

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Urologische Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der  
Technischen Universität München  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. E. Gschwend)

**Charakterisierung von YB-1 als neuer unabhängiger prognostischer  
Faktor für das Langzeit Outcome von Prostatakarzinompatienten  
nach radikaler Prostatektomie**

Johanna Kreiner

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen  
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Medizin genehmigten Dissertation

Vorsitzender: Prof. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1.Priv.- Doz. Dr. K. Herkommer

2. Univ.- Prof. Dr. J. E. Gschwend

Die Dissertation wurde am 16.07.2012 bei der Technischen Universität  
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.09.2012  
angenommen.

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	7
1.1. Epidemiologie	7
1.2. Diagnostik	7
1.3. Therapie	8
1.3.1. Therapie des Prostatakarzinoms im kurativen Stadium	8
1.3.2. Therapie des Prostatakarzinoms im nicht kurativen Stadium bzw. in nicht-kurativer Intension	10
1.4. Nachsorge nach kurativer Therapie	11
1.5. Definition Biomarker	11
1.6. PSA als verwendeter Biomarker	12
1.7. PCA 3 und weitere Biomarker	14
1.8. YB-1 als neuer Biomarker	16
1.8.1. Struktur	16
1.8.2. Funktion, subzelluläre Lokalisation und Expression von YB-1	16
1.8.3. YB-1 als Biomarker für Progression in Karzinomen	17
1.8.4. YB-1 als Biomarker für das Therapieansprechen	17
1.8.5. Auf YB-1 basierende virale Tumortherapie	18
1.8.6. YB-1 im Prostatakarzinom	19
1.9. Fragestellung	19
2. Material und Methodik	21
2.1. Klinische Daten	21
2.1.1. Das Prostataspezifische Antigen	21
2.1.2. Einteilung nach Alter bei OP	21
2.1.3. TNM-Klassifikation	21
2.1.4. Gleason-Score	24
2.1.5. Neoadjuvante Behandlung	24
2.1.6. Adjuvante Behandlung	25
2.2. Erfassung der Expression von YB-1 in den Präparaten	25
2.2.1. Immunhistochemischer Nachweis der YB-1 Expression	25
2.2.2. Analyse der YB-1 Expression	26
2.2.2.1. Subzelluläre Lokalisation von YB-1	27

2.2.2.2.	Analyse der Expressionsintensität: Klassifizierung des Immunreaktiven Scores (IRS) nach Remmele und Stegner (1987)	27
2.3.	Datenerfassung	28
2.4.	Follow up / Nachsorge	28
2.5.	Statistische Auswertung	29
3.	Ergebnisse	30
3.1.	Auswahl der Patienten	30
3.2.	Klinische Daten der Patienten	30
3.2.1.	Präoperative Parameter	30
3.2.1.1.	Alter zum Operationszeitpunkt	30
3.2.1.2.	PSA-Wert zum Operationszeitpunkt	30
3.2.1.3.	Neoadjuvante Therapie vor radikaler Prostatektomie	30
3.2.2.	Postoperative Parameter	32
3.2.2.1.	Ausdehnung des Tumors im Operationspräparat	32
3.2.2.2.	Befallene Lymphknoten im Operationspräparat	32
3.2.2.3.	Verteilung der Karzinome anhand der Organbegrenzung	32
3.2.2.4.	Residualtumor im Operationspräparat	32
3.2.2.5.	Tumordifferenzierung im Operationspräparat	32
3.2.2.6.	YB-1 Expression im Operationspräparat	32
3.2.2.7.	Subzelluläre Lokalisation von YB-1 im Operationspräparat	33
3.2.2.8.	Adjuvante Therapie	33
3.2.2.9.	Therapie nach biochemischem Rezidiv	33
3.3.	Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und klinischen Parametern	35
3.3.1.	Präoperative Parameter	35
3.3.1.1.	Alter zum Operationszeitpunkt	35
3.3.1.2.	PSA-Wert zum Operationszeitpunkt	35
3.3.1.3.	Neoadjuvante Therapie vor radikaler Prostatektomie	36
3.3.2.	Postoperative Parameter	36
3.3.2.1.	Ausdehnung des Tumors im Operationspräparat	36
3.3.2.2.	Befallene Lymphknoten im Operationspräparat	37
3.3.2.3.	Residualtumor im Operationspräparat	37
3.3.2.4.	Tumordifferenzierung im Operationspräparat	37

3.4.	Überleben	39
3.4.1.	Biochemisch rezidivfreies Überleben	39
3.4.2.	Gesamtüberleben	42
3.4.3.	Karzinomspezifisches Überleben	45
4.	Diskussion	46
4.1.	Klinische Daten des Patientenkollektivs	46
4.1.1.	Gleason-Score	46
4.1.2.	Lymphknotenstatus	47
4.1.3.	Subzelluläre Lokalisation von YB-1 im Operationspräparat	47
4.2.	Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und anderen prognostischen Faktoren	49
4.3.	Überleben	50
4.3.1.	Biochemisch-rezidivfreies Überleben	50
4.3.2.	Gesamtüberleben	51
4.3.3.	Karzinomspezifisches Überleben	52
5.	Zusammenfassung	54
6.	Literaturverzeichnis	56
7.	Danksagung	64

## Abkürzungsverzeichnis

µm	Mikrometer
A/P Domäne	Alanin/Prolin Domäne
B/A repeats	Base/Acid repeats
CRS	Cytoplasmatic retention site
CSD	Cold Shock Domain
CTD	C-terminale Domäne
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRU	Digito-rektale Untersuchung
EGFR	Epidermal growth factor receptor
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
GnRH-Analoga	Gonadotropin-Releasing-Hormon-Analoga
HER2	Human epirdermal growth factor receptor 2
I	Färbeintensität
kb	Kilo-Basenpaar
kDa	Kilodalton
Mamma-CA	Mammakarzinom
MDR-1	Multi Drug Resistance Gen-1
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NED	No evidence of disease
ng	Nanogramm
NLS	Noncanonical nuclear localization signal
OP	Operation
PCA 3	Prostate Cancer Antigen 3
PCa	Prostatakarzinom
PCR	Polymerasekettenreaktion
P-gp	P-Glycoprotein
PSA	Prostataspezifisches Antigen
pTNM	pathological Tumor Nodulus Metastase
R	Remmele-Score
R	Residualtumor

TBS	Tris-buffered saline
TMA	Tissue Micro Array
UICC	Union International Contre Cancer
YB-1	Y-Box-Binding Protein

# 1. Einleitung

## 1.1. Epidemiologie

Das Prostatakarzinom (PCa) ist der häufigste maligne Tumor des Mannes. In Deutschland sind 26% aller diagnostizierten Malignome Prostatakarzinome. Pro Jahr erkranken ungefähr 60.000 Männer in der Bundesrepublik Deutschland neu am Prostatakarzinom. 10% der Krebstodesfälle sind durch das PCa verursacht. Im Mittel erkranken die Patienten mit 69 Jahren, was dem mittleren Erkrankungsalter für Krebs im Allgemeinen entspricht. Ein 40-jähriger Mann hat ein Erkrankungsrisiko von 0,1% in den nächsten 10 Jahren, das eines 70-jährigen Mannes ist mit 6% um das 60-fache höher. Die Anzahl der durch das PCa verursachten Sterbefälle ist aufgrund der demographischen Entwicklung seit 1980 zwar um 30% angestiegen, die altersstandartisierte Sterberate ist aber um 20% gesunken [37].

## 1.2. Diagnostik

Der Großteil der Prostatakarzinome wird im Rahmen einer Früherkennungsuntersuchung diagnostiziert. Die Früherkennung ist im §25 Absatz 2 des fünften Buches des Sozialgesetzbuches SGB V geregelt. Das gesetzliche Früherkennungsprogramm zur Früherkennung des PCa gilt für Männer ab 45 Jahren und wird einmal jährlich durchgeführt. Es setzt sich zusammen aus der Frage nach Beschwerden, der Untersuchung der Geschlechtsorgane und der inguinalen Lymphknoten, sowie der digito-rektalen Tastuntersuchung (DRU) der Prostata und des Enddarms. Die Bestimmung des Prostataspezifischen Antigens (PSA) im Serum ist bisher kein Bestandteil der gesetzlichen Früherkennung und wird von den gesetzlichen Krankenkassen nicht bezahlt.

Nachgewiesen wird ein PCa durch eine Prostatabiopsie. Nach den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie wird diese empfohlen, wenn der PSA-Wert  $\geq 4\text{ng/ml}$  ist, das Tastergebnis bei der DRU auffällig ist oder ein schneller PSA-Anstieg (Grenzwert  $0,75\text{ng/ml/Jahr}$ ) zu verzeichnen ist. Die Stanzbiopsie erfolgt ultraschallkontrolliert. Es werden in der Regel 10-12 Stanzzyylinder entnommen [23, 31].

Durch die Früherkennung mittels PSA und DRU werden die Mehrheit der PCa heute in einem sehr frühen Stadium entdeckt, in dem die Patienten keine Symptome zeigen. Jedoch werden nicht alle Patienten Symptome entwickeln oder an ihrem Tumor versterben. Autopsiestudien zeigen, dass die Inzidenz des PCa die Mortalität um den Faktor 10 übersteigt [11, 32]. Deshalb ist es wichtig, die Karzinome zu

identifizieren, welche symptomatisch werden, um diese Patienten einer potentiell kurativen Therapie zuführen zu können. Die PCa, welche mit großer Wahrscheinlichkeit nicht lebenslimitierend sein werden, können anhand klinischer Parameter, wie z.B. einem niedrigen Gleason-Score ( $\leq 6$ ) oder einem niedrigen PSA-Wert ( $<10\text{ng/ml}$ ), bestimmt werden [17, 43, 49]. Diese Karzinome werden als insignifikante Karzinome bezeichnet. Patienten, mit einem solchen insignifikanten Karzinom sollte – in Abhängigkeit von Lebensalter und der Lebenserwartung – eine abwartende Therapieoption angeboten werden.

### **1.3. Therapie**

#### **1.3.1. Therapie des Prostatakarzinoms im kurativen Stadium**

Von den neu diagnostizierten PCa sind etwa 70% potentiell kurativ behandelbar. Als kurative Behandlungsmöglichkeiten stehen einerseits die Strahlentherapie (perkutane Strahlentherapie oder Brachytherapie), andererseits die radikale Prostatektomie zur Verfügung [9, 46]. Die radikale Prostatektomie kann retropubisch, perineal, laparoskopisch oder roboterassistiert durchgeführt werden, wobei die Ergebnisse der Operation bei den unterschiedlichen Zugangswegen in etwa vergleichbar sind [53, 72]. Das Ziel der Operation ist die vollständige Entfernung des Karzinoms. Es werden die Prostata inklusive der Kapsel, sowie die Samenbläschen entfernt. Außerdem wird eine pelvine Lymphadenektomie durchgeführt [28]. Wenn es tumorchirurgisch möglich ist, kann nerverhaltend (potenzerhaltend) operiert werden. Das bedeutet, dass die für Erektion und Kontinenz verantwortlichen Nerven und Gefäße (bei in vielen Fällen im Schnellschnitt festgestellter Tumorfreiheit) vom Operateur nicht durchtrennt und entfernt werden. Dieses nervschonende Verfahren kann uni- oder bilateral durchgeführt werden und es können dadurch die Nebenwirkungen Impotenz und Inkontinenz, welche die Lebensqualität vieler Patienten gravierend einschränken, verringert werden. So konnten beispielsweise Noldus et al zeigen, dass ca. 50% der Patienten nach bilateraler Nervschonung eine für den Geschlechtsverkehr ausreichende Erektion erreichen konnten, wohingegen nach unilateraler Nervschonung nur 29% eine entsprechende Erektion erreichen konnten [52]. Bei der Strahlentherapie kommt es neben Inkontinenz und Impotenz zusätzlich häufiger zu intestinalen Nebenwirkungen wie beispielsweise einer erhöhten Stuhlfrequenz oder Blutungen im Enddarm [32, 34].

Alternativ gibt es die Möglichkeit der Active Surveillance und des Watchful Waitings. Als Active Surveillance wird die engmaschige Überwachung des Patienten mit PSA-



Wert Bestimmung alle drei Monate, sowie einer jährlichen Kontrollbiopsie bezeichnet [59]. Bei Änderung der Tumorbiologie, d.h. im Wesentlichen bei einem Ansteigen des Gleason-Scores kann sekundär kurativ behandelt werden. Auch wenn sich im Verlauf die Entscheidung des Patienten hinsichtlich der gewünschten Therapie ändern sollte, kann eine sekundär kurative Therapie durchgeführt werden. In 48% der Fälle geschieht dies durch die radikale Prostatektomie [14]. Das Watchful Waiting hat zum Ziel, bei eventuell auftretender Symptomatik, palliativ zu behandeln.

Derzeit beruht die Entscheidung, welchem Patienten mit einem lokal begrenzten PCa, welche Therapieoption empfohlen wird, vor allem auf klinischen Daten. Für Active Surveillance sprechen laut Klotz et al ein PSA-Wert  $\leq 10$  ng/ml, ein Gleason-Score  $\leq 6$ , die Tumorstadien T1c und T2a, Nachweis des Tumors in weniger als 3 Stanzen, sowie weniger als 50% Tumorzellen pro Stanze [43]. Patienten, die eine Lebenserwartung von weniger als 10-15 Jahren, höhere Komorbiditäten und beliebige Tumorcharakteristika haben, kann das Watchful Waiting empfohlen werden [59].

Durch die Früherkennung werden immer mehr PCa in einem niedrigen Stadium diagnostiziert, so weisen laut einer Studie von Cooperberg et al ca. 50 % der Betroffenen in der Prostatabiopsie einen T1c Tumor auf [15]. Die neuen defensiven Tumortherapien Active Surveillance und Watchful Waiting sind somit ein geeignetes Mittel, um Patienten, deren Tumor zu Lebzeiten evt. nie symptomatisch werden würde, vor einer Übertherapie zu bewahren.

Zur radikalen Prostatektomie bzw. Strahlentherapie wird Patienten geraten, die eine Lebenserwartung von  $\geq 10$  Jahren haben und deren Tumor klinisch lokal begrenzt ist (T1b-T2, PSA  $\leq 50$ ng/ml). Für die Patientengruppe nach radikaler Prostatektomie konnte in einer prospektiv-randomisierten Studie bei einer medianen Nachbeobachtung von 12 Jahren eine statistisch signifikant geringere Mortalität und Morbidität gegenüber der Watchful-Waiting-Gruppe nachgewiesen werden [14].

Laut dem Review von Harnden et al. aus dem Jahr 2008 ist es derzeit nicht möglich, klinisch insignifikante Karzinome sicher zu identifizieren [30]. Somit kann die Frage, wann ein PCa signifikant bzw. insignifikant ist, und damit einer radikalen oder abwartenden Therapie zugeführt werden sollte, momentan nicht evidenzbasiert beantwortet werden und es müssen weitere Parameter entwickelt werden, um das Problem der eventuellen Übertherapie zu lösen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es bisher keine sicheren Kriterien gibt, nach denen die Entscheidung für die geeignete Therapie getroffen werden kann.

Somit kommt der Suche nach neuen Biomarkern, die Signifikanz und Aggressivität eines PCa beurteilen können, eine zentrale Bedeutung zu.

### **1.3.2. Therapie des Prostatakarzinoms im nicht kurativen Stadium bzw. in nicht-kurativer Intension**

#### **-Hormontherapie**

Die Hormontherapie des PCa ist als palliative Therapie zu werten. Es stehen verschiedene Möglichkeiten der Androgenentzugstherapie zur Verfügung. Als operative Maßnahme kann dem Patienten eine beidseitige Orchiektomie angeboten werden. Zur medikamentösen Behandlung stehen im Wesentlichen Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)-Analoga, GnRH-Blocker und Antiandrogene zur Verfügung [13, 38, 70].

GnRH-Analoga sind beispielsweise Buserelin oder Goserelin.

Als GnRH-Blocker sind die Substanzen Abarelix und Degarelix zugelassen.

Antiandrogene wirken, indem sie die Androgenrezeptoren blockieren. Sie können steroidal aufgebaut sein wie z.B. Cyproteronacetat oder einen nicht-steroidalen Aufbau haben wie z.B. Bicalutamid [2].

Seit 2011 ist mit Abirateron (Zytiga®), einem Inhibitor der Androgenbiosynthese ein neues Medikament zur Hormontherapie des PCa zugelassen [18].

#### **-Chemotherapie**

Wie die Hormontherapie ist auch die Chemotherapie des PCa als palliative Therapie zu werten. Sie kommt in der Regel zum Einsatz, sobald sich ein Prostatakarzinom zu einem metastasierten kastrationsresistenten PCa weiterentwickelt hat, die Androgenentzugstherapie also keine Wirkung mehr zeigt [65]. Ein Überlebensvorteil von ca. 2 Monaten konnte durch die Behandlung mit dem Chemotherapeutikum Docetaxel gegenüber einer Therapie mit Mitoxantron beobachtet werden [61, 71].

Seit 2011 ist in Deutschland mit dem Taxan Cabazitaxel (Jevtana®) ein neues Chemotherapeutikum zugelassen, womit ein Überlebensvorteil von ca. 2 Monaten gegenüber der Behandlung mit Mitoxantron erreicht werden konnte und welches nach einer Therapie mit Docetaxel eingesetzt werden kann [20]. Chemotherapeutika wie Estramustin oder Mitoxantron konnte kein Überlebensvorteil zugeschrieben werden, sie können allerdings teilweise Symptome lindern [76].

#### **1.4. Nachsorge nach kurativer Therapie**

Nach kurativ intendierter Therapie soll eine Nachsorge bei asymptomatischen Patienten mittels PSA-Wert-Bestimmung initial alle 3 Monate, ab dem 3. postoperativen Jahr halbjährlich und nach 5 Jahren jährlich durchgeführt werden [32]. Als biochemisches Rezidiv ist ein mindestens zweimal gemessener PSA-Wert von  $> 0,2$  ng/ml definiert. Dieses kann entweder durch ein Lokalrezidiv oder durch Metastasen begründet sein.

Die Behandlung eines Lokalrezidivs nach Radikaler Prostatektomie erfolgt überwiegend durch die perkutane Salvagestrahlentherapie und ist umso erfolgreicher, je niedriger der PSA-Wert ist, also je früher mit der Bestrahlung begonnen wird. Eine kurative Behandlung gilt als wahrscheinlich bis zu einem PSA-Wert von  $0,5$  ng/ml [73]. Jedoch wird auch ein abwartendes Vorgehen diskutiert, wovon nach einer Studie von Pound et al. v.a. ältere Patienten mit einem günstigen Risikoprofil (PSA-Verdopplungszeit nach Radikaler Prostatektomie  $>10$  Monate; Auftreten des PSA-Rezidivs nach  $> 2$  Jahren; primärer Gleason-Score  $\leq 8$ ) profitieren [62].

#### **1.5. Definition Biomarker**

Biomarker sind charakteristische biologische Merkmale, die objektiv gemessen werden können und Hinweise auf einen krankhaften Prozess im Körper geben können. Als Biomarker stehen beispielsweise Zellen, Nukleinsäuren und Proteine zur Verfügung. Um einen Biomarker für die Diagnostik nutzen zu können, muss das Probenmaterial möglichst leicht zugänglich sein und die Kosten für Gewinnung und Verarbeitung müssen möglichst gering sein [60].

## 1.6. PSA als verwendeter Biomarker

Der momentan verwendete Biomarker zur Früherkennung des PCa ist das Prostataspezifische Antigen (PSA). Das PSA ist eine Serinprotease mit einer Molekülgröße von 30.000 Dalton, die im Drüsenepithel der Prostata und von den periurethralen Drüsen physiologisch exprimiert wird und der Verflüssigung des Ejakulats dient [55]. 1979 wurde das PSA zum ersten Mal von Wang et al [75] aus dem Seminalplasma isoliert, in die Klinik wurde es in den frühen 90er Jahren eingeführt, zunächst um den Verlauf der Tumorerkrankung zu dokumentieren, später auch zur Früherkennung und zum Screening. Wie in Abbildung 1 ersichtlich, erhöhte sich durch Einführung des PSA in die PCa-Früherkennung um 1990 die Inzidenz des PCa z.B. in Österreich drastisch, während die Mortalität auf einem stabilen Level blieb [56, 74] (Abbildung 1).

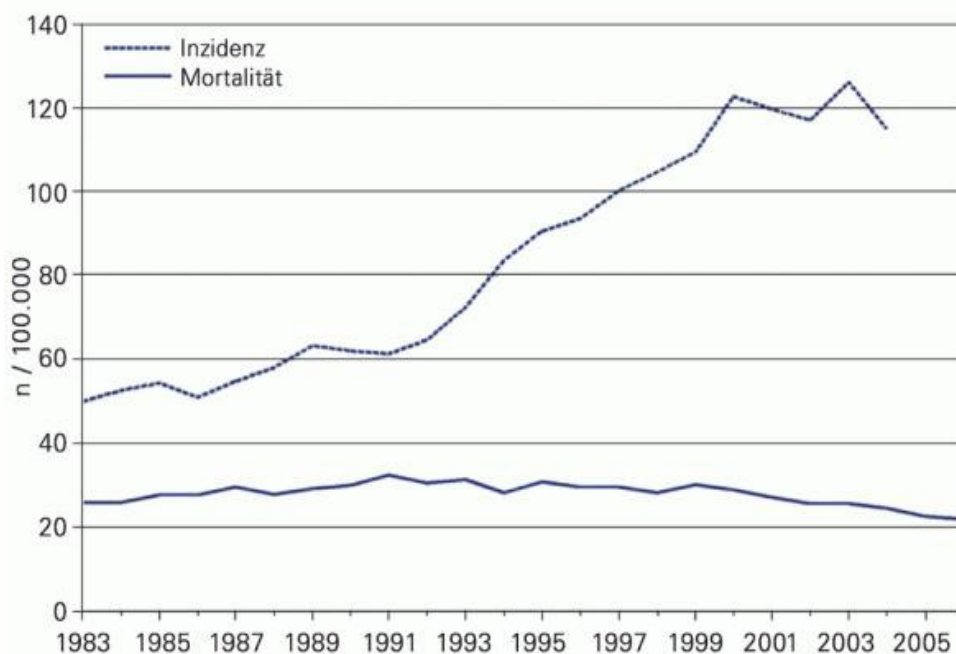


Abbildung 1: Anstieg der Inzidenz des PCa nach Einführung des PSA als Screeningparameter ([www.kup.at/journals/abbildungen/8822.html](http://www.kup.at/journals/abbildungen/8822.html))

Das PSA gilt nicht als reiner Tumormarker, sondern als Gewebemarker, da für seine Erhöhung neben einem Karzinom auch die benigne Prostatatahyperplasie, eine Prostatitis oder auch Druck auf die Prostata, z.B. bei der DRU verantwortlich sein können. Da geringe Mengen des PSA über die in der Prostata gelegenen Blutgefäße

in den Blutkreislauf übergehen, kann der PSA-Wert aus dem Blutserum mittels Radio- oder Enzymimmunoassay bestimmt werden [75].

Eine große europäische Studie aus dem Jahr 2009 konnte zeigen, dass durch das Screening mittels PSA-Wert von Männern zwischen 55 und 69 Jahren, die Wahrscheinlichkeit an einem PCa zu versterben um 20% gesenkt werden kann [68]. Gleichzeitig erhöhte sich jedoch das Risiko der Überdiagnose. Es wurden in dieser randomisierten „European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC)“ insgesamt 162.243 Probanden im oben genannten Alter untersucht. Das mediane Follow up betrug 9 Jahre. Im Gegensatz dazu kommt eine ähnlich aufgebaute amerikanische Studie mit einem vergleichbaren Kollektiv zu dem Schluss, dass durch Früherkennung mittels PSA-Wert keine Todesfälle vermieden werden können. Diese relativ früh publizierten Daten müssen allerdings kritisch betrachtet werden, da es sich einerseits bei 34% der Probanden um bereits einmal vorgescreeente Patienten handelt - weitere 10% der Probanden waren bereits mehrfach vorgescreeent - andererseits war das Kollektiv mit 76.693 Männern annähernd halb so groß wie das europäische Kollektiv [4]. Die Deutsche Gesellschaft für Urologie empfiehlt anhand der Ergebnisse der europäischen Studie, bei Männern mit dem Wunsch nach einer PCa-Früherkennung, eine Früherkennungsuntersuchung mittels PSA-Wert und DRU nach gründlicher Aufklärung des Patienten, durchzuführen.

Das PSA wird in Fachwelt und Tagespresse nach wie vor kontrovers diskutiert. So ist es bis heute der am häufigsten angewendete Marker insgesamt und auch aktuelle Studien, wie das Review von Zhu et al aus dem Jahr 2011, schlussfolgern, dass das PSA nach wie vor der signifikanteste prädiktive Faktor ist, um Männer mit einem erhöhten Risiko für ein PCa, zu identifizieren [55, 78].

Auf der anderen Seite birgt die PSA-Wert Bestimmung die Gefahr der Überdiagnose, d.h. es werden Karzinome entdeckt die keiner Therapie bedürften und Patienten mit solchen insignifikanten Karzinomen werden einer unnötigen psychischen und physischen Belastung durch Diagnostik und Therapie ausgesetzt [68].

Durch die PSA-Wert-Bestimmung werden ein Großteil der Tumore in frühen Stadien entdeckt, jedoch lässt sich anhand des PSA-Wertes nicht auf die Signifikanz und die Aggressivität des PCa schließen, was die Suche nach neuen spezifischeren Biomarkern unerlässlich macht [51].

### **1.7. PCA 3 und weitere Biomarker**

Ein bereits in der Klinik verwendeter weiterer Biomarker ist das „Prostate Cancer Antigen 3“ (PCA 3), eine nichtkodierende mRNA, welche in Karzinom-Zellen im Median in 66-fach höherer Konzentration vorkommt als in gesundem Prostatagewebe [12, 29]. Nach einer Prostata Massage werden Zellen der Prostata und des evt. vorhandenen Karzinoms in den Urin freigesetzt. Im Urinsediment wird dann durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) die Menge der PCA 3-mRNA gemessen. Aus dem Quotienten PCA3/PSA wird der PCA 3-Score berechnet. Studien aus den USA und Europa zeigen, dass der PCA 3-Score Hinweise auf die Ergebnisse einer Biopsie geben kann; somit kann das Ergebnis eines PCA 3-Tests als Entscheidungshilfe für die (wiederholte) Durchführung einer Biopsie gelten [29] [50]. Als Cut-Off-Wert gilt ein PCA 3-Score von 35. Ab diesem Wert haben mehr als 21% der Patienten ein PCa, während beispielsweise bei einem PCA3-Score von 20 nur 9% ein PCa haben [29]. Die Spezifität ist deutlich höher als die des PSA-Wertes, zudem wird das Ergebnis nicht vom Prostatavolumen beeinflusst [33]. Derzeit wird der PCA 3-Test nicht von den gesetzlichen Krankenkassen bezahlt und liegt mit 340€ im Preis um ein Vielfaches höher als der PSA-Wert (ca. 25€), so dass er keine flächendeckende Anwendung findet.

Es wird intensiv an der Entwicklung weiterer Biomarker für das PCa geforscht, wobei sich herausstellt, dass dies eine enorme Herausforderung darstellt. Im Folgenden sind in Tabelle 1 eine Reihe von vielversprechenden Biomarkern für das PCa zusammengefasst und deren mögliche klinische Anwendung dargestellt. Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass keiner dieser Biomarker bisher Einzug in die klinische Praxis gefunden hat und/oder eine Alternative zum PSA-Test darstellt. Weitere Studien auf diesem Gebiet sind daher unerlässlich [51, 64]

Tabelle 1: Biomarker für das Prostatakarzinom und ihre mögliche klinische Anwendung

<b>Biomarker</b>	<b>Mögliche klinische Anwendung</b>
AMACR	Prognostischer Faktor für biochemischen Progress und Tod
Annexin A3	Prognostischer Faktor für biochemischen Progress
Chromogranin A	Monitoring von Patienten mit androgenunabhängigem PCa
CRISP-3	unabhängiger Prognosefaktor für biochemischen Progress
E-Cadherin	Inverse Korrelation mit Stadium und reduzierter Lebenserwartung
EPCA/EPCA-2	Differenzierung von lokal begrenztem und metastasiertem PCa
EZH2	Prädiktion von biochem. Progress
GSTP1	Prädiktiver Faktor für positive Biopsie
Hepsin	Differenzierung von Patienten mit PCa oder PIN von BPH-Patienten
IGF/IGFBP	Prognostischer Faktor für biochemischen Progress
IL-6	Erhöhte Konzentration in weit fortgeschrittenen Stadien
KLK11	Früher diagnost. Marker im Serum
KLK2	Diagnose und Prognose von extrakapsulärer Ausbreitung, Tumolvolumen und biochemischen Progress
Progastrin-releasing peptide	Monitoring von Patienten mit androgenunabhängigem und metastasiertem PCa
PSCA	Targettherapie; Korrelation mit Gleason-Score und Stadium
PSMA	Targettherapie
PSP94	Prädiktiver Faktor für Gleason Score, Resektionsrandstatus und biochemischen Progress nach radikaler Prostatektomie
TGF- $\beta$ 1	Erhöhte Konzentration bei Progress
TMPRSS2:ERG/ETV 1	Differenzierung von Patienten mit PCa oder PIN von BPH-Patienten
uPA/uPAR	Prädiktion von biochem. Progress und Metastasierung

## 1.8. YB-1 als neuer Biomarker

### 1.8.1. Struktur

Als möglicher neuer Biomarker im PCa wurde in dieser Studie das Protein Y-Box-Binding Protein 1 (YB-1) untersucht, das zum ersten Mal im Jahr 1988 von Didier et al. beschrieben wurde und dessen Struktur in Abbildung 2 dargestellt ist. YB-1 hat eine Molekülgröße von 42kDa und besteht aus 322 Aminosäureresten.

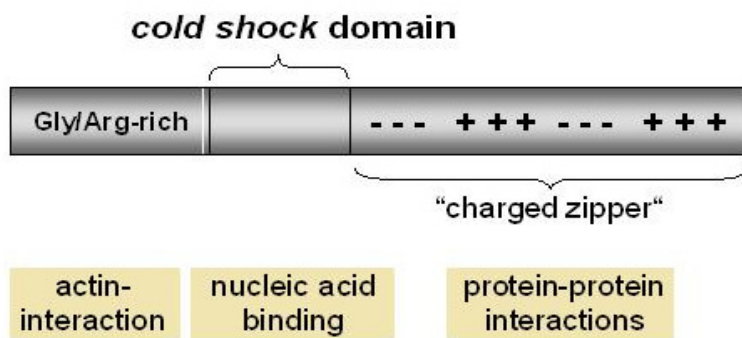


Abbildung 2: Struktur des Y-Box-Binding Proteins YB-1 ([www.antibodies-online.com/media/35/images/YB-1\\_domains.jpg](http://www.antibodies-online.com/media/35/images/YB-1_domains.jpg))

Das zugehörige kodierende Gen ist 19 kb groß, weist 8 Exons auf und ist auf der chromosomalen Region 1p34 lokalisiert. YB-1 bindet an die Y-Box in der Promotorregion humaner MHC-Klasse-II-Komplex-Gene. Als Y-Box wird eine invertierte Version der CCAAT-Box bezeichnet, die sich in der Promotorregion vieler eukaryontischer Gene findet [21]. YB-1 gehört zur Familie der Cold-Shock-Domain-(CSD) Proteine und setzt sich aus drei verschiedenen Domänen zusammen:

- A/P Domäne N-terminal (bei CSD-Proteinen variabel)
- CSD (hochkonservierte Cold-Shock-Domain)
- CTD (C-terminale Domäne)

### 1.8.2. Funktion, subzelluläre Lokalisation und Expression von YB-1

YB-1 ist ein multifunktionelles Protein. Durch die Translokation in den Nukleus initiiert es Transkriptions- und Translationsvorgänge, wodurch das Wachstum von Tumoren beeinflusst wird [6, 45, 66]. YB-1 wird auch als Onkogen - Transkriptions- und Translationsfaktor bezeichnet [45]. So reguliert YB-1 u.a. Onkogene, wie beispielsweise den human epidermal growth factor HER2, den epidermal growth factor receptor EGFR oder das Multi Drug Resistance-Gen 1 MDR1, das für die Entwicklung von Resistenzen gegenüber Chemotherapeutika verantwortlich gemacht



wird [24, 39, 47, 54]. Außerdem koordiniert YB-1 DNA-Reparaturvorgänge beispielsweise durch Initiation der Expression des Enzyms Neil2 [19].

YB-1 ist in gesunden Zellen hauptsächlich im Zytoplasma lokalisiert. In fortgeschrittenen Stadien von Brustkrebs und Osteosarkomen ist YB-1 fast ausschließlich im Zellkern lokalisiert [6]. Koike et al. zeigten, dass die Translokalisierung in den Nukleus auf zellulären Stress, wie z.B. Radiatio, Zytostatikabehandlung oder Hyperthermie folgt [44].

Häufig ist YB-1 in Krebszellen überexprimiert [26].

### **1.8.3. YB-1 als Biomarker für Progression in Karzinomen**

Verschiedenste Tumorentitäten wurden bereits auf die Expression bzw. Überexpression von YB-1, sowie auf die Rolle von YB-1 als prädiktiver Faktor für Progression untersucht. So wurde die YB-1 Expression in klinischen Studien bisher unter anderem in Mammakarzinomen [27], Ovarialkarzinomen [41], Bronchialkarzinomen [69], B-Zell-Lymphomen [77], Plattenepithelkarzinomen von Kopf und Hals [45] und in Prostatakarzinomen [26] nachgewiesen.

Eine randomisierte prospektive Studie der West German Study Group konnte YB-1 als starken prädiktiven Faktor für das Überleben von Brustkrebspatientinnen identifizieren, so war das Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv signifikant kürzer bei Patientinnen mit einer hohen YB-1 Expression. Janz et al. zeigten, dass eine starke gesamtzelluläre Expression von YB-1 im Mamma-CA mit einer geringeren Überlebenszeit zusammenhängt [39]. Eine Studie von Fujii T et al. fand heraus, dass eine nukleäre Lokalisation von YB-1 bei Patientinnen mit Mamma-CA mit einer schlechteren progressionsfreien Überlebenszeit sowie mit einer geringeren Gesamtüberlebenszeit korreliert [25]. Beide Studien schließen daraus, dass YB-1 für das Mamma-CA als unabhängiger prognostischer und prädiktiver Marker verwendet werden kann.

Bergmann et al. beschrieben, dass in einem transgenen Mausmodell, in dem YB-1 überexprimiert wird, 100% der Tiere ein Mammakarzinom (Mamma-CA) entwickelten. Dieses Ergebnis unterstreicht die Rolle von YB-1 in der Tumorgenese [7].

### **1.8.4. YB-1 als Biomarker für das Therapieansprechen**

Im Mammakarzinom konnte YB-1 als Biomarker für das Therapieansprechen identifiziert werden. So konnte die YB-1 Expression Hinweise darauf geben, von welcher Art von Chemotherapie die Mammakarzinom - Patientinnen profitieren

würden. Patientinnen mit hohem YB1 erreichten mit einer High-Dose-Chemotherapie ein ähnlich langes krankheitsfreies Überleben wie Patientinnen mit niedrigem YB-1 im Tumor, welche eine weniger aggressive Dose-Dense-Chemotherapie bekamen. Somit konnten anhand der YB-1 Expression die Patientinnen identifiziert werden, die von der High-Dose-Chemotherapie profitierten, was wegen des hohen Nebenwirkungsprofils von großem Vorteil ist [27].

#### **1.8.5. Auf YB-1 basierende virale Tumorthherapie**

YB-1 ist an der Replikation von Adenoviren beteiligt, die in der Genterapie genutzt werden. Für die Genterapie werden Adenoviren Typ 5 genutzt die sich aufgrund einer eingebauten Deletion nur in den gewünschten Zellen replizieren können. In YB-1-positiven Tumorzellen können sich die deletierten Viren ebenfalls vermehren und haben dort einen onkolytischen Effekt. Dieser konnte von Bieler et al im Jahr 2008 erstmals in einer in-vivo Studie demonstriert werden. Mäuse mit einem Glioblastom und nukleäres YB-1 exprimierenden Tumorzellen, wurden bestrahlt, bekamen eine Virustherapie oder eine kombinierte Radiatio/Virustherapie. Die Ergebnisse für Radiatio und Virustherapie waren vergleichbar, während die kombinierte Therapie deutlich erfolgreicher war und danach praktisch kein Tumorwachstum mehr nachgewiesen werden konnte. Somit gilt YB-1 als Voraussetzung für eine erfolgreiche Virotherapie des Glioblastoms [8]. Zu vergleichbaren Ergebnissen kommt eine Studie von Holzmüller et al aus dem Jahr 2011. Hier zeigte die alleinige Virotherapie eine Verkleinerung von Gliomen in den Versuchstieren (Nacktmäuse), die Kombination aus Virotherapie und Chemotherapie mit Temozolomide führte bei einem Drittel der Mäuse zu einer kompletten Remission [35]. In einer aktuellen Studie von Astanahe et al konnte gezeigt werden, dass durch die Inhibierung des Signaltransduktionswegs YB-1/MNK1 die Resistenz in HER2-positiven Mammakarzinomzellen gegen das Chemotherapeutikum Trastuzumab überwunden werden konnte [5]. Law et al untersuchten in einer in vitro Studie aus dem Jahr 2010 Brustkrebs- und Prostatakrebszelllinien. Sie konnten mit dem „Cell Permeable Peptide CCP“ ein Peptid entwickeln, das die Phosphorylierung und damit die Aktivierung von YB-1 blockiert, wodurch YB-1 nicht mehr an Wachstumsfaktoren und Drug Resistance Gene binden kann. Somit konnte eine Reduzierung des Wachstums der Mammakarzinom- und der androgenunabhängigen PCa-Zellen beobachtet werden. Wie Astanahe et al konnten auch Dhillon et al zeigen, dass durch die

Behandlung mit dem CCP Peptid HER2-positive, gegen Trastuzumab resistente Mammakarzinomzellen wieder auf die Therapie ansprechen [48].

#### **1.8.6. YB-1 im Prostatakarzinom**

Giménez-Bonafé et al zeigten, dass in benignen Prostataacini geringe Mengen von YB-1 exprimiert werden und YB-1 hier primär im Zytoplasma vorliegt [26]. In malignen Prostatazellen erhöhte sich die Menge an exprimiertem YB-1 mit steigendem Gleason-Score und das Protein war vermehrt perinukleär und nukleär lokalisiert. Ein weiteres Ergebnis der Studie war, dass die Translokalisierung in den Nukleus auf neoadjuvante Hormontherapie folgt und in androgenunabhängigen Tumoren YB-1 vermehrt im Nukleus lokalisiert war. Wie zahlreiche andere Studien auch, konnten Giménez-Bonafé et al zeigen, dass erhöhte YB-1 Level mit erhöhtem P-Glycoprotein (P-gp) korrelierten [6, 41, 54, 58]. Hierbei handelt es sich um einen aus 1280 Aminosäuren bestehenden Membrantransporter, der für den zellulären Efflux von Chemotherapeutika und anderen Arzneimitteln verantwortlich ist. Hier ist YB-1 an der Aktivierung des Multi-Drug-Resistance-1 Gens (MDR 1) beteiligt, welches für P-gp kodiert. P-gp ist auch in Hormon-produzierenden und Hormon-sensitiven Zellen vorhanden. In Prostatakarzinomzellen schleust P-gp Androgene aus, was zu einer Downregulierung von Genen führt, die durch Androgene reguliert werden. Somit könnten YB-1 und P-gp an der Progression zum androgen-unabhängigen PCa beteiligt sein. YB-1 könnte laut Giménez-Bonafé et al auch an antiapoptotischen und proliferativen Vorgängen beteiligt sein.

Giménez-Bonafé et al untersuchten zwar neben PCa-Zellen aus Mausmodellen auch Gewebeschnitte von 400 Patienten mit benignen und malignen Prostatatumoren, es liegen allerdings keinerlei Daten hinsichtlich eines Follow-ups vor [26]. Somit konnte YB-1 im PCa bisher nicht als Marker in Korrelation mit dem Krankheitsverlauf des PCa charakterisiert werden.

#### **1.9. Fragestellung**

Die Suche nach neuen Biomarkern für das Prostatakarzinom ist nicht zuletzt aufgrund des häufigen Auftretens der Erkrankung unerlässlich. Der bisher verwendete Biomarker PSA ist einerseits der am besten untersuchte und am häufigsten angewendete Gewebemarker überhaupt, andererseits sind Sensitivität und Spezifität unzureichend. Somit werden bei einem PSA-cut-off von 4 ng/ml

sowohl aggressive Karzinome nicht erkannt, als auch Patienten ohne Karzinom einer unnötigen Biopsie unterzogen.

Ziel dieser Studie war es, mit dem Protein YB-1 einen neuen Biomarker im PCa zu untersuchen.

Basierend auf der Literatur bezüglich YB-1 war unsere Hypothese, dass die Menge des in Prostatakarzinomzellen exprimierten YB-1 und/oder die Lokalisation des Proteins einen Schluss auf die Aggressivität und die Signifikanz des Karzinoms zulassen. In die Analyse wurden neben der Expression von YB-1 auch Alter und PSA-Wert zum Operationszeitpunkt, neoadjuvante Therapie vor radikaler Prostatektomie, T-Stadium, N-Stadium, Organbegrenzung der Karzinome, Residualtumor, Gleason-Score, subzelluläre Lokalisation von YB-1, adjuvante Therapie und Therapie nach biochemischem Rezidiv miteinbezogen. Zusätzlich wurde untersucht, ob YB-1 einen prognostischen Faktor für das biochemisch-rezidivfreie Überleben, das Gesamtüberleben und das karzinomspezifische Überleben der PCa-Patienten darstellt.

## **2. Material und Methodik**

### **2.1. Klinische Daten**

#### **2.1.1. Das Prostataspezifische Antigen**

Das Prostataspezifische Antigen (PSA) ist ein Glykoprotein, welches ausschließlich im Prostatagewebe gebildet wird. Durch das PSA wird das Ejakulat verflüssigt. In geringen Mengen gelangt das PSA über die im Drüsengewebe der Prostata gelegenen Gefäße ins Blut, wo es laborchemisch im Serum gemessen werden kann. Das PSA ist organ- jedoch nicht tumorspezifisch. Sowohl ein Karzinom der Prostata als auch benigne Erkrankungen wie beispielsweise Entzündungen oder Manipulationen an der Prostata können zu einem Ansteigen des PSA im Serum führen. Derzeit wird ein PSA-Wert von  $\leq 4$  ng/ml als Normalwert angegeben.

Der PSA-Wert dient einerseits als Suchtest für das Prostatakarzinom, andererseits hat er einen hohen Stellenwert in der Nachsorge von Patienten mit radikaler Prostatektomie.

In vorliegender Arbeit wurden die Patienten in Abhängigkeit des PSA-Wertes bei Diagnosestellung in zwei Gruppen eingeteilt:

- PSA-Wert  $\leq 10$  ng/ml
- PSA-Wert  $> 10$  ng/ml

#### **2.1.2. Einteilung nach Alter bei OP**

Das Alter zum Operationszeitpunkt wurde berechnet aus der Differenz zwischen Operationsdatum und Geburtsdatum. In vorliegender Studie wurden die Patienten in 2 Gruppen eingeteilt:

- $< 65$  Jahre
- $\geq 65$  Jahre

#### **2.1.3. TNM-Klassifikation**

Die Einteilung des Tumorstadiums erfolgt nach der Tumor Nodus Metastasen-Klassifikation (TNM) von 1997, die von der Union Internationale Contre Cancer (UICC) entwickelt wurde. In diese Klassifikation gehen Größe und Ausdehnung des Tumors (T), eventueller Befall der Lymphknoten (N) und eventuelle Fernmetastasen (M) mit ein. Das pT/pN/M-Stadium beruht auf einer histopathologischen Aufarbeitung des Gewebes, entweder postoperativ oder bei der Autopsie. Bei einem TX-Stadium kann der Tumor nicht beurteilt werden, bei einem T0-Stadium gibt es im Präparat

keinen Hinweis auf einen Primärtumor. Ein ypT/ypN/M-Stadium bedeutet, dass eine neoadjuvante Behandlung durchgeführt wurde. Ein Prostatakarzinom, das klinisch nicht auffällig ist und weder mit bildgebenden Verfahren, noch in der digital-rektalen Untersuchung (DRU) erkannt werden kann, wird als T1-Stadium klassifiziert und folgendermaßen unterteilt:

- T1a: Tumor als zufälliger histologischer Befund in 5 % oder weniger des resezierten Gewebes
- T1b: Tumor als zufälliger histologischer Befund in mehr als 5% des resezierten Gewebes
- T1c: Tumor durch ultraschallgesteuerte Biopsie in einem oder beiden Lappen entdeckt, nicht tastbar in der DRU

Als T2-Stadium werden Prostatakarzinome klassifiziert die organbegrenzt sind:

- T2a: Tumor befällt einen Lappen
- T2b: Tumor befällt beide Lappen

Bei einem T3-Stadium überschreitet der Tumor die Prostatakapsel und breitet sich in extrakapsulärem Gewebe aus:

- T3a: Extrakapsuläre Ausbreitung ein- oder beidseitig
- T3b: Tumor infiltriert die Samenblasen

Wenn der Tumor andere Strukturen infiltriert oder fixiert ist handelt es sich um ein T4-Stadium:

- T4: Tumor ist fixiert oder infiltriert andere benachbarte Strukturen wie den Blasen Hals, den Sphinkter externus, das Rektum, den Musculus levator ani oder die Beckenwand.

In dieser Arbeit wurden die Prostatakarzinompatienten anhand des Tumorstadiums in 2 Untergruppen eingeteilt:

- $\leq$  pT2
- $\geq$  pT3

Der Befall von regionären Lymphknoten kann nach einer regionären Lymphadenektomie beurteilt werden. Als regionäre Lymphknoten werden die

Lymphknoten des kleinen Beckens bezeichnet, die unterhalb der Bifurkation der Aa. Iliacae communes liegen.

- NX: Beurteilung der regionären Lymphknoten nicht möglich
- N0: keine regionären Lymphknoten befallen
- N1: Befall von regionären Lymphknoten

In vorliegender Studie wurden nach dem Befall der regionären Lymphknoten 2 Gruppen gebildet:

- pN0
- pN1

Patienten, deren regionäre Lymphknoten nicht beurteilt werden konnten (pNX) wurden in keine der beiden Gruppen eingeteilt und hier nicht berücksichtigt.

Sind Fernmetastasen vorhanden gehen diese in das M-Stadium mit ein:

- MX: Fernmetastasen nicht beurteilbar
- M0: keine Fernmetastasen nachweisbar
- M1: Fernmetastasen vorhanden
  - M1a: Metastasen in nicht regionären Lymphknoten
  - M1b: Knochenmetastasen
  - M1c: Metastasen in anderen Lokalisationen

Ergänzt wird die TNM-Klassifikation durch das eventuelle Vorhandensein eines Residualtumors (Resttumor) nach der radikalen Prostatektomie:

- R0: kein Residualtumor
- R1: Residualtumor mikroskopisch sichtbar
- R2: Residualtumor makroskopisch sichtbar
- RX: Residualtumor nicht beurteilbar

In unserer Arbeit wurden bezüglich des Residualtumors 2 Gruppen gebildet:

- R0
- R1

### 2.1.4. Gleason-Score

Neben dem Staging wird international der Gleason-Score als Grading verwendet. Dieser wurde nach Donald F. Gleason benannt und in den 1970er Jahren entwickelt. Er dient der histologischen Beurteilung des Prostatagewebes. Der Pathologe beurteilt den Entdifferenzierungsgrad des Gewebes, d.h. die Abweichung von entartetem zu normalem Drüsengewebe. Hierbei werden die beiden vorherrschenden Gewebemuster beschrieben und mit einer Ziffer von 1 bis 5 versehen. Je höher der Wert, desto höher ist der Grad der Entdifferenzierung. Die beiden Werte werden dann zusammengezählt, so dass Werte zwischen 2 und 10 erreicht werden können [36].

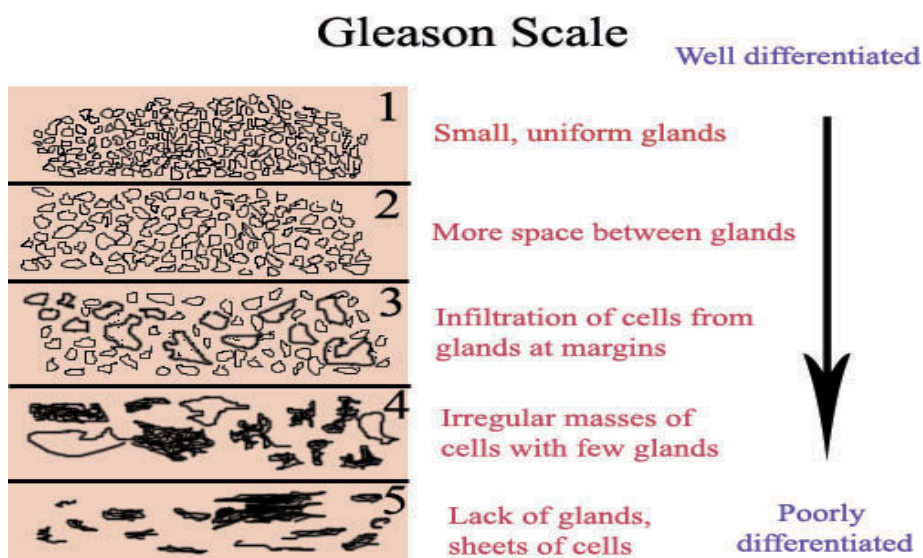


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Gewebemuster die dem Gleason-Score zugrunde liegen ([en.wikipedia.org/wiki/Gleason\\_Grading\\_System](https://en.wikipedia.org/wiki/Gleason_Grading_System))

In unserer Studie wurden folgende Gruppen unterschieden:

- Gleason-Score 2-6
- Gleason-Score 7
- Gleason-Score 8-10

### 2.1.5. Neoadjuvante Behandlung

Als neoadjuvante Behandlung wird eine Therapie zur Reduzierung der Tumormasse vor der geplanten (operativen) Therapie bezeichnet. Beim Prostatakarzinom stehen für eine neoadjuvante Therapie grundsätzlich eine Hormontherapie, eine Chemotherapie sowie eine Strahlentherapie zur Verfügung, wobei alle Optionen



experimentellen Charakter haben und in den aktuellen Leitlinien nicht empfohlen werden.

In der vorliegenden Studie wurden bezüglich der neoadjuvanten Therapie zwei Gruppen gebildet:

- Patienten, die eine neoadjuvante Therapie erhalten haben
- Patienten, die keine neoadjuvante Therapie erhalten haben

### **2.1.6. Adjuvante Behandlung**

Patienten, die nach der radikalen Prostatektomie einen Residualtumor oder andere Risikofaktoren wie beispielsweise tumorinfiltrierte Samenbläschen aufwiesen oder deren PSA-Wert postoperativ nicht auf 0 ng/ml absank, wurde eine adjuvante Therapie mittels Radiatio empfohlen. Patienten, die einen Befall der regionären Lymphknoten aufwiesen, wurde eine adjuvante Therapie mittels Hormonentzug empfohlen.

In der vorliegenden Studie wurden bezüglich der adjuvanten Therapie zwei Gruppen gebildet:

- Patienten, die eine Radiatio als adjuvante Therapie erhalten haben
- Patienten, die einen Hormonentzug als adjuvante Therapie erhalten haben

## **2.2. Erfassung der Expression von YB-1 in den Präparaten**

### **2.2.1. Immunhistochemischer Nachweis der YB-1 Expression**

Für jeden der 202 PCa-Patienten wurden in Formalin fixierte und in Paraffin gebettete Gewebeblöcke aus den Primärtumoren aus den Archiven des Institutes für Pathologie der Technischen Universität München ausgewählt. Es wurde eine retrospektive Analyse der konsekutiven Fälle aus den Jahren 1996 bis 2001 durchgeführt. Nachdem alle Hämatoxylin- und Eosinophil-angefärbten Schnitte gesichtet wurden, wurden je drei repräsentative Gewebeproben der Tumorgewebe (mit 1 mm Durchmesser) ausgewählt. Zusätzlich wurden Gewebeproben von korrespondierenden, angrenzenden Bereichen ohne Tumorerinfiltration und mit normaler Gewebemorphologie ausgewählt und hiervon wurden jeweils Tissue Micro Arrays (TMA) erstellt. Für die Herstellung der TMAs wurden mit Hilfe eines manuellen Arrayers (Beecher Instruments, Sun Prairie , WI, USA) Nadelbiopsien aus den Paraffinblöcken entnommen und in einen Paraffin Matrix Block positioniert. Für die immunhistochemische Anfärbung von YB-1 wurden konsekutive Schnitte (2 µm) der

TMAAs entnommen. Die immunhistochemische Anfärbung wurde mittels eines Fluorescein-Isothiocyanat-markierten (FITC) Kaninchen-Antikörpers, der gegen den C-Terminus von YB-1 (CDGKETKAADPPAENS-amid), welcher durch YB-1-Affinitäts-Chromatographie aufbereitet wurde, gerichtet ist, durchgeführt [57].

Nach Deparaffinisierung, Rehydratation und Waschen in Tris-gepufferter Salzlösung (TBS; 0,05 M Trizma-Base, 0,15 M NaCl, pH 7,6), wurden die TMAAs durch Druck-Kochen einem Epitop-Retrieval zugeführt (4min, 10 mM Zitratpuffer, pH 6,0). Danach wurde die endogene Peroxidase Aktivität mit 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (20 min bei Raumtemperatur) in destilliertem H<sub>2</sub>O geblockt. Nach erneutem Waschen in TBS, wurden die Schnitte mit dem gegen YB-1 gerichteten FITC-markierten Antikörper (3,25 µg/ml), 1h, Raumtemperatur) in Antikörper Lösung inkubiert (DakoCytomation, Hamburg). Nach weiterem Waschen mit TBS wurden die Schnitte mit 120 µl unverdünntem Peroxidase-konjugierter Schaf- F(ab)-anti-FITC inkubiert (TUNEL-POD; Roche, Mannheim) (30min, Raumtemperatur). Die Färbung wurde mittels des chromogenen Substrats 3,3'-Diaminobenzidin (DAB; DakoCytomation) (10min, Raumtemperatur) visualisiert. Die Zellkerne wurden mit Mayer's Hematoxylin gegengefärbt, die Schnitte wurden anschließend mittels Pertex® mounting medium eingebettet (MEDITE, Burgdorf, Deutschland).

Als Negativkontrolle wurde die selbe Prozedur ohne Verwendung des primären Antikörpers durchgeführt. Die Schnitte wurden auf die YB-1 Immunreaktivität in Tumorzellen und normalem Gewebe durch einen qualifizierten Pathologen analysiert. Alle molekularen und immunhistochemischen Analysen wurden unter Verblindung der klinischen Daten durchgeführt. Die gefärbten TMAAs wurden mit einem Mikroskop digital gescannt (NanoZoomer 2.0-RS C10730-L10387, Hamamatsu Photonics Deutschland, Herrsching, Germany).

### **2.2.2. Analyse der YB-1 Expression**

Die Expression von YB-1 wurde von zwei unabhängigen Pathologen unter verschiedenen Kriterien analysiert, die sich aus der subzellulären Lokalisation, der Färbeintensität und der Anzahl gefärbter Zellen zusammensetzten. Mit Hilfe dieser Parameter wurde die YB-1 Expression quantifiziert.

### **2.2.2.1. Subzelluläre Lokalisation von YB-1**

Das Protein YB-1 kann in der Zelle in verschiedenen Kompartimenten nachgewiesen werden. Einerseits kann YB-1 im Zytoplasma lokalisiert sein, andererseits im Kern oder sowohl im Kern als auch im Zytoplasma. In der vorliegenden Arbeit wurden drei Gruppen unterschieden:

- YB-1 nur im Zytoplasma
- YB-1 nur im Kern
- YB-1 in Kern und Zytoplasma

### **2.2.2.2. Analyse der Expressionsintensität: Klassifizierung des Immunreaktiven Scores (IRS) nach Remmele und Stegner (1987)**

In dieser Arbeit wurde für die Quantifizierung der YB-1 Expression der Immunreaktive Score (IRS) ermittelt, der sich aus der Intensität der Färbung und der Anzahl positiver Zellen in % zusammensetzt. Diese Methode der Quantifizierung eines Immunhistochemischen Signals wurde erstmals von Remmele und Stegner 1987 beschrieben [63]. Die Präparate wurden immunhistochemisch angefärbt, wodurch YB-1 sichtbar gemacht wurde. Die Intensität der Färbung I wurde demnach in vier Gruppen eingeteilt, wobei die unterschiedlichen Ziffern folgende Intensität bedeuten:

- 0= Keine Färbung
- 1= Geringe Färbung
- 2= Mäßige Färbung
- 3= Starke Färbung

Der relative prozentuale Anteil der YB-1 positiven Zellen (R) wurde mit entsprechenden Nummerierungen versehen:

- 1= <10%
- 2= <50%
- 3= <80%
- 4=  $\geq 80\%$

Anhand der folgenden Abbildung 4 wurde aus dem Produkt der Färbeintensität I und dem prozentualen Anteil positiver Zellen R der Gesamtscore  $I \times R$  berechnet:

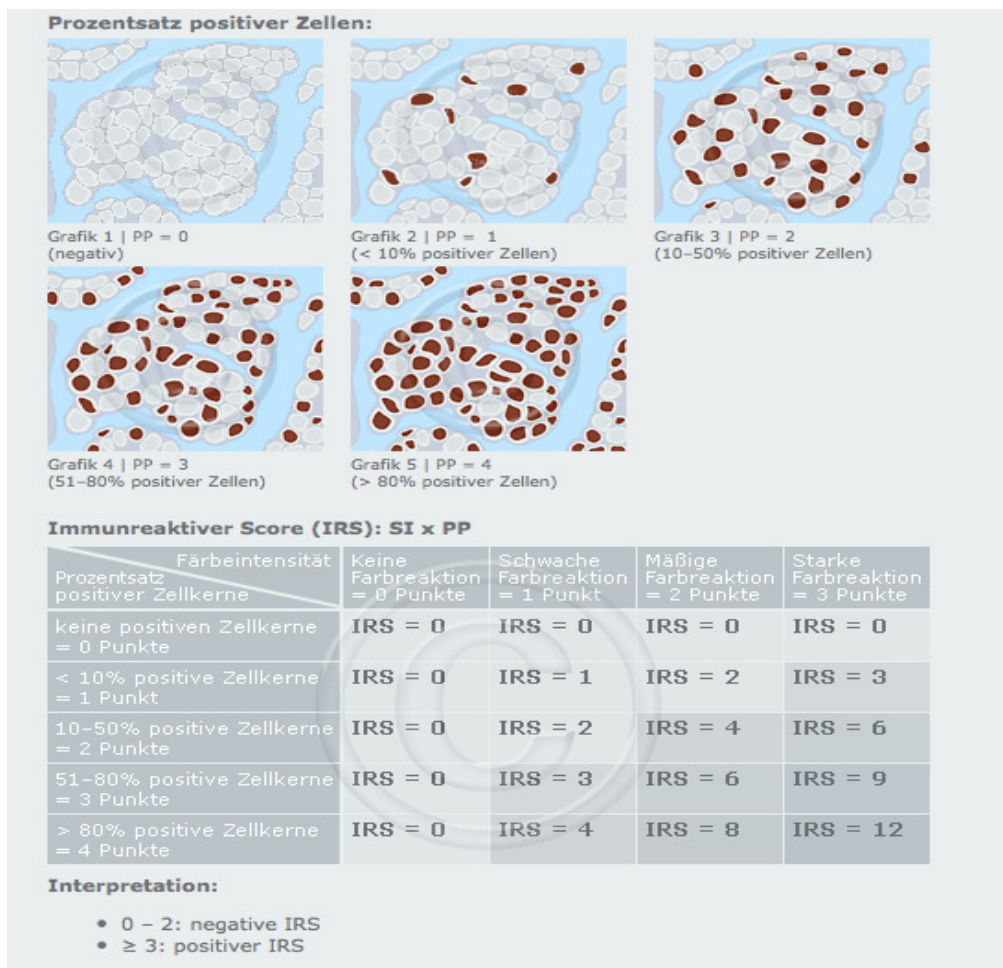


Abbildung 4: Immunreaktiver Score IRS nach Remmele und Stegner, 1987

([www.pathologie-vechta.de/deu/physicians/knowledgebase/classifications/hormone\\_receptors.php](http://www.pathologie-vechta.de/deu/physicians/knowledgebase/classifications/hormone_receptors.php))

In der vorliegenden Studie wurden anhand des Gesamtscores 2 Gruppen gebildet:

- low YB-1 (= IxR ≤ 6)
- high YB-1 (= IxR ≥ 8)

### 2.3. Datenerfassung

Die in die vorliegende Studie eingeflossenen Daten entstammen einer relationalen 4.0 Access-Datenbank. Vor der statistischen Auswertung wurden die Daten validiert und mit den Aufzeichnungen im Münchner Tumorzentrum abgeglichen.

### 2.4. Follow-up / Nachsorge

Die Patienten wurden postoperativ unregelmäßig zum Verlauf des Erkrankung befragt. Im Jahr 2011 (10 – 15 Jahre nach der radikalen Prostatektomie) wurde mit Hilfe eines verschickten klinischen Datenbogens und/oder telefonisch ein Follow-up

erhoben. Hierfür wurden adjuvante Therapien nach radikaler Prostatektomie abgefragt, wie beispielsweise postoperative Radiatio oder ein Hormonentzug. Zusätzlich wurde nach dem PSA-Wert gefragt. Dieser wurde vom niedergelassenen Urologen oder vom Hausarzt als Verlaufsparemeter zur Therapiekontrolle bestimmt. Bei im Verlauf unauffälligen Werten, d.h. PSA-Werten  $< 0,2\text{ng/ml}$ , wurde das Ergebnis als No Evidence of Disease (NED) gewertet. Stieg der PSA-Wert mindestens zweimal auf Werte  $\geq 0,2\text{ng/ml}$  an, so wurde dies als biochemisches Rezidiv gewertet. Wurden ein Lokalrezidiv oder Fernmetastasen diagnostiziert, wurde dies als klinischer Progress gewertet. Der Zeitraum zwischen radikaler Prostatektomie und eventuellem biochemischen Rezidiv wird im Folgenden als biochemisch – rezidivfreies Überleben bezeichnet. Die berechneten biochemisch-rezidivfreien Überlebensraten gehen alle von dieser Definition des Progresses aus. Als Gesamtüberleben wird im Folgenden der Zeitraum zwischen der radikalen Prostatektomie und dem eventuellen Tod des Patienten, unabhängig von der Todesursache, bezeichnet. Als karzinomspezifisches Überleben wird im Folgenden der Zeitraum zwischen radikaler Prostatektomie und dem eventuellen Tod des Patienten, der durch das Prostatakarzinom verursacht wurde, bezeichnet.

## **2.5. Statistische Auswertung**

Es wurden Crude Hazard Ratios mit einem 95%igen Konfidenz Intervall für jeden potentiellen prognostischen Faktor mit der Proportionalen Hazard Regressionsanalyse berechnet. Um den Einfluss der prognostischen Faktoren auf das Überleben der Patienten zu beurteilen und um wichtige prognostische Faktoren zu identifizieren wurde eine Proportionale Hazard Regressionsanalyse mit Backward Elimination durchgeführt. Es wurde hierfür ein Selektionslevel von 5% gewählt. Ergebnisse des Modells werden als Hazard Ratios mit 95%igem Konfidenzintervall und p-Werten dargestellt.

Zusammenhänge zwischen der YB-1 Expression und klinischen Charakteristika wurden entweder mit dem Chi-Quadratstest oder mit dem exakten Fisher Test analysiert.

Die Überlebenswahrscheinlichkeiten (biochemisch rezidivfreies Überleben, Gesamtüberleben und karzinomspezifisches Überleben) wurden nach Kaplan-Meier analysiert.

Die 10 Jahres Überlebensraten wurden mit einem 95%igem Konfidenzintervall berechnet.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Auswahl der Patienten**

Das Gesamtkollektiv setzte sich aus 202 PCa - Patienten zusammen, bei welchen zwischen 1996 und 2001 in der Urologischen Klinik des Klinikums Rechts der Isar in München eine radikale retropubische Prostatovesikulektomie inklusive Lymphadenektomie durchgeführt wurde. Die Daten der Patienten wurden retrospektiv erhoben.

#### **3.2. Klinische Daten der Patienten**

##### **3.2.1. Präoperative Parameter**

###### **3.2.1.1. Alter zum Operationszeitpunkt**

Zum Operationszeitpunkt waren die Patienten im Mittel 63,7 Jahre alt, der Median lag bei 64,3 Jahren. Der jüngste Patient war 47,4 Jahre, der Älteste 77,5 Jahre alt (Tabelle 2).

###### **3.2.1.2. PSA-Wert zum Operationszeitpunkt**

Von 190 der 202 Patienten war der PSA-Wert zum Operationszeitpunkt bekannt. Er lag im Mittel bei 12,0 ng/ml, der Median lag bei 9,0 ng/ml. Der niedrigste PSA-Wert zum Operationszeitpunkt lag bei 1ng/ml, der Höchste bei 93,3ng/ml. 75,4% der Patienten hatten einen PSA-Wert von  $\leq 10$ ng/ml, 42,6% der Patienten hatten einen PSA-Wert von  $>10$ ng/ml (Tabelle 2).

###### **3.2.1.3. Neoadjuvante Therapie vor radikaler Prostatektomie**

8 der 202 Patienten (4%) des Gesamtkollektivs erhielten eine neoadjuvante Therapie in Form einer Hormonblockade (Tabelle 2).

Tabelle 2: Klinische Daten der Patienten – Präoperative Parameter

Parameter	Anzahl (n)	Anteil (%)
Patienten	202	(100)
Alter (Jahre)		
Range	47,4 -77,5	
Median; Mittelwert	64,3; 63,7	
<65	113	(55,9)
≥65	89	(44,1)
Neoadjuvante Therapie		
Ja	8	(4,0)
Nein	194	(96,0)
PSA bei Diagnose (ng/ml)		
Range	1-93,3	
Median; Mittelwert	9,0;12,0	
≤10	109	(57.4)
>10	81	(42.6)

---

PSA = Prostata spezifisches Antigen ; YB-1 = Y-Box-Binding Protein 1

### **3.2.2. Postoperative Parameter**

#### **3.2.2.1. Ausdehnung des Tumors im Operationspräparat**

Von den insgesamt 202 Patienten hatten 61,4% einen Tumor, der histopathologisch dem pT2 Stadium zugeordnet werden konnte. 38,6 % der Patienten hatten einen Tumor, der histopathologisch dem pT3 oder pT4 Stadium zugeordnet werden konnte, wobei nur ein Patient einen pT4 Tumor hatte (Tabelle 3).

#### **3.2.2.2. Befallene Lymphknoten im Operationspräparat**

Bei 170 der 202 Patienten des Gesamtkollektivs (84,2%) konnte der Befall der regionären Lymphknoten beurteilt werden, da bei diesen eine Lymphadenektomie durchgeführt wurde. Bei 94,1% der Patienten konnten keine tumorbefallenen Lymphknoten nachgewiesen werden (pN0-Stadium), 5,9% der Patienten hatten ein pN1 Stadium (Tabelle 3).

#### **3.2.2.3. Verteilung der Karzinome anhand der Organbegrenzung**

Bei 175 der 202 Patienten konnten postoperativ Aussagen über die Organbegrenzung getroffen werden. 54,3% hatten einen Tumor der auf das Organ begrenzt war, 45,7% einen Tumor der die Organgrenzen überschritten hatte (Tabelle 3).

#### **3.2.2.4. Residualtumor im Operationspräparat**

Bei 201 der 202 Patienten konnten postoperativ Aussagen über einen evt. vorhandenen Residualtumor getroffen werden. Bei 77,1% der Patienten konnte eine R0-Resektion erreicht werden, 22,9% hatten einen Residualtumor (Tabelle 3).

#### **3.2.2.5. Tumordifferenzierung im Operationspräparat**

66,3% der Patienten hatten ein Karzinom mit einem Gleason-Score zwischen 3 und 6, wobei mit 61 die meisten Patienten einen Gleason-Score von 5 hatten.

9,3% der Patienten hatten einen Gleason-Score von 7, 7a oder 7b.

14,4% der Patienten hatten einen Gleason-Score zwischen 8 und 10, wobei keiner der Patienten einen Gleason-Score von 10 hatte (Tabelle 3).

#### **3.2.2.6. YB-1 Expression im Operationspräparat**

Die Patienten hatten je etwa zur Hälfte ein low YB-1 (49%) bzw. ein high YB-1 Expressionsniveau (51%) in ihrem Prostatakarzinom (Tabelle 3).



### **3.2.2.7. Subzelluläre Lokalisation von YB-1 im Operationspräparat**

In der Mehrzahl der Operationspräparate war YB-1 im Zytoplasma lokalisiert (86,1%), lediglich in einem Präparat war YB-1 ausschließlich im Nukleus lokalisiert. In 13,4% der Präparate war YB-1 sowohl im Zytoplasma, als auch im Nukleus lokalisiert (Tabelle 3).

### **3.2.2.8. Adjuvante Therapie**

Insgesamt 30 (14,8%) der 202 Patienten des Gesamtkollektivs erhielten eine adjuvante Therapie, wobei 13 Patienten eine Radiatio erhielten und 17 einen Hormonentzug (Tabelle 3).

### **3.2.2.9. Therapie nach biochemischem Rezidiv**

Nach dem Auftreten eines biochemischen Rezidivs erhielten 35 Patienten eine Radiatio, 17 einen Hormonentzug und 10 eine Chemotherapie.

Tabelle 3: Klinische Daten der Patienten – Postoperative Parameter

Parameter	Anzahl (n)	Anteil (%)
Patienten	202	(100)
Tumor Stadium		
≤ pT2	124	(61,4)
≥ pT3	78	(38,6)
Lymphknotenstatus		
pN0	160	(94,1)
pN1	10	(5,9)
Organbegrenzung		
Ja	95	(54,3)
Nein	80	(45,7)
Residualtumor		
R0	155	(77,1)
R1	46	(22,9)
Gleason-Score		
≤ 6	134	(66,3)
7	39	(19,3)
≥ 8	29	(14,4)
YB-1-Lokalisation		
Zytoplasma	174	(86,1)
Nukleus	1	(0,5)
Zytoplasma + Nukleus	27	(13,4)
YB-1		
low	99	(49,0)
high	103	(51,0)
Adjuvante Therapie		
Radiatio	13	(6,4)
Hormonentzug	17	(8,4)
Therapie nach biochemischem Rezidiv		
Radiatio	35	(23,8)
Hormonentzug	17	(16,8)

---

PSA = Prostata spezifisches Antigen ; YB-1 = Y-Box-Binding Protein 1

### 3.3. Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und klinischen Parametern

#### 3.3.1. Präoperative Parameter

##### 3.3.1.1. Alter zum Operationszeitpunkt

Zum Operationszeitpunkt waren 60,6% der Patienten mit einem low YB-1 unter 65 Jahre alt, 39,4% der Patienten mit einem low YB-1 im Tumor waren 65 Jahre oder älter. 51,5% der Patienten mit einer hohen Expression von YB-1 im Tumor waren unter 65 Jahre alt, 48,5% der Patienten mit einem high YB-1 waren 65 Jahre oder älter. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter zum Operationszeitpunkt und der YB-1 Expression ( $p = 0,1904$ ).

Tabelle 4: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der radikalen Prostatektomie

Alter bei OP	YB-1* % (n)		P-Wert (Chi-Quadratstest)
	low	high	
< 65	60,6 (60)	51,5 (53)	p = 0,1904
≥ 65	39,4 (39)	48,5 (50)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

##### 3.3.1.2. PSA-Wert zum Operationszeitpunkt

Zum Operationszeitpunkt hatten 60,2% der low YB-1 Patienten einen PSA-Wert unter bzw. gleich 10ng/ml. Von den high YB-1 Patienten hatten 54,6% einen PSA-Wert unter bzw. gleich 10ng/ml (Tabelle 5). Zwischen YB-1 Expression und PSA-Wert zum Zeitpunkt der Operation konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang beobachtet werden ( $p = 0,4372$ ).

Tabelle 5: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und dem PSA-Wert zum Zeitpunkt der Diagnose des Prostatakarzinoms

PSA** bei Diagnose	YB-1* % (n)		P-Wert (Chi-Quadratstest)
	low	high	
≤ 10	60,2 (56)	54,6 (53)	p = 0,4372
>10	39,8 (37)	45,4 (44)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

\*\*PSA= Prostata Spezifisches Antigen

### 3.3.1.3. Neoadjuvante Therapie vor radikaler Prostatektomie

97,0% der low YB-1 Patienten hatten keine neoadjuvante Therapie vor der radikalen Prostatektomie. Von den high YB-1 Patienten hatten 96,1% keine neoadjuvante Therapie (Tabelle 6). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen neoadjuvanter Therapie und YB-1 Expression ( $p = 1,000$ ).

Tabelle 6: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und einer evtl. durchgeführten neoadjuvanten Therapie im Rahmen eines Hormonentzugs vor radikaler Prostatektomie

Neoadjuvante Therapie	YB-1* % (n)		P-Wert (exakter Fischer Test)
	low	high	
nein	97,0 (96)	96,1 (99)	p = 1,0000
ja	3,0 (3)	3,9 (4)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

### 3.3.2. Postoperative Parameter

#### 3.3.2.1. Ausdehnung des Tumors im Operationspräparat

Von den Patienten mit einem low YB-1 hatten 65,7% einen Tumor der sich histopathologisch einem pT2-Stadium zuordnen lässt, 34,4% hatten einen Tumor im Stadium pT3 oder pT4. 57,3% der Patienten mit einer hohen Expression von YB-1 im Tumor hatten ein pT2-Stadium, 42,7% ein höheres Tumorstadium von pT3 oder pT4 (Tabelle 7). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und T-Stadium ( $p = 0,2216$ ).

Tabelle 7: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und der Ausdehnung des Tumors im Operationspräparat anhand des T-Stadiums

T Stadium	YB-1* % (n)		P-Wert (Chi-Quadratstest)
	low	high	
pT2	65,7 (65)	57,3 (59)	p = 0,2216
pT3, pT4	34,4 (34)	42,7 (44)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

### 3.3.2.2. Befallene Lymphknoten im Operationspräparat

97,6% der Patienten mit einer geringen Expression von YB-1 im Tumor hatten keine befallenen Lymphknoten (pN0-Stadium). Von den Patienten mit einem high YB-1 im Tumor hatten 90,7% ein pN0-Stadium, 9,3% hatten befallene Lymphknoten (Tabelle 8). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und Lymphknotenstatus ( $p = 0,0992$ ).

Tabelle 8: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und dem Lymphknotenbefall der Patienten, welche eine radikale Lymphadenektomie im Rahmen der radikalen Prostatektomie erhielten

N Stadium	YB-1* % (n)		P-Wert (exakter Fisher Test)
	low	high	
pN0	97,6 (82)	90,7 (78)	p = 0,0992
pN1	2,4 (2)	9,3 (8)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

### 3.3.2.3. Residualtumor im Operationspräparat

Einen Residualtumor im Operationspräparat wiesen 23,3% der Patienten mit einem low YB-1 auf. Von den high YB-1 Patienten hatten 22,5% einen Residualtumor, bei 77,5% konnte eine R0-Resektion erreicht werden (Tabelle 9). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein eines Residualtumors und der YB-1 Expression ( $p = 0,9082$ ).

Tabelle 9: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und dem Anteil und der Anzahl der Patienten, die postoperativ einen Residualtumor aufwiesen

Residualtumor	YB-1* % (n)		P-Wert (Chi-Quadratstest)
	low	high	
nein	76,8 (76)	77,5 (79)	p = 0,9082
ja	23,2 (23)	22,5 (23)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

### 3.3.2.4. Tumordifferenzierung im Operationspräparat

Von den Patienten mit einer geringen Expression von YB-1 im Tumor hatten 70,7% ein Karzinom mit einem Gleason-Score zwischen 2 und 6, 18,2% hatten ein

Karzinom mit einem Gleason-Score von 7 und 11,1% hatten ein schlecht differenziertes Karzinom mit einem Gleason-Score zwischen 8 und 10. Von den Patienten mit einer hohen Expression von YB-1 im Tumor hatten 62,1% ein gut differenziertes Karzinom mit einem Gleason-Score zwischen 2 und 6, 20,4% hatten ein mäßig differenziertes Karzinom mit einem Gleason-Score von 7 und 17,5% hatten ein schlecht differenziertes Karzinom mit einem Gleason-Score zwischen 8 und 10. Auch zwischen Gleason-Score und YB-1 Expression zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang ( $p = 0,3481$ ).

Tabelle 10: Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und der Tumordifferenzierung anhand des Gleason-Scores

Gleason-Score	YB-1* % (n)		P-Wert (Chi-Quadratstest)
	low	high	
2 - 6	70,7 (70)	62,1 (64)	p = 0,3481
7	18,2 (18)	20,4 (21)	
8 - 10	11,1 (11)	17,5 (18)	

\*YB-1= Y-Box-Binding Protein 1

### 3.4. Überleben

Die Nachbeobachtungszeit betrug bei den Patienten des Kollektivs zwischen 10 und 15,9 Jahre, wobei die mediane Nachbeobachtungszeit bei 10,7 Jahren lag.

#### 3.4.1. Biochemisch rezidivfreies Überleben

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung hatten insgesamt 60 der 202 Patienten ein biochemisches Rezidiv. Von den Patienten der high YB-1 Subgruppe hatten zum Zeitpunkt der Datenerhebung 36, von den Patienten der low YB-1 Subgruppe hatten 24 ein biochemisches Rezidiv.

Die 10 Jahres-biochemisch-rezidivfreie-Überlebenswahrscheinlichkeit betrug bei den Patienten mit einer hohen YB-1 Expression 61 %, bei denjenigen mit einer niedrigen YB-1 Expression 73%, somit war die biochemisch-rezidivfreie Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten der high-YB-1 Gruppe zwar geringer, jedoch war der Unterschied statistisch nicht signifikant (Abbildung 5).

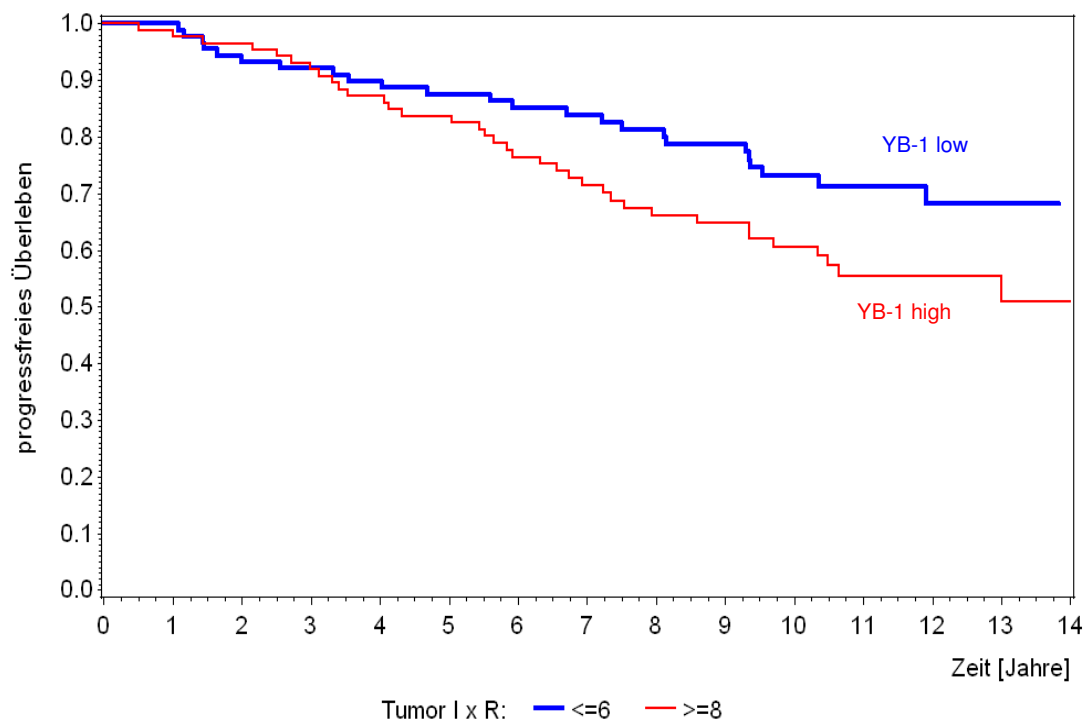


Abbildung 5: Biochemisch Rezidivfreies Überleben der Patienten mit einem high bzw. low YB-1

Separate Analysen von potentiellen prognostischen Faktoren für das biochemisch rezidivfreie Überleben zeigten, dass YB-1 einen Einfluss auf das biochemisch rezidivfreie Überleben hat. So hatten Patienten mit einer hohen YB-1 Expression ein 1,7fach höheres Risiko für ein biochemisches Rezidiv als Patienten mit einer

niedrigen YB-1 Expression. Der Zusammenhang war allerdings statistisch nicht signifikant ( $p = 0,059$ ).

Auch der Gleason-Score, das Tumorstadium T, ein postoperativ vorhandener Residualtumor R und der PSA-Wert hatten einen Einfluss auf das biochemisch rezidivfreie Überleben. So hatten Patienten mit einem Gleason-Score von  $\geq 8$  ein 5,6fach höheres Risiko ein biochemisches Rezidiv zu erleiden als Patienten mit einem Gleason-Score von  $\leq 6$ . Patienten mit einem Tumorstadium  $\geq pT3$  hatten ein 5,4fach höheres Risiko für ein biochemisches Rezidiv als Patienten mit einem Tumorstadium  $\leq pT2$  und Patienten mit Residualtumor R1 hatten ein 2,4fach höheres Risiko als Patienten mit einer R0-Resektion. Beim PSA-Wert stieg das Risiko für ein biochemisches Rezidiv pro ng/ml um 1,04 an.

Das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose, eine neoadjuvante Hormontherapie, ein positiver Lymphknotenstatus und eine adjuvante Therapie (mittels Radiatio oder Hormonentzug) hatten keinen Einfluss auf das biochemisch rezidivfreie Überleben (Tabelle 11).

Tabelle 11: Crude Hazard Ratio für das biochemisch rezidivfreie Überleben

Parameter	Hazard Ratio	95% CI	P-Wert
YB-1 high vs. low	1,65	[0,98;2,76]	0,059
Alter (Jahre; stetig)	1,02	[0,98;1,06]	0,310
Neoadj. Therapie Ja vs. nein	1,08	[0,34;3,45]	0,897
GS $\geq 8$ vs. $\leq 6$	5,59	[3,03;10,32]	<0,001
GS 7 vs. $\leq 6$	1,74	[0,91;3,33]	
PSA bei Diagnose (ng/ml; stetig)	1,04	[1,02;1,06]	<0,001
Tumor Stadium $\geq pT3$ vs. $\leq pT2$	5,44	[3,19;9,28]	<0,001
Lymphknotenstatus pN1 vs. pN0	2,05	[0,82;5,17]	0,127
Residualtumor R1 vs. R0	2,24	[1,31;3,84]	0,003
Radiatio Ja vs. Nein	1,46	[0,58;3,64]	0,421
Hormonentzug	1,58	[0,57;4,36]	0,379

CI = Confidence Interval; YB-1 = Y-Box-Binding Protein 1; GS = Gleason-Score; PSA = Prostata spezifisches Antigen



Bei simultaner Betrachtung aller in Tabelle 11 genannten potentiellen prognostischen Faktoren konnte in einer Multiplen Proportionalen Hazard Regressionsanalyse mit Backward Elimination gezeigt werden, dass Gleason-Score und Tumorstadium T wichtige prognostische Faktoren für das biochemisch rezidivfreie Überleben darstellen. YB-1 konnte nicht als wichtiger prognostischer Faktor für das progressfreie Überleben identifiziert werden (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnis der Multiplen Proportionalen Hazard Regressionsanalyse mit Backward Elimination (Selektionslevel 5%) für das biochemisch rezidivfreie Überleben

<b>Parameter</b>	<b>Hazard Ratio</b>	<b>95% CI</b>	<b>P-Wert</b>
Tumor Stadium $\geq$ pT3 vs. $\leq$ pT2	4,03	[2,20;7,37]	<0,001
Gleason-Score $\geq$ 8 vs. $\leq$ 6	3,31	[1,68;6,54]	0,002
Gleason-Score 7 vs. $\leq$ 6	1,03	[0,48;2,20]	

---

CI = Confidence Interval; YB-1 = Y-Box-Binding Protein; GS = Gleason-Score

### 3.4.2. Gesamtüberleben

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren 46 der 202 Patienten verstorben. Von den Patienten der high YB-1 Subgruppe waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung 32 Patienten verstorben, von denjenigen der low YB-1 Subgruppe 14 Patienten.

Die 10-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit betrug bei den Patienten mit einer hohen YB-1 Expression 75%, bei denjenigen mit einer niedrigen YB-1 Expression 86%, somit war die Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit der Patienten der high YB-1 Subgruppe statistisch signifikant geringer (Abbildung 6,  $p = 0,006$ ).

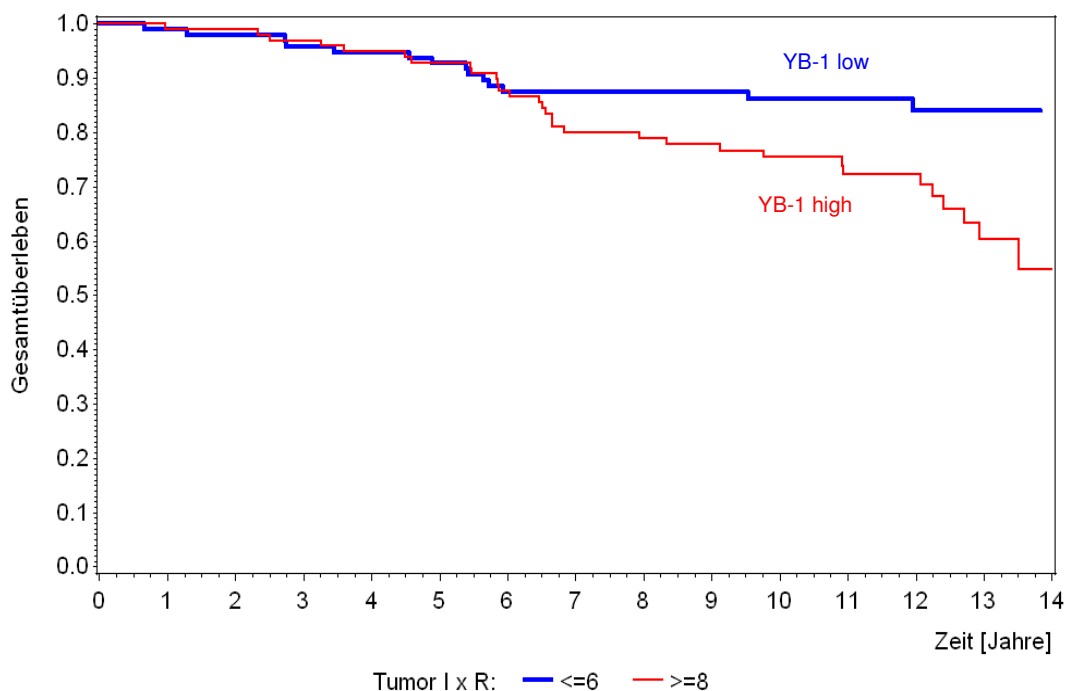


Abbildung 6: Gesamtüberleben der Patienten mit einem high bzw. low YB-1

Separate Analysen von potentiellen prognostischen Faktoren für das Gesamtüberleben zeigten, dass die YB-1 Expression einen Einfluss auf das Gesamtüberleben hat. So hatten Patienten mit einer hohen YB-1 Expression ein 2,4fach höheres Risiko zu versterben als die Patienten mit einer niedrigen YB-1 Expression ( $p = 0,008$ ).

Auch der Gleason-Score, das Tumorstadium T, das Alter zum Zeitpunkt der Diagnose sowie eine durchgeführte adjuvante Therapie mittels Hormonentzug hatten einen Einfluss auf das Gesamtüberleben. Vergleicht man Patienten mit einem Gleason-Score von  $\geq 8$  mit denen mit einem Gleason-Score von  $\leq 6$ , so hatten die Patienten mit dem hohen Gleason-Score ein 3,9fach erhöhtes Risiko zu versterben ( $p < 0,001$ ). Patienten mit einem Tumor im Stadium  $\geq pT3$  hatten gegenüber den Patienten mit

einem Tumor im Stadium  $\leq$  pT2 ein 3,2fach so hohes Risiko zu versterben ( $p < 0,001$ ). Beim Alter zum Operationszeitpunkt stieg das Risiko zu versterben pro Jahr um 1,08 an ( $p = 0,002$ ). Patienten, die eine adjuvante Therapie mittels Hormonentzug erhielten, hatten ein 2,5fach höheres Risiko zu versterben als Patienten die keinen Hormonentzug erhielten ( $p = 0,004$ ).

Der PSA-Wert zum Diagnosezeitpunkt, eine neoadjuvante Hormontherapie, ein positiver Lymphknotenstatus, ein Residualtumor sowie eine durchgeführte adjuvante Therapie mittels Radiatio hatten keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben (Tabelle 13).

Tabelle 13 : Crude Hazard Ratio für das Gesamtüberleben

Parameter	Hazard Ratio	95% CI	P-Wert
YB-1 high vs. low	2,35	[1,26;4,41]	0,008
Alter (Jahre; stetig)	1,08	[1,03;1,13]	0,002
Neoadj. Therapie ja vs. nein	0,42	[0,06;3,02]	0,386
GS $\geq 8$ vs. $\leq 6$	3,86	[2,04;7,31]	$<0,001$
GS 7 vs. $\leq 6$	0,86	[0,35;2,11]	
PSA bei Diagnose (ng/ml; stetig)	1,01	[0,98;1,03]	0,635
Tumor Stadium $\geq$ pT3 vs. $\leq$ pT2	3,18	[1,73;5,84]	$<0,001$
Lymphknotenstatus pN1 vs. pN0	1,40	[0,43;4,56]	0,574
Residualtumor R1 vs. R0	1,11	[0,57;2,15]	0,756
Radiatio	0,91	[0,46;1,78]	0,772
Hormonentzug	2,51	[1,35;4,66]	0,004

CI = Confidence Interval; YB-1 = Y-Box-Binding Protein 1; GS = Gleason-Score; PSA = Prostata spezifisches Antigen

Bei simultaner Betrachtung aller in Tabelle 13 genannten potentiellen prognostischen Faktoren für das Gesamtüberleben konnte in einer Multiplen Proportionalen Hazard Regressionsanalyse mit Backward Elimination gezeigt werden, dass die YB-1 Expression, das Alter zum Diagnosezeitpunkt sowie der Gleason-Score wichtige prognostische Faktoren für das Gesamtüberleben darstellen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Ergebnisse der Multiplen Proportionalen Hazard Regressionsanalyse mit Backward Elimination (Selektionslevel 5%) für das Gesamtüberleben

<b>Parameter</b>	<b>Hazard Ratio</b>	<b>95% CI</b>	<b>P-Wert</b>
Low vs. high YB-1	2,50	[1,19;5,25]	0,015
Alter (Jahre)	1,06	[1,01;1,12]	0,031
GS $\geq$ 8 vs. $\leq$ 6	3,26	[1,59;6,68]	0,002
GS 7 vs. $\leq$ 6	0,69	[0,23;2,05]	

CI = Confidence Interval; YB-1 = Y-Box-Binding Protein 1; GS = Gleason-Score

### 3.4.3. Karzinomspezifisches Überleben

Auf Grund der geringen Anzahl an durch das PCa verursachten Todesfällen wurde das Karzinomspezifische Überleben nur deskriptiv analysiert. Insgesamt verstarben 12 der 202 Patienten an ihrem Prostatakarzinom. Ein am PCa verstorbener Patient gehörte zur low YB-1-Subgruppe, während die restlichen 11 am PCa verstorbenen Patienten zur high YB-1-Subgruppe gehörten. Bei den Patienten mit einem high YB-1 betrug die Wahrscheinlichkeit innerhalb von 10 Jahren an ihrem PCa 8,6%, wohingegen die Wahrscheinlichkeit am PCa zu versterben bei den Patienten mit einem low YB-1 bei 0% innerhalb der ersten 10 Jahre lag. Somit kann hier ein Trend zum niedrigeren karzinomspezifischen Überleben in der Gruppe der Patienten mit einem high YB-1 beobachtet werden (Abbildung 7).

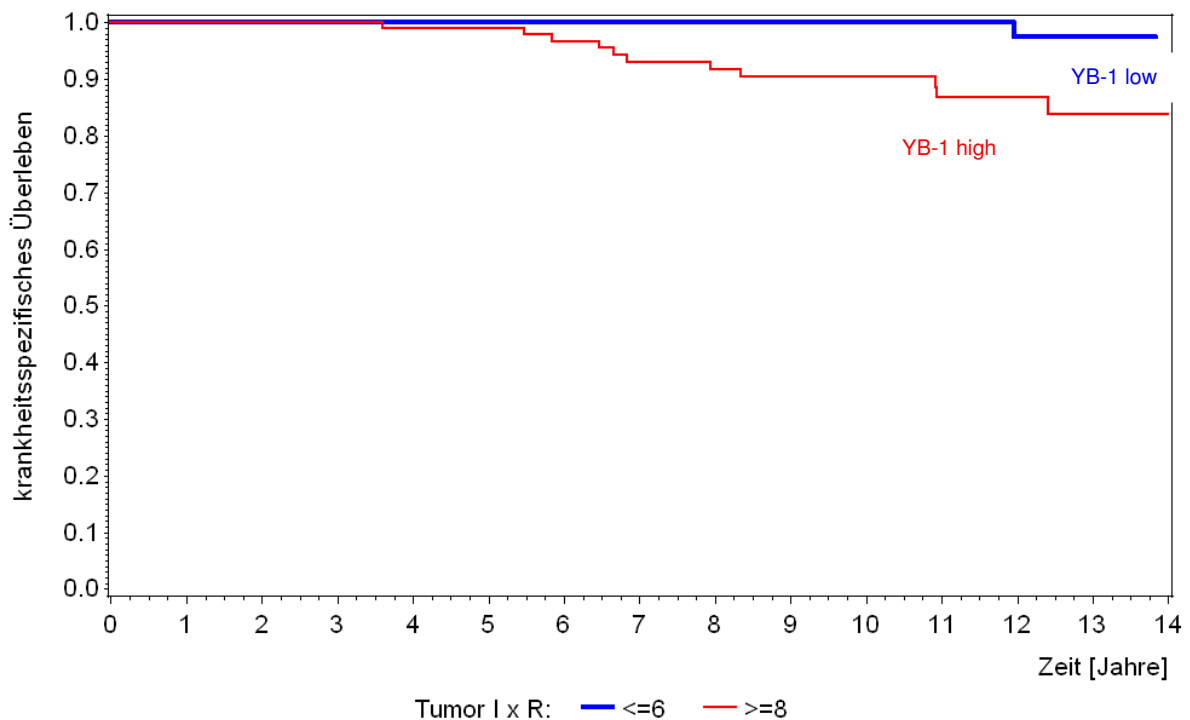


Abbildung 7: Krankheitsspezifisches Überleben der Patienten mit einem high bzw. low YB-1

## **4. Diskussion**

Die Suche nach neuen Biomarkern, die prognostische Aussagen über den Verlauf von Tumorerkrankungen im Allgemeinen und dem Prostatakarzinom im Speziellen zulassen, nimmt einen hohen Stellenwert in der medizinischen Forschung ein. In vorliegender Studie wurde mit dem Protein YB-1 ein potentiell neuer Biomarker für das PCa an n = 202 Patienten mit einem medianen Follow-up von 10,7 Jahren untersucht.

### **4.1. Klinische Daten des Patientenkollektivs**

Das in der vorliegenden Studie untersuchte Patientenkollektiv ist im Hinblick auf Alter und PSA-Wert zum Operationszeitpunkt, T-Stadium, Organbegrenzung, Residualtumor und neoadjuvanter Therapie in etwa vergleichbar mit Kollektiven anderer Studien, die den Zusammenhang zwischen klinischen Parametern und der Prognose, sowie das Outcome von radikal prostatektomierten PCa-Patienten untersuchen [22].

#### **4.1.1. Gleason-Score**

Betrachtet man die, mit dem Gleason-Score beschriebene, Tumordifferenzierung in den Operationspräparaten des von uns untersuchten Kollektivs, so fällt auf, dass zwei Drittel der Patienten mit einem Gleason-Score zwischen 3 und 6 einen relativ niedrigen Score aufwiesen. Es ist anzunehmen, dass die Gleason-Scores in der vorliegenden Studie heute höher bewertet würden, als das in den Jahren 1996 bis 2001 der Fall war. In einer US-amerikanischen Studie aus dem Jahr 2003 beschrieben Cooperberg et al einen statistisch signifikanten Trend zu einem höheren Gleason-Score. In dieser Studie wurden Daten von 6260 Patienten analysiert, bei denen zwischen 1989 und 2001 ein PCa diagnostiziert wurde. Es zeigte sich eine Zunahme der Gleason-Scores 5-7 von 57% auf 89,6% und eine Abnahme der Gleason-Scores 2-4 von 33,3% auf 1,6% [16]. In einer schwedischen Studie aus dem Jahr 2007 wurden Daten von insgesamt 72.028 Patienten analysiert, bei denen zwischen 1996 und 2005 ein PCa diagnostiziert wurde. Auch hier zeigte sich eine Zunahme der Gleason-Score 5 und 6 von 58% auf 66,3%, sowie eine Zunahme des Gleason-Scores 7 und eine gleichzeitige Abnahme der Gleason-Scores 2-4 von 10,4% auf 2,6% [1].

Albertsen et al ließen histologische Schnittpräparate von 1858 Männern, bei denen 1990-1992 ein PCa diagnostiziert wurde, in den Jahren 2002-2004 erneut von erfahrenen Pathologen untersuchen. Das Ergebnis der ersten Untersuchung war den Pathologen nicht bekannt. Die erneute Untersuchung erbrachte statistisch signifikant höhere Gleason-Scores (im Mittel 6,8 gegenüber 5,95) [3].

Alle drei Studien machen eine Reklassifizierung des Gleason-Scores unter Pathologen und damit einen Wandel in der Beurteilungspraxis in den vergangenen zwei Jahrzehnten für die Ergebnisse verantwortlich.

#### **4.1.2. Lymphknotenstatus**

Betrachtet man den Lymphknotenstatus der, in die vorliegende Studie eingeschlossenen, 202 radikal prostatektomierten Patienten, so hatten 94,1% ein pN0 Stadium und nur 5,9% ein pN1 Stadium.

In einer Studie von Schostak et al wurden 457 Lymphknoten von 70 Patienten, die in den Jahren 1999/2000 in der Berliner Charité operiert wurden, untersucht. In der histopathologischen Untersuchung von 1999/2000 wurde bei 83% ein pN0 Stadium und bei 17% der Patienten ein pN1 Stadium diagnostiziert [67].

Joslyn et al kommen in ihrer Studie aus dem Jahr 2006 zu dem Ergebnis, dass eine höhere Anzahl an entnommenen Lymphknoten mit einer größeren Wahrscheinlichkeit, befallene Lymphknoten zu entdecken, assoziiert ist [40].

Die Deutsche Gesellschaft für Urologie empfiehlt in ihrer S3-Leitlinie bei Durchführung einer radikalen Lymphadenektomie heute die Entnahme von mindestens 10 Lymphknoten [10].

Die mit 94,1% (gegenüber 83%) deutlich höhere Zahl an Patienten mit einem pN0 Stadium aus unserer Studie, könnte mit einer geringeren Zahl an entnommenen Lymphknoten oder mit einem weniger ausgedehnten Lymphadenektomie-Feld erklärt werden.

#### **4.1.3. Subzelluläre Lokalisation von YB-1 im Operationspräparat**

In der vorliegenden Arbeit war YB-1 mit 86,1% in der überwiegenden Zahl der Operationspräparate im Zytoplasma lokalisiert, nur in einem Operationspräparat wurde die YB-1 Expression ausschließlich im Nukleus nachgewiesen. In mit 27 (13,4%) wenigen Fällen war die YB-1 Expression sowohl im Zytoplasma als auch im Nukleus nachzuweisen.

Eine Studie von Gluz et al aus dem Jahr 2009, in der 211 Operationspräparate von Mammakarzinom-Patientinnen auf die subzelluläre Lokalisation von YB-1 untersucht wurden, kommt zu folgenden Ergebnissen: In 18% der Präparate konnte keine YB-1 Expression nachgewiesen werden, die restlichen 82% der Präparate zeigten eine zytoplasmatische Lokalisation von YB-1. In keinem Fall konnte YB-1 im Nukleus nachgewiesen werden [27].

In der Literatur finden sich eine Reihe von weiteren Studien, in denen unter anderem die subzelluläre Lokalisation von YB-1 in diversen Tumorentitäten untersucht wurde. Im Gegensatz zu den Ergebnissen aus der vorliegenden Studie und aus der Studie von Gluz et al konnte hier YB-1 durchaus im Nukleus nachgewiesen werden, so z.B. bei Shibahara et al und Kashihara et al im Lungenkarzinom, bei Kamura et al im Ovarialkarzinom, bei Xu et al im B-Zell-Lymphom oder bei Kolk et al im Plattenepithelkarzinom von Kopf und Hals. Die nukleäre Lokalisation von YB-1 war letztendlich in allen Studien mit einer schlechteren Prognose der Patienten assoziiert.[41, 42, 45, 69, 77]

In einer Arbeit von Giménez-Bonafé et al aus dem Jahr 2004, die neben der vorliegenden Arbeit als einzige, uns bekannte, die YB-1 Expression in der Prostata analysiert, wurden 400 Operationspräparate aus benignen und malignen Prostatatumoren unter anderem auf die subzelluläre Lokalisation von YB-1 untersucht. In den benignen Prostatatumoren wurde lediglich eine geringe und überwiegend zytoplasmatische YB-1-Expression nachgewiesen. In den Operationspräparaten aus den Prostatakarzinomen konnte YB-1 überwiegend perinukleär und nukleär nachgewiesen werden und die Intensität der Expression stieg mit steigendem Gleason-Score [26]. Die Ergebnisse von Giménez-Bonafé et al über die subzelluläre Lokalisation von YB-1 im Prostatakarzinom konnten in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden, so war YB-1 hier überwiegend im Zytoplasma und nur in einem Fall ausschließlich nukleär lokalisiert.

Unsere Kooperationspartner für die immunhistochemische Analyse der YB-1 Expression waren bereits an den Studien von Gluz et al und Kolk et al beteiligt, wobei im Mammakarzinom keine nukleäre, im Plattenepithelkarzinom von Kopf und Hals jedoch in 88 bzw. 90% der Fälle eine nukleäre Lokalisation von YB-1 gezeigt werden konnte. Basierend auf diesen Ergebnissen schließen wir daher technische Probleme, etwa beim Antikörper oder in der Immunhistochemie, aus. Die Unterschiede in den Ergebnissen einzelner Gruppen in verschiedenen Tumorentitäten könnten evt. auf eine organ- bzw. tumorspezifische subzelluläre



Lokalisation oder auf unterschiedliche Asservationsverfahren in den verschiedenen Kliniken zurückzuführen sein.

#### **4.2. Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und anderen prognostischen Faktoren**

In der vorliegenden Studie wurden die Zusammenhänge zwischen der YB-1 Expression und den klinischen Faktoren Alter zum Operationszeitpunkt, PSA-Wert bei Diagnose, neoadjuvante Therapie, T-Stadium, N-Stadium, Residualtumor sowie Gleason-Score analysiert. Es zeigten sich keinerlei statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen der YB-1 Expression und den genannten klinischen und prognostischen Faktoren (Tabellen 4 - 10). Lediglich beim Lymphknotenstatus lässt sich ein leichter Trend dafür erkennen, dass eine hohe Expression von YB-1 mit vermehrt befallenen Lymphknoten assoziiert sein könnte (Tabelle 8). Hieraus könnte man schließen, dass YB-1 als unabhängiger prognostischer Faktor für das Prostatakarzinom und seinen Verlauf nach radikaler Prostatektomie gelten könnte.

Auch in einigen der bereits oben genannten Studien wurde der Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und anderen klinischen und prognostischen Faktoren untersucht, wobei sich anders als in der vorliegenden Studie teilweise durchaus statistisch signifikante Zusammenhänge zeigten. So zeigte sich beispielsweise bei Gluz et al im Mammakarzinom ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der YB-1 Expression und dem Tumor Grading ( $p < 0,001$ ) und bei Shibahara et al im Lungenkarzinom ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der YB-1 Expression und dem T-Stadium ( $p = 0,0005$ ), dem Lymphknotenstatus ( $p = 0,0025$ ), dem pathologischen Tumorstaging ( $p = 0,0004$ ) und dem histologischen Subtyp. In der multivariaten Analyse zeigte sich, dass YB-1 im nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom nicht als unabhängiger prognostischer Faktor fungieren kann [27, 69].

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Kamura et al im Ovarialkarzinom, ähnlich wie in der vorliegenden Studie auch, kein Zusammenhang zwischen nukleärer YB-1 Expression und klinischen Faktoren, die Einfluss auf die Prognose der Patienten haben könnten, wie Residualtumor, intraperitonealem Staging sowie histologischem Grading. Diese Ergebnisse legen – ähnlich wie die Ergebnisse aus der vorliegenden Studie – laut Kamura et al nahe, dass YB-1 ein unabhängiger prognostischer Faktor im Ovarialkarzinom sein könnte [41].

Auch Xu et al untersuchten in ihrer Studie über die YB-1 Expression im B-Zell-Lymphom die Zusammenhänge zwischen der nukleären YB-1 Expression und anderen prognostischen und klinischen Faktoren. Kein statistisch signifikanter Zusammenhang ergab sich zwischen YB-1 Expression und Geschlecht bzw. Alter. Die nukleäre YB-1 Expression war statistisch signifikant höher in Lymphomen der Stadien III und IV (mit extralymphatischem Befall und Knochenmarksbefall) als in Lymphomen der Stadien I und II (ohne extralymphatischem Befall und Knochenmarksbefall). Xu et al schließen aus diesen Ergebnissen, dass YB-1 ein prognostischer Faktor für Tumor Aggressivität und Metastasierung im B-Zell-Lymphom sein könnte [77].

In der Studie von Giménez-Bonafé, die wie die vorliegende Studie die YB-1 Expression im Prostatakarzinom untersucht, zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der YB-1 Expression und dem Gleason-Score ( $p < 0,001$ ). Es werden hier aber keine Angaben darüber gemacht, ob es sich um Gleason-Scores aus Operationspräparaten nach radikaler Prostatektomie oder ob es sich lediglich um die Gleason-Scores der Biopsien handelt. Außerdem wurden keinerlei weitere klinische Daten und deren eventuelle Zusammenhänge mit der YB-1 Expression untersucht [25].

### **4.3. Überleben**

In der hier vorliegenden Studie wurde, ähnlich wie in den bereits oben genannten Studien, erstmals der Zusammenhang zwischen der YB-1 Expression und dem Überleben der Patienten mit einem Prostatakarzinom untersucht. Wir analysierten hierfür das biochemisch-rezidivfreie Überleben, das Gesamtüberleben und das karzinomspezifische Überleben.

In der - soweit uns bekannten - einzigen Studie, die sich ebenfalls mit der YB-1 Expression im Prostatakarzinom befasste, wurden keinerlei Daten zum Überleben der 400 Patienten, deren Gewebeschnitte auf die YB-1 Expression untersucht wurden, analysiert [26].

#### **4.3.1. Biochemisch-rezidivfreies Überleben**

Beim biochemisch-rezidivfreien Überleben ergab sich in der vorliegenden Studie zwar für die Patienten mit einer hohen YB-1 Expression ein schlechteres Outcome im Vergleich zu Patienten mit einer niedrigen YB-1 Expression, jedoch waren die Ergebnisse statistisch nicht signifikant ( $p = 0,056$ ). Es zeigte sich zwischen der YB-1

Expression und dem biochemisch-rezidivfreien Überleben gerade eben kein statistisch signifikanter Zusammenhang ( $p = 0,059$ ). Jedoch lässt sich durchaus eine Tendenz für eine Korrelation von hoher YB-1 Expression und geringerer biochemisch-rezidivfreier Überlebensrate erkennen. In der Regressionsanalyse konnte YB-1 nicht als prognostischer Faktor für das biochemisch-rezidivfreie Überleben identifiziert werden.

Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen aus der Studie von Gluz et al über die YB-1 Expression im Mamma-Ca. Auch hier zeigte sich zwar eine Assoziation zwischen der YB-1 Expression und dem rezidivfreien Überleben, jedoch waren die Zusammenhänge statistisch nicht signifikant ( $p = 0,24$ ) [27].

In zwei weiteren Studien wurde ebenfalls der Zusammenhang zwischen nukleärer bzw. zytoplasmatischer YB-1 Expression und dem rezidivfreien Überleben der Patienten untersucht. So konnten beispielsweise Kamura et al zeigen, dass Patientinnen mit einem nukleär positiven Ovarialkarzinom eine statistisch signifikant geringere rezidivfreie Überlebensrate hatten ( $p = 0,0025$ ) und auch Xu et al konnten zeigen, dass Patienten mit einem B-Zell-Lymphom und nukleärer YB-1 Expression ein signifikant kürzeres rezidivfreies Überleben als Patienten mit zytoplasmatischer YB-1 Expression ( $p = 0,0001$ ) hatten [41, 77].

Insgesamt sind Ergebnisse zum biochemisch-rezidivfreien Überleben im PCa nur schwer mit Ergebnissen zum rezidivfreien Überleben in anderen Tumorentitäten zu vergleichen. Wie in 2.4. beschrieben wird in der vorliegenden Studie das biochemische Rezidiv als PSA-Anstieg auf  $\geq 0,2\text{ng/ml}$  definiert. In anderen Tumorentitäten ist eine so genaue Eingrenzung und frühe Beschreibung des Rezidivs bzw. ein Erkennen des Rezidivs vor positiver Bildgebung oft nicht möglich. So wird auch weder bei Gluz et al noch bei Kamura et al und Xu et al das rezidivfreie Überleben näher definiert.

#### **4.3.2. Gesamtüberleben**

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich zwischen der YB-1 Expression und dem Gesamtüberleben der Patienten ein statistisch signifikanter Zusammenhang ( $p = 0,008$ ). In der Regressionsanalyse konnte YB-1 als prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben identifiziert werden ( $p = 0,015$ ).

Auch bei Gluz et al war der Zusammenhang zwischen einer hohen YB-1 Expression und dem Gesamtüberleben statistisch signifikant ( $p = 0,01$ ). So war das durchschnittliche Gesamtüberleben der Patientinnen mit 78 Monaten signifikant

kürzer bei Patientinnen mit einer hohen YB-1 Expression als bei Patientinnen mit einer niedrigen YB-1 Expression (97 Monate). Gluz et al erklären sich diesen Zusammenhang mit einer eventuell vorhandenen globalen Resistenz bei einer hohen YB-1 Expression gegenüber palliativen Therapieansätzen im Mamma-Ca [27].

Shibahara et al führten eine multivariate Cox Regressionsanalyse durch, um weitere prognostische Faktoren und deren Einfluss auf das Gesamtüberleben beim Lungenkarzinom zu evaluieren. Es zeigte sich, dass lediglich T-Stadium ( $p=0,0011$ ) und Lymphknotenstatus ( $p<0,0001$ ) als unabhängige prognostische Marker für das Gesamtüberleben im Lungenkarzinom galten. Die nukleäre Expression von YB-1 konnte nicht als unabhängiger prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben identifiziert werden [69].

Kashihara et al untersuchten in ihrer Studie ebenfalls den Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und Gesamtüberleben im nichtkleinzelligen Lungenkarzinom. Auch hier zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und Gesamtüberleben, wenn die Lungenkarzinome unabhängig von ihrer histologischen Subgruppe betrachtet wurden ( $p = 0,028$ ). Es wurden die beiden Subgruppen Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom getrennt voneinander betrachtet. Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen nukleärer YB-1 Expression und Gesamtüberleben ausschließlich beim Adenokarzinom ( $p = 0,007$  [Adenokarzinom] versus  $p = 0,381$  [Plattenepithelkarzinom]) [42].

#### **4.3.3. Karzinomspezifisches Überleben**

Das karzinomspezifische Überleben konnte in der vorliegenden Arbeit nur deskriptiv analysiert werden, da nur 12 der 46 verstorbenen Patienten am PCa verstorben waren. Lediglich einer der am PCa verstorbenen Patienten hatte eine niedrige YB-1 Expression, alle anderen 11 verstorbenen Patienten hatten eine hohe YB-1 Expression. Somit lässt sich hier durchaus eine Tendenz dafür erkennen, dass eine hohe YB-1 Expression mit einer niedrigeren karzinomspezifischen Überlebensrate korreliert. Um diese Tendenzen statistisch untermauern zu können, sollten - nach einem längeren Follow up - die Daten erneut analysiert werden.

In einigen anderen der bereits oben erwähnten Studien wurde der Zusammenhang zwischen nukleärer Expression von YB-1 und karzinom- bzw.- tumorspezifischer Überlebenszeit untersucht, wobei sich in allen Fällen statistisch signifikante Zusammenhänge zeigten. So zeigte sich sowohl bei Shibahara et al im

Lungenkarzinom als auch bei Xu et al im B-Zell-Lymphom und bei Kolk et al im Plattenepithelkarzinom von Kopf und Hals ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen nukleärer YB-1 Expression und karzinomspezifischer Überlebenszeit ( $p = 0,0494$  [Lungenkarzinom],  $p = 0,0001$  [B-Zell-Lymphom],  $p = 0,008$  [Plattenepithelkarzinom von Kopf und Hals]).

Allerdings muss bedacht werden, dass die Prognose von Tumoren wie dem Lungenkarzinom, dem B-Zell-Lymphom oder dem Plattenepithelkarzinom von Kopf und Hals weitaus schlechter ist, als die Prognose des Prostatakarzinoms. Somit konnten die Gruppen um Shibahara et al, Xu et al und Kolk et al bereits nach wesentlich kürzeren Nachbeobachtungszeiten statistisch berechnete Ergebnisse liefern, als dies bei der vorliegenden Studie über das PCa der Fall ist.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das Protein YB-1 als prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben nach radikaler Prostatektomie fungieren kann. Daneben zeigte sich in der vorliegenden Arbeit auch ein Trend dafür, dass YB-1 ebenfalls einen prognostischen Faktor für das biochemisch-rezidivfreie Überleben und das karzinomspezifische Überleben nach radikaler Prostatektomie darstellen könnte.

Zu bedenken ist, dass in der vorliegenden Studie das Patientenkollektiv ausschließlich aus Patienten nach radikaler Prostatektomie besteht – Risikogruppen wie beispielsweise Patienten mit einem primär metastasierten PCa werden hier nicht berücksichtigt. Eine erneut durchgeführte Studie zur Bedeutung des Proteins YB-1 als prognostischer Faktor im Prostatakarzinom, könnte einerseits Risikogruppen wie z.B. die oben genannte mit einschließen, andererseits wäre es (wie in anderen Tumorentitäten bereits geschehen) interessant herauszufinden, wie die Ansprechrate auf verschiedene Therapiekonzepte wie Hormonentzug oder Chemotherapie in Abhängigkeit von der YB-1 Expression ist. Letztendlich wäre es wünschenswert, eine prospektive Studie durchzuführen und somit die Ergebnisse der vorliegenden Studie validieren und verifizieren zu können.

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung des Proteins Y-Box-Protein 1 als potentiell neuer Biomarker für die Prognose des Prostatakarzinoms untersucht.

Ziel war es, einerseits den Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und anderen klinischen und histopathologischen Parametern zu untersuchen. Andererseits sollte die Wertigkeit des Proteins YB-1 als Prädiktor für das biochemisch-rezidivfreie Überleben, das Gesamtüberleben und das karzinomspezifische Überleben nach radikaler Prostatektomie bestimmt werden. Zusätzlich sollten weitere klinische und histopathologische Parameter auf ihre Prognosefähigkeit für biochemisch-rezidivfreies Überleben, Gesamtüberleben und karzinomspezifisches Überleben nach radikaler Prostatektomie untersucht werden.

Für die Fragestellung wurden insgesamt Daten von 202 Patienten, die zwischen 1996 und 2001 in der Urologischen Klinik des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München radikal prostatektomiert wurden, ausgewertet.

Das mediane Alter der Patienten betrug 64,3 Jahre, die mediane Nachbeobachtungszeit der Patienten 10,7 Jahre.

In vorliegender Studie wurde der Zusammenhang zwischen der Expression von YB-1 und folgenden Merkmalen bestimmt: Alter zum Operationszeitpunkt, prostataspezifischer Antigen-Wert bei Diagnose, neoadjuvanter Therapie vor radikaler Prostatektomie und den histopathologischen Befunden Tumorstadium, Lymphknotenstatus, Residualtumor und Gleason-Score. Es zeigte sich keinerlei statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der YB-1 Expression und den genannten Parametern. In der Literatur finden sich unterschiedliche Ergebnisse für den Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und klinischen / histopathologischen Parametern in den verschiedenen Malignomen. Studien, in denen sich, wie in der vorliegenden Studie auch, kein Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und klinischen / histopathologischen Parametern zeigte, schließen daraus, dass YB-1 als unabhängiger prognostischer Faktor im jeweiligen Malignom fungieren könnte.

In vorliegender Studie wurde außerdem der Zusammenhang zwischen biochemisch-rezidivfreiem Überleben und der YB-1 Expression, sowie folgenden Merkmalen bestimmt: Alter zum Operationszeitpunkt, prostataspezifischer Antigen-Wert bei Diagnose, neoadjuvanter Therapie vor radikaler Prostatektomie, den histopathologischen Befunden Tumorstadium, Lymphknotenstatus, Residualtumor und Gleason-Score und einer adjuvanten Therapie mittels Radiatio oder

Hormonentzug. Es ergab sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem biochemisch-rezidivfreien Überleben und dem Gleason-Score, dem Tumorstadium, dem prostataspezifischen Antigen-Wert und dem Residualtumor. Der Zusammenhang zwischen YB-1 Expression und biochemisch-rezidivfreiem Überleben war nur annähernd statistisch signifikant ( $p = 0,059$ ), es ließ sich hier aber eine Tendenz erkennen, dass eine hohe YB-1 Expression mit einer geringeren biochemisch-rezidivfreien Überlebensrate zusammenhängt.

Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen Gesamtüberleben und der YB-1 Expression sowie den oben genannten Parametern untersucht. Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben und der YB-1 Expression ( $p = 0,008$ ), dem Alter der Patienten, dem Gleason-Score, dem Tumorstadium sowie einer adjuvanten Therapie mittels Hormonentzug.

Zusätzlich wurde der Zusammenhang zwischen dem karzinomspezifischen Überleben und der YB-1 Expression untersucht. Auf Grund der geringen Anzahl der Patienten die am Prostatakarzinom verstorben waren ( $n = 12, 5,9\%$ ), wurde dieser Zusammenhang nur deskriptiv beschrieben: einer der Patienten hatte eine niedrige YB-1 Expression, die restlichen 11 am Prostatakarzinom verstorbenen Patienten hatten eine hohe YB-1 Expression.

Es lässt sich insgesamt schlussfolgern, dass YB-1 als unabhängiger prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben nach radikaler Prostatektomie fungieren kann. Um YB-1 ebenfalls als unabhängigen prognostischen Faktor für das biochemisch-rezidivfreie Überleben und das karzinomspezifische Überleben bestätigen zu können, ist es erforderlich, weitere Studien, gegebenenfalls nach längerem Follow up und mit einer höheren Anzahl an Patienten, durchzuführen.

## 6. Literaturverzeichnis

- [1] Adolfsson, J., Garmo, H., Varenhorst, E., Ahlgren, G., Ahlstrand, C., Andren, O., Bill-Axelsson, A., Bratt, O., Damber, J.E., Hellstrom, K., Hellstrom, M., Holmberg, E., Holmberg, L., Hugosson, J., Johansson, J.E., Petterson, B., Tornblom, M., Widmark, A., Stattin, P. Clinical characteristics and primary treatment of prostate cancer in Sweden between 1996 and 2005. *Scand J Urol Nephrol.* 41 (2007) 456-477
- [2] Akduman, B., Crawford, E.D. The management of high risk prostate cancer. *J Urol.* 169 (2003) 1993-1998
- [3] Albertsen, P.C., Hanley, J.A., Barrows, G.H., Penson, D.F., Kowalczyk, P.D., Sanders, M.M., Fine, J. Prostate cancer and the Will Rogers phenomenon. *J Natl Cancer Inst.* 97 (2005) 1248-1253
- [4] Andriole, G.L., Crawford, E.D., Grubb, R.L., 3rd, Buys, S.S., Chia, D., Church, T.R., Fouad, M.N., Gelmann, E.P., Kvale, P.A., Reding, D.J., Weissfeld, J.L., Yokochi, L.A., O'Brien, B., Clapp, J.D., Rathmell, J.M., Riley, T.L., Hayes, R.B., Kramer, B.S., Izmirlian, G., Miller, A.B., Pinsky, P.F., Prorok, P.C., Gohagan, J.K., Berg, C.D., Team, P.P. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med.* 360 (2009) 1310-1319
- [5] Astanehe, A., Finkbeiner, M.R., Krzywinski, M., Fotovati, A., Dhillon, J., Berquin, I.M., Mills, G.B., Marra, M.A., Dunn, S.E. MKNK1 is a YB-1 target gene responsible for imparting trastuzumab resistance and can be blocked by RSK inhibition. *Oncogene.* (2012)
- [6] Bargou, R.C., Jurchott, K., Wagener, C., Bergmann, S., Metzner, S., Bommert, K., Mapara, M.Y., Winzer, K.J., Dietel, M., Dorken, B., Royer, H.D. Nuclear localization and increased levels of transcription factor YB-1 in primary human breast cancers are associated with intrinsic MDR1 gene expression. *Nat Med.* 3 (1997) 447-450
- [7] Bergmann, S., Royer-Pokora, B., Fietze, E., Jurchott, K., Hildebrandt, B., Trost, D., Leenders, F., Claude, J.C., Theuring, F., Bargou, R., Dietel, M., Royer, H.D. YB-1 provokes breast cancer through the induction of chromosomal instability that emerges from mitotic failure and centrosome amplification. *Cancer Res.* 65 (2005) 4078-4087
- [8] Bieler, A., Mantwill, K., Holzmuller, R., Jurchott, K., Kaszubiak, A., Stark, S., Glockzin, G., Lage, H., Grosu, A.L., Gansbacher, B., Holm, P.S. Impact of radiation therapy on the oncolytic adenovirus dl520: implications on the treatment of glioblastoma. *Radiother Oncol.* 86 (2008) 419-427
- [9] Bill-Axelsson, A., Holmberg, L., Ruutu, M., Haggman, M., Andersson, S.O., Bratell, S., Spangberg, A., Busch, C., Nordling, S., Garmo, H., Palmgren, J., Adami, H.O., Norlen, B.J., Johansson, J.E., Scandinavian Prostate Cancer Group Study, N. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med.* 352 (2005) 1977-1984



- [10] Briganti, A., Chun, F.K., Salonia, A., Zanni, G., Scattoni, V., Valiquette, L., Rigatti, P., Montorsi, F., Karakiewicz, P.I. Validation of a nomogram predicting the probability of lymph node invasion among patients undergoing radical prostatectomy and an extended pelvic lymphadenectomy. *Eur Urol.* 49 (2006) 1019-1026; discussion 1026-1017
- [11] Bryant, R.J., Hamdy, F.C. Screening for prostate cancer: an update. *Eur Urol.* 53 (2008) 37-44
- [12] Bussemakers, M.J., van Bokhoven, A., Verhaegh, G.W., Smit, F.P., Karthaus, H.F., Schalken, J.A., Debruyne, F.M., Ru, N., Isaacs, W.B. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res.* 59 (1999) 5975-5979
- [13] Byar, D.P., Corle, D.K. Hormone therapy for prostate cancer: results of the Veterans Administration Cooperative Urological Research Group studies. *NCI Monogr.* (1988) 165-170
- [14] Carter, C.A., Donahue, T., Sun, L., Wu, H., McLeod, D.G., Amling, C., Lance, R., Foley, J., Sexton, W., Kusuda, L., Chung, A., Soderdahl, D., Jackmaan, S., Moul, J.W. Temporarily deferred therapy (watchful waiting) for men younger than 70 years and with low-risk localized prostate cancer in the prostate-specific antigen era. *J Clin Oncol.* 21 (2003) 4001-4008
- [15] Cooperberg, M.R., Broering, J.M., Kantoff, P.W., Carroll, P.R. Contemporary trends in low risk prostate cancer: risk assessment and treatment. *J Urol.* 178 (2007) S14-19
- [16] Cooperberg, M.R., Lubeck, D.P., Mehta, S.S., Carroll, P.R., CaPSure. Time trends in clinical risk stratification for prostate cancer: implications for outcomes (data from CaPSURE). *J Urol.* 170 (2003) S21-25; discussion S26-27
- [17] D'Amico, A.V., Cote, K., Loffredo, M., Renshaw, A.A., Schultz, D. Determinants of prostate cancer specific survival following radiation therapy during the prostate specific antigen era. *J Urol.* 170 (2003) S42-46; discussion S46-47
- [18] Danila, D.C., Morris, M.J., de Bono, J.S., Ryan, C.J., Denmeade, S.R., Smith, M.R., Taplin, M.E., Buble, G.J., Kheoh, T., Haqq, C., Molina, A., Anand, A., Koscuiskza, M., Larson, S.M., Schwartz, L.H., Fleisher, M., Scher, H.I. Phase II multicenter study of abiraterone acetate plus prednisone therapy in patients with docetaxel-treated castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol.* 28 (2010) 1496-1501
- [19] Das, S., Chattopadhyay, R., Bhakat, K.K., Boldogh, I., Kohno, K., Prasad, R., Wilson, S.H., Hazra, T.K. Stimulation of NEIL2-mediated oxidized base excision repair via YB-1 interaction during oxidative stress. *J Biol Chem.* 282 (2007) 28474-28484
- [20] de Bono, J.S., Oudard, S., Ouzguroglu, M., Hansen, S., Machiels, J.P., Kocak, I., Gravis, G., Bodrogi, I., Mackenzie, M.J., Shen, L., Roessner, M., Gupta, S.,

- Sartor, A.O., Investigators, T. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet*. 376 (2010) 1147-1154
- [21] Didier, D.K., Schiffenbauer, J., Woulfe, S.L., Zacheis, M., Schwartz, B.D. Characterization of the cDNA encoding a protein binding to the major histocompatibility complex class II Y box. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 85 (1988) 7322-7326
- [22] Dorin, R.P., Lieskovsky, G., Fairey, A.S., Cai, J., Daneshmand, S. Outcomes after radical prostatectomy for patients with clinical stages T1-T2 prostate cancer with pathologically positive lymph nodes in the prostate-specific antigen era(). *Urol Oncol*. (2012)
- [23] Eichler, K., Hempel, S., Wilby, J., Myers, L., Bachmann, L.M., Kleijnen, J. Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. *J Urol*. 175 (2006) 1605-1612
- [24] Finkbeiner, M.R., Astanehe, A., To, K., Fotovati, A., Davies, A.H., Zhao, Y., Jiang, H., Stratford, A.L., Shadeo, A., Boccaccio, C., Comoglio, P., Mertens, P.R., Eirew, P., Raouf, A., Eaves, C.J., Dunn, S.E. Profiling YB-1 target genes uncovers a new mechanism for MET receptor regulation in normal and malignant human mammary cells. *Oncogene*. 28 (2009) 1421-1431
- [25] Fujii, T., Kawahara, A., Basaki, Y., Hattori, S., Nakashima, K., Nakano, K., Shirouzu, K., Kohno, K., Yanagawa, T., Yamana, H., Nishio, K., Ono, M., Kuwano, M., Kage, M. Expression of HER2 and estrogen receptor alpha depends upon nuclear localization of Y-box binding protein-1 in human breast cancers. *Cancer Res*. 68 (2008) 1504-1512
- [26] Gimenez-Bonafe, P., Fedoruk, M.N., Whitmore, T.G., Akbari, M., Ralph, J.L., Ettinger, S., Gleave, M.E., Nelson, C.C. YB-1 is upregulated during prostate cancer tumor progression and increases P-glycoprotein activity. *Prostate*. 59 (2004) 337-349
- [27] Gluz, O., Mengele, K., Schmitt, M., Kates, R., Diallo-Danebrock, R., Neff, F., Royer, H.D., Eckstein, N., Mohrmann, S., Ting, E., Kiechle, M., Poremba, C., Nitz, U., Harbeck, N. Y-box-binding protein YB-1 identifies high-risk patients with primary breast cancer benefiting from rapidly cycled tandem high-dose adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 27 (2009) 6144-6151
- [28] Graefen, M., Walz, J., Huland, H. Open retropubic nerve-sparing radical prostatectomy. *Eur Urol*. 49 (2006) 38-48
- [29] Haese, A., de la Taille, A., van Poppel, H., Marberger, M., Stenzl, A., Mulders, P.F., Huland, H., Abbou, C.C., Remzi, M., Tinzl, M., Feyerabend, S., Stillebroer, A.B., van Gils, M.P., Schalken, J.A. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol*. 54 (2008) 1081-1088
- [30] Harnden, P., Naylor, B., Shelley, M.D., Clements, H., Coles, B., Mason, M.D. The clinical management of patients with a small volume of prostatic cancer

on biopsy: what are the risks of progression? A systematic review and meta-analysis. *Cancer*. 112 (2008) 971-981

- [31] Harris, R., Lohr, K.N. Screening for prostate cancer: an update of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 137 (2002) 917-929
- [32] Heidenreich, A., Aus, G., Bolla, M., Joniau, S., Matveev, V.B., Schmid, H.P., Zattoni, F., European Association of, U. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol*. 53 (2008) 68-80
- [33] Hessels, D., Klein Gunnewiek, J.M., van Oort, I., Karthaus, H.F., van Leenders, G.J., van Balken, B., Kiemeny, L.A., Witjes, J.A., Schalken, J.A. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol*. 44 (2003) 8-15; discussion 15-16
- [34] Hoffman, R.M., Hunt, W.C., Gilliland, F.D., Stephenson, R.A., Potosky, A.L. Patient satisfaction with treatment decisions for clinically localized prostate carcinoma. Results from the Prostate Cancer Outcomes Study. *Cancer*. 97 (2003) 1653-1662
- [35] Holzmuller, R., Mantwill, K., Haczek, C., Rognoni, E., Anton, M., Kasajima, A., Weichert, W., Treue, D., Lage, H., Schuster, T., Schlegel, J., Gansbacher, B., Holm, P.S. YB-1 dependent virotherapy in combination with temozolomide as a multimodal therapy approach to eradicate malignant glioma. *Int J Cancer*. 129 (2011) 1265-1276
- [36] Humphrey, P.A. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*. 17 (2004) 292-306
- [37] Husmann G, K.P., Katalinic A, Bertz J, Haberland J, Kraywinkel K, Wolf U. Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends. 7. Ausgabe (2010)
- [38] Iversen, P., Johansson, J.E., Lodding, P., Kylmala, T., Lundmo, P., Klarskov, P., Tammela, T.L., Tasmir, I., Morris, T., Armstrong, J., Scandinavian Prostate Cancer, G. Bicalutamide 150 mg in addition to standard care for patients with early non-metastatic prostate cancer: updated results from the Scandinavian Prostate Cancer Period Group-6 Study after a median follow-up period of 7.1 years. *Scand J Urol Nephrol*. 40 (2006) 441-452
- [39] Janz, M., Harbeck, N., Dettmar, P., Berger, U., Schmidt, A., Jurchott, K., Schmitt, M., Royer, H.D. Y-box factor YB-1 predicts drug resistance and patient outcome in breast cancer independent of clinically relevant tumor biologic factors HER2, uPA and PAI-1. *Int J Cancer*. 97 (2002) 278-282
- [40] Joslyn, S.A., Konety, B.R. Impact of extent of lymphadenectomy on survival after radical prostatectomy for prostate cancer. *Urology*. 68 (2006) 121-125
- [41] Kamura, T., Yahata, H., Amada, S., Ogawa, S., Sonoda, T., Kobayashi, H., Mitsumoto, M., Kohno, K., Kuwano, M., Nakano, H. Is nuclear expression of Y box-binding protein-1 a new prognostic factor in ovarian serous adenocarcinoma? *Cancer*. 85 (1999) 2450-2454

- [42] Kashihara, M., Azuma, K., Kawahara, A., Basaki, Y., Hattori, S., Yanagawa, T., Terazaki, Y., Takamori, S., Shirouzu, K., Aizawa, H., Nakano, K., Kage, M., Kuwano, M., Ono, M. Nuclear Y-box binding protein-1, a predictive marker of prognosis, is correlated with expression of HER2/ErbB2 and HER3/ErbB3 in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 4 (2009) 1066-1074
- [43] Klotz, L. Active surveillance for prostate cancer: for whom? *J Clin Oncol.* 23 (2005) 8165-8169
- [44] Koike, K., Uchiumi, T., Ohga, T., Toh, S., Wada, M., Kohno, K., Kuwano, M. Nuclear translocation of the Y-box binding protein by ultraviolet irradiation. *FEBS Lett.* 417 (1997) 390-394
- [45] Kolk, A., Jubitz, N., Mengele, K., Mantwill, K., Bissinger, O., Schmitt, M., Kremer, M., Holm, P.S. Expression of Y-box-binding protein YB-1 allows stratification into long- and short-term survivors of head and neck cancer patients. *Br J Cancer.* 105 (2011) 1864-1873
- [46] Kupelian, P.A., Potters, L., Khuntia, D., Ciezki, J.P., Reddy, C.A., Reuther, A.M., Carlson, T.P., Klein, E.A. Radical prostatectomy, external beam radiotherapy <72 Gy, external beam radiotherapy > or =72 Gy, permanent seed implantation, or combined seeds/external beam radiotherapy for stage T1-T2 prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 58 (2004) 25-33
- [47] Kuwano, M., Oda, Y., Izumi, H., Yang, S.J., Uchiumi, T., Iwamoto, Y., Toi, M., Fujii, T., Yamana, H., Kinoshita, H., Kamura, T., Tsuneyoshi, M., Yasumoto, K., Kohno, K. The role of nuclear Y-box binding protein 1 as a global marker in drug resistance. *Mol Cancer Ther.* 3 (2004) 1485-1492
- [48] Law, J.H., Li, Y., To, K., Wang, M., Astanehe, A., Lambie, K., Dhillon, J., Jones, S.J., Gleave, M.E., Eaves, C.J., Dunn, S.E. Molecular decoy to the Y-box binding protein-1 suppresses the growth of breast and prostate cancer cells whilst sparing normal cell viability. *PLoS One.* 5 (2010)
- [49] Lukka, H., Warde, P., Pickles, T., Morton, G., Brundage, M., Souhami, L., Canadian, G.U.R.O.G. Controversies in prostate cancer radiotherapy: consensus development. *Can J Urol.* 8 (2001) 1314-1322
- [50] Marks, L.S., Fradet, Y., Deras, I.L., Blase, A., Mathis, J., Aubin, S.M., Cancio, A.T., Desaulniers, M., Ellis, W.J., Rittenhouse, H., Groskopf, J. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology.* 69 (2007) 532-535
- [51] Nogueira, L., Corradi, R., Eastham, J.A. Other biomarkers for detecting prostate cancer. *BJU Int.* 105 (2010) 166-169
- [52] Noldus, J., Michl, U., Graefen, M., Haese, A., Hammerer, P., Huland, H. Patient-reported sexual function after nerve-sparing radical retropubic prostatectomy. *Eur Urol.* 42 (2002) 118-124

- [53] Nuttall, M., van der Meulen, J., Phillips, N., Sharpin, C., Gillatt, D., McIntosh, G., Emberton, M. A systematic review and critique of the literature relating hospital or surgeon volume to health outcomes for 3 urological cancer procedures. *J Urol.* 172 (2004) 2145-2152
- [54] Oda, Y., Sakamoto, A., Shinohara, N., Ohga, T., Uchiumi, T., Kohno, K., Tsuneyoshi, M., Kuwano, M., Iwamoto, Y. Nuclear expression of YB-1 protein correlates with P-glycoprotein expression in human osteosarcoma. *Clin Cancer Res.* 4 (1998) 2273-2277
- [55] Oesterling, J.E. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol.* 145 (1991) 907-923
- [56] Oesterling, J.E. Prostate-specific antigen and diagnosing early malignancies of the prostate. *J Cell Biochem Suppl.* 16H (1992) 31-43
- [57] Ohga, T., Koike, K., Ono, M., Makino, Y., Itagaki, Y., Tanimoto, M., Kuwano, M., Kohno, K. Role of the human Y box-binding protein YB-1 in cellular sensitivity to the DNA-damaging agents cisplatin, mitomycin C, and ultraviolet light. *Cancer Res.* 56 (1996) 4224-4228
- [58] Ohga, T., Uchiumi, T., Makino, Y., Koike, K., Wada, M., Kuwano, M., Kohno, K. Direct involvement of the Y-box binding protein YB-1 in genotoxic stress-induced activation of the human multidrug resistance 1 gene. *J Biol Chem.* 273 (1998) 5997-6000
- [59] Parker, C. Active surveillance: towards a new paradigm in the management of early prostate cancer. *Lancet Oncol.* 5 (2004) 101-106
- [60] Pepe, M.S., Etzioni, R., Feng, Z., Potter, J.D., Thompson, M.L., Thornquist, M., Winget, M., Yasui, Y. Phases of biomarker development for early detection of cancer. *J Natl Cancer Inst.* 93 (2001) 1054-1061
- [61] Petrylak, D.P., Tangen, C.M., Hussain, M.H., Lara, P.N., Jr., Jones, J.A., Taplin, M.E., Burch, P.A., Berry, D., Moinpour, C., Kohli, M., Benson, M.C., Small, E.J., Raghavan, D., Crawford, E.D. Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med.* 351 (2004) 1513-1520
- [62] Pound, C.R., Partin, A.W., Eisenberger, M.A., Chan, D.W., Pearson, J.D., Walsh, P.C. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. *JAMA.* 281 (1999) 1591-1597
- [63] Remmele, W., Stegner, H.E. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe.* 8 (1987) 138-140
- [64] Sardana, G., Dowell, B., Diamandis, E.P. Emerging biomarkers for the diagnosis and prognosis of prostate cancer. *Clin Chem.* 54 (2008) 1951-1960

- [65] Sartor, A.O. Progression of metastatic castrate-resistant prostate cancer: impact of therapeutic intervention in the post-docetaxel space. *J Hematol Oncol.* 4 (2011) 18
- [66] Schitteck, B., Psenner, K., Sauer, B., Meier, F., Iftner, T., Garbe, C. The increased expression of Y box-binding protein 1 in melanoma stimulates proliferation and tumor invasion, antagonizes apoptosis and enhances chemoresistance. *Int J Cancer.* 120 (2007) 2110-2118
- [67] Schostak, M., Krause, H., Miller, K., Schrader, M., Kempkensteffen, C., Kollermann, J. Does the molecular staging in pelvic lymph nodes improve the detection of relevant prostate cancer metastases? An assessment after 6 years. *BJU Int.* 99 (2007) 1409-1414
- [68] Schroder, 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., Maattanen, 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., Investigators, E. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med.* 360 (2009) 1320-1328
- [69] Shibahara, K., Sugio, K., Osaki, T., Uchiumi, T., Maehara, Y., Kohno, K., Yasumoto, K., Sugimachi, K., Kuwano, M. Nuclear expression of the Y-box binding protein, YB-1, as a novel marker of disease progression in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 7 (2001) 3151-3155
- [70] Studer, U.E., Whelan, P., Albrecht, W., Casselman, J., de Reijke, T., Hauri, D., Loidl, W., Isorna, S., Sundaram, S.K., Debois, M., Collette, L. Immediate or deferred androgen deprivation for patients with prostate cancer not suitable for local treatment with curative intent: European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Trial 30891. *J Clin Oncol.* 24 (2006) 1868-1876
- [71] Tannock, I.F., de Wit, R., Berry, W.R., Horti, J., Pluzanska, A., Chi, K.N., Oudard, S., Theodore, C., James, N.D., Turesson, I., Rosenthal, M.A., Eisenberger, M.A., Investigators, T.A.X. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med.* 351 (2004) 1502-1512
- [72] Toohar, R., Swindle, P., Woo, H., Miller, J., Maddern, G. Laparoscopic radical prostatectomy for localized prostate cancer: a systematic review of comparative studies. *J Urol.* 175 (2006) 2011-2017
- [73] Trock, B.J., Han, M., Freedland, S.J., Humphreys, E.B., DeWeese, T.L., Partin, A.W., Walsh, P.C. Prostate cancer-specific survival following salvage radiotherapy vs observation in men with biochemical recurrence after radical prostatectomy. *JAMA.* 299 (2008) 2760-2769
- [74] Vutuc, C., Waldhoer, T., Lunglmayr, G., Hoeltl, W., Haidinger, G. PSA testing in Austria: induced morbidity and saved mortality. *Eur J Cancer Prev.* 18 (2009) 377-380

- [75] Wang, M.C., Papsidero, L.D., Kuriyama, M., Valenzuela, L.A., Murphy, G.P., Chu, T.M. Prostate antigen: a new potential marker for prostatic cancer. *Prostate*. 2 (1981) 89-96
- [76] Winqvist, E., Waldron, T., Berry, S., Ernst, D.S., Hotte, S., Lukka, H. Non-hormonal systemic therapy in men with hormone-refractory prostate cancer and metastases: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in Evidence-based Care's Genitourinary Cancer Disease Site Group. *BMC Cancer*. 6 (2006) 112
- [77] Xu, W., Zhou, L., Qin, R., Tang, H., Shen, H. Nuclear expression of YB-1 in diffuse large B-cell lymphoma: correlation with disease activity and patient outcome. *Eur J Haematol*. 83 (2009) 313-319
- [78] Zhu, X., van Leeuwen, P.J., Bul, M., Otto, S.J., de Koning, H.J., Bangma, C.H., Schroder, F.H., Roobol, M.J. Disease-specific survival of men with prostate cancer detected during the screening interval: results of the European randomized study of screening for prostate cancer-Rotterdam after 11 years of follow-up. *Eur Urol*. 60 (2011) 330-336

## 7. Danksagung

Zunächst danke ich Herrn Univ.- Prof. Dr. med. Jürgen Gschwend für die Möglichkeit, diese Arbeit an seiner Klinik durchführen zu können.

Weiterhin möchte ich meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Kathleen Herkommer für die Überlassung des Themas und für die stete und konstruktive Betreuung während der Durchführung und des Schreibens meiner Dissertation danken. Auch Herrn Dr. rer. nat. Roman Nawroth, möchte ich für die kompetente Unterstützung danken.

Außerdem gilt mein Dank Frau Prof. Dr. Martina Kron, die mich bei der Durchführung der Statistik unterstützte.

Ein ganz herzliches Dankeschön an die Patienten und deren Angehörige, ohne deren Mithilfe die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich danke meinem Lebensgefährten für seinen immer währenden moralischen Beistand.

Meinen Eltern bin ich zutiefst dankbar für ihre Geduld und ihr Vertrauen, mit dem sie mich auf meinem bisherigen Lebensweg begleitet haben.