

Molekulare Prostatadiagnostik im Urin

Ergebnisse richtig interpretieren

HELMUT BONKHOFF

Das invasiv wachsende Prostatakarzinom hat anatomisch keinen Zugang zum Urin. Das morphologische Substrat eines positiven Urintests sind vielmehr die prostatistischen intraepithelialen Neoplasien (PIN). Vor diesem Hintergrund muss der Stellenwert der molekularen Prostatadiagnostik im Urin diskutiert werden.



© Max Tactic - fotolia.com

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von Genen identifiziert, die in prämaligen Prostataveränderungen (HGPIN, high grade prostatistische intraepitheliale Neoplasie,) und im Prostatakarzinom überexprimiert werden und somit potenzielle Kandidaten für eine molekulare Urindiagnostik darstellen. Dazu gehören:

- AMACR (P504-s),
- EPCA (early prostate cancer antigen),
- Hypermethylierung der Gluthation-s-Transferase 1 (GSTP-1),
- PCA-3,
- TMPRSS2-ERG-Genfusion [1].

Die letzten beiden sind zurzeit die Marker mit dem größten Potenzial für die klinische Anwendung.

PCA-3

PCA-3 ist ein prostataspezifisches Gen, das im Prostatakarzinom auf mRNA-Ebene 10- bis 100-mal stärker exprimiert wird als in der normalen Prostata. PCA-3 ist aber nicht prostatakarzinomspezifisch. Hohe Expressionsraten finden sich auch in HGPIN [2]. Ein positiver PCA-3 im Urin (basierend auf einer quantitativen Bestimmung von PCA-3-mRNA) kann daher prinzipiell nicht zwischen Zellen des Prostatakarzinoms und der HGPIN unterscheiden. In mehreren prospektiven Studien

wurde der klinische Nutzen des PCA-3-Urintests bei Patienten nach einer initial tumorfreien Stanzbiopsie geprüft. Dabei erwies sich der PCA-3-Urintest als deutlich sensitiver für den Tumornachweis in der Zweitbiopsie als das freie PSA [1, 3]. Es fanden sich auch Korrelationen zwischen der Höhe des PCA-3-Score und dem Tumolvolumen und dem Gleason-Grad in der Prostataktomie. Somit ist der PCA-3-Urintest ein viel versprechender Marker nicht nur für die Früherkennung, sondern auch für die prätherapeutische Risikoabschätzung.

TMPS2-ERG-Genfusion

Ein weiterer prognostischer Marker, der im Urin nachgewiesen werden kann, ist die TMPRSS2- ERG-Genfusion. Prostatakarzinome, die diese chromosomale Translokation aufweisen, verhalten sich klinisch aggressiver als die ohne nachweisbare TMPRSS2-ERG-Fusion [1]. Ferner wurde gezeigt, dass alle Tumoren der Patienten, die an einem metastasierten und androgenresistenten Prostatakarzinom verstorben sind, die TMPRSS2-ERG-Fusion besitzen [4]. Dieser letale molekulare Subtyp findet sich bereits in etwa 20% der HGPIN und in 40–60% der klinisch organbegrenzten Prostatakarzinome [4]. HGPIN mit nachgewiesener TMPRSS2-ERG-Fusion sind assoziiert mit TMPRSS2-ERG-Fusion-positiven Prostatakarzi-

nomen und gelten deshalb als High-Risk-Läsionen [5]. Erste Studien zeigen, dass die Kombination von TMPRSS2-ERG mit dem PCA-3-Test die Sensitivität der Prostatakarzinomdiagnostik signifikant erhöht [1].

Unabhängig davon welcher Marker in der molekularen Urindiagnostik eingesetzt wird, stellt sich prinzipiell die Frage nach dem morphologischen Substrat eines positiven Testergebnisses. Mit anderen Worten: Welche Prostatazellen haben einen anatomischen Zugang zum Urin und können einen positiven molekularen Test verursachen?

Morphologische Substrate eines positiven molekularen Urintests

Die Frage nach dem morphologischen Substrat eines positiven Urintests lässt sich nur über die anatomischen Gegebenheiten in der Prostata beantworten. Die Prostata besteht aus einem Gangsystem, einem spezialisierten (hormonabhängigen) Stroma und Kapselgewebe. Das Gangsystem, das sich in die prostatiche Urethra entleert, verzweigt sich in immer kleiner werdende Gangstrukturen, die in terminalen duktulo-azinären Einheiten enden. Das gesamte Hohlsystem der Prostata wird durch das Prostataepithel ausgekleidet. Integraler Bestandteil des Prostataepithels ist die Basalzellschicht, die das sekretorische Epithel vom Stroma abgrenzt. Die Basalzellschicht lässt sich immunhistochemisch mit verschiedenen Basalzellmarker (HMW, P63, CK 5/6) nachweisen. Jede prostatiche Neoplasie, die immunhistochemisch noch Basalzellen aufweist, verfügt über einen anatomischen Zugang zum Gangsystem der Prostata und kann somit theoretisch auch im Urin mit molekularen Methoden nachgewiesen werden. Bei derartigen intraduktalen Neoplasien ergeben sich prinzipiell zwei Differentialdiagnosen, die sich in ihrer prognostischen Wertigkeit grundsätzlich unterscheiden: HGPIN und das intraduktale Prostatakarzinom. HGPIN ist eine fakultative, aber nicht obligate Präkanzerose; das intraduktale Prostatakarzinom signalisiert dagegen eine potenziell aggressive Tumorerkrankung.

Bei der Entstehung des invasiv wachsenden Prostatakarzinoms aus HGPIN geht die Basalzellendifferenzierung definitiv verloren (Abb. 1). Das bedeutet, dass das invasive Prostatakarzinom jeglichen Kontakt mit dem Gangsystem der Prostata verloren hat und deshalb nur dann in den Urin gelangen kann, wenn es sekundär in das Gangsystem der Prostata einbricht. Diesen Vorgang bezeichnet man als intraduktale Tumorausbreitung (Abb. 2). Mit anderen Worten: ein Prostatakarzinom, das sich nicht intraduktal ausbreitet, hat aus den genannten anatomischen Gegebenheiten keinen Zugang zum Urin und kann (mit welchen molekularen Markern auch immer) im Urin nicht nachgewiesen werden.

Intraduktale Tumorausbreitung

Die Untersuchungen von McNeal zeigten, dass sich Prostatakarzinome in Abhängigkeit vom Tumolvolumen in 15–30% der Fälle intraduktal im Gangsystem der Prostata ausbreiten. Dabei korreliert das Ausmaß (Volumen) der intraduktalen Tumorausdehnung signifikant mit den wichtigsten Prognosefaktoren des Prostatakarzinoms (hoher Gleason-Grad, hohes Tumolvolumen, positive Margins, Samenblaseninfiltration (pT3b) und Lymph-

spalteneinbrüche) und stellt einen unabhängigen Risikofaktor für das PSA-Rezidiv dar [6]. Intraduktale Prostatakarzinome gehören zu den High-Risk-Karzinomen (primärer Gleason-Grad 4 oder 5), sind genetisch instabil und enthalten die prognostisch ungünstige TMPRSS2-ERG-Genfusion [7]. Ferner ist zu berücksichtigen, dass intraduktale Prostatakarzinome ohne invasive Anteile zum Zeitpunkt der Prostatektomie extrem selten sind und nahezu immer eine invasive Komponente aufweisen. Die Entität des intraduktalen Prostatakarzinoms ist bis heute nicht universell akzeptiert und wird vielfach noch unter dem Begriff HGPIN subsumiert, was aber aufgrund seiner prognostischen und klinischen Bedeutung nicht zulässig ist [7].

Es kann durchaus vorkommen, dass ein Prostatakarzinom mit intraduktaler Komponente (also ein potenzielles high-risk-Karzinom) in der Erstbiopsie nicht erfasst wurde und dass eben die intraduktale Komponente die Ursache für einen positiven PCA-3-Test darstellt. Viel wahrscheinlicher ist jedoch, dass bei den meisten Patienten nach einer tumorfreien Prostatabiopsie das Vorliegen von HGPIN als Ursache für einen positiven PCA-3-Test angenommen werden muss.

Spezifität von genetischen und molekularbiologischen Tests

Es gibt bislang keinen genetischen oder molekularen Marker, der hinreichend zwischen einem Prostatakarzinom und HGPIN unterscheiden könnte. Dies gilt vor allem auch für die Marker, die heute für die molekulare Urindiagnostik zur Verfügung stehen (PCA-3, EPCA, AMACR, TMPRSS2-ERG-Fusion) [1]. Bemerkenswert ist, dass gewisse genetische und molekularbiologische Veränderungen, die in der Regel erst in aggressiven Prostatakarzinomen auftreten, bereits in HGPIN nachgewiesen werden können. Dazu gehören eine deutlich erhöhte Proliferationsaktivität, die Überexpression von p53, Bcl-2, HER-2/neu, ein aneuploider DNA-Befund und die TMPRSS2-ERG-Fusion. Ein molekulares Staging des Prostatakarzinoms im Urin ist deshalb eingeschränkt, weil die Zellen, die in den Urin gelangen, überwiegend aus HGPIN oder bestenfalls aus einer intraduktalen Ausbreitung eines Prostatakarzinoms stammen und weil sich diese Entitäten weder zytologisch, noch molekularbiologisch, sondern nur am histologischen Präparat unterscheiden lassen.

Wie häufig ist PIN?

Wenn das morphologische Substrat eines positiven molekularen Tests im Urin (z. B. PCA-3) überwiegend PIN entspricht, dann stellt sich die Frage nach der Häufigkeit von prämaligen Prostataveränderungen in der Bevölkerung. Auskunft darüber geben Autopsiestudien, die für die verschiedenen Altersgruppen die Häufigkeit von PIN bzw. HGPIN* in der amerikanischen Bevölkerung ermittelt haben [8]:

- 20–29 Jahre: 9,0 %
- 30–39 Jahre: 22,0%
- 40–49 Jahre: 15,2%*
- 50–59 Jahre: 24,0%*
- 60–69 Jahre: 47,3%*
- 70–79 Jahre: 58,4%*
- 80–89 Jahre: 70,0%*

Abb. 1: Stanzbiopsie mit Übergang von HGPIN in ein mikroinvasives Prostatakarzinom (Gleason 3+3=6). Alle Abschnitte dieser Läsion, die immunhistochemisch noch Basalzellen aufweisen (★), haben noch einen anatomischen Zugang zum Gangsystem und können durch Exfoliation in den Urin gelangen. Bei definitivem Verlust der Basalzellendifferenzierung ist der Übergang in ein invasives Prostatakarzinom vollzogen (→) Diese Tumorzellen haben den anatomischen Zugang zum Gangsystem der Prostata verloren und entziehen sich deshalb jeder molekularen Urindiagnostik.

Abb. 2: Prostatakarzinom mit intraduktaler Ausbreitung (Gleason 4+4=8). Der immunhistochemische Nachweis der Basalzellschicht (→) zeigt den intraduktalen Ausbreitungsmodus dieses Karzinoms, das somit freien Zugang zum Urin hat. Ein positiver PCA-3-Test kann aber nicht zwischen HGPIN und einem intraduktalen Prostatakarzinom unterscheiden.

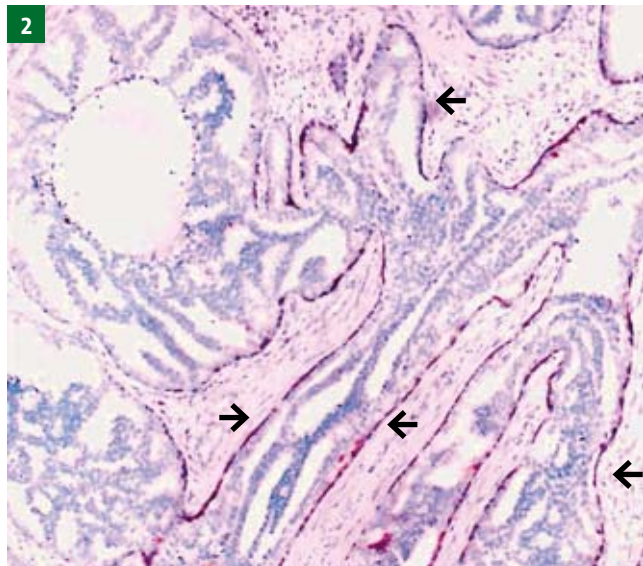
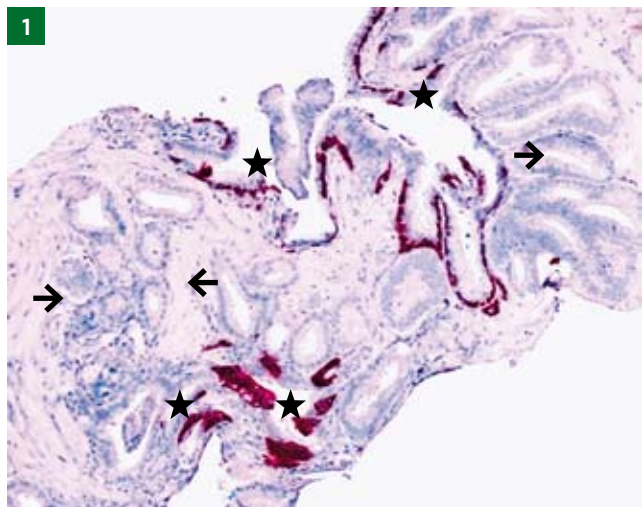
Wegen der durch die postmortale Autolyse eingeschränkten histopathologischen Beurteilbarkeit dürfte die tatsächliche Inzidenz von prämaligen Prostataveränderungen in den verschiedenen Altersgruppen noch höher ausfallen. Wie es auch sei: die Inzidenz des Prostatakarzinoms in den verschiedenen Altersgruppen liegt deutlich unter der von HGPIN. Deshalb muss der PCA-3-Test auch kritisch und im Zusammenhang mit anderen Parametern bewertet werden.

Korreliert der PCA-3-Score mit dem PSA-Wert?

Ungeachtet seiner Größe und Ausdehnung verursacht HGPIN keine Erhöhung des PSA Wertes [8]. Ein erhöhter PCA-3-Score im Urin ist somit kein Korrelat für einen erhöhten PSA-Wert. Auch klinische Studien finden keine Korrelation zwischen dem PCA-3-Score und dem PSA-Wert [3]. Mögliche Korrelate für einen erhöhten PSA-Wert sind allerdings das Prostatavolumen (volumengewichteter PSA-Wert = Prostatavolumen x 0,066), die Prostatitis und das Prostatakarzinom. In Abwesenheit von PSA-relevanten Veränderungen (signifikante Prostatitis in der Erstbiopsie, hohes Prostatavolumen) ist die Höhe des PSA-Wertes ein entscheidender Risikofaktor für das Vorliegen eines Prostatakarzinom bei einem positiven PCA-3-Test im Urin.

Morphologische Korrelate in Stanzbiopsien nach einem positiven Urintest

Man muss davon ausgehen, dass die Höhe des PCA-3-Score direkt mit der Ausdehnung (Volumen) von HGPIN in der Prostata korreliert. In der Stanzbiopsie nach einem positiven Urintest erwartet man zumindest den Nachweis von HGPIN. Ausgedehnte und multifokale HGPIN wären ein adäquates morphologisches Korrelat für einen hohen PCA-3-Score. Bei Diskrepanzen zwischen dem PCA-3-Score und dem Stanzbefund muss man davon ausgehen, dass die Stanzbiopsien die relevanten Areale nicht getroffen haben (sampling error).



Korrelation zwischen PCA-3-Score, Tumolvolumen und Gleason-Grad in der Prostatektomie

Einige Studien finden einen Zusammenhang zwischen dem PCA-3-Score im Urin und dem Tumolvolumen und dem Gleason Grad in der Prostatektomie [10]. Wie lässt sich dies erklären, wenn der PCA-3-Test im Urin das invasive Prostatakarzinom überhaupt nicht erfasst? Es ist bekannt, dass das Ausmaß (Volumen) der HGPIN in der Prostatektomie mit dem Tumolvolumen, dem Gleason Grad und dem pT-Stadium korreliert [8].

Das klinisch insignifikante Prostatakarzinom und molekulare Urindiagnostik

Alle organbegrenzten Prostatakarzinome (pT2) mit einem Tumolvolumen $\leq 0,5 \text{ cm}^3$ und einem Gleason-Score ≤ 6 gelten als klinisch insignifikant. In einer Screeningpopulation (European Randomized Study on Screening for Prostate Cancer, Rotterdam) liegt der Anteil der insignifikanten Prostatakarzinome bei 49% [10,11]. Außerhalb von Screeningpopulationen (z.B.

in Deutschland) geht man von einem Anteil von 20% an insignifikanten Karzinomen aus.

Ein potentiell insignifikantes Karzinom in Stanzbiopsien liegt nach den Untersuchungen von Epstein vor, wenn die folgenden Kriterien zutreffen [12]:

- T1c,
- PSA-Dichte (PSA Wert/Prostatavolumen) < 0,15 ng/ml,
- Gleason-Score ≤ 6,
- weniger als drei Stanzbiopsien sind tumorinfiltriert,
- weniger als 50% einer Stanzbiopsie ist tumorinfiltriert.

Bei Patienten, die diese Kriterien erfüllen, finden sich nach den Daten von Epstein in 74% bis 90% der Fälle insignifikante Prostatakarzinome in der Prostatektomie [12]. Eine Studie aus dem M. D. Anderson Cancer Center zeigte vor kurzem, dass der präoperative PCA-3-Test im Urin signifikant zwischen klinisch insignifikanten (pT2, TV ≤ 0,5 cm³, Gleason-Score ≤ 6) und signifikanten Karzinomen in der Prostatektomie unterscheidet [10]. Dieser Befund ist insofern nicht verwunderlich, weil der Nachweis von multifokalen und ausgedehnten HGPIN in Stanzbiopsien ebenfalls gegen eine insignifikante Erkrankung spricht. In diesem Zusammenhang ist auch die TMPRSS2-ERG-Fusion als molekularer Urintest interessant. Wie bereits dargestellt sind HGPIN mit nachgewiesener TMPRSS2-ERG-Fusion mit TMPRSS2-ERG-positiven Prostatakarzinomen assoziiert, die man wohl kaum als klinisch insignifikante Karzinome einstufen kann [5].

Molekulare Urintests und Prävention

Ein positiver Urintest dokumentiert das Vorliegen von prämaligen Prostataveränderungen. Die Einleitung einer aktiven Prävention (5 α -Reduktase-Inhibitoren, Toremifen, etc.) ist die einzige Möglichkeit, das Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern oder zu verlangsamen. Molekulare Urintests haben auch das Potenzial, die Wirksamkeit von Substanzen mit potenziell chemopräventiven Eigenschaften in klinischen Studien zu prüfen.

Molekulare Urintests und Rezidivdiagnostik nach Bestrahlung

Es ist bekannt, dass HGPIN eine externe Bestrahlung oder Brachytherapie überstehen können. In etwa 10% der Stanzbiopsien nach Bestrahlung sind HGPIN nachweisbar [8]. Diese therapieresistenten HGPIN können freilich einen positiven molekularen Urintest verursachen. Der potenzielle Einsatz von molekularen Urintests in der Rezidivdiagnostik nach Bestrahlung ist deshalb prinzipiell eingeschränkt, weil falsch-positive Ergebnisse verursacht durch HGPIN nicht auszuschließen sind.

Potenzielle Anwendungsbereiche von molekularen Urintests

Bei bestimmten klinischen Fragestellungen könnte der PCA-3-Urintest dazu beitragen, das individuelle Risiko besser einzuschätzen. Dazu gehören:

- PSA-Erhöhung bei BPH-Patienten mit hohem Prostatavolumen,
- PSA-Erhöhung bei klinisch oder histologisch nachgewiesener Prostatitis,

- PSA-Erhöhung unter BCG-Therapie,
- Patienten mit hohem familiären Risiko und normalen PSA Wert,
- Zustand nach tumorfreier Stanzbiopsie,
- stanzbiopsisch gesicherten Prostatakarzinomen mit erheblicher Diskrepanz zwischen dem Stanzbefund (Tumorvolumen, Gleason-Grad, PSA-relevante Veränderungen) und dem PSA Wert,
- potentiell insignifikanten Prostatakarzinomen in der Stanzbiopsie (siehe Epstein-Kriterien).

Offene Fragen

Die Prostatakarzinome der peripheren Zone sind sehr häufig mit HGPIN assoziiert. Weniger klar ist die Beziehung zwischen HGPIN und den Karzinomen der antero-zentralen Zone. Bislang gibt es keine Daten über den Stellenwert der molekularen Urindiagnostik bezüglich der Detektion von antero-zentralen Prostatakarzinomen. Es gibt durchaus klinisch signifikante Prostatakarzinome in der Prostatektomie, die nicht oder kaum mit HGPIN assoziiert sind. Möglich ist, dass diese Karzinome durch die molekulare Urindiagnostik nicht erkannt werden. Mit anderen Worten: Wie hoch ist die falsch-negativ Rate von molekularen Urintests? Es gibt auch Befunde mit ausgedehnten HGPIN in der Prostatektomie und nur herdförmig nachweisbaren (klinisch insignifikanten) Karzinomherden. In diesen Fällen kann ein hoher präoperativer PCA-3-Score das tatsächliche Risiko erheblich verfälschen. Diese offenen Fragen lassen sich nur in Studien klären, in denen der präoperative PCA-3-Score eng mit den Befunden aus der Prostatektomie korreliert wird. Dabei muss berücksichtigt werden, dass weniger das invasive Prostatakarzinom, sondern vielmehr die intraduktalen Neoplasien (HGPIN oder intraduktale Prostatakarzinome) als die maßgebenden Korrelate eines pathologischen PCA-3-Score angesehen werden müssen. Derartige Studien liegen bislang nicht vor.

Fazit

Die molekulare Prostadiagnostik im Urin liefert ein neues, viel versprechendes Instrumentarium für die Risikoeinschätzung bei Patienten nach einer tumorfreien Prostatastanzbiopsie. Die molekularen Befunde, die im Urin erhoben werden können, beziehen sich aber nicht auf das invasive Prostatakarzinom, sondern vielmehr auf HGPIN oder bestenfalls auf die intraduktale Komponente eines Prostatakarzinoms. Die Unterscheidung dieser Entitäten gelingt nur am histologischen Präparat. Diese Einschränkungen müssen bei der Interpretation von molekularen Tests im Urin berücksichtigt werden. Der Stellenwert der molekularen Urindiagnostik für die prätherapeutische Risikoabschätzung (z. B. insignifikantes vs. signifikantes Prostatakarzinom) muss in weiteren Studien geprüft werden.

Literatur beim Verfasser

Prof. Dr. med. Helmut Bonkhoff
Praxis für Pathologie
Tietzenweg 129, 12203 Berlin
E-Mail: info@prostapath.de