

Г. Сардана^{1,2}, Б. Доуэлл³, Э. П. Диамандис^{1,2,4}

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ДИАГНОЗА И ПРОГНОЗА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ОБЗОР)

Статья переведена с разрешения Американской ассоциации клинической химии. Ассоциация не отвечает за точность перевода. Мнение Ассоциации и редакции журнала может не совпадать с мнением авторов публикации. При цитировании статьи просьба ссылаться на оригинальный источник в журнале «Clinical Chemistry».

Emerging Biomarkers for the Diagnosis and Prognosis of Prostate Cancer
Girish Sardana^{1,2}, Barry Dowell³, and Eleftherios P. Diamandis^{1,2,4}

¹ Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada,

² Samuel Lunenfeld Research Institute, Mount Sinai Hospital, Toronto, Ontario, Canada,

³ Abbott Laboratories, Abbott Park, IL;

⁴ Department of Clinical Biochemistry, University Health Network and Toronto Medical Laboratories, Toronto, Ontario, Canada

This article has been translated with the permission of AACC. AACC is not responsible for the accuracy of the translation. The views presented are those of the authors and not necessarily those of AACC or the journal. Reprinted from Clin. Chem. 2008. Vol. 52. P. 1951–1960, by permission of the publisher.

Original Copyright © 2008 American Association of Clinical Chemistry, Inc

When citing this article, please refer to the original publication source in the journal, Clinical Chemistry.

Сокращения: РПЖ — рак предстательной железы (простаты); ДГП — доброкачественная гиперплазия простаты; *f*PSA — свободный специфический для простаты антиген; KLK2 — родственная калликреину пептидаза 2; PSMA — специфический для простаты мембранный антиген; PCA3 — антиген рака простаты; EPCA — ранний антиген рака простаты; AMACR — α -метил-КоА-рацемаза; uPA — активатор урокиназы и плазминогена, uPAR — рецептор uPA; IGF — инсулиноподобный ростовой фактор; IGFBP — белок связывания IGF; TGF — трансформирующий ростовой фактор; PSP94 — секреторный белок-94 простаты; CRISP-3 — богатый цистеином секреторный белок-3; ANXA3 — аннексин А3; PSCA — антиген стволовых клеток простаты; IL-6 — интерлейкин 6

Рак предстательной железы (РПЖ) является самым распространенным раковым заболеванием у мужчин и второй по значимости причиной смерти в Северной Америке. Каждый шестой мужчина находится в группе риска по РПЖ на протяжении жизни, а вероятность смерти от этого заболевания составляет 3,4%. В настоящее время диагноз в большинстве случаев ставится у больных на ранней бессимптомной стадии заболевания. Вследствие такого диагностического сдвига классические подходы к прогнозу, такие как таблицы Партэна (Partin) и номограммы Каттана (Kattan), уже не столь эффективны, как в прошлом. Внимание сейчас сместилось от раннего выявления к определению клинического значения опухолей на ранней стадии. Одна из задач при этом состоит в отыскании путей выявления клинически значимых опухолей, способных к метастазированию. В настоящее время 30% опухолей, удаляемых при радикальной простатэктомии, признаются клинически незначимыми и не требующими вмешательства такого объема. В большинстве случаев выявляется латентный неагрессивный РПЖ, поэтому важно не подвергать этих больных радикальному лечению. Сдерживание РПЖ возможно при ранней диагностике и должном лечении, однако соответствующий уровень диагностической изоэссенности пока еще не достигнут.

Биомаркером, используемым в настоящее время для ранней диагностики РПЖ, является специфический для простаты антиген (PSA). Он считается луч-

шим из биомаркеров, известных в онкологии, но при этом имеет множество недостатков. Исходно PSA использовали для мониторинга больных РПЖ, и только позже его применение было распространено на скрининг. Открытие PSA и его внедрение в клинику в начале 1990-х гг. XX в. оказало огромное влияние на раннюю диагностику РПЖ и стало причиной увеличения документированной заболеваемости РПЖ. В настоящее время PSA используют как диагностический маркер, но его уровни все больше признаются отражающими риск РПЖ. Верхний предел нормы установлен на уровне 4 мкг/л, что не позволяет выявлять многие случаи рака, и в проекте «Испытание профилактики рака простаты» был сделан вывод о том, что никакая концентрация PSA не исключает наличия рака. Определение общего PSA оказалось полезным прогностическим средством, причем высокие дооперационные уровни связаны с далеко зашедшим заболеванием и плохим прогнозом. Противоречия вокруг PSA сейчас активно обсуждаются, поскольку неясно, привел ли скрининг на PSA к снижению смертности от РПЖ. Ответ на вопрос, снижает ли скрининг на PSA смертность, должен быть получен по результатам проведенных в 2008–2009 гг. двух крупных рандомизированных проспективных клинических исследований «Европейское рандомизированное исследование скрининга на рак простаты» и «Изучение скрининга на рак простаты, легких, прямой и ободочной кишки и яичников». Соотношение между PSA и стадией опу-

холи также неясно. Уровень *PSA* в ткани снижается с увеличением коэффициента Глисона, но концентрации *PSA* в сыворотке при этом растут из-за разрывов базальной мембраны вокруг эпителиальных клеток простаты и нарушения общего строения ткани простаты. *PSA* неспецифичен в отношении РПЖ и может служить маркером доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) и увеличения ее объема. Однако ключевые статистические оценки его адекватности оказались непоказательными: при позитивных предсказательных величинах, получаемых в 37 % случаев, для больных в «серой» зоне 4–10 мкг/л вероятность скрытого РПЖ составляет 25 %, и РПЖ выявляется у 15 % больных с концентрацией *PSA* <4 мкг/л. Неадекватность *PSA* в качестве маркера вызвала необходимость в новых маркерах РПЖ для предотвращения чрезмерных терапевтических мер в отношении вялотекущего заболевания. Вдобавок к диагностическим маркерам, нужны прогностические, предсказательные и терапевтические маркеры в качестве суррогатных конечных показателей для предсказания тяжести заболевания, выбора лечения и мониторинга ответа на терапию, соответственно. В этом обзоре основное внимание будет направлено на новые маркеры, которые выглядят перспективными для раннего выявления и лечения РПЖ (табл. 1).

Производные от уровня *PSA*

Стало ясно, что рабочие характеристики *PSA* требуют улучшения. Один из подходов для достижения этой цели состоит в определении производных от уровней *PSA*, в том числе скорости изменения *PSA* со временем, соотношения концентрации и объема простаты («плотность» *PSA*) и интервалов уровней *PSA*, специфичных для разных возрастных групп. Вдобавок, успехи в определении *PSA* и родственных ему белков сделали возможным определение доли свободного *PSA* (*fPSA*), представляющего собой соотношение свободного и общего *PSA*. В частности, было продемонстрировано значение доли *fPSA* в качестве предсказательного признака поздних стадий РПЖ. Другие варианты включают определение комплексов *PSA* с α_2 -макроглобулином, α_1 -антихимотрипсином, а также разных продуктов расщепления *PSA*, таких как [-2]*proPSA* и *bPSA*.

Человеческая родственная калликреину пептидаза-2

Человеческая родственная калликреину пептидаза-2 (*KLK2*, прежде известная как *hK2*) является секретруемой сериновой протеиназой, ген которой относится к тому же семейству, что и ген *PSA*. Из данных по тканям РПЖ следует, что *KLK2* повышается по мере его прогрессирования и поэтому может служить в качестве биомаркера РПЖ. Из данных

по сыворотке следует, что диагноз РПЖ улучшается при использовании *KLK2* в сочетании с общим *PSA* и *fPSA*, особенно в том, что касается экстракапсулярного распространения и объема опухоли. Также *KLK2*, при сравнении с *PSA*, дает важную независимую прогностическую информацию о риске рецидивов РПЖ при уровне *PSA* ≤ 10 мкг/л. Для выяснения прогностического потенциала *KLK2* необходима дополнительная апробация этого маркера.

Специфический для предстательной железы мембранный антиген

Специфический для простаты мембранный антиген (prostate-specific membrane antigen, *PSMA*) является мембранным гликопротеином, который обнаруживается в высоких концентрациях в эпителиальных клетках здоровых лиц и больных РПЖ. Оказалось, что относительная продукция *PSMA* повышена в эпителиальных клетках ткани РПЖ. Фирма «Cytogen» разработала коммерческий тест для визуализации *PSMA* (ProstaScint) радиоиммуноскинтиграфией. Наконец, *PSMA* исследован в качестве терапевтической мишени антител, конъюгированных с радиоизотопами или оксинами, или активированными дендритными клетками против *PSMA*. Использование *PSMA* еще не стало принятым в клинической практике, и его возможности для диагностики и терапии все еще находятся в разработке.

Другие тканевые калликреины

До недавнего времени только *KLK3* (родственная калликреину пептидаза-3, причем именно она прежде была известна как *PSA*), *KLK2* (родственная калликреину пептидаза-2) и *KLK1* (каликреин-1, также известный как панкреатический/почечный калликреин) были генами, идентифицированными в калликреиновом локусе на хромосоме 19. Известно, что этот локус простирается на 300 тыс. пар нуклеотидов и состоит из 15 генов, имеющих значительную гомологию и сходство нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Вдобавок к *KLK2*, другие калликреины оказались полезными в качестве биомаркеров РПЖ и других заболеваний. Восемь калликреинов образуются в относительно высоких концентрациях в тканях простаты: *KLK 2-4*, 10-13 и 15. Из их числа *KLK11* в сочетании с *PSA* и долей *fPSA* продемонстрировал способность несколько улучшать предсказуемость РПЖ.

Антиген рака предстательной железы 3

Антиген рака простаты 3 (*PCA3*), также известный как *DD3*, является некодирующей РНК, образующейся исключительно в простате. Сильно повышенные уровни *PCA3* присутствуют в тканях РПЖ,

Таблица 1

Список кандидатов в биомаркеры рака предстательной железы и их возможное клиническое применение

Кандидат в биомаркеры	Проверенная клиническая применимость
<i>KLK2</i>	Диагностическое и прогностическое предсказание экстракапсулярного распространения опухоли, объема опухоли и рецидивов по биохимическим признакам
<i>PSMA</i>	Визуализация, терапевтическая мишень
<i>KLK11</i>	Ранний сывороточный предсказательный признак РПЖ
<i>PCA3</i>	Биомаркер РПЖ, определяемый в моче
<i>EPCA / EPCA-2</i>	Иммуногистохимическое выявление РПЖ, сывороточный маркер для дифференциации локального и метастатического РПЖ
<i>AMACR</i>	Выявление РПЖ по аутоантителам, иммуногистохимическое выявление, прогностический признак смертности и рецидивов по биохимическим признакам
<i>uPA / uPAR</i>	Повышенные концентрации в тканях и сыворотке предсказывают биохимические рецидивы и метастазы
<i>IGF / IGFBP</i>	<i>IGF-1</i> слегка повышен в сыворотке при РПЖ, концентрации <i>IGFBP</i> находятся в обратной корреляции с прогрессией РПЖ
<i>TMPRSS2:ERG / ETV1</i>	Выявляются на повышенных уровнях в моче у больных РПЖ и интраэпителиальной неоплазией <i>in situ</i> , слияние генов выявляется в тканях РПЖ флуоресцентной гибридизацией <i>in situ</i>
<i>TGFβ- 1</i>	Повышение иммуногистохимического окрашивания и уровня в сыворотке крови по мере прогрессии РПЖ и рецидивов по биохимическим признакам
<i>EZY2</i>	Экспрессия гена в тканях РПЖ является предсказательным признаком прогрессии
<i>GSTP1</i>	Выявление гиперметилирования промотора этого гена для оценки целесообразности биопсии
<i>PSP94</i>	Предсказательный признак индекса Глисона и рецидивов по биохимическим признакам после локальной операции
<i>CRISP-3</i>	Повышенная гистохимическая окрашиваемость ткани простаты у мужчин с сильно трансформированной интраэпителиальной неоплазией, независимый предсказательный признак рецидивов РПЖ
Хромогранин А	Мониторинг больных с независимым от андрогенов РПЖ с нейроэндокринной дифференциацией на поздних стадиях
Пептидный фактор высвобождения прогастринина	Мониторинг больных с метастатическим РПЖ, имеющим нейроэндокринные и независимые от андрогенов фенотипы
<i>E</i> -кадгерин	Сниженная иммуногистохимическая экспрессия при РПЖ коррелирует со стадией сниженной выживаемости
Аннексин А3	Сниженное образование в тканях РПЖ по результатам иммуногистохимии, прогностический признак риска
<i>PSCA</i>	Иммуногистохимический маркер, коррелирующий с индексом Глисона и стадией, терапевтическая мишень
Гепсин	Иммуногистохимическое выявление интраэпителиальной неоплазии и РПЖ в отличие от ДГПЖ
Интерлейкин 6	Повышенные концентрации в сыворотке на поздних стадиях РПЖ

ОБЗОРЫ

в том числе в метастазах, при сравнении с тканями ДГПЖ. Существует несколько способов определения *PCSA3* в моче. Единственным имеющимся в продаже тестом является АРТИМА® (Gene-Probe), основанный на ПЦР. Результаты определения *PCSA3* нормализуют относительно концентрации *PSA*. В недавнем исследовании с участием нескольких учреждений на пациентах, подвергаемых биопсии, которое включало анализ *PCSA3* в моче после массажа простаты, уровнем отсечения было отношение 58, при этом площадь под кривой соотношения истинноположительных и ложноположительных результатов (receiver operating characteristic curve, *ROC curve*) была 0,66 против 0,57 для *PSA*. В исследовании 223 больных, подвергнутых повторным биопсиям после получения отрицательного результата биопсии, для *PCSA3* была определена площадь под кривой *ROC* 0,68, а диагностическая чувствительность и специфичность определены как 58 и 72%, соответственно. Этот тест может оказаться полезным в улучшении диагностической специфичности *PSA*. Сочетание *PCSA3* еще с тремя биомаркерами в моче (*GPLDPH2*, *SPINK1* и продукт слитного гена *TMPRSS2:EGR*) улучшает диагностическую специфичность и чувствительность в сравнении только с *PCSA3*.

Ранние антигены РПЖ

С канцерогенезом связаны изменения в белках ядерного матрикса. Ранний антиген рака простаты (*EPСА*) является белком ядерного матрикса, который исходно был выявлен при построении протеомного профиля ткани простаты крысы. Позже он оказался перспективным в плане диагностического маркера РПЖ. Иммуногистохимические исследования биопсий ткани РПЖ при использовании аутоантител к *EPСА* показали повышение окрашиваемости относительно непораженных участков. Такой эффект наблюдался и в непораженных участках, прилегающих к опухлевой ткани, и в 86% проб ткани РПЖ. *EPСА* помогает в идентификации больных с риском РПЖ при отрицательных результатах биопсии. Недавно разрабатанный анализ крови на *EPСА* продемонстрировал диагностическую чувствительность 92% и точность 94% в небольшой когорте из 12 больных РПЖ и 34 здоровых лиц. В другом исследовании, где белок *EPСА-2* определялся в сыворотке, чувствительность и специфичность по выявлению РПЖ определены в 92 и 94%, соответственно, причем *EPСА-2* оказался способным дифференцировать локализованный и метастатический РПЖ, в каком случае площадь под кривой *ROC* определена как 0,89. Эти многообещающие результаты надо подтвердить более крупными независимыми исследованиями, однако выявлены и диагностические недостатки этих маркеров, заставляющие сомневаться в их ценности.

 α -Метилацил-КоА-рацемеза

α -Метилацил-КоА-рацемеза (*AMACR*) является ферментом, участвующим в окислительном метаболизме и синтезе жирных кислот с разветвленной цепью, которые обнаруживаются в молочных продуктах и мясе. Кроме того, что этот фермент образуется в больших количествах в ткани РПЖ, он еще и кодируется геном, который локализован в области 5p13.3, которая содержит полиморфизмы, связанные с РПЖ. Метаанализ данных по одновременному определению экспрессии большого числа генов определенно показал, что экспрессия *AMACR* повышена в РПЖ. Совместно проведенное в нескольких учреждениях исследование показало, что иммуногистохимическое окрашивание на *AMAP* может помочь в различении между злокачественной и доброкачественной тканями рака простаты с диагностической чувствительностью 97% и специфичностью 92%. Сниженная продукция *AMACR* имеет прогностическую ценность для предсказания биохимических рецидивов РПЖ и смерти от последнего. Концентрации мРНК и *AMACR* в сыворотке крови и моче определяют обратнотранскриптазной ПЦР. Концентрация белка *AMACR* в сыворотке низкая, но он был выявлен в моче Вестерн-блоттингом. Повышенные концентрации аутоантител к *AMACR* помогают в различении больных РПЖ и здоровых лиц в интервале *PSA* 4–10 мкг/л. У этого теста диагностическая чувствительность оказалась 62%, а специфичность 72%. Для полного выяснения потенциала *AMACR* в качестве биомаркера РПЖ проводятся дополнительные исследования.

Активатор и рецептор урокиназы и плазминогена

С прогрессией рака связана деградация внеклеточного матрикса, в этом процессе принимает участие каскад реакций, включающий активацию урокиназы и плазминогена. Плазминоген превращается в активную форму плазмина через активацию сериновой протеиназы, известной как активатор урокиназы и плазминоген (*uPA*), и ее связывание с рецептором (*uPAR*). Продемонстрировано повышение концентрации *uPA* у больных РПЖ и ДГПЖ в сравнении со здоровыми лицами, хотя статистически достоверная связь с РПЖ отсутствовала. Комбинации выявления изоформ *uPAR* с выявлением *KLK2* и изоформ *PSA* улучшили, по результатам анализа с использованием однопараметрических и многопараметрических моделей, способность предсказывать результаты биопсии у больных с повышенными концентрациями *PSA*. Повышенные концентрации *uPAR* в ткани РПЖ ассоциированы с остеобластными метастазами, а также с далеко зашедшей прогрессией РПЖ. Повышены концентрации *uPa* и *uPAR* в сыворотке

крови больных РПЖ с метастазами в кость. В этих исследованиях сообщается, что предоперационные уровни *uPA* в плазме являются предсказательным признаком рецидивов по биохимическим признакам и метастазирования и указывают на наличие отдаленных метастазов на момент локальной терапии. Для выяснения прогностического потенциала *uPa* и *uPAR* нужны крупные проспективные исследования прогрессии и метастазирования РПЖ после предоперационного обследования.

Инсулиноподобные факторы роста и связывающие их белки

Имеется связь между РПЖ и сывороточными концентрациями инсулиноподобных факторов роста (*IGF*) и белков, которые их связывают (*IGFBP*). Семейство *IGF* состоит из двух белков (*IGF-1* и *IGF-2*), которые могут связываться с двумя рецепторами (*IGFR1* и *IGFR-2*) и шестью связывающими белками (*IGFBP 1-6*). Повышенные концентрации *IGF-1* и сниженные концентрации *IGFBP-3* коррелируют с повышенным риском развития РПЖ. Концентрации *IGF-1* возрастают с повышением риска РПЖ незначительно, и в этом отношении не превосходят *PSA* в качестве маркера, однако эти результаты не получили подтверждения в других исследованиях. Основным *IGFBP*, продуцируемым простатой, является *IGFBP-2*, и он тоже повышается при РПЖ, хотя в локализованных опухолях его уровни обратно коррелируют с их размером и прогрессией. Концентрация *IGFBP-3* в сыворотке обратно коррелирует с наличием метастазов в кость, но при этом нет разницы между больными с локализованным РПЖ и здоровыми лицами.

Слитные гены *TMPRSS2:ERG* и *TMPRSS2:ETV1*

В развитии раковых заболеваний, особенно гематологических, принимают участие генные перестройки. Одна такая перестройка затрагивает гены транскрипционных факторов *ERG* (гомолог онкогена *v-ets* вируса *E26* эритробластома у птиц) (локус *21q22.2*), *ETV1* (вариант 1 *ets*) (локус *7p21.1*) и ген, кодирующий заякоренную в мембране сериновую протеиназу *TMPRSS2*, который локализован в локусе *21q22.3*. По результатам анализа профиля выпадающих цитогенетических результатов, связанных с раком (cancer outlier profile analysis, *COPA*), эта перестройка происходит в 80% случаев РПЖ. Слитный продукт этих генов выявляется у 42% больных РПЖ, у 20% больных с интраэпителиальной неоплазией простаты и редко — при ДГПЖ. В проспективном исследовании, в котором 252 больных РПЖ на стадии *T1a/b* наблюдали в течение 9 лет, слитный продукт *TMPRSS2:ERG* был более сильно, чем *TMPRSS2:ETV1*, связан с индексом

Глисона выше 7, с метастазами и со смертью от РПЖ. Изоформа *TMPRSS2:ERG* была продемонстрирована флюоресцентной гибридизацией *in situ* в 80–95% образцов ткани РПЖ и может быть потенциальной терапевтической мишенью. Вдобавок, с неблагоприятным прогнозом связанной оказалась повышенная продукция *SPINK1*, сериновой протеиназы, могущей способствовать инвазии опухоли у больных, негативных по *TMPRSS2:ETV1*.

Трансформирующий ростовой фактор- β_1

Трансформирующий ростовой фактор- β_1 (*TGF- β_1*) является ростовым фактором широкого действия, участвующим во множестве молекулярных процессов, таких как клеточная дифференциация, иммунный ответ, ангиогенез и пролиферация. Исследования на моделях РПЖ продемонстрировали роль *TGF- β_1* в прогрессии РПЖ. Повышенные концентрации *TGF- β_1* в тканях РПЖ коррелируют со стадией и степенью трансформации и с метастазами в лимфатические узлы. С помощью иммуоферментного анализа для определения предоперационных концентраций *TGF- β_1* в плазме показано, что уровень этого фактора повышен у больных РПЖ и коррелирует с экстракапсулярным распространением, инвазией в семенные пузырьки, метастазами и биохимическими рецидивами. Таким образом, *TGF- β_1* может быть полезным прогностическим маркером РПЖ.

Энхансер гомолога-2 белка *Zeste*

EZH2 (энхансер гомолога-2 белка *Zeste* дрозофил) кодирует белок, относящийся к семейству *polycomb*, участвующему в регуляции экспрессии генов. Определение профиля экспрессии белков в тканях РПЖ, полученных аутопсией, показало, что у больных, умерших от метастатического РПЖ, *EZH2* обнаруживали в метастазах РПЖ в больших количествах, чем в локализованном РПЖ и ДГПЖ. Этот маркер превосходит предоперационные концентрации *PSA* и показатель Глисона в определении прогрессии РПЖ. Применение этого маркера в сочетании с *E*-кадхерином предсказывает рецидивы РПЖ после местной терапии. Разработка способов его определения в сыворотке должна помочь при оценке этого кандидата в маркеры для идентификации пациентов с риском развития метастатического заболевания.

Гиперметилирование гена глутатион-S-трансферазы

К развитию РПЖ причастно гиперметилирование генов-супрессоров опухолей по нуклеотидным кластерам *CpG* в их промоторах. Фермент глутатион-S-трансфераза π защищает ДНК от свободнорадикального повреждения. Сниженная экспрессия гена *GSTP1* по

ОБЗОРЫ

причине гиперметилирования его промотора неизменно обнаруживается при РПЖ, ее определение в осадке мочи может указывать на необходимость в биопсии. Этот анализ усовершенствован добавлением массажа простаты перед сбором мочи. Таким же образом изучены целые наборы генов, включающие *GSTP1*.

Секреторный белок 94 простаты и связывающий его белок

Секреторный белок 94 простаты (*PSP94*), также известный как β -микросеминопротеин, присутствует в больших количествах в сперме и играет роль в клеточной пролиферации и апоптозе. В связанном виде *PSP94* существует в виде комплекса с *PSP94*-связывающим белком. Соотношение общего и свободного *PSP94* и концентрация *PSP94*-связывающего белка в сыворотке у больных РПЖ после локальной операции коррелируют с показателем Глисона, биохимическими признаками рецидивов. Для оценки этого кандидата в биомаркеры все еще требуются большие проспективные исследования.

Богатый цистеином секреторный белок 3

Богатый цистеином секреторный белок 3 (*CRISP-3*) образуется в мужских половых путях, где участвует в созревании спермы. Его большие количества выявлены в плазме спермы. Вдобавок, окрашивание ткани простаты на *CRISP-3* показало возрастание его уровня при сильно трансформированных интраэпителиальных неоплазиях в нескольких пробах ткани РПЖ. Ассоциация между *CRISP-3* и РПЖ была проверена в связи с определением β -микросеминопротеина в тканях, полученных при радикальной простатэктомии. Оказалось, что *CRISP-3* является независимым предсказательным признаком рецидивов РПЖ. Таким образом, этот белок можно считать новым тканевым маркером для прогноза РПЖ.

Маркеры нейроэндокринной дифференциации

Пептид хромогранин А, который продуцируется нейроэндокринными клетками простаты, в настоящее время используют в диагностике РПЖ и прогнозировании в случаях опухолей простаты, имеющих признаки нейроэндокринной дифференциации. Повышение концентрации хромогранина А в сыворотке коррелирует с прогрессией РПЖ, независимого от андрогенов, и плохого прогноза. Оно предшествует повышению *PSA* и улучшает диагностическую специфичность в сравнении с *tPSA*.

Пептидный фактор высвобождения прогастрина является ростовым фактором, который образуется в нейроэндокринных типах РПЖ. Его повышенные концентрации выявлены при метастатическом РПЖ

и ассоциированы с прогрессией РПЖ. Они предсказывают независимый от андрогенов фенотип РПЖ. Таким образом, как хромогранин А, так и пептидный фактор высвобождения прогастрина можно использовать для мониторинга больных на поздних стадиях нечувствительного к гормонам РПЖ с признаками нейроэндокринной дифференциации.

E-кадхерин

Межклеточная адгезия играет важную роль в нормальном построении ткани и при канцерогенезе. E-кадхерин является молекулой клеточной адгезии, продуцируемой в эпителиальных клетках, его продукция этими клетками является предсказательным признаком для прогноза РПЖ.

В иммуногистохимическом исследовании продемонстрировано, что продукция E-кадхерина снижена в 50% опухолей РПЖ, тогда как в нормальной ткани простаты продукция E-кадхерина распределена равномерно. В дальнейших исследованиях продукция E-кадхерина была ассоциирована со степенью трансформации, стадией опухоли и выживаемостью больных. Его сниженная продукция, по данным иммуногистохимического анализа, связана с сокращением жизни больных РПЖ.

Аннексин А3

Аннексин 3 (*ANXA3*), член белкового семейства аннексинов, является связывающим кальций белком. *ANXA3* участвует в активации иммунного ответа, а также в регуляции проницаемости мембран и миграции лимфоцитов. Недавно *ANXA3* был исследован иммуногистохимическими методами в качестве перспективного тканевого маркера для прогноза РПЖ. Была выявлена его сниженная продукция в РПЖ в сравнении с ДГПЖ, интраэпителиальной неоплазией и здоровыми тканями. С помощью определения *ANXA3* можно стратифицировать большую группу больных промежуточного риска на подгруппы высокого и низкого риска.

Антиген стволовых клеток предстательной железы

Антиген стволовых клеток простаты (*PSCA*) является мембранным гликопротеином, весьма специфически продуцируемым в простате. *PSCA* выявлен в тканях РПЖ иммуногистохимическими методами, а его РНК найдена в образцах крови. Повышенная продукция *PSCA* коррелирует с повышенным риском РПЖ, более высоким коэффициентом Глисона, более высокой стадией и наличием метастазов. *PSCA* также исследован в качестве терапевтической мишени, однако для подтверждения клинической применимости этого маркера требуются более обширные апробационные исследования.

Гепсин

Гепсин является мембранной сериновой протеазой, впервые идентифицированной в библиотеках кДНК печени. В больших количествах он образуется в тканях простаты. Исследования профиля экспрессии мРНК гепсина продемонстрировали повышенную экспрессию его гена в 90 % РПЖ. Наблюдается сильное иммуногистохимическое окрашивание на гепсин в интраэпителиальных карциномах простаты и его преимущественное образование при РПЖ, а не ДГПЖ. Для полного выяснения диагностического потенциала гепсина требуются дальнейшие исследования на образцах крови и мочи.

Интерлейкин 6 и его рецептор

Интерлейкин 6 (*IL-6*) является цитокином, который продуцирует клетки многих типов, он участвует в иммунном ответе и в реакции острой фазы. Повышенные концентрации *IL-6* и его рецепторов продемонстрированы при метастатическом и независимом от андрогенов РПЖ, он предложен в качестве кандидата в маркеры прогрессирования РПЖ. Многообещающие результаты дали исследования *IL-6* в комбинации с *TGF-β₁* для диагностики РПЖ.

Циркулирующая опухолевая ДНК

Диссеминация опухолевых клеток является необходимым условием метастазирования, и раннее выявление таких клеток в циркулирующей крови может быть полезным для прогноза больных РПЖ. Опухолевые клетки можно выявлять в обратнотранскриптной ПЦР, которая оказалась достаточно чувствительной для повышения диагностической точности определения стадии РПЖ, предсказания рецидивов с помощью маркеров, специфичных для простаты.

Аутоантитела

Известно, что иммунная система отвечает на некоторые опухолевые антигены усилением продукции аутоантител. Сообщается о гуморальных ответах на белок-1, взаимодействующий с хантингтином, на простасоме и на *AMACR*. С использованием фагового дисплея и белковых микрочипов в рамках нового подхода «иммуномика рака» удалось идентифицировать аутоантитела к пептидам, происходящим из тканей РПЖ. Был создан 22-пептидный фаговый дисплей, позволивший отличить 69 образцов сыворотки крови больных РПЖ от 66% контролей при диагностической специфичности 88,2% и чувствительности 81% с площадью под кривой *ROC* 0,93, что лучше, чем при использовании *PSA* (0,80). Проводятся исследования по дальнейшей апробации этого метода на более многочисленной когорте. В недавнем исследовании применен такой же подход, затем проведен

анализ биологических путей взаимодействия соответствующих факторов для определения механизмов прогрессии РПЖ. Одной из проблем здесь является необходимость пункционной биопсии, которая сама по себе может вызывать иммунный ответ.

Номограммы

Номограммы являются средством многофакторного анализа сочетаний таких признаков, как степень трансформации/стадия опухоли и уровни биомаркеров для обеспечения стандартизации способов выработки лечебной тактики. Они основаны на принципах доказательной медицины для принятия решений на каждой стадии лечения болезни. Ценность номограмм определяется эффективностью и развернутостью. Для РПЖ разработаны многочисленные номограммы, в том числе учитывающие *TGF-β₁* и *IL-6* для рецидивов по биохимическим признакам, а также номограммы для предсказания результатов биопсии.

Многопараметрические тесты/нейронные сети

Для улучшения предсказания при многих заболеваниях широко используют комбинации биомаркеров. Все люди разные, и болезненные состояния у них также различны. Таким образом, многопараметрические тесты должны быть более адекватными для популяционного скрининга, чем отдельный маркер. Недавно была проверена панель из 45 биомаркеров, включающая адипокины, металлопротеиназы, молекулы адгезии и ростовые факторы. Показатели в сыворотке определяли до постановки диагноза у лиц одной возрастной группы и сравнивали между случаями, когда в дальнейшем диагноз РПЖ был или не был поставлен. При этом не удалось показать, что такая панель превосходит «калькулятор» факторов риска, разработанный в рамках проекта «Изучение профилактики рака простаты». Для моделирования сложных отношений между разными факторами и идентификации разных паттернов данных использовали метод нейронных сетей. Например, для РПЖ оценивали разные комбинации калликреиновых биомаркеров.

Протеомные паттерны

С недавних пор популярным подходом к идентификации новых биомаркеров стал высокопроизводительный протеомный анализ биологических жидкостей. С этой целью использовали масс-спектрометрию с поверхностным усилением при ионизации лазерным излучением в сочетании с газохроматографическим определением времени пролета ионов (surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *SELDI-TOF-MS*). В случае РПЖ

ОБЗОРЫ

использовали еще и алгоритм дерева решений для идентификации сочетаний пиков, способных дифференцировать больных и здоровых лиц при диагностической чувствительности и специфичности 83 и 97%, соответственно. При исследовании 266 образцов сыворотки у больных РПЖ и здоровых, была достигнута диагностическая чувствительность 95 % и специфичность 78%. При использовании усовершенствованного алгоритма дерева решений на другом массиве данных была достигнута диагностическая чувствительность 97% и специфичность 97%. Полезность такого подхода продемонстрирована и другими исследованиями. Однако он попал под скрупулезную проверку Национального противоракового института США, где была учреждена Исследовательская сеть по раннему выявлению РПЖ, которая провела исследование с участием многих учреждений, результаты которого были недавно опубликованы. Хотя на I стадии была подтверждена аналитическая воспроизводимость такого подхода, на II стадии, проведенной по схеме «случай-контроль», не удалось показать, что он обеспечивает предсказание РПЖ во

всех учреждениях. Эту неудачу отнесли к преаналитическим, аналитическим и биоинформационным искажениям, уже описанным в литературе.

Таким образом, можно заключить, что внедрение анализов крови на *PSA* революционизировало диагностику и лечение РПЖ. Однако все еще существуют противоречия по вопросу, снижает ли скрининг на *PSA* смертность от РПЖ и риски, связанные с избыточным числом положительных диагнозов. Существуют свидетельства применимости множественных маркеров для более полной характеристики фенотипов опухолей простаты во всей мужской популяции. Применение многочисленных маркеров в сочетании с клиническими и демографическими данными должно помочь в предсказании того, какие пациенты находятся под риском развития РПЖ, и в оценке прогнозов для них. Новые исследовательские возможности должны помочь в выявлении новых маркеров, однако ключевым для получения воспроизводимых и неискаженных результатов остается применение надлежащих схем исследования и анализа клинических данных.

Список литературы см. в оригинальном источнике

Список литературы смотри на сайте www.terramedica.spb.ru

Литература

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43–66.
2. McDavid K, Lee J, Fulton JP, Tonita J, Thompson TD. Prostate cancer incidence and mortality rates and trends in the United States and Canada. *Public Health Rep* 2004;119:174–86.
3. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Lucia MS, Goodman PJ, Crowley JJ, et al. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/mL or lower. *JAMA* 2005;294:66–70.
4. Aihara M, Lebovitz RM, Wheeler TM, Kinner BM, Ohori M, Scardino PT. Prostate specific antigen and Gleason grade: an immunohistochemical study of prostate cancer. *J Urol* 1994;151:1558–64.
5. Bunting PS. Screening for prostate cancer with prostate-specific antigen: beware the biases. *Clin Chim Acta* 2002;315:71–97.
6. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level <4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med* 2004;350:2239–46.
7. Pepe MS, Etzioni R, Feng Z, Potter JD, Thompson ML, Thornquist M, et al. Phases of biomarker development for early detection of cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:1054–61.
8. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK). *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1180–4.
9. Finne P, Auvinen A, Maattaenen L, Tammela TL, Ruutu M, Juusela H, et al. Diagnostic value of free prostate-specific antigen among men with a prostate-specific antigen level of <3.0 µg per liter. *Eur Urol* 2008;54:362–70.
10. Stephan C, Jung K, Lein M, Diamandis EP. PSA and other tissue kallikreins for prostate cancer detection. *Eur J Cancer* 2007;43:1918–26.
11. Recker F, Kwiatkowski MK, Piironen T, Pettersson K, Huber A, Lummen G, Tscholl R. Human glandular kallikrein as a tool to improve discrimination of poorly differentiated and non-organ-confined prostate cancer compared with prostate-specific antigen. *Urology* 2000;55:481–5.
12. Stephan C, Jung K, Nakamura T, Yousef GM, Kristiansen G, Diamandis EP. Serum human glandular kallikrein 2 (hK2) for distinguishing stage and grade of prostate cancer. *Int J Urol* 2006;13: 238–43.
13. Haese A, Graefen M, Steuber T, Becker C, Noldus J, Erbersdobler A, et al. Total and Gleason grade of data, or preparation or approval of manuscript. 4/5 cancer volumes are major contributors of human kallikrein 2, whereas free prostate specific antigen is largely contributed by benign gland volume in serum from patients with prostate cancer or benign prostatic biopsies. *J Urol* 2003; 170:2269–73.
14. Steuber T, Vickers AJ, Haese A, Becker C, Pettersson K, Chun FK, et al. Risk assessment for biochemical recurrence prior to radical prostatectomy: significant enhancement contributed by human glandular kallikrein 2 (hK2) and free prostate specific antigen (PSA) in men with moderate PSA-elevation in serum. *Int J Cancer* 2006;118: 1234–40.
15. Elgamal AA, Holmes EH, Su SL, Tino WT, Simmons SJ, Peterson M, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA): current benefits and future value. *Semin Surg Oncol* 2000;18:10–6.
16. Mincheff M, Zoubak S, Makogonenko Y. Immune responses against PSMA after gene-based vaccination for immunotherapy-A: results from immunizations in animals. *Cancer Gene Ther* 2006;13: 436–44.
17. Diamandis EP, Okui A, Mitsui S, Luo LY, Soosaipillai A, Grass L, et al. Human kallikrein 11: a new biomarker of prostate and ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:295–300.
18. Stephan C, Meyer HA, Cammann H, Nakamura T, Diamandis EP, Jung K. Improved prostate cancer detection with a human kallikrein 11 and percentage free PSA-based artificial neural network. *Biol Chem* 2006;387:801–5.
19. Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, Karthaus HF, van Leenders GJ, van Balken B, et al. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003; 44:8–15.
20. Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, Blase A, Bodrug S, Clark C, et al. APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 2006;52: 1089–95.
21. van Gils MP, Hessels D, van Hooij O, Jannink SA, Peelen WP, Hanssen SL, et al. The time-resolved fluorescence-based PCA3 test on urinary sediments after digital rectal examination; a Dutch multicenter validation of the diagnostic performance. *Clin Cancer Res* 2007;13:939–43.
22. Marks LS, Fradet Y, Deras IL, Blase A, Mathis J, Aubin SM, et al. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology* 2007;69:532–5.
23. Lazman B, Morris DS, Yu J, Siddiqui J, Cao J, Mehra R, et al. A first-generation multiplex biomarker analysis of urine for the early detection of prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:645–9.
24. Uetsuki H, Tsunemori H, Taoka R, Haba R, Ishikawa M, Kakehi Y. Expression of a novel biomarker, EPCA, in adenocarcinomas and precancerous lesions in the prostate. *J Urol* 2005;174:514–8.
25. Paul B, Dhir R, Landsittel D, Hitchens MR, Getzenberg RH. Detection of prostate cancer with a blood-based assay for early prostate cancer antigen. *Cancer Res* 2005;65:4097–100.
26. Leman ES, Cannon GW, Trock BJ, Sokoll LJ, Chan DW, Mangold L, et al. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. *Urology* 2007; 69:714–20.
27. Diamandis EP. POINT: EPCA-2: a promising new serum biomarker for prostatic carcinoma? *Clin Biochem* 2007;40:1437–9.
28. Rhodes DR, Barrette TR, Rubin MA, Ghosh D, Chinnaiyan AM. Meta-analysis of microarrays: interstudy validation of gene expression profiles reveals pathway dysregulation in prostate cancer. *Cancer Res* 2002;62:4427–33.
29. Jiang Z, Wu CL, Woda BA, Iczkowski KA, Chu PG, Tretiakova MS, et al. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a multi-institutional study of a new prostate cancer marker. *Histopathology* 2004;45: 218–25.
30. Rubin MA, Bismar TA, Andren O, Mucci L, Kim R, Shen R, et al. Decreased alpha-methylacyl CoA racemase expression in localized prostate cancer is associated with an increased rate of biochemical recurrence and cancer-specific death. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1424–32.
31. Zehentner BK, Secrist H, Zhang X, Hayes DC, Ostenson R, Goodman G, et al. Detection of alpha-methylacyl-coenzyme-A racemase transcripts in blood and urine samples of prostate cancer patients. *Mol Diagn Ther* 2006;10:397–403.
32. Rogers CG, Yan G, Zha S, Gonzalgo ML, Isaacs WB, Luo J, et al. Prostate cancer detection on urinalysis for alpha methylacyl coenzyme A racemase protein. *J Urol* 2004;172:1501–3.
33. Sreekumar A, Lazman B, Rhodes DR, Bhagavathula S, Harwood J, Giacherio D, et al. Humoral immune response to alpha-methylacyl-CoA racemase and prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:834–43.
34. McCabe NP, Angwafo FF III, Zaher A, Selman SH, Kouinche A, Jankun J. Expression of soluble urokinase plasminogen activator receptor may be related to outcome in prostate cancer patients. *Oncol Rep* 2000;7:879–82.
35. Steuber T, Vickers A, Haese A, Kattan MW, Eastham JA, Scardino PT, et al. Free PSA isoforms and intact and cleaved forms of urokinase plasminogen activator receptor in serum improve selection of patients for prostate cancer biopsy. *Int J Cancer* 2007;120:1499–504.
36. Miyake H, Hara I, Yamanaka K, Gohji K, Arakawa S, Kamidono S. Elevation of serum levels of urokinase-type plasminogen activator and its receptor is associated with disease progression and prognosis in patients with prostate cancer. *Prostate* 1999;39:123–9.
37. Shariat SF, Roehrborn CG, McConnell JD, Park S, Alam N, Wheeler TM, Slawin KM. Association of the circulating levels of the urokinase system of plasminogen activation with the presence of prostate cancer and invasion, progression, and metastasis. *J Clin Oncol* 2007;25:349–55.
38. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, Gann PH, Ma J, Wilkinson P, et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 1998;279:563–6.
39. Harman SM, Metter EJ, Blackman MR, Landis PK, Carter HB. Serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-3, and prostate-specific antigen as predictors of clinical prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:4258–65.
40. Shariat SF, Lamb DJ, Kattan MW, Nguyen C, Kim J, Beck J, et al. Association of preoperative plasma levels of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins-2 and -3 with prostate cancer invasion, progression, and metastasis. *J Clin Oncol* 2002;20:833–41.
41. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005;310:644–8.
42. Lazman B, Tomlins SA, Mehra R, Morris DS, Wang L, Helgeson BE, et al. Noninvasive detection of TMPRSS2:ERG fusion transcripts in the urine of men with prostate cancer. *Neoplasia* 2006;8:885–8.
43. Demichelis F, Fall K, Perner S, Andren O, Schmidt F, Setlur SR, et al. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene* 2007;26:4596–9.

44. Tomlins SA, Rhodes DR, Yu J, Varambally S, Mehra R, Perner S, et al. The role of SPINK1 in ETS rearrangement-negative prostate cancers. *Cancer Cell* 2008;13:519–28.
45. Shariat SF, Menesses-Diaz A, Kim IY, Muramoto M, Wheeler TM, Slawin KM. Tissue expression of transforming growth factor- β_1 and its receptors: correlation with pathologic features and biochemical progression in patients undergoing radical prostatectomy. *Urology* 2004;63:1191–7.
46. Ivanovic V, Melman A, Davis-Joseph B, Valcic M, Geliebter J. Elevated plasma levels of TGF-beta 1 in patients with invasive prostate cancer. *Nat Med* 1995;1:282–4.
47. Shariat SF, Walz J, Roehrborn CG, Montorsi F, Jeldres C, Saad F, Karakiewicz PI. Early postoperative plasma transforming growth factor- β_1 is a strong predictor of biochemical progression after radical prostatectomy. *J Urol* 2008;179:1593–7.
48. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature* 2002;419: 624–9.
49. Rhodes DR, Sanda MG, Otte AP, Chinnaiyan AM, Rubin MA. Multiplex biomarker approach for determining risk of prostate-specific antigen-defined recurrence of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:661–8.
50. Gonzalgo ML, Nakayama M, Lee SM, De Marzo AM, Nelson WG. Detection of GSTP1 methylation in prostatic secretions using combinatorial MSP analysis. *Urology* 2004;63:414–8.
51. Crocitto LE, Korns D, Kretzner L, Shevchuk T, Blair SL, Wilson TG, et al. Prostate cancer molecular markers GSTP1 and hTERT in expressed prostatic secretions as predictors of biopsy results. *Urology* 2004;64:821–5.
52. Nam RK, Reeves JR, Toi A, Dulude H, Trachtenberg J, Emami M, et al. A novel serum marker, total prostate secretory protein of 94 amino acids, improves prostate cancer detection and helps identify high grade cancers at diagnosis. *J Urol* 2006;175:1291–7.
53. Bjartell A, Johansson R, Bjork T, Gadaleanu V, Lundwall A, Lilja H, et al. Immunohistochemical detection of cysteine-rich secretory protein 3 in tissue and in serum from men with cancer or benign enlargement of the prostate gland. *Prostate* 2006;66:591–603.
54. Bjartell AS, Al Ahmadie H, Serio AM, Eastham JA, Eggener SE, Fine SW, et al. Association of cysteine-rich secretory protein 3 and β -microseminoprotein with outcome after radical prostatectomy. *Clin Cancer Res* 2007;13:4130–8.
55. Taplin ME, George DJ, Halabi S, Sanford B, Febbo PG, Hennessy KT, et al. Prognostic significance of plasma chromogranin A levels in patients with hormone-refractory prostate cancer treated in Cancer and Leukemia Group B 9480 study. *Urology* 2005;66:386–91.
56. Fracalanza S, Prayer-Galetti T, Pinto F, Navaglia F, Sacco E, Ciaccia M, et al. Plasma chromogranin A in patients with prostate cancer improves the diagnostic efficacy of free/total prostate-specific antigen determination. *Urol Int* 2005;75:57–61.
57. Yashi M, Nukui A, Kurokawa S, Ochi M, Ishikawa S, Goto K, et al. Elevated serum progastrin-releasing peptide (31–98) level is a predictor of short response duration after hormonal therapy in metastatic prostate cancer. *Prostate* 2003;56: 305–12.
58. Yashi M, Muraishi O, Kobayashi Y, Tokue A, Nanjo H. Elevated serum progastrin-releasing peptide (31–98) in metastatic and androgen-independent prostate cancer patients. *Prostate* 2002;51:84–97.
59. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HF, Schaafsma HE, et al. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res* 1992;52:5104–9.
60. Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP, Schaafsma HE, Karthaus HF, Oosterhof GO, et al. Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 1994;54:3929–33.
61. Wozny W, Schroer K, Schwall GP, Poznanovic S, Stegmann W, Dietz K, et al. Differential radioactive quantification of protein abundance ratios between benign and malignant prostate tissues: cancer association of annexin A3. *Proteomics* 2007;7:313–22.
62. Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, Shintaku IP, Dorey F, Raitano A, et al. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high Gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene* 2000;19:1288–96.
63. Gu Z, Yamashiro J, Kono E, Reiter RE. Antiprostate stem cell antigen monoclonal antibody 1G8 induces cell death in vitro and inhibits tumor growth in vivo via a Fc-independent mechanism. *Cancer Res* 2005;65:9495–500.
64. Stephan C, Yousef GM, Scorilas A, Jung K, Jung M, Kristiansen G, et al. Hepsin is highly over expressed in and a new candidate for a prognostic indicator in prostate cancer. *J Urol* 2004;171:187–91.
65. Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, Shah R, Varambally S, Kurachi K, et al. Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature* 2001;412:822–6.
66. Shariat SF, Andrews B, Kattan MW, Kim J, Wheeler TM, Slawin KM. Plasma levels of interleukin-6 and its soluble receptor are associated with prostate cancer progression and metastasis. *Urology* 2001;58:1008–15.
67. Nakashima J, Tachibana M, Horiguchi Y, Oya M, Ohigashi T, Asakura H, Murai M. Serum interleukin 6 as a prognostic factor in patients with prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:2702–6.
68. Shariat SF, Kattan MW, Traxel E, Andrews B, Zhu K, Wheeler TM, Slawin KM. Association of pre- and postoperative plasma levels of transforming growth factor 1 and interleukin 6 and its soluble receptor with prostate cancer progression. *Clin Cancer Res* 2004;10:1992–9.
69. Hara N, Kasahara T, Kawasaki T, Bilim V, Obara K, Takahashi K, Tomita Y. Reverse transcription-polymerase chain reaction detection of prostate-specific antigen, prostate-specific membrane antigen, and prostate stem cell antigen in one milliliter of peripheral blood: value for the staging of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:1794–9.
70. Wang X, Yu J, Sreekumar A, Varambally S, Shen R, Giacherio D, et al. Autoantibody signatures in prostate cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1224–35.
71. Taylor BS, Pal M, Yu J, Laxman B, Kalyana-Sundaram S, Zhao R, et al. Humoral response profiling reveals pathways to prostate cancer progression. *Mol Cell Proteomics* 2008;7:600–11.
72. Shariat SF, Walz J, Roehrborn CG, Zlotta AR, Perrotte P, Suardi N, et al. External validation of a biomarker-based preoperative nomogram predicts biochemical recurrence after radical prostatectomy. *J Clin Oncol* 2008;26:1526–31.
73. Chun FK, Briganti A, Graefen M, Porter C, Montorsi F, Haese A, et al. Development and external validation of an extended repeat biopsy nomogram. *J Urol* 2007;177:510–5.
74. Karakiewicz PI, Hutterer GC. Predictive models and prostate cancer. *Nat Clin Pract Urol* 2008;5: 82–92.
75. Parekh DJ, Ankerst DP, Baillargeon J, Higgins B, Platz EA, Troyer D, et al. Assessment of 54 biomarkers for biopsy-detectable prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16: 1966–72.
76. Stephan C, Xu C, Finne P, Cammann H, Meyer HA, Lein M, et al. Comparison of two different artificial neural networks for prostate biopsy indication in two different patient populations. *Urology* 2007;70:596–601.
77. Adam BL, Qu Y, Davis JW, Ward MD, Clements MA, Cazares LH, et al. Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res* 2002;62:3609–14.
78. Petricoin EF III, Ornstein DK, Pawletz CP, Ardekani A, Hackett PS, Hitt BA, et al. Serum proteomic patterns for detection of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1576–8.
79. Qu Y, Adam BL, Yasui Y, Ward MD, Cazares LH, Schellhammer PF, et al. Boosted decision tree analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectral serum profiles discriminates prostate cancer from noncancer patients. *Clin Chem* 2002;48:1835–43.
80. Ornstein DK, Rayford W, Fusaro VA, Conrads TP, Ross SJ, Hitt BA, et al. Serum proteomic profiling can discriminate prostate cancer from benign prostates in men with total prostate specific antigen levels between 2.5 and 15.0 ng/ml. *J Urol* 2004;172:1302–5.
81. McLerran D, Grizzle WE, Feng Z, Thompson IM, Bigbee WL, Cazares LH, et al. SELDI-TOF MS whole serum proteomic profiling with IMAC surface does not reliably detect prostate cancer. *Clin Chem* 2008;54:53–60.
82. Diamandis EP. Mass spectrometry as a diagnostic and a cancer biomarker discovery tool: opportunities and potential limitations. *Mol Cell Proteomics* 2004;3:367–78.