

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

**Institut für Allgemeine Pathologie und pathologische
Anatomie der Technischen Universität München**

Signaltransduktionsproteine des Prostatakarzinoms unter Androgenablation

Thomas André Menter

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

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. K. H. Höfler
2. Priv.-Doz. Dr. B. Luber

Die Dissertation wurde am 08.07.2009 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 18.11.2009 angenommen.

Opus dedicatum familiae meae

„Hypothesen sind Netze; nur der wird fangen, der aus-
wirft.“

Novalis (Georg Friedrich Philipp Freiherr von Hardenberg)

A Inhaltsverzeichnis

A	INHALTSVERZEICHNIS.....	3
B	VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN.....	7
C	EINLEITUNG.....	10
1.	Anatomie und Physiologie der Prostata	10
1.1.	Anatomie und Funktion	10
1.2.	Die Bedeutung der Androgene für die Prostata	12
2.	Das Prostatakarzinom	13
2.1.	Arten von Tumoren in der Prostata und klinische Manifestationsformen des Prostatakarzinoms	13
2.2.	Epidemiologie.....	13
2.3.	Ätiologie und Pathogenese	14
2.3.1.	Ethnie.....	14
2.3.2.	Genetik.....	15
2.3.3.	Ernährung	15
2.3.4.	Hormonelle Ursachen	16
2.4.	Prävention des Prostatakarzinoms	16
2.5.	Pathologie des Prostatakarzinoms	17
2.5.1.	Prämaligene Läsionen der Prostata	18
2.5.2.	Differenzierung mithilfe des <i>Gleason-Scores</i>	18
2.5.3.	TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms	20
2.6.	Klinik, Früherkennung, Diagnostik und <i>Staging</i> des Prostatakarzinoms	22
2.6.1.	Symptomatik	22
2.6.2.	Früherkennung und <i>Screening</i>	22
2.6.2.1.	<i>Digitale rektale Untersuchung</i>	23
2.6.2.2.	<i>PSA-Serumspiegel</i>	23
2.6.2.3.	<i>Bildgebung</i>	24
2.6.2.4.	<i>Stanzbiopsie</i>	25
2.6.2.5.	<i>Staginglymphadenektomie</i>	26
2.6.3.	Stadiendiagnostik (<i>Staging</i>) des Prostatakarzinoms	27
2.7.	Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms.....	27
2.7.1.	Chirurgische Therapie	27
2.7.2.	Strahlentherapie	28
2.7.3.	Kryotherapie.....	29
2.7.4.	Aufmerksames Abwarten („ <i>Watchful waiting</i> “)	29
2.7.5.	Neoadjuvante und adjuvante Therapie.....	30
2.7.6.	Therapie bei PSA-Rezidiv nach einer radikalen Prostatektomie.....	31
2.8.	Therapie des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms	31
2.9.	Therapie des metastasierten Prostatakarzinoms.....	32
2.9.1.	Androgenentzugstherapie.....	32
2.9.1.1.	<i>Chirurgische Androgenablation</i>	32
2.9.1.2.	<i>Medikamentöse Androgenablation</i>	33
2.9.2.	Ätiologie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms.....	35
2.9.2.1.	<i>Der hypersensitive Pfad</i>	35
2.9.2.2.	<i>Der wahllose Pfad</i>	35
2.9.2.3.	<i>Der atypische Pfad</i>	35
2.9.2.4.	<i>Der Pfad der Korepressoren und Koaktivatoren</i>	36
2.9.2.5.	<i>Der Umgehungspfad</i>	36
2.9.2.6.	<i>Der Pfad der Tumorstammzellen</i>	36
2.9.3.	Therapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms	37

3.	Charakterisierung der untersuchten Proteine	38
3.1.	Schlüsselproteine zur Typisierung des Prostatadrüsenepithels und dessen Dignitätsbestimmung	38
3.1.1.	CK 5/6	38
3.1.2.	Racemase	38
3.1.3.	Mib-1/Ki-67	38
3.1.4.	PSA	39
3.1.5.	PSMA	39
3.1.6.	PSP	39
3.2.	Androgenrezeptor	39
3.3.	Proteine aus den untersuchten Signalkaskaden	40
3.3.1.	STAT3	40
3.3.2.	MAPK	40
3.3.3.	PI3K	41
3.3.4.	Signalkaskadeninteraktionen	41
3.4.	Interleukin 6	42
3.5.	Interleukin 8 und seine Rezeptoren CXCR1 und CXCR2	42
3.6.	c-Fos	43
3.7.	Bcl-2	43
3.8.	Bim	43
3.9.	Cyclin D1	44
4.	Ähnlichkeiten zwischen Prostatakarzinom und Mammakarzinom	44
4.1.	Ätiologie und Epidemiologie	45
4.2.	Hormonelle Abhängigkeit und Wege in die Hormonunabhängigkeit	46
4.2.1.	Interleukin 6	46
4.2.2.	Interleukin 8	47
4.2.3.	Her2	47
4.3.	Gemeinsame therapeutische Ansätze	47
4.4.	Zusammenfassung	48
5.	Verwendete Zelllinien	49
D	PROBLEMSTELLUNG	51
E	MATERIAL UND METHODEN	52
1.	Patientenmaterial und Zelllinien	52
2.	Tissue Microarrays	53
3.	Immunhistochemie	55
3.1.	Grundbegriffe der Immunhistochemie	55
3.1.1.	Primärantikörper	56
3.1.1.1.	Monoklonale Antikörper	56
3.1.1.2.	Polyklonale Antikörper	57
3.1.2.	Nachweismethoden	57
3.1.2.1.	Direkte Methode	57
3.1.2.2.	Indirekte Methode	57
3.1.2.	Chromogene	59
3.2.	Durchführung der immunhistochemischen Färbungen	59
3.2.1.	Entparaffinierung	60
3.2.2.	Epitopdemaskierung	60
3.2.3.	Blockieren der endogenen Peroxidase und alkalischen Phosphatase	61
3.2.4.	Blockieren mit Normalserum	61
3.2.5.	Blockade des endogenen Biotins	62
3.2.6.	Inkubation mit dem Primärantikörper	62
3.2.7.	Inkubation mit dem Sekundärantikörper	62

3.2.8.	Inkubation mit dem Komplex	62
3.2.9.	Färbung.....	63
3.2.10.	Gegenfärbung.....	63
3.2.11.	Dehydrierung und Eindeckung	63
3.3.	Verwendete Reagenzien.....	63
3.3.1.	TRIS-Puffer.....	63
3.3.2.	Citratpuffer	64
3.3.3.	Puffer für den Dampfgerar	64
3.3.4.	Antikörperverdünnungsmedium.....	64
3.3.5.	Normalserum	64
3.3.6.	Avidin-Biotin-Block.....	64
3.3.7.	Detektionskits (Sekundärantikörper, Komplex, Farbstoff)	65
3.4.	Verwendete Primärantikörper	66
4.	Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	67
5.	Statistische Auswertung.....	67
F	ERGEBNISSE	69
1.	Zelllinienergebnisse	69
2.	Assoziationen zwischen den Gruppen „Vorbehandlung“ und „keine Vorbehandlung“	71
3.	Assoziationen zwischen Tumorzellen und benignes Epithel in den Gruppen „Vorbehandlung“ und „keine Vorbehandlung“.....	79
4.	Untersuchung der Assoziation zwischen zwei Merkmalen in Tumorgewebe bzw. benignen Epithelien in der vorbehandelten und der nicht vorbehandelten Gruppe.....	86
5.	Untersuchung der Assoziation bei Tumorgewebe bzw. benignen Epithelien zwischen den Biopsien und den Prostatektomiepräparaten in der vorbehandelten Gruppe.....	94
6.	Untersuchung der Assoziation zwischen klinischen Daten und Proteinexpressionen	95
G	DISKUSSION	96
1.	Überblick über die Wege in die Androgenunabhängigkeit	96
2.	Schlüsselproteine zur Typisierung von Prostatadrüsenepithelien und dessen Dignitätsbestimmung.....	98
3.	Androgenrezeptor.....	100
4.	MAPK	101
5.	STAT3.....	103
6.	BIM	104
7.	Unterschiede zwischen Tumorzellen und benignen Epithelzellen.....	105
7.1.	Unterschiede bei den Schlüsselproteinen.....	106
7.2.	Interleukin 8.....	106
7.3.	PI3K.....	106
7.4.	Bcl-2 und Bim.....	108
7.5.	c-Fos	108
7.6.	Cyclin D1	109

8.	Korrelationen zwischen zwei Proteinen	110
8.1.	Korrelationen von Interleukin 6 mit anderen untersuchten Proteinen.....	110
8.1.1.	IL6 - STAT3.....	111
8.1.2.	IL6 - PI3K.....	111
8.1.3.	IL6 - Cyclin D1	112
8.1.4.	IL6 - Bcl-2.....	112
8.2.	Korrelationen von Interleukin 8 und seinen Rezeptoren mit anderen Proteinen	113
8.2.1.	IL8-Cyclin D1	114
8.2.2.	CXCR1 - CXCR2	114
8.2.3.	CXCR1 - PI3K.....	114
8.2.4.	CXCR2 - STAT3	115
8.3.	Korrelationen von Cyclin D1 mit anderen Proteinen.....	115
8.3.1.	Cyclin D1 - Mib-1 T	116
8.3.2.	Cyclin D1 - PI3K	116
8.3.3.	Cyclin D1 - Bcl-2	116
8.4.	Korrelation von Bcl-2 mit Bim.....	117
9.	Korrelation der klinischen Daten mit der Expression von Proteinen.....	117
10.	Resümee.....	118
10.1.	Die Ergebnisse: Licht ins Dunkel?	118
10.2.	Die Apoptose: bedeutend erst im späteren Verlauf?	118
10.3.	Die Signalkaskaden: wer, wie und mit wem?.....	119
10.4.	Die Signalblockade: der Königsweg zur Bekämpfung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms?	121
H	ZUSAMMENFASSUNG	123
I	LITERATURVERZEICHNIS	125
J	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	146
K	TABELLENVERZEICHNIS	148
L	DANKSAGUNG	149

B Verzeichnis der Abkürzungen

A	Arteria	DG	Dampfgarer
AAH	atypische adenomatöse Hyperplasie	DHT	Dihydrotestosteron
ABC	Avidin-Biotin Complex	DNA	Desoxyribonucleinsäure
AP-1	Activator Protein 1	DRU	digitale rektale Untersuchung
Apaf1	apoptotic protease activating factor 1	EGF(R)	epidermal growth factor (receptor)
APAAP	Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase	ELAC2	elaC homolog 2
APPL	Adaptorprotein mit einer pH-Domäne, einer PTB-Domäne und einem Leucinzippermotiv	EPHB2	erythropoietin producing-hepatocellular carcinoma cell line receptor 2
ARA70	Androgenrezeptor assoziiertes Protein 70	ERK	extracellular signal-regulated kinases
Bcl-2	B-cell lymphoma 2	ETS	E26 Transformation-specific Sequence
BH3	Bcl-2 homology domain 3	EWS	Ewing's Sarcoma protein
BNIP3	Bcl-2 nineteen kilodalton interacting protein 3	FSH	Follikel stimulierendes Hormon
BPH	benigne Prostatahyperplasie	GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
c-	centi	g	Gramm
C	Cystein	g	Erdbeschleunigung
CD	cluster of differentiation	gp130	Glycoprotein 130
CK 5/6	Cytokeratin 5 und 6	GRIM-19	gene associated with retinoid-IFN-induced mortality-Protein 19
CXCR 1/2	CXC-Chemokin-Rezeptor	Gy	Gray
°C	Grad Celsius	HE	Hämatoxylin-Eosin
c-myc	cellular myelocytomatosis oncogene	Her2	human epidermal growth receptor 2
DAB	3,3Diaminobenzidin		

HGPRT	Hypoxanthin-Guanin Phosphoribosyltransferase	n-	nano
HPC 1/2/20	hereditary prostate cancer 1/2/20	NHT	neoadjuvante Androge- nentzugstherapie
HPCX	hereditary prostate cancer, X-linked	PCAP	predisposing for prostate cancer
Hsp30/ 90	Heat Shock Protein 30/ 90	PI3K	Phosphatidylinositol-3- Kinase
IEG	immediate early genes	PIN	prostatistische intraepithelia- le Neoplasie
Ig	Immunglobulin	PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5- bisphosphat
IL-6	Interleukin 6	PKA/C	Proteinkinase A/C
IL-8	Interleukin 8	POX	Peroxidase
IRE	Interleukin 6 responsive elements	PSA	prostataspezifisches Anti- gen
JAK	Janus-Kinase	PSMA	prostataspezifisches Membranantigen
JNK-1	C-Jun n-terminale Kinase 1	PSP	prostataspezifische saure Phosphatase
KT	Dampfdruckkochtopf	PTEN	Phosphatase and tensin homolog
l	Liter	Ras	rat sarcoma
LH	luteinisierendes Hormon	Raf	rat fibrosarcoma
LSAB	Labeled Streptavidin- Biotin	RNA	Ribonucleinsäure
m	Meter	RNASEL	Ribonuclease L
m-	milli	SERM	selektive Östrogenrezip- tormodulatoren
MAB	maximalen Androgenblo- ckade	SHP2	Src homology 2 domain- protein 2
MAPK	Mitogen activated protein Kinase	Src-1	cellular sarcoma 1
MCL1	Myeloid cell leukemia se- quence 1	STAT3	signal transducer and acti- vator of transcription 3
MHz	Megahertz	TMA	Tissue Microarray
MSR1	macrophage scavenger receptor 1		
mtor	mammalian target of ra- pamycin		
μ-	mikro		

TMPRSS2	Transmembrane protease serine 2	UICC	International Union against cancer
TRE	TPA responsive elements	V	Vena
TRIS	Trihydroxymethylamino- methan	W	Watt
TRUS	transrektaler Ultraschall		
Tyr	Tyrosin		

C Einleitung

1. Anatomie und Physiologie der Prostata

1.1. Anatomie und Funktion

Die Prostata (von gr. *prostátes* = Vorsteher, Vordermann, zu Deutsch Vorsteherdrüse) gehört zu den androgenabhängigen akzessorischen Geschlechtsdrüsen des männlichen Genitaltrakts.

Sie ist ca. drei cm lang, vier cm breit und zwei cm dick und wird als kastaniengroß bezeichnet. Sie hat eine kompakte Struktur, ein Gewicht von etwa 20 g und die Form einer umgedrehten Pyramide. Die Basis dieser Pyramide ist mit dem Blasenboden verwachsen, der *Apex* (Spitze) reicht an das *Diaphragma urogenitale* heran. Die Rückseite der Prostata liegt der durch ein rektovesikales Septum von ihr getrennten Ampulle des Rektums an, die Vorderseite der Prostata ist über *das Ligamentum puboprostaticum* am Schambein fixiert. Der erste Abschnitt der Urethra, die drei cm lange *Pars prostatica urethrae*, zieht durch die Prostata, wo sie am *Colliculus seminalis* (Samenhügel) um 35° abknickt. Dort münden auch die *Ductus ejaculatorii* in die Urethra ein [125].

Die Prostata ist von einer derben Kapsel umgeben. Die Binnenstruktur der Prostata besteht aus Bindegewebe und glatter Muskulatur, in die die 30 bis 50 tubuloalveolären Drüsen der Prostata eingelagert sind, die das Prostatasekret produzieren. Die Drüsen münden in 15-30 Ausführungsgängen im Bereich des Samenhügels.

Die Prostatadrüsen besitzen ein zwei- bis mehrreihiges Epithel, dessen Form androgenabhängig ist und von flach bis hochprismatisch reicht. An der Basalmembran des Epithels liegen die Basalzellen, die als Vorläuferzellen der Drüsenzellen dienen. Außerdem finden sich im Epithel einige chromaffine Zellen, die Serotonin enthalten und eventuell an der Steuerung der Sekretionsprozesse beteiligt sind.

Das Sekret der Prostata macht 15-30 % des Ejakulats aus. Das Prostatasekret ist dünnflüssig und farblos, der pH-Wert liegt bei 6,4. Es enthält u. a. Zink, Zitronensäure, Prostaglandine, Spermin, Spermidin, Immunglobuline, saure Phosphatase und Proteasen.

Neben der auf Lowsley [185] zurückgehenden Einteilung der Prostata in einen mittleren, linken und rechten Lappen sowie einen ventral gelegenen *Isthmus prostatae*

wird eine Aufteilung der Prostata in drei Zonen nach McNeal [201] verwendet, die an den in der Prostata vorkommenden pathologischen Veränderungen orientiert ist [330]. Die Übergangszone umfasst 5 bis 10 % der Prostata und besteht aus zwei kleinen Lappen Drüsengewebe, die um die Urethra herum lokalisiert sind. Die Region direkt um die Urethra wird auch periurethrale Zone genannt.

Die zentrale Zone repräsentiert 25 % der Prostata und ist kegelförmig um die *Ductus ejaculatorii* ausgebildet und bildet den Hauptteil der *Basis prostatae*.

Die Hauptmasse der Prostata (ca. 70 %) wird von der peripheren Zone gebildet. Sie umfasst den lateralen und dorsalen Teil der Prostata.

70 % der Prostatakarzinome entstehen in der peripheren Zone, 10 bis 20 % in der Transitionalzone und nur 5 bis 10 % in der zentralen Zone der Prostata. Die benigne Prostatahyperplasie tritt dagegen vor allem in der Transitionalzone auf [202].

Die Blutversorgung der Prostata erfolgt von dorsal und lateral über Äste der *Arteria (A.) vesicalis inferior* und der *A. rectalis media*, ventral erreichen Äste der *A. pudenda interna* die Prostata. Gelegentlich versorgt auch die *A. obturatoria* die Prostata mit. Die Venen der Prostata haben Anschluss an den *Plexus vesicoprostaticus* im kleinen Becken, der über die *Venae (Vv.) vesicales* in die *Vena iliaca interna* abfließt.

Die Lymphgefäße treten entlang der Arterien aus der Prostata aus und schließen sich dem *Ductus deferens* an. In lymphographischen Studien fand man vier Hauptgruppen von Lymphknoten, in die die Prostata drainiert. Dies sind die *Nodi lymphoidei iliaci interni et externi*, die *Nodi lymphoidei obturatorii* und die *Nodi lymphoidei praesacrales*. Die Kenntnis der Lymphabflusswege sowie der beteiligten Lymphknoten spielt für die Staginglymphadenektomie eine wichtige Rolle.

Die Nervenversorgung der Prostata erfolgt parasymphatisch und sympathisch über den *Plexus prostaticus*, eine Fortsetzung des *Plexus hypogastricus inferior*. Die Nerven verzweigen sich im *Plexus prostaticus* und ziehen entlang der Gefäße in die Prostata hinein und formen in der Prostatakapsel autonome Ganglien. Die parasymphatische Innervation stammt aus den Segmenten S2, S3 und S4 und regt die Sekretion der Prostata an. Die sympathische Innervation stammt aus den Segmenten Th10 bis L2 und bewirkt das Austreiben des Prostatasekrets in die Urethra.

Die Prostata entsteht in der zehnten bis zwölften Entwicklungswoche durch eine kaudale Wandvorwölbung des *Sinus urogenitalis* in das umgebende Mesenchym. Der *Utriculus prostaticus* ist ein Rudiment des Müllerschen Gangs. Die zuerst soliden Epithelstränge verzweigen sich in der späten Fetalzeit immer mehr und bilden die

tubuloalveoläre Drüsenstruktur der Prostata, deren terminale Differenzierung erst in der Pubertät erfolgt [305].

1.2. Die Bedeutung der Androgene für die Prostata

Androgene sind Steroidhormone mit 19 Kohlenstoffatomen, die auf der Grundlage des Cholesteringerüsts synthetisiert werden.

Sie werden in den Leydigzellen des Hodens, dem Ovar sowie in der *Zona reticularis* der Nebennierenrinde gebildet.

Die Leydigzellen bilden Testosteron, in der Nebennierenrinde werden Androstenedion und Dehydroepiandrosteron und dessen Sulfat produziert. Diese sind Prohormone, die in anderen Geweben in Testosteron, Dihydrotestosteron (DHT), Estradiol und Estron umgewandelt werden.

Das biologisch wirksamste Androgen ist das DHT, die durch die 5 α -Reduktase reduzierte Form des Testosterons. Diese Form des Testosterons spielt auch in der Prostata eine wichtige Rolle. Die 5 α -Reduktase liegt in zwei Formen vor, wobei Typ 1 in Haut, Leber und Gehirn und Typ 2 in den typischen androgenabhängigen Geweben wie Nebenhoden und Prostata lokalisiert ist [353].

Die Testosteronproduktion wird über die Hypothalamus-Hypophysen-Achse gesteuert [82]. Das luteinisierende Hormon (LH) aus der Adenohypophyse regt die Testosteronproduktion in den Leydigzellen an und wird pulsatil ausgeschüttet. Die LH-Ausschüttung wird über das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) aus dem Hypothalamus gesteuert. Testosteron und seine aktiven Metaboliten haben eine negative Rückkopplungswirkung auf die Hypothalamus-Hypophysen-Achse. Diesen Steuerungsmechanismus macht man sich auch bei der Androgenentzugstherapie zu Nutze.

Testosteron und DHT lösen ihre Wirkung über Bindung an den Androgenrezeptor aus. Der Androgenrezeptor wird unter dem Punkt „Untersuchte Proteine“ genauer erläutert.

Man kann zwischen einer androgenen und einer anabolen Wirkung des Testosterons unterscheiden.

2. Das Prostatakarzinom

2.1. Arten von Tumoren in der Prostata und klinische Manifestationsformen des Prostatakarzinoms

In der Prostata sind neben dem Adenokarzinom noch folgende verschiedene Arten von malignen Tumoren zu finden [113]: das Urothelkarzinom der Prostata, das Prostatasarkom, Lymphome und Metastasen anderer Primärtumoren.

Im Folgenden wird mit dem Terminus „Prostatakarzinom“ immer auf das Adenokarzinom der Prostata Bezug genommen.

Das Adenokarzinom lässt sich nach Denis *et al.* [65] in folgende histologische Subtypen unterteilen: azinäres Adenokarzinom, duktales Adenokarzinom, muzinöses Adenokarzinom, Transitionalzellkarzinom, Plattenepithelkarzinom, neuroendokriner Tumor, kleinzellig anaplastisches Karzinom und undifferenziertes Karzinom.

Das azinäres Adenokarzinom der Prostata macht 99 % aller Adenokarzinome aus [70].

Man unterscheidet nach Mostofi [214] vier verschiedene Manifestationsformen des Prostatakarzinoms.

Das **latente** Prostatakarzinom wird bei der Autopsie des Patienten gefunden, zu Lebzeiten des Patienten bestanden keinerlei Symptome.

Das **inzidentelle** Prostatakarzinom wird zufällig bei der histologischen Aufarbeitung von Prostatagewebe nach transurethraler Resektion oder Adenektomie entdeckt.

Das **okkulte** Prostatakarzinom manifestiert sich durch Metastasen, wobei Symptome des Primärtumors fehlen können.

Das **manifeste** Prostatakarzinom ist das klinisch durch einen erhöhten Serumspiegel des prostataspezifisches Antigens (PSA), durch eine positive digitale rektale Untersuchung sowie histologisch gesicherte Prostatakarzinom.

2.2. Epidemiologie

Im Jahr 2009 werden in den USA etwa 192.800 neu auftretende Fälle von Prostatakarzinomen sowie 27.360 Todesfälle durch das Prostatakarzinom erwartet [144]. An Inzidenz liegt es damit an erster Stelle der Krebserkrankungen bei Männern, bei den Todesfällen durch Krebserkrankungen an zweiter Stelle nach Bronchialkarzinomen.

Werden Inzidenz- und Todesraten nach Ethnien aufgeschlüsselt, so zeigen sich deutliche Unterschiede: Afroamerikaner haben im Vergleich zu Weißen und Hispa-

niern fast doppelt so hohe Inzidenz- und Mortalitätsraten. Asiaten, Inuits und Indianer haben die geringsten Inzidenz- und Mortalitätsraten [144].

Der stetige Mortalitätsrückgang ist vor allem auf das Erkennen des Prostatakarzinoms im lokalisierten Stadium zurückzuführen [50].

In einem Bericht über die weltweite Situation bei Inzidenz- und Sterberaten von und durch Tumoren aus dem Jahr 2002 ist das Prostatakarzinom das fünfthäufigste Karzinom mit einer Inzidenz von 679.000 Fällen, wobei es einen großen Unterschied zwischen den Industrienationen und den Entwicklungsländern – 19% aller Karzinome in Industrienationen im Vergleich zu 5,3% in Entwicklungsländern – gibt. Es war insgesamt für 221.000 Todesfälle verantwortlich, die aber in den Entwicklungsländern relativ zur Inzidenz häufiger waren als in den Industrienationen [230].

Die hohe Inzidenz in den Industrienationen ist vor allem auf bessere *Screeningmethoden* und das Entdecken von latenten Karzinomen zurückzuführen [230] [241], was auch zur weltweiten Inzidenzzunahme zwischen 1985 und 2002 um jährlich 1,1 % führte. In Asien ist das Prostatakarzinom noch immer trotz hoher Inzidenzsteigerungen am seltensten, die Mortalitätsrate zwischen China und den USA unterscheidet sich z. B. um das 16fache, die Inzidenz um das 80fache [230].

2.3. Ätiologie und Pathogenese

Zur Pathogenese des Prostatakarzinoms gibt es viele, sich teils auch widersprechende Hinweise auf Risikofaktoren und Auslöser. Ein Teil der Fälle wird durch seine familiäre Häufung als hereditäres Prostatakarzinom bezeichnet.

2.3.1. Ethnie

Der große Unterschied in Bezug auf Inzidenz und Mortalität zwischen den einzelnen Ethnien wurde unter dem Punkt Epidemiologie schon gezeigt: Männer afroamerikanischen Ursprungs liegen sowohl in Bezug auf Inzidenz als auch Mortalität über Männern europäischer und asiatischer Herkunft. Als Ursache hierfür werden neben den unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten, dem Sozialstatus und dem daraus resultierendem Gesundheitsbewusstsein unter anderem auch die Höhe des Testosteronspiegels und Mutationen im Androgenrezeptor angenommen. So ist der Spiegel des aktiven Testosteronmetaboliten DHT in Afroamerikanern und weißen Amerikanern höher als in Amerikanern asiatischer Herkunft. Bei Afroamerikanern fanden sich im Androgenrezeptorgen kürzere CAG-Wiederholungen in Exon 1, was zu einem leicht erhöhten Prostatakarzinomrisiko führt [272].

2.3.2. Genetik

Beim Prostatakarzinom findet man eher einen Verlust von DNA als einen Zugewinn. Zu Verlusten an Erbinformation kommt es vor allem bei den Chromosomen 6q, 7q, 8p, 10q, 13q, 16q, 17 und 18q [149].

Über potentielle Onkogene gibt es erst wenige Informationen. In einem Teil der Prostatakarzinome findet sich eine vermehrte Expression der Proteine cellular myelocytomatosis oncogene (c-myc), rat sarcoma (Ras) oder B-cell lymphoma 2 (Bcl-2).

Außerdem finden sich auch epigenetische Veränderungen durch Hyper- und Hypomethylierungen der DNA [250].

Eine familiäre Häufung des Prostatakarzinoms wurde wiederholt beschrieben. Woolf stellte 1960 fest, dass Verwandte von Prostatakarzinompatienten dreimal häufiger als normal erkranken, bei Brüdern von Prostatakarzinompatienten besteht ein vierfaches Risiko im Vergleich zur Normalbevölkerung [336].

Insgesamt machen die Fälle des hereditären Prostatakarzinoms 9 % aller Prostatakarzinome aus. Bei Erkrankten unter 50 Jahren sind es 43 % der Fälle [39].

Zurzeit geht man von einer autosomal dominant vererbten Variante, bei der das Prostatakarzinom frühzeitig auftritt und einer X-chromosomal rezessiv vererbten Variante aus, bei der das Prostatakarzinom in höherem Lebensalter auftritt [58].

Folgende Genloci auf verschiedenen Chromosomen, die in Beziehung zum hereditären Prostatakarzinom stehen, wurden unter anderem in der Literatur beschrieben [162]: *hereditary prostate cancer 1* / Ribonuclease L (*HPC1/RNASEL*) 1q24–25, *erythropoietin producing hepatocellular carcinoma cell line receptor 2* (*EPHB2*) 1p35–36, *predisposing for prostate cancer (PCAP)* 1q42–43, *hereditary prostate cancer 2* / *lelaC homolog 2* (*HPC2/ELAC2*) 17q11, *hereditary prostate cancer 20* (*HPC20*) 20q13, *macrophage scavenger receptor 1* (*MSR1*) 8p22-23 und *hereditary prostate cancer X-linked* (*HPCX*) Xq27–28. Vor allem bei *RNASEL*, *ELAC2* und *MSR1* gibt es viele Hinweise auf eine wichtige Rolle bei der Entstehung eines hereditären Prostatakarzinoms [279].

2.3.3. Ernährung

Die Bedeutung von Ernährung und Lebensstil bei der Pathogenese des Prostatakarzinoms zeigte sich in einer Studie an in die USA emigrierten Japanern, deren Prostatakarzinominzidenz aufgrund der Adaption an den amerikanischen Lebensstils, vor allem in Bezug auf Essgewohnheiten, stark anstieg [273].

Die Gesamtmenge an aufgenommener Energie ist ein Risikofaktor für die Entstehung und Progression des Prostatakarzinoms, während eine erhöhte Aufnahme von gesättigten und α -Linolenfettsäuren ein Risikofaktor für die Progression, nicht aber das Entstehen eines Prostatakarzinoms ist [166].

Protektive Wirkung in Bezug auf Entstehung und Progression eines Prostatakarzinoms haben Lycopene aus Tomaten und andere Karotinoide, Vitamin E, Selen, Sojabohnen, Vitamin D und die Omega-3-Fettsäuren aus Fisch [44].

Erhöhte Milch- und Calcium- und Zinkaufnahme sowie gesteigerter Verzehr von rotem Fleisch erhöhen das Risiko, an einem Prostatakarzinom zu erkranken [44].

2.3.4. Hormonelle Ursachen

Androgene spielen eine wichtige Rolle bei der Pathogenese des Prostatakarzinoms. Präpuberal kastrierte Männer bzw. Männer ohne ausreichende testikuläre Funktion entwickeln kein Prostatakarzinom [212]. Auch der höhere Testosteronspiegel in afro-amerikanischen Männern und deren höhere Prostatakarzinominzidenz deuten auf einen solchen Zusammenhang hin [272]. Dasselbe gilt für ein erhöhtes Karzinomrisiko bei Männern mit Glatze [116].

Es ist nicht sicher, ob auch die Vasektomie [100] [254]. und die benigne Prostatahyperplasie (BPH) [281] einen Risikofaktor für das Prostatakarzinom darstellen

2.4. Prävention des Prostatakarzinoms

Zur primären Prävention des Prostatakarzinoms gehören Maßnahmen, die das Auftreten des Prostatakarzinoms verhindern.

Hierzu gehören einerseits diätetische Maßnahmen wie die unter dem Punkt Risikofaktoren erwähnte Reduktion der aufgenommenen Nahrungsmenge und eine Verringerung von Fleisch- und Milchkonsum sowie vermehrte Aufnahme von Vitamin D und E, Karotinoiden und Selen, um einige nochmals zu erwähnen.

Die Chemoprävention des Prostatakarzinoms mit dem 5α -Reductasehemmer Finasterid hat in der *Prostate Cancer Prevention Trial* Studie zwar zur Verringerung der Prostatakarzinominzidenz geführt, aber auch zu Nebenwirkungen wie sexuellen Funktionsstörungen und einer höheren Inzidenz niedrig differenzierter Karzinome [304].

Zur sekundären Prävention gehören Maßnahmen, um das Prostatakarzinom in einem möglichst frühen Stadium zu entdecken. Hierzu gehören Maßnahmen des *Screenings* und der Früherkennung. Hierzu sei auf den Punkt 2.6.2. verwiesen.

Die tertiäre Prävention schließt Maßnahmen zur Senkung der Rezidivhäufigkeit und Rehabilitationsmaßnahmen zur Verringerung der negativen psychischen und somatischen Folgen einer Krankheit ein. Auf das Prostatakarzinom bezogen gehören hierzu Maßnahmen wie weitere regelmäßige PSA-Kontrollen nach erfolgter Therapie sowie beim metastasierten Prostatakarzinom angewendete palliative Verfahren zur Verringerung von Schmerzen, z. B. Knochenschmerzen durch Metastasen in den Wirbelkörpern oder durch den Tumor verursachte andere Einschränkungen wie z. B. eine Blasenhalsostruktion.

2.5. Pathologie des Prostatakarzinoms

Makroskopisch imponiert das Prostatakarzinom als durch desmoplastische Stromareaktionen derbe, graugelbe multifokale Herde, die in der Mehrzahl in der peripheren Zone der Prostata lokalisiert sind. Tumore der Transitionalzone sind meist besser differenziert. 70 % der klinisch als einseitig diagnostizierten Prostatakarzinome sind pathologisch bilateral, wobei die Nebenkarzinome meist klein und gut differenziert sind [206].

Die verschiedenen histologischen Untertypen des Adenokarzinoms der Prostata wurden schon bei der Erläuterung der verschiedenen Arten von Prostatakarzinomen erwähnt.

Lokal breitet sich der Tumor über die Kapsel vor allem durch Invasion der Perineuralscheiden - dem Weg des geringsten Widerstands - aus, was keine Prognoseverschlechterung darstellt. Im Gegensatz dazu ist eine Invasion der muskulären Wand der Samenblasen über das umliegende Weichgewebe oder direkt über die *Ductus ejaculatorii*, in seltenen Fällen auch als Fernmetastase, prognoseverschlechternd [225].

Die Tumorgöße korreliert mit der Ausbreitung des Tumors, so ist bei einer Tumorgöße von weniger als 0,5 cm² eine lokale Ausbreitung und bei einer Größe unter 4 cm² eine Lymphknotenmetastasierung selten zu erwarten.

Die Metastasierung erfolgt lymphogen in pelvine oder retroperitoneale Lymphknoten. Organmetastasen sind am häufigsten in Knochen und Lunge, 90 % der Knochenmetastasen sind vom osteoblastischen Typ. Außerdem finden sich Metastasen in Blase, Leber, Nebennieren sowie den Hoden. Die Metastasen sind typischerweise multiple kleine Knoten oder diffuse lymphatische Infiltrate [206].

2.5.1. Prämaligne Läsionen der Prostata

Hierzu zählen die prostatiche intraepitheliale Neoplasie (PIN) und die atypische adenomatöse Hyperplasie (AAH).

Der Begriff PIN ersetzt Begriffe wie Atypie oder Dysplasie. Die PIN ist gekennzeichnet als intraazinäre Proliferation sekretorischer Zellen mit Kernanaplasie. Die PIN gilt als wahrscheinlichster Vorläufer des Prostatakarzinoms [210].

Es wird zwischen niedriggradiger und hochgradiger PIN unterschieden, nur die hochgradige PIN wird als Karzinomvorläufer klassifiziert [29].

Bei der niedriggradigen PIN sind die Zellen unregelmäßiger als in benignen Epithelien, sie liegen gehäuft, das Epithel ist insgesamt verbreitert und die Zellen haben unterschiedlich große Kerne. Zum Teil finden sich hyperchromatische Kerne oder Nucleoli.

Die hochgradige PIN zeigt eine ähnliche Morphologie, die Zellkerne sind insgesamt größer, es finden sich vermehrt prominente Nucleoli. Es werden vier morphologische Muster unterschieden: büschelartig, mikropapillär, kribriform und flach. Mit fortschreitender PIN wird die Basalzellschicht durchbrochen, die Basalmembran bleibt intakt.

Die PIN findet sich wie das Karzinom vor allem in der peripheren Zone der Prostata. Die Verteilung ist ebenso multifokal.

Als ein möglicher Vorläufer der PIN wird die proliferative inflammatorische Atrophie der Prostata diskutiert [63].

Die AAH zeigt Veränderungen der Drüsenstruktur ohne gleichzeitige zytologische Veränderungen der Drüsenzellen [200]. Die AAH ist mit dem Transitionalzellkarzinom der Prostata und der BPH assoziiert [205].

2.5.2. Differenzierung mithilfe des *Gleason-Scores*

Kennzeichnend für das Prostatakarzinom ist seine Multifokalität. Um diesem Punkt auch im *Grading* gerecht zu werden, entwickelte Donald Gleason in den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts das nach ihm benannte *Gradingssystem*, das sich schließlich weltweit durchgesetzt hat [95]. In diesem System werden die Muster der Drüsenarchitektur ohne Berücksichtigung zytologischer Merkmale beurteilt und in fünf Grundmuster eingeteilt [94].

Der *Gleason-Score* ergibt sich aus der Summe der beiden am häufigsten anzutreffenden Differenzierungsgrade. Findet sich nur eine Drüsenform, so wird diese doppelt gezählt. Hieraus ergibt sich ein möglicher *Gleason-Score* zwischen 2 und 10.

Muster	Drüsenform	Drüsengröße	Drüsenabstand	Herdgrenze	Stromainvasion
1	einzelnen, rund	mittel	dicht gepackt	scharf	minimal
2	einzelnen, gerundet, variabler als in 1	mittel	≤1 Drüsendurchmesser voneinander entfernt	weniger scharf	mild
3	einzelnen, unregelmäßig oder papilläres oder kribri-formes Epithel	klein, mittel, groß mittel oder groß	>1 Drüsendurchmesser voneinander entfernt rundliche Massen mit glattem scharfen Rand	schwer erkennbar schwer erkennbar	mäßig ausgedehnt
4	verschmolzene glanduläre Herde oder „hyper-nephroid“	klein	verschmolzen	unscharf infiltrierend	ausgedehnt
5	winzige Drüsen oder Siegelringzellen oder kleine Lumina in solidem Epithel, zentrale Nekrose	klein klein	anaplastische Epithelmassen rundliche Massen und Stränge mit glatten scharfen Rändern	unscharf infiltrierend schwer erkennbar	sehr stark ausgedehnt

Tabelle 1: Beschreibung der Drüsenmuster nach D. F. Gleason

Der *Gleason-Score* ist ein wichtiger Prognosefaktor, vor allem für das Fortschreiten der Erkrankung [75].

Karzinome mit einem *Gleason-Score* zwischen 2 und 4 sind selten und machen nur 2 % aller Karzinome aus. Sie sind vor allem in der Transitionalzone lokalisiert.

Am häufigsten findet man Karzinome mit einem *Gleason-Score* von 6 oder 7. Da Tumore mit einem *Gleason-Score* von 7 eine wesentlich schlechtere Prognose als Tumore mit einem *Gleason-Score* 6 haben, ist es wichtig, auch kleinere Tumoren mit einem Gleasongrad 4 zu identifizieren. Es hat sich auch gezeigt, dass ein Gleasonmuster 4+3 eine schlechtere Prognose hat als ein Gleasonmuster 3+4 [260].

Einen *Gleason-Score* zwischen 8 und 10 findet man in 10 % aller Tumore, meistens ist der *Gleason-Score* dabei 8. Karzinome mit einem hohen *Gleason-Score* sind generell aggressiver und zeigen vermehrt ein extraprostatitisches Wachstum sowie Tumorausläufer über die Schnittränder hinaus.

Nach einer neoadjuvanten Therapie vor der Operation kann die Drüsenarchitektur des Karzinoms so verändert sein, dass der *Gleason-Score* nicht mehr bestimmt werden kann [108].

Falls als dritthäufigstes Drüsenmuster das Muster 5 auftaucht, sollte dies auch im pathologischen Bericht erwähnt werden, da diese Karzinome eine schlechtere Prognose haben. Dies gilt auch für Tumore mit einem *Gleason-Score* von 5, bei denen als dritthäufigstes Muster das Muster 4 auftaucht [74].

2002 wurde der *Gleason-Score* auch in das histopathologische *Grading* der TNM-Klassifikation aufgenommen.

2.5.3. TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms

Das TNM-System zur Beschreibung der anatomischen Ausdehnung des Tumors beruht auf drei Komponenten [333]:

T: Ausdehnung des Primärtumors

N: Fehlen oder Vorhandensein und Ausdehnung von regionären Lymphknotenmetastasen

M: Fehlen oder Vorhandensein von Fernmetastasen

Es wird zwischen klinischer und pathologischer (T bzw. pT) Klassifikation unterschieden.

Die hier verwendete TNM-Klassifikation beruht auf der 2002 von der *International Union against cancer* (UICC) herausgegebenen 6. Auflage der TNM-Klassifikation.

Die Klassifikation gilt nur für Adenokarzinome. Übergangszellkarzinome werden bei den Tumoren der Urethra mitklassifiziert [334].

T-Primärtumor	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Klinisch nicht erkennbarer Tumor, der weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar ist
T1a	Tumor als zufälliger histologischer Befund („ <i>incidental carcinoma</i> “) in 5% oder weniger des resezierten Gewebes
T1b	Tumor als zufälliger histologischer Befund („ <i>incidental carcinoma</i> “) in mehr als 5% des resezierten Gewebes
T1c	Tumor durch Nadelbiopsie diagnostiziert (z. B. wegen erhöhtem PSA)
T2	Tumor begrenzt auf Prostata (ein Tumor, der durch Nadelbiopsie in einem oder beiden Lappen gefunden wird, aber weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar ist, wird als T1c klassifiziert.)
T2a	Tumor befällt die Hälfte eines Lappens oder weniger
T2b	Tumor befällt mehr als die Hälfte eines Lappens
T2c	Tumor in beiden Lappen
T3	Tumor durchbricht die Prostatakapsel (Invasion in den Apex der Prostata oder in die Prostatakapsel (aber nicht darüber hinaus) wird als T2 (nicht T3) klassifiziert.)
T3a	Extrakapsuläre Ausbreitung (einseitig oder beidseitig)
T3b	Tumor infiltriert Samenblase(n)
T4	Tumor ist fixiert oder infiltriert andere benachbarte Strukturen als Samenblasen, z.B. Blasenhals, Sphinkter externus, Rektum und/oder Levatormuskel und/oder ist an Beckenwand fixiert.
N-Regionäre Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
NO	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen vorhanden

M-Fernmetastasen	
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden
M1a	Nicht-regionale Lymphknoten
M1b	Knochenmetastasen
M1c	Fernmetastasen an anderen Stellen

Tabelle 2: TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms

pTN: Pathologische Klassifikation

Die pT- und pN-Kategorien entsprechen den T- und N-Kategorien. Eine pT1-Kategorie existiert nicht, da die Definition von T1 nicht auf die pathologische Klassifikation übertragbar ist.

Der Begriff „extraprostatistische Ausbreitung“ hat Termini wie Kapselinvasion, Kapselpenetration oder Kapselperforation ersetzt, da die Prostata keine anatomisch definierbare Kapsel hat [75].

Die extraprostatistische Ausbreitung kann folgendermaßen beschrieben werden: Ausbreitung in das periprostatistische Fettgewebe bzw. lockeres Bindegewebe, Perineuralscheideninvasion in größeren neurovaskulären Bündeln oder Tumormassen außerhalb den normalen Prostatagrenzen mit desmoplastischer Reaktion.

Grading und *Staging* des Prostatakarzinoms nach der TNM-Klassifikation:

G-histopathologisches Grading				
GX	kein <i>Grading</i> möglich			
G1	gut differenziertes Karzinom (<i>Gleason</i> 2-4)			
G2	mäßiggradig differenziertes Karzinom (<i>Gleason</i> 5-6)			
G3-4	gering differenziertes / undifferenziertes Karzinom (<i>Gleason</i> 7-10)			
Staging des Prostatakarzinoms				
Stage I	T1a	N0	M0	G1
Stage II	T1a	N0	M0	G2,3-4
	T1b,c	N0	M0	Beliebiges G
	T1, T2	N0	M0	Beliebiges G
Stage III	T3	N0	M0	Beliebiges G
Stage IV	T4	N0	M0	Beliebiges G
	beliebiges T	N1	M0	Beliebiges G
	beliebiges T	Bel. N	M1	Beliebiges G

Tabelle 3: Grading und Staging des Prostatakarzinoms

Positive Schnittränder (R1-Status) sind definiert durch Ausbreitung des Tumors bis an den mit Tusche markierten Absetzungsrand des Prostatektomiepräparats. Am häufigsten sind positive Schnittränder am *Apex prostatae* und den posterioren und posterolateralen Anteilen der Prostata zu finden [35].

Sie können als Artefakte bei Behandlung der Prostata während der Operation oder der histopathologischen Aufbereitung, durch Kapselinvasion oder durch nicht resezierbare extraprostatistische Ausbreitung entstehen. Sie sind ein verschlechternder Prognosefaktor.

2.6. Klinik, Früherkennung, Diagnostik und Staging des Prostatakarzinoms

2.6.1. Symptomatik

Da ca. 70 % der Prostatakarzinome im peripheren Teil der Prostata lokalisiert sind, sind Symptome vor dem lokalen Fortschreiten des Tumors selten, was die Bedeutung eines *Prostatakarzinomscreenings* veranschaulicht. Andererseits haben mehr als 50 % der über fünfzigjährigen Männer Beschwerden aus dem Formenkreis des Prostatismus/vegetativen Urogenitalsyndroms [220].

Es kann zu obstruktiven und irritativen Miktionsbeschwerden durch eine Infiltration des Blasenhalses und/oder der Urethra sowie Hämatospermie und/oder vermindertem Ejakulatsvolumen durch Infiltration der *Ductus ejaculatorii* sowie der Samenblasen kommen. Eine Tumordinfiltration in die Gefäßnervenstränge kann zur Impotenz führen. Metastasen im Knochen oder dem Knochenmark können Symptome in Form von Knochenschmerzen und Anämie verursachen. Lymphödeme der unteren Extremität sind bei Befall der pelvinen Lymphknoten möglich. Bei der seltenen lymphatischen Ausbreitung und konsekutiver maligner retroperitonealer Fibrosierung kann es zu Ureterobstruktionen kommen. Selten anzutreffen sind paraneoplastische Syndrome wie ektope Hormonproduktion und disseminierte intravasale Gerinnung.

2.6.2. Früherkennung und Screening

Die Früherkennung des Prostatakarzinoms hat die individuelle Diagnose des Prostatakarzinoms zu einem möglichst frühen Zeitpunkt zur Erhöhung der Heilungschancen als Ziel. Gesetzlich vorgesehen hierfür ist in Deutschland die digitale rektale Untersuchung (DRU).

Das *Screening* ist eine breit angelegte Untersuchung asymptomatischer Bevölkerungsgruppen. Als Methode wird die Bestimmung des PSA-Serumspiegels ange-

wandt. Das *Screening* zur Prostatakarzinomfrüherkennung wird kontrovers diskutiert, da man einen eventuellen Nutzen mit den Nachteilen der Überdiagnostizierung und Überbehandlung mit dadurch verursachten vermehrt auftretenden Komplikationen und höheren Kosten für das Gesundheitssystem abwägen muss. Dies zeigt auch die Diskussion zwischen Catalona [40] und Hoffman [124] zur Fragenstellung, ab wann und bis zu welchem Lebensalter ein *Screening* durchgeführt werden soll, sowie welchen PSA-Grenzwert man setzen soll. In Europa ist der mortalitätssenkende Effekt des *Screenings* nicht nachgewiesen [193].

2.6.2.1. Digitale rektale Untersuchung

Die DRU ist das schonendste und billigste Untersuchungsverfahren zur Prostatakarzinomdiagnose und wird seit 1940 eingesetzt [348]. Beurteilt werden Größe, Form, Abgrenzbarkeit, Druckschmerz, Konsistenz, Knoten, Verhärtungen und eventuell vorhandene Fluktuationen (Flüssigkeitsbewegungen) der Prostata.

Karzinome ab einem Volumen von $0,2 \text{ cm}^3$ können durch die DRU entdeckt werden, über 50 % der durch die DRU diagnostizierten Karzinome sind schon lokal fortgeschritten [231].

Durch die Lage bei der Untersuchung und die Erfahrung des Untersuchenden ist das Ergebnis der DRU sehr subjektiv. Falsch positive Befunde ergeben sich durch eine BPH, Granulome, Verkalkungen und Zysten. Falsch negative Befunde können neben der Subjektivität des Untersuchenden auch eine Folge der Tumorlokalisierung, der Prostatagröße oder der Tumordichte sein [32].

Ein positiver DRU-Befund ist eine Indikation zur Stanzbiopsie.

Da nur ca. 1 % der Prostatakarzinome durch *Screening* mit DRU allein entdeckt werden [32], sollte sie immer in Verbund mit anderen diagnostischen Verfahren wie der PSA-Bestimmung oder dem TRUS eingesetzt werden [41].

2.6.2.2. PSA-Serumspiegel

Die Funktion von PSA wird unter dem Punkt Proteine genauer erläutert.

Bei der Bestimmung des PSA-Werts wird immer der Serumspiegel des PSA gemessen, der bis zu tausendfach unter dem PSA-Spiegel des Ejakulats liegen kann.

Außer durch ein Karzinom kann der PSA-Serumwert durch andere Erkrankungen der Prostata wie die BPH oder Prostatitis sowie durch Stanzbiopsien, Prostatamassage oder auch postkoital erhöht sein. Nach einer Androgenentzugs- oder Strahlenthera-

pie ist der PSA-Wert erniedrigt, ebenso wie nach der Einnahme von α -Reductase-Hemmern wie Finasterid, die zur Behandlung der BPH eingesetzt werden.

Mit Zuhilfenahme der PSA-Bestimmung steigt die Prostatakarzinomerkennung im Vergleich zur alleinigen DRU um 81 % [41]. Zur Diagnostik wird deshalb eine Kombination aus PSA-Wert und DRU angewandt.

Die Frage des PSA Grenzwerts, ab dem die Indikation für eine Biopsie gestellt ist, wird noch diskutiert. Die Werte schwanken zwischen 2,5 und 4 ng/ml [234].

PSA-Werte zwischen 4 und 10 ng/ml bleiben wegen der hohen Prävalenz der BPH in Bezug auf eine ausreichende Spezifität und Sensitivität der Diagnostik problematisch [289], weswegen zusätzlich folgende Parameter in Betracht gezogen werden können:

Die altersspezifischen Grenzwerte für den PSA-Wert liegen bei 3,5 ng/ml bei Männern unter 60 Jahren, 4,5 ng/ml bei Männern zwischen 60 und 69 Jahren und 6,5 ng/ml bei Männern zwischen 70 und 79 Jahren [224].

Die Bestimmung der PSA-Dichte (Quotient PSA-Serumspiegel in ng/ml / Prostatavolumen in ml), des PSA-Quotienten (Quotient freies PSA / komplexiertes PSA) und der PSA-Velocity (PSA-Serumspiegelzunahme pro Jahr) sind weitere Parameter der PSA-Diagnostik.

Neben der Diagnostik des noch nicht bekannten Prostatakarzinoms ist der PSA-Wert auch ein wertvoller Parameter der Nachsorge- und Verlaufsuntersuchung sowie der Prognosebeurteilung eines klinisch manifesten Prostatakarzinoms.

2.6.2.3. Bildgebung

Der transrektaler Ultraschall (TRUS) wird mit endorektalen 4- bis 8-MHz-Sonden durchgeführt [349]. Das normale Prostatagewebe erscheint isodens, die Zonen der Prostata sowie die Samenblasen sind gut darstellbar, auch die Größe der Prostata kann beurteilt werden.

Hypodense Läsionen sind karzinomverdächtig. Karzinome können im TRUS jedoch auch isodens erscheinen, manche Autoren beschreiben, dass bis zu 56 % der Karzinome in im TRUS unverdächtigen Regionen gefunden werden [72].

Der TRUS ist keine Methode der Wahl zur Früherkennung des Prostatakarzinoms, da die sonographischen Veränderungen wenig spezifisch für das Prostatakarzinom sind und wird deshalb meist zur systematischen Stanzbiopsie und zur Volumenbestimmung für die PSA-Dichte genutzt.

Die Computertomographie hat aufgrund des geringen Weichteilkontrasts bei der Diagnose und dem *Staging* des Prostatakarzinoms keine Bedeutung [349]. Sie wird aber im Rahmen der Strahlentherapie zur Therapieplanung eingesetzt.

Die Magnetresonanztomographie mit Zusatz einer Endorektalspule kann zur detaillierten Darstellung der zonalen Anatomie der Prostata bei T2-Gewichtung genutzt werden. In der peripheren Zone lässt sich das Prostatakarzinom als signalärmeres (dunkleres) Areal von der signalreicheren (helleren) gesunden Außenzone der Prostata abgrenzen. Karzinome der zentralen Zone sowie diffus wachsende periphere Karzinome sind schwer darstellbar. Aus diesem Grund ist die Magnetresonanztomographie nicht als *Screeningverfahren* geeignet. Trotzdem kann sie zur additiven Diagnostik im Rahmen des lokalen *Staging* zum Einsatz kommen [73].

Im Rahmen des *Lymphknotenstaging* wurde sowohl für die Magnetresonanztomographie als auch für die Computertomographie nur eine geringe Sensitivität nachgewiesen [129].

Die Positronenemissionstomographie spielt zurzeit noch keine Rolle bei der Erstdiagnose des Prostatakarzinoms [142]. Beim *Staging* und der Metastasensuche können ^{18}F -Fluorodesoxyglucose, ^{11}C -Acetat und ^{11}C -Cholin angewendet werden. Da Tumore einen höheren Glucosebedarf haben als benignes Gewebe, reichert sich dort ^{18}F -Fluorodesoxyglucose vermehrt an. In Bezug auf Prostatakarzinome gilt dies besonders für niedrig differenzierte aggressive Tumore [275]. ^{11}C -Acetat ist besser für das Auffinden von Lymphknotenmetastasen geeignet [228]. Der Vorteil von ^{11}C -Cholin liegt in der sehr tumorspezifischen Aufnahme und der geringen renalen Exkretion (keine Überlagerungen durch harnableitende Strukturen im kleinen Becken). Außerdem wird es zur Rezidivdiagnostik eingesetzt [219]. Zur Anwendung anderer Tracer wie Methionin und ^{18}F -DHT liegen noch nicht genügend Daten vor.

Die Skelettszintigraphie ist die sensitivste Nachweismethode für Skelettmetastasen des Prostatakarzinoms.

2.6.2.4. Stanzbiopsie

Die Indikation zur Stanzbiopsie ist ein positiver DRU-Befund oder ein erhöhter PSA-Wert.

1989 berichteten Hodge *et al.* als erste, dass die standardisierte Sextantenbiopsie der Biopsie von im TRUS hypodensen Läsionen überlegen ist [123], in einer Studie mit über 2000 Probanden wurde nur bei 31 % ein Karzinom in hypodensen Regionen gefunden wurde [203].

Standardmäßig wird sie als TRUS-gesteuerte systematische transrektale Mehrfachbiopsie als ambulanter Eingriff durchgeführt. Die perineale Stanzbiopsie ist bei Patienten mit Rektumamputation indiziert. Transperineale Biopsien unter digital-rektaler Kontrolle sind nur noch bei ausgeprägtem Tastbefund und Verdacht auf lokale oder systemische Ausbreitung des Tumors indiziert.

Der Standard ist die Sextantenbiopsie, wobei auf jeder Seite parasagittal aus Basis, Mittelzone und apikaler Region jeweils eine Stanze entnommen wird. Dieses Schema kann durch zentrale (aus der Transitionalzone) oder laterale (aus der äußeren peripheren Zone) Zusatzbiopsien ergänzt werden, da das Prostatakarzinom meist in der peripheren Zone lokalisiert ist [14].

Der *Gleason-Score* der Biopsie ist ein wichtiger Prognosefaktor, auch wenn er oft nicht mit dem *Gleason-Score* des Prostatakarzinoms übereinstimmt [221].

2.6.2.5. Staginglymphadenektomie

Die pelvine Lymphadenektomie liefert einen wichtigen Beitrag zur Feststellung der Tumordiagnose und der Langzeitprognose.

Bezüglich der Fünfjahresüberlebensrate von Patienten mit befallenen Lymphknoten konnte gezeigt werden, dass die Prognose von Patienten mit befallenen Lymphknoten schlechter ist als bei Patienten ohne befallene Lymphknoten [83].

Es kann eine limitierte (Bereich der *Vasa iliaca externa* und Obturatorgrube) und eine ausgedehnte Lymphadenektomie (zusätzlich Bereich der *Vasa iliaca interna* und präsakrale Region) vorgenommen werden. Ein Entfernen von 20 Lymphknoten kann als repräsentative Lymphadenektomie gelten [328]. In mehreren Studien fanden sich bei der ausgedehnten Lymphadenektomie im Vergleich zur limitierten Variante wesentlich mehr Patienten mit positiven Lymphknoten [294] [117].

Die Komplikationsrate schwankt zwischen 4 und 50 % [180].

Die Frage, wann die Indikation zu einer ausgedehnten Lymphadenektomie soll, wird noch diskutiert. Es hat sich aber gezeigt, dass auch Patienten aus der „*low-Risk-Gruppe*“ (T1c - T2a, PSA < 10 ng/ml, *Gleason-Score* ≤ 6) schon befallene Lymphknoten haben können [37].

Eine weitere Möglichkeit ist das *Sentinellymphknotenkonzept*. Mit Hilfe dieser Technik konnten auch Metastasen außerhalb des Gebiets der limitierten Lymphadenektomie entdeckt werden [326].

2.6.3. Stadiendiagnostik (*Staging*) des Prostatakarzinoms

Zum klinischen *Staging* gehören die DRU, die PSA-Bestimmung sowie der *Gleason-Score* der Biopsie und evt. das Ergebnis der Skelettszintigraphie.

Zum pathologischen *Staging* gehört die Beurteilung des Prostatektomiepräparats sowie des Ergebnisses der Lymphadenektomie.

Zu den pathologischen prognoseverschlechternden Faktoren gehören organüberschreitendes und extraprostatitisches Wachstum, Befall der Samenblasen sowie Befall der pelvinen Lymphknoten und positive Schnittränder. Außerdem müssen der Differenzierungsgrad (*Gleason-Score* von Biopsie und Prostatektomiepräparat) sowie die Beurteilung der Schnittränder in die Prognose mit einfließen [221].

2.7. Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms

Das lokal begrenzte Prostatakarzinom umfasst die Stadien T1 und T2.

Faktoren bei der Therapieentscheidung sind die verbleibende Lebenserwartung, die Komorbidität und Prognosefaktoren des Prostatakarzinoms.

Für den Vergleich der verschiedenen Therapieformen wird die Wahrscheinlichkeit eines biochemischen Rezidivs untersucht. Hier werden drei Kategorien unterschieden [61]:

low risk: T1c - T2a, PSA < 10 ng/ml, *Gleason-Score* ≤ 6

intermediate-risk: T2b oder PSA 10 – 20 ng/ml oder *Gleason-Score* 7

high risk: T2c - T3a oder PSA > 20 ng/ml oder *Gleason-Score* 8 – 10

Die Fünfjahres-PSA-rezidivfreie Überlebenszeit beträgt 85 % für *low-risk*, 50 % für *intermediate-risk* und 33% für *high-risk*-Tumoren. Bei *low-risk*-Tumoren sind alle Verfahren gemessen am PSA-rezidivfreien Überleben gleichwertig, bei *intermediate-risk*- und *high-risk*-Tumoren werden durch die Radikaloperation bessere Ergebnisse erzielt.

2.7.1. Chirurgische Therapie

Eine radikale Prostatektomie ist das Standardverfahren des lokal begrenzten Prostatakarzinoms bei Patienten mit einer Lebenserwartung von mindestens zehn Jahren, bei denen eine Operation keine Kontraindikation darstellt. Die 10-Jahres-Rate für rezidivfreies Überleben liegt in neueren Studien bei ca. 75 % [291].

Sie kann auf mehrere verschiedene Arten durchgeführt werden:

Die radikale retropubische Prostatektomie [223] mit pelviner Lymphadenektomie ist das Standardverfahren.

Die perineale Prostatektomie [251] führt zu gleichen Ergebnissen wie die retropubische Prostatektomie, die pelvine Lymphadenektomie kann jedoch nicht gleichzeitig durchgeführt werden.

Die laparoskopische radikale Prostatektomie [5] zeichnet sich durch eine bessere optische Sicht, einen geringeren Blutverlust und eine raschere Rekonvaleszenz aus, führt aber zu längeren Operationszeiten, höheren Kosten und schlechterer Potenz-erhaltung.

Die Anwendung einer neoadjuvanten Androgenentzugstherapie für drei Monate vor der Operation ist möglich. Sie wird unter einem eigenen Punkt dargestellt.

Die Komplikationen können wie folgt unterteilt werden:

Zu den intraoperativen Komplikationen gehören Blutverlust, Rektumverletzungen, Verletzungen der Urethra und des *Nervus obturatorius*. Perioperativ kann es zu Thrombembolien, Schmerzen sowie zu Lymphozelen kommen. Später können sich eine Inkontinenz, Impotenz oder auch eine Blasenhalstriktur entwickeln.

Die erektile Dysfunktion kann durch Schonung des Gefäßnervenstrangs nach der Technik von Walsh [323] in über 70 % der Fälle vermieden werden. Dies hängt sowohl von der Erfahrung des Operateurs als auch der notwendigen Radikalität der Operation ab.

Bei positiven Schnitträndern (R1-Situation) können die Patienten bestrahlt werden, was ihre Prognose deutlich verbessert [302].

2.7.2. Strahlentherapie

Sie kann in Form der perkutanen Strahlentherapie und als Brachytherapie durchgeführt werden. Die Beurteilung der Effektivität der Strahlentherapie wird dadurch erschwert, dass kein *Lymphknotenstaging* und kein pathologisches *Staging* vorliegen.

Vorteile der Strahlentherapie sind die Vermeidung einer Operation und weniger Einschränkungen durch die Komorbidität des Patienten. Nachteile sind die Schwierigkeit in der Verlaufsbeurteilung mittels PSA-Wert und Biopsie sowie Probleme bei einer Sekundärtherapie.

Die perkutane Strahlentherapie kann in konventioneller Technik (Gesamtbecken- oder Kleinfeldbestrahlung) oder in der konformalen Technik (bildgebungsgestützte dreidimensionale Strahlenplanung und –durchführung zur Schonung des die Prostata

umgebenden Gewebes) mit hochenergetischen Linearbeschleunigern durchgeführt werden [351].

Die applizierte Gesamtdosis beträgt 70 bis 75 Gy, bei „*intermediate-risk*“- und „*high risk*“-Patienten wird die Dosis auf 75 bis 80 Gy gesteigert, hier können auch die pelvinen Lymphknoten mitbestrahlt werden. Meist wird zusammen mit der Strahlentherapie eine neoadjuvante oder adjuvante Androgenentzugstherapie durchgeführt.

Nebenwirkungen umfassen eine Strahlenzystitis, Proktitis und Impotenz.

Bei der Brachytherapie wird radioaktives Material direkt in oder nahe zu den Tumoren appliziert. Dies kann mit der *Seed-Implantation* [248] oder der *After-Loading-Therapie* [194] erfolgen. *Seed-Implantationen* werden nur bei einem PSA-Wert unter 10 ng/ml, einem Prostatavolumen unter 50 ml und einem Restharn von weniger als 50 ml angewendet.

Der geringen Invasivität, kurzen Therapiedauer und schnelle Rekonvaleszenz stehen die hohen Kosten und eine hohe Variabilität der weiteren Prognose gegenüber.

2.7.3. Kryotherapie

Über TRUS-gesteuerte Thermosonden werden lokal in die Prostata Temperaturen von -20°C hervorgerufen. Das Verfahren ist minimalinvasiv und kann bis zu einem Prostatavolumen von 50 ml angewendet werden. Die Erfahrungen bezüglich rezidivfreiem Überleben und Komplikationen sind noch limitiert [204].

2.7.4. Aufmerksames Abwarten („*Watchful waiting*“)

Dies ist das Konzept der abwartenden Nichtbehandlung eines diagnostizierten Prostatakarzinoms. Es beruht auf der Vorstellung, dass viele lokalisierte Prostatakarzinome klinisch nicht signifikante Prostatakarzinome darstellen, da aufgrund der langsamen Progressionszeit des Prostatakarzinoms keine durch den Tumor bedingte Verkürzung der Überlebenszeit zu erwarten ist.

Vor allem Patienten mit einer Lebenserwartung von weniger als zehn Jahren und niedrigem Tumorstadium (T1a), sind für diese Therapie vorgesehen („*low-risk*“-Kategorie). Kontraindikationen für das „*watchful waiting*“ sind „*high-risk*“-Patienten und der Nachweis von Tumorprogression oder Metastasen. Auch Patienten mit fortgeschrittenem Tumor können Kandidaten für das *Watchful-Waiting*-Konzept sein, wenn die Folgen der Therapie schwerwiegender als die dadurch erlangten Vorteile sind [25].

Die Therapie besteht in einer engmaschigen Überwachung des PSA-Spiegels unter Berücksichtigung der *PSA-Velocity* und einer DRU alle sechs Monate sowie eventuell

weiteren Biopsien der Prostata. Bei Auftreten von Symptomen wird meist eine Androgenentzugstherapie angewandt.

Das *Watchful-Waiting*-Konzept ist umstritten, da viele Studien den positiven Effekt einer sofortigen Therapie gezeigt haben. Dennoch ist ein Langzeitüberleben ähnlich dem der Normalbevölkerung möglich [146].

2.7.5. Neoadjuvante und adjuvante Therapie

Eine neoadjuvante Therapie ist definiert als systemische Therapie, die nach der Diagnosestellung und vor der definitiven lokalen Therapie angewandt wird. Die adjuvante Therapie ist eine systemische Therapie die im Falle der Strahlentherapie gleichzeitig oder bei einer chirurgischen Therapie nach der Operation angewandt wird.

Die neoadjuvante Androgenentzugstherapie (NHT) wurde erstmals von Vallett 1944 beschrieben [316] und lebte Ende der 80er Jahre mit der Einführung der medikamentösen Kastration wieder auf.

Die Rationale der NHT ist, dass es durch die Androgenablation zu einer Apoptose der androgenabhängigen Tumorzellen und dadurch zu einer Verkleinerung des Tumors kommen soll. In Tierstudien wurde eine um bis zu 50 % niedrigere Rezidivrate und R1-Situation bei mit NHT vorbehandelten Tieren nachgewiesen [98].

Die Anwendung einer meist dreimonatigen Therapie mit GnRH-Antagonisten und/oder Antiandrogenen führt zu einer deutlichen Senkung des Serum-PSA-Werts, einer Normalisierung des Serumspiegels der sauren Phosphatase sowie einer Reduzierung des Prostatavolumens um 35 bis 50 % [102].

Einige Autoren berichten von weniger Komplikationen bei der Prostatektomie mit geringerem Blutverlust und kürzerer Operationsdauer. Andere Autoren sprechen dagegen von einer schwierigeren Chirurgie aufgrund desmoplastischer Reaktionen des Tumorgewebes [169], was die Demarkierung der Prostata sowie die potenzierte Operationsvariante schwieriger macht.

Neben den schon erwähnten nachteiligen Effekten bei Operationen wird auch die makroskopische und mikroskopische Anatomie der Prostata beeinflusst [120]. Die vorbehandelten Prostaten sind kleiner und von weicher, gummiartiger Konsistenz. Die makroskopische Karzinomdiagnose ist erschwert [13].

Mikroskopisch finden sich Veränderungen in der Zyto- und Histoarchitektur der Karzinome. Es kommt zu einer Schrumpfung der Zellen sowie zu Vakuolisierungen (hellzelliges Zytoplasma), Kernpyknose und Verlust der Nucleoli.

Die Drüsen haben ein atrophes Epithel mit dichten kompakten Kernen. In etwa 40% der Fälle scheint das Karzinom von der Therapie unbeeinflusst, vor allem bei Tumoren mit kribriformen Wachstum. Selten kommt es zu einem als *Pseudomyxoma ovarii* beschriebenen Bild [308].

Um zu überprüfen, ob eine längere Vorbehandlung von acht Monaten versus drei Monaten Vorteile bringt, wurden in einer Studie der *Canadian Urologic Oncology Group* 549 randomisierte Patienten mit drei- bzw. achtmonatiger NHT untersucht. Der präoperative PSA-Spiegel sowie die Anzahl positiver Schnittränder waren bei der Gruppe mit achtmonatiger Therapie signifikant niedriger. Bezüglich eines PSA-Rezidivs gab es aber nach vier Jahren keinen Unterschied in beiden Gruppen [96].

Es hat sich gezeigt, dass es keine Unterschiede zwischen den Mortalitätsraten vorbehandelter und nicht vorbehandelter Patienten gibt [60].

In Kombination der NHT mit der Strahlentherapie kann die progressionsfreie Zeit sowie das Gesamtüberleben bei Tumoren in den Stadien T3 und N1 verlängert werden. Hier kann die NHT neben der vor der Strahlentherapie durchgeführten neoadjuvanten Variante auch begleitend zur Strahlentherapie als adjuvante Variante angewandt werden [27].

2.7.6. Therapie bei PSA-Rezidiv nach einer radikalen Prostatektomie

Nach einer radikalen Prostatektomie sollte der PSA-Spiegel innerhalb von vier Wochen unter die Nachweisgrenze sinken. Das erste Zeichen für ein Rezidiv ist meist ein PSA-Anstieg ohne begleitende andere Symptome [232].

Ein PSA-Rezidiv ist definiert als PSA-Wert von 0,2 ng/ml oder größer, der ansteigt [232]. Das PSA-Rezidiv kann dem klinischen Rezidiv um 6 bis 8 Jahre vorausgehen, seine Wahrscheinlichkeit kann mit Hilfe des Kattan-Nomogramms angegeben werden.

Bei einem PSA-Rezidiv muss immer abgeklärt werden, ob ein Lokalrezidiv oder eine Fernmetastase vorliegt.

Therapiemöglichkeiten bei einem Lokalrezidiv sind die *Salvage*-Strahlentherapie [292] sowie die *Salvage*-Prostatektomie [290] nach einer Strahlentherapie.

2.8. Therapie des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms

„Lokal fortgeschritten“ bedeutet, dass das Karzinom die Kapsel durchbrochen hat, aber noch keine Metastasen in regionalen Lymphknoten oder an anderen Stellen aufgetreten sind.

Die Therapie des klinisch lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms wird kontrovers diskutiert. Es handelt sich um ein Mischstadium mit einem erheblichen Anteil an falsch eingeschätzten T2-Tumoren sowie auch lymphknotenpositiven Tumoren. Die möglichen Therapieoptionen beinhalten die radikale Prostatektomie, die Strahlentherapie, die Hormontherapie sowie das „*Watchful Waiting*“.

Ein multimodaler interdisziplinärer Therapieansatz wird angestrebt [332].

2.9. Therapie des metastasierten Prostatakarzinoms

2.9.1. Androgenentzugstherapie

Der Therapieansatz des metastasierten Prostatakarzinoms ist die Androgenentzugstherapie.

1941 beschrieben Huggins und Hodges als erste den positiven Effekt einer Androgenablation durch chirurgische Kastration bzw. Östrogene und zeigten damit die Androgenabhängigkeit des Prostatakarzinoms [137]. Für diese Forschungen erhielten sie 1966 den Nobelpreis für Medizin.

Die Ansprechrate der Patienten liegt bei 70 bis 80 %. Der Erfolg zeigt durch eine Verkleinerung von Primärtumor und Metastasen, einen gesunkenen PSA-Spiegel und eine Verringerung der durch den Tumor und seine Metastasen bedingten Komplikationen wie Knochenschmerzen, Blasen- und Urethrastriktor, Anämie und Kachexie [152].

Diese Therapie hat nur einen palliativen Charakter, die Zeit bis zur klinischen Progression des Karzinoms sind im Durchschnitt 14 bis 30 Monate nach Therapiebeginn [99]. Die Frage, ob die Androgenablation sofort bei Diagnosestellung oder erst bei Auftreten von klinischen Symptomen begonnen werden soll, ist in vielen Studien untersucht worden. Es zeigte sich, dass eine frühzeitige Therapie sich positiv auf das Überleben von lokal fortgeschrittenen noch nicht metastasierten Tumoren sowie jüngere Patienten auswirkt [1]. Ältere Männer ohne Metastasen profitieren am ehesten von der verzögerten Therapie [186].

Die Androgenablation kann auf zwei Arten bewerkstelligt werden: chirurgisch und medikamentös.

2.9.1.1. Chirurgische Androgenablation

Durch die bilaterale Orchidektomie sinkt der Bluttestosteronspiegel in drei bis zwölf Stunden von 5 mg/l auf 0,5 mg/l. Dies ist die schnellste Form der Absenkung des Testosteronspiegels [187].

Es ist auch die günstigste Methode der Androgenablation [20] und zeichnet sich durch ihre geringe Morbidität und keine *Compliance*-Probleme aus. Auf der anderen Seite stehen die Irreversibilität der Methode, die psychische Belastung und organische Folgen wie Impotenz, Hitzewallungen und eine sich verringemde Knochendichte.

2.9.1.2. Medikamentöse Androgenablation

Medikamentös kann die Testosteronsynthese der Hoden durch einen Eingriff in das hypothalamisch-hypophysäre System durch GnRH-Rezeptor-Agonisten oder Östrogene eingegriffen werden. Außerdem kommen Antiandrogene zum Einsatz.

Zu den GnRH-Rezeptor-Agonisten gehören Substanzen wie Buserelin, Goserelin, Leuporelin und Triptorelin.

Durch dauernde Besetzung der GnRH-Rezeptoren durch die Agonisten kommt es nach einer initialen Steigerung der LH-Ausschüttung zu einer Rezeptordesensibilisierung (*Down-Regulation*), wodurch kein LH mehr sezerniert wird.

Um die Auswirkungen des initialen Testosteronanstiegs (*flare-Phänomen* [33]) in den ersten zwei bis drei Wochen der Therapie zu vermeiden, werden den Patienten kurz vor Beginn und in den ersten zwei Wochen der Behandlung nichtsteroidale Antiandrogene verabreicht [327].

GnRH-Rezeptor-Antagonisten wie Cetrorelix und Ganirelix, bei deren Anwendung es initial nicht zu einem Testosteronanstieg kommt, befinden sich noch in der klinischen Erprobung [209].

Die Nebenwirkungen der medikamentösen Kastration ähneln denen der chirurgischen Kastration mit Potenz- und Libidoverlust sowie Hitzewallungen. Nach Therapieende sind sie aber reversibel [268].

Östrogenpräparate wie Diethylstilboestrol senken durch hypothalamische Feedback-Kontrolle GnRH und damit auch LH und die Testosteronproduktion der Leydigzellen. Aufgrund der aufgetretenen kardiovaskulären und feminisierenden Nebenwirkungen werden sie heutzutage nicht mehr in der Androgenentzugstherapie des Prostatakarzinoms verwendet [26]. In neueren Studien werden sie transkutan beim hormonrefraktären Prostatakarzinom eingesetzt [62].

Antiandrogene werden in steroidale und nicht-steroidale Antiandrogene aufgeteilt.

Zu den steroidalen Antiandrogenen gehören Substanzen wie Cyproteronacetat oder Chlormadinoacetat. Sie gehören zu den Gestagenen und wirken, indem sie einerseits die LH- und Follikel stimulierendes Hormon (FSH)-Ausschüttung der Hypophyse

hemmen und andererseits den Androgenrezeptor in den Zellen direkt blockieren [101]. Die Nebenwirkungen beinhalten neben den kardiovaskulären Problemen Libido- und Potenzverlust sowie Gynäkomastie.

Zu den nicht-steroidale Antiandrogenen zählen Flutamid, Nilutamid und Bicalutamid. Sie wirken auf zellulärer Ebene, indem sie an den Androgenrezeptor binden, aber seine Aktivierung und Translokation in den Kern verhindern. Dadurch, dass der Testosteronspiegel nicht beeinflusst wird, kommt es seltener zu Libido- und Potenzstörungen. Häufiger kommt es zu Gynäkomastie und Übelkeit.

Antiandrogene werden zur Verhinderung des „*flare-Phänomens*“ zu Beginn einer Behandlung mit GnRH-Agonisten sowie bei der maximalen Androgenblockade (MAB) eingesetzt. Bei der antiandrogenen Monotherapie kommt es zwar selten zu Libido- und Potenzverlust, die wenigen bisher durchgeführten Studien haben aber keine Überlegenheit gegenüber der medikamentösen Kastration gezeigt [18].

Sonderformen der medikamentösen Androgenablation sind die intermittierende und die maximale Androgenblockade.

Um auch die Wirkung der von der Nebennierenrinde produzierten Androgene und deren Wirkung auf das Prostatakarzinom auszuschalten, wurde das Konzept der MAB entwickelt. Hierzu werden GnRH-Agonisten gemeinsam mit Antiandrogenen verabreicht. Viele Studien zur Frage, ob die maximale Androgenblockade besser als chirurgische oder medikamentöse Kastration alleine ist, kamen zu dem Ergebnis, dass aus der maximalen Androgenblockade zwar ein geringer Überlebensvorteil, aber verbunden mit einer geringeren Lebensqualität erwächst [2].

Außerdem wurde hier gehäuft ein Antiandrogen-Entzugs-Syndrom beobachtet [150]. Dies manifestiert sich in einem Anstieg des PSA-Spiegels unter Therapie. Hier muss das Antiandrogen abgesetzt werden.

Nach dem Konzept der intermittierende Androgenablation wird die Therapie nach Erreichen eines definierten PSA-Serumspiegels von 4,0 ng/ml unterbrochen und erst nach Überschreiten des PSA-Spiegels vor Therapie, falls dieser unter 20 ng/ml lag, ansonsten bei einem PSA-Spiegel über 20 ng/ml wieder aufgenommen. Die positiven Effekte sind eine Verringerung der Nebenwirkungen, wie Potenz- und Libidoverlust in den therapiefreien Phasen sowie potenziell verlängertes Überleben durch Verzögerung der Entwicklung der Androgenablationsresistenz des Prostatakarzinoms. Die intermittierende Androgenablation wird derzeit nur in Studien angewandt [24].

2.9.2. Ätiologie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms

Nach zwei bis drei Jahren der Androgenablation entwickelt sich bei fast allen Patienten eine Therapieresistenz, die einer anderen Behandlung bedarf. Dies zeigt sich durch einen kontinuierlichen PSA-Anstieg unter Androgenablation, wobei hier andere Ursachen wie mangelnde Compliance sowie das Antiandrogenentzugssyndrom auszuschließen sind [267].

Die molekularen und zellulären Mechanismen, die diese Resistenz hervorrufen, sind Gegenstand der aktuellen Forschung und auch dieser Studie. Sie werden in verschiedene Pfade oder *pathways* der Entwicklung eines androgenunabhängigen Prostatakarzinoms eingeteilt [77].

2.9.2.1. Der hypersensitive Pfad

Eine Möglichkeit für die Prostatakarzinomzelle, die Androgenblockade zu umgehen, liegt darin, auf die noch vorhandenen sehr niedrigen Androgenspiegel zu reagieren. Hierfür kann der Androgenrezeptor verstärkt exprimiert werden. Dies geschieht über eine Amplifikation des Androgenrezeptorgens [47]. Diesen Zellen genügt ein um 80% niedrigerer Androgenspiegel, um weiterhin zu proliferieren.

Eine andere Möglichkeit ist eine gesteigerte Sensitivität des Androgenrezeptors. In LNCaP-Zellen wurden neben einer höheren Expression des Androgenrezeptors eine höhere Stabilität und eine vermehrte nukleäre Lokalisation des Androgenrezeptors festgestellt [107].

Außerdem können vermehrt Androgene, vor allem DHT, von Prostatakarzinomzellen selbst produziert werden, indem die Aktivität der 5 α -Reductase ansteigt [77].

2.9.2.2. Der wahllose Pfad

Durch Mutationen kann die Spezifität des Androgenrezeptors so verändert werden, das er auch durch andere Steroide außer Androgenen sowie Antiandrogene aktiviert werden kann [271]. Solche Mutationen sind in androgenunabhängigen Karzinomzellen sowie bei Patienten mit Antiandrogenentzugssyndrom in 10 bis 30 % zu finden [301].

2.9.2.3. Der atypische Pfad

Die Aktivierung des Androgenrezeptors kann auch durch Bindung von nichtsteroidalen Liganden sowie ligandenunabhängig erfolgen.

Wachstumsfaktoren wie der *epidermal growth factor* (EGF) und Zytokine wie Interleukin 6 (IL-6) können den Androgenrezeptor direkt phosphorylieren [59] sowie durch Veränderungen von Signalwegen androgenrezeptorabhängige Gene aktivieren [91].

2.9.2.4. Der Pfad der Korepressoren und Koaktivatoren

Eine Vielzahl dieser Korepressoren und Koaktivatoren ist entdeckt worden [143]. Sie fungieren als Vermittler zwischen dem Androgenrezeptor und dem Transkriptionsapparat. Störungen in der Balance zwischen Korepressoren und Koaktivatoren beeinflussen die Aktivierung des Androgenrezeptors, indem sie die Aktivierung des Androgenrezeptors durch alternative Liganden sowie ligandenunabhängig ermöglichen und den Rezeptor für die vorhandenen niedrigen Androgenspiegel empfindlich machen [106].

2.9.2.5. Der Umgehungspfad

Prostatakarzinomzellen können die Fähigkeit entwickeln, auch unabhängig vom Androgenrezeptor zu überleben.

Am besten erforscht ist hier der Weg über die Möglichkeit des Eingriffs in den Apoptosemechanismus über die Hochregulation von Bcl-2 [198].

Andere Möglichkeiten sind die Deaktivierung von Tumorsuppressorgenen wie *Phosphatase and tensin homolog* (PTEN) oder die neuroendokrine Differenzierung von Prostatakarzinomzellen [64]. Diese Zellen finden sich vermehrt bei androgenunabhängigen Prostatakarzinomen und sezernieren Neuropeptide wie Serotonin und Bombesin, die die umgebenden Zellen zum Wachstum anregen.

2.9.2.6. Der Pfad der Tumorstammzellen

Eine Subpopulation von Tumorzellen, die 0,1 % des Tumors ausmacht, den *cluster of differentiation* (CD) Phänotyp CD44⁺/α₂β₁/CD133⁺ hat und keinen Androgenrezeptor exprimiert, wird für Tumorstammzellen oder Tumovorläuferzellen gehalten [54].

Eine andere Möglichkeit besteht darin, dass Tumorstammzellen kontinuierlich androgenabhängige und –unabhängige Tumorzellen hervorbringen und so für das heterogene Bild bezüglich des Androgenrezeptors beim hormonrefraktären Prostatakarzinom verantwortlich sind [267].

Mithilfe dieser Erkenntnisse über Mechanismen der Resistenzentwicklung gegenüber der Androgenentzugstherapie besteht die Möglichkeit zur Entwicklung neuer Therapieansätze, die nicht mehr nur gegen die Tumorzelle selbst sondern auch gegen die

Zellen in der Umgebung des Tumors – von Stammzellen bis zu neuroendokrinen Zellen- gerichtet sein können.

2.9.3. Therapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms

Das hormonrefraktäre Prostatakarzinom kann durch einen Wechsel der Androgenentzugstherapie zu anderen Substanzklassen wie Östrogene, Ketoconazol, Aminogluthetimid oder Kortikosteroide umgestellt werden [62].

Eine andere Möglichkeit ist die Chemotherapie.

Durch die geringe Zellteilungsrate von 2,9 % ist das Prostatakarzinom für eine zytostatische Behandlung ungeeignet, durchschnittliche Ansprechraten von Cytostatika betragen 8,7 %.

Bei einer Ansprechrate von 30 %, ein Schwellenwert für die Wirksamkeit von Chemotherapeutika, würde die Proliferationsrate auf 2 % sinken, was der normalen Zellverlustrate des Prostatakarzinoms entspricht. Die Chemotherapie würde so nur zu einem Wachstumsstillstand führen [141].

Es hat sich gezeigt, dass mit Mikrotubuli-Inhibitoren die besten Erfolge in Bezug auf eine Verringerung der Mortalität von zu erzielen sind. Am wirkungsvollsten war der Einsatz von Docetaxel in Mono- oder in Kombinationstherapie mit Estramustin [239].

Docetaxel ist ein partialsynthetisches Derivat von Paclitaxel, das zur Familie der Taxane, Alkaloiden der pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia*), gehört. Es greift am Cytoskelettprotein Tubulin an und verhindert eine Depolymerisation der Mikrotubuli. Dadurch wird die Mitose in der Metaphase gestoppt, was zur Apoptose führt. Außerdem fördert Docetaxel die Phosphorylierung von Bcl-2 (Umgehungspfad), was die antiapoptotische Wirkung dieses Proteins aufhebt [165].

Estramustin ist ein Östrogenderivat, das ebenfalls an Tubulin bindet und auf die Tubulinpolymerisation einwirkt [10].

Weitere klinische Studien haben gezeigt, dass mit einer Docetaxel-Monotherapie die Nebenwirkungsrate deutlich gesenkt werden kann [239].

Als palliative Chemotherapie kann auch eine Kombination aus Mitoxantron, einem Anthracendionderivat, das mit der DNA interkaliert und DNA-Strangbrüche verursacht, und Prednison, einem synthetischen Glucocorticoid, angewendet werden [148].

Weitere palliative Maßnahmen, die vor allem zur Behandlung von Komplikationen durch Knochenmetastasen geeignet sind, sind die Strahlentherapie [240] und der Einsatz von Bisphosphonaten [331].

Neue Therapieansätze werden derzeit noch in klinischen Studien untersucht [239]. Sie können in die Klassen Cytostatika, gentherapeutische Transfektion, radioaktiv markierte Antikörper und *targeted therapy* – Inhibition verschiedener Signaltransduktionswege – eingeteilt werden. In der Diskussion wird dieser Punkt ausführlicher besprochen.

3. Charakterisierung der untersuchten Proteine

3.1. Schlüsselproteine zur Typisierung des Prostatadrüsene- pithels und dessen Dignitätsbestimmung

Unter diesem Begriff werden die Proteine zusammengefasst die routinemäßig zur Typisierung des Prostatadrüsenepithels (PSA, PSP, PSMA) und dessen Dignitätsbeurteilung (Racemase, CK 5/6, Mib-1) eingesetzt werden.

3.1.1. CK 5/6

Cytokeratin 5 und Cytokeratin 6 (CK 5/6) sind Bestandteile des Zytoskeletts vieler epithelialer Zellen und dienen als Marker der Epitheldifferenzierung.

Sie werden z. B. zur Differenzierung zwischen wenig differenzierten Plattenepithel- und Adenokarzinomen eingesetzt. In komplexen Epithelien wie dem Prostatadrüsenepithel exprimieren vor allem die vorhandenen Basalzellen CK 5/6. Somit können benigne Prostatadrüsen mit Basalzellen von Karzinomdrüsen, die keine Basalzellen besitzen, unterschieden werden [6].

3.1.2. Racemase

Alpha-Methylacyl-CoA-Racemase ist ein Enzym, das an der Gallensäurebiosynthese und der β -Oxidation von Fettsäuren mit verzweigten Ketten beteiligt ist [78].

Es kommt in Prostatakarzinomzellen im Gegensatz zum benignen Prostataepithel vor und ist ein weiterer Marker zur Sicherung der Karzinomdiagnose [145].

Die Racemase-Expression korreliert positiv mit der Differenzierung des Tumors [167].

3.1.3. Mib-1/Ki-67

Das Ki-67 Protein wird in allen aktiven Phasen (G_1 -, S-, G_2 und M-Phase) des Zellzyklus exprimiert und fehlt in ruhenden Zellen (G_0 -Phase), was es zu einem guten Proliferationsmarker macht [88].

Bei Prostatakarzinomzellen ist die Mib-1 Expression mit Tumorstadium und Malignitätsgrad korreliert [28].

3.1.4. PSA

PSA, Synonym humanes Kallikrein 3, ist eine Serinprotease aus der Familie der Kallikreinproteasen. 1979 wurde PSA von Wang *et al.* aus Prostatagewebe isoliert [324]. Es wird in den Epithelzellen der Prostata und der Periurethraldrüsen sezerniert und dient der Verflüssigung de Ejakulats. PSA wird sowohl von benignen als auch malignen Prostatadrüsenzellen produziert, wobei mit steigendem *Gleason-Score* weniger PSA exprimiert wird. Außerdem findet sich PSA u. a. in sehr geringen Mengen in benignem und malignem Mammagewebe, Neoplasmen der Nebenniere und Nierenzellkarzinomen.

Diagnostisch wird PSA unter anderem auch zur Diagnose eines niedrig differenzier-ten Prostatakarzinoms bzw. dessen Metastasen eingesetzt [319].

3.1.5. PSMA

Das prostataspezifisches Membranantigen (PSMA) ist ein Membranglykoprotein Typ II mit den Funktionen einer Folat-Reduktase und einer Neuropeptidase. Es wird in der Prostata von benignen Epithelien und Tumorzellen exprimiert [218].

Die PSMA-Exprimierung steigt mit zunehmender Aggressivität des Tumors. Außerdem ist sie ein Anzeichen für ein frühes PSA-Rezidiv und kann so als zusätzlicher Marker für die Beurteilung der Malignität eines Prostatakarzinoms hilfreich sein [235].

3.1.6. PSP

Die prostataspezifische saure Phosphatase (PSP) ist eine wichtige Phosphatase in benignen gut differenzierten Prostataepithelzellen. Bei Patienten mit einem Prostatakarzinom und besonders bei vorliegenden Knochenmetastasen ist ihr Serumspiegel erhöht, was sie vor der Entdeckung des PSA zum ersten Tumormarker des Prostatakarzinoms machte [111].

Die Expression der prostataspezifischen sauren Phosphatase in Tumorzellen korreliert negativ mit dem Fortschreiten des Karzinoms trotz erhöhtem PSP-Serumspiegel [178].

3.2. Androgenrezeptor

Der Androgenrezeptor gehört zur Familie der Steroidhormonrezeptoren. Nach Androgenbindung an der c-terminalen Ligandenbindungsdomäne erfolgt eine Homodimerisierung des Rezeptors mit anschließender Kerntranslokation und Bindung an die DNA und Rekrutierung von Kofaktoren [199]. Neben der „klassischen“ Wirkungsweise über die DNA-Regulation wird auch über eine nicht-genomischen Aktivität des

Androgenrezeptors berichtet. Sie läuft über „*second messenger*“-Signalkaskaden wie den intrazellulären Kalziumspiegel, Proteinkinase A und C (PKA/PKC) und den *Mitogen activated protein Kinase* (MAPK)-Signalweg ab [76]. Der biologische Effekt der Aktivierung dieser Signaltransduktionswege ist die Erhöhung der transkriptionellen Aktivität des Androgenrezeptors [118].

Der Androgenrezeptor ist der Hauptangriffspunkt der Androgenentzugstherapie des Prostatakarzinoms und spielt auch eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms: durch Rezeptoramplifikation (hypersensitiver Pfad), Bindung anderer Steroide (wahlloser Pfad), Aktivierung durch nichtsteroidale Moleküle (atypischer Pfad) sowie durch Koaktivatoren bei der DNA-Bindung (Pfad der Koaktivatoren).

3.3. Proteine aus den untersuchten Signalkaskaden

In dieser Studie wurden drei verschiedene Signalkaskaden untersucht. An die Beschreibung der einzelnen Kaskaden schließt sich eine kurze Zusammenfassung über bekannte Interaktionen zwischen den einzelnen Kaskaden an.

3.3.1. STAT3

Das Protein *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3) spielt eine wichtige Rolle bei der intrazellulären Signalübertragung von Tyrosinkinasegekoppelten Signalwegen, unter anderem auch des IL-6-Signalwegs. Die durch Rezeptor-Ligandenbindung erfolgte Aktivierung von Janus-Kinasen (JAK) ermöglicht die Phosphorylierung von Glycoprotein 130 (gp130). Gp130 phosphoryliert STAT3 an Tyrosin (Tyr) 705 wodurch dann eine Homodimerisierung von STAT3 mit anschließender Kerntranslokation und Bindung an verschiedene Enhancerelemente erfolgen kann. Hierdurch erfüllt STAT3 seine Aufgabe als Transkriptionsregulator.

STAT3 kann außerdem im Kern mit der N-terminalen Domäne des Androgenrezeptors interagieren und so dessen transkriptionelle Aktivität erhöhen [313].

3.3.2. MAPK

Aus der Gruppe der verschiedenen MAPKs wird hier nur auf MAPK p44 und p42, Synonym *extracellular signal-regulated kinases 1 und 2* (ERK1/ERK2) eingegangen. Die MAPK wird über eine Signalkaskade aus den Proteinen Ras, Rat fibrosarcoma (Raf) und MAPK-Kinase phosphoryliert und aktiviert ihrerseits weitere Transkriptionsfaktoren.

IL-6 kann über das Protein *Src homology 2 domain-protein 2* (SHP2) die MAPK-Kaskade aktivieren [264]. Im Zusammenspiel mit dem *human epidermal growth receptor 2* (Her2) und gp130 kann die MAPK-Kaskade auch aktiviert werden [246].

3.3.3. PI3K

Die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) beteiligt sich an der Signaltransduktion über zwei verschiedene Mechanismen: es phosphoryliert bei Aktivierung Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP₂) zu PI(3,4,5)P₃. PIP₃ ist ein *second messenger*. Außerdem kann PI3K über seine Kinaseaktivität direkt weitere Proteine phosphorylieren [66]. Durch PIP₃ wird AKT an die Zellmembran rekrutiert und mit konsekutiver Phosphorylierung aktiviert.

Ein direktes Ziel von AKT ist der Androgenrezeptor. IL-6 kann neben dem STAT3- und dem MAPK- auch den PI3K-Signalweg aktivieren.

PTEN ist eine PIP₃-Phosphatase und hemmt PI3K direkt. So reguliert es die Aktivität von PI3K und AKT. Die Mutation von PTEN und dessen Funktionsverlust bewirken somit eine Hochregulierung von PI3K und AKT, was zu einer erhöhten Proliferations- und einer geringeren Apoptoserate führt [282].

3.3.4. Signalkaskadeninteraktionen

Die verschiedenen Signalwege existieren nicht nur nebeneinander, sondern aktivieren oder blockieren sich auch gegenseitig, wie Uzgare *et al.* zeigen konnten [315]. Yang *et al.* untersuchten die Reaktionen von STAT3, MAPK und PI3K bei Aktivierung durch IL-6 in Prostatakarzinomzelllinien [344]. Sie konnten zeigen, dass STAT3 und MAPK ihre Wirkung gegenseitig verstärken, während die Aktivierung STAT3 und PI3K bzw. MAPK und PI3K zu einer niedrigeren Aktivierung führen.

Für eine Verbindung zwischen MAPK und STAT3 gibt es Belege für positive und negative Interaktionen. Lim *et al.* berichten in zwei Studien über gegensätzliche Ergebnisse [175] [176]. Dies erklären sie über verschiedene extrazelluläre Stimuli, die dann z.B. noch JAKs oder andere Signalproteine mit einbeziehen. Sie schreiben der MAPK-Kaskade jedoch eine wichtige Rolle in der intrazellulären Signaltransduktion in Prostatakarzinomzellen zu.

Auch bei der Signaltransduktion von Her2 zeigten sich Verbindungen zwischen der MAPK- und der PI3K-Signalkaskade, die sich gegenseitig sowohl stimulieren [345] als auch inhibieren [356] können.

3.4. Interleukin 6

IL-6 ist an der Akutphase-Reaktion des Körpers, der Hämatopoese, der Differenzierung von B- und T-Lymphozyten sowie der neuronalen Differenzierung beteiligt [318]. Die Hauptaufgabe von IL-6 liegt in der Regulierung des Immun- und Entzündungsgeschehens.

IL-6 beeinflusst das Prostatakarzinomwachstum unter Androgenkarenz über den atypischen Pfad – die Aktivierung des Androgenrezeptors durch nichtsteroidale Moleküle [77].

Der erste Schritt der intrazellulären Signaltransduktion von IL-6 nach Bindung an den IL-6-Rezeptor ist die Homodimerisierung von gp130, was durch die Bindung von IL-6 an seinen Rezeptor ausgelöst wird. Die weitere Signalübermittlung erfolgt über verschiedene Wege, an denen alle drei hier untersuchten Signalwege STAT3 (Hauptweg), MAPK und PI3K beteiligt sind [119].

3.5. Interleukin 8 und seine Rezeptoren CXCR1 und CXCR2

Interleukin 8 (IL-8) gehört zur Gruppe der CXC-Chemokine, der Name rührt von der Struktur der Proteine her und sagt aus, dass sich zwischen den beiden ersten Cystein-Aminosäuren (C) eine andere Aminosäure befindet [79]. IL-8 ist einer der potentesten chemotaktischen Faktoren für neutrophile Granulozyten [196] und spielt bei Angiogenese und Zellteilung eine wichtige Rolle.

Es hat sich gezeigt, dass bei Patienten mit fortgeschrittener Prostatakreberkrankung der Serumspiegel von IL-8 – ähnlich wie bei IL-6 – ansteigt [172].

IL-8 scheint wie IL-6 über den atypischen Pfad die Progression der Prostatakarzinomzellen bei Androgenkarenz zu fördern [139]. In Versuchen mit Prostatakarzinomzelllinien konnte gezeigt werden, dass IL-8 das androgenunabhängige Wachstum von LNCaP-Zellen fördert [170]. Zur Frage nach dem Ort der IL-8-Produktion in Prostatakarzinomen gibt es widersprüchliche Ergebnisse. Neben den neuroendokrinen Zellen als alleinigem Syntheseort [134] wird auch von einer IL-8-Synthese in allen Karzinomzellen berichtet [217].

Die CXC-Chemokin-Rezeptoren (CXCR1/CXCR2) sind die beiden Rezeptoren von IL-8. Beide Rezeptoren gleichen sich in ca. 77% und gehören zur Gruppe der G-Protein gekoppelten Faktoren mit sieben Transmembrandomänen [45].

Wie bei IL-8 gibt es auch bei den Rezeptoren unterschiedliche Forschungsergebnisse bezüglich ihrer Lokalisation auf den Prostatakarzinomzellen. Einerseits wird berichtet, dass CXCR2 nur von neuroendokrin differenzierten und CXCR1 von allen

anderen Zellen exprimiert wird [134], andererseits wurde nur der Unterschied zytoplasmatische versus apikale Expression ohne Unterscheidung der Zelldifferenzierung beobachtet [217].

3.6. c-Fos

c-Fos ist ein Protoonkogen und gehört zur *immediate early genes* (IEG)-Familie der Transkriptionsfaktoren. Es hat eine Leucin-Zipper Domäne. Zusammen mit c-jun bildet es als Dimer das *Activator Protein 1* (AP-1), auch Homodimere aus c-jun können AP-1 bilden. Die Dimerisierung wird durch Phosphorylierung durch die MAPK oder PKC ermöglicht [263].

AP-1 greift in die DNA-Transkription ein und hat vielfältige biologische Effekte. So ist es u. a. an Zellproliferation und Differenzierung sowie an pro- und antiapoptotischen Vorgängen beteiligt [12].

3.7. Bcl-2

Bcl-2 gehört zur Bcl-2-Familie und hat eine antiapoptotische Wirkung, wodurch es auch zur Entstehung von Tumoren beitragen kann.

Bcl-2 verhindert die Apoptose, indem es mit proapoptotischen Mitgliedern der Bcl-2-Familie wie Bax oder Bim Heterodimere bildet und so die Freisetzung von Cytochrom C und die konsekutive Aktivierung der Apoptose-Kaskade verhindert. Außerdem bindet es an den *apoptotic protease activating factor 1* (Apaf-1) und verhindert so die Bindung von Apaf-1 an die Caspase 9 und deren Aktivierung [132]. Bcl-2 kann auch Ionenkanäle in der äußeren Mitochondrienmembranen bilden und so das Austreten von Cytochrom C verhindern [295].

Es hat sich gezeigt, dass die Expression von Bcl-2 bei Prostatakarzinomen mit einer Tendenz zur Entwicklung der Androgenresistenz korreliert ist [247].

3.8. Bim

Bim gehört auch zur Bcl-2-Familie, zur Gruppe der *Bcl-2 homology domain 3* (BH3) – *only* Proteine, die nur in einem kurzen Abschnitt von 9-16 Aminosäuren eine Homologie untereinander aufweisen. Es hat eine proapoptotische Wirkung, indem es Bcl-2 bindet und damit seine Funktion aufhebt [295]. Außerdem wurde beschrieben, dass Bim – wie Bcl-2 – Kanäle in der Mitochondrienmembran formen kann, was aber hier zum Ausstrom von Cytochrom C und zur Aktivierung der Apoptose führt [259].

3.9. Cyclin D1

Der Ablauf des Zellzyklus wird durch Synthese und Degradation der Cycline reguliert. Cyclin D1 phosphoryliert die cyclin-abhängige Kinase 4. Diese phosphoryliert das Retinoblastom-Protein und inaktiviert es dadurch. So wird der Eintritt der Zelle in die G₁- und S-Phase des Zellzyklus ermöglicht.

Die Hochregulierung von Cyclin D1 ist ein sehr häufig zu findendes Merkmal von Tumoren [68].

Die Wirkung von Cyclin D1 kann über PI3K reguliert werden [87].

Die intrazelluläre Konzentration von Cyclin D1 wird durch Androgene erhöht [341]. In Prostatakarzinomzellen kann Cyclin D1 aber auch an den Androgenrezeptor binden und seine Transaktivierung verhindern [252]. Hieraus lässt sich ein Modell ableiten, in dem über Androgene und Cyclin D1 der Einfluss auf den Zellzyklus durch ein negatives Feedback- oder Regulierungssignal modifiziert wird [36] [55].

Trotz aller Fortschritte im Verständnis der Pathophysiologie des Prostatakarzinoms bleiben die Erfolgsaussichten beim nicht mehr lokal begrenzten Karzinom begrenzt.

Auf der Suche nach Erklärungen in der Entwicklung zur Androgenunabhängigkeit und neuen Therapieansätzen soll nun ein Brückenschlag zum anderen häufigsten geschlechtshormonabhängigen Tumor - dem Mammakarzinom der Frau - versucht werden.

4. Ähnlichkeiten zwischen Prostatakarzinom und Mammakarzinom

Prostatakarzinom und Mammakarzinom sind bei Mann bzw. Frau die am häufigsten vorkommenden hormonabhängigen Karzinome. Die Idee, Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Tumoren zu suchen, stammt schon aus den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts. 1954 stellte Macklin eine höhere Frequenz von Prostatakarzinom in Familien mit Mammakarzinomen fest und postulierte als erste, dass das Prostatakarzinom das männliche Gegenstück zumindest mancher Mammakarzinome sei [189]. Da das Mammakarzinom aufgrund seiner anatomischen Lage wesentlich leichter für diagnostische Maßnahmen – von der Bildgebung über die Biopsie bis zur kompletten Entnahme – zugänglich ist, brächte die Möglichkeit der Übertragung von Ergebnissen aus Ätiologie und der Therapie des Mammakarzinoms auf das Prostatakarzinom für dessen Therapie einen großen Vorteil. Auch andersherum wäre ein

„Wissenstransfer“ durchaus von Nutzen, z.B. in Bezug auf die beim Prostatakarzinom schon sehr eingehend untersuchte Rolle von IL-6, um nur ein Beispiel zu nennen. Auf der Suche nach Gemeinsamkeiten zwischen beiden werden nun Aspekte aus den drei Bereichen Ätiologie, Genese der Hormonunabhängigkeit und Therapieansätze diskutiert.

4.1. Ätiologie und Epidemiologie

Neben Macklin konnten auch andere Studien einen Beleg für eine Assoziation zwischen den beiden Tumorentitäten feststellen. Darunter ist eine Studie aus Island, deren Ergebnisse sich auf das isländische Krebsregister beziehen, das auf genetische Stammbäume zurückgreift, wodurch eventuelle Fehler bei der direkten Befragung der Patienten vermieden werden können [311]. Einige andere Studien zeigen aber keine Assoziation auf familiärer Ebene [11]. Trotzdem ist es vertretbar, zumindest für einen Teil der Karzinome eine gegenseitige Beeinflussung der Häufigkeit ihres Auftretens zu vermuten [184]. Aus einer Studie über Krebsinzidenzraten aus 21 Ländern aus den Jahren 1978 bis 1982 konnte eine hohe Korrelation mit einem Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,81 für Brust- und Prostatakrebs berechnet werden [184]. Die höchsten Raten für beide Karzinome fanden sich in den USA und Kanada, die niedrigsten in Japan und Hongkong. Auch innerhalb der USA zeigen sich große Ähnlichkeiten zwischen den epidemiologischen Daten der beiden Tumoren [53].

Die Evolutionsgeschichte bietet eine mögliche Erklärung für das häufige Auftreten von Prostata- und Mammakarzinom beim Menschen im Vergleich zu allen anderen Säugetieren [53]: Säuger, die vor allem pflanzliche Nahrung zu sich nehmen, haben sowohl eine Prostata als auch Samenblasen. Fleischfresser haben zwar eine Prostata, aber keine Samenblasen. Dadurch, dass der Mensch im Laufe der Zeit seine Nahrung (pflanzlich → tierisch) und seinen Lebensstil (Nomade → sesshaft) in für die Evolution sehr kurzen Zeiträumen stark veränderte, könnte man erklären, dass eben nur beim Menschen und beim Hund, bei dem es durch die Domestizierung ebenso zu einer Veränderung der Lebens- und Nahrungsgewohnheiten kam, Prostata- und Mammakarzinome in diesem Ausmaß auftreten: als Reaktion der Organe auf die nicht (mehr) angepasste Lebensweise.

Die Auswirkung der Veränderung von Lebens- und Ernährungsweise spiegelt sich auch in den bekannten Risikofaktoren für beide Karzinome wieder:

Länder mit der höchsten Prostata- und Mammakarzinominzidenz sind Länder, in denen der „westliche Lebensstil und Ernährung“ verbreitet sind. Ein hoher Anteil von Fleisch und tierischen Fetten in der Nahrung, viele Milchprodukte, eine insgesamt hohe Kalorienaufnahme. Dass die Ernährung ihren Anteil an der Entstehung der beiden Karzinome hat legen neben dem oben erwähnten Einblick in die Evolutionsgeschichte auch Migrationsstudien nahe. In der zweiten oder dritten Generation gleicht sich das von z.B. in die USA eingewanderten Asiaten Karzinomrisiko mit der Annahme des „westlichen Lebensstil“ dem dortigen Durchschnittsrisiko an [160] [355].

Ein weiterer Hinweis auf eine gemeinsame Karzinogenese ist, dass im Tiermodell mit den gleichen Reagenzien bei Nagetieren Mamma und Prostatakarzinome ausgelöst werden können [109].

4.2. Hormonelle Abhängigkeit und Wege in die Hormonunabhängigkeit

Sowohl Prostata als Mamma an sich als auch die in ihnen entstehenden Karzinome sind primär hormonabhängig. Im Laufe der antihormonellen Therapie, sei es durch operative oder medikamentöse Maßnahmen, entwickeln beide Karzinome die Fähigkeit, sich dem Wegfall des Wachstumsstimulus durch Östrogen und Progesteron auf der einen und Testosteron auf der anderen Seite anzupassen.

Beim Mammakarzinom kann man die Entwicklung zur Hormonunabhängigkeit in Kategorien analog zu den schon beschriebenen Pfaden beim Prostatakarzinoms einteilen:

Es gibt Amplifikationen und Mutationen des Östrogenrezeptors (hypersensitiver oder wahlloser Pfad), die Aktivierung von Koaktivatoren wie des Proteins *cellular sarcoma 1* (Src1), eine Überexpression von Bcl-2 (Umgehungspfad) und auch den „wahllosen Pfad“. Hierbei spielt neben Her2 IL-6 eine wichtige Rolle.

4.2.1. Interleukin 6

IL-6 erhöht die intrazelluläre Aromataseaktivität, wodurch mehr Östrogene produziert werden [126].

Außerdem sind hohe IL-6-Serumspiegel ein schlechter Prognosefaktor bei beiden Karzinomen [69, 261] und IL-6 scheint die Metastasierung in Knochen durch Osteoklastenstimulation zu erleichtern [255].

Es gibt aber zum Teil widersprüchliche Forschungsergebnisse zur Rolle von IL-6 im Mammakarzinom, die von einem positiven über keinem bis zu einem negativen Einfluss reichen [156].

4.2.2. Interleukin 8

Mammakarzinomzellen exprimieren beide IL-8-Rezeptoren [207] und können IL-8 sezernieren [104]. Die Rolle, die IL-8 in der Tumorprogression beim Mammakarzinom spielt, ist noch nicht gänzlich geklärt. Lin *et al.* konnten zeigen, dass IL-8 einer der Schlüsselfaktoren bei Angiogenese und Invasivität der Karzinomzellen ist. Wie beim Prostatakarzinom fördert IL-8 das hormonunabhängige Wachstum [179].

4.2.3. Her2

Auch bei der Bedeutung von Her2 gibt es Ähnlichkeiten zwischen Mamma- und Prostatakarzinomen.

Bei Mammakarzinomen korreliert die Expression von Her1, Her2 und Her3 mit einer höheren Zellproliferationsrate und Invasivität, die von Her4 dagegen mit einer Wachstumshemmung [307]. Eine Positivität für Her2 zeigt eine Verschlechterung der Prognose an, ca. 30 % der Mammakarzinome sind Her2-positiv [283].

Bei Prostatakarzinomen zeigt sich, dass Karzinome mit einer hohen Her2-Expression zu einer früheren Metastasierung neigen. Außerdem erleiden diese Patienten ein früheres PSA-Rezidiv bei androgenunabhängigen Tumoren und versterben früher an ihrer Krankheit als Patienten mit Karzinomen, die keine oder nur geringe Her2-Positivität zeigen [71]. Außerdem ist Her2 an der Entwicklung der Hormonresistenz beteiligt [277].

4.3. Gemeinsame therapeutische Ansätze

Das Konzept der neoadjuvanten antihormonellen Therapie findet auch beim Mammakarzinom Anwendung. Die Dauer beträgt ähnlich wie beim Prostatakarzinom drei Monate, der Sinn ist eine Verkleinerung des Tumors zur Schaffung einer R0-Resektion sowie die Möglichkeit, brusterhaltend zu operieren. Sie wird meist bei älteren Patientinnen mit positivem Hormonrezeptorstatus angewandt, denen eine normale Chemotherapie nicht zuzumuten ist. Als Pharmaka kommen partielle Rezeptoragonisten, Aromataseinhibitoren und Antiöstrogene zum Einsatz [22].

Während GnRH-Analoga bei Mammakarzinompatientinnen nur bis zur Menopause eingesetzt werden können, da dann die Ovarien als Östrogenquelle ausscheiden, hat sich der Einsatz von selektive Östrogenrezeptormodulatoren (SERMs) wie Tamoxifen bewährt [103]. Sie wirken gewebespezifisch als Antagonisten oder Agonisten. Aromataseinhibitoren verhindern die periphere Produktion von Östrogen, z.B. im Fettgewebe [51].

Bei den hier nur kurz aufgeführten Beispielen kann man schon die gleiche Wirkungsweise durch einerseits Rezeptorblockade (Antiandrogene und SERMs) und andererseits Ausschaltung der Hormonproduktion (Aromataseinhibitoren und GnRH-Analoga) erkennen.

Heat Shock Protein 90 (Hsp90) hat eine wichtige Rolle bei der Kontrolle von Faltung, Stabilisierung und Degradation unter anderem auch des Östrogen- und des Androgenrezeptors. Es wird in Tumoren um bis zu das Zehnfache stärker exprimiert als in benignen Epithelien [140].

Hsp90-Inhibitoren fördern die Degradation dieser Proteine und damit eine Abnahme der Konzentration der beiden Rezeptoren. Hierdurch kommt es zu einer Wachstumshemmung der beiden Tumoren [16]. Außerdem kann auch Her2 herunterreguliert und die Sensitivität für Taxane erhöht werden [286].

Tyrosinkinaseinhibitoren wie die Her2-Antikörper Trastuzumab oder Pertuzumab haben bei Mammakarzinomen schon zu großen Erfolgen geführt [284], die Therapieerfolge beim hormonrefraktären Prostatakarzinom hiermit sind noch bescheiden, derzeit werden Studien in Kombination mit anderen Chemotherapeutika angestrebt [354].

Docetaxel, das auch beim hormonrefraktären Prostatakarzinom eingesetzt wird, kann ebenso als neoadjuvante oder adjuvante Therapie des Mammakarzinoms, sowie auch beim metastasierten Mammakarzinom verwendet werden [57]. Docetaxel konnte sich im Vergleich mit anderen Chemotherapeutika beim metastasierten Mammakarzinom als überlegen zeigen [89].

4.4. Zusammenfassung

Es hat sich gezeigt, dass zwischen beiden Karzinomen Ähnlichkeiten auf vielen Ebenen bestehen: von der Evolution über diätetische Risikofaktoren bis zu gemeinsamen Mechanismen in der Entwicklung zur Hormonunabhängigkeit.

Die aufgezeigten Pfade der Entwicklung des hormonunabhängigen Prostatakarzinoms lassen sich auch beim Mammakarzinom nachvollziehen. Eine weitere „Gemeinsamkeit“ ist die Tatsache, dass beide Karzinome keine in sich vollständig homogenen Tumorentitäten darstellen und die beschriebenen Signalwege sich auch gegenseitig in ihrer Wirkung verstärken oder abschwächen können.

Erste Schritte in Richtung gemeinsamer Therapieansätze – wie Trastuzumab oder auch Docetaxel – sind unternommen. Für die Zukunft besteht die Hoffnung, über das Abzielen auf Moleküle wie Bcl-2 oder IL-6 und deren Signaltransduktion bei beiden

Karzinomen Erfolge zu erzielen, wobei bei Bcl-2 mit dem Bcl-2-*antisense*-Oligonukleotid Oblimersen schon ein erster Schritt in diese Richtung gemacht wurde [34].

5. Verwendete Zelllinien

Zur Kontrolle der Validität und Vergleichbarkeit der Färbeergebnisse und zur Korrelation der in der Literatur beschriebenen *in vitro* Ergebnisse mit unseren *in vivo* Daten wurden drei Prostatakarzinomzelllinien verwendet, die am häufigsten in *in vitro* Studien verwendet wurden. Nach der Beschreibung der Zelllinien wird die Charakterisierung der Proteinexpression der hier eingeschlossenen Proteine nach Angaben aus der Literatur tabellarisch aufgelistet.

Die Zelllinie LNCaP wurde von Horoszewicz *et al.* aus einem supraklavikulären Lymphknoten eines 50 jährigen weißen Mannes mit einem metastasierten Prostatakarzinom isoliert [128].

Die Zelllinie DU145 wurde von Stone *et al.* aus einer Hirnmetastase eines 69 jährigen weißen Mannes mit einem metastasierten Prostatakarzinom und einer seit drei Jahren bekannten lymphatischen Leukämie isoliert [293].

Die Zelllinie PC-3 wurde von Kaighn *et al.* aus einer Wirbelkörpermetastase eines 62 jährigen weißen Mannes mit einem metastasierten Prostatakarzinom isoliert [147].

Die Expression des jeweiligen Proteins in den Zelllinien wird wie später im Ergebnisteil dieser Arbeit in den drei Kategorien „A“ (keine Expression), „B“ (schwache Expression) und „C“ (starke Expression) angegeben.

Merkmal	LNCaP	PC-3	DU145
	Literatur	Literatur	Literatur
CK 5/6 [208]	A	A	A
PSA [208]	C	A	A
PSP [208]	C	A	A
Racemase [167]	C	B	B
Mib-1 [181], [338]	C	C	C
PSMA [90]	C	A	A
Androgenrezeptor [208]	C	A	A
IL-6 [285]	A/B*	C	C
STAT3 [213]	B	C	C
MAPK [226]	B	B	C
PI3K [344]	B	B	B
IL-8 [170, 211]	A/B*	C	C
CXCR1 [211], [8]	-	A	A/B*
CXCR2 [211], [249]	-	A/B*	A
Cyclin D1 [110]	C	C	B
Bcl-2 [182], [340]	C	B	A/B*
Bim [182, 340]	B	B	A/B*
c-Fos [138, 215]	A	C	C

Tabelle 4: Expression der untersuchten Proteine in den Zelllinien laut Literatur

*: widersprüchliche Angaben in der Literatur

Auch bei derselben Zelllinie können Unterschiede bei den Kulturbedingungen oder der Zelldichte zu unterschiedlichen Ergebnissen beim Ansprechen auf Steroide und zu verschiedenen Effekten von Phosphorylierungen führen [242]. Dies kann als Erklärung für die sowohl innerhalb der angegebenen Literatur als auch zwischen Literatur und den hier beschriebenen Ergebnissen gefundenen Unterschiede dienen.

Die Aussagen über die Expressierung von STAT3, PI3K und MAPK sind bei Zellkulturen auch von den jeweiligen Versuchsanordnungen und den hierbei zugeführten Stoffen abhängig, so dass die Aussage über die Expression dieser Proteine in einem statischen System nicht zu einer richtungweisenden Aussage führt, da es vor allem auf das Zusammenspiel der einzelnen Wachstumsfaktoren und Signalkaskaden ankommt.

D Problemstellung

In dieser Studie wurde untersucht, welche biologischen Veränderungen in Prostatakarzinomen nach einem dreimonatigen Androgenentzug auftreten. Dies sollte Schlüsse über die ersten Schritte von Prostatakarzinomzellen auf den Weg zur Androgenunabhängigkeit ermöglichen.

Da die meisten Ergebnisse über die Reaktion von Prostatakarzinomzellen auf den Androgenentzug aus Zellkulturexperimenten stammen, sollten die vielfältigen und sich zum Teil widersprechenden *in vitro* Ergebnisse in Rahmen dieser Studie mit der Expression der Marker *in vivo* verglichen werden. Dies sollte dazu beitragen, auch die sich *in vivo* abspielenden Veränderungen in Prostatakarzinomen mit Hilfe der bekannten *in vitro* Ergebnisse besser verstehen zu können. Dies ist die erste breit angelegte Fall-Kontrollstudie an Patientenmaterial zu diesem Thema.

In Prostatektomiepräparaten aus einem Kollektiv von 25 mit einem neoadjuvanten Androgenentzug vorbehandelten Patienten und 50 nicht vorbehandelten Patienten wurden Proteine aus den Signalkaskaden von Interleukin 6 und Interleukin 8, den Zellzyklus und die Apoptose regulierende Proteine sowie Schlüsselproteine zur Typisierung und Dignitätsbeurteilung von Prostatakarzinomen mit den Methoden der Immunhistochemie untersucht.

In einem weiteren Schritt wurden Biopsien der Prostatektomiepräparate vor Einleitung der neoadjuvanten Therapie auf dieselbe Weise untersucht, um am gleichen Patienten eine Veränderung der jeweiligen Proteinexpression zu belegen.

Die Ergebnisse der Färbungen in den beiden Gruppen vorbehandelter und nicht vorbehandelter Tumoren wurden statistisch ausgewertet. Außerdem wurden Korrelationen zwischen jeweils zwei Proteinen untersucht. Des Weiteren wurden statistisch signifikante Ergebnisse mit den klinischen Daten der Patienten korreliert.

E Material und Methoden

Im Folgenden wird das dieser Studie zugrunde liegende Material sowie die angewandte Methodik beschrieben. Sämtliche untersuchte Gewebeproben stammen aus den Beständen des Instituts für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der Technischen Universität München. Auch alle Untersuchungen wurden hier durchgeführt.

Die statistischen Auswertungen erfolgten in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Stat. Tibor Schuster, Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie, Klinikum rechts der Isar, der Technischen Universität München.

Die Informationen über neoadjuvant therapierte Patienten mit anschließender Prostatektomie sowie die klinischen *Follow-up*-Daten wurden von Herrn Dr. Alschibaja, Klinik und Poliklinik für Urologie der Technischen Universität München, bereitgestellt.

1. Patientenmaterial und Zelllinien

Aufgrund der Tatsache, dass bisher die meisten Erkenntnisse über die Entwicklung der Androgenunabhängigkeit der Prostatakarzinomzellen aus *in vitro* Versuchen mit Zelllinien stammen und die Erkenntnisse aus Prostatektomiepräparaten sehr begrenzt sind, wurde diese Studie als eine explorative Studie durchgeführt. Der Sinn und Zweck dieser Studie war es, die postulierten Hypothesen im Prostatagewebe *in vivo* nachzuvollziehen und Hypothesen bezüglich der Reaktion der Prostatakarzinomzellen auf einen dreimonatigen Androgenentzug im Unterschied zu nicht vortherapierten Karzinomzellen zu generieren. Dies erklärt die relativ geringe Zellzahl von 25 neoadjuvant therapierten und 50 nicht vorbehandelten Tumoren.

Es wurden Präparate aus dem Zeitraum 1986 bis 2001 verwendet.

Insgesamt wurden hieraus 25 neoadjuvant therapierte Patienten ausgewählt, von denen bei 24 Patienten auch Prostatabiopsien vor Beginn der Therapie zur Verfügung standen. Des Weiteren wurden in Tumorstadium und *Gleason-Score* den jeweiligen vortherapierten Patienten entsprechende nicht neoadjuvant therapierte Patienten als *matched pairs* verwendet. Um die Kontrollgruppe der nicht vortherapierten Patienten zu erhöhen, wurden weitere 25 nicht neoadjuvant vortherapierte Patienten mit gleichem Tumorstadium aber nicht immer gleichem *Gleason-Score* in die Studie mit eingeschlossen.

Sämtliches Schnittmaterial sowie die entsprechenden pathologischen Befunde wurden in Bezug auf Tumorstadium und *Gleason-Score* nochmals lichtmikroskopisch überprüft und bestätigt.

Aus den verwendeten 24 Biopsien wurden Stanzen ausgewählt, in denen sowohl Tumorzellen als auch benignes Drüsenepithel in ausreichendem Maße vertreten waren.

Die Schnitte der Biopsien wurden auf dieselbe Weise angefertigt wie die der Tissue Microarrays (TMAs), siehe nächster Unterpunkt.

Die Zellkulturen der Zelllinien LNCaP, DU145 und PC3 stammen von *American Type Culture Collection*, Manassas USA und wurden freundlicherweise von Herrn PD Dr. Uwe Treiber, Urologische Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München, zur Verfügung gestellt.

Die in Paraffin eingegossenen Zellblöcke für die Immunhistochemie wurden entsprechend der institutseigenen Vorgaben angefertigt, die den üblichen Vorgehensweisen entsprechen [151].

Die die Zellen enthaltende Flüssigkeit wurde bei 300 g für 10 Minuten zentrifugiert, der Flüssigkeitsüberstand wurde dekantiert. Dem Sediment wurden 15 ml Sublimatgemisch (bestehend aus 600ml Sublimatlösung 6%, 150 ml Eisessig und 50 ml Formaldehyd 35%; hergestellt nach dem Rezepturhandbuch des Instituts für Pathologie der Technischen Universität München) beigegeben und nochmals für 10 Minuten bei 300 g zentrifugiert. Das gefestigte Material wurde in Filterpapier eingewickelt und in ein Siebchen gegeben. Danach wurde es vor dem Eingießen in Paraffin in Formalin fixiert.

2. Tissue Microarrays

TMAs sind eine erstmals 1998 von Kononen *et al.* [163] vorgestellte Technik, um bei vielen verschiedenen Gewebeproben in einem Schritt Untersuchungen auf DNA-, RNA- oder Proteinebene durchführen zu können. In dieser Studie wurde auch untersucht, ob es möglich ist, mit einzelnen Stanzen die Heterogenität einer Gewebeprobe als ganzes wiederzugeben, wobei man bezüglich der immunhistochemisch nachgewiesenen Expression des Östrogenrezeptors bei Mammakarzinomen im Vergleich TMA zu normaler Gewebeprobe zu einer Übereinstimmung von 84 % kam. Wichtig hierbei ist, dass repräsentative Areale des Tumors für die Stanzen ausgewählt wer-

den. Auch viele andere Autoren berichten von einer großen Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen konventioneller Schnitte und TMAs [280].

Die TMAs der hier beschriebenen Studie wurden wie folgt angefertigt:

Die TMAs wurden mit einem *Manual Arrayer* MTA 1 (*Beecher Instruments*, Sun Prairie, USA) gestanzt.

Die Stanzen hatten einen Durchmesser von 1 mm, der Abstand zwischen den einzelnen Stanzen betrug 0,3 bis 0,5 mm.

Insgesamt (Patientenmaterial, Markierungsgewebe und Zelllinien) wurden pro Block 122 Stanzen aufgetragen.

Die Stanzen wurden aus den einzelnen vorhandenen Gewebeproben entnommen und in leere Paraffinblöcke hineingestanzt.

Es wurden pro Paraffinblock sechs Bereiche mit jeweils drei verschiedene Patienten, die durch jeweils drei Proben repräsentiert wurden, aufgetragen. Um die einzelnen Bereiche wurde Markierungsgewebe aus der Forschung überlassenen Sektionsbeständen (Leber, Uterus, Lunge, Milz und Niere) zur Orientierung des Blocks und zur Abgrenzung der einzelnen Bereiche gestanzt. Außerdem wurden pro Block drei Zelllinien (jeweils PC3, LNCaP und DU145) aufgetragen.

Die einzelnen Bereiche wurden folgendermaßen konstruiert:

Pro Patient wurden zwei Tumorstanzen und eine Stanze mit benignen Prostatadrüsen aufgetragen. Mit den zwei Tumorstanzen, die, falls gegeben, auch verschiedene *Gleason-Scores* repräsentieren wurde versucht, eine möglichst gute Repräsentation des vorhandenen Gewebes in den ausgewählten Stanzen sicherzustellen.

Der oberste Patient ist neoadjuvant vortherapiert, der zweite Patient ist das oben beschriebene *matched pair*, der dritte Patient ist nicht vorbehandelt und stimmt im pT-Stadium mit den beiden oberen überein.

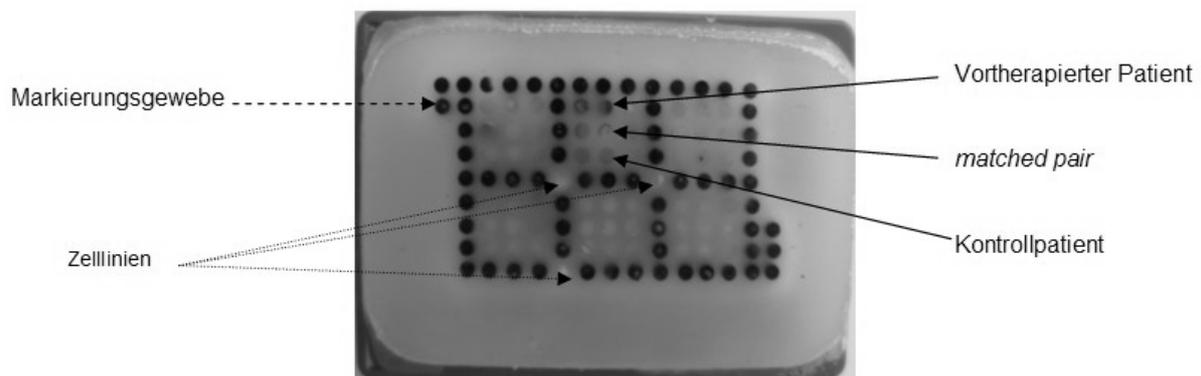


Abbildung 1: Aufbau eines TMAs

Nach Fertigstellung der TMAs wurden sie 24 h im Brutschrank bei 37°C inkubiert, um eine gute Verbindung zwischen Paraffinblock und eingestanztem Material zu gewährleisten.

Daran anschließend wurden von den TMAs 2 µm dicke Schnitte an einem Mikrotom HM 335 E (Microm International, Walldorf) angefertigt, die auf Superfrost®Plus Objektträger (Menzel-Gläser, Braunschweig), Größe 25x75x1,0 mm aufgebracht wurden. Danach wurden die Präparate zwei Wochen bei Raumtemperatur gelagert, um eine gute Anhaftung des Schnitts an den Objektträger sicherzustellen.

Pro Array wurde eine Hämatoxylin-Eosin (HE) -Färbung gemacht, anhand der überprüft wurde, ob in der jeweiligen Stanze genügend repräsentatives Tumor- bzw. benignes Gewebe vorhanden war. Mit Hilfe dieser Informationen wurde der fünfte TMA mit den Fällen ergänzt, die ursprünglich nicht in entsprechendem Maße repräsentiert wurden, indem z. B. in den Tumorstanzen nur benignes Gewebe vorhanden war.

3. Immunhistochemie

Die in dieser Studie verwendete Methode zum Nachweis der untersuchten Proteine war die Immunhistochemie.

Hier werden nun zuerst die einzelnen Grundbegriffe der Immunhistochemie erläutert. Danach wird auf die angewandten Techniken eingegangen, zum Abschluss werden die verwendeten Reagenzien und Primärantikörper beschrieben.

3.1. Grundbegriffe der Immunhistochemie

Antikörper, auch Immunglobuline (Ig) genannt, sind von Plasmazellen produzierte Proteine, die die humorale Immunantwort durch Erkennung und Bindung von Antigenen einleiten.

Sie bestehen aus mindestens vier Untereinheiten, zwei identischen leichten Ketten und zwei identischen schweren Ketten von höherem Molekulargewicht, die durch Disulfidbrücken verbunden sind. Es gibt zwei verschiedene Typen von leichten Ketten (κ und λ) und fünf verschiedene schwere Ketten, α , δ , ϵ , γ und μ , die für die fünf Antikörperklasse namensgebend sind: IgA, IgD, IgE, IgG, und IgM.

Die leichte und die schwere Kette haben je eine hypervariable Region, die das Antigen erkennt. Die Variabilität der Antikörper entsteht durch somatische Genumlagerungen (*Rearrangement*) und somatische Mutationen [237].

3.1.1. Primärantikörper

Primärantikörper dienen der Detektion des gesuchten Proteins mittels spezifischer Antikörper-Antigenbindung.

Bei den Primärantikörpern wird zwischen monoklonalen und polyklonalen Antikörpern unterschieden.

3.1.1.1. Monoklonale Antikörper

Die Methode zur Gewinnung monoklonaler Antikörper beruht auf dem 1975 von Köhler und Milstein entwickelten Verfahren der Immortalisierung antikörperproduzierender Plasmazellen durch Hybridisierung mit Myelomzellen [158].

Nachdem einer Maus oder Ratte das Antigen, gegen das Antikörper produziert werden sollen, injiziert worden ist, wird den immunisierten Tieren, die nach einigen Wochen die höchsten Antikörpertiter haben, wenn die Sekundärantwort des Immunsystems durch IgG erfolgt ist, die Milz entfernt.

Nach Zerkleinerung der Milz werden die Plasmazellen unter Zugabe von Polyethylenglykol oder im elektrischen Feld mit Myelomzellen, malignen immortalisierten Plasmazellen, fusioniert.

Danach müssen die Hybride unter den Zellen selektioniert werden. Dies geschieht in einem Selektivmedium, dem HAT-Medium, das Hypoxanthin, Aminopterin und Thymin enthält. Die Myelomzellen, die das Hypoxanthin-Guanin Phosphoribosyltransferase-Enzym (HGPRT) nicht besitzen, können das im Medium vorhandene Hypoxanthin nicht zur Purinsynthese benutzen und sterben ab, da die endogene Purinsynthese durch das Aminopterin blockiert wird. Nur fusionierte Hybride, die das HGPRT aus den Plasmazellen der Maus bzw. Ratte enthalten, können das vorhandene Hypoxanthin und Thymin benutzen und überleben.

Die überlebenden Hybride werden nun auf Mikrotiterplatten vereinzelt und auf den produzierten Antikörpergehalt untersucht. Die Hybride, die den gewünschten Antikörper produzieren, werden nun kultiviert und vermehrt. Da diese alle jeweils von einer einzigen Zelle abstammen, sind sie genetisch identisch und werden Klone genannt.

Es gibt mehrere Möglichkeiten, diese Antikörper produzierenden Zellen kommerziell zu kultivieren:

- *Aszites mit monoklonalen Antikörpern*

Der Zellklon wird in die Bauchhöhle eines Tiers injiziert und gibt die von ihm produzierten Antikörper in die Peritonealflüssigkeit des Tiers ab, die dann durch Punktion gewonnen wird.

- *Kulturüberstand mit monoklonalen Antikörpern*

Der Zellklon verbleibt in der Zellkultur und gibt die Antikörper in das Medium ab, das gefiltert und aufgereinigt wird, um eine reine Antikörperfraktion zu erhalten. So besteht nicht die Gefahr einer Hintergrundfärbung und die Antikörper reagieren sehr spezifisch mit dem entsprechenden Antigen.

3.1.1.2. Polyklonale Antikörper

Den zur Antikörperproduktion verwendeten Tieren, meist Kaninchen, wird das Antigen injiziert, die dann die entsprechenden IgG-Antikörper produzieren. Kaninchen werden wegen ihrer einfachen Haltung und der Tatsache, dass humane Antikörper gegen Kaninchenserumproteine sehr selten sind und Kaninchen-Antikörper bei Antigen- oder Antikörperüberschuss humane Proteine über einen weiten Bereich präzipitieren, am häufigsten verwendet [115].

Dieser Vorgang wird mehrmals wiederholt, um einen höheren Antikörpertiter in den Tieren zu erreichen. Das aus den Tieren gewonnene Antiserum wird anschließend chromatographisch aufgereinigt, um die Hintergrundfärbung zu verringern.

Polyklonale Antikörper erkennen mehrere Antigen determinanten, da die Antikörper von mehreren verschiedenen B-Zellen gebildet werden und sind somit nicht in gleichem Maße anfällig für fixierungsbedingte Epitopveränderungen wie monoklonale Antikörper und auch preiswerter. Die Gefahr einer unspezifischen Hintergrundfärbung und von Kreuzreaktionen mit ähnlichen Antigenstrukturen sind hingegen größer.

3.1.2. Nachweismethoden

3.1.2.1. Direkte Methode

Bei der direkten Nachweismethode ist der Primärantikörper bereits mit einem Fluorochrom oder einem Markerenzym konjugiert. Vorteil ist die Schnelligkeit dieser Methode, Nachteile sind das sehr schwache Färbesignal und die durch den hohen Antikörperverbrauch und die speziellen Produktionsverfahren bedingten hohen Kosten.

3.1.2.2. Indirekte Methode

Bei dieser Methode bindet ein unkonjugierter Primärantikörper an das Antigen, der dann von einem mit einem Markerenzym oder Fluorochrom konjugiertem Sekundärantikörper erkannt wird.

Hier wurden nur Markerenzyme verwendet. Dazu wird außerdem noch ein gegen den Sekundärantikörper gerichteter Komplex benötigt, der das gewünschte Markerenzym trägt. In den von verschiedenen Firmen angebotenen „Detektionskits“ sind sowohl der entsprechende Sekundärantikörper, der Komplex sowie das Chromogen enthalten. Die verschiedenen benutzten Detektionskits werden im Anschluss beschrieben. Diese Methoden sind sowohl in den Routine- als auch in den Forschungslaboratorien des Hauses etabliert und wurden an Hand der vorgegebenen Richtlinien angewendet.

Hier angewendeten Nachweismethoden und Chromogene:

- *Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase (APAAP)- Methode*

Diese Methode wurde ab der Publikation von Cordell *et al.* häufig angewandt [56]. Die alkalische Phosphatase für die Konjugation eines Komplexes wird aus Kälberdarm gewonnen. Sie kommt auch endogen in vielen Organen wie Dünndarmepithel, Nierentubuluszellen oder der Leber vor. Diese endogene alkalische Phosphatase muss vor dem Auftragen der Antikörper blockiert werden.

Nach dem Primärantikörper wird ein Brückenkörper angewendet, an den dann der APAAP-Komplex binden kann. Der APAAP-Komplex besteht aus monoklonalen Mausantikörpern gegen alkalische Phosphatase, die spezifisch mit dem Enzym alkalische Phosphatase konjugiert sind.

- *Avidin-Biotin Complex (ABC)- Methode*

Avidin ist ein aus Hühnereiweiß gewonnenes Glykoprotein mit vier Bindungsstellen für Biotin (Vitamin B₇, Vitamin B₈ oder Vitamin H). Da es bei Anwendung von Avidin aus Hühnereiweiß teilweise zu unspezifischen Reaktionen kommt, wird heute Streptavidin, ein reineres auf gentechnischem Weg aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* gewonnenes Produkt, verwendet.

Nach dem Primärantikörper wird ein mit Biotin markierter Brückenantikörper aufgetragen. An diesen biotinylierten Brückenantikörper bindet der ABC-Komplex. Der Komplex wird so produziert, dass an drei der vier möglichen Bindungsstellen des Avidins ein Biotinmolekül gebunden ist. An den Komplex ist ein Enzym (alkalische Phosphatase oder Peroxidase) gekoppelt, dass die Farbreaktion verursacht.

Die alkalische Phosphatase wurde oben schon beschrieben, die Peroxidase wird aus der Wurzel des Meerrettichs gewonnen. Die Peroxidase kommt auch endogen in vielen Organen bzw. Zellen wie Dünndarmepithel, Erythrozyten oder auch Granulozyten

und Mastzellen vor. Diese endogene Peroxidase muss vor dem Auftragen der Antikörper blockiert werden.

Die ABC-Methode hat eine höhere Sensitivität als die APAAP-Methode [131].

- *Labeled Streptavidin-Biotin (LSAB)- Methode*

Der Unterschied zur ABC-Methode besteht darin, dass nach dem Brückenantikörper ein direkt mit einem Enzym (alkalische Phosphatase oder Peroxidase) gekoppeltes Avidin verwendet wird. Dadurch sind alle vier möglichen Bindungsstellen des Avidins für das am Brückenkörper vorhandene Biotin frei und das Farbsignal wird sehr spezifisch.

Der Vorteil gegenüber der ABC-Methode besteht darin, dass die Reaktionskomplexe bei der Avidin-Biotin Anlagerung kleiner sind und es somit nicht zu räumlichen Behinderungen kommt, die das Farbsignal verfälschen könnten. Dadurch ist die LSAB-Methode sensitiver als die ABC-Methode [93].

3.1.2. Chromogene

Die Farbstoffe dienen der Visualisierung der durch die jeweiligen Primärantikörper erkannten Strukturen. Folgende Farbstoffe wurden benutzt:

- *3,3Diaminobenzidin (DAB)*

Dieser Farbstoff dient als Chromogen für Reaktionen mit Meerrettichperoxidase. Er erzeugt ein braunes Farbprodukt.

- *Fast Red*

Dieser Farbstoff dient als Chromogen für Reaktionen mit der alkalischen Phosphatase. Er erzeugt ein rotes Farbprodukt.

3.2. Durchführung der immunhistochemischen Färbungen

Alle Färbungen wurden im immunhistochemischen Labor des Instituts für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie der Technischen Universität München durchgeführt.

Die Vorbereitungen zur Immunhistochemie und diese selbst wurden – soweit vorhanden - gemäß den in den Forschungslaboratorien des Hauses etablierten Richtlinien durchgeführt. Dies gilt insbesondere für die Vorbehandlung der Schnitte, die Sekundärantikörper und die angewandten Komplexe, zum Teil auch für die verwendeten Primärantikörper, die in den Routinelabors verwendet werden. Die anderen Primärantikörper wurden vor ihrer Anwendung an den TMA-Schnitten an verschiedenen Testgeweben und mit verschiedenen Methoden der Epitopdemaskierung, so-

wohl hitze- als auch enzyminduziert, und unterschiedlichen Primärantikörperverdün-
nungen ausgetestet, um ein möglichst spezifisches Färbeergebnis zu erzielen.

Hier werden nun die einzelnen Arbeitsschritte dargestellt:

3.2.1. Entparaffinierung

Hierzu wurden die Schnitte 20 Minuten in Xylol eingestellt. Danach wurden die
Schnitte in der absteigenden Alkoholreihe (drei Küvetten mit Isopropylalkohol, drei
Küvetten mit 96%igem Ethanol und zwei Küvetten mit 70%igem Ethanol) rehydriert,
indem sie in jede Küvette ca. 30 Sekunden eingestellt wurden. Anschließend wurden
sie zuerst in destilliertem Wasser und danach in Trihydroxymethylaminomethan
(TRIS) -Puffer gespült, in dem sie bis zur weiteren Behandlung verblieben.

3.2.2. Epitopdemaskierung

Durch die bei allen hier verwendeten Präparaten erfolgte Formalinfixierung entstehen
im Gewebe Aldehydvernetzungen, die zu einem Verlust der Immunreaktivität führen
und die Bindung des Primärantikörpers verhindern können. Durch diese Vernetzun-
gen kann sich auch die dreidimensionale Proteinstruktur des Antigens derart verän-
dern, dass sie vom Antikörper nicht mehr erkannt wird (Antigenmaskierung) [195].

Der erste Ansatz zur Epitopdemaskierung war die Trypsinandauung des Gewebes
[135]. Die enzymatische Andauung des Gewebes beinhaltet aber auch die Gefahr
einer Zerstörung der Zielproteine bei zu langem Einwirken der Proteasen.

1991 wurden erste Versuche der Epitopdemaskierung durch Hitze publiziert [270],
ein weiterer Schritt war die Verwendung von Citratpuffer anstelle von Metalllösungen
[42].

Aufgrund der vorhandenen Arbeitsprotokolle und den aus den eigenen Austestungs-
reihen haben wir uns bei allen Antikörper für eine hitzeinduzierte Demaskierung ent-
schieden. Dabei wurden drei verschiedene Methoden angewandt:

- *Hitzedemaskierung in der Mikrowelle*

Es wurde eine handelsübliche Mikrowelle NN-T259 der Firma Panasonic (Matsushita
Electric Industrial Co., Ltd., Kadoma, Japan) verwendet. Die zu demaskierenden
Schnitte wurden in eine mit Citratpuffer gefüllte Küvette gestellt und in der Mikrowelle
je zweimal bei 900 W 10 Minuten erhitzt. Nach den ersten zehn Minuten wurde die
Küvette wieder mit Citratpuffer aufgefüllt, um ein Austrocknen der Schnitte zu ver-
meiden. Vor den darauf folgenden Arbeitsschritten wurden die Schnitte dreimal in
TRIS-Puffer gespült.

- *Hitzedemaskierung im Dampfgarer*

Der hier verwendete Dampfgarer DG 2423 ist handelsübliches Gerät der Firma Severin Elektrogeräte, Sundern. Er wird mit destilliertem Wasser befüllt.

Eine Küvette wurde mit 275 ml des speziell für den Dampfgarer einzusetzenden Puffers (Pufferzusammensetzung siehe unten) gefüllt. Der Puffer wurde 20 Minuten im Dampfgarer vorgewärmt. Anschließend wurden die Schnitte in die Küvette gestellt und 30 Minuten im Dampfgarer gegart. Nachdem die Schnitte zehn Minuten ausgekühlt waren, wurden sie dreimal in TRIS-Puffer gewaschen.

- *Hitzedemaskierung im Dampfdruckkochtopf*

Hierzu wurde ein Dampfdruckkochtopf WMF Schnelltopf® PERFECT (WMF, Geislingen) verwendet.

In den Topf wurden zwei Liter Citratpuffer gefüllt und bis zum sprudelnden Kochen des Puffers aufgeheizt. Danach wurden die Schnitte eingestellt und der Topfdeckel geschlossen. Nach sieben Minuten wurde der Topf von der Platte genommen und abgekühlt. Vor ihrer Weiterverwendung wurden die Schnitte dreimal in TRIS-Puffer gewaschen.

3.2.3. Blockieren der endogenen Peroxidase und alkalischen Phosphatase

Dies ist notwendig, um die Mitreaktion dieser Enzyme, wenn das Chromogen umgesetzt wird, und die dadurch verursachten falsch positiven Reaktionen zu vermeiden.

Zur Blockierung der endogenen Peroxidaseaktivität des verwendeten Gewebes wurden die Schnitte 15 Minuten in 3%igem H_2O_2 inkubiert, bevor der Primärantikörper aufgetragen wird. Die 3%ige H_2O_2 -Lösung wird kurz vor der Verwendung durch eine 30%ige H_2O_2 -Lösung (Merck, Darmstadt) und 1:10 Verdünnung mit destilliertem Wasser hergestellt.

Eine Blockierung der endogenen alkalischen Phosphatase ist bei hitzeinduzierter Epitopdemaskierung, wie sie hier bei allen Schnitte zur Anwendung kam, nicht mehr nötig, da das Enzym durch die Hitze bereits zerstört wird. Ansonsten kann sie mit Levamisol durchgeführt werden.

3.2.4. Blockieren mit Normalserum

Normalserum wird aus Tieren gewonnen, die nicht mit den nachzuweisenden Antigenen immunisiert worden sind. Das Normalserum dient zur Absättigung elektrostatischer Ladungen und hydrophober Bindungen und somit zur Vermeidung unspezifischer Färbungen.

Nach der Blockierung der endogenen Peroxidaseaktivität mit H₂O₂ wurden die Schnitte je nach Antikörper 20 Minuten mit Normalserum inkubiert.

Das Normalserum wurde mit dem unten beschriebenen Antikörperverdünnungsmedium im Verhältnis 1:20 verdünnt.

3.2.5. Blockade des endogenen Biotins

Biotin kommt in vielen Geweben physiologisch vor und kann bei Anwendung der ABC-Methode zu unspezifischen Färbereaktionen führen [335]. Da es bei Prostatagewebe durch endogenes Biotin zu unspezifischen Färbungen kam, wurde auch hier ein Biotin-Block verwendet, um eine unspezifische Hintergrundfärbung zu vermeiden. Von den beiden Reagenzien des Kits wurden jeweils 150 µl je 15 Minuten aufgetragen, dazwischen wurden die Schnitte kurz in TRIS-Puffer gespült, nach der zweiten Reagenz wurde ohne erneutes Spülen der Primärantikörper aufgetragen.

3.2.6. Inkubation mit dem Primärantikörper

Pro TMA-Schnitt wurden 150 µl Primärantikörper in der bei den einzelnen Antikörpern beschriebenen Verdünnung auf die Schnitte pipettiert. Danach wurden die Schnitte 60 Minuten bei Raumtemperatur in feuchten Kammern inkubiert. Bei der Färbung mit dem Androgenrezeptor wurden die Schnitte 24 Stunden im Kühlschrank bei 4°C inkubiert.

Die feuchten Kammern sind Plastikbehälter, in die etwas destilliertes Wasser gegeben wurde, um die Verdunstung der Antikörpermedien und damit das Austrocknen der Schnitte zu verhindern.

Nach der Inkubation wurden die Schnitte dreimal in TRIS-Puffer gespült, bevor der Sekundärantikörper aufgetragen wurde.

3.2.7. Inkubation mit dem Sekundärantikörper

Der Sekundärantikörper des entsprechenden Detektionskits wurde für 30 Minuten inkubiert, danach wurden die Schnitte dreimal in TRIS-Puffer gewaschen, bevor der Komplex aufgetragen wurde.

3.2.8. Inkubation mit dem Komplex

Der Komplex des dem jeweiligen Protokoll entsprechenden Detektionskits wurde ebenso für 30 Minuten aufgetragen. Danach wurden die Schnitte wieder dreimal in TRIS-Puffer gespült.

3.2.9. Färbung

Die Färbung zur Darstellung der durch die Primärantikörper markierten Struktur wurde mit den jeweils zu verwendenden Farbstoffen DAB bzw. Fast Red durchgeführt. Nach neun Minuten wurde die Farbreaktion in destilliertem Wasser abgestoppt, um eine unspezifische Färbung zu vermeiden, anschließend erfolgte die Gegenfärbung.

3.2.10. Gegenfärbung

Nach erfolgter Färbung wurden die Schnitte vier Sekunden mit Häkalaun (Apotheke des Klinikums rechts der Isar, München) gegengefärbt, um auch die nicht durch die Antikörper markierten Strukturen für das Mikroskopieren sichtbar zu machen, die durch das Häkalaun eine blaue Farbe annahmen. Anschließend daran wurden die Schnitte mit Leitungswasser gespült, um eine zu starke Blaufärbung der Schnitte durch das Häkalaun zu vermeiden.

3.2.11. Dehydrierung und Eindeckung

Nach der Gegenfärbung durch Häkalaun mussten die Schnitte vor der der Eindeckung wieder dehydriert werden. Dies erfolgte in der aufsteigenden Alkoholreihe (zwei Küvetten mit 70%igem Ethanol, zwei Küvetten mit 96%igem Ethanol, drei Küvetten mit Isopropylalkohol und fünf Küvetten mit Xylol), in der die Schnitte in jeder Küvette ca. 30 Sekunden eingestellt wurden.

Die Eindeckung erfolgte in einem vollautomatischen Objektträger-Eindeckautomaten RCM 2000 (medite Medizintechnik, Burgdorf). Es wurden Deckgläser der Größe 24x50 mm der Marke Automat Star (Engelbrecht Medizin- und Labortechnik, Edermünde) verwendet. Nach der Eindeckung wurden die Schnitte noch zehn Minuten im Brutschrank bei 100°C inkubiert, um eine gute und luftblasenfreie Haftung des Deckglases am Objektträger zu gewährleisten.

3.3. Verwendete Reagenzien

3.3.1. TRIS-Puffer

Dieser Puffer ist ein Waschpuffer und das Aufbewahrungsmedium, um die Schnitte zwischen den einzelnen Behandlungsschritten vor Austrocknung zu schützen.

Er wird in Form einer Gebrauchslösung, die aus einer im Verhältnis 1:9 mit destilliertem Wasser verdünnten Stammlösung besteht, verwendet und bei 4°C gelagert.

Die Stammlösung wird wie folgt angesetzt:

60,5 g TRIS-Base (Trizma® base, Sigma-Aldrich, St. Louis USA) wird in 700 ml destilliertem Wasser aufgelöst. Mit 2 N HCl (Merck, Darmstadt) wird der pH-Wert der

Lösung auf 7,6 eingestellt. Anschließend werden 90 g NaCl (Merck, Darmstadt) darin gelöst. Aufgrund des hohen Salzgehaltes kann die Lösung bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden.

3.3.2. Citratpuffer

Dieser Puffer wird bei der hitzeinduzierten Epitopdemaskierung in der Mikrowelle und im Dampfdruckkochtopf eingesetzt.

Er wird bei 4°C gelagert und bei Bedarf neu angesetzt.

Hierfür werden 2,1 g Citronensäure-Monohydrat *ad analysem* (Merck, Darmstadt) in 1000 ml destilliertem Wasser aufgelöst. Anschließend wird der pH-Wert der Lösung mit 2 N NaOH (Apotheke des Klinikums rechts der Isar, München) auf pH 6 eingestellt.

3.3.3. Puffer für den Dampfgerar

Hierzu wird *DakoCytomation Target Retrieval Solution 10x Concentrate* der Firma Dako, Glostrup DK, Code-Nr. S1699, verwendet, die mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 verdünnt wird.

3.3.4. Antikörperverdünnungsmedium

Zum Einsatz kam das Produkt *Dako REAL™ Antibody Diluent* (Dako, Glostrup DK).

Es wird sowohl im immunhistochemischen Routinelabor als auch in der Forschung des Hauses regelmäßig eingesetzt.

Es enthält TRIS-Puffer, pH 7,2, mit 15 mmol/L NaN₃ und Protein und wird bei 2 bis 8°C aufbewahrt.

3.3.5. Normalserum

Das Ziegennormalserum stammte von der Firma Dako, Glostrup DK, Code-Nr. X0907. Es enthält Vollserum von gesunden Ziegen sowie 15 mmol/l Natriumtrinitrat zur Konservierung. Die Lagerung erfolgt bei 2-8°C. Bei den mit der ABC-Methode nachgewiesenen Antikörpern wurde das jeweils dem Kit beigegebene Normalserum verwendet.

3.3.6. Avidin-Biotin-Block

Hier wurde der *Avidin/Biotin Blocking Kit* von Vector Laboratories, Burlingame USA, Katalognr. SP-2001, verwendet. Die Reagenz „A“ besteht aus einer Avidin D Lösung, Reagenz „B“ aus einer Biotinlösung, die die verbleibenden Bindungsstellen des Avidins absättigt.

Der Kit liegt in gebrauchsfertigen Tropffläschchen vor, die Lagerung erfolgt bei 2-8°C.

3.3.7. Detektionskits (Sekundärantikörper, Komplex, Farbstoff)

Detektionskits werden bereits komplett von Firmen angeboten und enthalten alle zur Visualisierung des vom Primärkörper erkannten Antigens benötigten Bestandteile, wozu der Sekundärantikörper, der Komplex und das Chromogen zählen.

Folgende Detektionskits wurden verwendet:

- *Detektionskit K5000, Dako, Glostrup DK (APAAP)*

Dieser Kit besteht aus einer schon gebrauchsfertigen Sekundärantikörperlösung (Kaninchen-Anti-Maus-Immunglobuline), einer Komplexlösung (APAAP Immuno-complex) und dem Chromogen (RED Chromogen). Das Fast Red-Chromogen besteht aus vier Komponenten. Chromogen Red 1, Red 2 und Red 3 werden vor Gebrauch mit AP Substrate Buffer im Verhältnis 1 (Red 1) : 1 (Red 2) : 1 (Red 3) : 25 (AP Substrate Buffer) verdünnt.

- *Detektionskit K5001, Dako, Glostrup DK (LSAB-POX)*

Dieser Kit besteht aus einer schon gebrauchsfertigen Sekundärantikörperlösung (biotinylierten Ziege-Anti-Maus- und Ziege-Anti-Kaninchen-Immunglobuline), einer Komplexlösung (an Meerrettichperoxidase konjugiertes Streptavidin) und dem Chromogen (DAB). Das DAB+ Chromogen setzt sich zusammen aus einer konzentrierten Diaminobenzidinlösung (DAB-Lösung) und dem wasserstoffperoxidhaltigen Substrate Buffer. Vor dem Gebrauch muss DAB+ Chromogen mit HRP Substrate Buffer im Verhältnis 1:50 verdünnt werden.

- *Detektionskit K5005, Dako, Glostrup DK (LSAB-AP)*

Dieser Kit besteht aus einer schon gebrauchsfertigen Sekundärantikörperlösung (biotinylierten Ziege-Anti-Maus- und Ziege-Anti-Kaninchen-Immunglobulinen), einer Komplexlösung (Streptavidin Alkaline Phosphatase) und dem Chromogen (RED Chromogen). Das Chromogen ist dasselbe wie bei Kit K5000.

- *Vectastain® ABC-Kit Mouse/ Rabbit, Vector Laboratories, Burlingame USA*

Dieser Kit wurde bei den Antikörpern gegen den Androgenrezeptor und gegen Interleukin 6 verwendet.

Der Sekundärantikörper wurde mit dem bereits beschriebenen Antikörperverdünnungsmedium im Verhältnis 1:200 unter Zugabe von Normalserum im Verhältnis 3:200 verdünnt.

Der ABC-Komplex wurde aus den beiden Reagenzien A und B, die im Verhältnis 1:50 mit TRIS-Puffer verdünnt wurden, hergestellt. Dies ist das schon etablierte Verdünnungsschema für die ABC-Kits, das hier übernommen wurde
 Als Chromogen wurde das oben beschriebene DAB verwendet.

3.4. Verwendete Primärantikörper

Zur besseren Übersicht erfolgt die Aufzählung der verwendeten Primärantikörper in tabellarischer Form.

<i>Antigen</i>	<i>Antikörpertyp/ Herstellerfirma und Produktcode</i>	<i>Klon</i>	<i>Verdünnung</i>	<i>Methodik</i>
CK 5/6	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 Dako, Glostrup DK, M7237	D5/16 B4	1:50	KT/APAAP
PSA	<i>polyclonal-rabbit</i> Dako, Glostrup DK, A0562	-	1:80.000	KT/LSAB-AP
PSP	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG2a Sigma-Aldrich, St. Louis USA, P9808	PAP-29	1:90.000	KT/LSAB-AP
PSMA	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 Dako, Glostrup DK, M3620	3E6	1:100	DG/LSAB-POX
Racemase	<i>monoclonal-rabbit</i> Dako, Glostrup DK, M3616	13H4	1:100	KT/LSAB-POX
Androgenrezeptor	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 Novocastra, Newcastle upon Tyne UK, NCL-AR-318	AR27	1:300	KT/ABC
MIB-1	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 Dako, Glostrup DK, M7240	MIB-1	1:100	KT/APAAP
IL-6	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG2a Novocastra, Newcastle upon Tyne UK, NCL-L-IL-6	10C12	1:50	KT/ABC
STAT3	<i>polyclonal-rabbit</i> Cell Signaling Technology, Danvers USA, 9131	-	1:2500	KT/LSAB-POX
MAPK	<i>monoclonal-rabbit</i> ; IgG Cell Signaling Technology, Danvers USA, 4376	20G11	1:400	KT/LSAB-POX
PI3K	<i>polyclonal-rabbit</i> Cell Signaling Technology, Danvers USA, 4254	-	1:200	KT/LSAB-POX
IL8	<i>polyclonal-rabbit</i> BioSource International, Camarillo USA, AHC0881	-	1:1000	KT/LSAB-POX

CXCR1	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG2b BD Biosciences, Franklin Lakes USA, 555937	5A12	1:1500	KT/LSAB-POX
CXCR2	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 BD Biosciences, Franklin Lakes USA, 555932	6C6	1:100	KT/LSAB-POX
Bcl-2	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 Dako, Glostrup DK, M0887	124	1:50	KT/LSAB-POX
Bim	*	-	1:1000	KT/LSAB-POX
CycD1	<i>monoclonal-rabbit</i> ; IgG DCS, Hamburg D, Cl667C01	SP4	1:50	DG/LSAB-POX
c-Fos	<i>monoclonal-mouse</i> ; IgG1 Calbiochem, San Diego USA, OP53	CS93.1.18	1:100	KT/LSAB-POX

Tabelle 5: Verwendete Primärantikörper; KT = Dampfdruckkochtopf, DG = Dampfgarer

*: Der polyklonale Bim-Antikörper wurde freundlicherweise von Herrn Prof. Häcker, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der technischen Universität München zur Verfügung gestellt.

4. Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Die Schnitte wurden an einem Zeiss-Mikroskop (Axioskop 2) in der Vergrößerung 1x200 von zwei Fachärzten für Pathologie unabhängig voneinander ausgewertet. Jede Stanze wurde einzeln ausgewertet, Tumorgewebe, benignes Drüseneithel und das Stroma wurden – soweit jeweils vorhanden – getrennt bewertet. Die Bewertung erfolgte anhand der Färbeintensität auf einer Skala von 0 (keine Färbung) bis 4 (sehr starke Färbung), ein Procedere, das allgemein bei immunhistochemischen Auswertungen angewandt wird.

Für die endgültige Bewertung jedes Patienten wurden jeweils die beiden stärksten Ausprägungen zusammengezählt. Falls nur eine Stanze Tumorzellen oder benignes Drüseneithel enthielt, wurden diese doppelt gezählt. Bei in TMA 5 doppelt gestanzten Patienten wurden auch jeweils die beiden stärksten Färbungen gewertet.

Hierdurch erhielt man eine Skala für die Bewertung eines Patienten von 0 bis 8.

5. Statistische Auswertung

Alle statistischen Auswertungen wurden zu einem Signifikanzniveau von 5 % vorgenommen.

Da es sich um explorative Untersuchungen handelte, wurde auf die Problematik des „multiplen Testens“ nicht eingegangen (keine Adjustierung des Signifikanzniveaus).

Um einfach interpretierbare Vergleichsgruppen mit adäquaten Fallzahlen zu definieren, wurden in Absprache mit Herrn Schuster die neun möglichen Ausprägungen auf drei reduziert:

A: 0 (keine Färbung)

B: 1, 2 (schwache Färbung)

C: 3, 4, 5, 6, 7, 8 (starke Färbung)

Folgende statistische Untersuchungen wurden durchgeführt:

- Assoziationen zwischen den Gruppen „Vorbehandlung“ und „keine Vorbehandlung“ jeweils bei Tumorzellen und beim benignem Drüsenepithel.
- Assoziationen zwischen Tumorzellen bzw. benignem Drüsenepithel der Gruppe „vorbehandelt“ und Biopsien der jeweiligen Patienten.
- Korrelationen zwischen den Gruppen „Tumorzellen“ und „benignes Drüsenepithel“ jeweils bei vorbehandelten und nicht-vorbehandelten Patienten.
- Assoziationen zwischen zwei Merkmalen in den Gruppen „Tumorzellen vorbehandelt – Tumorzellen nicht-vorbehandelt“ und „benignes Drüsenepithel vorbehandelt –benignes Drüsenepithel nicht-vorbehandelt“.

Um Assoziationen zwischen kategorialen Merkmalen zu untersuchen, wurde der *Chi²-Test* bzw. der *Exakte Test von Fisher* (bei schwach besetzten Zellen) verwendet.

Um Korrelationen des quantitativen Färbungsgrades zwischen Tumorzellen und benignen Zellen zu prüfen wurde der *Korrelationskoeffizient von Spearman* berechnet. Des Weiteren fanden Verteilungsvergleiche zweier unabhängiger Stichproben mit dem *Mann-Whitney-U-Test* statt.

Um den bivariaten Zusammenhang ordinal-skaliertter Messungen zu quantifizieren wurde *Kendall's-tau-b Koeffizient* berechnet, dieser erfasst die Häufigkeit, wie oft Datenausprägungen übereinstimmen (minus denen die nicht übereinstimmen) und setzt diese ins Verhältnis zu allen Messwertpaaren. Der Vorzeichentest wurde benutzt um Unterschiede zwischen ordinal skalierten abhängigen Stichproben zu analysieren. Dieser wurde bei der Auswertung der Biopsien angewendet.

F Ergebnisse

Statistisch signifikante Ergebnisse sind in der Farbkombination gelb (A) – orange (B) –rot (C) dargestellt, nicht signifikante Ergebnisse zum Vergleich in Grauabstufungen. „T“ steht für Tumorgewebe, „N“ für benigne Epithelien, „0“ für keine Vorbehandlung, „1“ für Vorbehandlung.

1. Zelllinienergebnisse

Die Literaturergebnisse (Spalte Literatur) wurden bereits in der Einleitung aufgeführt und hier zum Vergleich neben die Ergebnisse dieser Studie (Spalte Studie) gestellt.

Merkmal	LNCaP		PC-3		DU145	
	Literatur	Studie	Literatur	Studie	Literatur	Studie
CK5/6	A	A	A	A	A	A
PSA	C	B	A	A	A	A
PSP	C	A	A	A	A	A
Racemase	C	C	B	A	B	A
MIB-1	C	C	C	C	C	C
PSMA	C	C	A	A	A	A
Androgenrezeptor	C	C	A	A	A	A
IL-6	A/B*	B	C	C	C	C
STAT3	B	A	C	A	C	B
MAPK	B	C	B	C	C	C
PI3K	B	B	B	A	B	A
IL8	A/B*	C	C	C	C	C
CXCR1	-	B	A	A	A/B*	B
CXCR2	-	A	A/B*	A	A	A
CycD1	C	C	C	C	B	C
BCL-2	C	B	B	B	A/B*	B
BIM	B	C	B	C	A/B*	C
c-Fos	A	C	C	C	C	C

Tabelle 6: Proteinexpression der Zelllinien in dieser Studie

*: widersprüchliche Angaben in der Literatur

34 gleiche Ergebnisse, 16 ähnliche Ergebnisse („B“ statt „C“ bzw. „C“ statt „B“), 2 unterschiedliche Ergebnisse (bei PSP und c-Fos, jeweils bei LNCaP-Zellen; Erläuterung hierzu siehe unter Punkt 1 im Teil Diskussion)

Als Beispiel für die Proteinexpression in den Zelllinien wird hier vergleichend die Racemase-Expression dargestellt.

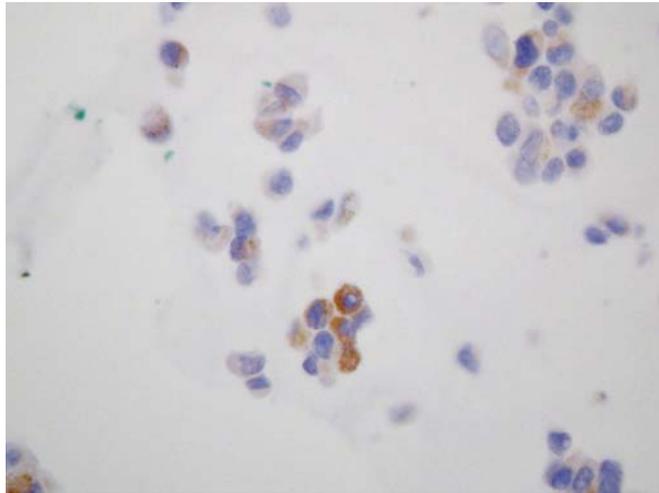


Abbildung 2: Racemase-Expression in LNCaP-Zellen (x 200)

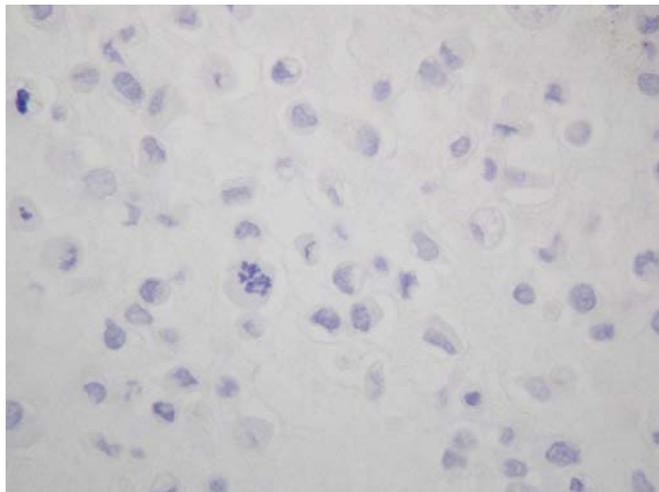


Abbildung 3: Racemase-Expression in DU145-Zellen (x 200)

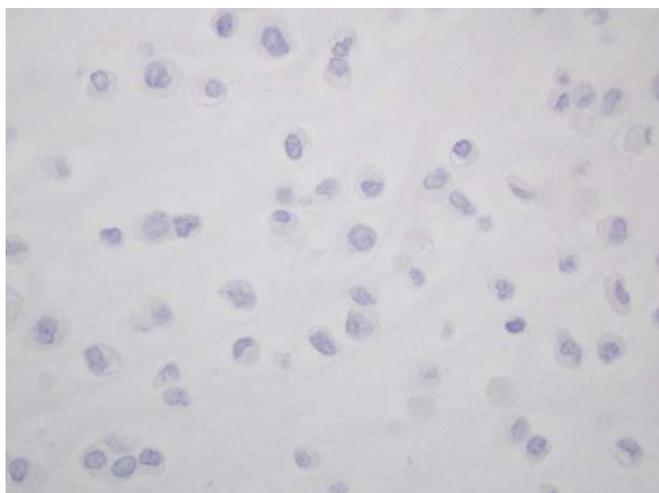


Abbildung 4: Racemase-Expression in PC-3-Zellen (x 200)

2. Assoziationen zwischen den Gruppen „Vorbehandlung“ und „keine Vorbehandlung“

Androgenrezeptor_T * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
AR_T	B	Count	2	6	8
		% within Vorbehandlung	4,2%	24,0%	11,0%
	C	Count	46	19	65
		% within Vorbehandlung	95,8%	76,0%	89,0%
Total		Count	48	25	73
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	,017

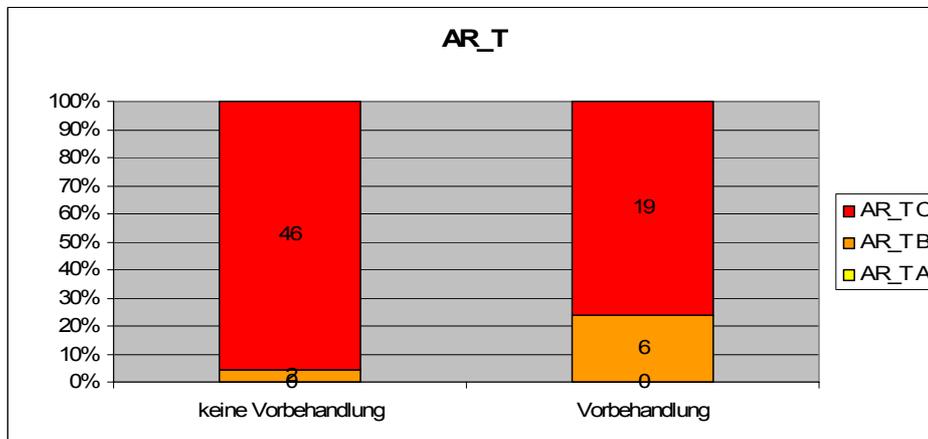
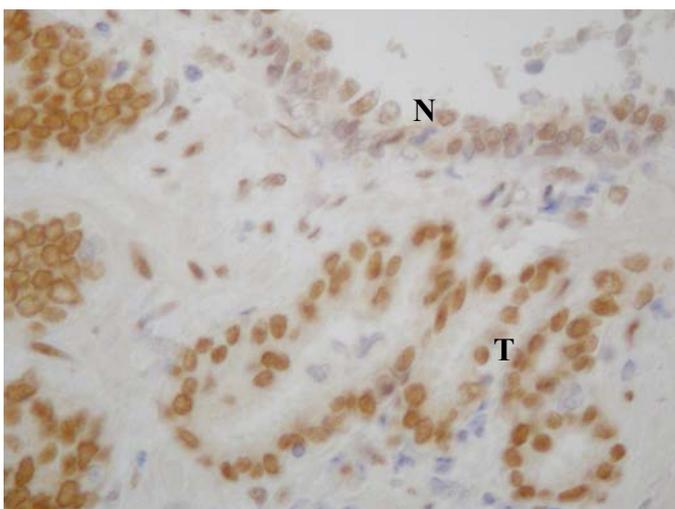


Abbildung 5: Auswertung Androgenrezeptor im Karzinom: Vorbehandlung - keine Vorbehand-



lung

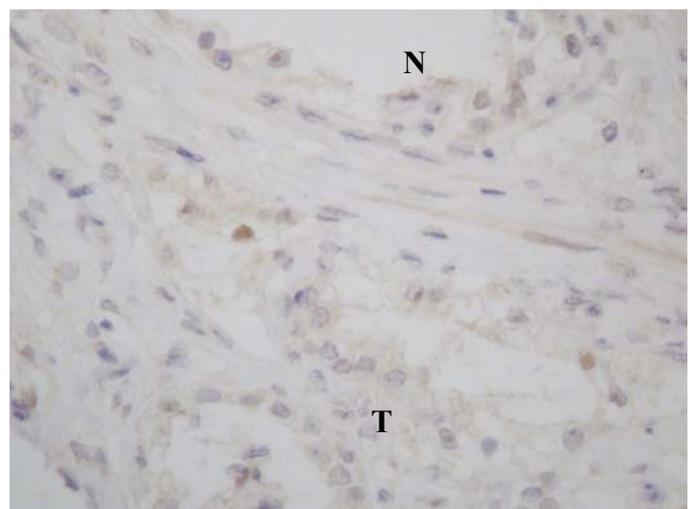


Abbildung 6: Androgenrezeptor-Expression im benignen Epithel (N) und im Karzinom (T): links unvorbehandelt, rechts vorbehandelt; verschiedene Patienten

Androgenrezeptor_N * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
AR_N	B	Count	2	8	10
		% within Vorbehandlung	4,0%	32,0%	13,3%
	C	Count	48	17	65
		% within Vorbehandlung	96,0%	68,0%	86,7%
Total		Count	50	25	75
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	,002

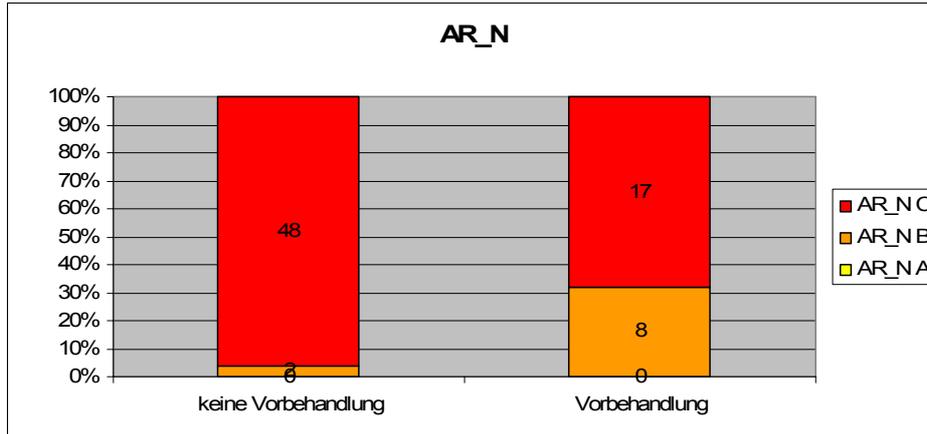


Abbildung 7: Auswertung Androgenrezeptor benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

PSP_N * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
PSP_N	A	Count	2	6	8
		% within Vorbehandlung	4,0%	24,0%	10,7%
	B	Count	5	8	13
		% within Vorbehandlung	10,0%	32,0%	17,3%
	C	Count	43	11	54
		% within Vorbehandlung	86,0%	44,0%	72,0%
Total		Count	50	25	75
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	<0,001

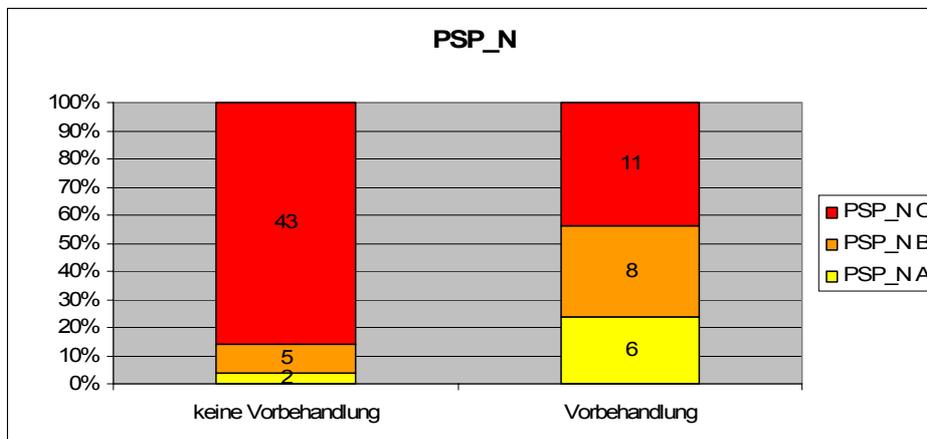


Abbildung 8: Auswertung PSP benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

PSA_N * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
PSA_N A	Count		0	2	2
	% within Vorbehandlung		,0%	8,3%	2,7%
B	Count		8	11	19
	% within Vorbehandlung		16,0%	45,8%	25,7%
C	Count		42	11	53
	% within Vorbehandlung		84,0%	45,8%	71,6%
Total	Count		50	24	74
	% within Vorbehandlung		100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	,001

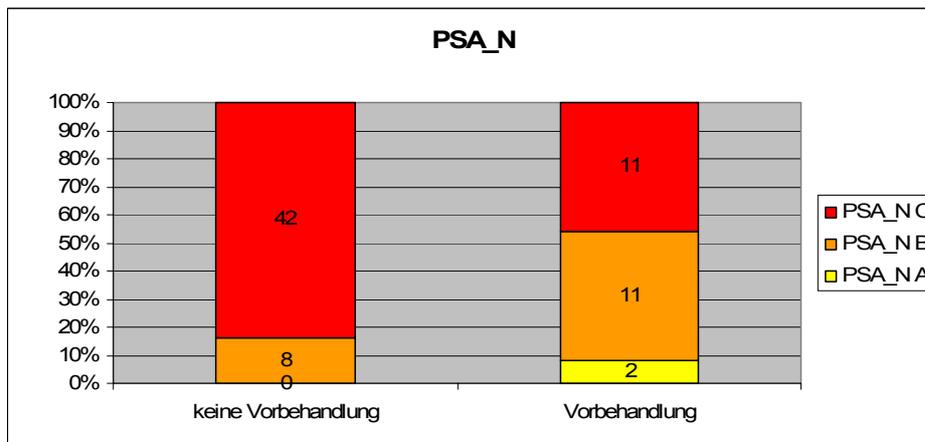


Abbildung 9: Auswertung PSA benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

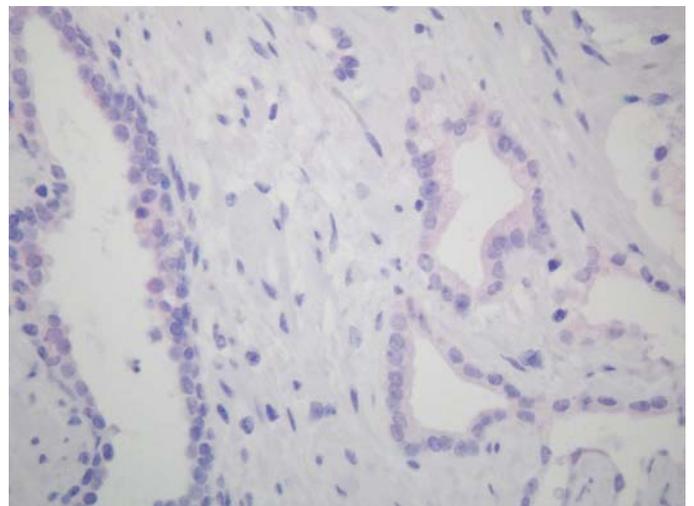
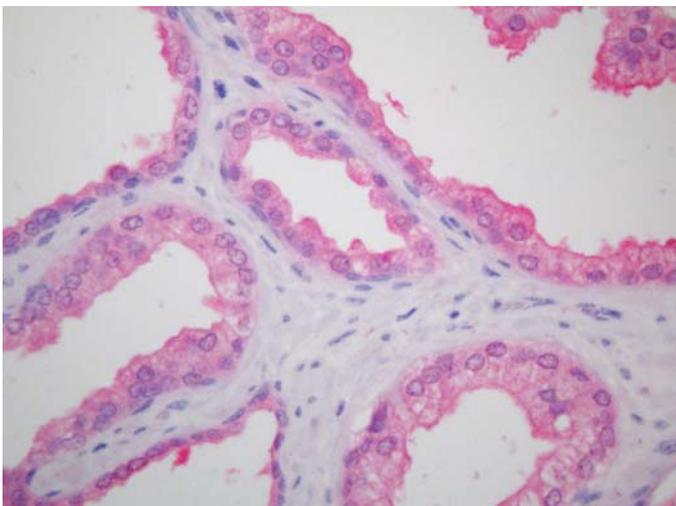


Abbildung 10: PSA-Expression benignes Epithel: links unvorbehandelt, rechts vorbehandelt; verschiedene Patienten

Racemase_T * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
Racemase_T	B	Count	12	13	25
		% within Vorbehandlung	24,5%	54,2%	34,2%
	C	Count	37	11	48
		% within Vorbehandlung	75,5%	45,8%	65,8%
Total		Count	49	24	73
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,012

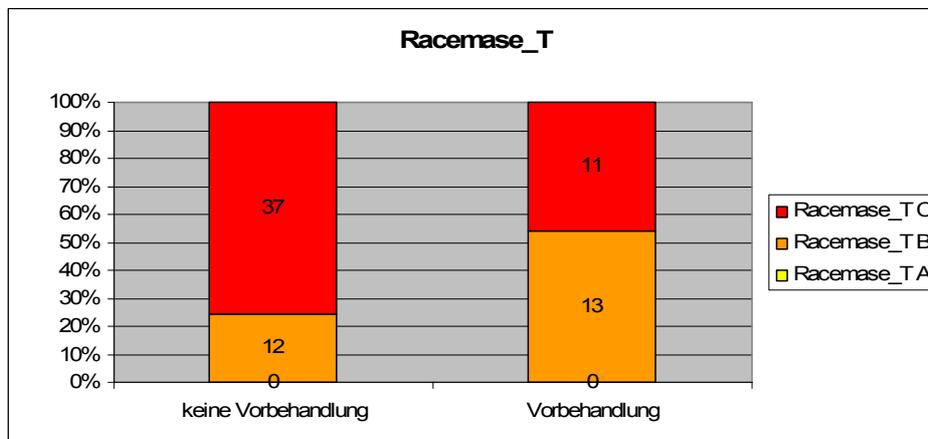


Abbildung 11: Auswertung Racemase Tumorgewebe: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

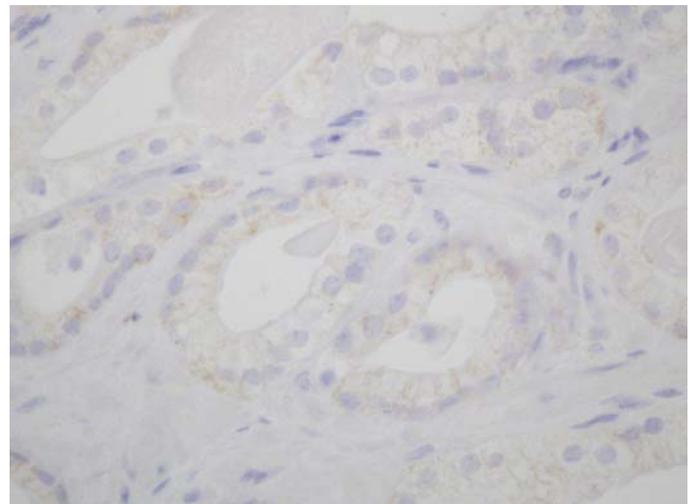
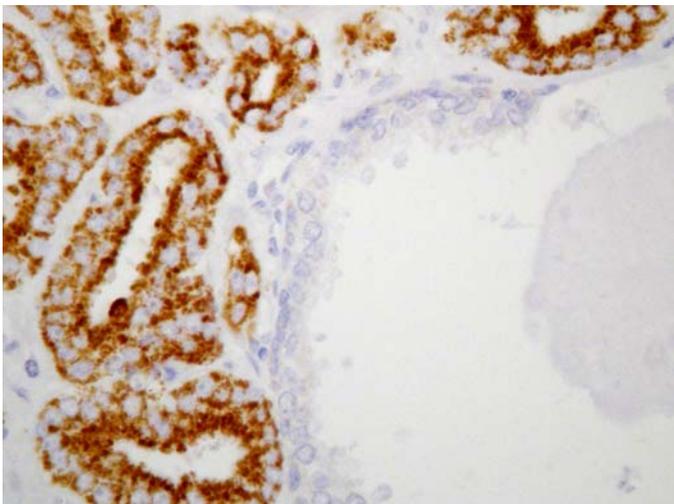


Abbildung 12: Racemase-Expression Karzinom: links unvorbehandelt, rechts vorbehandelt; verschiedene Patienten

MAPK_T * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
MAPK_T	A	Count	35	9	44
		% within Vorbehandlung	72,9%	36,0%	60,3%
	B	Count	10	9	19
		% within Vorbehandlung	20,8%	36,0%	26,0%
	C	Count	3	7	10
		% within Vorbehandlung	6,3%	28,0%	13,7%
Total		Count	48	25	73
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,004

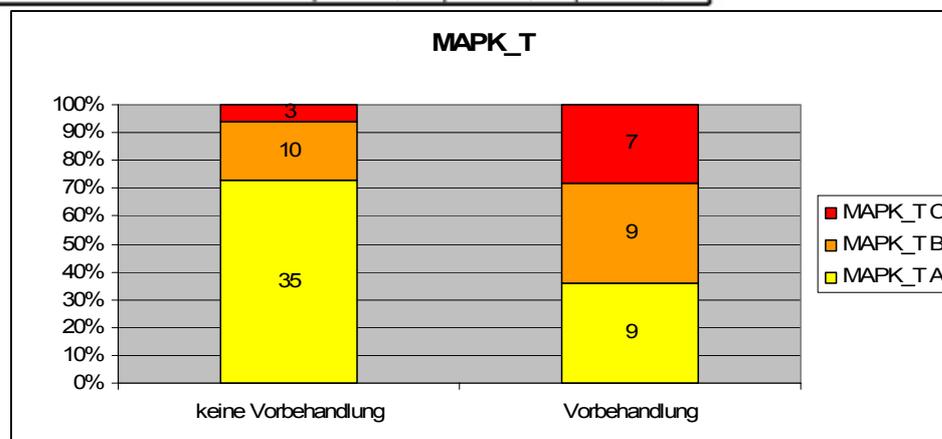


Abbildung 13: Auswertung MAPK Tumorgewebe: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

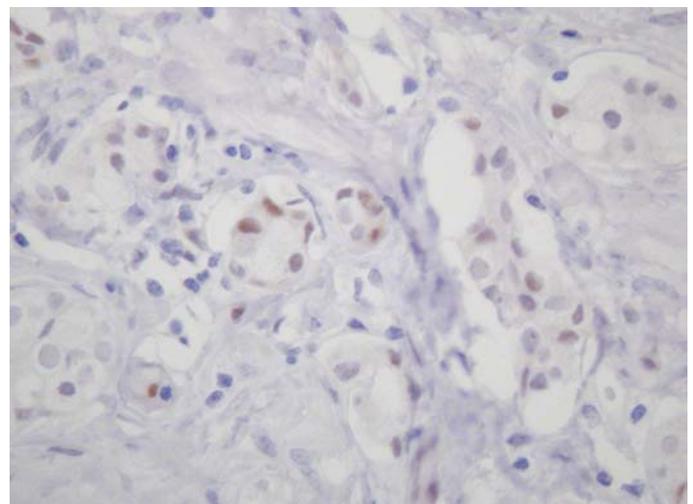
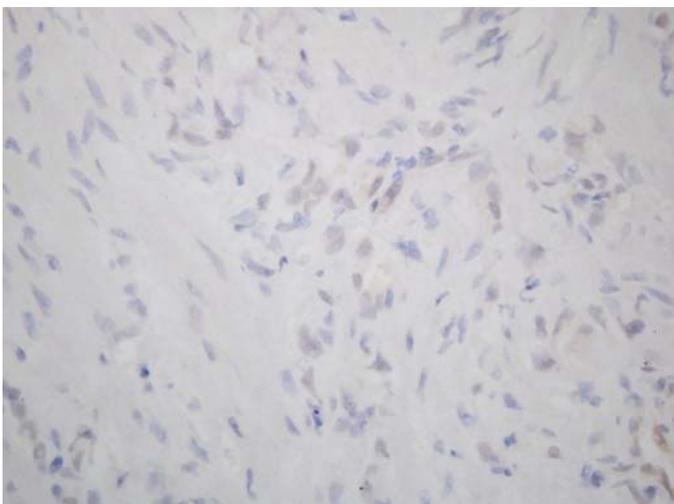


Abbildung 14: MAPK-Expression Karzinom: links unvorbehandelt (Biopsie) , rechts vorbehandelt (Prostatektomiepräparat); gleicher Patient

MAPK_N * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
MAPK_N	A	Count	31	8	39
		% within Vorbehandlung	62,0%	32,0%	52,0%
	B	Count	15	11	26
		% within Vorbehandlung	30,0%	44,0%	34,7%
	C	Count	4	6	10
		% within Vorbehandlung	8,0%	24,0%	13,3%
Total		Count	50	25	75
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,030

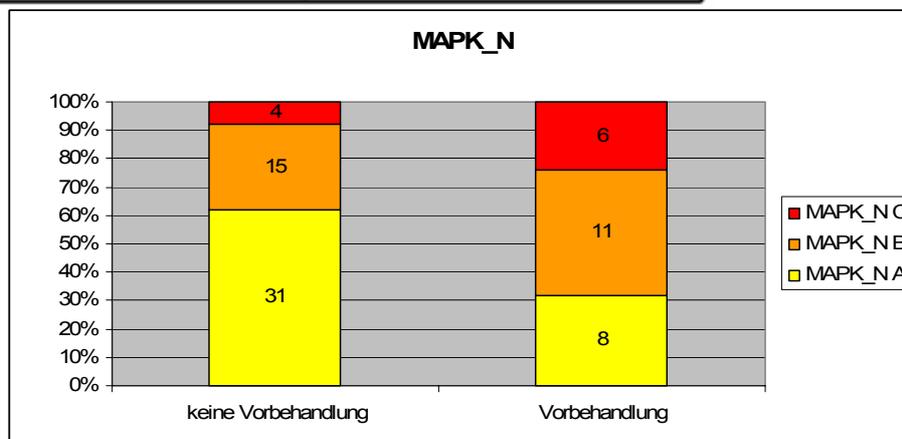


Abbildung 15: Auswertung MAPK benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

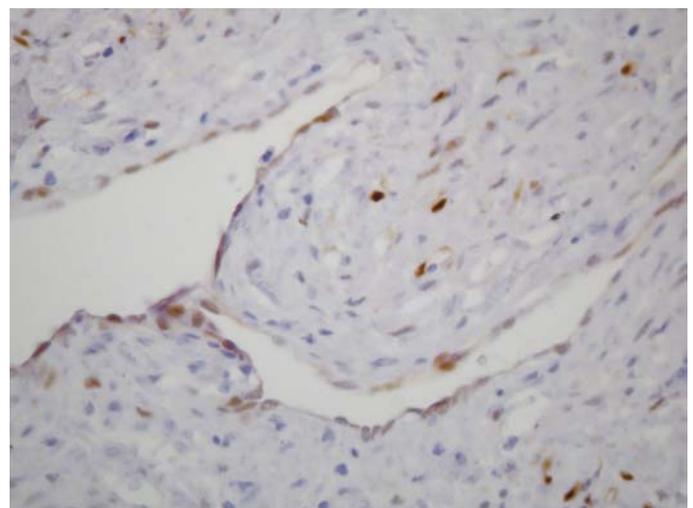
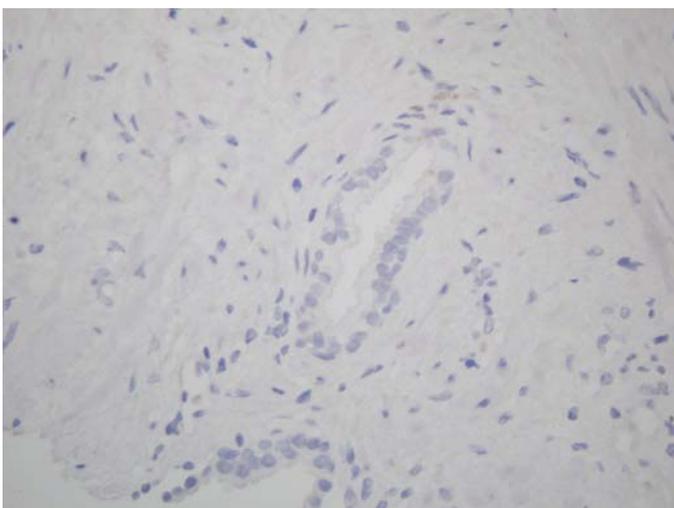


Abbildung 16: MAPK-Expression benignes Epithel: links unvorbehandelt (Biopsie) , rechts vorbehandelt (Prostatektomiepräparat); gleicher Patient

STAT 3_N * Vorbehandlung

Crosstab

			Vorbehandlung		Total
			0	1	
STAT 3_N	A	Count	9	2	11
		% within Vorbehandlung	18,4%	8,3%	15,1%
	B	Count	25	7	32
		% within Vorbehandlung	51,0%	29,2%	43,8%
	C	Count	15	15	30
		% within Vorbehandlung	30,6%	62,5%	41,1%
Total		Count	49	24	73
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	,040

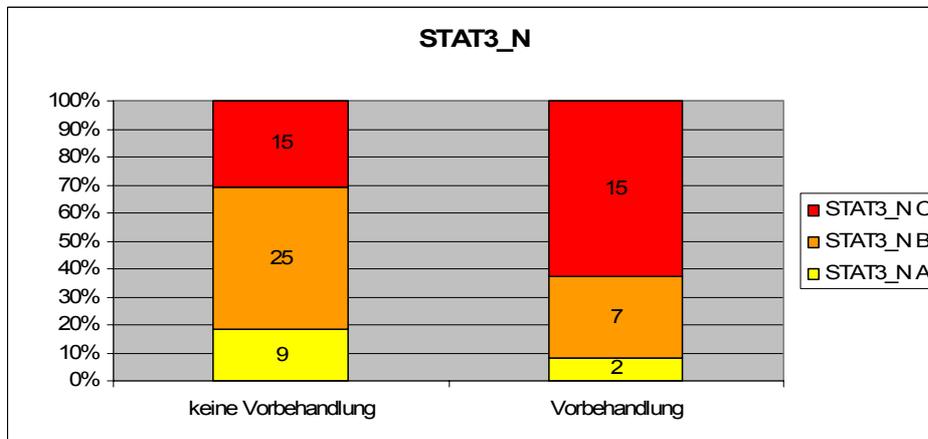


Abbildung 17: Auswertung STAT3 benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

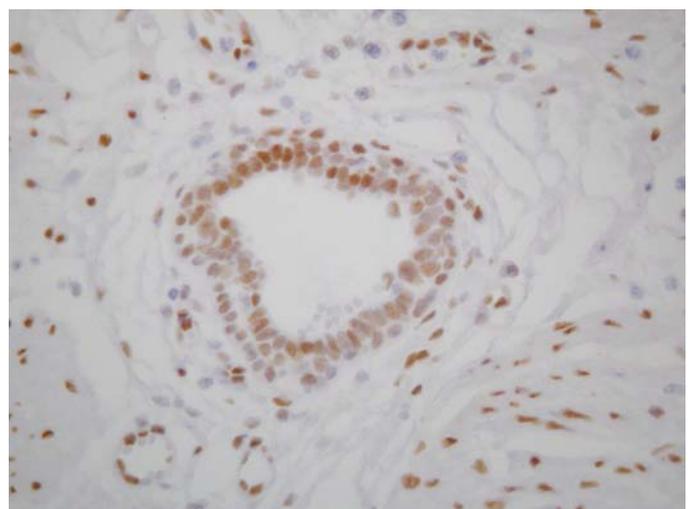
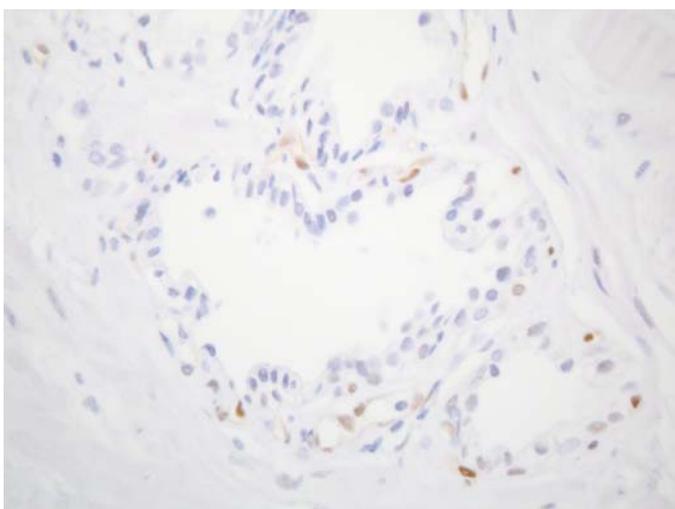


Abbildung 18: STAT3-Expression benignes Epithel: links unvorbehandelt (Biopsie) , rechts vorbehandelt (Prostatektomiepräparat); gleicher Patient

Bim-K_T * Vorbehandlung

Crosstab

		Vorbehandlung		Total	
		0	1		
BIM-K_T	A	Count	34	9	43
		% within Vorbehandlung	70,8%	37,5%	59,7%
B	Count	13	10	23	
		% within Vorbehandlung	27,1%	41,7%	31,9%
C	Count	1	5	6	
		% within Vorbehandlung	2,1%	20,8%	8,3%
Total	Count	48	24	72	
		% within Vorbehandlung	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	,005

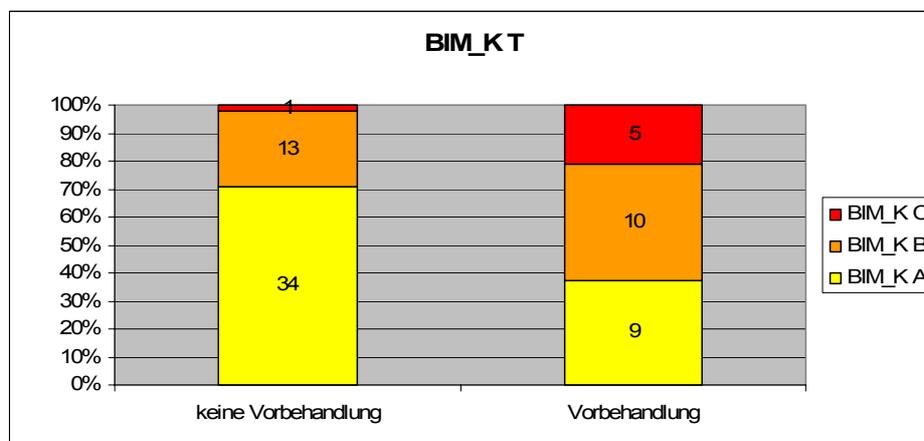


Abbildung 19: Auswertung Bim nukleäre Färbung Karzinom: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung

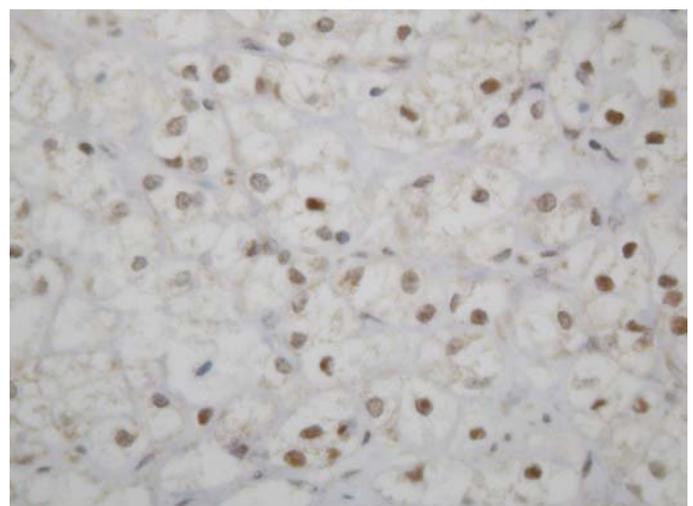
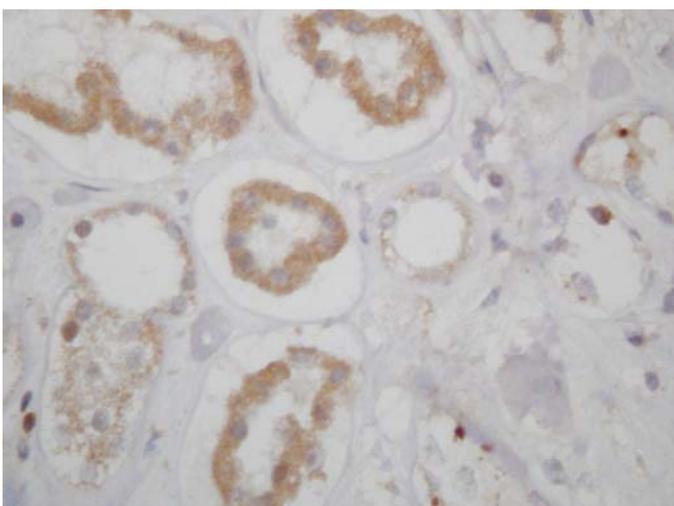


Abbildung 20: Bim-Expression Tumorgewebe: links unvorbehandelt (nur cytoplasmatische Expression), rechts vorbehandelt (nukleäre Expression); verschiedene Patienten

3. Assoziationen zwischen Tumorzellen und benignes Epithel in den Gruppen „Vorbehandlung“ und „keine Vorbehandlung“

PSA T * N

Crosstab

vorbehan		psa		TYPE		Total
				T	N	
0	B	Count	22	8	30	
		% within TYPE	44,9%	16,0%	30,3%	
	C	Count	27	42	69	
		% within TYPE	55,1%	84,0%	69,7%	
Total		Count	49	50	99	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	
1	A	Count	0	2	2	
		% within TYPE	,0%	8,3%	4,1%	
	B	Count	16	11	27	
		% within TYPE	64,0%	45,8%	55,1%	
	C	Count	9	11	20	
		% within TYPE	36,0%	45,8%	40,8%	
Total		Count	25	24	49	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

vorbehan	Test	Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,002
1	Fisher's Exact Test	,260

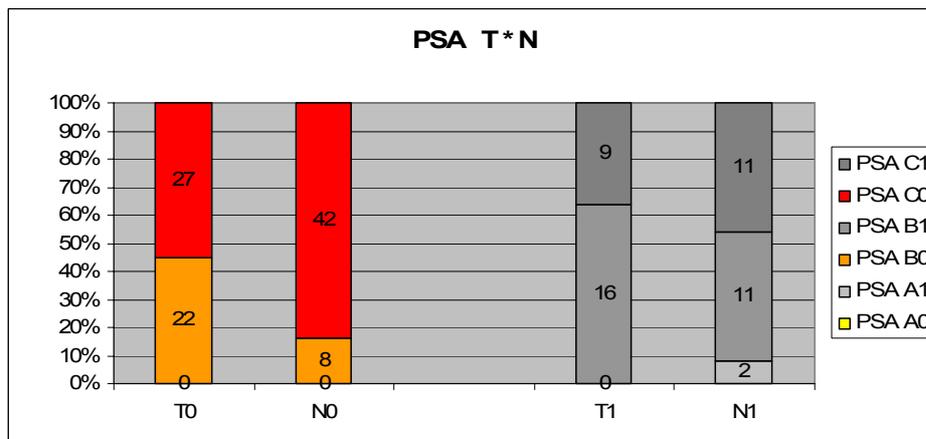


Abbildung 21: Auswertung PSA: Tumorgewebe - benignes Epithel

PSP T * N

Crosstab

vorbehan				TYPE		Total
				T	N	
0	psp A	Count	1	2	3	
		% within TYPE	2,0%	4,0%	3,0%	
	B	Count	34	5	39	
		% within TYPE	69,4%	10,0%	39,4%	
	C	Count	14	43	57	
		% within TYPE	28,6%	86,0%	57,6%	
Total		Count	49	50	99	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	
1	psp A	Count	4	6	10	
		% within TYPE	16,0%	24,0%	20,0%	
	B	Count	14	8	22	
		% within TYPE	56,0%	32,0%	44,0%	
	C	Count	7	11	18	
		% within TYPE	28,0%	44,0%	36,0%	
Total		Count	25	25	50	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,000
1	Fisher's Exact Test	,266

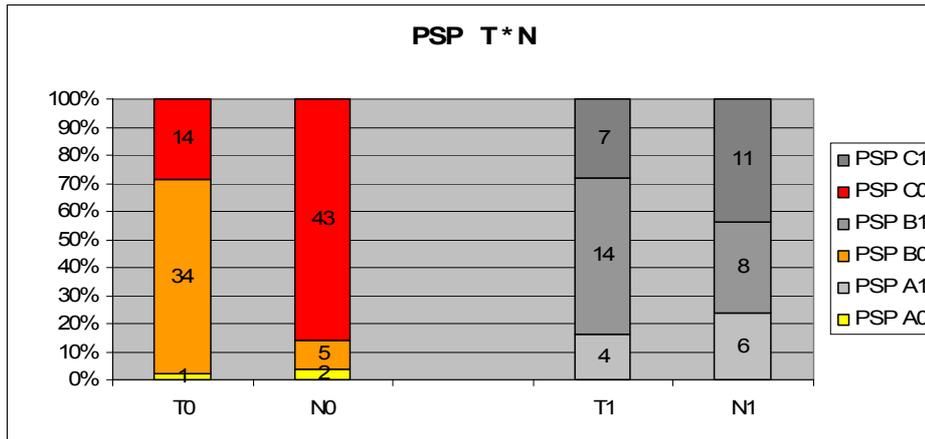


Abbildung 22: Auswertung PSP: Tumorgewebe - benignes Epithel

PSMA T * N

Crosstab

vorbehan				TYPE		Total
				T	N	
0	psma A	Count	0	1	1	
		% within TYPE	,0%	2,0%	1,0%	
	B	Count	8	22	30	
		% within TYPE	16,3%	44,0%	30,3%	
	C	Count	41	27	68	
		% within TYPE	83,7%	54,0%	68,7%	
Total		Count	49	50	99	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	
1	psma B	Count	5	11	16	
		% within TYPE	20,0%	50,0%	34,0%	
	C	Count	20	11	31	
		% within TYPE	80,0%	50,0%	66,0%	
Total		Count	25	22	47	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,003
1	Fisher's Exact Test	,037

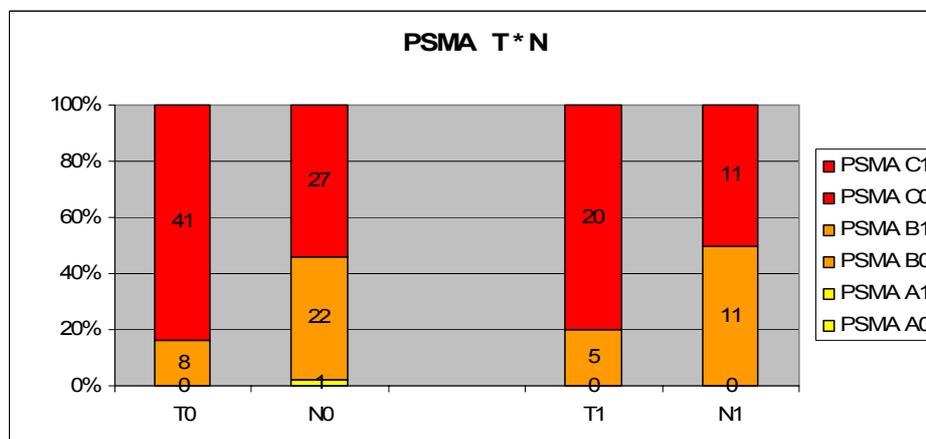


Abbildung 23: Auswertung PSMA: Tumorgewebe - benignes Epithel

Racemase T * N

Crosstab

vorbehan	racema	TYPE	TYPE		Total
			T	N	
0	A	Count	0	47	47
		% within TYPE	,0%	94,0%	47,5%
	B	Count	12	3	15
		% within TYPE	24,5%	6,0%	15,2%
	C	Count	37	0	37
		% within TYPE	75,5%	,0%	37,4%
Total		Count	49	50	99
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%
1	A	Count	0	24	24
		% within TYPE	,0%	96,0%	49,0%
	B	Count	13	1	14
		% within TYPE	54,2%	4,0%	28,6%
	C	Count	11	0	11
		% within TYPE	45,8%	,0%	22,4%
Total		Count	24	25	49
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,000
1	Fisher's Exact Test	,000

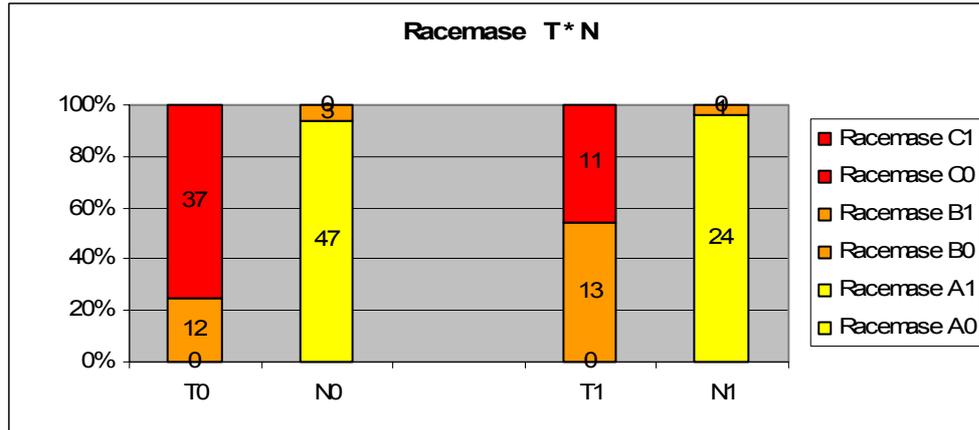


Abbildung 24: Auswertung Racemase: Tumorgewebe - benignes Epithel

Mib-1 T * N

Crosstab

vorbehan	mib_1	TYPE	TYPE		Total
			T	N	
0	A	Count	23	44	67
		% within TYPE	46,0%	88,0%	67,0%
	B	Count	18	6	24
		% within TYPE	36,0%	12,0%	24,0%
	C	Count	9	0	9
		% within TYPE	18,0%	,0%	9,0%
Total		Count	50	50	100
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%
1	A	Count	18	22	40
		% within TYPE	75,0%	91,7%	83,3%
	B	Count	5	2	7
		% within TYPE	20,8%	8,3%	14,6%
	C	Count	1	0	1
		% within TYPE	4,2%	,0%	2,1%
Total		Count	24	24	48
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,000
1	Fisher's Exact Test	,245

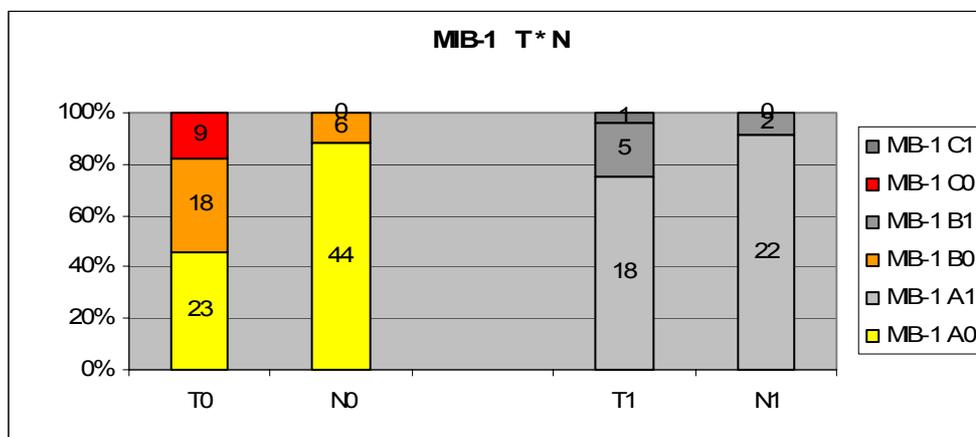


Abbildung 25: Auswertung Mib-1: Tumorgewebe - benignes Epithel

CK 5/6 T * N

Crosstab

vorbehan				TYPE		Total
				T	N	
0	ck	A	Count	50	0	50
			% within TYPE	100,0%	,0%	50,0%
	B	Count	0	50	50	
		% within TYPE	,0%	100,0%	50,0%	
	Total	Count	50	50	100	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	
1	ck	A	Count	25	1	26
			% within TYPE	100,0%	4,0%	52,0%
	B	Count	0	24	24	
		% within TYPE	,0%	96,0%	48,0%	
	Total	Count	25	25	50	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,000
1	Fisher's Exact Test	,000

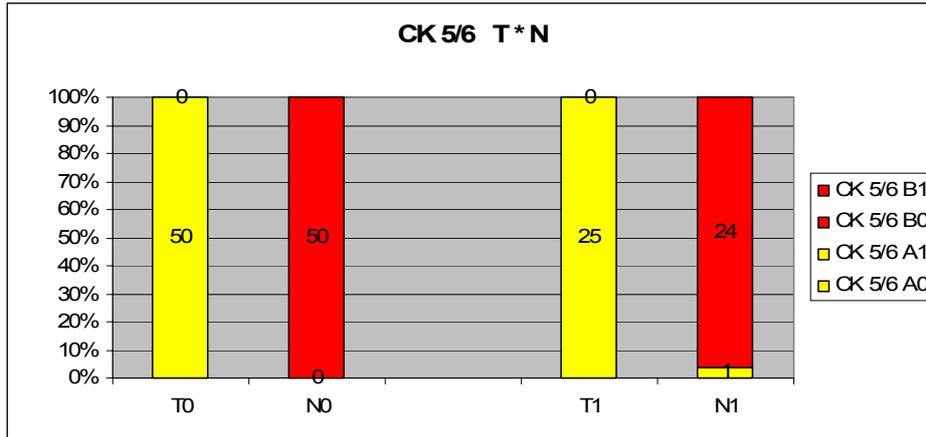


Abbildung 26: Auswertung CK 5/6: Tumorgewebe - benignes Epithel

PI3K T * N

Crosstab

vorbehan				TYPE		Total
				T	N	
0	pi3k	A	Count	10	36	46
			% within TYPE	21,3%	72,0%	47,4%
		B	Count	24	14	38
		% within TYPE	51,1%	28,0%	39,2%	
	C	Count	13	0	13	
		% within TYPE	27,7%	,0%	13,4%	
	Total	Count	47	50	97	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	
	1	pi3k	A	Count	7	19
			% within TYPE	28,0%	79,2%	53,1%
B			Count	14	5	19
		% within TYPE	56,0%	20,8%	38,8%	
C		Count	4	0	4	
		% within TYPE	16,0%	,0%	8,2%	
Total		Count	25	24	49	
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,000
1	Fisher's Exact Test	,001

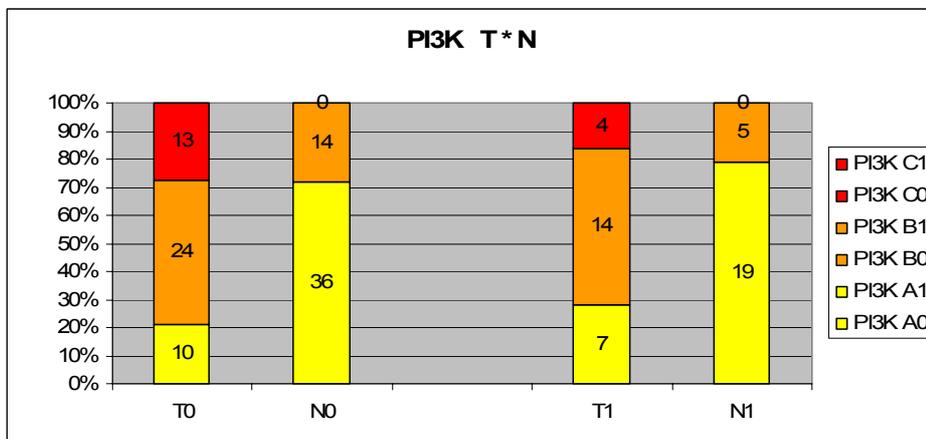


Abbildung 27: Auswertung PI3K: Tumorgewebe - benignes Epithel

IL-8 T * N

Crosstab

vorbehan		TYPE		Total	
				T	N
0	il_8 A	Count	18	4	22
		% within TYPE	36,0%	8,0%	22,0%
	B	Count	27	41	68
		% within TYPE	54,0%	82,0%	68,0%
	C	Count	5	5	10
		% within TYPE	10,0%	10,0%	10,0%
Total		Count	50	50	100
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%
1	il_8 A	Count	12	3	15
		% within TYPE	48,0%	12,5%	30,6%
	B	Count	13	19	32
		% within TYPE	52,0%	79,2%	65,3%
	C	Count	0	2	2
		% within TYPE	,0%	8,3%	4,1%
Total		Count	25	24	49
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

vorbehan	Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test ,003
1	Fisher's Exact Test ,009

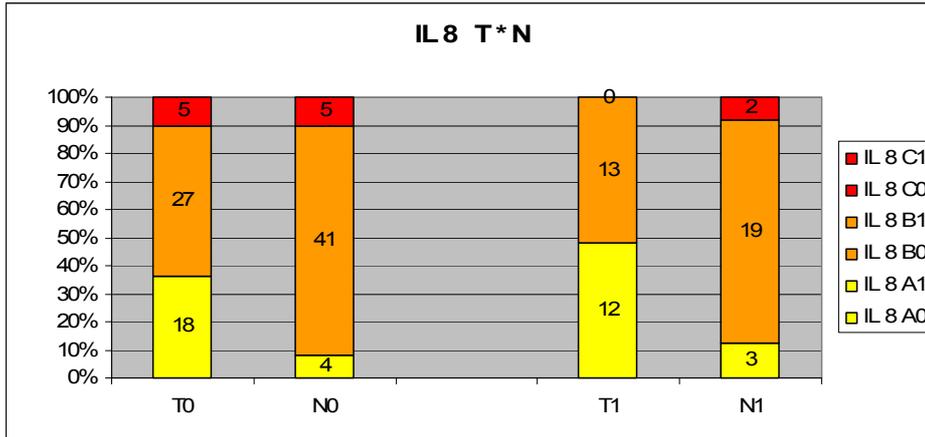


Abbildung 28: Auswertung IL-8: Tumorgewebe - benignes Epithel

Cyclin D1 T * N

Crosstab

vorbehan		TYPE		Total	
				T	N
0	cyd1 A	Count	4	14	18
		% within TYPE	8,2%	28,0%	18,2%
	B	Count	6	15	21
		% within TYPE	12,2%	30,0%	21,2%
	C	Count	39	21	60
		% within TYPE	79,6%	42,0%	60,6%
Total		Count	49	50	99
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%
1	cyd1 A	Count	3	6	9
		% within TYPE	12,5%	25,0%	18,8%
	B	Count	5	10	15
		% within TYPE	20,8%	41,7%	31,3%
	C	Count	16	8	24
		% within TYPE	66,7%	33,3%	50,0%
Total		Count	24	24	48
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

vorbehan	Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test ,001
1	Fisher's Exact Test ,073

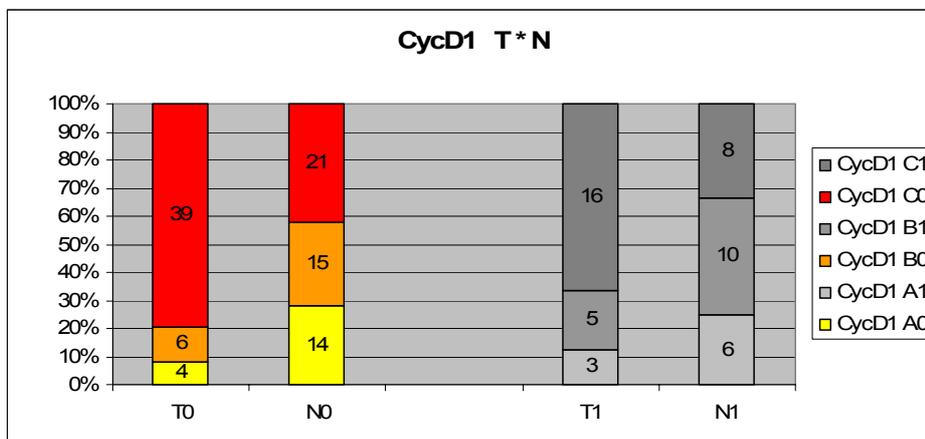


Abbildung 29: Auswertung Cyclin D1: Tumorgewebe - benignes Epithel

Bim-C T * N

Crosstab

vorbehan		TYPE		Total	
				T	N
0	bim_c A	Count	2	2	4
		% within TYPE	4,2%	4,0%	4,1%
	B	Count	23	8	31
		% within TYPE	47,9%	16,0%	31,6%
	C	Count	23	40	63
		% within TYPE	47,9%	80,0%	64,3%
Total		Count	48	50	98
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%
1	bim_c A	Count	2	0	2
		% within TYPE	8,3%	,0%	4,2%
	B	Count	8	3	11
		% within TYPE	33,3%	12,5%	22,9%
	C	Count	14	21	35
		% within TYPE	58,3%	87,5%	72,9%
Total		Count	24	24	48
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,001
1	Fisher's Exact Test	,060

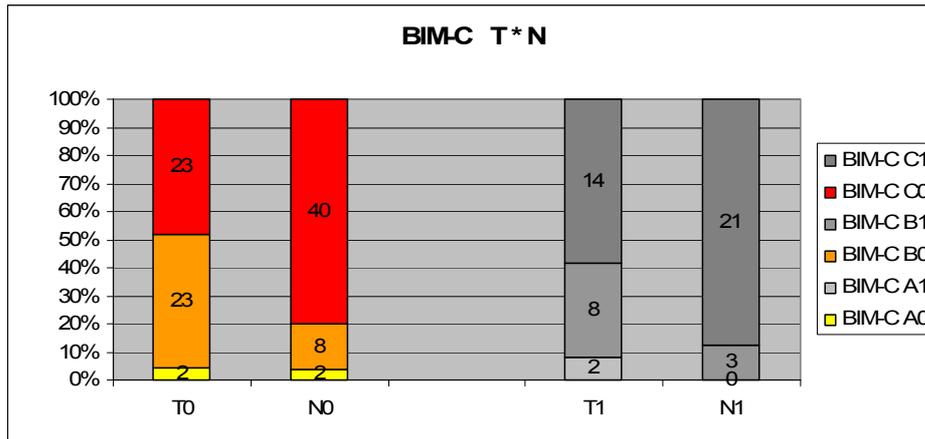


Abbildung 30: Auswertung Bim cytoplasmatische Färbung: Tumorgewebe - benignes Epithel

Bcl-2 T * N

Crosstab

vorbehan		TYPE		Total	
				T	N
0	bcl_2 A	Count	4	2	6
		% within TYPE	8,3%	4,0%	6,1%
	B	Count	32	6	38
		% within TYPE	66,7%	12,0%	38,8%
	C	Count	12	42	54
		% within TYPE	25,0%	84,0%	55,1%
Total		Count	48	50	98
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%
1	bcl_2 A	Count	1	0	1
		% within TYPE	4,0%	,0%	2,0%
	B	Count	20	3	23
		% within TYPE	80,0%	12,0%	46,0%
	C	Count	4	22	26
		% within TYPE	16,0%	88,0%	52,0%
Total		Count	25	25	50
		% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,000
1	Fisher's Exact Test	,000

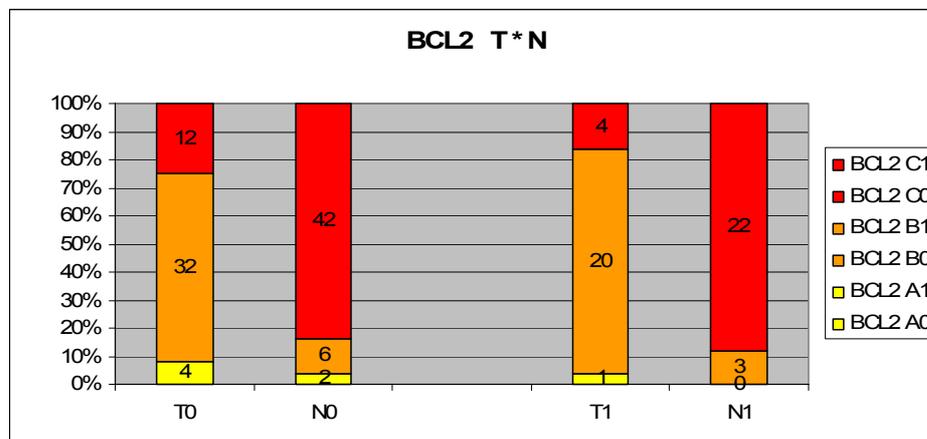


Abbildung 31: Auswertung Bcl-2: Tumorgewebe - benignes Epithel

c-Fos-C T * N

Crosstab

vorbehan	cfos_c	A	Count	TYPE		Total
				T	N	
0	A	Count	26	12	38	
		% within TYPE	54,2%	24,0%	38,8%	
	B	Count	14	18	32	
		% within TYPE	29,2%	36,0%	32,7%	
	C	Count	8	20	28	
		% within TYPE	16,7%	40,0%	28,6%	
Total	Count	48	50	98		
% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%			
1	A	Count	9	5	14	
		% within TYPE	37,5%	20,0%	28,6%	
	B	Count	8	8	16	
		% within TYPE	33,3%	32,0%	32,7%	
	C	Count	7	12	19	
		% within TYPE	29,2%	48,0%	38,8%	
Total	Count	24	25	49		
% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%			

Chi-Square Tests

vorbehan		Asymp. Sig. (2-sided)
0	Pearson Chi-Square	,005
1	Fisher's Exact Test	,302

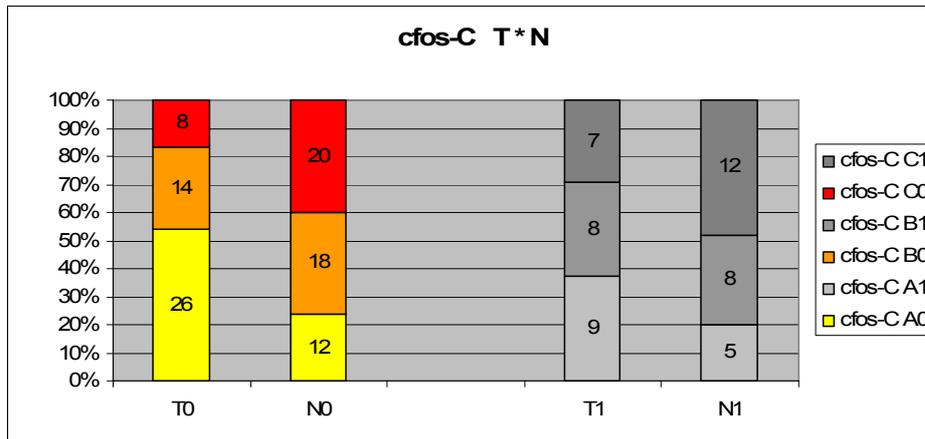


Abbildung 32: Auswertung c-Fos cytoplasmatische Färbung: Tumorgewebe - benignes Epithel

c-Fos-K T * N

Crosstab

vorbehan	cfos_k	A	Count	TYPE		Total
				T	N	
0	A	Count	29	42	71	
		% within TYPE	60,4%	84,0%	72,4%	
	B	Count	14	7	21	
		% within TYPE	29,2%	14,0%	21,4%	
	C	Count	5	1	6	
		% within TYPE	10,4%	2,0%	6,1%	
Total	Count	48	50	98		
% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%			
1	A	Count	16	20	36	
		% within TYPE	66,7%	80,0%	73,5%	
	B	Count	5	4	9	
		% within TYPE	20,8%	16,0%	18,4%	
	C	Count	3	1	4	
		% within TYPE	12,5%	4,0%	8,2%	
Total	Count	24	25	49		
% within TYPE	100,0%	100,0%	100,0%			

Chi-Square Tests

vorbehan		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,026
1	Fisher's Exact Test	,511

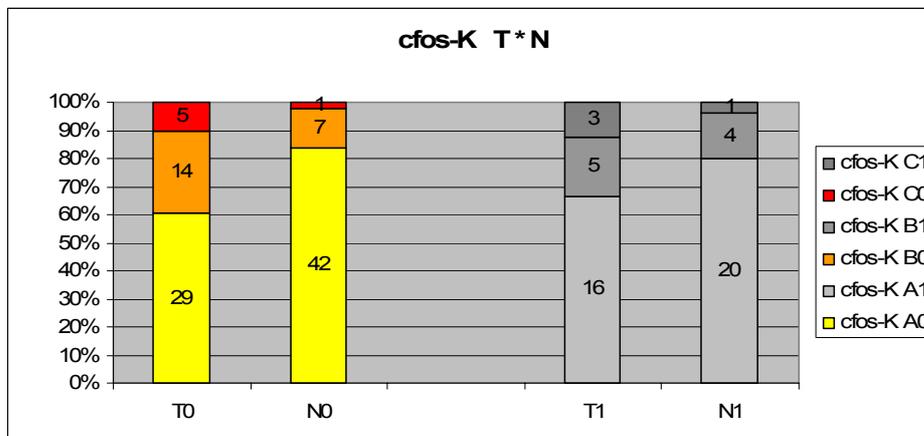


Abbildung 33: Auswertung c-Fos nukleäre Färbung: Tumorgewebe - benignes Epithel

4. Untersuchung der Assoziation zwischen zwei Merkmalen in Tumorgewebe bzw. benignen Epithelien in der vorbehandelten und der nicht vorbehandelten Gruppe

IL-6_T * STAT 3_T

Crosstab

Vorbehandlung			STAT 3_T			Total
			A	B	C	
0	IL 6_T B	Count	6	3	6	15
		% within STAT 3_T	75,0%	12,0%	46,2%	32,6%
	C	Count	2	22	7	31
		% within STAT 3_T	25,0%	88,0%	53,8%	67,4%
	Total	Count	8	25	13	46
		% within STAT 3_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	IL 6_T B	Count	1	7	4	12
		% within STAT 3_T	50,0%	46,7%	50,0%	48,0%
	C	Count	1	8	4	13
		% within STAT 3_T	50,0%	53,3%	50,0%	52,0%
	Total	Count	2	15	8	25
		% within STAT 3_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,001
1	Fisher's Exact Test	1,000

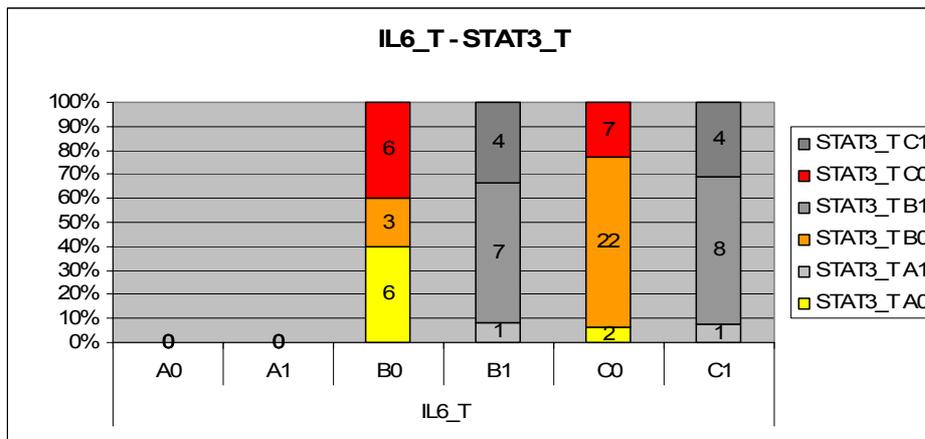


Abbildung 34: Auswertung IL-6 - STAT3 Tumorgewebe

IL-6_N * STAT 3_N

Crosstab

Vorbehandlung				STAT 3_N			Total
				A	B	C	
0	IL 6_N	B	Count	7	14	3	24
			% within STAT 3_N	77,8%	56,0%	20,0%	49,0%
	C	Count	2	11	12	25	
		% within STAT 3_N	22,2%	44,0%	80,0%	51,0%	
	Total	Count	9	25	15	49	
		% within STAT 3_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
1	IL 6_N	B	Count	2	2	3	7
			% within STAT 3_N	100,0%	28,6%	20,0%	29,2%
	C	Count	0	5	12	17	
		% within STAT 3_N	,0%	71,4%	80,0%	70,8%	
	Total	Count	2	7	15	24	
		% within STAT 3_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,015
1	Fisher's Exact Test	,124

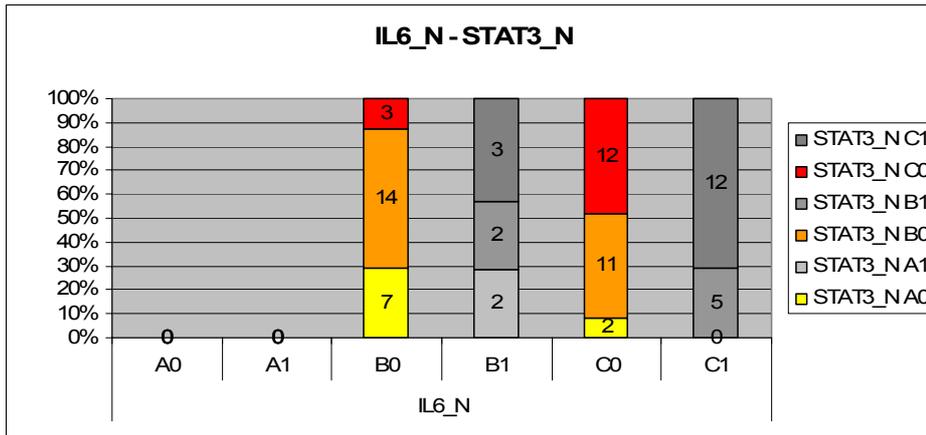


Abbildung 35: Auswertung IL-6 - STAT3 benignes Epithel

IL-6_T * PI3K_T

Crosstab

Vorbehandlung				PI3K_T			Total
				A	B	C	
0	IL 6_T	B	Count	4	11	0	15
			% within PI3K_T	44,4%	45,8%	,0%	32,6%
	C	Count	5	13	13	31	
		% within PI3K_T	55,6%	54,2%	100,0%	67,4%	
	Total	Count	9	24	13	46	
		% within PI3K_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
1	IL 6_T	B	Count	5	6	1	12
			% within PI3K_T	71,4%	42,9%	25,0%	48,0%
	C	Count	2	8	3	13	
		% within PI3K_T	28,6%	57,1%	75,0%	52,0%	
	Total	Count	7	14	4	25	
		% within PI3K_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,007
1	Fisher's Exact Test	,304

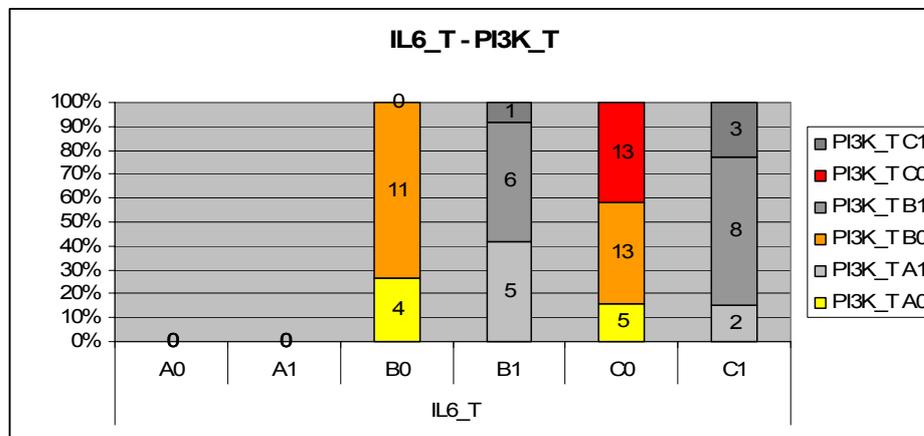


Abbildung 36: Auswertung IL-6 - PI3K Tumorgewebe

IL-6_T * Cyclin D1_T

Crosstab

Vorbehandlung				CycD1_T			Total
				A	B	C	
0	IL_6_T	B	Count	1	4	10	15
			% within CycD1_T	50,0%	80,0%	25,6%	32,6%
	C	Count	1	1	29	31	
		% within CycD1_T	50,0%	20,0%	74,4%	67,4%	
	Total	Count	2	5	39	46	
		% within CycD1_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
1	IL_6_T	B	Count	1	3	7	11
			% within CycD1_T	33,3%	60,0%	43,8%	45,8%
	C	Count	2	2	9	13	
		% within CycD1_T	66,7%	40,0%	56,3%	54,2%	
	Total	Count	3	5	16	24	
		% within CycD1_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,029
1	Fisher's Exact Test	,845

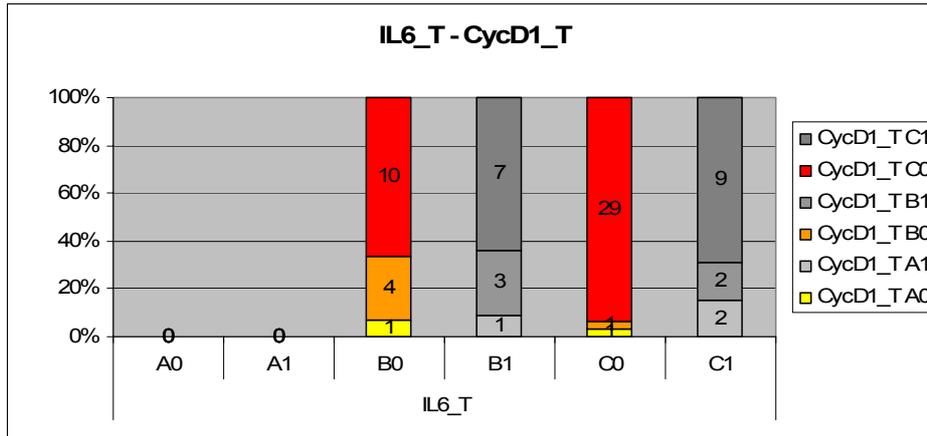


Abbildung 37: Auswertung IL-6 - Cyclin D1 Tumorgewebe

IL-6_T * Bcl2_T

Crosstab

Vorbehandlung				BCL 2_T			Total
				A	B	C	
0	IL_6_T	B	Count	3	12	1	16
			% within BCL 2_T	75,0%	38,7%	8,3%	34,0%
	C	Count	1	19	11	31	
		% within BCL 2_T	25,0%	61,3%	91,7%	66,0%	
	Total	Count	4	31	12	47	
		% within BCL 2_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
1	IL_6_T	B	Count	0	10	2	12
			% within BCL 2_T	,0%	50,0%	50,0%	48,0%
	C	Count	1	10	2	13	
		% within BCL 2_T	100,0%	50,0%	50,0%	52,0%	
	Total	Count	1	20	4	25	
		% within BCL 2_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,030
1	Fisher's Exact Test	1,000

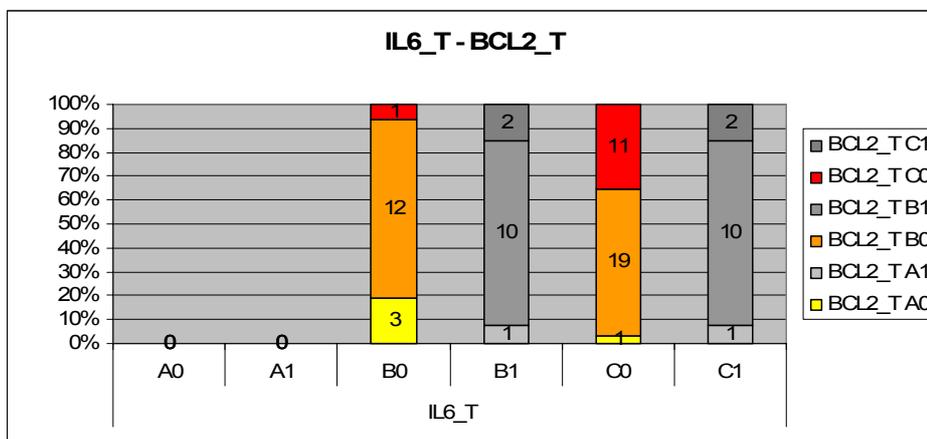


Abbildung 38: Auswertung IL-6 - Bcl-2 Tumorgewebe

IL-6_N * Bcl-2_N

Crosstab

Vorbehandlung				BCL 2_N			Total	
				A	B	C		
0	IL 6_N	B	Count	2	5	17	24	
			% within BCL 2_N	100,0%	83,3%	40,5%	48,0%	
	C	Count	0	1	25	26		
		% within BCL 2_N	,0%	16,7%	59,5%	52,0%		
	Total			Count	2	6	42	50
				% within BCL 2_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	IL 6_N	B	Count		1	7	8	
			% within BCL 2_N		33,3%	31,8%	32,0%	
	C	Count		2	15	17		
		% within BCL 2_N		66,7%	68,2%	68,0%		
	Total			Count		3	22	25
				% within BCL 2_N	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,036
1	Fisher's Exact Test	1,000

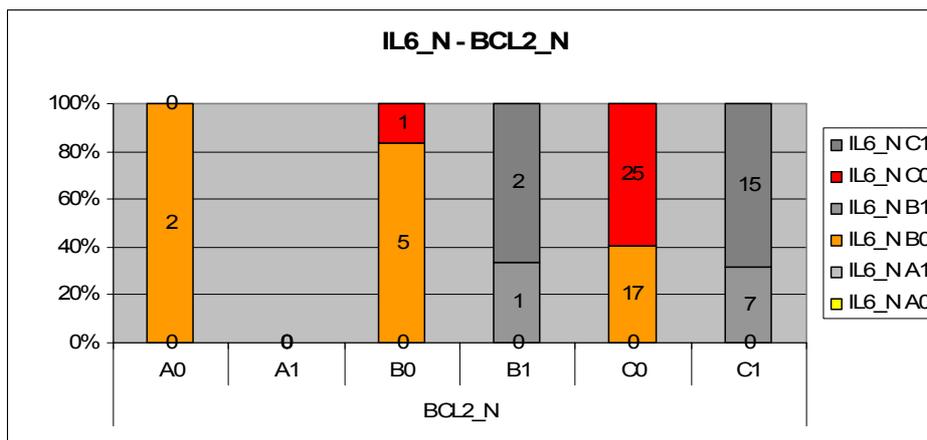


Abbildung 39: Auswertung IL-6 - Bcl-2 benignes Epithel

IL-8_N * Cyclin D1_N

Crosstab

Vorbehandlung				CycD1_N			Total
				A	B	C	
0	IL 8_N	A	Count	0	2	2	4
			% within CycD1_N	,0%	13,3%	9,5%	8,0%
	B	Count	14	13	14	41	
		% within CycD1_N	100,0%	86,7%	66,7%	82,0%	
	C	Count	0	0	5	5	
		% within CycD1_N	,0%	,0%	23,8%	10,0%	
Total			Count	14	15	21	50
			% within CycD1_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	IL 8_N	A	Count	1	1	1	3
			% within CycD1_N	16,7%	10,0%	12,5%	12,5%
	B	Count	4	9	6	19	
		% within CycD1_N	66,7%	90,0%	75,0%	79,2%	
	C	Count	1	0	1	2	
		% within CycD1_N	16,7%	,0%	12,5%	8,3%	
Total			Count	6	10	8	24
			% within CycD1_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,035
1	Fisher's Exact Test	,709

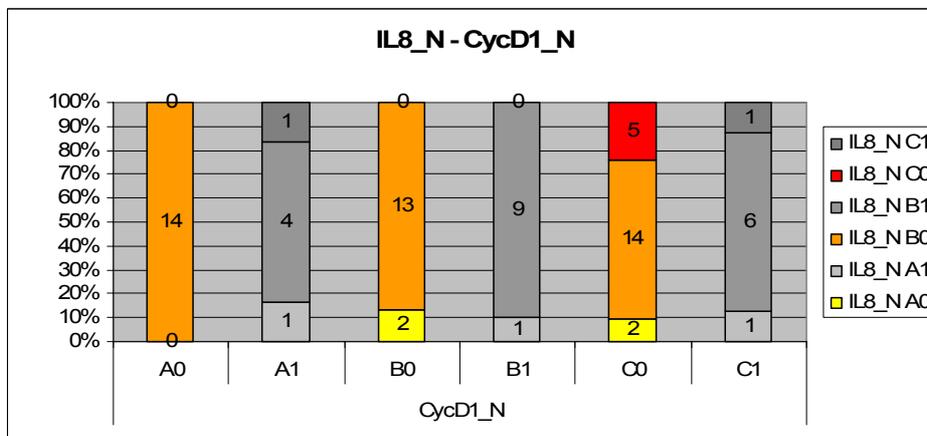


Abbildung 40: Auswertung IL-8 - Cyclin D1 benignes Epithel

CXCR 1_N * CXCR 2_N

Crosstab

Vorbehandlung			CXCR 2_N			Total	
			A	B	C		
0	CXCR 1_N	A	Count	1	1	0	2
			% within CXCR 2_N	20,0%	2,9%	,0%	4,0%
	B	Count	2	20	1	23	
		% within CXCR 2_N	40,0%	57,1%	10,0%	46,0%	
	C	Count	2	14	9	25	
		% within CXCR 2_N	40,0%	40,0%	90,0%	50,0%	
Total	Count	5	35	10	50		
	% within CXCR 2_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%		
1	CXCR 1_N	B	Count	2	9	2	13
			% within CXCR 2_N	66,7%	56,3%	33,3%	52,0%
	C	Count	1	7	4	12	
		% within CXCR 2_N	33,3%	43,8%	66,7%	48,0%	
	Total	Count	3	16	6	25	
		% within CXCR 2_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,016
1	Fisher's Exact Test	,608

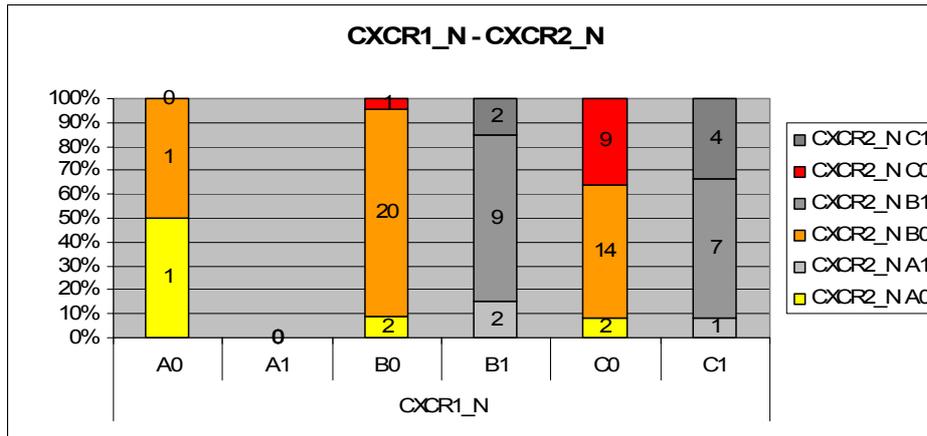


Abbildung 41: Auswertung CXCR1 - CXCR2 benignes Epithel

CXCR 1_T * PI3K_T

Crosstab

Vorbehandlung			PI3K T			Total	
			A	B	C		
0	CXCR 1_T	A	Count	0	1	0	1
			% within PI3K_T	,0%	4,2%	,0%	2,1%
	B	Count	9	15	2	26	
		% within PI3K_T	90,0%	62,5%	15,4%	55,3%	
	C	Count	1	8	11	20	
		% within PI3K_T	10,0%	33,3%	84,6%	42,6%	
Total	Count	10	24	13	47		
	% within PI3K_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%		
1	CXCR 1_T	B	Count	3	7	2	12
			% within PI3K_T	50,0%	50,0%	50,0%	50,0%
	C	Count	3	7	2	12	
		% within PI3K_T	50,0%	50,0%	50,0%	50,0%	
	Total	Count	6	14	4	24	
		% within PI3K_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,001
1	Fisher's Exact Test	1,000

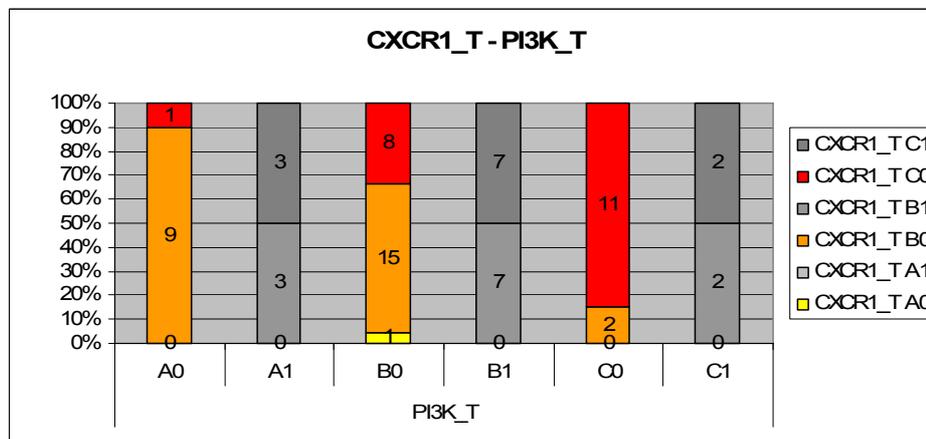


Abbildung 42: Auswertung CXCR1 - PI3K Tumorgewebe

CXCR 2_T * STAT 3_T

Crosstab

Vorbehandlung				STAT 3_T			Total
				A	B	C	
0	CXCR 2_T	A	Count	2	1	4	7
			% within STAT 3_T	22,2%	4,0%	33,3%	15,2%
	B	Count	7	20	4	31	
		% within STAT 3_T	77,8%	80,0%	33,3%	67,4%	
	C	Count	0	4	4	8	
		% within STAT 3_T	,0%	16,0%	33,3%	17,4%	
Total	Count	9	25	12	46		
% within STAT 3_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%			
1	CXCR 2_T	A	Count	0	3	3	6
			% within STAT 3_T	,0%	20,0%	37,5%	24,0%
	B	Count	1	10	4	15	
		% within STAT 3_T	50,0%	66,7%	50,0%	60,0%	
	C	Count	1	2	1	4	
		% within STAT 3_T	50,0%	13,3%	12,5%	16,0%	
Total	Count	2	15	8	25		
% within STAT 3_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%			

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,012
1	Fisher's Exact Test	,600

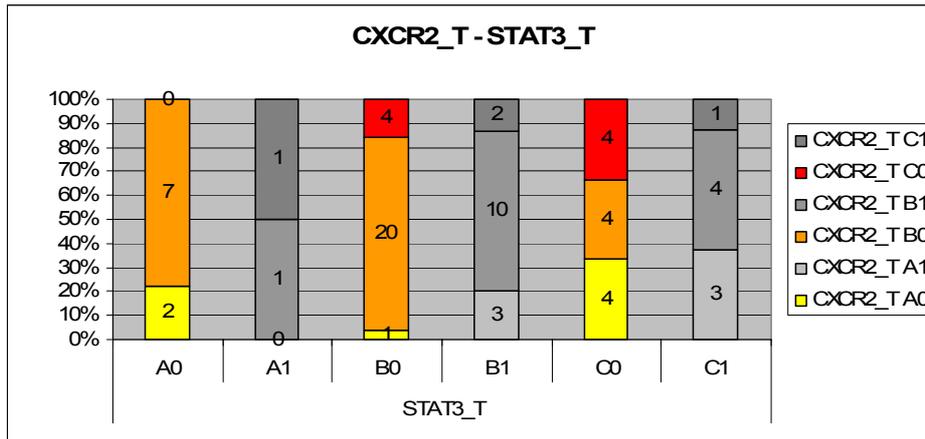


Abbildung 43: Auswertung CXCR2 - STAT3 Tumorgewebe

Cyclin D1_T * Mib-1_T

Crosstab

Vorbehandlung				MIB-1_T			Total
				A	B	C	
0	CycD1_T	A	Count	4	0	0	4
			% within MIB-1_T	18,2%	,0%	,0%	8,2%
	B	Count	5	1	0	6	
		% within MIB-1_T	22,7%	5,6%	,0%	12,2%	
	C	Count	13	17	9	39	
		% within MIB-1_T	59,1%	94,4%	100,0%	79,6%	
Total	Count	22	18	9	49		
% within MIB-1_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%			
1	CycD1_T	A	Count	2	1	0	3
			% within MIB-1_T	11,8%	20,0%	,0%	13,0%
	B	Count	3	1	0	4	
		% within MIB-1_T	17,6%	20,0%	,0%	17,4%	
	C	Count	12	3	1	16	
		% within MIB-1_T	70,6%	60,0%	100,0%	69,6%	
Total	Count	17	5	1	23		
% within MIB-1_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%			

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,037
1	Fisher's Exact Test	1,000

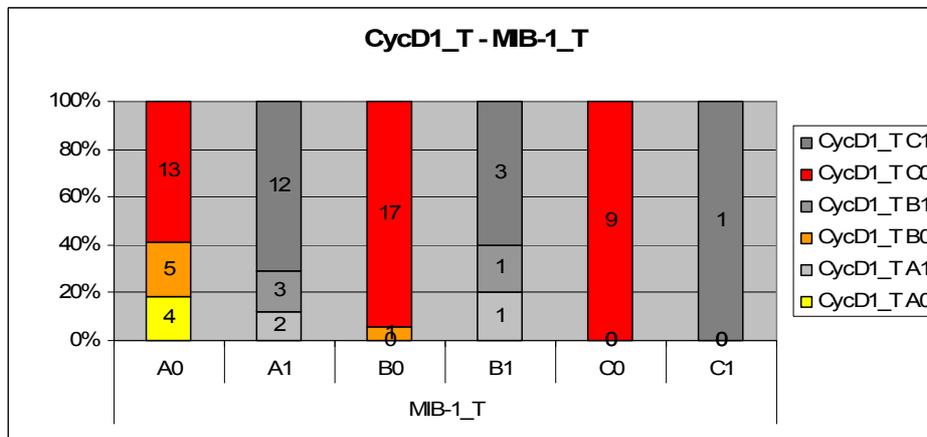


Abbildung 44: Auswertung Cyclin D1 - Mib-1 Tumorgewebe

Cyclin D1_T * PI3K_T

Crosstab

Vorbehandlung		PI3K_T			Total	
		A	B	C		
0	CycD1_T A	Count	1	1	0	2
		% within PI3K_T	10,0%	4,2%	,0%	4,3%
	B	Count	2	3	1	6
		% within PI3K_T	20,0%	12,5%	7,7%	12,8%
	C	Count	7	20	12	39
		% within PI3K_T	70,0%	83,3%	92,3%	83,0%
Total		Count	10	24	13	47
		% within PI3K_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	CycD1_T A	Count	1	2	0	3
		% within PI3K_T	16,7%	14,3%	,0%	12,5%
	B	Count	4	1	0	5
		% within PI3K_T	66,7%	7,1%	,0%	20,8%
	C	Count	1	11	4	16
		% within PI3K_T	16,7%	78,6%	100,0%	66,7%
Total		Count	6	14	4	24
		% within PI3K_T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,677
1	Fisher's Exact Test	,018

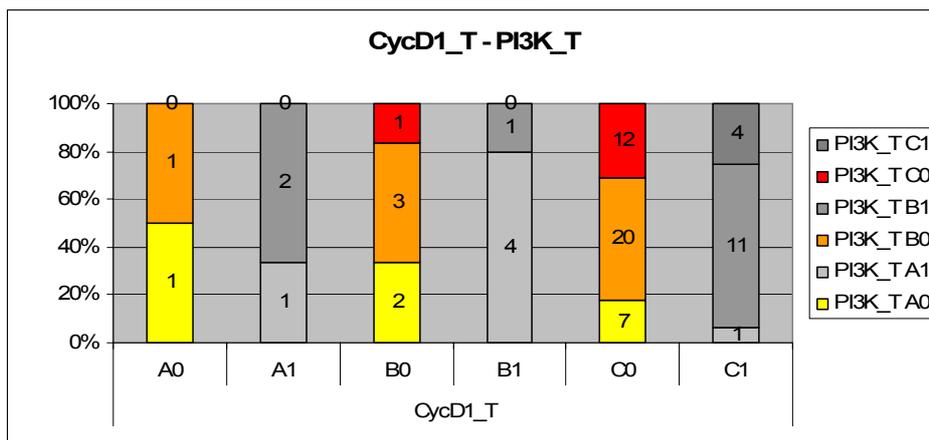


Abbildung 45: Auswertung Cyclin D1 - PI3K Tumorgewebe

Cyclin D1_N * PI3K_N

Crosstab

Vorbehandlung		PI3K_N		Total	
		A	B		
0	CycD1_N A	Count	11	3	14
		% within PI3K_N	30,6%	21,4%	28,0%
	B	Count	12	3	15
		% within PI3K_N	33,3%	21,4%	30,0%
	C	Count	13	8	21
		% within PI3K_N	36,1%	57,1%	42,0%
Total		Count	36	14	50
		% within PI3K_N	100,0%	100,0%	100,0%
1	CycD1_N A	Count	6	0	6
		% within PI3K_N	33,3%	,0%	26,1%
	B	Count	4	5	9
		% within PI3K_N	22,2%	100,0%	39,1%
	C	Count	8	0	8
		% within PI3K_N	44,4%	,0%	34,8%
Total		Count	18	5	23
		% within PI3K_N	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,485
1	Fisher's Exact Test	,009

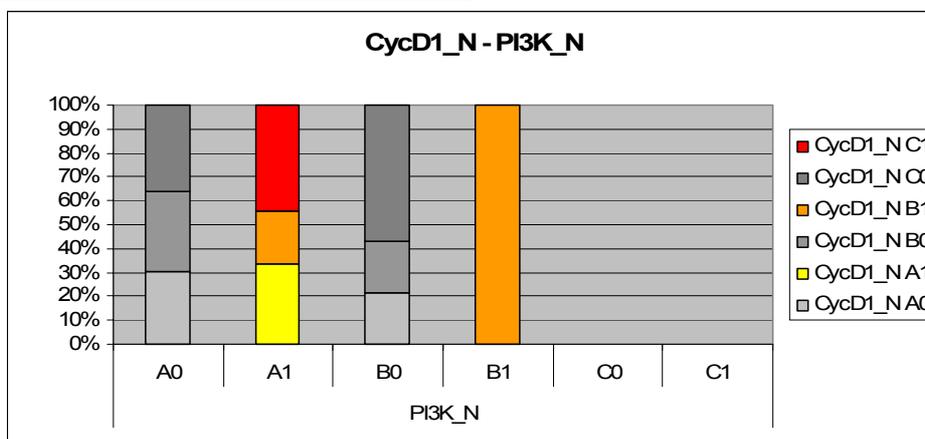


Abbildung 46: Auswertung Cyclin D1 - PI3K benignes Epithel

Cyclin D1_N * Bcl-2_N

Crosstab

Vorbehandlung		BCL 2_N			Total	
		A	B	C		
0	CycD1_N A	Count	1	3	10	14
		% within BCL 2_N	50,0%	50,0%	23,8%	28,0%
	B	Count	1	3	11	15
		% within BCL 2_N	50,0%	50,0%	26,2%	30,0%
	C	Count	0	0	21	21
		% within BCL 2_N	,0%	,0%	50,0%	42,0%
Total		Count	2	6	42	50
		% within BCL 2_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	CycD1_N A	Count	0	6	6	6
		% within BCL 2_N		,0%	27,3%	25,0%
	B	Count		1	9	10
		% within BCL 2_N		50,0%	40,9%	41,7%
	C	Count		1	7	8
		% within BCL 2_N		50,0%	31,8%	33,3%
Total		Count	2	22	24	24
		% within BCL 2_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,024
1	Fisher's Exact Test	1,000

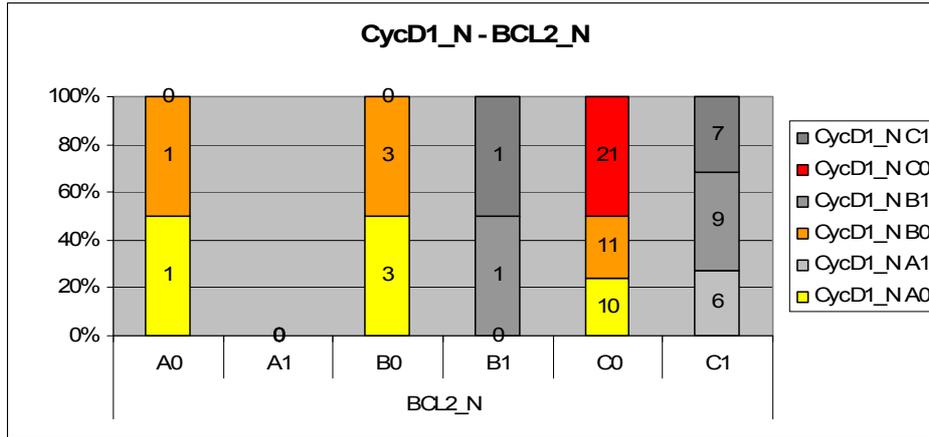


Abbildung 47: Auswertung Cyclin D1 - Bcl-2 benignes Epithel

Bcl-2_N * Bim-C_N

Crosstab

Vorbehandlung		BIM-C_N			Total	
		A	B	C		
0	BCL 2_N A	Count	1	1	0	2
		% within BIM-C_N	50,0%	12,5%	,0%	4,0%
	B	Count	0	1	5	6
		% within BIM-C_N	,0%	12,5%	12,5%	12,0%
	C	Count	1	6	35	42
		% within BIM-C_N	50,0%	75,0%	87,5%	84,0%
Total		Count	2	8	40	50
		% within BIM-C_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	BCL 2_N B	Count		2	1	3
		% within BIM-C_N		66,7%	4,8%	12,5%
	C	Count		1	20	21
		% within BIM-C_N		33,3%	95,2%	87,5%
Total		Count	3	21	24	24
		% within BIM-C_N	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,054
1	Fisher's Exact Test	,032

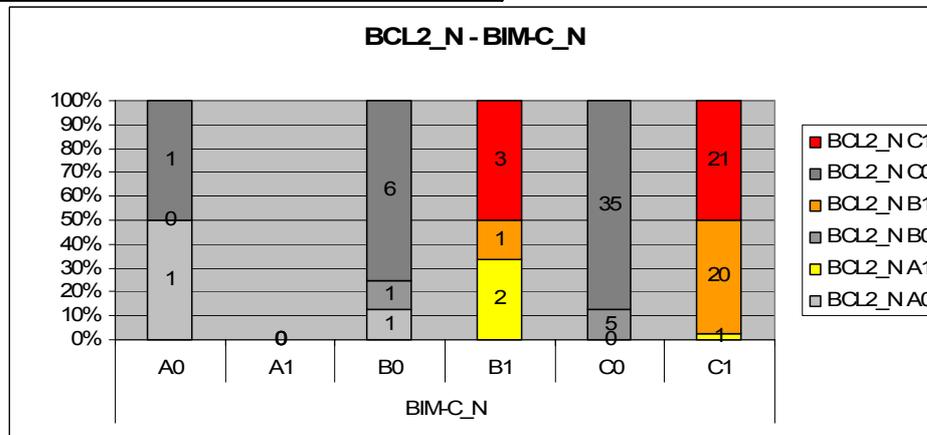


Abbildung 48: Auswertung Bcl-2 - Bim benignes Epithel

5. Untersuchung der Assoziation bei Tumorgewebe bzw. benignen Epithelien zwischen den Biopsien und den Prostatektomiepräparaten in der vorbehandelten Gruppe

Frequencies

			N
STAT 3-N - STAT 3-N	Negative Differences	a,b,c,d	15
	Positive Differences	e,f,g,h	1
	Ties	i,j,k,l	7
	Total		23
AR-N - AR-N	Negative Differences	a,b,c,d	2
	Positive Differences	e,f,g,h	8
	Ties	i,j,k,l	14
	Total		24
MAPK-N - MAPK-N	Negative Differences	a,b,c,d	11
	Positive Differences	e,f,g,h	3
	Ties	i,j,k,l	10
	Total		24
BIM-K-T - BIM-K-T	Negative Differences	a,b,c,d	5
	Positive Differences	e,f,g,h	9
	Ties	i,j,k,l	9
	Total		23

- a. STAT 3-N < STAT 3-N
- b. AR-N < AR-N
- c. MAPK-N < MAPK-N
- d. BIM-K-T < BIM-K-T
- e. STAT 3-N > STAT 3-N
- f. AR-N > AR-N
- g. MAPK-N > MAPK-N
- h. BIM-K-T > BIM-K-T
- i. STAT 3-N = STAT 3-N
- j. AR-N = AR-N
- k. MAPK-N = MAPK-N
- l. BIM-K-T = BIM-K-T

Test Statistics^b

	STAT 3-N - STAT 3-N	AR-N - AR-N	MAPK-N - MAPK-N	BIM-K-T - BIM-K-T
Exact Sig. (2-tailed)	,001 ^a	,109 ^a	,057 ^a	,424 ^a

- a. Binomial distribution used.
- b. Sign Test

Abbildung 49: Auswertung Unterschiede Biopsie – Prostatektomiepräparat bei vorbehandelten Patienten

6. Untersuchung der Assoziation zwischen klinischen Daten und Proteinexpressionen

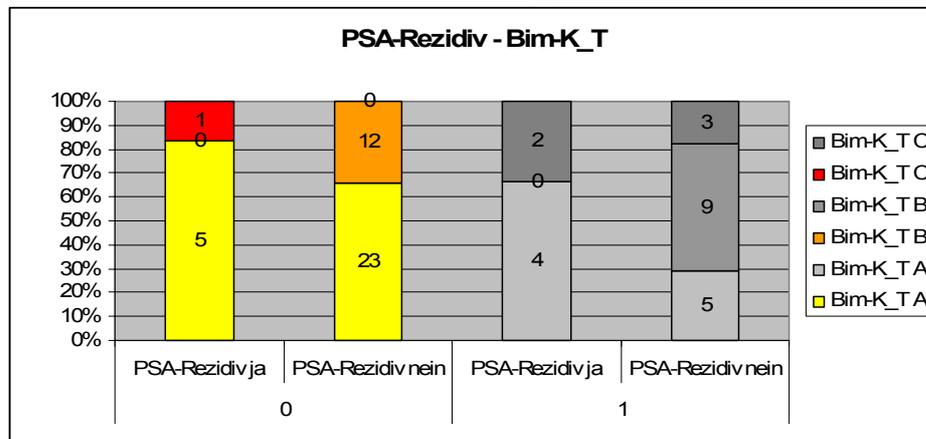
PSA-Rezidiv - Bim-K_T

Crosstab

ergebnis	PSA-Rezidiv		BIM-K-T			Total
			A	B	C	
0	0	Count	23	12	0	35
		% within BIM-K-T	82,1%	100,0%	,0%	85,4%
	1	Count	5	0	1	6
		% within BIM-K-T	17,9%	,0%	100,0%	14,6%
	Total		Count	28	12	1
		% within BIM-K-T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
1	0	Count	5	9	3	17
		% within BIM-K-T	55,6%	100,0%	60,0%	73,9%
	1	Count	4	0	2	6
		% within BIM-K-T	44,4%	,0%	40,0%	26,1%
	Total		Count	9	9	5
		% within BIM-K-T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Vorbehandlung		Exact Sig. (2-sided)
0	Fisher's Exact Test	,049
1	Fisher's Exact Test	,086



Crosstab

PSA-Rezidiv			BIM-K-T			Total
			A	B	C	
0	Count	28	21	3	52	
	% within BIM-K-T	75,7%	100,0%	50,0%	81,3%	
1	Count	9	0	3	12	
	% within BIM-K-T	24,3%	,0%	50,0%	18,8%	
Total		Count	37	21	6	64
		% within BIM-K-T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)
Fisher's Exact Test	,005

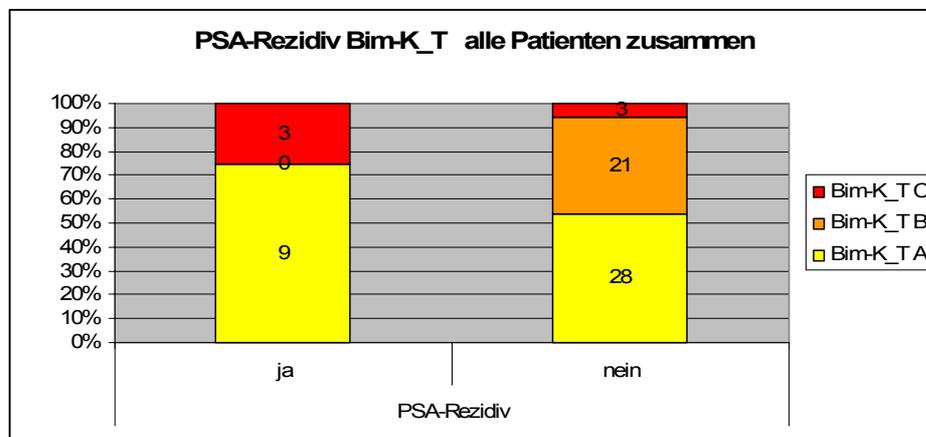


Abbildung 50: Auswertung PSA-Rezidiv - Bim im Tumorgewebe

G Diskussion

Die Erläuterung und Diskussion der im vorherigen Teil graphisch und tabellarisch dargestellten Ergebnisse erfolgt der Übersichtlichkeit halber in derselben Reihenfolge.

Zur besseren Lesbarkeit wird die Gruppe der nicht vorbehandelten Patienten mit „Gruppe 0“ und die der neoadjuvant therapierten mit „Gruppe 1“ abgekürzt.

Das Ziel dieser retrospektiven Untersuchung war es, die ersten Schritte der Prostatakarzinomzellen in Richtung der Androgenunabhängigkeit nachzuvollziehen. Es wird hier deshalb nicht vorausgesetzt, dass die Zellen der „Gruppe 1“ schon androgenunabhängig sind. Vielmehr geht es darum, die Reaktion primär androgenabhängiger Prostatakarzinomzellen auf den Entzug der Androgene nachzuweisen und hieraus Schlüsse für die weitere Entwicklung hin zum hormonrefraktären Prostatakarzinom zu ziehen.

1. Überblick über die Wege in die Androgenunabhängigkeit

Die verschiedenen Wege in die Androgenunabhängigkeit, beruhend auf den Veröffentlichungen von Feldman *et al.* 2001 [77], ergänzt durch Pienta *et al.* 2006 [238], wurden bereits in der Einleitung unter dem Punkt „Therapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms“ erwähnt. Zur Übersicht erfolgt hier nochmals eine stichpunktartige Zusammenfassung der einzelnen Mechanismen.

- Der hypersensitive Pfad: Amplifikation des Androgenrezeptors, erhöhte Sensitivität des Androgenrezeptors, erhöhte Androgenspiegel
- Der wahllose Pfad: Mutationen des Androgenrezeptors und dessen Aktivierung durch andere Steroide
- Der atypische Pfad: Aktivierung des Androgenrezeptors durch nichtsteroidale Liganden, Wachstumsfaktoren oder Zytokine
- Der Pfad der Korepressoren und Koaktivatoren: Beeinflussung der DNA-Bindfähigkeit des Androgenrezeptors
- Der Umgehungspfad: Überleben der Prostatakarzinomzellen unabhängig vom Androgenrezeptor durch antiapoptotische Signalwege
- Pfad der Tumorstammzellen: primär androgenunabhängige Tumorstammzellen

Aus diesen verschiedenen Pfaden wurden die folgenden untersucht:

- Der hypersensitive Pfad: Expression des Androgenrezeptors
- Der atypische Pfad: Aktivierung durch IL-6 und IL-8, Signalkaskaden über MAPK, STAT3, PI3K
- Der Pfad der Korepressoren und Koaktivatoren: c-Fos
- Der Umgehungspfad: Expression der Proteine Bcl-2, Bim, Cyclin D1

Die Gründe, sich auf diese Wege zu konzentrieren, waren einerseits die große Anzahl der beschriebenen Androgenrezeptormutationen (wahlloser Pfad) und andererseits das Problem, Tumorstammzellen immunhistochemisch zu identifizieren (Pfad der Tumorstammzellen).

Das Zusammenspiel der untersuchten Proteine wird im hier gezeigten Schaubild dargestellt. „Gruppe 0“ stellt die Situation im nicht mit Androgenablation vorbehandelten Tumorgewebe dar, „Gruppe 1“ die Situation im vorbehandelten Tumorgewebe, in dem kein DHT mehr zur Verfügung steht. Die verschiedenen Signalkaskaden können auch bei Vorhandensein von Androgenen aktiviert sein.

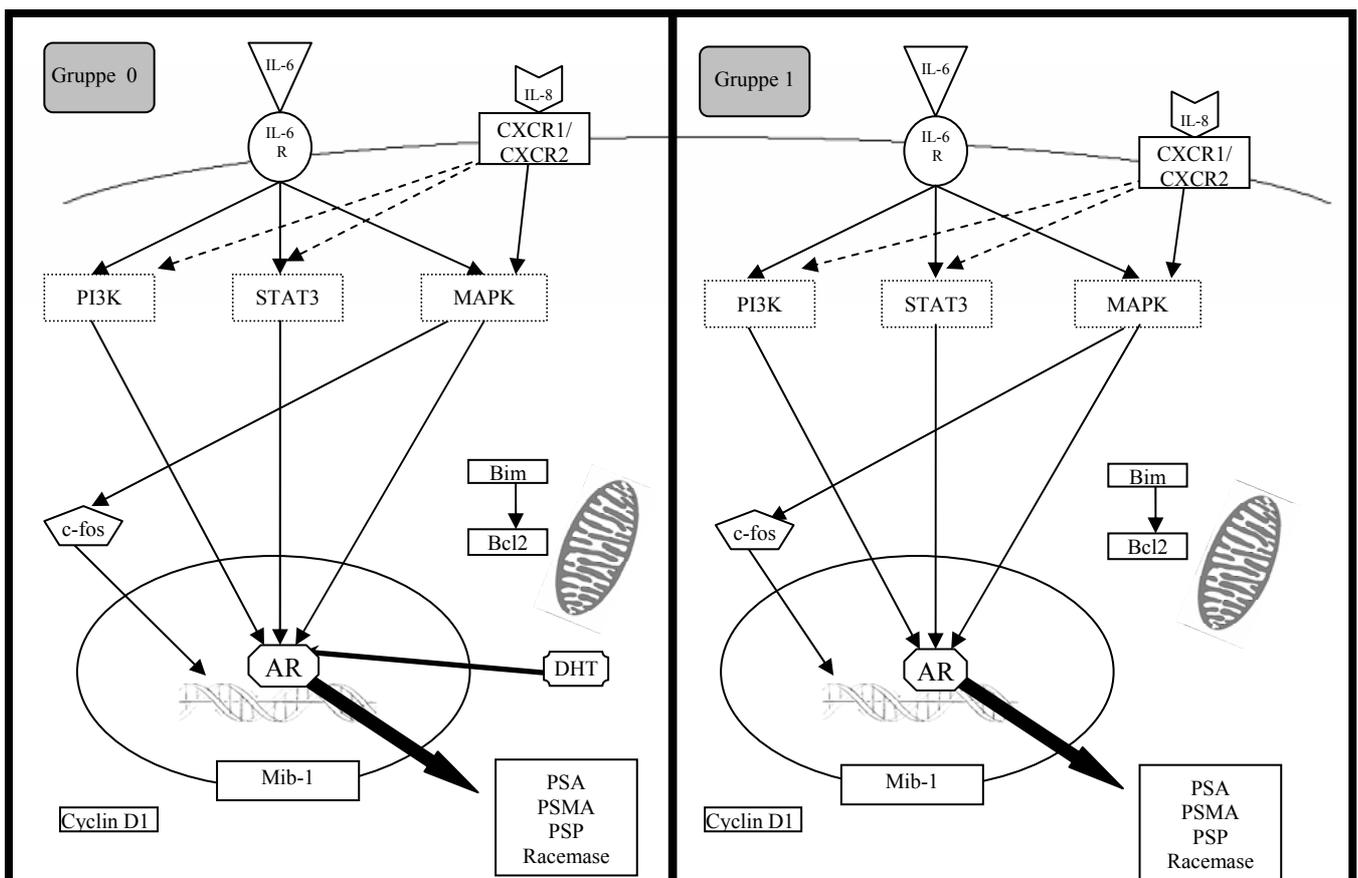


Abbildung 51: Darstellung der untersuchten Proteine in ihrer Funktion in den verschiedenen Signalkaskaden

2. Schlüsselproteine zur Typisierung von Prostatadrüsenepithelien und dessen Dignitätsbestimmung

Unter diesem Begriff werden die Proteine PSA, PSP, PSMA, Racemase, CK 5/6 und Mib-1 zusammengefasst.

Bei den Proteinen PSA, PSP und Racemase konnten signifikante Unterschiede zwischen „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ gezeigt werden. Des Weiteren zeigten sich überzufällige Unterschiede in der Proteinexpression zwischen Tumorzellen und benignen Epithelien in „Gruppe 0“, teils auch in „Gruppe 1“.

Die Expression von PSA und PSP im benignen Epithel sowie der Racemase im Tumorgewebe war in „Gruppe 1“ statistisch signifikant geringer als in „Gruppe 0“ (PSA: starke Färbung 84,0% bzw. 45,8%; PSP: starke Färbung 86,0% im Vergleich zu 44,0%; Racemase 75,5% versus 45,8%). Auch Bostwick *et al.* konnten beobachten, dass die PSA- und PSP-Expression im Tumorgewebe sich unter Androgenentzug ändert [30].

Diese Ergebnisse können als das morphologische Korrelat der klinisch zu beobachtenden Veränderungen eines Abfalls des PSA-Serumspiegels sowie einer Verkleinerung der Prostata gedeutet werden. Diese dienen der klinischen Beurteilung des Erfolgs einer androgenablativen neoadjuvanten Therapie und werden als Marker für das Ansprechen des Karzinoms auf diese Therapie angesehen [97].

Des Weiteren zeigte sich, dass der Anteil der starken Expression von PSA und PSP in den benignen Epithelien von „Gruppe 0“ höher war als in den Tumorzellen (PSA: 55,1% bzw. 84,0%; PSP: 28,6% versus 86,0%). In „Gruppe 1“ war dieser Unterschied nicht mehr nachzuweisen.

Auch diese Ergebnisse finden sich bei anderen Arbeitsgruppen [178] [236].

Der Abfall der Racemaseexpression im Tumorgewebe nach Androgenbehandlung wird in anderen Untersuchungen bestätigt [298], teilweise findet sich allerdings nur in einem Teil der vorbehandelten Tumoren ein Rückgang [299], was die Heterogenität des Prostatakarzinoms verdeutlicht.

Bei der Suche nach Unterschieden zwischen Tumorzellen und benignen Zellen konnte gezeigt werden, dass die Racemase fast nur von Tumorzellen exprimiert wird. In benignen Epithelien fand sich nirgends eine starke Expression.

Auch PSMA wurde in „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ stärker von den Tumorzellen als von den benignen Epithelien exprimiert („Gruppe 0“: starke Expression in 83,7% versus 54%; „Gruppe 1“: starke Expression in 80,0% im Vergleich zu 50,0%). Die Androgenablation schien keinen Einfluss auf die PSMA-Expression zu haben. Diese

Expressionsmuster konnten auch Bostwick *et al.* in einer großen immunhistochemischen Studie zeigen [31].

CK 5/6 dient der Differenzierung zwischen Tumordrüsen und benignen Prostatadrüsen, vor allem in Stanzbiopsien. Das hier gezeigte Expressionsmuster von CK 5/6 mit einer vollständig negativen Färbung der Tumordrüsen entsprach den Erwartungen. Dass sich benigne Drüsen nicht immer mit einem CK 5/6-Antikörper anfärben lassen [320], zeigt auch hier ein Fall aus „Gruppe 1“. Dennoch wurde die Aussagekraft der CK 5/6-Färbung, die auch in der Routine eingesetzt wird, bestätigt.

Die stärkere Expression von Mib-1 im Tumorgewebe im Vergleich zu benignen Epithelien in „Gruppe 0“ war aufgrund der höheren Zellteilungsrate im Tumorgewebe zu erwarten (keine Expression in 46,0% versus 88,0%). Dass dieser Unterschied in „Gruppe 1“ nicht zu sehen war, könnte seine Ursache in der Androgenentzugstherapie haben, die zu einem Wachstumsstopp bzw. einer Wachstumsverlangsamung führt [310]. Dennoch war der Unterschied zwischen den Tumorzellen von „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ nicht signifikant, hatte aber eine Tendenz zu einer stärkeren Mib-1-Expression in „Gruppe 0“ ($p=0,066$).

Diese Veränderungen in der Expression der Standardmarker dienen als Beleg für einen Effekt der neoadjuvanten Androgenentzugstherapie, auf dem die Annahmen zur Aktivierung alternativer Signaltransduktionswege beim Fehlen von Testosteron beruhen.

Die schon beschriebenen histopathologischen Veränderungen der Tumorzellen bilden das morphologische Korrelat für die hier beschriebenen Veränderungen der Proteinexpressionen. Interessant ist die Tatsache, dass sich die Verteilung der PSMA-Expression im Gegensatz zu anderen Markern zwischen „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ nicht verringert hat (starke Expression in 83,7% bzw. 80,0%). Dies kann auf einen möglichen Einsatz des PSMA als Ziel für eine Immuntherapie des Prostatakarzinoms hinweisen, was zurzeit in der in der klinischen Erprobung ist [84].

Die Ergebnisse dieser Studie geben wie jeweils angeführt die Resultate anderer Untersuchungen über die jeweiligen Proteine wieder und können so als Indikator für die Validität der Aussagen dieser Studie herangezogen werden.

Eine weitere Kontrolle für die Validität der hier gezeigten Ergebnisse ist der aufgeführte Vergleich zwischen den Färbeergebnissen für die drei verwendeten Zelllinien und der Vergleich mit der in der Literatur beschriebenen Expression der jeweiligen Proteine. Abweichungen zeigten sich bei PSP, PSA und c-Fos. Die verringerte bzw.

fehlende Expression von PSA und PSP kann an dem fortgeschrittenen Alter der verwendeten Zellkultur der LNCaP-Zellen liegen. Auch Margolis *et al.* berichten von einer Abnahme der PSA- und PSP-Sekretion in Langzeitzellkulturen von LNCaP-Zellen [191]. Die Positivität für aktiviertes c-Fos mag an eventuellen Stimuli z.B. durch Hitze oder UV-Einstrahlung liegen, denen die Zellen vor ihrer Fixierung ausgesetzt waren. Inostroza *et al.* konnten zeigen, dass bei UV-Bestrahlung von LNCaP-Zellen die C-Jun n-terminale Kinase 1 (JNK-1) hochreguliert wird, die wiederum c-Fos aktivieren kann [138].

Diese Studie ist unseres Wissens die erste umfassende Untersuchung auf immun-histochemischer Basis über Veränderungen der Expression von PSA, PSP, Racemase und des Androgenrezeptors bei Prostatakarzinomen nach dreimonatiger präoperativer Androgenentzugstherapie.

3. Androgenrezeptor

Es konnte gezeigt werden, dass die Expression des Androgenrezeptors bei „Gruppe 1“ sowohl im Tumor- als auch im benignen Gewebe niedriger ist als in „Gruppe 0“ (starke Färbung 95,8% bzw. 76,0% im Tumorgewebe, 96,0% versus 68,0% im benignen Gewebe).

Die Expression des Androgenrezeptors im Prostatagewebe kann sehr heterogen sein, wird aber sowohl in hormonsensitiven als auch hormonrefraktären Tumoren beobachtet und zeigt nicht unbedingt den Erfolg der Androgenentzugstherapie an [257]. Obwohl davon auszugehen ist, dass der Androgenrezeptor auch beim hormonrefraktären Karzinom eine wichtige Rolle spielt (siehe unten), setzt sich die hier gezeigte verringerte Androgenrezeptorexpression mit einer geringeren Expression der unter Punkt 2 zusammengefassten Marker fort, da deren Expression (bis auf CK 5/6 und Mib-1) über den Androgenrezeptor reguliert wird. Eine verringerte Expression des Androgenrezeptors sieben Tage nach Kastration konnte im Tierversuch belegt werden [243]. Ein vollständiger Verlust des Androgenrezeptors in Prostatakarzinomen wird selten beobachtet. Ursachen können ein Verlust des X-Chromosoms [222], Methylierung der Androgenrezeptor-DNA [262] oder auch eine verringerte Stabilität des Androgenrezeptor-Proteins und dessen konsekutive Degradation durch das Proteasom sein [177]. An Zellkulturen konnte die Bedeutung der MAPK-Kaskade für die Integrität des Androgenrezeptors und der von ihm regulierten Genprodukte gezeigt werden [7]. Van der Kwast *et al.* konnten einen Abfall der Androgenrezeptorexpres-

sion sowohl in Tumorzellen als auch in benignen Epithelien beobachten und führten dies auf eine Apoptose der Zellen zurück, die auf die Herunterregulierung des Androgenrezeptors empfindlich reagierten [317].

Die erneute Hochregulierung des Androgenrezeptors im hormonrefraktären Tumor scheint somit eine spätere und nicht eine sofortige Reaktion der Tumorzellen zu sein. Nach sechsmonatiger Androgenentzugstherapie wurde in einer Studie bei einem Drittel der Patienten eine Amplifizierung des Androgenrezeptorgens gefunden [112].

4. MAPK

Die Expression der MAPK ist sowohl im Tumorgewebe als auch in benignen Epithelien in „Gruppe 1“ statistisch signifikant höher als in „Gruppe 0“ (Tumorgewebe: 72,9% versus 36,0% keine Expression; benignes Epithel: 62,0% versus 32,0% keine Expression).

Die MAPK-Signalkaskade ist an vielen Signaltransduktionswegen, denen bei der Entwicklung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms eine Rolle zugeschrieben wird, beteiligt. Dies wurde in der Einleitung bei der Charakterisierung der MAPK schon ausgeführt.

Der Einfluss von Her2/ErbB2 auf die transkriptionelle Aktivität des Androgenrezeptors erfolgt zumindest zum Teil über die MAPK [346]. Hier gibt es Verbindungen zwischen der MAPK- und der PI3K-Signalkaskade, die sich gegenseitig sowohl stimulieren [345] als auch inhibieren [356] können.

Bei IL-6 erfolgt die Signaltransduktion über drei Signalwege, STAT3, MAPK und PI3K. Auch hier ist von einer gegenseitigen Beeinflussung auszugehen. Neben dem Hauptsignalweg über STAT3 kann die MAPK über JAKs [9] sowie durch eine IL-6-vermittelte Assoziation von gp130 und Her2 [246] aktiviert werden. Andererseits kann über die MAPK-Kaskade STAT3 phosphoryliert und damit aktiviert werden [176].

Wie bei Her2 zeigen sich auch bei IL-6 die vielfachen Möglichkeiten der wechselseitigen Beeinflussung der unterschiedlichen Signalkaskaden.

Die Bedeutung der MAPK bei der Signaltransduktion von IL-8 konnte bisher an PC3-Zellkulturen nachgewiesen werden [217], was sich mit Untersuchungen zur Rolle der MAPK bei der IL-8-Stimulation von Ovarialkarzinomzelllinien deckt [321]. Funktion und Bedeutung von IL-8 bei der Entstehung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms werden noch gesondert diskutiert.

Die Rolle von c-Jun und c-Fos bei der Entwicklung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms wird unter Punkt 6 diskutiert. Die Aktivierung von c-Fos und c-Jun zu AP-1 wird durch die MAPK vermittelt [263]. Wie bei den anderen Signalwegen besteht auch hier eine Verbindung zu PI3K [297] und zur PKC [300], wobei PKC wiederum die MAPK aktivieren kann [188]. Bekannte Interaktionen zwischen der MAPK und anti- bzw. proapoptotischen Proteinen werden unter Punkt 6 abgehandelt.

MAPK kann auch Koaktivatoren der Src-Familie aktivieren, die die transkriptionelle Aktivität des Androgenrezeptors erhöhen [183].

Gioeli *et al.* konnten zeigen, dass die MAPK-Expression positiv mit einem höheren *Gleason-Score* und einem höheren Tumorstadium korreliert. Außerdem berichten sie von Einzelfällen, in denen eine MAPK-Expression erst nach Androgenentzugstherapie nachzuweisen war [92], was die Bedeutung der MAPK für Überlebensstrategien des Prostatakarzinoms unter Androgenentzug unterstreicht.

Agoulnik *et al.* belegten in einer aktuellen Studie den Einfluss der MAPK-Signalkaskade auf den Androgenrezeptor [7]: in Versuchen an LNCaP-Zellen zeigten sie, dass durch eine Inhibition der MAPK die Expression androgenrezeptorabhängiger Gene verhindert und die Zellproliferation gebremst wird. Die MAPK hat außerdem eine wichtige Bedeutung für die Stabilisierung des Androgenrezeptors.

Auch auf genetischer Ebene gibt es Belege für die Bedeutung der MAPK für das Prostatakarzinom. In ca. 80% der Prostatakarzinome finden sich Fusionen zwischen *Transmembrane protease serine 2* (TMPRSS2) und Mitgliedern der E26 *Transformation-specific Sequence* (ETS) –Familie [306]. An Ewingsarkomen konnte gezeigt werden, dass Genfusionen mit Beteiligung der ETS-Familie, hier *Ewing's Sarcoma protein* (EWS), zu einer Aktivierung der MAPK führen können, die selbst mit den Transkriptionsfaktoren der EWS-Familie interagieren kann [278]. Beim Prostatakarzinom konnte diese Interaktion bereits nachgewiesen werden [347]. Weitergehende Untersuchungen über die definitive Auswirkung dieser Fusionen auf die MAPK-Aktivität stehen noch aus.

Wie hier dargestellt, gibt es sehr viele Untersuchungen, die der MAPK eine Rolle bei der Entwicklung zum hormonrefraktären Prostatakarzinom zuweisen. Da mit der Methode der Immunhistochemie sozusagen nur eine „statische Momentaufnahme“ der Aktivität der verschiedenen Signalkaskaden gezeigt werden kann, kann man so keine aussagekräftigen Resultate über die Beeinflussung der verschiedenen Signalkaskaden untereinander im Verlauf machen.

Es konnten im hier verwendeten Kollektiv keine statistisch signifikanten Assoziationen zwischen der MAPK und anderen Markern nachgewiesen werden. Es bleibt somit offen, über welche Signalwege die MAPK aktiviert wird, dennoch kann davon ausgegangen werden, dass sie eine wichtige Rolle schon in der Frühphase zur Entwicklung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms spielt.

Die Bedeutung der MAPK im Frühstadium des Hormonentzugs wurde schon durch *in vitro* Versuche belegt. Bakin *et al.* konnten an LNCaP-Zellen zeigen, dass eine konstitutive MAPK-Signalkaskadenaktivierung die Zellen unter niedrigen Androgenspiegeln proliferieren lässt [17].

Diese Bedingungen sind auch im Rahmen der NHT vorzufinden und somit können diese Ergebnisse eine mögliche Erklärung für die hier gefundene Hochregulation der MAPK-Kinase in den Karzinomen unter Androgenentzug darstellen: als Reaktion der Zellen auf den geringen bzw. ganz fehlenden Androgenstimulus. Dies geschieht noch vor dem Einwirken anderer extrazellulärer Signalmoleküle und kann über eine direkte Androgenrezeptoraktivierung durch die MAPK erfolgen, wie Berichten über eine nicht-genomische Aktivität des Androgenrezeptors zu entnehmen ist. Heinlein *et al.* beschreiben in einer Übersichtsarbeit hierzu, dass der Androgenrezeptor sowohl von der MAPK aktiviert wird als auch selbst die MAPK-Kaskade in Gang setzt [118]. Auf die Bedeutung der stärkeren Expression der MAPK im benignen Epithel wird im nächsten Abschnitt zusammen mit STAT3 eingegangen.

5. STAT3

Die STAT3-Expression in benignen Epithelien in „Gruppe 1“ war statistisch signifikant höher als in „Gruppe 0“ (starke Expression bei 30,6% bzw. 62,5%). Bei STAT3 konnte dies auch im Vergleich der Tumorpräparate von „Gruppe 1“ mit den entsprechenden Biopsien vor Einleitung der neoadjuvanten Therapie gezeigt werden (Steigerung der STAT3-Expression in 15 von 23 auswertbaren Fällen).

Wie die MAPK ist auch STAT3 an allen hier untersuchten Signaltransduktionswegen beteiligt. Die STAT3-Signalkaskade ist neben der MAPK der zweite wichtige Weg der intrazellulären IL-6-Signalvermittlung [4]. Die Verbindung zum MAPK-Signalweg über JAKs wurde oben schon erwähnt [9].

Der Erfolg der Chemotherapie mit Taxanen kann neben der apoptosefördernden Wirkung auch über einen stimulierenden Effekt auf Retinoidrezeptoren, die wiederum STAT3 hemmen, erklärt werden [325]. Das durch Retinoide gesteuerte Protein *gene*

associated with retinoid-IFN-induced mortality proteine 19 (GRIM-19) reguliert STAT3 herunter [352].

Es konnte eine positive Korrelation zwischen IL-6 und STAT3 im Tumorgewebe und in benigne Epithelien der „Gruppe 0“ gezeigt werden (siehe unter Punkt 8). STAT3 spielt bei einer Reihe anderer Tumore wie dem multiplen Myelom, der akuten myelischen Leukämie, Plattenepithelkarzinomen, Kolonkarzinomen und Mammakarzinomen eine wichtige Rolle [21] [153]. Dort handelt es sich teilweise um konstitutionell – das heißt unabhängig von einer Ligandenbindung - aktiviertes STAT3. Bei Prostatakarzinomen gibt es sowohl Berichte über durch Ligandenbindung als auch konstitutionell aktiviertes STAT3 [313] [67]. Mit der hier angewandten Methode der Immunhistochemie war es nicht möglich, die Ursachen der STAT3-Aktivierung zu klassifizieren.

Neben der Expression von STAT3 im Tumorgewebe finden sich auch Berichte über STAT3-Positivität im an den Tumor angrenzenden benignen Gewebe [67]. STAT3 ist über IL-6 an der Transformation benigner Prostataepithelzellen zu Karzinomzellen [19] sowie an der Entwicklung von androgenabhängigen zu androgenunabhängigen Phänotypen beteiligt [85]. Huang *et al.* konnten zeigen, dass die Transfektion benigner Prostataepithelzellen mit konstitutionell aktiviertem STAT3 deren Phänotyp hin zu malignen Zellen ändern kann [133].

Dieses Ergebnis zeigt zusammen mit dem im vorherigen Punkt diskutiertem Resultat der MAPK, dass die durch den Androgenentzug hervorgerufenen Veränderungen in der Proteinexpression auch bei den Signaltransduktionsmolekülen nicht nur auf die Tumorzellen beschränkt sind. Die Hochregulierung von STAT3 und MAPK in den benignen Epithelien deutet darauf hin, dass dies eine allgemeine Reaktion von Prostataepithelzellen auf den Androgenentzug zu sein scheint. Dennoch ist die Aktivierung zumindest bei der MAPK im Tumorgewebe stärker als in benignen Epithelien.

6. BIM

Die erhöhte nukleäre Expression des proapoptotischen Proteins BIM in Tumorzellen der „Gruppe 1“ (keine Expression in 70,8% im Vergleich zu 37,8%) zeigt den Effekt der neoadjuvanten Therapie durch eine erhöhte Apoptoserate der Zellen. Von anderen Proteinen der Bcl-2-Familie wie dem proapoptotischen Protein *Bcl-2 nineteen kilodalton interacting protein 3* (BNIP3) wird berichtet, dass das aktivierte Protein in

den Nucleus transloziert [265]. Die Situation bei Bim ist bezüglich des Prostatakarzinoms noch wenig erforscht, aufgrund der Bedeutung der unterschiedlichen intrazellulären Lokalisationen anderer Proteine derselben Familie wurde auch hier bei der Auswertung zwischen einer cytoplasmatischen und einer nukleären Lokalisation unterschieden.

Bei Bim gibt es Hinweise auf eine Verbindung zu den untersuchten Signalkaskaden: Ley *et al.* konnten an Fibroblastenzellkulturen zeigen, dass die Bim-Expression durch die MAPK-Kaskade herunterreguliert werden kann [173]. Auf diese Weise verhindert die MAPK die Einleitung der Apoptose. Eine Studie an androgenunabhängigen Prostatakarzinomen im Mausmodell konnte diese Hypothese bestätigen. Kinkade *et al.* wiesen nach, dass es durch eine Inhibition der MAPK- sowie der PI3K-Signaltransduktionswege zu einem Proliferationsstopp und zu einer verstärkten Bim-Expression kommt [155]. Dieser Effekt war am ausgeprägtesten bei der gleichzeitigen Blockade beider Signalwege.

Shankar *et al.* konnten zeigen, dass bei Behandlung von LNCaP-Zellen mit Curcumin, einem Inhaltsstoff der Gelbwurzel, der auch als Nahrungsergänzungsmittel Verwendung findet, Bcl-2 herunter- und Bim hochreguliert wird und die Zellen in die Apoptose gehen. Benigne Epithelzellen werden durch Curcumin nicht beeinträchtigt [269]. Diese Versuche deuten auf eine mögliche Rolle von Bim bei neuen chemotherapeutischen Ansätzen hin, falls es gelingt, durch eine Hochregulierung von Bim die Apoptoserate von Karzinomzellen zu erhöhen. Bisher gibt es erste Erfolg versprechende Studien zur Wirkung von Curcumin bei verschiedenen Tumoren (z. B. Kolonkarzinom) und Autoimmunerkrankungen, weitergehende belastbare Daten stehen noch aus [130]. Von Löw *et al.* kommen in einem aktuellen *Review* zu dem Schluss, dass Phytotherapeutika wie Curcumin trotz Erfolgen *in vitro* und in Tierversuchen noch nicht in der Therapie des Prostatakarzinoms eingesetzt werden können [322]. Die Diskussion der Bim-Expression in Korrelation mit den klinischen Daten erfolgt unter Punkt 9.

7. Unterschiede zwischen Tumorzellen und benignen Epithelzellen

Diese Tests wurden durchgeführt, um herauszufinden, ob es in „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ signifikante Unterschiede in der Expression einzelner Proteine zwischen

Tumorzellen und benignen Zellen gibt und ob sich durch die Androgenentzugstherapie Unterschiede zeigen.

7.1. Unterschiede bei den Schlüsselproteinen

Dies wurde schon unter Punkt 1 diskutiert und wird hier der Vollständigkeit halber nochmals erwähnt.

7.2. Interleukin 8

Die IL-8-Expression war in „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ in benignen Epithelien jeweils signifikant höher als im Tumorgewebe („Gruppe 0“: keine Expression in 36,0% bzw. 8,0%; „Gruppe 1“: keine Expression in 48,0% bzw. 12,5%). Eine starke Färbung wurde jedoch jeweils in höchstens zehn Prozent der Fälle beobachtet.

Dieses Ergebnis überraschte, da in vielen Studien vor allem von einer IL-8-Produktion im Tumorgewebe berichtet wird. Huang *et al.* berichten von vereinzelt IL-8-positiven benignen Zellen, die von ihnen als neuroendokrine Zellen gedeutet werden [134]. Bei Murphy *et al.* zeigen benigne im Vergleich zu malignen Zellen nur eine schwache IL-8-Expression [217]. Die hier gezeigten Ergebnisse unterstützen die Murphystudie, da vor allem der Teil der benignen Epithelien mit schwacher Färbung („B“) deutlich größer war als die Tumorzellen mit schwacher Färbung.

Aus der Verteilung der Färbeintensität kann abgelesen werden, dass sich das Expressionsmuster zwischen „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ fast nicht ändert, was darauf hindeutet, dass IL-8 keine große Rolle in der Frühphase des Androgenentzugs spielt, aber schon im androgenabhängigen Status exprimiert wird. Die Bedeutung von IL-8 für das Prostatakarzinom allgemein und für das hormonrefraktäre Karzinom im Besonderen wird unter dem Punkt „Korrelation zwischen zwei Proteinen“ noch ausgeführt.

7.3. PI3K

Die Expression von PI3K war in „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ im Tumorgewebe höher als in benignen Epithelien („Gruppe 0“: keine Expression bei 21,3% im Vergleich zu 72,0%; „Gruppe 1“: keine Expression bei 28,0% bzw. 79,2%).

PI3K ist neben STAT3 und der MAPK der dritte Signaltransduktionsweg, dem eine große Bedeutung im Prostatakarzinom zugeschrieben wird.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung von PI3K anscheinend nicht erst durch den Androgenentzug induziert wird, sondern sich schon in nicht vorbehandelten Karzinomen findet. Dies zeigten auch Shukla *et al. in vitro*, indem sie in

androgenabhängigen und androgenunabhängigen Zellkulturen eine PI3K-Aktivität nachwiesen. *In vivo* fanden sie eine höhere PI3K-Aktivität vor allem in niedrig differenzierten Prostatakarzinomen [274]. Des Weiteren gibt es auch Berichte über eine weitere Expressionssteigerung von PI3K und AKT in hormonrefraktären Prostatakarzinomen [216].

Wie MAPK und STAT3 ist PI3K an der Signalvermittlung mehrerer Proteine beteiligt und reguliert selbst unterschiedliche Proteine, von besonderer Bedeutung hierbei sind PTEN und AKT.

Die Deaktivierung von PTEN und die dadurch mögliche Aktivierung von AKT durch PI3K ist ein häufig in Prostatakarzinomen zu beobachtendes Phänomen *in vivo* [161], das auch bei den beiden Zelllinien LNCaP und PC3 nachgewiesen werden konnte [303]. Mutationen von PI3K selbst sind zwar u. a. bei Mammakarzinomen schon beschrieben worden [15], nicht jedoch bei Prostatakarzinomen.

Es konnte gezeigt werden, dass LNCaP-Zellen den Androgenentzug durch die Aktivierung der PI3K-Signalkaskade den Wachstumsstopp kompensieren können [87]. Die Inhibition des PI3K-Signalwegs in einer anderen Studie führte zur Apoptose von LNCaP-Zellen [52].

Andere Studien jedoch deuten auf einen negativen Einfluss der PI3K-Kaskade hin: durch Phosphorylierung des Androgenrezeptors durch AKT wurde dessen Aktivierung durch Androgene verhindert [344]. Dies beruht auf einer verringerten Aktivität von Androgenrezeptorkoaktivatoren wie dem Androgenrezeptor assoziierte Protein 70 (ARA70). Dies wurde bei der Signaltransduktion von IL-6 beobachtet und wird dort diskutiert.

Eine weitere Funktion von AKT liegt in seiner Verbindung zum Protein Adaptorprotein mit einer pH-Domäne, einer PTB-Domäne und einem Leucinzippermotiv (APPL), das die Androgenrezeptortransaktivierung blockieren kann. Yang *et al.* schreiben aufgrund dessen APPL eine Regulatorfunktion der Interaktion Androgenrezeptor – PI3K-Kaskade zu [343].

Her2-abhängige Stimulierung von PI3K und AKT führt hingegen zu einer Aktivierung des Androgenrezeptors [329].

Die Rolle von PI3K bei der Signaltransduktion von IL-6, IL-8 und Cyclin D1 wird bei unter dem Punkt „Korrelation zwischen zwei Proteinen“ gesondert besprochen.

7.4. Bcl-2 und Bim

Die Verhinderung der Apoptose unter Androgenentzug stellt eine weitere Überlebensstrategie der Prostatakarzinomzellen dar. Ein überraschendes Ergebnis dieser Studie war, dass bei den beiden aus dieser Gruppe hier untersuchten Proteinen – Bcl-2 und sein Gegenspieler Bim (cytoplasmatische Anfärbung) – die Expression in benignen Epithelien signifikant höher war als im Tumorgewebe. Bei Bim nur in „Gruppe 0“ (starke Expression bei 47,9% im Vergleich zu 80,0%), bei Bcl-2 in „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ („Gruppe 0“: starke Expression bei 25,0 % versus 84,0%; „Gruppe 1“: starke Expression bei 16,0% bzw. 88,0%).

Rubio *et al.* zeigten in einer immunhistochemischen Studie, dass Bcl-2 nur schwach in Prostatakarzinomzellen exprimiert wurde. Bax – wie Bim ein Gegenspieler von Bcl-2 – wurde zwar häufig exprimiert, hatte aber wie Bcl-2 keine prognostische Relevanz [256]. Andere Studien zeigen aber sehr wohl eine höhere Expression von Bcl-2 in Karzinomzellen und ordnen dem auch einen prognostischen Wert zu [253]. Ein wichtiger Gesichtspunkt hierbei ist der Zeitpunkt, wann die Bcl-2-Expression bestimmt wird, sprich bei der Diagnose des Karzinoms oder beim schon anbehandelten hormonrefraktären Karzinom. Auch die hier gezeigten Ergebnisse sprechen dafür, dass Bcl-2 erst in der Spätphase, das heißt im Stadium des hormonrefraktären Karzinoms eine größere Rolle spielt. Hierzu gibt es auch schon klinische Anwendungen, bei denen Patienten mit Oblimersen, einem Inhibitor der Bcl-2-Expression, behandelt werden und besser auf eine Chemotherapie ansprechen [49].

Die Bedeutung von Bim wurde bereits unter einem eigenen Punkt diskutiert. Untersuchungen zu Bid, einem anderen proapoptotischen Protein der Bcl-2-Familie, kamen zu dem Ergebnis, dass die Expression von Bid in benignen Epithelien stark variierte, was die Aussagen über deren Relevanz erschwert [164]. Ob diese Aussagen auch auf Bim zu übertragen sind, ist nicht klar.

7.5. c-Fos

Bei c-Fos zeigte sich in „Gruppe 0“, dass in benignen Epithelien c-Fos cytoplasmatisch stärker exprimiert wurde als im Tumorgewebe (keine Expression bei 54,2% versus 24,0%), die nukleäre Expression von c-Fos war im Tumorgewebe höher (keine Expression bei 60,4% bzw. 84,0%), eine positive Färbung fand sich jedoch insgesamt nur bei ca. 40 % der Tumoren. Nukleär exprimiertes c-Fos ist die aktivierte Form von c-Fos.

C-Fos bildet durch Dimerisierung mit c-Jun AP-1, das in die DNA-Transkription eingreift. So ist c-Fos am Pfad der Korepressoren und Koaktivatoren beteiligt. Es scheint auch an der Entwicklung des androgenunabhängigen Prostatakarzinoms beteiligt zu sein: AP-1 bindet an *tissue polypeptid antigen responsive elements* (TRE) der DNA und kann so die Transkription androgenabhängiger Gene auslösen [263]. Da AP-1 und der Androgenrezeptor aneinander binden und somit die Bindung des Androgenrezeptor an die DNA verhindert wird, kann AP-1 bei Androgenmangel und konsekutiv geringerer Expressierung von Androgenrezeptorprotein an die TRE binden und eine Genexpression auslösen [258].

Schuringa *et al.* konnten in einer Studie an HepG2-Zellen zeigen, dass die Transaktivierung des Proteins *Interleukin 6 responsive elements* (IRE) durch Interleukin 6 über STAT3 mit einer Dimerisierung von STAT3 mit c-Fos bzw. c-Jun wesentlich verstärkt werden kann, wobei nur STAT3 an die DNA bindet [266] - wieder ein Hinweis auf die vielfältigen Verknüpfungen unter den einzelnen Proteinen und verschiedenen Signalkaskaden.

Der in dieser Studie nur geringe Prozentsatz einer Aktivierung von c-Fos in Tumorzellen zeigt, dass c-Fos seine Bedeutung erst im hormonrefraktären Stadium erlangt. Im Frühstadium des Androgenentzugs war keine erhöhte c-Fos-Aktivität nachzuweisen.

7.6. Cyclin D1

In „Gruppe 0“ war die Expression von Cyclin D1 im Tumorgewebe signifikant höher als in benignen Epithelien (starke Expression bei 79,6% versus 42,0%).

Als einer der Regulatoren des Zellzyklus hat Cyclin D1 eine Schlüsselposition bei einer Vielzahl von Tumoren. Die Interaktionen mit anderen hier untersuchten Proteinen und die Bedeutung von Cyclin D1 für das Prostatakarzinom werden unter Punkt 8 diskutiert.

Comstock *et al.* konnten ebenfalls zeigen, dass die Cyclin D1-Expression im Tumorgewebe höher ist als in benignen Epithelien [55]. Sie unterschieden außerdem zwischen unterschiedlichen Lokalisationen von Cyclin D1 – cytoplasmatisch und nukleär – und konnten daraus unterschiedliche Konsequenzen für den weiteren klinischen Verlauf ableiten.

8. Korrelationen zwischen zwei Proteinen

Neben dem Vergleichen zwischen „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ sowie Tumorzellen und benignen Zellen wurden Korrelationen zwischen zwei Proteinen untersucht.

Die meisten statistisch signifikanten Korrelationen wurden in „Gruppe 0“ gefunden. Mögliche Ursache hierfür mag einerseits die geringere Fallzahl in „Gruppe 1“ sein, andererseits aber auch die Tatsache, dass die Expression einiger Proteine durch die Androgenblockade herunterreguliert wird. Die gefundenen Beziehungen zwischen zwei Proteinen in „Gruppe 0“ zeigen auf, dass die beschriebenen Signalkaskaden teils schon in nativen Prostatakarzinomen vorhanden sind. Bei fehlendem Androgenstimulus können sie dann das Überleben der Zellen ermöglichen, beispielsweise durch eine Aktivierung des Androgenrezeptors in Abwesenheit von Androgenen. Bei in benignen Epithelien gefundenen Beziehungen in der Verteilung von Proteinen kann man die Überlegungen dahin richten, dass eine gewisse Beeinflussung der Proteine bereits in nicht maligne veränderten Zellen besteht, die dann im Rahmen der Karzinogenese an Bedeutung gewinnt und zum Progress des Tumors beitragen kann.

Die hier gewonnenen Ergebnisse zeigen statistisch signifikante und damit nicht zufällige Unterschiede in der Verteilung der jeweiligen Proteine an. Es lässt sich jedoch kein valider Hinweis auf eine direkte oder indirekte Proportionalität in Bezug auf die Verteilung der beiden jeweiligen Proteine zueinander feststellen.

Der besseren Übersichtlichkeit wegen wird in diesem Teil auf Prozentangaben über die Verteilung der Ausprägungen der Färbungen verzichtet, es wird auf die anschaulicheren Grafiken im Ergebnisteil verwiesen.

8.1. Korrelationen von Interleukin 6 mit anderen untersuchten Proteinen

IL-6 wird wie in der Einleitung schon erwähnt eine wichtige Rolle beim atypischen Pfad zugeschrieben. Viele Studien belegen den negativen prognostischen Aussagewert einer erhöhten IL-6-Serumkonzentration [312]. IL-6 hat neben seiner Rolle als Aktivator des Androgenrezeptors über den STAT3- und den MAPK-Signalweg auch eine Bedeutung bei der Resistenz gegen Chemotherapeutika und es entfaltet antiapoptotische Wirkung [245].

Hobisch *et al.* konnten eine erhöhte Expression von IL-6 in Prostatakarzinomen nachweisen, wobei Karzinome mit einem *Gleason-Grad* 3 bis 5 eine höhere Expression zeigten als Karzinome mit einem *Gleason-Grad* von 1 oder 2 [122]. Die Karzi-

nome dieser Studie waren ebenfalls nicht vorbehandelt. Dieses Ergebnis bekräftigt, dass IL-6 von Anfang an eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Prostatakarzinoms hat. Es konnte in dieser Studie ebenso gezeigt werden, dass sowohl benigne als auch maligne Zellen den IL-6-Rezeptor exprimieren.

Die Wirkung von IL-6 auf die Prostatakarzinomzelllinien LNCaP, DU145 und PC3 wurde bereits intensiv beforscht. Alle drei Zelllinien exprimieren den IL-6-Rezeptor und sprechen auf eine Stimulation durch IL-6 an [276]. DU145 und PC3 sezernieren selbst IL-6. Für diese Zelllinien konnte gezeigt werden, dass IL-6 deren Proliferation erhöhen kann. Bei LNCaP gibt es widersprüchliche Ergebnisse. Lee *et al.* konnten zeigen, dass LNCaP-Zellen auf kurzen Kontakt mit IL-6 mit einem dosisabhängigen Wachstumsstopp und neuroendokriner Zelldifferenzierung reagieren [171]. Bei Langzeitkontakt mit IL-6 kann IL-6 den Androgenrezeptor aktivieren, die Proliferationsrate nimmt wieder zu und die Zellen beginnen, selbst IL-6 zu exprimieren. Hieraus leiteten sie zwei Funktionen von IL-6 für Prostatakarzinomzellen ab: eine parakrine inhibierende und eine autokrine stimulierende. Die Fähigkeit von Prostatakarzinomzellen, selbst IL-6 zu produzieren, kann so einen Weg hin zum hormonrefraktären Prostatakarzinom darstellen.

8.1.1. IL6 - STAT3

Sowohl im Tumorgewebe als auch in benignen Epithelien zeigte sich in „Gruppe 0“, dass eine hohe Expression von IL-6 mit einer hohen Expression von STAT3 einhergeht.

Die Phosphorylierung von STAT3 über gp130 ist neben dem MAPK-Signalweg der Hauptsignaltransduktionsweg von IL-6 [119].

Dauerhaft erhöhte IL-6-Spiegel im Tumor können zu einer konstitutiven Aktivierung von STAT3 führen und so die transkriptionelle Aktivität des Androgenrezeptors auch bei niedrigen Androgenspiegeln gewährleisten [48]. Die Bedeutung von STAT3 bei der Pathogenese des Prostatakarzinoms wurde bereits oben diskutiert.

8.1.2. IL6 - PI3K

In „Gruppe 0“ zeigte sich bei den Karzinomzellen eine gemeinsame hohe Expression von IL-6 und PI3K.

Die Bedeutung der PI3K-Signalkaskade bei der IL-6 Signaltransduktion ist noch nicht vollständig verstanden. Es gibt hier sowohl Hinweise für stimulierende als auch inhibierende Effekte, je nachdem an welcher Zelllinie dies untersucht wurde: Yang *et al.* können bei den Linien PC3 und DU145 einen inhibierenden Effekt von PI3K auf die

MAPK- und STAT3-Signaltransduktion nachweisen, wohingegen PI3K bei der LNCaP-Linie keinen großen Effekt auf die IL-6-Signaltransduktion hatte [344]. Andererseits führte die Inhibition von PI3K zur Apoptose von LNCaP-Zellen [52]. Xie *et al.* beobachteten eine neuroendokrine Differenzierung von LNCaP-Zellen unter dem Einfluss von IL-6-vermittelter PI3K-Aktivierung [339].

Wie bei der MAPK und STAT3 ist es auch bei PI3K sehr wahrscheinlich, dass nicht nur die Aktivierung und Funktion von PI3K allein entscheidend für die intrazelluläre Signaltransduktion ist. Vielmehr kommt es auf das Gleichgewicht sowohl der einzelnen Signaltransduktionswege als auch der Wachstumsfaktoren an sich an. Aufgrund der hier angedeuteten Komplexität lassen sich viele *in vitro* gewonnene Ergebnisse nicht direkt auf die Situation im Prostatakarzinom *in vivo* umsetzen.

8.1.3. IL6 - Cyclin D1

Bei den Karzinomzellen in „Gruppe 0“ ging eine hohe Expression von Cyclin D1 mit einer hohen Expression von IL-6 einher. Die Rolle von Cyclin D1 bei der Entstehung des Prostatakarzinoms wird unter Punkt 8.3. erwähnt. Die Interaktion von IL-6 und Cyclin D1 ist noch wenig erforscht, Cyclin D1 kann aber über STAT3 aktiviert werden, wodurch sich eine Verbindung zu IL-6, dessen Hauptsignaltransduktionsweg die STAT3-Aktivierung mit einschließt, zeigt [38].

8.1.4. IL6 - Bcl-2

Eine erhöhte Expression von IL-6 korrelierte bei malignen und benignen Zellen in „Gruppe 0“ mit einer starken Expression von Bcl-2.

Bcl-2 ist wichtig für die Chemotherapeutikaresistenz von Prostatakarzinomzelllinien [46].

IL-6 übt seinen antiapoptotischen Effekt über Mitglieder der Bcl-2-Familie aus [247] und ist hier anscheinend unabhängig von einer Interaktion mit STAT3 [247]. Cavaretta *et al.* konnten an einer LNCaP-Zelllinie zeigen, dass IL-6 über *Myeloid cell leukemia sequence 1* (Mcl 1), ein anderes Mitglied der Bcl-2-Familie, antiapoptotisch wirkt und ein IL-6-Antikörper die Apoptoserate erhöht [43].

Die meisten Ergebnisse zu einer Beziehung zwischen IL-6 und Bcl-2 stammen aus Zellkulturversuchen und können durch unsere Ergebnisse *in vivo* bestätigt werden.

8.2. Korrelationen von Interleukin 8 und seinen Rezeptoren mit anderen Proteinen

Das Chemokin IL-8 spielt im Rahmen des atypischen Pfades eine Rolle auf dem Weg zur hormonrefraktären Prostatakarzinom. Neben seiner Hauptfunktion als chemotaktischer Faktor des unspezifischen Immunsystems konnte für IL-8 eine Bedeutung bei mehreren Tumorentitäten, darunter auch dem Prostatakarzinom nachgewiesen werden.

Kim *et al.* konnten an athymischen Nacktmäusen zeigen, dass die IL-8-Expression mit der Angiogenese, Tumorinvasion und Metastasierung von orthotop implantierten menschlichen Prostatakarzinomzellen korreliert [154]. IL-8 hat mitogene [139] und angiogene [157] Funktionen, die bei der Genese des Prostatakarzinoms eine Rolle spielen können.

Es gibt *in vitro* Ergebnisse, die zeigen, dass IL-8 das androgenunabhängige Wachstum von LNCaP-Zellen sowie deren Migration fördert [170]. Außerdem sind IL-8 produzierende LNCaP-Zellen aggressiver als nicht IL-8-exprimierende Zellen [233]. Die Tatsache, dass LNCaP-Zellen primär androgenabhängig sind und bei Androgenentzug auch IL-8 produzieren können, kann auf die Vermittlerrolle von IL-8 bei Prostatakarzinom unter Androgenentzug hindeuten, da so die Karzinomzellen durch IL-8 am Leben erhalten werden könnten. Die schon bekannt Bedeutung von IL-8 bei der Metastasierung des Prostatakarzinoms [105] wird durch *in vitro* Versuche bestätigt, die zeigen, dass durch IL-8 die Migrationsfähigkeit von LNCaP-Zellen erhöht wird [170].

Huang *et al.* konnten bei einer Studie über die Lokalisation von IL-8 im Prostatakarzinom zeigen, dass IL-8 nur von wenigen neuroendokrin differenzierten Zellen innerhalb des Prostatakarzinoms produziert wird, was dann als parakriner mitogener und angiogener Wachstumsfaktor dient. Die neuroendokrine Differenzierung der Karzinomzellen erhöht deren Proliferation und Invasivität *in vitro* [127]. Durch ihre sehr niedrige Apoptoserate kann auch erklärt werden, warum sie unter Androgenentzug, der ein Apoptosestimulus für benigne und maligne Zellen ist, besondere Bedeutung erlangen [80]. Es gibt jedoch andere Studien, die ein völlig anderes Expressionsmuster von IL-8 und seiner Rezeptoren zeigen [217].

Analog zu IL-6 steigt der IL-8-Serumspiegel mit dem Krankheitsprogress an [172].

Wie in der Einleitung schon ausgeführt, erfolgt die Signaltransduktion von IL-8 über seine beiden Rezeptoren CXCR1 und CXCR2. Deshalb werden Korrelationen dieser beiden Proteine hier erwähnt, da davon auszugehen ist, dass diese Proteine ihre Wirkung vor allem unter IL-8-Einfluss entfalten.

8.2.1. IL8-Cyclin D1

In „Gruppe 0“ zeigte sich in benignen Epithelien, dass bei einer hohen Expression von IL-8 auch eine hohe Expression von Cyclin D1 vorlag.

Die Bedeutung einer gegenseitigen Beeinflussung von IL-8 und Cyclin D1 ist noch nicht sehr eingehend erforscht.

Für Tumorzellen wurde eine positive Korrelation zwischen IL-8 und Cyclin D1 schon beschrieben, sowohl bei androgenabhängigen als auch androgenunabhängigen Tumorzellen [217]. Die mögliche Verknüpfung zwischen IL-8 und Cyclin D1 zeigt einen weiteren Weg auf, über den IL-8 das Wachstum des Prostatakarzinoms sowohl in der androgenabhängigen als auch dann in der androgenunabhängigen Phase unterstützt. MacManus *et al.* konnten zeigen, dass IL-8 die Cyclin D1-Expression auf der Translationsebene beeinflusst [190]. Dies bestätigt nochmals die mitogene Bedeutung von IL-8. Bezüglich der Bedeutung von Cyclin D1 für das Prostatakarzinom wird hier auf den nächsten Punkt 8.3. verwiesen, um eine Redundanz zu vermeiden.

8.2.2. CXCR1 - CXCR2

In benignen Epithelien von „Gruppe 0“ korrelierte eine starke Expression von CXCR1 mit einer hohen CXCR2-Expression. Über diese beiden Rezeptoren wird die Signaltransduktion von IL-8 vermittelt. Wie unter dem Punkt „Charakterisierung der Proteine“ erwähnt, besteht noch Unklarheit darüber, ob die Rezeptoren im Prostatakarzinom verschiedene Funktionen haben und z.B. nur von bestimmten Zelldifferenzierungen exprimiert werden. Das hier gezeigte Ergebnis deutet darauf hin, dass sich beide Rezeptoren gegenseitig positiv beeinflussen und die gesteigerte Expression des einen die erhöht Expression des anderen fördert. Auch die Zelllinie PC3 exprimiert beide Rezeptoren [217]. Maxwell *et al.* konnten zeigen, dass unter Hypoxie sowohl CXCR1 als auch CXCR2 in Prostatakarzinomzellen hochreguliert werden [197].

8.2.3. CXCR1 - PI3K

Bei einer hohen Expression von CXCR1 war bei den Tumorzellen von „Gruppe 0“ auch eine hohe Expression von PI3K festzustellen.

MacManus *et al.* zeigten eine Aktivierung und Amplifizierung der PI3K-Akt-Signalkaskade durch IL-8 bei PC3- und DU145-Zellen, was dann eine erhöhte Cyclin D1-Translation zur Folge hatte [190].

8.2.4. CXCR2 - STAT3

Im Tumorgewebe von „Gruppe 0“ korrelierte der höchste Anteil einer hohen Expression von CXCR2 mit einer hohen Korrelation von STAT3.

Eine Verbindung zwischen der STAT3-Signalkaskade und IL-8 in Prostatakarzinomen ist bisher noch nicht publiziert. Trevino *et al.* konnten an Pankreaskarzinomzellen, die häufig IL-8 exprimieren, zeigen, dass die IL-8-Sekretion der Tumorzellen über eine STAT3-vermittelte Aktivierung von Src vermittelt wird [309]. Die Familie der Src-Familie gehört zu den rezeptorunabhängigen Tyrosinkinasen und hat eine Bedeutung bei Proliferation, Invasion und Migration der Karzinomzellen. Außerdem wird eine Beteiligung bei der Entwicklung der Androgenunabhängigkeit vermutet [81]. Mehrere Src-Inhibitoren befinden sich in der klinischen Testung. Ob die anfangs erwähnte Verknüpfung zwischen IL-8, STAT3 und Src nun auch beim Prostatakarzinom existiert ist noch nicht erforscht und war nicht Gegenstand dieser Studie..

8.3. Korrelationen von Cyclin D1 mit anderen Proteinen

Cyclin D1 hat eine wichtige Aufgabe in der Überwachung des Zellzyklus in der G1-Phase. Für Cyclin D1 konnte eine signifikant stärkere Expression im Tumor- als im benignen Gewebe nachgewiesen werden.

Die vielfältigen Verbindungen von Cyclin D1 wie z.B. zum schon diskutierten IL-8 sind teilweise noch nicht eingehend erforscht. Es zeigt aber sich auch hier, dass es nicht auf ein Protein allein sondern auf das Zusammenspiel vieler verschiedener Proteine und deren Gleichgewicht untereinander ankommt. Einige dieser Verbindungen sollen im Anschluss an eine Übersicht über die Bedeutung von Cyclin D1 für das Prostatakarzinom diskutiert werden.

Wie bei vielen an deren Tumorentitäten wird Cyclin D1 auch im Prostatakarzinom eine wichtige Rolle zugeschrieben.

Dennoch ist die Wirkung von Cyclin D1 auf das Prostatakarzinom zum Teil widersprüchlich. Die intrazelluläre Konzentration von Cyclin D1 wird durch Androgene erhöht [341]. In Prostatakarzinomzellen kann Cyclin D1 aber auch an den Androgenrezeptor binden und seine Transaktivierung verhindern [252]. Hieraus lässt sich ein Modell ableiten, in dem über Androgene der Einfluss von Cyclin D1 auf den Zellzyklus durch ein negatives *Feedback*- oder Regulierungssignal modifiziert wird [36] [55]. Cyclin D1 dient so als *Rheostat*, d.h. Widerstandsregler, der die Dauer und Stärke der Androgenstimulation reguliert.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine hohe Cyclin D1-Expression mit vermehrter Perineuralscheideninvasion korrelierte und somit die Aggressivität des Tumors steigerte [3].

Bereits erwähnt wurde eine Induktion der Cyclin D1-Translation durch IL-8 über die PI3K-Signalkaskade. Auf die Interaktion zwischen Cyclin D1 und PI3K wird noch gesondert eingegangen.

8.3.1. Cyclin D1 - Mib-1 T

In „Gruppe 0“ zeigte sich, dass bei den Tumorzellen eine hohe Expression von Mib-1 mit einer hohen Cyclin D1-Expression korrelierte.

Ein derartiger Zusammenhang zwischen einem Zellproliferationsmarker (Mib-1) und einem Regulator des Zellzyklus ist in Anbetracht der Proteinfunktionen sehr gut nachzuvollziehen. Auch andere Studien konnten diesen Zusammenhang belegen und ordneten einer hohen Expression von Cyclin D1 und Mib-1 einen maligneren Phänotyp und ein kürzeres Überleben zu [3].

8.3.2. Cyclin D1 - PI3K

In Tumorzellen und in benignen Epithelien von „Gruppe 0“ korrelierte eine hohe Expression von PI3K mit einer hohen Cyclin D1-Expression, wobei die Korrelation im benignen Gewebe aufgrund der dort vorherrschenden insgesamt schwachen PI3K-Expression nicht sehr deutlich ausfiel.

Gao *et al.* konnten *in vitro* an DU145- und PC3-Zellen zeigen, dass die Inhibition von PI3K die Zellproliferation hemmt und zu einem Stopp des Zellzyklus in der G1-Phase führt [87]. PI3K wirkt hier über die Proteine AKT und *mammalian target of rapamycin* (mTOR).

Die Verknüpfung zu IL-8 wurde bereits erwähnt.

8.3.3. Cyclin D1 - Bcl-2

In benignen Epithelien von „Gruppe 0“ korrelierte eine hohe Expression von Cyclin D1 mit einer hohen Korrelation von Bcl-2.

Andere Studien hingegen zeigen eine inverse Korrelation zwischen Bcl-2 und Cyclin D1 im Tumorgewebe. Daraus wurde gefolgert, dass Bcl-2 die Expression von p21 und Cyclin D1 negativ reguliert [159]. Die Beziehung Cyclin D1 – Bcl-2 ist noch nicht eingehend erforscht, vor allem auch, was dessen Relevanz in benignen Epithelien anbelangt.

8.4. Korrelation von Bcl-2 mit Bim

In den benignen Epithelien von „Gruppe 1“ ging eine hohe Bcl-2-Expression mit einer hohen Bim-Expression einher. Beide Proteine gehören zur Bcl-2-Familie und sind an der Regulierung von apoptotischen Vorgängen beteiligt. Da beide Proteine Gegenspieler sind – Bcl-2 hat eine antiapoptotische, Bim eine proapoptotische Funktion – mögen die hier gezeigten Ergebnisse auf den ersten Blick überraschend wirken. Durch die in der Literatur beschriebenen Interaktionen der beiden Proteine scheint es aber möglich, ein Szenario zu entwerfen, in dem beide Proteine hochreguliert sind, zumindest bevor die Apoptose durch Bim eingeleitet werden kann, da die Zelle dies durch die Expression von Bcl-2 zu verhindern sucht [136].

9. Korrelation der klinischen Daten mit der Expression von Proteinen

Die zur Verfügung stehenden klinischen *follow-up*-Daten der Patienten wurden auf vorhandene Korrelationen mit den statistisch signifikanten Proteinexpressionsunterschieden zwischen „Gruppe 0“ und „Gruppe 1“ untersucht. Dabei zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied in der Beziehung PSA-Rezidiv und nukleären Expression von Bim in „Gruppe 0“.

Bei Patienten ohne PSA-Rezidiv ist deutlich öfter eine positive Bim-Expression zu sehen. Betrachtet man alle Patienten unabhängig davon, ob sie vortherapiert wurden oder nicht, wird dieses Ergebnis noch deutlicher.

Hieraus kann gefolgert werden, dass bei Patienten mit einem im weiteren Verlauf auftretenden PSA-Rezidiv schon vorher die Bim-Expression geringer ist als in Patienten ohne PSA-Rezidiv. Das proapoptotische Protein Bim könnte somit eine prognoseverbessernde Relevanz haben – ein ähnliches Ergebnis konnten Zantl *et al.* an Nierenzellkarzinomen zeigen, wobei sie Bim die Funktion eines Tumorsuppressors zuschrieben [350]. In einem Kommentar der Novemberausgabe 2008 des *Journal of Clinical Investigation* mit dem Titel „*Anticancer therapy: boosting the bang of Bim*“ werden die aktuellen Ergebnisse der Forschungsbemühungen bezüglich Bim und seiner Nutzbarmachung in der Tumorthherapie zusammengefasst [121]. Die Autoren kommen hier zu dem Ergebnis, dass die simultane Blockade von Signaltransduktionswegen wie der MAPK-Kaskade und die Hochregulierung von Bim auf direktem oder indirektem Wege einen viel versprechenden neuen Therapieansatz bietet.

10. Resümee

Im Rahmen dieser Studie sollten frühe Veränderungen in Prostatakarzinomen bei Androgenentzug auf der Proteinebene an Prostatektomiepräparaten *in vivo* untersucht werden.

10.1. Die Ergebnisse: Licht ins Dunkel?

Die mit einer Androgenablation behandelten Tumoren zeigten wie auch die benignen Epithelien eine signifikant erhöhte Expression der MAPK, des Weiteren fand sich eine erhöhte Expression von STAT3 im benignen Gewebe nach Androgenentzug.

Außerdem zeigte sich, dass viele Verknüpfungen zwischen verschiedenen Proteinen schon in nicht vorbehandelten Prostatakarzinomen ohne vorhergehende Androgenablation zu finden sind. Auch PI3K ist bei nicht vorbehandelten und vorbehandelten Tumoren im Gegensatz zu benignen Epithelien stark exprimiert.

Nach einem allgemeinen Überblick über Signalwege in der Prostatakarzinomzelle wurden die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse über diese drei Proteine zusammengefasst und diskutiert.

Diese Studie bestätigt die Theorie, dass nicht nur ein Signalweg sondern verschiedene sich gegenseitig beeinflussende Signalwege beim Prostatakarzinom existieren, die sich in ihrer Wirkung gegenseitig verstärken oder abschwächen können. Ein Beispiel hierfür ist die Signaltransduktion von IL-6. Viele dieser Signalwege existieren bereits bei noch androgenabhängigen Phänotypen.

Die Tatsache, dass die Androgenentzugstherapie nur eine durchschnittliche Wirkdauer von zwei Jahren hat und auch die bei Mammakarzinomen sehr erfolgreiche Therapie mit Her2-Antikörpern trotz einer zumindest teilweise vorhandenen Her2-Hochregulierung in Prostatakarzinomen noch keinen durchschlagenden klinischen Erfolg gezeigt hat [287], bestärken die Vermutungen, dass noch zu wenig über die Interaktionen der verschiedenen Signalwege bekannt ist. Die Probleme von der Übertragung von *in vitro* Versuchen an Zellkulturen auf das Karzinom *in vivo* im Patienten wurden diskutiert.

10.2. Die Apoptose: bedeutend erst im späteren Verlauf?

Die Rolle der Proteine aus dem Umfeld der Apoptose scheint in der Frühphase des Prostatakarzinoms noch keine bedeutende Rolle zu spielen, ihre Funktion wird aber im weiteren Verlauf aber bedeutender, was Studien mit Oblimersen [34] und dem unter dem Punkt Bim erwähnten Curcumin [269] gezeigt haben. Die in der Frühphase

des Androgenentzugs gefundene höhere Bim-Expression der Tumorzellen ist am ehesten als Reaktion auf einen Entzug des Wachstumsstimulus der Androgene zu interpretieren. Dennoch konnten Hinweise für eine positive prognostische Rolle von Bim im Rahmen diese Arbeit gefunden werden.

10.3. Die Signalkaskaden: wer, wie und mit wem?

Eine hoffnungsvolle neue Strategie ist es, Signalwege auf der Ebene der Signalvermittlung und nicht auf der Stufe der Signalgenerierung zu blockieren. Über deren Bedeutung *per se* und in Verbindung mit anderen Proteinen konnte diese Studie verschiedene neue Gesichtspunkte aufzeigen. Auf die Tatsache, dass wie in dieser Studie dargestellt nicht nur ein Signalweg eine besondere Bedeutung hat sondern mehrere Signalwege, haben auch schon andere Studien mit *in vitro* Ergebnissen hingewiesen [315].

Die MAPK war als einziges Protein aus den untersuchten Signalkaskaden in den vortherapierten Tumoren hochreguliert. Dies kann als Reaktion der Tumorzellen auf den Entzug des Androgenstimulus gewertet werden und es zeigt, dass die Karzinomzellen schon in der Frühphase des Androgenentzugs mit Alterationen intrazellulärer Signalwege reagieren. Die MAPK ermöglicht die Proliferation unter niedrigen Androgenspiegeln *in vitro* [17] und ist bedeutend für die Stabilität des Androgenrezeptors [7]. Die Aktivierung anderer Signalkaskaden über die MAPK wurde diskutiert. Oka *et al.* konnten belegen, dass in der Entwicklung des Prostatakarzinoms hin zum hormonrefraktären Phänotyp die MAPK konstitutionell aktiviert wird [226]. Diese *in vitro* Ergebnisse bestätigen die Rolle der MAPK beim hormonrefraktären Prostatakarzinom. So bietet die MAPK einen guten Ansatzpunkt für neue Therapieformen, vor allem bei schon hormonrefraktären Prostatakarzinomen, bei denen bis jetzt trotz aktueller Erfolge mit Docetaxel die palliative Therapie im Vordergrund steht.

Die Blockade der MAPK befindet sich erst im experimentellen Stadium, nur der Inhibitor CI-1040 zeigte bisher auch *in vivo* einen Erfolg [342]. Papatsoris *et al.* kommen in einem aktuellen *Review* zu dem Schluss, dass die Signaltransduktion über den Androgenrezeptor und der Einfluss des MAPK-Signalwegs auch im hormonrefraktären Prostatakarzinomen funktionell aktiv bleiben. Viele Proteine aus dieser Signalkaskade böten Erfolg versprechende Angriffspunkte. Außerdem betonen sie die Notwendigkeit eines *tailored treatment*, d. h. einer individualisierten Therapie der jeweiligen Patienten [229].

Die beobachtete Hochregulierung von STAT3 in den benignen Epithelien von „Gruppe 1“ setzte sich im Tumor nicht mit einem statistisch signifikanten Ergebnis fort. Dennoch zeigte sich, dass eine Reaktion auf den Androgenentzug auch zu einer STAT3-Antwort führen kann. Beziehungen von STAT3 zu anderen Proteinen konnten zu IL-6 und dem Rezeptor von IL-8 nachgewiesen werden. In der Literatur gibt es Hinweise auf weitere Interaktionen mit Proteinen aus der Apoptose- und Zellzyklusregulation [86]. So muss man sich auch hier von der Vorstellung „ein Protein – ein Hauptsignalweg“ lösen und der Multifunktionalität von STAT3 Rechnung tragen. Die Blockade von STAT3 mittels si-RNA war im Tierversuch bereits erfolgreich [86]. Der Einsatz von Angiotensin II Rezeptorblockern, die STAT3 blockieren können, befindet sich noch in der Diskussion [314].

Die Aktivität von PI3K im Tumorgewebe und die Tatsache, dass die Androgenentzugstherapie in der Frühphase keinen Einfluss auf dessen Expression zeigte, deuten auf eine vom Androgenentzug unabhängige Rolle von PI3K hin – im Unterschied zu MAPK und STAT3. Ein weiterer Unterschied zu diesen beiden war die geringe PI3K-Aktivität im benignen Gewebe. Es konnten auch verschiedene positive Korrelationen von PI3K zu anderen Proteinen aus verschiedenen Signalkaskaden gefunden werden: IL-6, Rezeptoren von IL-8 und Cyclin D1.

Dies weist auf eine zentrale Rolle von PI3K in der Vermittlung von Signalen in Prostatakarzinomzellen hin und lässt PI3K als attraktiven therapeutischen Angriffspunkt erscheinen.

Inhibitoren der katalytischen PI3K-Subeinheiten der ersten Generation wie Wortmannin sind aufgrund ihrer kurzen Halbwertszeit und geringen Spezifität nur *in vitro* einsetzbar. Dennoch konnten mit den Inhibitoren der ersten Generation in Zellkulturversuchen wertvolle Hinweise über die komplexen Interaktionen von PTEN, PI3K und AKT gewonnen werden. Die Inhibitoren der zweiten Generation sind wie Hemmstoffe des PI3K-Holoenzym noch in der präklinischen Phase, zeigen aber schon verbesserte pharmakologische Eigenschaften und es gibt erste Erfolge im Tiermodell [337]. Weitere Möglichkeiten sind der Einsatz des schon diskutierten Curcumins [174] oder eine Beeinflussung von AKT [244].

Eine mögliche Hilfestellung für die Anwendung einer auf die Signaltransduktionswege gerichteten Therapie kann der Blick auf das Mammakarzinom bieten. Während der Erfolg von Her2-Antikörpern sich im Prostatakarzinom nicht wiederholte [287],

bleibt die Inhibition von Signaltransduktionsmolekülen als gemeinsamer therapeutischer Angriffspunkt.

Es gibt Studien, die zeigen, dass die MAPK in Mammakarzinomen bei Langzeithormontherapie hochreguliert wird [192], was auch für das Prostatakarzinom zutrifft. Bei beiden Karzinomen konnten *in vitro* Erfolge mit dem MAPK-Inhibitor U0126 erzielt werden [7] [168] [227].

Bei PI3K konnte eine Interaktion mit dem Östrogenrezeptor beschrieben werden [296], STAT3 wird vor allem im Zusammenhang mit IL-6 in Mammakarzinomen erwähnt [23].

10.4. Die Signalblockade: der Königsweg zur Bekämpfung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms?

Ein Hemmschuh in der Entwicklung gemeinsamer Therapiestrategien ist jedoch die – aufgrund seines Erfolges natürlich gerechtfertigte – oft noch vorherrschende Fokussierung auf Her2 und seine Signaltransduktion bei Mammakarzinomen, denen die Bedeutung anderer Signalwege und die Interaktion der Signalkaskaden untereinander untergeordnet wird. Das Prostatakarzinom scheint wesentlich heterogener in der An- und Abschaltung verschiedener Signalmoleküle zu sein als das Mammakarzinom. Die weitere Erforschung der Bedeutung von MAPK, STAT3 und PI3K beim Mammakarzinom – auch unabhängig von Her2 – kann dazu führen, dass so wieder ein Benefit von den Erkenntnissen über die beiden Tumorentitäten Mamma und Prostata erlangt werden kann, der dann in gemeinsame Therapiestrategien außerhalb der Androgenablation mündet, die heute erst angedacht und *in vitro* erprobt werden können.

Ein wichtiger Punkt ist die stadiengerechte und individualisierte Therapie. Durch die große Heterogenität des Prostatakarzinoms scheint es sinnvoll, nicht alle Patienten nach einem bestimmten Schema zu behandeln, sondern die Patienten genauer in Subgruppen einzuteilen. Hier kommt nun der Pathologie eine wichtige Bedeutung zu. Wie bei Mammakarzinomen routinemäßig der Her2-, Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus untersucht werden, könnten beim Prostatakarzinom die Expression von Proteinen aus den verschiedenen bekannten Pfaden – wie z.B. IL-6, IL-8, Bcl-2 oder c-Fos - sowie die Dominanz eines Signaltransduktionsweg – MAPK, STAT3 oder PI3K – erfasst werden.

Dies ermöglicht, die Patienten für unterschiedliche Therapieansätze, die jeweils auf andere Proteine ausgerichtet sind, zu selektieren und so gezielt in die jeweils akti-

vierten Mechanismen des Karzinoms einzugreifen. Die aus dieser Selektion hervorgegangenen Subgruppen bieten sich dann an, die verschiedenen zum Teil noch experimentellen Therapieansätze im Rahmen klinischer Studien weiter zu untersuchen. Dies ist auch der gemeinsame Tenor der letzten aktuellen Übersichtsarbeiten zum Thema *targeted therapy* [114].

Durch diese individualisierte Therapie kann es gelingen, die gewonnenen *in vitro* Ergebnisse auf den Patienten zu übertragen, dessen Karzinom gezielt zu behandeln und so die Prognose wesentlich zu verbessern, als wenn alle Patienten nach dem gleichen Schema behandelt werden.

Die Kombination dieser individualisierten Therapie mit dem schon etablierten Taxan-Regime wird diskutiert [288].

Diese Arbeit konnte so die These untermauern, dass es sinnvoll ist, weiter im Rahmen des Prinzips der „targeted therapy“ zu versuchen, diese Signalwege als Ziel für die Therapie heranzuziehen. Es hat sich gezeigt, dass die Karzinomzellen schon nach kurzem Androgenentzug mit einer Änderung der Expression verschiedener Signaltransduktionsmoleküle reagieren. Ein weiteres wichtiges Ergebnis war die Erkenntnis, dass es auch auf die Interaktion der Signalwege ankommt. Dies würde für eine mögliche Therapie bedeuten, dass Patienten individuell evaluiert werden sollten.

Die Bedeutung dieser Arbeit liegt darin, dass hier zum ersten Mal retrospektiv in einer Fall-Kontroll-Studie versucht wurde, die mannigfaltigen Ergebnisse aus der *in vitro* Forschung an Prostatakarzinomzelllinien mit den Proteinexpressionsprofilen von Prostatakarzinomen zu überprüfen. So konnten wir eine hierarchische Beziehung von STAT3, PI3K und MAPK aufdecken, in der die MAPK eine Schlüsselrolle einzunehmen scheint.

Als Ansporn für weitere Untersuchungen dieser Signalwege und deren Verknüpfungen mag das Motto dieser Arbeit – ein Sinnspruch Novalis' - gelten:

„Hypothesen sind Netze; nur der wird fangen, der auswirft.“

H Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist bei Männern die Tumorentität mit der höchsten Inzidenz, bei den Todesfällen durch Tumorerkrankungen steht es an dritter Stelle. Im Gegensatz zur exzellenten Prognose des lokalisierten Prostatakarzinoms ist die Prognose des metastasierten Karzinoms schlecht. Die Standardtherapie des metastasierten Karzinoms ist die Androgenentzugstherapie. Nach durchschnittlich zwei Jahren kommt es jedoch zum Rezidiv und der Tumor wächst nun androgenunabhängig.

Ziel dieser Studie war es, retrospektiv die ersten Reaktionen der Tumorzellen *in vivo* auf den Androgenentzug zu untersuchen.

Hierzu wurde ein Kollektiv von 25 neoadjuvant mit Androgenablation therapierte Patienten und 50 nicht vorbehandelte Patienten eingeschlossen. Aus den Prostatektomiepräparaten der Patienten wurden Tissue Microarrays angefertigt, die immunhistochemisch untersucht wurden. Außerdem wurden Biopsien der Gruppe der vortherapierten Patienten, die vor Einleitung der Androgenentzugstherapie gewonnen worden waren, analysiert. Die Ergebnisse der Färbungen wurden in drei Kategorien (keine, schwache und starke Färbung) eingeteilt und statistisch ausgewertet.

Folgende Proteine wurden in die Studie eingeschlossen: Androgenrezeptor, PSA, PSP, PSMA, Racemase, CK 5/6, Mib-1, Interleukin 6, STAT3, MAPK, PI3K, Interleukin 8, CXCR1, CXCR2, Cyclin D1, Bcl-2, Bim und c-Fos.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die MAPK sowohl in malignen als auch benignen Zellen der vortherapierten Patienten stärker exprimiert wird als bei den nicht vortherapierten Patienten. Dasselbe Ergebnis konnte für STAT3 in benignen Epithelien aufgezeigt werden, was auch beim Vergleich von prätherapeutischen Biopsien mit den Prostatektomiepräparaten bestätigt wurde. Die Aktivität von PI3K war bei beiden Patientengruppen in den Tumorzellen jeweils stärker ausgeprägt als in benignen Zellen.

Die Expression des Androgenrezeptors war in benignen und malignen Zellen bei den vortherapierten Patienten geringer als bei den nicht vortherapierten Patienten.

Die Analyse der klinischen Parameter in Zusammenhang mit den Proteinexpressionsmuster zeigte einen Hinweis auf eine mögliche prognoseverbessernde Bedeutung einer nukleären Bim-Expression.

Die Schlüsselproteine zur Typisierung des Prostatadrüsenepithels (PSA, PSP, PSMA) und dessen Dignitätsbeurteilung (Racemase, CK 5/6, Mib-1) zeigten folgende Ergebnisse:

In den benignen Zellen zeigte sich eine schwächere Expression von PSA und PSP bei den vorbehandelten Patienten. Dasselbe Ergebnis zeigte sich für die Racemase im Tumorgewebe.

Im Unterschied zwischen Tumor- und benignen Epithelzellen zeigte sich bei den nicht vorbehandelten Patienten eine schwächere PSA- und PSP-Expression im Tumorgewebe. Beim Vergleich der PSMA- und Racemase Expression zwischen Tumor- und benignen Epithelzellen konnte eine stärkere Expression in den Tumorzellen bei beiden Patientengruppen nachgewiesen werden. Die Mib-1-Positivität war in den Tumorzellen der nicht vorbehandelten Patienten stärker als in den benignen Zellen.

Diese Ergebnisse entsprachen den Erwartungen und zeigen die Validität der hier durchgeführten Untersuchungen.

Des Weiteren fanden sich bei den nicht vorbehandelten Patienten statistisch signifikante gemeinsame hohe Expressionen zwischen Interleukin 6 und STAT3 im Tumorgewebe und in benignen Epithelien sowie Interleukin 6 und PI3K im Tumorgewebe. Weitere positive Verknüpfungen zwischen zwei Proteinen ergaben sich unter anderem zwischen Interleukin 6 und Bcl-2, Interleukin 8 und Cyclin D1, CXCR1 und PI3K, Cyclin D1 und PI3K.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Hochregulierung der MAPK im Tumorgewebe eine der ersten Reaktionen auf den Entzug des Androgenstimulus zu sein scheint. Daneben fanden sich auch positive Korrelationen von Proteinen aus verschiedenen Signaltransduktionswegen (STAT3, PI3K, MAPK).

Die Bedeutung dieser Arbeit liegt darin, dass hier zum ersten Mal die Ergebnisse der *in vitro* Forschung an Zellkulturen über die Entwicklung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms an Patientenmaterial in einer Fall-Kontroll-Studie systematisch überprüft wurden.

Aus einer Vielzahl von Proteinen der IL-6 vermittelten Signaltransduktion konnten wir in dieser Arbeit die MAPK als Schlüsselprotein für das hormonrefraktäre Prostatakarzinom identifizieren. Für diese bisher nicht therapierbare Erkrankung rückt die MAPK somit ins Zentrum einer möglichen *targeted therapy*.

I Literaturverzeichnis

1. Immediate versus deferred treatment for advanced prostatic cancer: initial results of the Medical Research Council Trial. The Medical Research Council Prostate Cancer Working Party Investigators Group. *Br J Urol* 1997;79(2):235-46.
2. Maximum androgen blockade in advanced prostate cancer: an overview of the randomised trials. Prostate Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 2000;355(9214):1491-8.
3. Aaltomaa S, Karja V, Lipponen P, Isotalo T, Kankkunen JP, Talja M, Mokka R. Expression of Ki-67, cyclin D1 and apoptosis markers correlated with survival in prostate cancer patients treated by radical prostatectomy. *Anticancer Res* 2006;26(6C):4873-8.
4. Aaronson DS, Horvath CM. A road map for those who don't know JAK-STAT. *Science* 2002;296(5573):1653-5.
5. Abbou CC, Salomon L, Hoznek A, Antiphon P, Cicco A, Saint F, Alame W, Bellot J, Chopin DK. Laparoscopic radical prostatectomy: preliminary results. *Urology* 2000;55(5):630-4.
6. Abrahams NA, Bostwick DG, Ormsby AH, Qian J, Brainard JA. Distinguishing atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia from prostatic adenocarcinoma with and without previous adjuvant hormone therapy with the aid of cytokeratin 5/6. *Am J Clin Pathol* 2003;120(3):368-76.
7. Agoulnik IU, Bingman WE, 3rd, Nakka M, Li W, Wang Q, Liu XS, Brown M, Weigel NL. Target gene-specific regulation of androgen receptor activity by p42/p44 mitogen-activated protein kinase. *Mol Endocrinol* 2008;22(11):2420-32.
8. Akashi T, Koizumi K, Nagakawa O, Fuse H, Saiki I. Androgen receptor negatively influences the expression of chemokine receptors (CXCR4, CCR1) and ligand-mediated migration in prostate cancer DU-145. *Oncol Rep* 2006;16(4):831-6.
9. Akira S. IL-6-regulated transcription factors. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29(12):1401-18.
10. Aktories K, Unger C. Mittel zur Behandlung von Tumoren-Tumorchemotherapie. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, editors. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Elsevier GmbH München; 2005, 9th ed. p. 921-960.
11. Andrieu N, Clavel F, Auquier A, Gairard B, Bremond A, Lansac J, Piana L, Flamant R, Renaud R. Association between breast cancer and family malignancies. *Eur J Cancer* 1991;27(3):244-8.
12. Angel P, Karin M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim Biophys Acta* 1991;1072(2-3):129-57.
13. Armas OA, Aprikian AG, Melamed J, Cordon-Cardo C, Cohen DW, Erlandson R, Fair WR, Reuter VE. Clinical and pathobiological effects of neoadjuvant total androgen ablation therapy on clinically localized prostatic adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1994;18(10):979-91.
14. Aus G, Bergdahl S, Hugosson J, Lodding P, Pihl CG, Pileblad E. Outcome of laterally directed sextant biopsies of the prostate in screened males aged 50--66 years. Implications for sampling order. *Eur Urol* 2001;39(6):655-60; discussion 661.
15. Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Konishi H, Karakas B, Blair BG, Lin C, Peters BA, Velculescu VE, Park BH. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. *Cancer Biol Ther* 2004;3(8):772-5.
16. Bagatell R, Khan O, Paine-Murrieta G, Taylor CW, Akinaga S, Whitesell L. Destabilization of steroid receptors by heat shock protein 90-binding drugs: a ligand-independent approach to hormonal therapy of breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7(7):2076-84.

17. Bakin RE, Gioeli D, Sikes RA, Bissonette EA, Weber MJ. Constitutive activation of the Ras/mitogen-activated protein kinase signaling pathway promotes androgen hypersensitivity in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Res* 2003;63(8):1981-9.
18. Baltogiannis D, Giannakopoulos X, Charalabopoulos K, Sofikitis N. Monotherapy in advanced prostate cancer: an overview. *Exp Oncol* 2004;26(3):185-91.
19. Barton BE, Murphy TF, Adem P, Watson RA, Irwin RJ, Huang HF. IL-6 signaling by STAT3 participates in the change from hyperplasia to neoplasia in NRP-152 and NRP-154 rat prostatic epithelial cells. *BMC Cancer* 2001;1:19.
20. Bayoumi AM, Brown AD, Garber AM. Cost-effectiveness of androgen suppression therapies in advanced prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(21):1731-9.
21. Benekli M, Baer MR, Baumann H, Wetzler M. Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias. *Blood* 2003;101(8):2940-54.
22. Beresford MJ, Ravichandran D, Makris A. Neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2007;33(1):48-57.
23. Berishaj M, Gao SP, Ahmed S, Leslie K, Al-Ahmadie H, Gerald WL, Bornmann W, Bromberg JF. Stat3 is tyrosine-phosphorylated through the interleukin-6/glycoprotein 130/Janus kinase pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007;9(3):R32.
24. Bhandari MS, Crook J, Hussain M. Should intermittent androgen deprivation be used in routine clinical practice? *J Clin Oncol* 2005;23(32):8212-8.
25. Bill-Axelson A, Holmberg L, Ruutu M, Haggman M, Andersson SO, Bratell S, Spangberg A, Busch C, Nordling S, Garmo H, Palmgren J, Adami HO, Norlen BJ, Johansson JE. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med* 2005;352(19):1977-84.
26. Blackard CE, Doe RP, Mellinger GT, Byar DP. Incidence of cardiovascular disease and death in patients receiving diethylstilbestrol for carcinoma of the prostate. *Cancer* 1970;26(2):249-56.
27. Bolla M, Collette L, Blank L, Warde P, Dubois JB, Mirimanoff RO, Storme G, Bernier J, Kuten A, Sternberg C, Mattelaer J, Lopez Torecilla J, Pfeffer JR, Lino Cutajar C, Zurlo A, Pierart M. Long-term results with immediate androgen suppression and external irradiation in patients with locally advanced prostate cancer (an EORTC study): a phase III randomised trial. *Lancet* 2002;360(9327):103-6.
28. Borre M, Bentzen SM, Nerstrom B, Overgaard J. Tumor cell proliferation and survival in patients with prostate cancer followed expectantly. *J Urol* 1998;159(5):1609-14.
29. Bostwick DG. Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). *Urology* 1989;34(6 Suppl):16-22.
30. Bostwick DG. Immunohistochemical changes in prostate cancer after androgen deprivation therapy. *Mol Urol* 2000;4(3):101-6;discussion 107.
31. Bostwick DG, Pacelli A, Blute M, Roche P, Murphy GP. Prostate specific membrane antigen expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a study of 184 cases. *Cancer* 1998;82(11):2256-61.
32. Brendler CB. Characteristics of prostate cancer found with early detection regimens. *Urology* 1995;46(3 Suppl A):71-6.
33. Bublej GJ. Is the flare phenomenon clinically significant? *Urology* 2001;58(2 Suppl 1):5-9.
34. Buchele T. [Proapoptotic therapy with oblimersen (bcl-2 antisense oligonucleotide)--review of preclinical and clinical results]. *Onkologie* 2003;26 Suppl 7:60-9.

35. Bullock MJ, Srigley JR, Klotz LH, Goldenberg SL. Pathologic effects of neoadjuvant cyproterone acetate on nonneoplastic prostate, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: a detailed analysis of radical prostatectomy specimens from a randomized trial. *Am J Surg Pathol* 2002;26(11):1400-13.
36. Burd CJ, Morey LM, Knudsen KE. Androgen receptor corepressors and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006;13(4):979-94.
37. Burkhard FC, Schumacher M, Thalmann GN, Studer UE. Is pelvic lymphadenectomy really necessary in patients with a serum prostate-specific antigen level of <10 ng/ml undergoing radical prostatectomy for prostate cancer? *BJU Int* 2005;95(3):275-8.
38. Calo V, Migliavacca M, Bazan V, Macaluso M, Buscemi M, Gebbia N, Russo A. STAT proteins: from normal control of cellular events to tumorigenesis. *J Cell Physiol* 2003;197(2):157-68.
39. Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(8):3367-71.
40. Catalona WJ, Loeb S, Han M. Viewpoint: expanding prostate cancer screening. *Ann Intern Med* 2006;144(6):441-3.
41. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol* 1994;151(5):1283-90.
42. Cattoretti GS, AJH. Antigen Unmasking on Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues Using Microwaves: A Review. *Advances in Anatomic Pathology* 1995;2(1):2-9.
43. Cavarretta IT, Neuwirt H, Untergasser G, Moser PL, Zaki MH, Steiner H, Rumpold H, Fuchs D, Hobisch A, Nemeth JA, Culig Z. The antiapoptotic effect of IL-6 autocrine loop in a cellular model of advanced prostate cancer is mediated by Mcl-1. *Oncogene* 2007;26(20):2822-32.
44. Chan JM, Gann PH, Giovannucci EL. Role of diet in prostate cancer development and progression. *J Clin Oncol* 2005;23(32):8152-60.
45. Charo IF, Myers SJ, Herman A, Franci C, Connolly AJ, Coughlin SR. Molecular cloning and functional expression of two monocyte chemoattractant protein 1 receptors reveals alternative splicing of the carboxyl-terminal tails. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(7):2752-6.
46. Chaudhary KS, Abel PD, Stamp GW, Lalani E. Differential expression of cell death regulators in response to thapsigargin and adriamycin in Bcl-2 transfected DU145 prostatic cancer cells. *J Pathol* 2001;193(4):522-9.
47. Chen CD, Welsbie DS, Tran C, Baek SH, Chen R, Vessella R, Rosenfeld MG, Sawyers CL. Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat Med* 2004;10(1):33-9.
48. Chen T, Wang LH, Farrar WL. Interleukin 6 activates androgen receptor-mediated gene expression through a signal transducer and activator of transcription 3-dependent pathway in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Res* 2000;60(8):2132-5.
49. Chi KN. Targeting Bcl-2 with oblimersen for patients with hormone refractory prostate cancer. *World J Urol* 2005;23(1):33-7.
50. Chu KC, Tarone RE, Freeman HP. Trends in prostate cancer mortality among black men and white men in the United States. *Cancer* 2003;97(6):1507-16.
51. Chung CT, Carlson RW. The role of aromatase inhibitors in early breast cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2003;4(2):133-40.
52. Chung TD, Yu JJ, Kong TA, Spiotto MT, Lin JM. Interleukin-6 activates phosphatidylinositol-3 kinase, which inhibits apoptosis in human prostate cancer cell lines. *Prostate* 2000;42(1):1-7.

53. Coffey DS. Similarities of prostate and breast cancer: Evolution, diet, and estrogens. *Urology* 2001;57(4 Suppl 1):31-8.
54. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005;65(23):10946-51.
55. Comstock CE, Revelo MP, Buncher CR, Knudsen KE. Impact of differential cyclin D1 expression and localisation in prostate cancer. *Br J Cancer* 2007;96(6):970-9.
56. Cordell JL, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, MacDonald S, Pulford KA, Stein H, Mason DY. Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J Histochem Cytochem* 1984;32(2):219-29.
57. Crown J, O'Leary M, Ooi WS. Docetaxel and paclitaxel in the treatment of breast cancer: a review of clinical experience. *Oncologist* 2004;9 Suppl 2:24-32.
58. Cui J, Staples MP, Hopper JL, English DR, McCredie MR, Giles GG. Segregation analyses of 1,476 population-based Australian families affected by prostate cancer. *Am J Hum Genet* 2001;68(5):1207-18.
59. Culig Z, Steiner H, Bartsch G, Hobisch A. Interleukin-6 regulation of prostate cancer cell growth. *J Cell Biochem* 2005;95(3):497-505.
60. Dalkin BL, Ahmann FR, Nagle R, Johnson CS. Randomized study of neoadjuvant testicular androgen ablation therapy before radical prostatectomy in men with clinically localized prostate cancer. *J Urol* 1996;155(4):1357-60.
61. D'Amico AV, Cote K, Loffredo M, Renshaw AA, Schultz D. Determinants of prostate cancer specific survival following radiation therapy during the prostate specific antigen era. *J Urol* 2003;170(6 Pt 2):S42-6; discussion S46-7.
62. Daskivich TJ, Oh WK. Recent progress in hormonal therapy for advanced prostate cancer. *Curr Opin Urol* 2006;16(3):173-8.
63. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol* 1999;155(6):1985-92.
64. Debes JD, Tindall DJ. Mechanisms of androgen-refractory prostate cancer. *N Engl J Med* 2004;351(15):1488-90.
65. Denis LJ, Murphy GP, Schroder FH. Report of the consensus workshop on screening and global strategy for prostate cancer. *Cancer* 1995;75(5):1187-207.
66. Dhand R, Hara K, Hiles I, Bax B, Gout I, Panayotou G, Fry MJ, Yonezawa K, Kasuga M, Waterfield MD. PI 3-kinase: structural and functional analysis of intersubunit interactions. *Embo J* 1994;13(3):511-21.
67. Dhir R, Ni Z, Lou W, DeMiguel F, Grandis JR, Gao AC. Stat3 activation in prostatic carcinomas. *Prostate* 2002;51(4):241-6.
68. Diehl JA. Cycling to cancer with cyclin D1. *Cancer Biol Ther* 2002;1(3):226-31.
69. Drachenberg DE, Elgamal AA, Rowbotham R, Peterson M, Murphy GP. Circulating levels of interleukin-6 in patients with hormone refractory prostate cancer. *Prostate* 1999;41(2):127-33.
70. Eble JS, G; Epstein, JI; Sesterhenn, IA. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. In: World Health Organization Classification of Tumours. Lyon, France: IARC Press; 2004. p. 162-192.

71. Edwards J, Traynor P, Munro AF, Pirret CF, Dunne B, Bartlett JM. The role of HER1-HER4 and EGFRVIII in hormone-refractory prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(1):123-30.
72. Ellis WJ, Brawer MK. The significance of isoechoic prostatic carcinoma. *J Urol* 1994;152(6 Pt 2):2304-7.
73. Engelbrecht MR, Jager GJ, Laheij RJ, Verbeek AL, van Lier HJ, Barentsz JO. Local staging of prostate cancer using magnetic resonance imaging: a meta-analysis. *Eur Radiol* 2002;12(9):2294-302.
74. Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1228-42.
75. Epstein JI, Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Humphrey PA, Mikuz G, Newling D, Nilsson S, Sakr W, Srigley JR, Wheeler TM, Montironi R. Prognostic factors and reporting of prostate carcinoma in radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy specimens. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005(216):34-63.
76. Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones--a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev* 2000;52(4):513-56.
77. Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer* 2001;1(1):34-45.
78. Ferdinandusse S, Denis S, L IJ, Dacremont G, Waterham HR, Wanders RJ. Subcellular localization and physiological role of alpha-methylacyl-CoA racemase. *J Lipid Res* 2000;41(11):1890-6.
79. Fernandez EJ, Lolis E. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002;42:469-99.
80. Fixemer T, Remberger K, Bonkhoff H. Apoptosis resistance of neuroendocrine phenotypes in prostatic adenocarcinoma. *Prostate* 2002;53(2):118-23.
81. Fizazi K. The role of Src in prostate cancer. *Ann Oncol* 2007.
82. Foresta C, Bordon P, Rossato M, Mioni R, Veldhuis JD. Specific linkages among luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and testosterone release in the peripheral blood and human spermatic vein: evidence for both positive (feed-forward) and negative (feedback) within-axis regulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(9):3040-6.
83. Frazier HA, 2nd, Robertson JE, Paulson DF. Does radical prostatectomy in the presence of positive pelvic lymph nodes enhance survival? *World J Urol* 1994;12(6):308-12.
84. Fuessel S, Meye A, Schmitz M, Zastrow S, Linne C, Richter K, Lobel B, Hakenberg OW, Hoelig K, Rieber EP, Wirth MP. Vaccination of hormone-refractory prostate cancer patients with peptide cocktail-loaded dendritic cells: results of a phase I clinical trial. *Prostate* 2006;66(8):811-21.
85. Gao J, Arnold JT, Isaacs JT. Conversion from a paracrine to an autocrine mechanism of androgen-stimulated growth during malignant transformation of prostatic epithelial cells. *Cancer Res* 2001;61(13):5038-44.
86. Gao L, Zhang L, Hu J, Li F, Shao Y, Zhao D, Kalvakolanu DV, Kopecko DJ, Zhao X, Xu DQ. Down-regulation of signal transducer and activator of transcription 3 expression using vector-based small interfering RNAs suppresses growth of human prostate tumor in vivo. *Clin Cancer Res* 2005;11(17):6333-41.
87. Gao N, Zhang Z, Jiang BH, Shi X. Role of PI3K/AKT/mTOR signaling in the cell cycle progression of human prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310(4):1124-32.
88. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133(4):1710-5.

89. Ghersi D, Wilcken N, Simes J, Donoghue E. Taxane containing regimens for metastatic breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005(2):CD003366.
90. Ghosh A, Wang X, Klein E, Heston WD. Novel role of prostate-specific membrane antigen in suppressing prostate cancer invasiveness. *Cancer Res* 2005;65(3):727-31.
91. Gioeli D, Ficarro SB, Kwiek JJ, Aaronson D, Hancock M, Catling AD, White FM, Christian RE, Settlage RE, Shabanowitz J, Hunt DF, Weber MJ. Androgen receptor phosphorylation. Regulation and identification of the phosphorylation sites. *J Biol Chem* 2002;277(32):29304-14.
92. Gioeli D, Mandell JW, Petroni GR, Frierson HF, Jr., Weber MJ. Activation of mitogen-activated protein kinase associated with prostate cancer progression. *Cancer Res* 1999;59(2):279-84.
93. Giorno R. A comparison of two immunoperoxidase staining methods based on the avidin-biotin interaction. *Diagn Immunol* 1984;2(3):161-6.
94. Gleason DF. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol* 1992;23(3):273-9.
95. Gleason DF, Mellinger GT. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol* 1974;111(1):58-64.
96. Gleave ME, Goldenberg SL, Chin JL, Warner J, Saad F, Klotz LH, Jewett M, Kassabian V, Chetner M, Dupont C, Van Rensselaer S. Randomized comparative study of 3 versus 8-month neoadjuvant hormonal therapy before radical prostatectomy: biochemical and pathological effects. *J Urol* 2001;166(2):500-6; discussion 506-7.
97. Gleave ME, Goldenberg SL, Jones EC, Bruchofsky N, Sullivan LD. Biochemical and pathological effects of 8 months of neoadjuvant androgen withdrawal therapy before radical prostatectomy in patients with clinically confined prostate cancer. *J Urol* 1996;155(1):213-9.
98. Gleave ME, Sato N, Goldenberg SL, Stothers L, Bruchofsky N, Sullivan LD. Neoadjuvant androgen withdrawal therapy decreases local recurrence rates following tumor excision in the Shionogi tumor model. *J Urol* 1997;157(5):1727-30.
99. Goktas S, Crawford ED. Optimal hormonal therapy for advanced prostatic carcinoma. *Semin Oncol* 1999;26(2):162-73.
100. Goldacre MJ, Wotton CJ, Seagroatt V, Yeates D. Cancer and cardiovascular disease after vasectomy: an epidemiological database study. *Fertil Steril* 2005;84(5):1438-43.
101. Goldenberg SL, Bruchofsky N. Use of cyproterone acetate in prostate cancer. *Urol Clin North Am* 1991;18(1):111-22.
102. Goldenberg SL, Klotz LH, Srigley J, Jewett MA, Mador D, Fradet Y, Barkin J, Chin J, Paquin JM, Bullock MJ, Laplante S. Randomized, prospective, controlled study comparing radical prostatectomy alone and neoadjuvant androgen withdrawal in the treatment of localized prostate cancer. Canadian Urologic Oncology Group. *J Urol* 1996;156(3):873-7.
103. Gradishar WJ. Tamoxifen--what next? *Oncologist* 2004;9(4):378-84.
104. Green AR, Green VL, White MC, Speirs V. Expression of cytokine messenger RNA in normal and neoplastic human breast tissue: identification of interleukin-8 as a potential regulatory factor in breast tumours. *Int J Cancer* 1997;72(6):937-41.
105. Greene GF, Kitadai Y, Pettaway CA, von Eschenbach AC, Bucana CD, Fidler IJ. Correlation of metastasis-related gene expression with metastatic potential in human prostate carcinoma cells implanted in nude mice using an in situ messenger RNA hybridization technique. *Am J Pathol* 1997;150(5):1571-82.

106. Gregory CW, He B, Johnson RT, Ford OH, Mohler JL, French FS, Wilson EM. A mechanism for androgen receptor-mediated prostate cancer recurrence after androgen deprivation therapy. *Cancer Res* 2001;61(11):4315-9.
107. Gregory CW, Johnson RT, Jr., Mohler JL, French FS, Wilson EM. Androgen receptor stabilization in recurrent prostate cancer is associated with hypersensitivity to low androgen. *Cancer Res* 2001;61(7):2892-8.
108. Grignon DJ, Bostwick DG, Civantos F, Garnick MB, Gaudin P, Srigley JR. Pathologic Handling and Reporting of Prostate Tissue Specimens in Patients Receiving Neoadjuvant Hormonal Therapy: Report of the Pathology Committee. *Mol Urol* 1999;3(3):193-198.
109. Grover PL, Martin FL. The initiation of breast and prostate cancer. *Carcinogenesis* 2002;23(7):1095-102.
110. Gumbiner LM, Gumerlock PH, Mack PC, Chi SG, deVere White RW, Mohler JL, Pretlow TG, Tricoli JV. Overexpression of cyclin D1 is rare in human prostate carcinoma. *Prostate* 1999;38(1):40-5.
111. Gutman ES, EE; Gutman, AB. Significance of increased phosphatase activity at the site of osteoplastic metastases secondary to carcinoma of the prostate gland. *American Journal of Cancer* 1936;28:485-495.
112. Haapala K, Kuukasjarvi T, Hyytinen E, Rantala I, Helin HJ, Koivisto PA. Androgen receptor amplification is associated with increased cell proliferation in prostate cancer. *Hum Pathol* 2007;38(3):474-8.
113. Hackenberg OW, Wirth MP. Prostatatumoren. In: Schmelz HU, Sparwasser C, Weidner W, editors. *Facharztwissen Urologie*. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006, 1st ed.. p. 224.
114. Hadaschik BA, Sowery RD, Gleave ME. Novel targets and approaches in advanced prostate cancer. *Curr Opin Urol* 2007;17(3):182-7.
115. Harboe N, Ingild A. Immunization, isolation of immunoglobulins, estimation of antibody titre. *Scand J Immunol Suppl* 1973;1:161-4.
116. Hawk E, Breslow RA, Graubard BI. Male pattern baldness and clinical prostate cancer in the epidemiologic follow-up of the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(5):523-7.
117. Heidenreich A, Varga Z, Von Knobloch R. Extended pelvic lymphadenectomy in patients undergoing radical prostatectomy: high incidence of lymph node metastasis. *J Urol* 2002;167(4):1681-6.
118. Heinlein CA, Chang C. The roles of androgen receptors and androgen-binding proteins in nongenomic androgen actions. *Mol Endocrinol* 2002;16(10):2181-7.
119. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J* 2003;374(Pt 1):1-20.
120. Helpap B, Kollermann J. [Therapy induced regressive changes of prostate cancer]. *Pathologe* 2004;25(6):461-8.
121. Hendrickson AW, Meng XW, Kaufmann SH. Anticancer therapy: boosting the bang of Bim. *J Clin Invest* 2008;118(11):3582-4.
122. Hobisch A, Rogatsch H, Hittmair A, Fuchs D, Bartsch G, Jr., Klocker H, Bartsch G, Culig Z. Immunohistochemical localization of interleukin-6 and its receptor in benign, premalignant and malignant prostate tissue. *J Pathol* 2000;191(3):239-44.
123. Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol* 1989;142(1):71-4; discussion 74-5.
124. Hoffman RM. Viewpoint: limiting prostate cancer screening. *Ann Intern Med* 2006;144(6):438-40.

125. Holstein AF. Männliche Geschlechtsorgane - Vorsteherdrüse. In: Drenckhahn D, editor. Anatomie, makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie. Urban&Fischer Verlag München Jena, 2003, 16th ed. p. 824-827.
126. Honma S, Shimodaira K, Shimizu Y, Tsuchiya N, Saito H, Yanaihara T, Okai T. The influence of inflammatory cytokines on estrogen production and cell proliferation in human breast cancer cells. *Endocr J* 2002;49(3):371-7.
127. Hoosein NM, Logothetis CJ, Chung LW. Differential effects of peptide hormones bombesin, vasoactive intestinal polypeptide and somatostatin analog RC-160 on the invasive capacity of human prostatic carcinoma cells. *J Urol* 1993;149(5):1209-13.
128. Horoszewicz JS, Leong SS, Kawinski E, Karr JP, Rosenthal H, Chu TM, Mirand EA, Murphy GP. LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res* 1983;43(4):1809-18.
129. Hricak H. MR imaging and MR spectroscopic imaging in the pre-treatment evaluation of prostate cancer. *Br J Radiol* 2005;78 Spec No 2:S103-11.
130. Hsu CH, Cheng AL. Clinical studies with curcumin. *Adv Exp Med Biol* 2007;595:471-80.
131. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29(4):577-80.
132. Hu Y, Benedict MA, Wu D, Inohara N, Nunez G. Bcl-XL interacts with Apaf-1 and inhibits Apaf-1-dependent caspase-9 activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(8):4386-91.
133. Huang HF, Murphy TF, Shu P, Barton AB, Barton BE. Stable expression of constitutively-activated STAT3 in benign prostatic epithelial cells changes their phenotype to that resembling malignant cells. *Mol Cancer* 2005;4(1):2.
134. Huang J, Yao JL, Zhang L, Bourne PA, Quinn AM, di Sant'Agnese PA, Reeder JE. Differential expression of interleukin-8 and its receptors in the neuroendocrine and non-neuroendocrine compartments of prostate cancer. *Am J Pathol* 2005;166(6):1807-15.
135. Huang SN, Minassian H, More JD. Application of immunofluorescent staining on paraffin sections improved by trypsin digestion. *Lab Invest* 1976;35(4):383-90.
136. Hubner A, Barrett T, Flavell RA, Davis RJ. Multisite phosphorylation regulates Bim stability and apoptotic activity. *Mol Cell* 2008;30(4):415-25.
137. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. *J Urol* 2002;167(2 Pt 2):948-51; discussion 952.
138. Inostroza J, Saenz L, Calaf G, Cabello G, Parra E. Role of the phosphatase PP4 in the activation of JNK-1 in prostate carcinoma cell lines PC-3 and LNCaP resulting in increased AP-1 and EGR-1 activity. *Biol Res* 2005;38(2-3):163-78.
139. Inoue K, Slaton JW, Eve BY, Kim SJ, Perrotte P, Balbay MD, Yano S, Bar-Eli M, Radinsky R, Pettaway CA, Dinney CP. Interleukin 8 expression regulates tumorigenicity and metastases in androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6(5):2104-19.
140. Isaacs JS, Xu W, Neckers L. Heat shock protein 90 as a molecular target for cancer therapeutics. *Cancer Cell* 2003;3(3):213-7.
141. Isaacs JT. New strategies for the medical treatment of prostate cancer. *BJU Int* 2005;96 Suppl 2:35-40.
142. Jana S, Blafox MD. Nuclear medicine studies of the prostate, testes, and bladder. *Semin Nucl Med* 2006;36(1):51-72.

143. Janne OA, Moilanen AM, Poukka H, Rouleau N, Karvonen U, Kotaja N, Hakli M, Palvimo JJ. Androgen-receptor-interacting nuclear proteins. *Biochem Soc Trans* 2000;28(4):401-5.
144. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer Statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009.
145. Jiang Z, Woda BA, Rock KL, Xu Y, Savas L, Khan A, Pihan G, Cai F, Babcook JS, Rathanaswami P, Reed SG, Xu J, Fanger GR. P504S: a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001;25(11):1397-404.
146. Johansson JE, Holmberg L, Johansson S, Bergstrom R, Adami HO. Fifteen-year survival in prostate cancer. A prospective, population-based study in Sweden. *Jama* 1997;277(6):467-71.
147. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest Urol* 1979;17(1):16-23.
148. Kantoff PW, Halabi S, Conaway M, Picus J, Kirshner J, Hars V, Trump D, Winer EP, Vogelzang NJ. Hydrocortisone with or without mitoxantrone in men with hormone-refractory prostate cancer: results of the cancer and leukemia group B 9182 study. *J Clin Oncol* 1999;17(8):2506-13.
149. Karan D, Lin MF, Johansson SL, Batra SK. Current status of the molecular genetics of human prostatic adenocarcinomas. *Int J Cancer* 2003;103(3):285-93.
150. Kelly WK, Scher HI. Prostate specific antigen decline after antiandrogen withdrawal: the flutamide withdrawal syndrome. *J Urol* 1993;149(3):607-9.
151. Keyhani-Rofagha S, Vesey-Shecket M. Diagnostic value, feasibility, and validity of preparing cell blocks from fluid-based gynecologic cytology specimens. *Cancer* 2002;96(4):204-9.
152. Khoury S. Testicular androgen ablation. In: Kaisary AV, Murphy GP, Denis L, Griffiths K, editors. *Textbook of Prostate Cancer - Pathology, Diagnosis and Treatment*. Martin Dunitz Ltd, London, 1999. 1st ed., p. 291-302.
153. Kim DJ, Chan KS, Sano S, Digiovanni J. Signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) in epithelial carcinogenesis. *Mol Carcinog* 2007;46(8):725-31.
154. Kim SJ, Uehara H, Karashima T, McCarty M, Shih N, Fidler IJ. Expression of interleukin-8 correlates with angiogenesis, tumorigenicity, and metastasis of human prostate cancer cells implanted orthotopically in nude mice. *Neoplasia* 2001;3(1):33-42.
155. Kinkade CW, Castillo-Martin M, Puzio-Kuter A, Yan J, Foster TH, Gao H, Sun Y, Ouyang X, Gerald WL, Cordon-Cardo C, Abate-Shen C. Targeting AKT/mTOR and ERK MAPK signaling inhibits hormone-refractory prostate cancer in a preclinical mouse model. *J Clin Invest* 2008;118(9):3051-64.
156. Knupfer H, Preiss R. Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer (review). *Breast Cancer Res Treat* 2007;102(2):129-35.
157. Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, Harlow LA, DiPietro LA, Eliner VM, Eliner SG, Strieter RM. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science* 1992;258(5089):1798-801.
158. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256(5517):495-7.
159. Kolar Z, Murray PG, Scott K, Harrison A, Vojtesek B, Dusek J. Relation of Bcl-2 expression to androgen receptor, p21WAF1/CIP1, and cyclin D1 status in prostate cancer. *Mol Pathol* 2000;53(1):15-8.
160. Kolonel LN. Cancer patterns of four ethnic groups in Hawaii. *J Natl Cancer Inst* 1980;65(5):1127-39.

161. Komiya A, Suzuki H, Ueda T, Yatani R, Emi M, Ito H, Shimazaki J. Allelic losses at loci on chromosome 10 are associated with metastasis and progression of human prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 1996;17(4):245-53.
162. Konishi N, Shimada K, Ishida E, Nakamura M. Molecular pathology of prostate cancer. *Pathol Int* 2005;55(9):531-9.
163. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998;4(7):844-7.
164. Krajewska M, Zapata JM, Meinhold-Heerlein I, Hedayat H, Monks A, Bettendorf H, Shabaik A, Bubendorf L, Kallioniemi OP, Kim H, Reifenberger G, Reed JC, Krajewski S. Expression of Bcl-2 family member Bid in normal and malignant tissues. *Neoplasia* 2002;4(2):129-40.
165. Kraus LA, Samuel SK, Schmid SM, Dykes DJ, Waud WR, Bissery MC. The mechanism of action of docetaxel (Taxotere) in xenograft models is not limited to bcl-2 phosphorylation. *Invest New Drugs* 2003;21(3):259-68.
166. Kristal AR, Cohen JH, Qu P, Stanford JL. Associations of energy, fat, calcium, and vitamin D with prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(8):719-25.
167. Kuefer R, Varambally S, Zhou M, Lucas PC, Loeffler M, Wolter H, Mattfeldt T, Hautmann RE, Gschwend JE, Barrette TR, Dunn RL, Chinnaiyan AM, Rubin MA. alpha-Methylacyl-CoA racemase: expression levels of this novel cancer biomarker depend on tumor differentiation. *Am J Pathol* 2002;161(3):841-8.
168. Kurokawa H, Lenferink AE, Simpson JF, Pisacane PI, Sliwkowski MX, Forbes JT, Arteaga CL. Inhibition of HER2/neu (erbB-2) and mitogen-activated protein kinases enhances tamoxifen action against HER2-overexpressing, tamoxifen-resistant breast cancer cells. *Cancer Res* 2000;60(20):5887-94.
169. Lee HH, Warde P, Jewett MA. Neoadjuvant hormonal therapy in carcinoma of the prostate. *BJU Int* 1999;83(4):438-48.
170. Lee LF, Louie MC, Desai SJ, Yang J, Chen HW, Evans CP, Kung HJ. Interleukin-8 confers androgen-independent growth and migration of LNCaP: differential effects of tyrosine kinases Src and FAK. *Oncogene* 2004;23(12):2197-205.
171. Lee SO, Chun JY, Nadiminty N, Lou W, Gao AC. Interleukin-6 undergoes transition from growth inhibitor associated with neuroendocrine differentiation to stimulator accompanied by androgen receptor activation during LNCaP prostate cancer cell progression. *Prostate* 2007;67(7):764-73.
172. Lehrer S, Diamond EJ, Mamkine B, Stone NN, Stock RG. Serum interleukin-8 is elevated in men with prostate cancer and bone metastases. *Technol Cancer Res Treat* 2004;3(5):411.
173. Ley R, Balmanno K, Hadfield K, Weston C, Cook SJ. Activation of the ERK1/2 signaling pathway promotes phosphorylation and proteasome-dependent degradation of the BH3-only protein, Bim. *J Biol Chem* 2003;278(21):18811-6.
174. Li M, Zhang Z, Hill DL, Wang H, Zhang R. Curcumin, a dietary component, has anticancer, chemosensitization, and radiosensitization effects by down-regulating the MDM2 oncogene through the PI3K/mTOR/ETS2 pathway. *Cancer Res* 2007;67(5):1988-96.
175. Lim CP, Cao X. Serine phosphorylation and negative regulation of Stat3 by JNK. *J Biol Chem* 1999;274(43):31055-61.
176. Lim CP, Cao X. Regulation of Stat3 activation by MEK kinase 1. *J Biol Chem* 2001;276(24):21004-11.
177. Lin HK, Wang L, Hu YC, Altuwaijri S, Chang C. Phosphorylation-dependent ubiquitylation and degradation of androgen receptor by Akt require Mdm2 E3 ligase. *Embo J* 2002;21(15):4037-48.

178. Lin MF, Lee MS, Zhou XW, Andressen JC, Meng TC, Johansson SL, West WW, Taylor RJ, Anderson JR, Lin FF. Decreased expression of cellular prostatic acid phosphatase increases tumorigenicity of human prostate cancer cells. *J Urol* 2001;166(5):1943-50.
179. Lin Y, Huang R, Chen L, Li S, Shi Q, Jordan C, Huang RP. Identification of interleukin-8 as estrogen receptor-regulated factor involved in breast cancer invasion and angiogenesis by protein arrays. *Int J Cancer* 2004;109(4):507-15.
180. Link RE, Morton RA. Indications for pelvic lymphadenectomy in prostate cancer. *Urol Clin North Am* 2001;28(3):491-8.
181. Liu AY. Differential expression of cell surface molecules in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2000;60(13):3429-34.
182. Liu JW, Chandra D, Tang SH, Chopra D, Tang DG. Identification and characterization of Bimgamma, a novel proapoptotic BH3-only splice variant of Bim. *Cancer Res* 2002;62(10):2976-81.
183. Lopez GN, Turck CW, Schaufele F, Stallcup MR, Kushner PJ. Growth factors signal to steroid receptors through mitogen-activated protein kinase regulation of p160 coactivator activity. *J Biol Chem* 2001;276(25):22177-82.
184. Lopez-Otin C, Diamandis EP. Breast and prostate cancer: an analysis of common epidemiological, genetic, and biochemical features. *Endocr Rev* 1998;19(4):365-96.
185. Lowsley O. The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder. *Am J Anat* 1912;13:299.
186. Lynch T, Fitzpatrick, JM. Locally advanced prostate cancer - hormonal treatment. In: Hamdy F.C. BJW, Neal D.E, editor. *Management of Urologic Malignancies*. Churchill Livingstone, London 2002. 1st ed., p. 203-205.
187. Maatman TJ, Gupta MK, Montie JE. Effectiveness of castration versus intravenous estrogen therapy in producing rapid endocrine control of metastatic cancer of the prostate. *J Urol* 1985;133(4):620-1.
188. Mackay HJ, Twelves CJ. Protein kinase C: a target for anticancer drugs? *Endocr Relat Cancer* 2003;10(3):389-96.
189. Macklin M. The genetic basis of human mammary cancer. In: *In Proceedings of Second National Cancer Conference*. New York: American Chemical Society; 1954. p. 1074-1087.
190. MacManus CF, Pettigrew J, Seaton A, Wilson C, Maxwell PJ, Berlingeri S, Purcell C, McGurk M, Johnston PG, Waugh DJ. Interleukin-8 signaling promotes translational regulation of cyclin D in androgen-independent prostate cancer cells. *Mol Cancer Res* 2007;5(7):737-48.
191. Margolis L, Hatfill S, Chuaqui R, Vocke C, Emmert-Buck M, Linehan WM, Duray PH. Long term organ culture of human prostate tissue in a NASA-designed rotating wall bioreactor. *J Urol* 1999;161(1):290-7.
192. Martin LA, Pancholi S, Chan CM, Farmer I, Kimberley C, Dowsett M, Johnston SR. The anti-oestrogen ICI 182,780, but not tamoxifen, inhibits the growth of MCF-7 breast cancer cells refractory to long-term oestrogen deprivation through down-regulation of oestrogen receptor and IGF signalling. *Endocr Relat Cancer* 2005;12(4):1017-36.
193. Martin RM, Smith GD, Donovan J. Does current evidence justify prostate cancer screening in Europe? *Nat Clin Pract Oncol* 2005;2(11):538-9.
194. Martinez AA, Pataki I, Edmundson G, Sebastian E, Brabbins D, Gustafson G. Phase II prospective study of the use of conformal high-dose-rate brachytherapy as monotherapy for the treatment of favorable stage prostate cancer: a feasibility report. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;49(1):61-9.

195. Mason JT, O'Leary TJ. Effects of formaldehyde fixation on protein secondary structure: a calorimetric and infrared spectroscopic investigation. *J Histochem Cytochem* 1991;39(2):225-9.
196. Matsushima K, Baldwin ET, Mukaida N. Interleukin-8 and MCAF: novel leukocyte recruitment and activating cytokines. *Chem Immunol* 1992;51:236-65.
197. Maxwell PJ, Gallagher R, Seaton A, Wilson C, Scullin P, Pettigrew J, Stratford IJ, Williams KJ, Johnston PG, Waugh DJ. HIF-1 and NF-kappaB-mediated upregulation of CXCR1 and CXCR2 expression promotes cell survival in hypoxic prostate cancer cells. *Oncogene* 2007.
198. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, Logothetis C, Chung LW, Hsieh JT, Tu SM, Campbell ML. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992;52(24):6940-4.
199. McLachlan RI, Wreford NG, O'Donnell L, de Kretser DM, Robertson DM. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. *J Endocrinol* 1996;148(1):1-9.
200. McNeal JE. Morphogenesis of prostatic carcinoma. *Cancer* 1965;18(12):1659-66.
201. McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol* 1968;49(3):347-57.
202. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate* 1981;2(1):35-49.
203. Melchior SW, Brawer MK. Role of transrectal ultrasound and prostate biopsy. *J Clin Ultrasound* 1996;24(8):463-71.
204. Merrick GS, Wallner KE, Butler WM. Prostate cryotherapy: more questions than answers. *Urology* 2005;66(1):9-15.
205. Mettlin C, Jones GW, Murphy GP. Trends in prostate cancer care in the United States, 1974-1990: observations from the patient care evaluation studies of the American College of Surgeons Commission on Cancer. *CA Cancer J Clin* 1993;43(2):83-91.
206. Mikuz G. Prostatakarzinom. In: Böcker W, Denk H, Heitz PU, editors. *Pathologie*. Elsevier, München. 3rd ed., 2004. p. 895-898.
207. Miller LJ, Kurtzman SH, Wang Y, Anderson KH, Lindquist RR, Kreutzer DL. Expression of interleukin-8 receptors on tumor cells and vascular endothelial cells in human breast cancer tissue. *Anticancer Res* 1998;18(1A):77-81.
208. Mitchell S, Abel P, Ware M, Stamp G, Lalani E. Phenotypic and genotypic characterization of commonly used human prostatic cell lines. *BJU Int* 2000;85(7):932-44.
209. Mongiat-Artus P, Teillac P. Abarelix: the first gonadotrophin-releasing hormone antagonist for the treatment of prostate cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2004;5(10):2171-9.
210. Montironi R, Bostwick DG, Bonkhoff H, Cockett AT, Helpap B, Troncoso P, Waters D. Origins of prostate cancer. *Cancer* 1996;78(2):362-5.
211. Moore BB, Arenberg DA, Stoy K, Morgan T, Addison CL, Morris SB, Glass M, Wilke C, Xue YY, Sitterding S, Kunkel SL, Burdick MD, Strieter RM. Distinct CXC chemokines mediate tumorigenicity of prostate cancer cells. *Am J Pathol* 1999;154(5):1503-12.
212. Moore R. Benign hypertrophy and carcinoma of the prostate: occurrence and experimental production in animals. *Surgery* 1944;16:152-167.
213. Mora LB, Buettner R, Seigne J, Diaz J, Ahmad N, Garcia R, Bowman T, Falcone R, Fairclough R, Cantor A, Muro-Cacho C, Livingston S, Karras J, Pow-Sang J, Jove R. Constitutive activation of Stat3 in human prostate tumors and cell lines: direct inhibition of Stat3 signaling induces apoptosis of prostate cancer cells. *Cancer Res* 2002;62(22):6659-66.

214. Mostofi FK, Davis CJ, Jr., Sesterhenn IA. Pathology of carcinoma of the prostate. *Cancer* 1992;70(1 Suppl):235-53.
215. Mukhopadhyay A, Bueso-Ramos C, Chatterjee D, Pantazis P, Aggarwal BB. Curcumin down-regulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. *Oncogene* 2001;20(52):7597-609.
216. Murillo H, Huang H, Schmidt LJ, Smith DI, Tindall DJ. Role of PI3K signaling in survival and progression of LNCaP prostate cancer cells to the androgen refractory state. *Endocrinology* 2001;142(11):4795-805.
217. Murphy C, McGurk M, Pettigrew J, Santinelli A, Mazzucchelli R, Johnston PG, Montironi R, Waugh DJ. Nonapical and cytoplasmic expression of interleukin-8, CXCR1, and CXCR2 correlates with cell proliferation and microvessel density in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11(11):4117-27.
218. Murphy GP, Greene TG, Tino WT, Boynton AL, Holmes EH. Isolation and characterization of monoclonal antibodies specific for the extracellular domain of prostate specific membrane antigen. *J Urol* 1998;160(6 Pt 2):2396-401.
219. Nanni C, Castellucci P, Farsad M, Rubello D, Fanti S. (11)C/ (18)F-choline PET or (11)C/ (18)F-acetate PET in prostate cancer: may a choice be recommended? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007.
220. Napalkov P, Maisonneuve P, Boyle P. Worldwide patterns of prevalence and mortality from benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1995;46(3 Suppl A):41-6.
221. Narain V, Bianco FJ, Jr., Grignon DJ, Sakr WA, Pontes JE, Wood DP, Jr. How accurately does prostate biopsy Gleason score predict pathologic findings and disease free survival? *Prostate* 2001;49(3):185-90.
222. Nupponen NN, Kakkola L, Koivisto P, Visakorpi T. Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostate carcinomas. *Am J Pathol* 1998;153(1):141-8.
223. Oesterling JE. Radical prostatectomy: the retropubic approach. *Urology* 1996;47(4):460-2.
224. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, Guess HA, Girman CJ, Panser LA, Lieber MM. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *Jama* 1993;270(7):860-4.
225. Ohori M, Scardino PT, Lapin SL, Seale-Hawkins C, Link J, Wheeler TM. The mechanisms and prognostic significance of seminal vesicle involvement by prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 1993;17(12):1252-61.
226. Oka H, Chatani Y, Kohno M, Kawakita M, Ogawa O. Constitutive activation of the 41- and 43-kDa mitogen-activated protein (MAP) kinases in the progression of prostate cancer to an androgen-independent state. *Int J Urol* 2005;12(10):899-905.
227. Onishi T, Yamakawa K, Franco OE, Kawamura J, Watanabe M, Shiraishi T, Kitazawa S. Mitogen-activated protein kinase pathway is involved in alpha6 integrin gene expression in androgen-independent prostate cancer cells: role of proximal Sp1 consensus sequence. *Biochim Biophys Acta* 2001;1538(2-3):218-27.
228. Oyama N, Akino H, Suzuki Y, Kanamaru H, Miwa Y, Tsuka H, Sadato N, Yonekura Y, Okada K. Prognostic value of 2-deoxy-2-[F-18]fluoro-D-glucose positron emission tomography imaging for patients with prostate cancer. *Mol Imaging Biol* 2002;4(1):99-104.
229. Papatsoris AG, Karamouzis MV, Papavassiliou AG. The power and promise of "rewiring" the mitogen-activated protein kinase network in prostate cancer therapeutics. *Mol Cancer Ther* 2007;6(3):811-9.

230. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55(2):74-108.
231. Partin AW, Kattan MW, Subong EN, Walsh PC, Wojno KJ, Oesterling JE, Scardino PT, Pearson JD. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *Jama* 1997;277(18):1445-51.
232. Partin AW, Oesterling JE. The clinical usefulness of prostate specific antigen: update 1994. *J Urol* 1994;152(5 Pt 1):1358-68.
233. Patel BJ, Pantuck AJ, Zisman A, Tsui KH, Paik SH, Caliliw R, Sheriff S, Wu L, deKernion JB, Tso CL, Belldegrun AS. CL1-GFP: an androgen independent metastatic tumor model for prostate cancer. *J Urol* 2000;164(4):1420-5.
234. Pepe P, Panella P, D'Arrigo L, Savoca F, Pennisi M, Aragona F. Should men with serum prostate-specific antigen $<$ or $=$ 4 ng/ml and normal digital rectal examination undergo a prostate biopsy? A literature review. *Oncology* 2006;70(2):81-9.
235. Perner S, Hofer MD, Kim R, Shah RB, Li H, Moller P, Hautmann RE, Gschwend JE, Kuefer R, Rubin MA. Prostate-specific membrane antigen expression as a predictor of prostate cancer progression. *Hum Pathol* 2007;38(5):696-701.
236. Petraki CD, Gregorakis AK, Papanastasiou PA, Karavana VN, Luo LY, Diamandis EP. Immunohistochemical localization of human kallikreins 6, 10 and 13 in benign and malignant prostatic tissues. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2003;6(3):223-7.
237. Petrides PE, Ansorge S. Immunsystem. In: Löffler G, Petrides PE, editors. *Biochemie & Pathobiochemie*. Springer-Verlag, Heidelberg, 2003. 7th ed., p. 1122-1157.
238. Pienta KJ, Bradley D. Mechanisms underlying the development of androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(6):1665-71.
239. Pienta KJ, Smith DC. Advances in prostate cancer chemotherapy: a new era begins. *CA Cancer J Clin* 2005;55(5):300-18; quiz 323-5.
240. Porter AT, McEwan AJ, Powe JE, Reid R, McGowan DG, Lukka H, Sathyanarayana JR, Yakemchuk VN, Thomas GM, Erlich LE. Results of a randomized phase-III trial to evaluate the efficacy of strontium-89 adjuvant to local field external beam irradiation in the management of endocrine resistant metastatic prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993;25(5):805-13.
241. Potosky AL, Kessler L, Gridley G, Brown CC, Horm JW. Rise in prostatic cancer incidence associated with increased use of transurethral resection. *J Natl Cancer Inst* 1990;82(20):1624-8.
242. Poulin R, Baker D, Labrie F. Androgens inhibit basal and estrogen-induced cell proliferation in the ZR-75-1 human breast cancer cell line. *Breast Cancer Res Treat* 1988;12(2):213-25.
243. Prins GS, Birch L. Immunocytochemical analysis of androgen receptor along the ducts of the separate rat prostate lobes after androgen withdrawal and replacement. *Endocrinology* 1993;132(1):169-78.
244. Priulla M, Calastretti A, Bruno P, Amalia A, Paradiso A, Canti G, Nicolin A. Preferential chemosensitization of PTEN-mutated prostate cells by silencing the Akt kinase. *Prostate* 2007;67(7):782-9.
245. Pu YS, Hour TC, Chuang SE, Cheng AL, Lai MK, Kuo ML. Interleukin-6 is responsible for drug resistance and anti-apoptotic effects in prostatic cancer cells. *Prostate* 2004;60(2):120-9.
246. Qiu Y, Ravi L, Kung HJ. Requirement of ErbB2 for signalling by interleukin-6 in prostate carcinoma cells. *Nature* 1998;393(6680):83-5.

247. Raffo AJ, Perlman H, Chen MW, Day ML, Streitman JS, Buttyan R. Overexpression of bcl-2 protects prostate cancer cells from apoptosis in vitro and confers resistance to androgen depletion in vivo. *Cancer Res* 1995;55(19):4438-45.
248. Ragde H, Grado GL, Nadir BS. Brachytherapy for clinically localized prostate cancer: thirteen-year disease-free survival of 769 consecutive prostate cancer patients treated with permanent implants alone. *Arch Esp Urol* 2001;54(7):739-47.
249. Reiland J, Furcht LT, McCarthy JB. CXC-chemokines stimulate invasion and chemotaxis in prostate carcinoma cells through the CXCR2 receptor. *Prostate* 1999;41(2):78-88.
250. Rennie PS, Nelson CC. Epigenetic mechanisms for progression of prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 1998;17(4):401-9.
251. Resnick MI. Radical prostatectomy: the perineal approach. *Urology* 1996;47(4):457-9.
252. Reutens AT, Fu M, Wang C, Albanese C, McPhaul MJ, Sun Z, Balk SP, Janne OA, Palvimo JJ, Pestell RG. Cyclin D1 binds the androgen receptor and regulates hormone-dependent signaling in a p300/CBP-associated factor (P/CAF)-dependent manner. *Mol Endocrinol* 2001;15(5):797-811.
253. Revelos K, Petraki C, Gregorakis A, Scorilas A, Papanastasiou P, Koutsilieris M. Immunohistochemical expression of Bcl2 is an independent predictor of time-to-biochemical failure in patients with clinically localized prostate cancer following radical prostatectomy. *Anticancer Res* 2005;25(4):3123-33.
254. Rohrmann S, Paltoo DN, Platz EA, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Association of vasectomy and prostate cancer among men in a Maryland cohort. *Cancer Causes Control* 2005;16(10):1189-94.
255. Roodman GD. Biology of osteoclast activation in cancer. *J Clin Oncol* 2001;19(15):3562-71.
256. Rubio J, Ramos D, Lopez-Guerrero JA, Iborra I, Collado A, Solsona E, Almenar S, Llombart-Bosch A. Immunohistochemical expression of Ki-67 antigen, cox-2 and Bax/Bcl-2 in prostate cancer; prognostic value in biopsies and radical prostatectomy specimens. *Eur Urol* 2005;48(5):745-51.
257. Ruizeveld de Winter JA, Janssen PJ, Sleddens HM, Verleun-Mooijman MC, Trapman J, Brinkmann AO, Santerse AB, Schroder FH, van der Kwast TH. Androgen receptor status in localized and locally progressive hormone refractory human prostate cancer. *Am J Pathol* 1994;144(4):735-46.
258. Sadar MD, Hussain M, Bruchofsky N. Prostate cancer: molecular biology of early progression to androgen independence. *Endocr Relat Cancer* 1999;6(4):487-502.
259. Sahara S, Aoto M, Eguchi Y, Imamoto N, Yoneda Y, Tsujimoto Y. Acinus is a caspase-3-activated protein required for apoptotic chromatin condensation. *Nature* 1999;401(6749):168-73.
260. Sakr WA, Tefilli MV, Grignon DJ, Banerjee M, Dey J, Gheiler EL, Tiguert R, Powell IJ, Wood DP. Gleason score 7 prostate cancer: a heterogeneous entity? Correlation with pathologic parameters and disease-free survival. *Urology* 2000;56(5):730-4.
261. Salgado R, Junius S, Benoy I, Van Dam P, Vermeulen P, Van Marck E, Huget P, Dirix LY. Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. *Int J Cancer* 2003;103(5):642-6.
262. Sasaki M, Tanaka Y, Perinchery G, Dharia A, Kotcherguina I, Fujimoto S, Dahiya R. Methylation and inactivation of estrogen, progesterone, and androgen receptors in prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(5):384-90.
263. Sato N, Sadar MD, Bruchofsky N, Saatcioglu F, Rennie PS, Sato S, Lange PH, Gleave ME. Androgenic induction of prostate-specific antigen gene is repressed by protein-protein interaction between the androgen receptor and AP-1/c-Jun in the human prostate cancer cell line LNCaP. *J Biol Chem* 1997;272(28):17485-94.

264. Schiemann WP, Bartoe JL, Nathanson NM. Box 3-independent signaling mechanisms are involved in leukemia inhibitory factor receptor alpha- and gp130-mediated stimulation of mitogen-activated protein kinase. Evidence for participation of multiple signaling pathways which converge at Ras. *J Biol Chem* 1997;272(26):16631-6.
265. Schmidt-Kastner R, Aguirre-Chen C, Kietzmann T, Saul I, Busto R, Ginsberg MD. Nuclear localization of the hypoxia-regulated pro-apoptotic protein BNIP3 after global brain ischemia in the rat hippocampus. *Brain Res* 2004;1001(1-2):133-42.
266. Schuringa JJ, Timmer H, Luttickhuizen D, Vellenga E, Kruijer W. c-Jun and c-Fos cooperate with STAT3 in IL-6-induced transactivation of the IL-6 response element (IRE). *Cytokine* 2001;14(2):78-87.
267. Shah RB, Mehra R, Chinnaiyan AM, Shen R, Ghosh D, Zhou M, Macvicar GR, Varambally S, Harwood J, Bismar TA, Kim R, Rubin MA, Pienta KJ. Androgen-independent prostate cancer is a heterogeneous group of diseases: lessons from a rapid autopsy program. *Cancer Res* 2004;64(24):9209-16.
268. Shahidi M, Norman AR, Gadd J, Huddart RA, Horwich A, Dearnaley DP. Recovery of serum testosterone, LH and FSH levels following neoadjuvant hormone cyto-reduction and radical radiotherapy in localized prostate cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2001;13(4):291-5.
269. Shankar S, Srivastava RK. Involvement of Bcl-2 family members, phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT and mitochondrial p53 in curcumin (diferulolylmethane)-induced apoptosis in prostate cancer. *Int J Oncol* 2007;30(4):905-18.
270. Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 1991;39(6):741-8.
271. Shi XB, Ma AH, Xia L, Kung HJ, de Vere White RW. Functional analysis of 44 mutant androgen receptors from human prostate cancer. *Cancer Res* 2002;62(5):1496-502.
272. Shibata A, Whittemore AS. Genetic predisposition to prostate cancer: possible explanations for ethnic differences in risk. *Prostate* 1997;32(1):65-72.
273. Shimizu H, Ross RK, Bernstein L, Yatani R, Henderson BE, Mack TM. Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. *Br J Cancer* 1991;63(6):963-6.
274. Shukla S, MacLennan GT, Hartman DJ, Fu P, Resnick MI, Gupta S. Activation of PI3K-Akt signaling pathway promotes prostate cancer cell invasion. *Int J Cancer* 2007;121(7):1424-32.
275. Shvarts O, Han KR, Seltzer M, Pantuck AJ, Beldegrun AS. Positron emission tomography in urologic oncology. *Cancer Control* 2002;9(4):335-42.
276. Siegall CB, Schwab G, Nordan RP, FitzGerald DJ, Pastan I. Expression of the interleukin 6 receptor and interleukin 6 in prostate carcinoma cells. *Cancer Res* 1990;50(24):7786-8.
277. Signoretti S, Montironi R, Manola J, Altimari A, Tam C, Buble G, Balk S, Thomas G, Kaplan I, Hlatky L, Hahnfeldt P, Kantoff P, Loda M. Her-2-neu expression and progression toward androgen independence in human prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(23):1918-25.
278. Silvano RE, Eliazar S, Wolff NC, Ilaria RL, Jr. Interference with the constitutive activation of ERK1 and ERK2 impairs EWS/FLI-1-dependent transformation. *Oncogene* 2000;19(39):4523-30.
279. Simard J, Dumont M, Labuda D, Sinnott D, Meloche C, El-Alfy M, Berger L, Lees E, Labrie F, Tavtigian SV. Prostate cancer susceptibility genes: lessons learned and challenges posed. *Endocr Relat Cancer* 2003;10(2):225-59.
280. Simon R, Mirlacher M, Sauter G. Tissue microarrays. *Biotechniques* 2004;36(1):98-105.

281. Simons BD, Morrison AS, Young RH, Verhoek-Ofstedahl W. The relation of surgery for prostatic hypertrophy to carcinoma of the prostate. *Am J Epidemiol* 1993;138(5):294-300.
282. Simpson L, Parsons R. PTEN: life as a tumor suppressor. *Exp Cell Res* 2001;264(1):29-41.
283. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244(4905):707-12.
284. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344(11):783-92.
285. Smith PC, Hobisch A, Lin DL, Culig Z, Keller ET. Interleukin-6 and prostate cancer progression. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001;12(1):33-40.
286. Solit DB, Basso AD, Olshen AB, Scher HI, Rosen N. Inhibition of heat shock protein 90 function down-regulates Akt kinase and sensitizes tumors to Taxol. *Cancer Res* 2003;63(9):2139-44.
287. Solit DB, Rosen N. Targeting HER2 in prostate cancer: where to next? *J Clin Oncol* 2007;25(3):241-3.
288. Sonpavde G, Hutson TE. New approaches in hormone refractory prostate cancer. *Am J Clin Oncol* 2006;29(2):196-201.
289. Stamey TA, Johnstone IM, McNeal JE, Lu AY, Yemoto CM. Preoperative serum prostate specific antigen levels between 2 and 22 ng./ml. correlate poorly with post-radical prostatectomy cancer morphology: prostate specific antigen cure rates appear constant between 2 and 9 ng./ml. *J Urol* 2002;167(1):103-11.
290. Stephenson AJ, Eastham JA. Role of salvage radical prostatectomy for recurrent prostate cancer after radiation therapy. *J Clin Oncol* 2005;23(32):8198-203.
291. Stephenson AJ, Scardino PT, Eastham JA, Bianco FJ, Jr., Dotan ZA, Fearn PA, Kattan MW. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(10):715-7.
292. Stephenson AJ, Slawin KM. The value of radiotherapy in treating recurrent prostate cancer after radical prostatectomy. *Nat Clin Pract Urol* 2004;1(2):90-6.
293. Stone KR, Mickey DD, Wunderli H, Mickey GH, Paulson DF. Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). *Int J Cancer* 1978;21(3):274-81.
294. Stone NN, Stock RG, Unger P. Laparoscopic pelvic lymph node dissection for prostate cancer: comparison of the extended and modified techniques. *J Urol* 1997;158(5):1891-4.
295. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000;69:217-45.
296. Sun M, Paciga JE, Feldman RI, Yuan Z, Coppola D, Lu YY, Shelley SA, Nicosia SV, Cheng JQ. Phosphatidylinositol-3-OH Kinase (PI3K)/AKT2, activated in breast cancer, regulates and is induced by estrogen receptor alpha (ERalpha) via interaction between ERalpha and PI3K. *Cancer Res* 2001;61(16):5985-91.
297. Sun M, Yang L, Feldman RI, Sun XM, Bhalla KN, Jove R, Nicosia SV, Cheng JQ. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway by androgen through interaction of p85alpha, androgen receptor, and Src. *J Biol Chem* 2003;278(44):42992-3000.
298. Sung MT, Jiang Z, Montironi R, MacLennan GT, Mazzucchelli R, Cheng L. Alpha-methylacyl-CoA racemase (P504S)/34betaE12/p63 triple cocktail stain in prostatic adenocarcinoma after hormonal therapy. *Hum Pathol* 2007;38(2):332-41.

299. Suzue K, Montag AG, Tretiakova M, Yang XJ, Sahoo S. Altered expression of alpha-methylacyl-coenzyme A racemase in prostatic adenocarcinoma following hormone therapy. *Am J Clin Pathol* 2005;123(4):553-61.
300. Tanaka Y, Gavrielides MV, Mitsuuchi Y, Fujii T, Kazanietz MG. Protein kinase C promotes apoptosis in LNCaP prostate cancer cells through activation of p38 MAPK and inhibition of the Akt survival pathway. *J Biol Chem* 2003;278(36):33753-62.
301. Taplin ME, Rajeshkumar B, Halabi S, Werner CP, Woda BA, Picus J, Stadler W, Hayes DF, Kantoff PW, Vogelzang NJ, Small EJ. Androgen receptor mutations in androgen-independent prostate cancer: Cancer and Leukemia Group B Study 9663. *J Clin Oncol* 2003;21(14):2673-8.
302. Teh BS, Bastasch MD, Mai WY, Kattan MW, Butler EB, Kadmon D. Long-term benefits of elective radiotherapy after prostatectomy for patients with positive surgical margins. *J Urol* 2006;175(6):2097-101; discussion 2101-2.
303. Teng DH, Hu R, Lin H, Davis T, Iliev D, Frye C, Swedlund B, Hansen KL, Vinson VL, Gumpfer KL, Ellis L, El-Naggar A, Frazier M, Jasser S, Langford LA, Lee J, Mills GB, Pershouse MA, Pollack RE, Tornos C, Troncoso P, Yung WK, Fujii G, Berson A, Bookstein R, Bolen JB, Tavtigian SV, Steck PA. MMAC1/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. *Cancer Res* 1997;57(23):5221-5.
304. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Miller GJ, Ford LG, Lieber MM, Cespedes RD, Atkins JN, Lippman SM, Carlin SM, Ryan A, Szczepanek CM, Crowley JJ, Coltman CA, Jr. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N Engl J Med* 2003;349(3):215-24.
305. Timms B. Embryology of the Humane Prostate. In: Naz RK, editor. *Prostate: Basic and clinical aspects*. CRC Press, LLC Boca Raton, New York, 1997, 1st ed., p. 32-35.
306. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, Varambally S, Cao X, Tchinda J, Kuefer R, Lee C, Montie JE, Shah RB, Pienta KJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005;310(5748):644-8.
307. Tovey SM, Witton CJ, Bartlett JM, Stanton PD, Reeves JR, Cooke TG. Outcome and human epidermal growth factor receptor (HER) 1-4 status in invasive breast carcinomas with proliferation indices evaluated by bromodeoxyuridine labelling. *Breast Cancer Res* 2004;6(3):R246-51.
308. Tran TA, Jennings TA, Ross JS, Nazeer T. Pseudomyxoma ovarii-like posttherapeutic alteration in prostatic adenocarcinoma: a distinctive pattern in patients receiving neoadjuvant androgen ablation therapy. *Am J Surg Pathol* 1998;22(3):347-54.
309. Trevino JG, Gray MJ, Nawrocki ST, Summy JM, Lesslie DP, Evans DB, Sawyer TK, Shakespeare WC, Watowich SS, Chiao PJ, McConkey DJ, Gallick GE. Src activation of Stat3 is an independent requirement from NF-kappaB activation for constitutive IL-8 expression in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Angiogenesis* 2006;9(2):101-10.
310. Tsuji M, Murakami Y, Kanayama H, Sano T, Kagawa S. Immunohistochemical analysis of Ki-67 antigen and Bcl-2 protein expression in prostate cancer: effect of neoadjuvant hormonal therapy. *Br J Urol* 1998;81(1):116-21.
311. Tulinius H, Egilsson V, Olafsdottir GH, Sigvaldason H. Risk of prostate, ovarian, and endometrial cancer among relatives of women with breast cancer. *Bmj* 1992;305(6858):855-7.
312. Twillie DA, Eisenberger MA, Carducci MA, Hsieh WS, Kim WY, Simons JW. Interleukin-6: a candidate mediator of human prostate cancer morbidity. *Urology* 1995;45(3):542-9.
313. Ueda T, Bruchovsky N, Sadar MD. Activation of the androgen receptor N-terminal domain by interleukin-6 via MAPK and STAT3 signal transduction pathways. *J Biol Chem* 2002;277(9):7076-85.
314. Uemura H, Ishiguro H, Kubota Y. Angiotensin II receptor blocker: possibility of antitumor agent for prostate cancer. *Mini Rev Med Chem* 2006;6(7):835-44.

315. Uzgare AR, Isaacs JT. Enhanced redundancy in Akt and mitogen-activated protein kinase-induced survival of malignant versus normal prostate epithelial cells. *Cancer Res* 2004;64(17):6190-9.
316. Vallett B. Radical perineal prostatectomy subsequent to bilateral orchidectomy. *Del Med J* 1944;16:19-23.
317. Van der Kwast TH, Tetu B, Fradet Y, Dupont A, Gomez J, Cusan L, Diamond P, Labrie F. Androgen receptor modulation in benign human prostatic tissue and prostatic adenocarcinoma during neoadjuvant endocrine combination therapy. *Prostate* 1996;28(4):227-31.
318. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* 1990;8:253-78.
319. Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology* 2005;47(1):1-16.
320. Varma M, Linden MD, Amin MB. Effect of formalin fixation and epitope retrieval techniques on antibody 34betaE12 immunostaining of prostatic tissues. *Mod Pathol* 1999;12(5):472-8.
321. Venkatakrishnan G, Salgia R, Groopman JE. Chemokine receptors CXCR-1/2 activate mitogen-activated protein kinase via the epidermal growth factor receptor in ovarian cancer cells. *J Biol Chem* 2000;275(10):6868-75.
322. Von Low EC, Perabo FG, Siener R, Muller SC. Review. Facts and fiction of phytotherapy for prostate cancer: a critical assessment of preclinical and clinical data. *In Vivo* 2007;21(2):189-204.
323. Walsh PC, Schlegel PN. Radical pelvic surgery with preservation of sexual function. *Ann Surg* 1988;208(4):391-400.
324. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 1979;17(2):159-63.
325. Wang Q, Wieder R. All-trans retinoic acid potentiates Taxotere-induced cell death mediated by Jun N-terminal kinase in breast cancer cells. *Oncogene* 2004;23(2):426-33.
326. Wawroschek F, Vogt H, Wengenmair H, Weckermann D, Hamm M, Keil M, Graf G, Heidenreich P, Harzmann R. Prostate lymphoscintigraphy and radio-guided surgery for sentinel lymph node identification in prostate cancer. Technique and results of the first 350 cases. *Urol Int* 2003;70(4):303-10.
327. Waxman J, Man A, Hendry WF, Whitfield HN, Besser GM, Tiptaft RC, Paris AM, Oliver RT. Importance of early tumour exacerbation in patients treated with long acting analogues of gonadotrophin releasing hormone for advanced prostatic cancer. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;291(6506):1387-8.
328. Weingartner K, Ramaswamy A, Bittinger A, Gerharz EW, Voge D, Riedmiller H. Anatomical basis for pelvic lymphadenectomy in prostate cancer: results of an autopsy study and implications for the clinic. *J Urol* 1996;156(6):1969-71.
329. Wen Y, Hu MC, Makino K, Spohn B, Bartholomeusz G, Yan DH, Hung MC. HER-2/neu promotes androgen-independent survival and growth of prostate cancer cells through the Akt pathway. *Cancer Res* 2000;60(24):6841-5.
330. Wendell-Smith C. Terminology of the prostate and related structures. *Clin Anat* 2000;13(3):207-13.
331. Winquist E, Berry S. Re: A Randomized, placebo-controlled trial of zoledronic acid in patients with hormone-refractory metastatic prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(15):1183; author reply 1183-1184.
332. Wirth MP, Hakenberg OW, Frohner M. [Treatment of locally advanced prostate cancer]. *Urologe A* 2005;44(11):1295-302.

333. Wittekind C, Klimpfinger M, Sobin LH. TNM-Atlas. In: Wittekind C, Klimpfinger M, Sobin LH, editors. TNM-Atlas. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2005. 6th ed.,p. 1.
334. Wittekind C, Sobin LH. Prostate Carcinoma. In: Wittekind C, Sobin LH, editors. TNM Classification of Malignant Tumours Sixth edition. Wiley-Liss, New York, 2002. 6th ed., p. 184-187.
335. Wood GS, Warnke R. Suppression of endogenous avidin-binding activity in tissues and its relevance to biotin-avidin detection systems. *J Histochem Cytochem* 1981;29(10):1196-204.
336. Woolf CM. An investigation of the familial aspects of carcinoma of the prostate. *Cancer* 1960;13:739-44.
337. Workman P. Inhibiting the phosphoinositide 3-kinase pathway for cancer treatment. *Biochem Soc Trans* 2004;32(Pt 2):393-6.
338. Wu L, Birle DC, Tannock IF. Effects of the mammalian target of rapamycin inhibitor CCI-779 used alone or with chemotherapy on human prostate cancer cells and xenografts. *Cancer Res* 2005;65(7):2825-31.
339. Xie S, Lin HK, Ni J, Yang L, Wang L, di Sant'Agnese PA, Chang C. Regulation of interleukin-6-mediated PI3K activation and neuroendocrine differentiation by androgen signaling in prostate cancer LNCaP cells. *Prostate* 2004;60(1):61-7.
340. Xu W, Ngo L, Perez G, Dokmanovic M, Marks PA. Intrinsic apoptotic and thioredoxin pathways in human prostate cancer cell response to histone deacetylase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(42):15540-5.
341. Xu Y, Chen SY, Ross KN, Balk SP. Androgens induce prostate cancer cell proliferation through mammalian target of rapamycin activation and post-transcriptional increases in cyclin D proteins. *Cancer Res* 2006;66(15):7783-92.
342. Yacoub A, Gilfor D, Hawkins W, Park MA, Hanna D, Hagan MP, Curiel DT, Fisher PB, Grant S, Dent P. MEK1/2 inhibition promotes Taxotere lethality in mammary tumors in vivo. *Cancer Biol Ther* 2006;5(10):1332-9.
343. Yang L, Lin HK, Altuwaijri S, Xie S, Wang L, Chang C. APPL suppresses androgen receptor transactivation via potentiating Akt activity. *J Biol Chem* 2003;278(19):16820-7.
344. Yang L, Wang L, Lin HK, Kan PY, Xie S, Tsai MY, Wang PH, Chen YT, Chang C. Interleukin-6 differentially regulates androgen receptor transactivation via PI3K-Akt, STAT3, and MAPK, three distinct signal pathways in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;305(3):462-9.
345. Yart A, Laffargue M, Mayeux P, Chretien S, Peres C, Tonks N, Roche S, Payrastra B, Chap H, Raynal P. A critical role for phosphoinositide 3-kinase upstream of Gab1 and SHP2 in the activation of ras and mitogen-activated protein kinases by epidermal growth factor. *J Biol Chem* 2001;276(12):8856-64.
346. Yeh S, Lin HK, Kang HY, Thin TH, Lin MF, Chang C. From HER2/Neu signal cascade to androgen receptor and its coactivators: a novel pathway by induction of androgen target genes through MAP kinase in prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(10):5458-63.
347. Yemelyanov A, Czornog J, Chebotaev D, Karseladze A, Kulevitch E, Yang X, Budunova I. Tumor suppressor activity of glucocorticoid receptor in the prostate. *Oncogene* 2007;26(13):1885-96.
348. Young H. A surgeon's autobiography. New York: Harcourt Brace; 1940.
349. Yu KK, Hricak H. Imaging prostate cancer. *Radiol Clin North Am* 2000;38(1):59-85, viii.
350. Zantl N, Weirich G, Zall H, Seiffert BM, Fischer SF, Kirschnek S, Hartmann C, Fritsch RM, Gillissen B, Daniel PT, Hacker G. Frequent loss of expression of the pro-apoptotic protein Bim in renal cell carcinoma: evidence for contribution to apoptosis resistance. *Oncogene* 2007.

351. Zelefsky MJ, Fuks Z, Hunt M, Lee HJ, Lombardi D, Ling CC, Reuter VE, Venkatraman ES, Leibel SA. High dose radiation delivered by intensity modulated conformal radiotherapy improves the outcome of localized prostate cancer. *J Urol* 2001;166(3):876-81.
352. Zhang J, Yang J, Roy SK, Tininini S, Hu J, Bromberg JF, Poli V, Stark GR, Kalvakolanu DV. The cell death regulator GRIM-19 is an inhibitor of signal transducer and activator of transcription 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(16):9342-7.
353. Zhu YS, Sun GH. 5alpha-Reductase Isozymes in the Prostate. *J Med Sci* 2005;25(1):1-12.
354. Ziada A, Barqawi A, Glode LM, Varella-Garcia M, Crighton F, Majeski S, Rosenblum M, Kane M, Chen L, Crawford ED. The use of trastuzumab in the treatment of hormone refractory prostate cancer; phase II trial. *Prostate* 2004;60(4):332-7.
355. Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, Hildesheim A, Nomura AM, West DW, Wu-Williams AH, Kolonel LN, Horn-Ross PL, Rosenthal JF, Hyer MB. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(22):1819-27.
356. Zimmermann S, Moelling K. Phosphorylation and regulation of Raf by Akt (protein kinase B). *Science* 1999;286(5445):1741-4.

J Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau eines TMAs.....	54
Abbildung 2: Racemase-Expression in LNCaP-Zellen (x 200).....	70
Abbildung 3: Racemase-Expression in DU145-Zellen (x 200).....	70
Abbildung 4: Racemase-Expression in PC-3-Zellen (x 200)	70
Abbildung 5: Auswertung Androgenrezeptor im Karzinom: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	71
Abbildung 6: Androgenrezeptor-Expression im benignen Epithel (N) und im Karzinom (T): links unvorbehandelt, rechts vorbehandelt; verschiedene Patienten.....	71
Abbildung 7: Auswertung Androgenrezeptor benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	72
Abbildung 8: Auswertung PSP benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung.....	72
Abbildung 9: Auswertung PSA benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung.....	73
Abbildung 10: PSA-Expression benignes Epithel: links unvorbehandelt, rechts vorbehandelt; verschiedene Patienten	73
Abbildung 11: Auswertung Racemase Tumorgewebe: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	74
Abbildung 12: Racemase-Expression Karzinom: links unvorbehandelt, rechts vorbehandelt; verschiedene Patienten	74
Abbildung 13: Auswertung MAPK Tumorgewebe: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	75
Abbildung 14: MAPK-Expression Karzinom: links unvorbehandelt (Biopsie) , rechts vorbehandelt (Prostatektomiepräparat); gleicher Patient	75
Abbildung 15: Auswertung MAPK benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	76
Abbildung 16: MAPK-Expression benignes Epithel: links unvorbehandelt (Biopsie) , rechts vorbehandelt (Prostatektomiepräparat); gleicher Patient	76
Abbildung 17: Auswertung STAT3 benignes Epithel: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	77
Abbildung 18: STAT3-Expression benignes Epithel: links unvorbehandelt (Biopsie) , rechts vorbehandelt (Prostatektomiepräparat); gleicher Patient	77
Abbildung 19: Auswertung Bim nukleäre Färbung Karzinom: Vorbehandlung - keine Vorbehandlung	78
Abbildung 20: Bim-Expression Tumorgewebe: links unvorbehandelt (nur cytoplasmatische Expression), rechts vorbehandelt (nukleäre Expression); verschiedene Patienten	78
Abbildung 21: Auswertung PSA: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	79
Abbildung 22: Auswertung PSP: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	80
Abbildung 23: Auswertung PSMA: Tumorgewebe - benignes Epithel	80
Abbildung 24: Auswertung Racemase: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	81
Abbildung 25: Auswertung Mib-1: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	81
Abbildung 26: Auswertung CK 5/6: Tumorgewebe - benignes Epithel	82
Abbildung 27: Auswertung PI3K: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	82
Abbildung 28: Auswertung IL-8: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	83
Abbildung 29: Auswertung Cyclin D1: Tumorgewebe - benignes Epithel.....	83
Abbildung 30: Auswertung Bim cytoplasmatische Färbung: Tumorgewebe - benignes Epithel	84

Abbildung 31: Auswertung Bcl-2: Tumorgewebe - benignes Epithel	84
Abbildung 32: Auswertung c-Fos cytoplasmatische Färbung: Tumorgewebe - benignes Epithel	85
Abbildung 33: Auswertung c-Fos nukleäre Färbung: Tumorgewebe - benignes Epithel	85
Abbildung 34: Auswertung IL-6 - STAT3 Tumorgewebe	86
Abbildung 35: Auswertung IL-6 - STAT3 benignes Epithel	87
Abbildung 36: Auswertung IL-6 - PI3K Tumorgewebe	87
Abbildung 37: Auswertung IL-6 - Cyclin D1 Tumorgewebe	88
Abbildung 38: Auswertung IL-6 - Bcl-2 Tumorgewebe	88
Abbildung 39: Auswertung IL-6 - Bcl-2 benignes Epithel	89
Abbildung 40: Auswertung IL-8 - Cyclin D1 benignes Epithel	89
Abbildung 41: Auswertung CXCR1 - CXCR2 benignes Epithel	90
Abbildung 42: Auswertung CXCR1 - PI3K Tumorgewebe	90
Abbildung 43: Auswertung CXCR2 - STAT3 Tumorgewebe	91
Abbildung 44: Auswertung Cyclin D1 - Mib-1 Tumorgewebe	91
Abbildung 45: Auswertung Cyclin D1 - PI3K Tumorgewebe	92
Abbildung 46: Auswertung Cyclin D1 - PI3K benignes Epithel	92
Abbildung 47: Auswertung Cyclin D1 - Bcl-2 benignes Epithel	93
Abbildung 48: Auswertung Bcl-2 - Bim benignes Epithel	93
Abbildung 49: Auswertung Unterschiede Biopsie – Prostatektomiepräparat bei vorbehandelten Patienten	94
Abbildung 50: Auswertung PSA-Rezidiv - Bim im Tumorgewebe	95
Abbildung 51: Darstellung der untersuchten Proteine in ihrer Funktion in den verschiedenen Signalkaskaden	97

K Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beschreibung der Drüsenmuster nach D. F. Gleason	19
Tabelle 2: TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms	21
Tabelle 3: <i>Grading</i> und <i>Staging</i> des Prostatakarzinoms	21
Tabelle 4: Expression der untersuchten Proteine in den Zelllinien laut Literatur	50
Tabelle 5: Verwendete Primärantikörper	67
Tabelle 6: Proteinexpression der Zelllinien in dieser Studie	69

L Danksagung

Keine Schuld ist dringender, als die, Dank zu sagen.

Marcus Tullius Cicero

In diesem Sinne darf ich mich bei den Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke meinem Doktorvater, Herrn Univ-Prof. Dr. med K. H. Höfler für die Übernahme der Betreuung meiner Dissertation.

Ganz besonders bedanke ich mich bei meinem Betreuer, Herrn Dr. med. G. Weirich, für das große Engagement und die immer vorhandene Hilfsbereitschaft im Rahmen dieser Arbeit und beim Erstellen der Dissertation.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. F. Fend für die Bereitstellung und Konzeption des Themas.

Mein Dank gilt auch den Mitarbeitern der Forschungs- und Routinelabors bei der Unterstützung der experimentellen Arbeiten:

Andrea Brütting, Klara Fizi, Anette Haas, Carmen Hansel, Peter Strcelzyk

Ich danke Herrn Dipl. Statistiker T. Schuster für die statistischen Auswertungen und die Hilfestellung bei weiteren statistischen Fragen.

Außerdem möchte ich meiner Familie für die Unterstützung danken, die sie mir im Laufe des gesamten Studiums und darüber hinaus zuteil werden ließ.