische Färbung von Prostatakarzinomgewebe mit UAP1.....	31
Abb. 2.5 Beispiele von UAP1-Färbeintensitäten.	33
Abb. 2.6 Einteilung der verwendeten Variablen.	34
Abb. 3.1 Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren	36
Abb. 3.2 Vergleich mit PTEN-Deletionsstatus.	37
Abb. 3.3 Vergleich mit AR-Expressionsstatus.....	38
Abb. 3.4 Vergleich mit mTOR-Expressionsstatus.	39
Abb. 3.5 Vergleich mit ERG-Expressionsstatus.	40
Abb. 3.6 Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Prognosefaktoren	41
Abb. 3.7 Überlebensanalyse bei ERG-Negativität.....	42
Abb. 3.8 Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren	43
Abb. 3.9 Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status	45
Abb. 3.10 Vergleich mit klinischen Prognosefaktoren.	46
Abb. 3.11 Vergleich mit ERG-, AR- und mTOR-Expressionsstatus.....	48
Abb. 3.12 Überlebensanalyse bei zytoplasmatischer/nukleärer UaP1-Expression.	49
Abb. 3.13 Vergleich bei ERG-Negativität mit klinischen Tumorstandardparametern.	50
Abb. 3.14 Überlebensanalyse bei ERG-Negativität.....	52
Abb. 3.15 Vergleich bei ERG-positivem Status mit klinischen Prognosefaktoren.	53
Abb. 3.16 Überlebensanalyse bei ERG-positivem Status.	55

7 Abkürzungsverzeichnis

2-DG	2-Desoxy-D-Glucose
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AR	Androgen Rezeptor
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
BCR	Biochemisches Rezidiv
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
Ccl-2	Chemokine-Ligand 2
CD26	Cluster of Differentiation 26
CHOP	C/EBP Homologous Protein
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DAXX	Death-domain-associated protein
DKG	Deutsche Krebsgesellschaft e.V.
DKH	Deutsche Krebshilfe e.V.
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DRU	Digitale Rektale Untersuchung
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERG	Erythroblast Transformation-Specific-Related Gene
FISH	Fluoreszenz In Situ Hybridisierung
GalNAc	N-Acetylgalactosamin
GalNAc-1-P	N-Acetylgalactosamin-1-Phosphotransferase
GEKID	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.
GlcNAc	N-Acetylglucosamin
GlcNAc-1-P	N-Acetylglucosamin-1-Phosphotransferase
GRP78/94	Glucose-Regulated Protein 78/94
HBP	Hexosamine Biosynthesis Pathway
HE	Hämatoxylin/Eosin
HIER	Heat Induced Epitope Retrieval

HRP	Horseradish Peroxidase/Meerrettichperoxidase
HSPD1	Heat Shock 60kDa Protein 1
IARC	International Agency for Research on Cancer
IGF-1	Insulin-Like Growth Factor 1
IGF-1R	Insulin-Like Growth Factor Receptor 1
IGSF	Institut für Gesundheits-System-Forschung e.V.
IHC	Immunhistochemie
IMPDH2	Inosine-5'-Monophosphate Dehydrogenase 2
ING5-P	Inhibitor of Growth 5-Protein
Int	Intensität
min	Minute
ml	Milliliter
mon	Monat
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
mTORC1/2	Mammalian Target of Rapamycin Complex 1/2
n	Stückzahl
n1/2	Kernexpressionsintensität der Stärke ½
ng	Nanogramm
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence
OGT	O-N-Acetylglucosamin Transferase
P27kip1	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1
P44/MEP50	Androgen Receptor Cofactor P44/Methylosome Protein 5
PDLIM5	PDZ and LIM domain protein 5
PI3K	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase
PIN	Prostatische Intraepitheliale Neoplasie
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
p-Wert	probability-Wert
Raptor	Regulatory-Associated Protein of mTOR

Rictor	Rapamycin-Insensitive Companion of mTOR
RKI	Robert Koch-Institut
SARM	Selektiver Androgenrezeptor Modulator
SEC14L1	Saccharomyces Cerevisiae-like 1
siRNA	Small Interfering RNA
TBST	Tris-Buffered Saline and Tween 20
TMA	Tissue Microarray
TMPRSS2	Transmembranprotease Serin 2
TNM	Tumor Nodes (Lymphknoten) Metastasen
TRUS	Transrektaler Ultraschall
TURP	Transurethrale Resektion der Prostata
UAP1	UDP-N-Acetylglucosamine Pyrophosphorylase 1
UDP	Uridindiphosphat
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
UTP	Uridintriphosphat
UV	Ultraviolettstrahlung
WHO	World Health Organization
µm	Mikrometer

8 Literaturverzeichnis

- Adams, J.M. & Cory, S. (2007). The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*. 26(9), 1324–1337.
- Albitar, M., Ma, W., Albitar, F.S., Diep, K., Fritsche, H.A., Shore, N.D. (2014). Using a combination of plasma and urine biomarkers along with serum PSA in predicting prostate cancer and screening for high-risk cancer. *J Clin Oncol*. 32 suppl; abstr e16026.
- Alkhateeb, S., Alibhai, S., Fleshner, N., Finelli, A., Jewett, M., Zlotta, A., Nesbitt, M., Lockwood, G., Trachtenberg, J. (2010). Impact of positive surgical margins after radical prostatectomy differs by disease risk group. *J Urol*. 183(1), 145–150.
- Armstrong, A.J., Netto, G.J., Rudek, M.A., Halabi, S., Wood, D.P., Creel, P.A., Mundy, K., Davis, S.L., Wang, T., Abadine, R., Schultz, L., Partin, A.W., Jimeno, A., Fedor, H., Febbo, P.G., George, D.J., Guranus, R., De Marzo, A.M., Carducci, M.A. (2010). A pharmacodynamic study of rapamycin in men with intermediate- to high-risk localized prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 16(11), 3057–3066.
- Attard, G., Clark, J., Ambrosine, L., Fisher, F., Kovacs, G., Flohr, P., Berney, D., Foster, C.S., Fletcher, A., Gerald, W.L., Moller, H., Reuter, V., De Bono, J.S., Scardino, P., Cuzick, J., Cooper, C.S., Transatlantic Prostate Group. (2008). Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene*. 27(3), 253–263.
- Baeriswyl, V. & Christofori, G. (2009). The angiogenic switch in carcinogenesis. *Seminars in cancer biology*. 19(5), 329–337.
- Barboro, P., Borzì, L., Repaci, E., Ferrari, N., Balbi, C. (2013). Androgen receptor activity is affected by both nuclear matrix localization and the phosphorylation status of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K in anti-androgen-treated LNCaP cells. *PLoS one*. 8(11), e79212.
- Barco del, S., Vazquez-Martin, A., Cufi, S., Oiveras-Ferraros, C., Bosch-Barrera, J., Joven, J., Martin-Castillo, B., Menendez, J.A. (2011). Metformin : Multi-faceted protection against cancer. *Oncotarget*. 2(12), 896–917.
- Bastian, P.J., Carter, B.H., Bjartell, A., Seitz, M., Stanislaus, P., Montorsi, F., Stief, C.G., Schröder, F. (2009). Insignificant prostate cancer and active surveillance: from definition to clinical implications. *Eur Urol*. 55(6), 1321–1330.
- Benninghoff, A. & Drenckhahn, D. (2008). *Anatomie: Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie* 17th ed., München: Urban & Fische Verlag, Elsevier GmbH.
- Berg, K.D., Vrainier, B., Thomsen, F.B., Røder, M.A., Gerds, T.A., Toft, B.G., Brasso, K., Iversen, P. (2014). ERG protein expression in diagnostic specimens is associated with

- increased risk of progression during active surveillance for prostate cancer. *Eur Urol.* 66(5), 1–10.
- Beske, F. (2007). Gesundheitsversorgung 2050: Herausforderungen einer alternden Gesellschaft- eine Prognose. In *Schriftenreihe des Fritz Beske Instituts für Gesundheits-System-Forschung (IGSF) Kiel*. Kiel: IGSF, 326–330.
- Bitting, R.L. & Armstrong, A.J. (2013). Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in castration-resistant prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 20(3), R83–99.
- Bjornsti, M.A. & Houghton, P.J. (2004). The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 4(5), 335–348.
- Bluemn, E.G. & Nelson, P.S. (2012). The androgen/androgen receptor axis in prostate cancer. *Curr Opin Oncol.* 24(3), 251–257.
- Bonkhoff, H. (2005). Gleason grading: diagnostic criteria and clinical implications. *Pathologe.* 26(6), 422–432.
- Bonkhoff, H. (2006). Prostatastanzbiopsie mit Tumornachweis. *Uro-News.* 5, 31–37.
- Bonkhoff, H. (2007). Von der Pathogenese zur Prävention des Prostatakarzinoms. *Uro-News.* 5, 60–68.
- Bono de, J.S., Logothetis, C.J., Molinae, A., Fizazi, K., North, S., Chu, L., Chi, K.N., Jones, R.J., Goodman, O.B. Jr., Saad, F., Staffurth, J.N., Mainwaring, P., Harland, S., Flaig, T.W., Hutson, T.E., Cheng, T., Patterson, H., Hainsworth, J.D., Ryan, C.J., Sternberg, C.N., Ellard, S.L., Fléchon, A., Saleh, M., Scholz, M., Efstathiou, E., Zivi, A., Bianchini, D., Chieffo, N., Kheoh, T., Haqq, C.M., Scher, H.I., COU-AA-301-Investigators. (2011). Arbiraterone and Increased Survival in Metastatic Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 364(21), 1995–2005.
- Bootsma, A.M., Laguna Pes, M.P., Geerlings, S.E., Goossens, A. (2008). Antibiotic prophylaxis in urologic procedures: a systematic review. *Eur Urol.* 54(6), 1270–1286.
- Börgermann, C., Loertzer, H., Hammerer, P., Fornara, P., Graefen, M., Rübber, H. (2010). Problems, objective, and substance of early detection of prostate cancer. *Urologe A.* 49(2), 181–189.
- Börgermann, C., Chun, F.K.-H., Bastian, P.J., Fischer, K., Fornara, P., Fröhner, M., Graefen, M., Haese, A., Hammerer, P., Heine, K., Heß, J., Hode, M.R., Huland, H., Köllermann, J., Loertzer, H., Luboldt, H.-J., Miller, K., Rübber, H., Schlomm, T., Schostak, M., Schrader, M., Schwarz, R., Scharz, I., Thederan, I., Wirth, M. (2014). Prostatakarzinom. In Rübber, H. (Hrsg.). *Uroonkologie.* 6.ed (381-520). Heidelberg: Springer Medizin.
- Bostwick, D.G., Burke, H.B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S.M., Landolph, J., Morrison, H., Sonawane, B., Shifflett, T., Waters, D.J., Timmbs, B. (2004a). Human prostate cancer risk factors. *Cancer.* 101(10 Suppl), 2371–2390.

- Bostwick, D.G., Liu, Lina, Brawer, M.K., Qian, J. (2004b). High-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Rev Urol.* 6(4), 171–179.
- Bostwick, D.G., Qian, J., Schlesinger, C. (2003). Contemporary pathology of prostate cancer. *Urol Clin of N Am.* 30(2), 181-207.
- Bott, S., Birthle, A., Taylor, C., Kirby, R. (2003). Prostate cancer management: (1) an update on localised disease. *Postgrad Med J.* 79(936), 575–580.
- Braga-Basaria, M., Dobs, A.S., Muller, D.C., Carducci, M.A., John, M., Egan, J., Basaria, S. (2006). Metabolic syndrome in men with prostate cancer undergoing long-term androgen-deprivation therapy. *J Clin Oncol.* 24(24), 3979–3983.
- Breckenridge, D.G., Germain, M., Mathai, J.P., Nguyen, M., Shore, G.C. (2003). Regulation of apoptosis by endoplasmic reticulum pathways. *Oncogene.* 22(53), 8608–8618.
- Brimo, F., Montironi, R., Egevad, L., Erbersdobler, A., Lin, D.W., Nelson, J.B., Rubin, M.A., van der Kwast, T., Amin, M., Epstein, J.I. (2013). Contemporary grading for prostate cancer: implications for patient care. *Eur Urol.* 63(5), 892–901.
- Brössner, C., Ringhofer, H., Hernady, T., Kuber, W., Madersbacher, S., Pycha, A. (2001). Lymphatic drainage of prostatic transition and peripheral zones visualized on a three-dimensional workstation. *Urology,* 57(2), 389–393.
- Bubendorf, L., Schöpfer, A., Wagner, U., Sauter, G., Moch, H., Willi, N., Gasser, T.C., Mihatsch, M.J. (2000). Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum Pathol.* 31(5), 578–583.
- Burdelski, C., Barreau, Y., Simon, R., Hube-Magg, C., Minner, S., Koop, C., Graefen, M., Heinzer, H., Sauter, G., Wittmer, C., Steurer, S., Adam, M., Huland, H., Schlomm, T., Tsourlakis, M.C., Quaas, A. (2015). *Saccharomyces cerevisiae*-like 1 overexpression is frequent in prostate cancer and has markedly different effects in Ets-related gene fusion-positive and fusion-negative cancers. *Hum Pathol.* 46(4), 514-523.
- Busaidy, N.L., Farooki, A., Dowlati, A., Perentesis, J.P., Dancey, J.E., Doyle, L.A., Brell, J.M., Siu, L.L. (2012). Management of metabolic effects associated with anticancer agents targeting the PI3K-Akt-mTOR pathway. *J Clin Oncol.* 30(23), 2919–2928.
- Bussink, J., van der Kogel, A.J., Kaanders, J.H. (2008). Activation of the PI3-K/AKT pathway and implications for radioresistance mechanisms in head and neck cancer. *Lancet Oncol.* 9(3), 288–296.
- Butkinaree, C., Park, K., Hart, G.W. (2010). O-linked beta-N-Acetylglucosamine (O-GlcNAc): Extensive crosstalk with phosphorylation to regulate signaling and transcription in response to nutrients and stress. *Biochim Biophys Acta,* 1800(2), 96-106.

- Cairns, P., Okami, K., Halachmit, S., Halachmi, N., Esteller, M., Herman, J.G., Jen, J., Isaacs, W.B., Bova, G.S., Sidransky, D. (1997). Frequent Inactivation of PTEN/ MMAC1 in Primary Prostate Cancer. *Cancer Res.* 57(22), 4997–5000.
- Caldwell, S., Jackson, S.R., Shahriari, K.S., Lynch, T.P., Sethi, G., Walker, S., Vosseller, K., Reginato, M.J. (2010). Nutrient sensor O-GlcNAc transferase regulates breast cancer tumorigenesis through targeting of the oncogenic transcription factor FoxM1. *Oncogene.* 29(19), 2831–2842.
- Carroll, P.R., Coakley, F.V., Kurhanewicz, J. (2006). Magnetic resonance imaging and spectroscopy of prostate cancer. *Rev Urol.* 8(Suppl 1), 4–10.
- Carver, B.S., Tran, J., Gopalan, A., Chen, Z., Shaikh, S., Carracedo, A., Alimonti, A., Nardella, C., Varmeh, S., Scardino, P.T., Cordon-Cardo, C., Gerald, W., Pandolfi, P.P. (2009). Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. *Nat Genet.* 41(5), 619–624.
- Casadio, V., Calistri, D., Salvi, S., Gunelli, R., Caretta, E., Amadori, D., Silvestrini, R., Zoli, W. (2013). Urine cell-free DNA integrity as a marker for early prostate cancer diagnosis: a pilot study. *Biomed Res Int.* 31(8), 1744-1750.
- Catalona, W.J., Richie, J.P., Ahmann, F.R., Hudson, M.A., Scardino, P.T., Flanigan, R.C., deKernion J.B., Ratliff, T.L., Avoussi, L.R., Dalkin, B.L. (1994). Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol.* 151(5), 1283–1290.
- Chen, C.D., Welsbie, D.S., Tran, C., Baek, S.H., Chen, R., Vessella, R., Rosenfeld, M.G., Sawyers, C.L. (2004). Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat Med.* 10(1), 33–39.
- Chevalier, S., Defoy, I., Lacoste, J., Hamel, L., Guy, L., Bégin, L.R., Aprikian, A.G. (2002). Vascular endothelial growth factor and signaling in the prostate: more than angiogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 189(1-2), 169–179.
- Chow, L.M. & Baker, S.J. (2006). PTEN function in normal and neoplastic growth. *Cancer Lett.* 241(2), 184–196.
- Culig, Z., Bartsch, G., Hobisch, A. (2002). Interleukin-6 regulates androgen receptor activity and prostate cancer cell growth. *Mol Cell Endocrinol.* 197(1-2), 231–238.
- Cussenot, O. & Valeri, A. (2001). Heterogeneity in genetic susceptibility to prostate cancer. *Eur J Intern Med.* 12(1), 11–16.
- D'Amico, A.V., Whittington, R., Malkowicz, S.B., Cote, K., Loffredo, M., Schultz, D., Chen, M.H., Tomaszewski, J.E., Renshaw, A.A., Wein, A., Richie, J.P. (2002). Biochemical outcome after radical prostatectomy or external beam radiation therapy for patients with clinically localized prostate carcinoma in the prostate specific antigen era. *Cancer.* 95(2), 281–286.

- Dancau, A.M., Simon, R., Mirlacher, M., Sauter, G. (2010). Tissue microarrays. *Methods Mol Biol.* 576, 49–60.
- Davies, M.A., Koul, D., Dhesi, H., Berman, R., McDonnell, T.J., McConkey, D., Yung, W.K., Steck, P.A. (1999). Regulation of Akt/PKB activity, cellular growth, and apoptosis in prostate carcinoma cells by MMAC/PTEN. *Cancer Res.* 59(11), 2551–2556.
- Demarzo, A.M., Nelson, W.G., Isaacs, W.B., Epstein, J.I. (2003). Pathological and molecular aspects of prostate cancer. *Lancet.* 361(9361), 955–965.
- Demichelis, F., Fall, K., Perner, S., Andrén, O., Schmidt, F., Setlur, S.R., Hoshida, Y., Mosquera, J.M., Pawitan, Y., Lee, C., Adami, H.O., Mucci, L.A., Kantoff, P.W., Andersson, S.O., Chinnaiyan, A.M., Johansson, J.E., Rubin, M.A. (2007). TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene.* 26(31), 4596–4599.
- DePrimo, S.E., Diehn, M., Nelson, J.B., Reiter, R.E., Matese, J., Fero, M., Tibshirani, R., Brown, P.O., Brooks, J.D. (2002). Transcriptional programs activated by exposure of human prostate cancer cells to androgen. *Genome Biol.* 3(7).
- Dhillon, P.K., Barry, M., Stampfer, M.J., Perner, S., Fiorentino, M., Fornari, A., Ma, J., Fleet, J., Kurth, T., Rubin, M.A., Mucci, L.A. (2009). Aberrant Cytoplasmic Expression of P63 and Prostate Cancer Mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 18(2), 595–600.
- Diekman, A.B. & Goldberg, E. (1994). Characterization of a human antigen with sera from infertile patients. *Biol Reprod.* 50(5), 1087–1093.
- Djavan, B., Remzi, M., Schulman, C.C., Marberger, M., Zlotta, A.R. (2002). Repeat prostate biopsy : who, how and when?. a review. *Eur Urol.* 42(2), 93–103.
- Donovan, M.J., Osman, I., Khan, F.M., Vengrenyuk, Y., Capodiecici, P., Koscuizska, M., Anand, A., Cordon-Cardo, C., Costa, J., Scher, H.I. (2010). Androgen receptor expression is associated with prostate cancer-specific survival in castrate patients with metastatic disease. *BJU Int.* 105(4), 462–467.
- Eble, J.N., Sauter, G., Epstein, J.I., Sesterhenn, I.A. (eds.). (2004). *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs.* Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC).
- Eichler, K., Hempel, S., Wilby, J., Myers, L., Bachmann, L.M., Kleijnen, J. (2006). Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. *J Urol.* 175(5), 1605–1612.
- Epstein, J.I. (2010). An update of the Gleason grading system. *J Urol.* 183(2), 433–440.
- Eschenbach von, A.C. (1981). Cancer of the prostate. *Curr Probl Cancer.* 5(12), 1–54.
- Evans, A.J., Henry, P.C., Van der Kwast, T.H., Tkachuk, D.C., Watson, K., Lockwood, G.A., Fleshner, N.E., Cheung, C., Belanger, E.C., Amin, M.B., Boccon-Gibod, L., Bostwick,

- D.G., Egevad, L., Epstein, J.I., Grignon, D.J., Jones, E.C., Montironi, R., Moussa, M., Sweet, J.M., Trpkov, K., Wheeler, T.M., Srigley, J.R. (2008). Interobserver variability between expert urologic pathologists for extraprostatic extension and surgical margin status in radical prostatectomy specimens. *Am J Surg Pathol.* 32(10), 1503–1512.
- Ferrer, C.M., Lynch, T.P., Sodi, V.L., Falcone, J.N., Schwab, L.P., Peacock, D.L., Vocadlo, D.J., Seagroves, T.N., Reginato, M.J. (2014). O-GlcNAcylation regulates cancer metabolism and survival stress signaling via regulation of the HIF-1 pathway. *Mol Cell.*, 54(5), 820–831.
- Fillmore, R.A., Kojima, C., Johnson, C., Kolcun, G., Dangott, L.J., Zimmer, W.E. (2014). New concepts concerning prostate cancer screening. *Exp Biol Med (Maywood)*.239(7), 793-804.
- Folkman, J., Watson, K., Ingber, D., Hanahan, D. (1989). Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature.* 339(6219), 58–61.
- Gennigens, C., Menetrier-Caux, C., Droz, J.P. (2006). Insulin-Like Growth Factor (IGF) family and prostate cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 58(2), 124–145.
- Gil-Diez de Medina, S., Salomon, L., Colombel, M., Abbou, C.C., Bellot, J., Thiery, J.P., Radvanyi, F., Van der Kwast, T.H., Chopin, D.K. (1998). Modulation of cytokeratin subtype, EGF receptor, and androgen receptor expression during progression of prostate cancer. *Hum Pathol.* 29(9), 1005–1012.
- Giri, D., Ozen, M., Ittmann, M. (2001). Interleukin-6 is an autocrine growth factor in human prostate cancer. *Am J Pathol.* 159(6), 2159–2165.
- Gleason, D.F. (1992). Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol.* 23(3), 273–279.
- Gleason, D.F., Mellinger, G.T., Veterans Administration Cooperative Urological Research Group. (2002). Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. 1974. *J Urol.* 167(2 Pt 2), 953–959.
- Glynn-Jones, E., Goddard, L., Harper, M.E. (1996). Comparative analysis of mRNA and protein expression for epidermal growth factor receptor and ligands relative to the proliferative index in human prostate tissue. *Hum Pathol.* 27(7), 688–694.
- Gopalan, A., Leversha, M.A., Satagopan, J.M., Zhou, Q., Al-Ahmadie, H.A., Fine, S.W., Eastham, J.A., Scardino, P.T., Scher, H.I., Tickoo, S.K., Reuter, V.E., Gerald, W.L. (2009). TMPRSS2-ERG gene fusion is not associated with outcome in patients treated by prostatectomy. *Cancer Res.* 69(4), 1400–1406.
- Graefen, M. (2006). The positive surgical margin after radical prostatectomy-why do we still not really know what it means? *Eur Urol.* 50(2), 199-201.
- Graff, J.R., Herman, J.G., Lapidus, R.G., Chopra, H., Xu, R., Jarrard, D.F., Isaacs, W.B., Pitha, P.M., Davidson, N.E., Baylin, S.B. (1995). E-cadherin expression is silenced by

- DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. *Cancer Res.* 55(22), 5195–5199.
- Gray, I.C., Phillips, S.M., Lee, S.J., Neoptolemos, J.P., Weissenbach, J., Spurr, N.K. (1995). Loss of the chromosomal region 10q23-25 in prostate cancer. *Cancer Res.* 55(21), 4800–4803.
- Greene, F.L., Page, D.L., Fleming, I.D., Fritz, A.G., Balch, C.M, Haller, D.G., Morrow, M. (eds.). (2002). General Information on Cancer Staging and End-Results Reporting. In *AJCC Cancer Staging Manual*, 6th ed. New York: Springer.
- Grivas, P.D., Robins, D.M., Hussain, M. (2012). Predicting response to hormonal therapy and survival in men with hormone sensitive metastatic prostate cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 85(1), 82-93.
- Gu, Y., Mi, W., Ge, Y., Liu, H., Fan, Q., Han, C., Yang, J., Han, F., Lu, X., Yu, W. (2010). GlcNAcylation plays an essential role in breast cancer metastasis. *Cancer Res.* 70(15), 6344–6351.
- Guertin, D.A. & Sabatini, D.M. (2007). Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer cell*, 12(1), 9–22.
- Gunter, J.H., Sarkar, P.L., Lubik, A.A., Nelson, C.C. (2013). New players for advanced prostate cancer and the rationalisation of insulin-sensitising medication. *Int J Cell Biol.* 2013:34684.
- Guo, C.C., Wang, Y., Xiao, L., Troncoso, P., Czerniak, B.A. (2012). The relationship of TMPRSS2-ERG gene fusion between primary and metastatic prostate cancers. *Hum Pathol.* 43(5), 644–649.
- Gupta, S. (2007). Prostate cancer chemoprevention: current status and future prospects. *Toxicoc Appl Pharmacol.* 224(3), 369–376.
- Guyon, I., Fritsche, H.A., Choppa, P., Yang, L.-Y., Barnhill, S.D. (2009). A four-gene expression signature for prostate cancer cells consisting of UAP1, PDLIM5, IMPDH2, and HSPD1. *Urotoday Int J.* 02(04).
- Hakenberg, O. (2010). Prostatakarzinom. In Schmelz, H.-U., C. Sparwasser, C. & W. Weidner, W. (Hrsgs.). *Facharztwissen Urologie: Differenzierte Diagnostik und Therapie*. Heidelberg: Springer Medizin
- Halvorsen, O.J., Haukaas, S.A., Akslen, L.A. (2003). Combined Loss of PTEN and p27 Expression Is Associated with Tumor Cell Proliferation by Ki-67 and Increased Risk of Recurrent Disease in Localized Prostate Cancer. *Clin Cancer Res.* 9(4), 1474–1479.
- Hammerich, K.H., Ayala, G.E., Wheeler, T.M. (2008). Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. In Hricak, H., Scardino, P. (eds.). *Prostate Cancer*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Hanahan, D. & Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 144(5), 646–674.
- Hanahan, D. & Weinberg, R.A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 100(1), 57–70.
- Hart, G., Slawson, C., Ramirez-Correa, G., Lagerlof, O. (2011). Cross talk between O-GlcNAcylation and phosphorylation: roles in signaling, transcription, and chronic disease. *Annu Rev Biochem*. 80, 825–858.
- Hebert, J.R., Hurley, T.G., Olendzki, B.C., Teas, J., Ma, Y., Hampl, J.S. (1998). Nutritional and socioeconomic factors in relation to prostate cancer mortality: a cross-national study. *J Natl Cancer Inst*. 90(21), 1637–1647.
- Heaphy, C.M., Subhawong, A.P., Hong, S.-M., Goggins, M.G., Montgomery, E.A., Gabrielson, E., Netto, G.J., Epstein, J.I., Lotan, T.L., Westra, W.H., Shih, L.-M., Iacobuzio-Donahue, C.A., Maitra, A., Li, Q.K., Eberhart, C.G., Taube, J.M., Rakheja, D., Kurman, R.J., Wu, T.C., Roden, R.B., Argani, P., De Marzo, A.M., Terracciano, L., Torbenson, M., Meeker, A.K. (2011). Prevalence of the Alternative Lengthening of Telomeres Telomere Maintenance Mechanism in Human Cancer Subtypes. *Am J Pathol*. 179(4), 1608-1615.
- Heidenreich, A., Bolla, M., Joniau, S., Mason, M.D., Matveev, V., Mottet, N., Schmid, H-P., Van der Kwast, T.H., Wiegel, T., Zattoni, F. (2010). Guidelines on Prostate Cancer. *Eur A Urol. Guidelines*. <http://uroweb.org/wp-content/uploads/Prostate-Cancer-2010-June-17th.pdf> (Zugriff am 12.10.2015).
- Helfand, B.T., Loeb, S., Hu, Q., Cooper, P.R., Roehl, K.A., McGuire, B.B., Baumann, N.A., Catalona, W.J. (2013). Personalized prostate specific antigen testing using genetic variants may reduce unnecessary prostate biopsies. *J Urol*. 189(5), 1697–1701.
- Helpap, B. & Rübber, H. (1998). *Prostatakarzinom: Pathologie, Praxis und Klinik* (1st ed.). Berlin: Springer.
- Henshall, S.M., Quinn, D.I., Lee, C.S., Head, D.R., Golovsky, D., Brenner, P.C., Delprado, W., Stricker, P.D., Grygiel, J.J., Sutherland, R.L. (2001). Altered expression of androgen receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. *Cancer Res*. 61(2), 423–427.
- Hessels, D., Smit, F.P., Verhaegh, G.W., Witjes, J.A., Cornel, E.B., Schalken, J.A. (2007). Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 13(17), 5103–5108.
- Heul-Nieuwenhuijsen van der, L., Hendriksen, P.J., van der Kwast, T.H., Jenster, G. (2006). Gene expression profiling of the human prostate zones. *BJU Int*. 98(4), 886–897.
- Hirohashi, S. (1998). Inactivation of the E-cadherin-mediated cell adhesion system in human cancers. *Am J Pathol*. 153(2), 333–339.

- Holzbeierlein, J., Lal, P., LaTulippe, E., Smith, A., Satagopan, J., Zhang, L., Ryan, C., Smith, S., Scher, H., Scardino, P., Reuter, V., Gerald, W.L. (2004). Gene expression analysis of human prostate carcinoma during hormonal therapy identifies androgen-responsive genes and mechanisms of therapy resistance. *Am J Pathol.* 164(1), 217–227.
- Hresko, R.C. & Mueckler, M. (2005). mTOR.RICTOR is the Ser473 kinase for Akt/protein kinase B in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 280(49), 40406–40416.
- Hricak, H., Choyke, P.L., Eberhardt, S.C., Leibel, S.A., Scardino, P.T. (2007). Imaging prostate cancer: a multidisciplinary perspective. *Radiology.* 243(1), 28–53.
- Humphrey, P.A. (2004) Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol.* 17(3), 292–306.
- Isebaert, S.F., Swinnen, J.V., McBride, W.H., Haustermans, K.M. (2011). Insulin-like growth factor-type 1 receptor inhibitor NVP-AEW541 enhances radiosensitivity of PTEN wild-type but not PTEN-deficient human prostate cancer cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 81(1), 239–247.
- Itkonen, H.M., Engedal, N., Babaie, E., Luhr, M., Guldvik, I.J., Minner, S., Hohloch, J., Tsourlakis, M.C., Schlomm, T., Mills, I.G. (2015). UAP1 is overexpressed in prostate cancer and is protective against inhibitors of N-linked glycosylation. *Oncogene*, 34(28), 3744-3750
- Itkonen, H.M. & Mills, I.G. (2013a). N-linked glycosylation supports cross-talk between receptor tyrosine kinases and androgen receptor. *PLoS one.* 8(5), e65016.
- Itkonen, H.M., Minner, S., Guldvik, I.J., Sandmann, M.J., Tsourlakis, M.C., Berge, V., Svindland, A., Schlomm, T., Mills, I.G. (2013b). O-GlcNAc transferase integrates metabolic pathways to regulate the stability of c-MYC in human prostate cancer cells. *Cancer Res.* 73(16), 5277-87.
- Jacinto, E., Loewith, R., Schmidt, A., Lin, S., Ruegg, M.A., Hall, A., Hall, M.N. (2004). Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nat Cell Biol.* 6(11), 1122–1128.
- Keil, J. (2012). Urologie. In Thieme (Hrsg.). *AlLEX- Das Kompendium für die 2. ÄP.* Stuttgart: Thieme.
- Keyes, K.M., Galea, S. (2014). *Epidemiology matters: a new introduction to methodological foundations.* New York, NY: Oxford University Press.
- Kim, D.-H., Sarbassov, D.D., Ali, S.M., King, J.E., Latek, R.R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Sabatini, D.M. (2002). mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell.* 110(2), 163–175.
- Kimura, T. (2011). East meets West: ethnic differences in prostate cancer epidemiology between East Asians and Caucasians. *Chin J Cancer.* 31(9), 421–429.

- Kononen, J., Bubendorf, L., Kallioniemi, A., Bärlund, M., Schraml, P., Leighton, S., Torhorst, J., Mihatsch, M.J., Sauter, G., Kallioniemi, O.P. (1998). Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med.* 4(7), 844–847.
- Korbmacher, C. (2010). Hormone und Mechanismen der Signaltransduktion. In Pape, H.-C., Kurtz, A., Silbernagl, S. (eds.). *Physiologie (6. ed.)*. Stuttgart: Thieme.
- Kral, M., Rosinska, V., Student, V., Grepl, M., Hrabec, M., Bouchal, J. (2011). Genetic determinants of prostate cancer: a review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 155(1), 3-9.
- Kramer, M.W., Merseburger, A.S., Hennenlotter, J., Kuczyk, M. (2007). Tissue microarrays in clinical urology--technical considerations. *Scand J Urol Nephrol.* 41(6), 478–484.
- Kremer, C.L., Klein, R.R., Mendelson, J., Browne, W., Samadzede, L.K., Vanpatten, K., Highstrom, L., Pestano, G.A., Nagle, R.B. (2006). Expression of mTOR signaling pathway markers in prostate cancer progression. *Prostate.* 66(11), 1203–1212.
- Krohn, A., Diedler, T., Burkhardt, L., Mayer, P.S., De Silva, C., Meyer-Kornblum, M., Kötschau, D., Tennstedt, P., Huang, J., Gerhäuser, C., Mader, M., Kurtz, S., Sirma, H., Saad, F., Steuber, T., Graefen, M., Plass, C., Sauter, G., Simon, R., Minner, S., Schlomm, T. (2012). Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. *Am J Pathol.* 181(2), 401–412.
- Kruck, S., Merseburger, A.S., Hennenlotter, J., Scharpf, M., Eyrich, C., Amend, B., Sievert, K.D., Stenzl, A., Bedke, J. (2012). High cytoplasmic expression of p27 (Kip1) is associated with a worse cancer-specific survival in clear cell renal cell carcinoma. *BJU Int.* 109(10), 1565–1570.
- Krześlak, A., Forma, E., Bernaciak, M., Romanowicz, H., Bryś, M. (2012) Gene expression of O-GlcNAc cycling enzymes in human breast cancers. *Clin Exp Med.* 12(1), 61–65.
- Kurtoglu, M., Gao, N., Shang, J., Maher, J.C., Lehrmann, M.A., Wangpaichitr, M., Savaraj, N., Lane, A.N., Lampidis, T.J. (2007). Under normoxia, 2-deoxy-D-glucose elicits cell death in select tumor types not by inhibition of glycolysis but by interfering with N-linked glycosylation. *Mol Cancer Ther.* 6(11), 3049–3058.
- Labelle, M., Begum, S., Hynes, R.O. (2011). Direct signaling between platelets and cancer cells induces an epithelial-mesenchymal-like transition and promotes metastasis. *Cancer Cell.* 20(5), 576–590.
- Lang, E. (2012). *Histotechnik: Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytik.* (2. ed). Springer: Wien New York.
- Lee, Y.-J., Imsumran, A., Park, M.Y., Kwon, S.Y., Lee, J.H., Yoo, C.G., Kim, Y.W., Han, S.K., Shim, Y.S., Piao, W., Yamamoto, H., Adachi, Y., Carbone, D.P., Lee, C.T. (2007). Adenovirus expressing shRNA to IGF-1R enhances the chemosensitivity of lung cancer cell lines by blocking IGF-1 pathway. *Lung Cancer.* 55(3), 279–286.

- Leyten, G.H, Hessels, D., Jannink, S.A., Smit, F.P., De Jong, H., Cornel, E.B., De Reijke, T.M., Vergunst, H., Kil, P., Knipscheer, B.C., Van Oort, I.M., Mulders, P.F., Hulsbergen-Van de Kaa, C.A., Schalken, J.A. (2014). Prospective multicentre evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer. *Eur Urol.* 65(3), 534–542.
- Li, R., Wheeler, T., Dai, H., Frolov, A., Thompson, T., Ayala, G. (2004). High level of androgen receptor is associated with aggressive clinicopathologic features and decreased biochemical recurrence-free survival in prostate: cancer patients treated with radical prostatectomy. *Am J Surg Pathol.* 28(7), 928–934.
- Lilja, H. (1985). A kallikrein-likeserine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest.* 76(5), 1899–1903.
- Linja, M.J., Savinainen, K.J., Saramäki, O.R., Tammela, T.L., Vessella, R.L., Visakorpi, T. (2001). Amplification and overexpression of androgen receptor gene in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res.* 61(9), 3550–3555.
- Linja, M.J. & Visakorpi, T. (2004). Alterations of androgen receptor in prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 92(4), 255–264.
- Linnemann, M. & Köhl, M. (2005). Die Synthese der Aminosucker. In Linnemann, M., Köhl, M. (Hrsg). *Biochemie für Mediziner: Ein Lern- und Arbeitsbuch mit klinischem Bezug.* Berlin, Heidelberg: Springer.
- Lippert, H. (2011). *Lehrbuch Anatomie* (8. ed.). München: Urban & Fischer Verlag.
- Lonergan, P.E. & Tindall, D.J. (2011). Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression. *J Carcinog.* 10, 20.
- Lorente, D. & De Bono, J.S. (2014). Molecular alterations and emerging targets in castration resistant prostate cancer. *Eur J Cancer.* 50(4), 753–764.
- Lu, Z., Bo, X.J., Liu, G.D., Wang, J.M., Li, G. (2013). Expression of CD26 and CXCR4 in prostate carcinoma and its relationship with clinical parameters. *J Res Med Sci.* 18(8), 647–652.
- Ludwig, J.A. & Weinstein, J.N. (2005). Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection. *Nat Rev Cancer.* 5(11), 845–856.
- Luo, J.-H. , Yu, A.P., Cieply, K., Lin, F., DeFlavia, P., Dhir, R., Finkelstein, S., Michalopoulos, G., Becich, M. (2002). Gene expression analysis of prostate cancers. *Mol Carcinog.* 33(1), 25–35.
- Lynch, T.P., Ferrer, C.M., Jackson, S.R., Shahriari, K.S., Vosseller, K., Reginato, M.J. (2012). Critical role of O-Linked β -N-acetylglucosamine transferase in prostate cancer invasion, angiogenesis, and metastasis. *J Biol Chem.* 287(14), 11070–11081.
- Lynch, T.P. & Reginato, M.J. (2011). O-GlcNAc transferase: a sweet new cancer target. *Cell Cycle.* 10(11), 1712–1713.

- Ma, W., Diep, K., Fritsche, H.A., Shore, N., Albitar, M. (2014). Diagnostic and prognostic scoring system for prostate cancer using urine and plasma biomarkers. *Genet Test Mol Biomarkers*. 18(3), 156–163.
- Ma, X., Ziel-van der Made, A.C., Autar, B., van der Korput, H.A., Vermeij, M., van Duijn, P., Dleutjens, K.B., de Krijger, R., Krimpenfort, P., Berns, A., van der Kwast, T.H., Trapman, J. (2005). Targeted biallelic inactivation of Pten in the mouse prostate leads to prostate cancer accompanied by increased epithelial cell proliferation but not by reduced apoptosis. *Cancer Res*. 65(13), 5730–5739.
- Malaguarnera, R., Sacco, A., Morcavallo, A., Squatrito, S., Migliaccio, A., Morrione, A., Maggiolini, M., Belfiore, A. (2014). Metformin inhibits androgen-induced IGF-IR up-regulation in prostate cancer cells by disrupting membrane-initiated androgen signaling. *Endocrinology*. 155(4), 1207–1221.
- Marks, R.A., Koch, M.O., Lopez-Beltran, A., Montironi, R., Juliar, B.E., Cheng, L. (2007). The relationship between the extent of surgical margin positivity and prostate specific antigen recurrence in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol*. 38(8), 1207–1211.
- Martino, P., Palazzo, S., Battaglia, M., Lucarelli, G., Selvaggi, F.P. (2004). Incidental prostatic cancer: repeat TURP or biopsy? *Urol Int*. 73(3), 193-197.
- McNeal, J.E. (1981). The zonal anatomy of the prostate. *Prostate*. 2(1), 35–49.
- McNeal, J.E., Redwine, E.A., Freiha, F.S., Stamey, T.A. (1988). Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol*. 12(12), 897–906.
- Mehra, R., Tomlins, S.A., Yu, J., Cao, X., Wang, L., Menon, A., Rubin, M.A., Pienta, K.J., Shah, R.B., Chinnaiyan, A.M. (2008). Characterization of TMPRSS2-ETS gene aberrations in androgen-independent metastatic prostate cancer. *Cancer Res*. 68(10), 3584–3590.
- Melchior, S., Hadaschik, B., Thüroff, S., Thomas, C., Gillitzer, R., Thüroff, J. (2009). Outcome of radical prostatectomy for incidental carcinoma of the prostate. *BJU Int*. 103(11), 1478-1481.
- Mi, W., Gu, Y., Han, C., Liu, H., Fan, Q., Zhang, X., Cong, Q., Yu, W. (2011). O-GlcNAcylation is a novel regulator of lung and colon cancer malignancy. *Biochim Biophys Acta*. 1812(4), 514–519.
- Michl, U., Graefen, M., Haese, A., Budaues, L., Thederan, I., Salomon, G., Heinzer, H., Schlomm, T., Steuber, T., Schiffmann, J., Huland, H. (2014). Diabetes and therapy of diabetes had no impact on BCR following radical prostatectomy (Rp). Results from nearly 4200 contemporary patients. *J Urol*. 191(4), e514–e515.
- Minner, S., Enodien, M., Sirma, H., Luebke, A.M., Krohn, A., Mayer, P.S., Simon, R., Tennstedt, P., Müller, J., Scholz, L., Brase, J.C., Liu, A.Y., Schlüter, H., Pantel, K., Schumacher, U., Bokemeyer, C., Steuber, T., Graefen, M., Sauter, G., Schlomm, T.

- (2011). ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of antihormonal therapy. *Clin Cancer Res.* 17(18), 5878–5888.
- Mio, T., Yamada-Okabe, T., Arisawa, M., Yamada-Okabe, H. (1999). *Saccharomyces cerevisiae* GNA1, an essential gene encoding a novel acetyltransferase involved in UDP-N-acetylglucosamine synthesis. *J Biol Chem.* 274(1), 424–429.
- Mio, T., Yabe, T., Arisawa, M., Yamada-Okabe, H. (1998). The Eukaryotic UDP-N-Acetylglucosamine Pyrophosphorylases. *J Biol Chem.* 273(23), 14392–14397.
- Moorselaar van, R.J. & Voest, E.E. (2002). Angiogenesis in prostate cancer: its role in disease progression and possible therapeutic approaches. *Mol Cell Endocrinol.* 197(1-2), 239–250.
- Morgan, T.M., Koreckij, T.D., Corey, E. (2009). Targeted Therapy for Advanced Prostate Cancer: Inhibition of the PI3K/Akt/mTOR Pathway. *Curr Cancer Drug Targets.* 9(2), 237–249.
- Mottet, N., Bastian, P.J., Bellmunt, J., van den Bergh, R.C., van Casteren, N.J., Cornford, P., Joniau, S., Mason, M.D., Matveev, V., van der Kwast, T.H., van der Poel, H., Rouvière, O., Wiegel, T. (2014). Guidelines on Prostate Cancer. Eur A Urol. Guidelines. <http://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-Prostate-Cancer-2015-v2.pdf> (Zugriff am 06.01.2016).
- Mueller-Lisse, U.G. (2008). Diagnostic radiology of the pelvis. Prostate cancer, bladder cancer, and incontinence. *Radiologe.* 48(4), 397–410.
- Muga de, S., Hernández, S., Agell, L., Salido, M., Juanpere, N., Lorenzo, M., Lorente, J.A., Serrano, S., Lloreta, J. (2010). Molecular alterations of EGFR and PTEN in prostate cancer: association with high-grade and advanced-stage carcinomas. *Mod Pathol.* 23(5), 703–712.
- Mulholland, D.J., Tran, L.M., Li, Y., Cai, H., Morim, A., Wang, S., Plaisier, S., Garraway, I.P., Huang, J., Graeber, T.G., Wu, H. (2011). Cell Autonomous role of PTEN in regulating castration-resistant prostate cancer growth. *Cancer Cell.* 19(6), 792–804.
- Müller, J., Ehlers, A., Burkhardt, L., Sirma, H., Steuber, T., Graefen, M., Sauter, G., Minner, S., Simon, R., Schlomm, T., Michl, U. (2013). Loss of pSer2448-mTOR expression is linked to adverse prognosis and tumor progression in ERG-fusion-positive cancers. *Int J Cancer.* 132(6), 1333–1340.
- Nagy, J.A. & Dvorak, H.F. (2012). Heterogeneity of the tumor vasculature: the need for new tumor blood vessel type-specific targets. *Clin Exp Metastasis.* 29(7), 657–662.
- Nguyen, P.L., Chen, M.H., Catalona, W.J., Moul, J.W., Sun, L., D'Amico, A.V. (2009). Predicting prostate cancer mortality among men with intermediate to high-risk disease and multiple unfavorable risk factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 73(3), 659–664.

- Nguyen, P.N., Violette, P., Chan, S., Tanguay, S., Kassouf, W., Aprikian, A., Chen, J.Z. (2011). A panel of TMPRSS2:ERG fusion transcript markers for urine-based prostate cancer detection with high specificity and sensitivity. *Eur Urol.* 59(3), 407–414.
- Nogueira, L., Corradi, R., Eastham, J.A. (2009). Prostatic specific antigen for prostate cancer detection. *Int Braz J Urol.* 35(5), 521–532.
- Noldus, J. & Stamey, T.A. (1996). Limitations of serum prostate specific antigen in predicting peripheral and transition zone cancer volumes as measured by correlation coefficients. *J Urol.* 155(1), 232–237.
- National Collaboration Centre for Cancer (ed.). (2014). *Prostate cancer: diagnosis and treatment (Clinical Guideline no. 175)*. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE)
- Ohuri, M. & Scardino, P.T. (2002). Localized prostate cancer. *Curr Probl Surg.* 39(9), 833–957.
- Ohuri, M., Wheller, T.M., Kattan, M.W., Goto, Y., Scardino, P.T. (1995). Prognostic significance of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *J Urol.* 154(5), 1818–1824.
- Oort van, I.M., Witjes, J.A., Kok, D.E., Kiemeny, L.A., Hulsbergen-vandeKaa, C.A. (2008). Maximum tumor diameter is not an independent prognostic factor in high-risk localized prostate cancer. *World J Urol.* 26(3), 237–241.
- Oshiro, N., Yoshino, K., Hidayat, S., Tokunaga, C., Hara, K., Eguchi, S., Avruch, J., Yonezawa, K. (2004). Dissociation of raptor from mTOR is a mechanism of rapamycin-induced inhibition of mTOR function. *Genes Cells.* 9(4), 359–366.
- Osterwalder, E. (o.D.). *Einführung in die Immunhistochemie*. www.histologietechnik.ch (Zugriff 19.01.16).
- Ozbek, E., Otunctemur, A., Dursun, M., Sahin, S., Besiroglu, H., Koklu, I., Erkoç, M., Danis, E., Bozkurt, M. (2014). The metabolic syndrome is associated with more aggressive prostate cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15(9), 4029–4032.
- Pandini, G., Mineo, R., Frasca, F., Roberts, C.T. Jr., Marcelli, M., Vigneri, R., Belfiore, A. (2005). Androgens up-regulate the insulin-like growth factor-I receptor in prostate cancer cells. *Cancer Res.* 65(5), 1849–1857.
- Partin, A., Carter, H.B., Chan, D.W., Epstein, J.I., Oesterling, J.E., Rock, R.C., Weber, J.P., Walsh, P.C. (1990). Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer : influence of tumor differentiation , tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol.* 143(4), 747–752.
- Patti, M., Virkamäki, A., Landaker, E.J., Kahn, C.R., Yki-Järvinen, H. (1999). Activation of the hexosamine pathway by glucosamine in vivo induces insulin resistance of early postreceptor insulin signaling events in skeletal muscle. *Diabetes.* 48(8), 1562–1571.

- Penneff, C., Ferrari, P., Charrier, V., Taburet, Y., Monnier, C., Zamboni, V., Winter, J., Harnois, M., Fassy, F., Bourne, Y. (2001). Crystal structures of two human pyrophosphorylase isoforms in complexes with UDPGlc(Gal)NAc: role of the alternatively spliced insert in the enzyme oligomeric assembly and active site architecture. *EMBO J.* 20(22), 6191–6202.
- Peng, Y., Chen, F., Melamed, J., Chiriboga, L., Wei, J., Kong, X., McLeod, M., Li, Y., Li, C.X., Feng, A., Garabedian, M.J., Wang, Z., Roeder, R.G., Lee, P. (2008). Distinct nuclear and cytoplasmic functions of androgen receptor cofactor p44 and association with androgen-independent prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105(13), 5236–5241.
- Perner, S., Svensson, M.A., Hossain, R.R., Day, J.R., Groskopf, J., Slaughter, R.C., Jarleborn, A.R., Hofer, M.D., Kuefer, R., Demichelis, F., Rickman, D.S., Rubin, M.A. (2010). ERG rearrangement metastasis patterns in locally advanced prostate cancer. *Urology.* 75(4), 762–767.
- Petrovics, G., Liu, A., Shaheduzzaman, S., Furusato, B., Sun, C., Chen, Y., Nau, M., Ravindranath, L., Chen, Y., Dobi, A., Srikantan, V., Sesterhenn, I.A., McLeod, D.G., Vahey, M., Moul, J.W., Srivastava, S. (2005). Frequent overexpression of ETS-related gene-1 (ERG1) in prostate cancer transcriptome. *Oncogene.* 24(23), 3847–3852.
- Pierce, B.L. (2012). Why are diabetics at reduced risk for prostate cancer? A review of the epidemiologic evidence. *Urol Oncol.* 30(5), 735–743.
- Potosky, A.L., Miller, B.A., Albertsen, P.C., Kramer, B.S. (1995). The role of increasing detection in the rising incidence of prostate cancer. *JAMA.* 273(7), 548–552.
- Pourmand, G., Ziaee, A.A., Abedi, A.R., Mehraei, A., Alavi, H.A., Ahmadi, A., Saadati, H.R. (2007). Role of PTEN gene in progression of prostate cancer. *Urol J.* 4(2), 95–100.
- Quinn, D.I., Henshall, S.M., Sutherland, R.L. (2005). Molecular markers of prostate cancer outcome. *Eur J Cancer.* 41(6), 858–887.
- Quinn, M. & Babb, P. (2002). Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part I: international comparisons. *BJU Int.* 90(2), 162–173.
- Raica, M., Cimpean, A.M., Ribatti, D. (2009). Angiogenesis in pre-malignant conditions. *Eur J Cancer.* 45(11), 1924–1934.
- Raja, J., Ramachandran, N., Munneke, G., Patel, U. (2006). Current status of transrectal ultrasound-guided prostate biopsy in the diagnosis of prostate cancer. *Clinical Radiol.* 61(2), 142–153.
- Rao, A.R., Motiwala, H.G., Karim, O.M. (2008). The discovery of prostate-specific antigen. *BJU Int.* 101(1), 5–10.
- Reid, A.H., Attard, G., Ambrosine, L., Fisher, G., Kovacs, G., Brewer, D., Clark, J., Flohr, P., Edwards, S., Berney, D.M., Foster, C.S., Fletcher, A., Gerald, W.L., Møller, H., Reuter, V.E., Scardino, P.T., Cuzick, J., de Bono, J.S., Cooper, C.S., Transatlantic

- Prostate Group. (2010). Molecular characterisation of ERG, ETV1 and PTEN gene loci identifies patients at low and high risk of death from prostate cancer. *Br J Cancer*. 102(4), 678–684.
- Rhodes, D.R., Yu, J., Shanker, K., Deshpande, N., Varambally, R., Ghosh, D., Barrette, T., Pandey, A., Chinnaiyan, A.M. (2004). ONCOMINE : A cancer microarray database and integrated data-mining platform. *Neoplasia*. 6(1), 1–6.
- Ribeiro, F.R., Paulo, P., Costa, V.L., Barros-Silva, J.D., Ramalho-Carvalho, J., Jerónimo, C., Henrique, R., Lind, G.E., Skotheim, R.I., Lothe, R.A., Teixeira, M.R. (2011). Cysteine-rich secretory protein-3 (CRISP3) is strongly up-regulated in prostate carcinomas with the TMPRSS2-ERG fusion gene. *PLoS One*. 6(7), e22317.
- Ritter, M. (2005). Hormone: Prinzipien der endokrinen Regulation. In Deetjen, P., Speckmann, E.-J., Hescheler, J. (Hrsg.). *Physiologie (4.ed.)*. München: Urban & Fischer.
- Robert Koch-Institut & die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg.). (2010). *Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends. Eine gemeinsame Veröffentlichung des Robert Koch-Instituts und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (7. Ausgabe)*. Robert Koch-Institut (RKI): Berlin.
- Robert Koch-Institut (Hrsg.). (2010). *Verbreitung von Krebserkrankungen in Deutschland: Entwicklung der Prävalenzen zwischen 1990 und 2010 (7. Ausgabe)*. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. RKI: Berlin
- Robert Koch-Institut. (2013). Prostata. In Robert Koch-Institut & Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland (GEKID) e.V. (eds.). *Krebs in Deutschland 2009/2010*. Berlin: Gesundheitsberichterstattung des Bundes.
- Rohde, V., Katalinic, A., Wasem, J., Aidelsburger, P. (2007). Prostataerkrankungen. In Robert Koch-Institut (Hrsg.). *Gesundheitsberichterstattung des Bundes (Heft 36)*. Berlin.
- Rowley, K.H. & Mason, M.D. (1997). The aetiology and pathogenesis of prostate cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 9(4), 213–218.
- Rubio-Briones, J., Fernández-Serra, A., Calatrava, A., García-Casado, Z., Rubio, L., Bonillo, M.A., Iborra, I., Solsona, E., López-Guerrero, J.A. (2010). Clinical implications of TMPRSS2-ERG gene fusion expression in patients with prostate cancer treated with radical prostatectomy. *J Urol*. 183(5), 2054–2061.
- Saal, L.H., Johansson, P., Holm, K., Grubberger-Saal, S.K., She, Q.B., Maurer, M., Koujak, S., Ferrando, A.A., Malmström, P., Memeo, L., Isola, J., Bendahl, P.O., Rosen, N., Hibshoosh, H., Ringnér, M., Borg, A., Parsons, R. (2007). Poor prognosis in carcinoma is associated with a gene expression signature of aberrant PTEN tumor suppressor pathway activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 104(18), 7564–7569.
- Salagierski, M. & Schalken, J. A. (2012). Molecular diagnosis of prostate cancer: PCA3 and TMPRSS2:ERG gene fusion. *J Urol*. 187(3), 795–801.

- Salo, J.O., Rannikko, S., Mäkinen, J., Lehtonen, T. (1987). Echogenic structure of prostatic cancer imaged on radical prostatectomy specimens. *Prostate*. 10(1), 1–9.
- Samali, A., Fitzgerald, U., Deegan, S., Gupta, S. (2010). Methods for monitoring endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response. *Int J Cell Biol*. 2010, e830307.
- Samani, A.A., Yakar, S., LeRoith, D., Brodt, P. (2007). The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocr Rev*. 28(1), 20–47.
- Sarosdy, M.F. (1997). Anatomy of the Prostate: Surgical Implications. In Raghavan, D. (ed.). *Principles and Practice of Genitourinary Oncology*. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott-Raven Publishers.
- Sayed, A., Alam, N., Trerotola, M., Languino, L.R. (2012). Insulin-like growth factor 1 stimulation of androgen receptor activity requires $\beta(1A)$ integrins. *J Cell Physiol*. 227(2), 751–758.
- Scher, H.I., Fizazi, K., Saad, F., Taplin, M.E., Sternberg, C.N., Miller, K., de Wit, R., Mulders, P., Chi, K.N., Shore, N.D., Armstrong, A.J., Flaig, T.W., Fléchon, A., Mainwaring, P., Fleming, M., Hainsworth, J.D., Hirmand, M., Selby, B., Seely, L., de Bono, J.S., AFFIRM Investigators. (2012). Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med*. 367(13), 1187–1197.
- Schlomm, T., Tennstedt, P., Huxhold, C., Steuber, T., Salomon, G., Michl, U., Heinzer, H., Hansen, J., Budäus, L., Steurer, S., Wittmer, C., Minner, S., Haese, A., Sauter, G., graefen, M., Huland, H. (2012). Neurovascular structure-adjacent frozen-section examination (NeuroSAFE) increases nerve-sparing frequency and reduces positive surgical margins in open and robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy: experience after 11,069 consecutive patients. *Eur Urol*. 62(2), 333–340.
- Schmidt, A., Meissner, R.S., Gentile, M.A., Chisamore, M.J., Opas, E.E., Scafonas, A., Cusick, T.E., Gambone, C., Pennypacker, B., Hodor, P., Perkins, J.J., Bai, C., Ferraro, D., Bettoun, D.J., Wilkinson, H.A., Alves, S.E., Flores, O., Ray, W.J. (2014). Identification of an anabolic selective androgen receptor modulator that actively induces death of androgen-independent prostate cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 143, e29–39.
- Schröder, F.H., Hugosson, J., Roobol, M.J., Tammela, T.L., Ciatto, S., Nelen, V., Kwiatkowski, M., Lujan, M., Lilja, H., Zappa, M., Denis, L.J., Recker, F., Berenguer, A., Määttä, L., Bangma, C.H., Aus, G., Villers, A., Rebillard, X., van der Kwast, T., Blijenberg, B.G., Moss, S.M., de Koning, H.J., Auvinen, A., ERSPC Investigators. (2009). Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med*. 360(13), 1320–1328.
- Schröder, F.H., Hugosson, J., Roobol, M.J., Tammela, T.L., Ciatto, S., Nelen, V., Kwiatkowski, M., Lujan, M., Lilja, H., Zappa, M., Denis, L.J., Recker, F., Páez, A., Määttä, L., Bangma, C.H., Aus, G., Carlsson, S., Villers, A., Rebillard, X., van der Kwast, T., Kujala, P.M., Blijenberg, B.G., Stenman, U.-H., Huber, A., Taari, K., Hakama, M., Moss, S.M., de Koning, H.J., Auvinen, A., ERSPC Investigators. (2012). Prostate-Cancer Mortality at 11 Years of Follow-up. *N Engl J Med*. 366(11), 981–990.

- Schulz, W.A. & Hoffmann, M.J. (2009). Epigenetic mechanisms in the biology of prostate cancer. *Sem Cancer Biol.* 19(3), 172–180.
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U. (Hrsg.) (2005). *Prometheus - Lernatlas der Anatomie* (1. ed.). Stuttgart: Georg Thieme.
- Schwarz, F. & Aebi, M. (2011). Mechanisms and principles of N-linked protein glycosylation. *Curr Opin Struct Biol.* 21(5), 576–582.
- Sedelaar, J.P., Vijverberg, P.L., De Reijke, T.M., de la Rosette, J.J., Kil, P.J., Braeckman, J.G., Hendriks, A.J. (2001). Transrectal ultrasound in the diagnosis of prostate cancer: state of the art and perspectives. *Eur Urol.* 40(3), 275–284.
- Segawa, T., Nau, M.E., Xu, L.L., Chilukuri, R.N., Makarem, M., Zhang, W., Petrovics, G., Sesterhenn, I.A., McLeod, D.G., Moul, J.W., Vahey, M., Srivastava, S. (2002). Androgen-induced expression of endoplasmic reticulum (ER) stress response genes in prostate cancer cells. *Oncogene.* 21(57), 8749–8758.
- Shafi, A.A, Yen, A.E., Weigel, N.L. (2013). Androgen Receptors in Hormone-Dependent and Castration-Resistant Prostate Cancer. *Pharmacol Ther.* 140(3), 223-238.
- Shannon, B.A, McNeal, J.E., Cohen, R.J. (2003). Transition zone carcinoma of the prostate gland: a common indolent tumour type that occasionally manifests aggressive behaviour. *Pathology.* 35(6), 467–471.
- Shariat, S.F. & Karakiewicz, P.I. (2008). Screening for prostate cancer in 2007: the PSA era and its challenges are not over. *Eur Urol.* 53(3), 457–460.
- Shay, J.W. & Bacchetti, S. (1997). A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer.* 33(5), 787–791.
- Sökeland, J., Schulze, H., Rübber, H. (Hrsg.) (2004). *Urologie: Verstehen - Lernen - Anwenden* (13. ed.). Stuttgart: Thieme.
- Sreekumar, A., Poisson, L.M., Rajendiran, T.M., Khan, A.P., Cao, Q., Yu, J., Laxman, b., Mehra, R., Lonigro, R.J., Li, Y., Nyati, M.K., Ahsan, A., Kalyana-Sundaram, S., Han, B., Cao, X., Byun, J., Omenn, G.S., Ghosh, D., Pennathur, S., Alexander, D.C., Berger, A., Shuster, J.R., Wie, J.T., Varambally, S., Beecher, C., Chinnaiyan, A.M. (2009). Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature.* 457(7231), 910–914.
- Stamey, T.A., Johnstone, I.M., McNeal, J.E., Lu, A.Y., Yemoto, C.M. (2002). Preoperative serum prostate specific antigen levels between 2 and 22 ng./ml. correlate poorly with post-radical prostatectomy cancer morphology: prostate specific antigen cure rates appear constant between 2 and 9 ng./ml. *J Urol.* 167(1), 103–111.
- Stanbrough, M., Bubley, G.J., Ross, K., Golub, T.R., Rubin, M.A., Penning, T.M., Febbo, P.G., Balk, S.P. (2006). Increased expression of genes converting adrenal androgens to testosterone in androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 66(5), 2815–2825.

- Stephan, C., Ralla, B., Jung, K. (2014). Prostate-specific antigen and other serum and urine markers in prostate cancer. *Biochim Biophys Acta*. 1846(1), 99–112.
- Steurer, S., Mayer, P.S., Adam, M., Krohn, A., Koop, C., Ospina-Klinck, D., Tehrani, A.A., Simon, R., Tennstedt, P., Graefen, M., Wittmer, C., Brors, B., Plass, C., Korbel, J., Weischenfeldt, J., Sauter, G., Huland, H., Tsourlakis, M.C., Minner, S., Schlomm, T. (2014). TMPRSS2-ERG fusions are strongly linked to young patient age in low-grade prostate cancer. *Eur Urol*. 66(6), 978-981.
- Swindle, P., Eastham, J.A., Ohori, M., Kattan, M.W., Wheeler, T., Maru, N., Slawin, K., Scardino, P.T. (2008). Do margins matter? The prognostic significance of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *J Urol*. 179(5), S47–51.
- Tangen, C.M., Faulkner, J.R., Crawford, E.D., Thompson, I.M., Hirano, D., Eisenberger, M., Hussain, M. (2003). Ten-year survival in patients with metastatic prostate cancer. *Clin Prostate Cancer*. 2(1), 41–45.
- Taplin, M.E., Bubley, G.J., Shuster, T.D., Frantz, M.E., Spooner, A.E., Ogata, G.K., Keer, H.N., Balk, S.P. (1995). Mutation of the androgen-receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. *N Engl J Med*. 332(21), 1393-1398.
- Taylor, B.S., Schultz, N., Hieronymus, H., Gopalan, A., Xiao, Y., Carver, B.S., Arora, V.K., Kaushik, P., Cerami, E., Reva, B., Antipin, Y., Mitsiades, N., Landers, T., Dolgalev, I., Major, J.E., Wilson, M., Socci, N.D., Lash, A.E., Heguy, A., Eastham, J.A., Scher, H.I., Reuter, V.E., Scardino, P.T., Sander, C., Sawyers, C.L., Gerald, W.L. (2010). Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*. 18(1), 11–22.
- Tennant, D.A., Durán, R.V., Boulahbel, H., Gottlieb, E. (2009). Metabolic transformation in cancer. *Carcinogenesis*. 30(8), 1269–1280.
- Tomlins, S.A., Laxman, B., Dhanasekaran, S.M., Helgeson, B.E., Cao, X., Morris, D.S., Menon, A., Jing, X., Cao, Q., Han, B., Yu, J., Wang, L., Montie, J.E., Rubin, M.A., Pienta, K.J., Roulston, D., Shah, R.B., Varambally, S., Mehra, R., Chinnaiyan, A.M. (2007). Distinct classes of chromosomal rearrangements create oncogenic ETS gene fusions in prostate cancer. *Nature*. 448(7153), 595–599.
- Tomlins, S.A., Rhodes, D.R., Perner, S., Dhanasekaran, S.M., Mehra, R., Sun, X.W., Varambally, S., Cao, X., Tchinda, J., Kuefer, R., Lee, C., Montie, J.E., Shah, R.B., Pienta, K.J., Rubin, M.A., Chinnaiyan, A.M. (2005). Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 310(5748), 644–648.
- Tomlins, S.A., Laxman, B., Varambally, S., Cao, X., Yu, J., Helgeson, B.E., Cao, Q., Prensner, J.R., Rubin, M.A., Shah, R.B., Mehra, R., Chinnaiyan, A.M. (2008). Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Neoplasia*. 10(2), 177–188.
- Trapman, J. & Brinkmann, A.O. (1996). The androgen receptor in prostate cancer. *Pathol Res Pract*. 192(7), 752–760.
- Tsourlakis, M.C., Schoop, M., Plass, C., Huland, H., Graefen, M., Steuber, T., Schlomm, T., Simon, R., Sauter, G., Sirma, H., Minner, S. (2013). Overexpression of the chromatin

- remodeler death-domain-associated protein in prostate cancer is an independent predictor of early prostate-specific antigen recurrence. *Hum Pathol.* 44(9), 1789–1796.
- Tsourlakis, M.C., Weigand, P., Grupp, K., Kluth, M., Steurer, S., Schlomm, T., Graefen, M., Huland, H., Salomon, G., Steuber, T., Wilczak, W., Sirma, H., Simon, R., Sauter, G., Minner, S., Quaas, A. (2014). β III-tubulin overexpression is an independent predictor of prostate cancer progression tightly linked to ERG fusion status and PTEN deletion. *Am J Pathol.* 184(3), 609–617.
- Udager, A.M., Shi, Y., Tomlins, S.A., Alva, A., Siddiqui, J., Cao, X., Pienta, K.J., Jiang, H., Chinnaiyan, A.M., Mehra, R. (2014). Frequent discordance between ERG gene rearrangement and ERG protein expression in a rapid autopsy cohort of patients with lethal, metastatic, castration-resistant prostate cancer. *Prostate.* 74(12), 1199–1208.
- Vanherpe, H. & Osieka, R. (2003). Prostata und Samenblasen. In Eichenauer, R., Sandmann, J., Vanherpe, H. (Hrsg.). *Klinikleitfaden Urologie*. München: Urban & Fischer.
- Verhagen, P.C., van Duijn, P.W., Hermans, K.G., Looijenga, L.H., van Gorp, R.J., Stoop, H., van der Kwast, T.H., Trapman, J. (2006). The PTEN gene in locally progressive prostate cancer is preferentially inactivated by bi-allelic gene deletion. *J Pathol.* 208(5), 699–707.
- Verheul, H.M., Jorna, A.S., Hoekman, K., Broxterman, H.J., Gebbink, M.F., Pinedo, H.M. (2000). Vascular endothelial growth factor – stimulated endothelial cells promote adhesion and activation of platelets. *Blood.* 96(13), 4216–4221.
- Vigneri, P., Frasca, F., Sciacca, L., Pandini, G., Vigneri, R. (2009). Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer.* 16(4), 1103–1123.
- Vis, A.N., Schröder, F.H., van der Kwast, T.H. (2006). The actual value of the surgical margin status as a predictor of disease progression in men with early prostate cancer. *Eur Urol.* 50(2), 258–265.
- Vivanco, I. & Sawyers, C.L. (2002). The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer.* 2(7), 489–501.
- Waltering, K.K., Helenius, M.A., Sahu, B., Manni, V., Linja, M.J., Jänne, O.A., Visakorpi, T. (2009). Increased expression of androgen receptor sensitizes prostate cancer cells to low levels of androgens. *Cancer Res.* 69(20), 8141–8149.
- Waltering, K.K., Urbanucci, A., Visakorpi, T. (2012). Androgen receptor (AR) aberrations in castration-resistant prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 360(1-2), 38–43.
- Wang, J., Cai, Y., Yu, W., Ren, C., Spencer, D.M., Ittmann, M. (2008). Pleiotropic biological activities of alternatively spliced TMPRSS2-ERG fusion gene transcripts. *Cancer Res.* 68(20), 8516–8524.
- Wang, M.C., Valenzuela, L.A., Murphy, G.P., Chu, T.M. (2002). Purification of a human prostate specific antigen. 1979. *J Urol.* 167(2 Pt 2), 960–965.

- Wang, S., Gao, J., Lei, Q., Rozengurt, N., Pritchard, C., Jiao, J., Thomas, G.V., Li, G., Roy-Burman, P., Nelson, P.S., Liu, X., Wu, H. (2003). Prostate-specific deletion of the murine Pten tumor suppressor gene leads to metastatic prostate cancer. *Cancer Cell*. 4(3), 209–221.
- World Health Organisation (WHO) (ed.). (2008). *The global burden of disease: 2004 Update*. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. ISBN 978 92 4 156371 0.
- Wieder, J.A. & Soloway, M.S. (1998). Incidence, etiology, location, prevention and treatment of positive surgical margins after radical prostatectomy for prostate cancer. *J Urol*. 160(2), 299–315.
- Wirth, M., Weißbach, L., Ackermann, R., Alberti, W., Albrecht, C., Göckel-Beining, B., Fröhner, M., Hinkelbein, W., Miller, K., Rübber, H., Stöckle, M., Wenz, F., Wiegel, T., Wolff, J., Wörmann, B. (2014). Leitlinienprogramm Okologie der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF), Deutschen Krebsgesellschaft e.V. (DKG), Deutschen Krebshilfe e.V. (DKH) (Hrsg.). *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Version 3.1 -2. Aktualisierung - 2014*. Berlin. AWMF-Register-Nummer 043/022OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html>: [Zugriff am: 25.10.2015].
- Wittekind, C. & Meyer, H.J. (Hrsg.) (2010). Urologische Tumoren. In *TNM-Klassifikation maligner Tumoren (7.ed.)*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Wu, J.D., Haugk, K., Woodke, L., Nelson, P., Coleman, I., Plymate, S.R. (2006). Interaction of IGF signaling and the androgen receptor in prostate cancer progression. *J Cell Biochem*. 99(2), 392–401.
- Wu, Z., McRoberts, K.S., Theodorescu, D. (2007). The role of PTEN in prostate cancer cell tropism to the bone micro-environment. *Carcinogenesis*. 28(7), 1393–1400.
- Xi, H., Kurtoglu, M., Liu, H., Wangpaichitr, M., You, M., Liu, X., Savaraj, N., Lampidis, T.J. (2011). 2-Deoxy-D-glucose activates autophagy via endoplasmic reticulum stress rather than ATP depletion. *Cancer Chemother Pharmacol*. 67(4), 899–910.
- Yang, L., Egger, M., Plattner, R., Klocker, H., Eder, I.E. (2011). Lovastatin causes diminished PSA secretion by inhibiting AR expression and function in LNCaP prostate cancer cells. *Urology*. 77(6), 1508.e1–7.
- Yao, J.C., Shah, M.H., Ito, T., Bohas, C.L., Wolin, E.M., Van Cutsem, E., Hobday, T.J., Okusaka, T., Capdevila, J., de Vries, E.G., Tomassetti, P., Pavel, M.E., Hoosen, S., Haas, T., Lincy, J., Lebwohl, D., Öberg, K., RAD001 in Advanced Neuroendocrine Tumors, Third Trial (RADIANT-3) Study Group. (2011). Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*. 364(6), 514–523.
- Ye, L., Kynaston, H.G., Jiang, W.G. (2007). Bone metastasis in prostate cancer: molecular and cellular mechanisms (Review). *Int J Mol Med*. 20(1), 103–111.

- Yin, L., Rao, P., Elson, P., Wang, J., Ittmann, M., Heston, W.D. (2011). Role of TMPRSS2-ERG gene fusion in negative regulation of PSMA Expression. *PLoS One*. 6(6), e21319.
- Yossepowitch, O., Briganti, A., Eastham, J.A., Epstein, J., Graefen, M., Montironi, R., Touijer, K. (2014). Positive surgical margins after radical prostatectomy: a systematic review and contemporary update. *Eur Urol*. 65(2), 303–313.
- Yu, J., Yu, J., Mani, R.S., Cao, Q., Brenner, C.J., Cao, X., Wang, X., Wu, L., Li, J., Hu, M., Gong, Y., Cheng, H., Laxman, B., Vellaichamy, A., Shankar, S., Li, Y., Dhanasekaran, S.M., Morey, R., Barrette, T., Lonigro, R.J., Tomlins, S.A., Varambally, S., Qin, Z.s., chinnaiyan, A.M. (2010). An integrated network of androgen receptor, polycomb, and TMPRSS2-ERG gene fusions in prostate cancer progression. *Cancer Cell*. 17(5), 443–454.
- Zeegers, M.P., Jellema, A., Ostrer, H. (2003). Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: a meta-analysis. *Cancer*. 97(8), 1894–1903.
- Zegarra-Moro, O.L., Schmidt, L.J., Huang, H., Tindall, D.J. (2002). Disruption of androgen receptor function inhibits proliferation of androgen-refractory prostate cancer cells. *Cancer Res*. 62(4), 1008–1013.
- Zhang, W., Kapusta, L.R., Slingerland, J.M., Klotz, L.H. (1998). Telomerase activity in prostate cancer, prostatic intraepithelial neoplasia, and benign prostatic epithelium. *Cancer Res*. 58(4), 619–621.
- Zhao, H., Zhu, C., Qin, C., Tao, T., Li, J., Cheng, G., Li, P., Cao, Q., Meng, X., Ju, X., Shao, P., Hua, L., Gu, M., Yin, C. (2013). Fenofibrate down-regulates the expressions of androgen receptor (AR) and AR target genes and induces oxidative stress in the prostate cancer cell line LNCaP. *Biochem Biophys Res Commun*. 432(2), 320–325.
- Zheng, H., Xia, P., Xu, X.Y., Takahashi, H., Takano, Y. (2011). The nuclear to cytoplasmic shift of ING5 protein during colorectal carcinogenesis with their distinct links to pathologic behaviors of carcinomas. *Hum Pathol*. 42(3), 424–433.
- Zu, K., Martin, N.E., Fiorentino, M., Flavin, R., Lis, R.T., Sinnott, J.A., Finn, S., Penney, K.L., Ma, J., Fazli, L., Gleave, M.E., Bismar, T.A., Stampfer, M.J., Pollak, M.N., Loda, M., Mucci, L.A., Giovannucci, E. (2013). Protein expression of PTEN, insulin-like growth factor I receptor (IGF-IR), and lethal prostate cancer: a prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 22(11), 1984–1993.

9 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Patrick Bastian möchte ich herzlich Dank aussprechen für die Anregung zu dieser Arbeit, der Initiierung der universitären Kooperation mit dem Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf und der begleitenden Betreuung.

Ich möchte mich ebenfalls ganz herzlich bei Herrn PD Dr. med Philipp Nuhn für eine umfassende, hervorragende Betreuung und positive Unterstützung insbesondere bei der Korrektur der Arbeit bedanken.

Mein herzlicher Dank gilt zudem Herrn Professor Dr. med. Thorsten Schlomm für eine zuvorkommende Betreuung, Integration in den Arbeitsalltag des Pathologischen Instituts des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf und der Martini-Klinik am UKE sowie für eine durchweg positive Unterstützung bei fachlichen und organisatorischen Fragen.

Großer Dank gebührt Herrn Professor Dr. med. Guido Sauter, Herrn PD Dr. med. Ronald Simon, Frau Dr. med. Maria-Christina Tsourlakis, Herrn Dr. rer. nat. Pierre Tennstedt und nicht zuletzt Frau Christina Koop. Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Pathologischen Instituts am UKE und der Martini-Klinik am UKE für ihre Hilfe und Unterstützung bedanken. Es war mir eine Freude, solch ein motivierendes Arbeitsklima und harmonische Kollegialität kennenlernen zu dürfen.

Meiner lieben Nachbarin Frau Margarete Feichtner ein ganz besonders herzlicher Dank für windschnelle Lektorenarbeit und ein orthographisches Adlerauge.

An Dich, Marco: Danke für konstruktive Kritik, ein stets offenes Ohr, positive Bestätigung, Motivation, Lektorenarbeit,..., sodass der Sisyphosstein den Weg endlich ohne Zurückrollen bis auf den Berggipfel schaffen konnte.

Diese Arbeit ist meinen „Lieblingseletern“ gewidmet, die mir mit ihrem Verständnis und Vertrauen, mit liebevoller Kritik, elterlicher Toleranz und - schlicht - der gelebten Idee von Familie uneingeschränkten Rückhalt schenken. Danke!

10 Eidesstattliche Versicherung

Hohloch, Jana

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Evaluation und prognostische Bedeutung der Expression von Uridindiphosphat-N-Acetylglucosamin-Pyrophosphorylase 1 (UAP1) in Prostatakarzinomgewebe.

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Düsseldorf,

Ort, Datum

Unterschrift