

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Institut für Pathologie

Direktor: Prof. Dr. med. G. Sauter

Prävalenz und klinische Signifikanz der FASN-Expression beim Prostatakarzinom

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg**

Vorgelegt von:

**Arne Kiehl
aus Ratzeburg**

Hamburg 2019

**Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 01.10.2019**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Guido Sauter

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Thomas Steuber

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	Das Prostatakarzinom.....	1
1.1.1	Epidemiologie.....	1
1.1.2	Ätiologie / Risikofaktoren.....	1
1.1.3	Pathogenese / Pathologie.....	2
1.1.4	Symptome / Klinik.....	4
1.1.5	Früherkennung / Diagnostik / Staging.....	4
1.1.6	Therapie.....	6
1.1.7	Prognoseparameter.....	6
1.1.8	Die Rolle des Androgenrezeptors beim Prostatakarzinom.....	7
1.1.9	Die Rolle des ERG-Status im Prostatakarzinom.....	7
1.1.10	Die Rolle chromosomaler Deletionen im Prostatakarzinom.....	8
1.1.11	Die Rolle von P53 im Prostatakarzinom.....	8
1.1.12	Die Rolle von bcl2 im Prostatakarzinom.....	8
1.1.13	Die Rolle von TUBB3 im Prostatakarzinom.....	9
1.1.14	Die Rolle von Ki-67 im Prostatakarzinom.....	9
1.1.15	Die Rolle weiterer Fettstoffwechselfparameter im Prostatakarzinom.....	9
1.1.16	Die Rolle von DNA-Reparaturmechanismen im Prostatakarzinom.....	9
1.2	Der Fettstoffwechsel in Tumoren.....	10
1.2.1	Grundzüge des Fettstoffwechsels.....	10
1.2.2	Die Rolle der Fettsäure-Synthase.....	11
1.2.3	Die Rolle des Fettstoffwechsels und von FASN in Tumorgewebe.....	12
1.2.4	Die Rolle der Fettsäure-Synthase im Prostatakarzinom.....	19
1.3	Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit.....	22
2	MATERIAL UND METHODEN.....	23
2.1	Patientenkollektiv.....	23
2.2	Tissue Microarray.....	24
2.3	Molekulare Datenbank.....	26
2.4	Immunhistochemie.....	26
2.5	Statistik.....	26
3	ERGEBNISSE	28
3.1	Technische Aspekte.....	28
3.2	FASN-Expression, Tumorphänotyp und Prognose.....	28
3.3	FASN-Expression und ERG-Status.....	30
3.4	FASN-Expression und Tumor-Phänotyp in ERG-positiven und ERG-negativen Tumoren.....	31
3.5	FASN-Expression und chromosomale Deletionen.....	34

3.6	FASN-Expression und Tumorzellproliferation	38
3.7	FASN-Expression und Androgenrezeptorexpression.....	40
3.8	FASN-Expression und p53-Immunhistochemie	41
3.9	FASN-Expression und weitere Fettstoffwechselformen.....	41
3.10	FASN-Expression und DNA-Reparaturproteine	42
3.11	FASN-Expression und TUBB3 / BCL2.....	43
3.12	Multivariate Analyse zur Prognoseabschätzung	43
4	DISKUSSION	45
5	ZUSAMMENFASSUNG	51
6	SUMMARY	52
7	LITERATURVERZEICHNIS	53
8	ANHANG	70
8.1	Abkürzungsverzeichnis	70
8.2	Tabellenverzeichnis	72
8.3	Abbildungsverzeichnis	72
9	DANKSAGUNG.....	73
10	LEBENS LAUF	74
11	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	75

1 Einleitung

1.1 Das Prostatakarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Das Prostatakarzinom stellt nach aktuellem Stand mit 25,4 % aller diagnostizierten Tumorerkrankungen die häufigste Krebserkrankung des Mannes in Deutschland dar. Die Zahl der Neuerkrankungen beträgt etwa 60.000 pro Jahr [1], die altersstandartisierte Inzidenz wird für Deutschland mit 107,1 / 100.000 Männer angegeben [2]. Diesbezüglich befindet sich Deutschland im mittleren Bereich der europaweiten Inzidenzen, welche eine Abnahme von Nord nach Süd zeigen. Die höchste Inzidenz weltweit findet sich bei afroamerikanischen Männern [2, 4].

Mit 11,3 % steht das Prostatakarzinom an zweiter Stelle der tödlich verlaufenden Tumorerkrankungen in Deutschland (nach dem Bronchialkarzinom), wobei die Mortalität rückläufig ist und etwa 20-30/100.000 beträgt [1, 3]. Das Prostatakarzinom wird vorzugsweise im fortgeschrittenen Lebensalter diagnostiziert, im Mittel im Alter von ca. 69 Jahren. Betroffene Männer versterben im Mittel im Alter von 78 Jahren [1]. Internationale Studien zeigen anhand von Autopsiedaten eine Prävalenz von 50-64 % im Alter von 60-80 Jahren, wovon jedoch nur ein geringer Teil symptomatisch wird. Prävalenz und Inzidenz steigen in Deutschland stetig an, was vor allem in der steigenden Lebenserwartung und den verbesserten diagnostischen Möglichkeiten begründet ist.

Zusammenfassend liegt das Risiko für Männer in westlichen Industrienationen, im Laufe des Lebens an einem Prostatakarzinom zu erkranken, bei ca. 40 %. Davon werden etwa 10 % symptomatisch und nur 3 % versterben daran [5].

1.1.2 Ätiologie / Risikofaktoren

Die Ursachen der Entstehung eines Prostatakarzinoms sind weitestgehend unbekannt. Als Risikofaktor belegen epidemiologische Daten in erster Linie das Patientenalter. Fortgeschrittenes Alter ist mit einer deutlich gesteigerten Inzidenz assoziiert [1, 6]. Darüber hinaus ist eine positive Familienanamnese als Risikofaktor beschrieben, für erstgradige Verwandte liegt das relative Risiko bei 2,5 - 4,3% [7, 8]. Die Suche nach möglichen genetischen Ursachen des Prostatakarzinoms, welche die Häufung in bestimmten Familien erklären könnte, verlief weitestgehend frustan. Es fanden sich zwar einige Geneorte, welche mit einem erhöhten Risiko der Prostatakrebserkrankung einhergehen, doch konnten nur wenige Gene identifiziert werden, welche im Falle einer Mutation mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Prostatakrebserkrankung führen. Das wichtigste bekannte Prostatakrebs-prädisponierende Gen ist BRCA1 (BRCA1), welches für seine Rolle beim familiären Brustkrebs bekannt ist. Männliche Verwandte von Patientinnen mit familiärem Brustkrebs haben ein erhöhtes Risiko an einem aggressiven Prostatakarzinom zu erkranken [9]. Desweiteren fand sich hinsichtlich des Lebensortes weltweit ein West-Ost- sowie ein Nord-Süd-Gefälle, welches mit unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten sowie sozioökonomischen Faktoren erklärt wird. Daher gilt dieser ebenfalls als Risikofaktor [10, 11, 12]. Ein weiterer diskutierter Parameter ist eine Virusinfektion. Verschiedene Viren konnten in Prostatakarzinomen identifiziert werden, doch wurden die meisten diesbezüglichen Daten von anderen Autoren nicht bestätigt [13].

1.1.3 Pathogenese / Pathologie

TNM-Stadium:

Das TNM-System dient der Stadieneinteilung maligner Erkrankungen und beinhaltet folgende Kriterien:

- T: = die Größe und Ausbreitung des Primärtumors
- N: = Fehlen oder Vorhandensein von regionären Lymphknotenmetastasen
- M: = Fehlen oder Vorhandensein von Fernmetastasen

Im Folgenden sind die TNM-Stadien des Prostata-Karzinoms dargestellt [14]:

Tab. 1: TNM-Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms

TNM	Ausdehnung	Klinische Einteilung
T1	Klinisch nicht erkennbarer Tumor: nicht sichtbar, nicht tastbar - T1a: PCa in < 5% des untersuchten Präparates - T1b: PCa in > 5% des untersuchten Präparates - T1c: PCa in Stanzbiopsie bei nicht tastbarem Tumor	Lokal begrenztes Prostatakarzinom
T2	Tumor auf die Prostata beschränkt, Kapsel intakt - T2a: Befall von < 50% eines Seitenlappens - T2b: Befall von > 50% eines Seitenlappens - T2c: Befall beider Seitenlappen	
T3	Extraprostatisches Tumorwachstum, Kapsel durchbrochen - T3a: Extrakapsuläre Ausbreitung - Samenblaseninfiltration	Lokal fortgeschrittenes Prostatakarzinom
T4	Infiltration von Nachbarorganen (über Samenblase hinaus): z.B. Harnblase, Rektum, Schließmuskel, Beckenwand	
N1	Regionärer Lymphknotenbefall	Fortgeschrittenes / metast. Prostatakarzinom
M1	Fernmetastasen - M1a: Extraregionäre Lymphknotenmetastasen - M1b: Knochenmetastasen - Andere Fernmetastasen	

Die Stadieneinteilung erfolgt nach der UICC-Klassifikation [14, 15]:

Tab. 2: UICC - Klassifikation des Prostatakarzinoms

UICC-Stadium	TNM
Stadium I	Bis T2a
Stadium II	Bis T2b oder T2c
Stadium III	T3
Stadium IV	T4 oder N1 oder M1

Ursprungsgewebe und Tumorlokalisation:

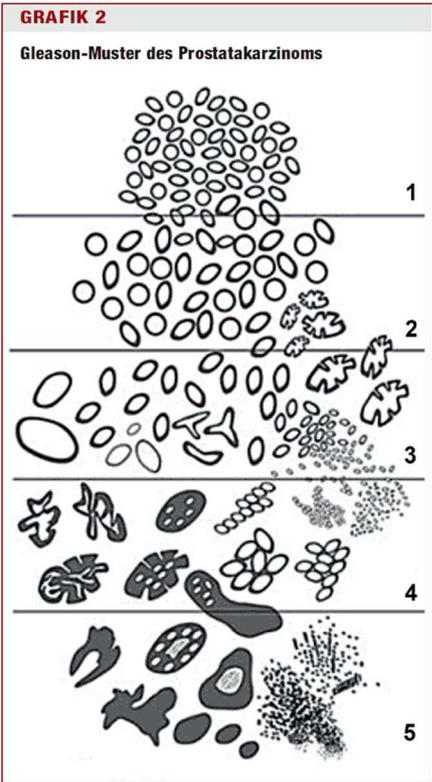
Beim Prostatakarzinom handelt es sich zu 97 % um ein Adenokarzinom, andere Tumorentitäten sind selten (kleinzelliges Prostatakarzinom, muzinöses Adenokarzinom, duktales Prostatakarzinom, Urothelkarzinom der Prostata, Plattenepithelkarzinom der Prostata). Als histologische Kriterien gelten Architekturstörungen des Prostatagewebes und Kernatypien. In den meisten Fällen erfolgt das

Tumorstadium multifokal von der Peripherzone ausgehend (85%), seltener von der Transitionalzone ausgehend (15%). Tumoren der Innenzone gelten als Rarität [16].

Gleason-Score:

Bei dem Gleason-Score handelt es sich um einen prognostischen Parameter, welcher sich auf die histologische Beurteilung der Drüsenmorphologie bezieht. Zytologische Merkmale der Tumorzellen finden keine Berücksichtigung. Er wurde erstmals in den 60er Jahren angewandt und 1966 erstmals publiziert [17]. Er umfasst 5 verschiedene histologische Wachstumsmuster, anhand derer das Gewebe nach definierten Kriterien kategorisiert wird.

Die aktuell gültige Zeichnung, welche 2016 publiziert wurde [18], ist im Folgenden gezeigt:



Der Gleasonscore errechnet sich jeweils aus der Addition zweier Gleason-Grade. In der Prostatastanzbiopsie werden der häufigste und der am schlechtesten differenzierte Gleason-Grad zusammengefasst. Im Prostataektomiepräparat erfolgt die Addition des am häufigsten mit dem am zweithäufigsten vorkommenden Grad [16].

Abb. 1: Gleason-Grading beim Prostatakarzinom

Das aktuelle Gleason-Grading wird nach folgenden Kriterien kategorisiert:

Tab. 3: Kategorien/Morphologien beim Gleason-Grading

Gleason-Grad	Drüsenmorphologie:
1,2	Umschriebene Knoten von dicht gepackten, aber scharf begrenzten mittelgroßen Drüsen, rundlich bis oval, von mittlerer Größe (größere Drüsen als in Grad 3). Keine Invasion in das Stroma. (heute selten zugewiesen)

3	Diskrete Drüseneinheiten; kleinere Drüsen als in Grad 1 und 2. Tumorzellinfiltrate in das Stroma und in nicht-neoplastischen Drüsen. Deutliche Variationen in Größe und Form, mitunter umschriebene kleinste kribriiforme Tumorknoten.
4	Fusionierte mikroazinäre Drüsen; wenig differenzierte Drüsen mit schwach ausgebildeten Drüsenlichtungen, oft hypernephroides Muster. Die Tumorzellinfiltrate sind unscharf begrenzt, oft große kribriiforme Drüsen.
5	Keine klare Drüsenformationen, stattdessen solide Epithelstränge oder Komplexe oder Einzelzellen. Zentrale Drüsennekrosen, entsprechend einem Komedokarzinom, umgeben von papillären, kribriiformen oder soliden Tumormassen.

Das traditionelle Gleason-Grading wurde kürzlich von Forschern des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf verfeinert. Am UKE waren seit 2005 bei allen Prostatakarzinomen die prozentualen Anteile der Gleasonmuster 3, 4 und 5 bei Biopsien und Prostatektomiepräparaten registriert worden. Die systematische Auswertung dieser Daten ergab, dass sich die Prognose von Prostatakarzinompatienten linear mit dem Anteil von Gleason 4- (und 5-) Mustern verschlechtert. Auch konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein von Gleason-5-Mustern zu einer weiteren Prognoseverschlechterung führt, welche aber weitgehend unabhängig von der Menge von Gleason-5-Anteilen ist [19, 20].

1.1.4 Symptome / Klinik

Das Prostatakarzinom verursacht im frühen Stadium keinerlei Beschwerden. Häufig wird es im Rahmen von Vorsorgeuntersuchungen durch eine auffällige rektale Untersuchung oder durch einen erhöhten PSA-Wert entdeckt.

In späteren Stadien kann es durch Folgen der beginnenden Obstruktion wie Dysurie, Harnverhalte oder Harnstauungsniere symptomatisch werden. Auch Inkontinenz oder Impotenz sind möglich. Darüber hinaus sind B-Symptomatik und Knochenschmerzen als Ausdruck ossärer Metastasierung häufige Symptome [16].

1.1.5 Früherkennung / Diagnostik / Staging

Früherkennung

Daher wird nach aktuellem Stand der Leitlinien [21, 22] empfohlen, den Patienten über die Früherkennung inklusive der Vor- und Nachteile zu informieren. Als Früherkennungsmaßnahmen ab dem 45. Lebensjahr kommen die Digital-rektale Untersuchung (DRU) sowie die Bestimmung des PSA-Wertes infrage. Die DRU ist wegen ihrer geringen Sensitivität (ca. 50-65%) und moderater Spezifität (75-90%) nicht als alleinige Maßnahme zur Früherkennung geeignet. Typische Tastbefunde sind im

Frühstadium lokalisierte derbe Areale und eine derbe, schmerzlose, asymmetrische Prostata im Spätstadium.

Das Prostata-spezifische Antigen (PSA) wird ausschließlich in der Prostata gebildet und stellt somit einen organspezifischen Marker dar. Nachdem lange Zeit starre Grenzwerte zu schlechter Prognosegenauigkeit führten, haben sich heutzutage die Vorhersagen durch Berücksichtigung altersabhängiger Grenzwerte, Anstiegsgeschwindigkeit sowie des freien PSA verbessert [22]. Das Prostata-spezifische Antigen kann allerdings auch bei benignen oder entzündlichen Prozessen erhöht sein, sodass man zusammenfassend die Kombination aus DRU und PSA-Messung zur Früherkennung empfiehlt [21, 23, 24]. Additiv kann die Prostata bei suspekten Befunden mittels transrektalem Ultraschall (TRUS) beurteilt werden. Echoarm sichtbare Karzinome korrelieren mit größerem Tumolvolumen, höherer Gleason-Summe und schlechterer Prognose gegenüber nicht sichtbaren Tumoren [25]. Die Sensitivität ist jedoch nicht hoch genug, um das Verfahren regelhaft als Screening einzusetzen.

Die meisten Prostatakarzinome werden heute im Rahmen einer serologischen PSA-Untersuchung und dem Nachweis einer PSA-Erhöhung diagnostiziert. Diese Maßnahme hat in den letzten 30 Jahren zu einer deutlichen Reduktion der Prostatakarzinom-Mortalität geführt [26].

Zu Unrecht wird die Bedeutung der PSA-Diagnostik nach wie vor kontrovers diskutiert. Die Kritik an der routinemäßigen Serum-PSA-Untersuchung von älteren Männern basierte vor allem auf einer amerikanischen Studie durch Andriole et. al [27], die keine Überlebensvorteile bei Patienten fand, welche ein PSA-Screening durchführen ließen. Die betreffende Studie ist mittlerweile zurückgezogen. Es hatte sich im Nachhinein gezeigt, dass 85 % der Nicht-PSA-Screening-Kohorte trotzdem eine PSA-Untersuchung hatten durchführen lassen [28]. Problematisch ist allerdings, dass die durch ein PSA-Screening identifizierten Karzinome häufig auch dann operiert werden, wenn eine Notwendigkeit nach aktuellem Stand der Forschung nicht zwingend gegeben ist. Das PSA-Screening kann demnach in Kombination mit unsachgemäßer Bewertung der erhobenen Befunde zu einer Übertherapie führen.

Die wichtigste therapeutische Entscheidung beim Prostatakarzinom ist diejenige, ob ein Patient behandelt werden muss oder nicht. Diese Entscheidung hat naturgemäß dramatische Auswirkungen auf die Lebensqualität des Patienten. Morbidität und Mortalität der Nichtbehandlung sind Null – einen solchen Wert kann auch die beste und schonenste medizinische Therapie nicht erreichen. Deswegen ist es beim Prostatakarzinom mehr als bei allen anderen malignen Tumoren von großer Wichtigkeit, den zu erwartenden natürlichen Verlauf der Erkrankung (die Prognose) bestmöglich abzuschätzen.

Diagnostik

Bei suspekter DRU und/oder erhöhtem PSA-Wert sollte eine transrektale sonographiegesteuerte Prostatastanzbiopsie zur histologischen Sicherung erfolgen. Hier werden 10-12 Gewebezylinder [18, 29, 30] nach festem Schema aus den Regionen Apex, Mitte und Basis entnommen. Alternativ kann eine MRT-Fusionsbiopsie durchgeführt werden, in welcher die Verfahren mpMRT und TRUS kombiniert werden. So werden gezieltere Biopsien möglich, welche nach Studienlage eine höhere Treffsicherheit aufweisen [31, 32].

Staginguntersuchungen

Abhängig von klinischem Befund und Risikostratifizierung zum Vorliegen eines fortgeschrittenen Tumorleidens kommen zum Staging bildgebende Verfahren (Abdomensonographie, Röntgen der Wirbelsäule, PET-CT, Szintigraphie, MRT des kleinen Beckens) sowie (selten) eine laparoskopische pelvine Lymphadenektomie zum Einsatz [21].

1.1.6 Therapie

Abhängig von Tumorstadium (nach TNM, UICC) und einer Risikostratifizierung, wie sie z.B. der D'Amico-Score (unter Berücksichtigung von PSA, Gleason-Score und TNM-Stadium) bezogen auf das lokalisierte Prostatakarzinom bietet [33], fällt die Therapieentscheidung.

Beim lokal begrenzten Prostatakarzinom mit geringem Risikoprofil (PSA < 10mg/ml und Gleason-Score ≤6 und cT1/T2a, cNO, cMO) kommen abwartendes Vorgehen („Active Surveillance“) ebenso in Betracht wie die radikale Prostatektomie (ggf. mit Lymphadenektomie), die externe Radiatio (mit ca. 74-80 GY) und die LDR-Brachytherapie. Bezüglich der Active Surveillance zeigten Studien im Vergleich mit primärem Therapiebeginn ähnliche Ergebnisse in Bezug auf Mortalität und Entwicklung von Metastasen [34].

Bei mittlerem oder hohem Risikoprofil sowie bei lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom (PSA > 10ng/ml oder Gleason-Score >6 oder ab cT2b oder cN1) fällt die Entscheidung zwischen der radikalen Prostatektomie (offen, laparoskopisch oder roboterassistiert, meist mit Lymphadenektomie) und der externen Radiatio in Kombination mit einer Hormontherapie (Androgendeprivation) oder mit einer HDR-Brachytherapie als kurative Therapie.

Im metastasierten Stadium wird palliativ mittels Hormontherapie (Androgendeprivation) behandelt, wenn nötig in Kombination mit einer Chemotherapie (Substanzklasse Taxane). Vorhandene Knochenmetastasen können mit Bisphosphonaten und/oder Radiatio behandelt werden. Im Falle kastrationsresistenter Karzinome kommt zur Symptomlinderung ebenfalls eine systemische Chemotherapie mit Taxanen oder Corticosteroidanaloga zur Anwendung. Bei begrenzter Lebenserwartung (<10 Jahren) und/oder nicht möglicher kurativer Therapie kann in palliativer Situation ebenfalls ein abwartendes Konzept („watchful waiting“) verfolgt werden [21].

1.1.7 Prognoseparameter

Die etablierten Prognosefaktoren des Prostatakarzinoms lassen sich in die präoperativ verfügbaren und die erst postoperativ verfügbaren Parameter unterteilen. Präoperativ sind Serum-PSA-Wert, das klinische Stadium (Tastbefund ja/nein), der Gleason-Grad und die Tumorausdehnung in den befallenen Prostatastanzylindern verfügbar. Postoperativ stehen der Gleason-Grad am Prostatektomie-Präparat, das pT- und das pN-Stadium und der R-Status (Tumorbefall des Präparatrandes ja/nein) zur Verfügung. Alle diese Parameter sind statistisch hochsignifikant mit der Patientenprognose assoziiert. Alle Parameter unterliegen allerdings auch substanziellen Nachteilen. Der traditionelle Gleason-Grad unterscheidet nach Empfehlungen der International Society of Urological Pathology (ISUP) 5 Kategorien: 3+3, 3+4, 4+3, 8, 9-10. Die Unterscheidung dieser Kategorien unterliegt einer hohen Interobserver-Varianz (ca. 40%) - dies auch unter Experten [35]. Die Diagnosestellung der meisten Prostatakarzinome erfolgt in der Praxis eines niedergelassenen Urologen. Die dort entnommenen Biopsien werden meistens in einer kleinen Pathologie ohne ausgewiesene Subspezialisierung analysiert, was zur Folge hat, dass die meisten therapeutisch relevanten Gleason-Grade von Nicht-Spezialisten festgelegt werden.

Das pN-Stadium ist abhängig von dem Ausmaß der Operation. Entnimmt der Urologe viel Fettgewebe aus den lymphknotenhaltigen Regionen, werden mehr Lymphknoten zur Untersuchung kommen als im Falle einer defensiveren Durchführung der Operation. Eine ausgedehnte Lymphadenektomie birgt ein erhöhtes Risiko einer Lymphozelenbildung, sodass es gute Argumente für Operateure für eine sparsame Lymphadenektomie gibt [36]. Auch die pathologische Untersuchung ist hochvariabel. Der minimale Standard ist die gezielte Entnahme der palpablen Lymphknoten mit Anfertigung eines HE-Schnittes. Die maximale Variante umfasst die Entnahme der palpablen Lymphknoten, eine zusätzliche Einbettung des palpatorisch lymphknotenfreien Fettgewebes sowie die Anfertigung mehrerer Schnitte durch identifizierte Lymphknoten einschließlich einer immunhistochemischen Anfärbung. Am UKE

Hamburg war die Lymphknotenuntersuchung von 2005 bis 2014 schrittweise optimiert worden mit Einführung letztlich aller genannter Optimierungsmöglichkeiten. Die Maßnahmen hatten zu einer Verdopplung der identifizierten Lymphknoten und der nodal-positiven Fälle geführt [37]. Der R-Status (Resektionsrandbefall) hängt ab von der Sorgfalt und Komplettheit der Untersuchung. Da Prostatakarzinome makroskopisch in der Prostata meist nicht gesehen werden können, ist es nötig, die gesamte Prostata einschließlich des gesamten Präparatrandes histologisch aufzuarbeiten. Dies wird in dieser Form nach wie vor nicht an allen Pathologieinstituten durchgeführt.

1.1.8 Die Rolle des Androgenrezeptors beim Prostatakarzinom

Dem Androgenrezeptor wird sowohl in der Prostatafunktion als auch in der Prostatakarzinogenese bis hin zur Kastrationsresistenz eine tragende Rolle zugeschrieben. Der Androgenrezeptor gehört zu den intrazellulären Steroidrezeptoren und reguliert über die Transkription spezifischer Zielgene Entwicklung, Differenzierung und Wachstum von Prostatagewebe. Exprimiert wird er vorwiegend in den sekretorischen Prostatazellen [38]. Das zugehörige Gen ist auf dem X-Chromosom in der Region Xq11-12 lokalisiert [39]. Das exprimierte Protein besitzt eine molekulare Masse von 110 KDa [40] und besteht aus 919 Aminosäuren [41]. Während er in seiner inaktiven Form an Chaperon-Proteine (z.B. Hitzeschockproteine) gebunden im Zytosol vorliegt, kommt es bei Ligandenbindung zu einer Konformationsänderung zu einem aktiven Homodimer [42]. In dieser Form entfaltet der Androgenrezeptor nach Transport in den Nukleus schließlich zur Wirkung auf Transkriptionsebene und als Coregulator von androgensensitiven Zielgenen [43]. Wichtigster Ligand und damit das wichtigste auf genetischer Ebene agierende Androgen ist Dihydrotestosteron (DHT), welches aus Testosteron durch die 5-alpha-Reduktase gebildet wird.

Die Androgenrezeptorexpression kann vor allem in höheren Stadien als prognostischer Faktor für die Progressionsneigung des Prostatakarzinoms dienen. Während in niedrigen Stadien kaum reduzierte Expression beobachtet werden kann, ist eine verminderte Expression nach unterschiedlichen Studien mit früher Rezidivneigung [44], aggressiverem Krankheitsverlauf [45] und einem niedrigeren Krankheits-spezifischen Überleben [46] assoziiert. Darüber hinaus zeigten auch kastrationsresistente Karzinome oft eine verminderte Androgenrezeptorexpression, insbesondere wenn diese langfristig mit Androgendeprivation behandelt worden waren [47].

1.1.9 Die Rolle des ERG-Status im Prostatakarzinom

Die am häufigsten anzutreffende genetische Veränderung des Prostatakarzinoms ist die TMPRSS2-ERG-Fusion, welche in ca. 50 % aller Prostatakarzinome auftritt, wie Tabelle 4 zeigt [48, 49, 50]. Es handelt sich hier um eine Fusion des Transkriptionsfaktors ERG mit dem (androgenregulierten) TMPRSS2-Gen, welche durch eine Deletion auf Chromosom 21 bedingt ist [51]. Während physiologischerweise ERG in Prostataepithelzellen nicht zur Expression kommt, erfolgt durch die Fusion mit TMPRSS2 die androgenabhängige Expression von ERG in Prostatakarzinomzellen [51]. Studien haben insbesondere das frühe Auftreten (vor dem 50. Lebensjahr) von TMPRSS2-ERG Fusion-positiven Prostatakarzinomen gezeigt [51]. Es wird also eine Unterteilung in ERG-positive und ERG-negative Prostatakarzinome möglich, welche trotz eines deutlich unterschiedlichen Transkriptom der Zelle [48, 52] für sich genommen keine prognostische Relevanz hat - die Rezidivwahrscheinlichkeit ist annähernd identisch [50].

Tab. 4: Die häufigsten genomischen Veränderungen beim Prostatakarzinom

Rank	Genomische Veränderung	Art d. Veränderung	%
1	TMPRSS2:ERG	Fusion	56
2	8p	Deletion	37
3	16q	Deletion	28
4	13q	Deletion	24
5	PTEN	Deletion	19
6	6q	Deletion	19
7	17p	Deletion	16
8	12p	Deletion	13
9	18q	Deletion	11
10	7q	Gain	11

1.1.10 Die Rolle chromosomaler Deletionen im Prostatakarzinom

Weitere häufige genomische Veränderungen des Prostatakarzinoms umfassen Deletionen unterschiedlicher chromosomaler Regionen. Hier wären beispielweise Deletionen an den Orten 2q, 6q, 5q, 8p, 13q, 16q, 17p, 12p, 3p13 und 10q23 zu nennen [48, 53, 54]. Teilweise enthalten diese Deletionen bekannte Tumorsuppressorgene wie TP53 auf 17p13 [55] oder PTEN auf 10q23 [56, 57], ein Großteil der Zielgene ist jedoch unbekannt.

Losgelöst von dieser Frage erfolgten bzgl. einer erheblichen Anzahl von Deletionen bereits am UKE Untersuchungen im Hinblick auf ihre klinische Relevanz. Diese zeigten für alle betrachteten Deletionen eine prognostische Relevanz beim Prostatakarzinom [58, 59, 60, 61, 62, 63, 64].

1.1.11 Die Rolle von P53 im Prostatakarzinom

P53 wird heute als das am häufigsten mutierte Tumorsuppressorgen betrachtet. Erstmals Ende der 70er Jahre als Onkogen beschrieben [65], ist es heute als Tumorsuppressorgen bekannt [66] und spielt eine zentrale Rolle bei der Regulation des Zellzyklus, der Apoptoseinduktion und bei DNA-Reparaturmechanismen. Daher wurde es in dieser Funktion auch als „Wächter des Genoms“ bezeichnet [67] und Mutationen sind in vielen Tumoren unterschiedlicher Art beschrieben [68]. Im Falle des Prostatakarzinoms sind überwiegend Punktmutationen beschrieben [69]. Insgesamt ist das Vorkommen von p53-Mutationen im Prostatakarzinom mit ca. 5 % deutlich geringer als in den meisten sonstigen Tumorentitäten [70]. Dennoch zeigten große, u.a. am UKE durchgeführte Studien eine hochsignifikante Beziehung von p53-Veränderungen mit einer ungünstigen Patientenprognose [71].

1.1.12 Die Rolle von bcl2 im Prostatakarzinom

BCL2 – Proteine (b-cell-lymphoma 2) beschreibt eine Familie von Proteinen, die eine wichtige Rolle bei der Regulation von Apoptose spielen und pro- und anti-apoptische Proteine umfassen [72]. Während BCL2 sowohl als Onkogen als auch als Tumorsuppressorgen in unterschiedlichen Tumorarten beschrieben ist [73], fanden sich in Bezug auf das Prostatakarzinom Assoziationen von Überexpression mit schlechtem Erkrankungsverlauf [74, 75] sowie von Überexpression mit hohem Gleasongrad und schlechterem rezidivfreiem Überleben bei Patienten unter androgenprivativer Therapie [76].

1.1.13 Die Rolle von TUBB3 im Prostatakarzinom

Bei TUBB3 (β III-Tubulin) handelt es sich um ein mikrotubuläres Protein, das in Zellen neuronalen Ursprungs sowie unterschiedlichen extraneuronalen Zellen exprimiert wird [77, 78]. Darüber hinaus zeigte sich in vorangegangenen Studien eine vermehrte Expression in soliden Tumoren wie dem nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom [79] und dem Ovarialkarzinom [80, 81]. Und auch im Prostatakarzinom waren Assoziationen mit ungünstigem Tumorphänotyp und biochemischem Rezidiv vorbeschrieben [82, 83]. Zuletzt zeigte eine große Studie des UKE eine Assoziation von hoher TUBB3-Expression mit hoher ERG-Expression, hohem Gleasongrad, fortgeschrittenem pT-Stadium und frühem biochemischem Rezidiv. Die TUBB3-Expression erwies sich hier als unabhängiger prognostischer Parameter [84].

1.1.14 Die Rolle von Ki-67 im Prostatakarzinom

Bei Ki-67 handelt es sich um einen Proliferationsmarker, welcher sich während der G1-, S-, G2-Phase und M-Phase an die Chromosomen anlagert und immunhistochemisch nachgewiesen werden kann [85]. Somit erlaubt der Nachweis die Ermittlung der Proliferationsrate in Tumorzellen.

1.1.15 Die Rolle weiterer Fettstoffwechselfparameter im Prostatakarzinom

In einer vorangegangenen Studie [86] am UKE Hamburg war die Lysophosphatidylcholin-Acyltransferase 1 (LPCAT1) bezüglich ihrer prognostischen Relevanz beim Prostatakarzinom mittels der Tissue Microarray Technik untersucht worden. Im Ergebnis fand sich eine erhöhte LPCAT1-Expression als unabhängiger prognostischer Faktor für das Rezidivrisiko.

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in einer Studie [87] zum Zink-alpha-2-Glykoprotein (AZGP1), welches am Lipidabbau in Adipozyten beteiligt ist und eine deutliche unabhängige prognostische Relevanz von reduzierter Expression und nachteiligem Verlauf im Prostatakarzinom zeigte.

1.1.16 Die Rolle von DNA-Reparaturmechanismen im Prostatakarzinom

In der Vergangenheit hatte sich gezeigt, dass Proteine, welche die genomische Stabilität beeinflussen, für die Tumorgenese von wichtiger Bedeutung sind [88]. Beispielweise hatten sich Defekte in DNA-Reparaturproteinen als assoziiert mit Akkumulation von Mutationen und maligner Transformation erwiesen [89, 90]. Des Weiteren war ein Zusammenhang zwischen Überexpression bestimmter DNA-Reparaturproteine und schlechten Verläufen beim Prostatakarzinom beschrieben worden [91,92]. Dieser Zusammenhang konnte zuletzt am UKE Hamburg in einer großen Studie bestätigt werden. Es zeigten sich Assoziationen von Überexpression von DNA-Reparaturproteinen (MSH6, MLH1 und PMS2) mit fortgeschrittenem Tumorstatus, hohem Gleasongrad, Lymphknotenmetastasierung und frühem biochemischem Rezidiv sowie genetischer Instabilität [93].

1.2 Der Fettstoffwechsel in Tumoren

1.2.1 Grundzüge des Fettstoffwechsels

Zusammen mit Kohlenhydraten, Proteinen und Nucleotiden handelt es sich bei den Lipiden um eine der vier Stoffklassen, die als Bausteine lebender Organismen gelten. Die Lipide werden hinsichtlich ihrer physikalischen Eigenschaft - der Löslichkeit - definiert. Man unterteilt sie in folgende Untergruppen: Fettsäuren, Triacylglycerine, Phospholipide, Sphingolipide und Isoprenlipide, wobei die Fettsäuren und Triacylglycerine als wichtige Energieträger des menschlichen Organismus gelten. Sie werden im Fettgewebe gespeichert und können von dort bei Bedarf unter Energiegewinn mobilisiert und abgebaut werden. Bei den Lipiden, welche mit der Nahrung aufgenommen werden, handelt es sich vorzugsweise um Triacylglycerine, Phospholipide und Cholesterinester. Da diese aufgrund ihrer Apolarität und ihrer Molekülgröße nicht direkt durch die Enterozyten resorbiert werden können, erfolgt während des Prozesses der Verdauung eine Aufspaltung durch Lipasen im Magen- und Darmlumen. Diese Spaltprodukte werden anschließend und im Zusammenwirken mit Gallensäuren in Micellen verpackt und für die Enterozyten resorbierbar. Kurz- und mittelkettige Fettsäuren können dann den Enterozyten passieren und gelangen in den portalvenösen Kreislauf, wo sie vorzugsweise im Komplex mit Albumin transportiert werden. Langkettige Fettsäuren werden aktiviert und gelangen als Chylomikronen über den Ductus thoracicus ins Blut. Der Abbau und die Synthese von Fettsäuren erfolgen in jeweils 4 Schritten, welche in Bezug auf ihre grundlegenden chemischen Vorgänge im Wesentlichen entgegengesetzt ablaufen und vom Nährstoffangebot abhängig sind [94, 95].

Fettsäurebiosynthese

Die Fettsäurebiosynthese, auch Lipogenese genannt, findet bei Überangebot von Nährstoffen (anabole Stoffwechsellage) zum Zweck der Energiespeicherung statt. Dieser anabole, assimilierende Stoffwechselprozess läuft im menschlichen Organismus in Abhängigkeit von CO₂ im Zytosol der meisten Zellen ab, Hauptsyntheseort ist die Leber. Ausgangssubstrat ist Acetyl-CoA, welches vorwiegend aus dem Abbau von Glucose (Glykolyse) stammt und mithilfe des Citrat-Malat-Shuttles über die innere Mitochondrienmembran ins Zytosol gelangt. Dort folgt eine Carboxylierung zu Malonyl-CoA, welche durch die Acetyl-CoA-Carboxylase in Abhängigkeit von Biotin unter dem Verbrauch von ATP katalysiert wird. Die Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) ist somit das Schrittmachenzym der Fettsäurebiosynthese. Die folgenden zyklisch ablaufenden Reaktionsschritte der Substrate Acetyl-CoA und Malonyl-CoA werden durch den dimeren Multienzymkomplex der Fettsäure-Synthase katalysiert. Am Ende dieser Reaktion entstehen hauptsächlich Palmitinsäure (C16) und Stearinsäure (C18) als gesättigte Fettsäuren. Mittels weiterer Stoffwechselwege, welche ebenfalls vorwiegend in der Leber und im Fettgewebe ablaufen, ist dem Organismus darüber hinaus die Synthese ungesättigter Fettsäure und Triacylglyceriden möglich.

Die Regulation der Fettsäurebiosynthese erfolgt mittels Aktivierung/Hemmung des Schrittmachenzym Acetyl-CoA-Carboxylase. Bei anaboler Stoffwechsellage steigen in den Mitochondrien die Konzentrationen von Acetyl-CoA, ATP und somit auch von Citrat, welches als allosterischer Aktivator der ACC wirkt. Allosterischer Hemmstoff ist das Molekül AMP, welches bei Katabolie vermehrt vorliegt. Darüber hinaus wirken im Rahmen der hormonellen Regulation die katabolen Hormone Adrenalin und Glukagon hemmend auf das Schlüsselenzym, während die Insulinsekretion bei Anabolie eine aktivierende Wirkung auf Acetyl-CoA-Carboxylase hat [94, 95].

Fettsäureabbau

Der Fettsäureabbau erfolgt im menschlichen Organismus im Rahmen der β -Oxidation in den Mitochondrien bei kataboler Stoffwechsellage zum Zweck der Energiegewinnung. Hierzu werden die Fettsäuren zunächst mittels einer Reaktion mit ATP aktiviert und in der Folge ins Mitochondrium (vorwiegend von Leber- und Muskelzellen) transportiert. Dort erfolgt im Rahmen der β -Oxidation der zyklische Abbau der Fettsäuren vom Carboxylende her unter Verbrauch von je einem Molekül FAD, Wasser und NAD pro abgespaltener Acetyl-CoA Einheit. Die Acetyl-CoA-Moleküle werden anschließend in den Citratzyklus eingeschleust. Der Abbau ungesättigter Fettsäuren benötigt zusätzliche Enzyme, während der Abbau ungerader Fettsäuren über das Zwischensubstrat Propionyl-CoA erfolgt. Die Regulation der β -Oxidation erfolgt mittels Regulierung der Menge an ins Mitochondrium transferierten Fettsäuren. Dieser Transport wird durch die Carnitin-Acyl-Transferase I im Intermembrannärraum ermöglicht, welche ihrerseits in Abhängigkeit von Malonyl-CoA aktiviert oder inaktiviert wird. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass Fettsäure-Abbau und -synthese nicht gleichzeitig ablaufen [94, 95].

1.2.2 Die Rolle der Fettsäure-Synthase

Die Fettsäuresynthase (FAS, FASN) ist ein Multienzymkomplex, welcher den Großteil der Fettsäuresynthese katalysiert und im Jahr 2008 erstmalig in seiner atomaren Struktur entschlüsselt wurde [96]. Er besteht beim Säugetier aus zwei Homodimeren à 270 kDa [97], welche jeweils 3 Domänen mit unterschiedlichen Enzymaktivitäten und katalytischen Zentren enthalten. Es wird zwischen Domänen des Substrateintritts, der Reduktion des Acylrestes sowie der Freisetzung unterschieden. Entscheidend für den Ablauf sind zwei reaktive SH-Gruppen, an welche die Substrate während der gesamten Synthese gebunden bleiben [98, 99]. Das entsprechende Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 17 (17q25) [100].

Die FASN dient im Zytosol der de-novo-Synthese langkettiger Fettsäuren. Die Reaktion umfasst die Bildung von in erster Linie Palmitinsäure aus 1 Acetyl-CoA und 7 Malonyl-CoA unter Reduktion von 14 NADPH [101].

Grundsätzlich unterscheidet man FASN Typ I, welcher in Säugetieren, Pilzen und einigen Bakteriengattungen vorkommt und sich durch eine enzymatische Polypeptidkette für sämtliche enzymatisch aktive Zentren auszeichnet von FASN Typ II, welche in Prokaryonten vorkommt und innerhalb derer die Enzymaktivität in Form einzelner Proteine vorliegt, welche zu einem Komplex assoziieren [97, 102].

Im Falle eines normalen Nährstoffangebotes verwendet normal proliferierendes Gewebe die auf dem Blutwege bereitgestellten Fettsäuren zur Energiegewinnung. Die FASN-Konzentration ist gewebsspezifisch und daher im Regelfall niedrig. Vergleichsweise hohe Konzentrationen finden sich in Leber, Lunge und Gehirn [99, 103]. Darüber hinaus sind höhere Konzentrationen für hormonsensitive Zellen wie Endometrium und Milchdrüsengewebe während der Laktation beschrieben [104, 105]. Auch in der Embryogenese und in der Entwicklung fetaler Lungen (zur Surfactant-Produktion) finden sich hohe FASN-Expressionen und damit hohe Raten an de-novo-Fettsäuresynthese [106].

Die Regulation der Fettsäuresynthase erfolgt größtenteils auf Transkriptionsebene. Wichtige Transkriptionsfaktoren für die Genexpression sind USF (upstream stimulatory factor), SREBP-1 (sterol-regulatory element-binding protein-1) und ChREBP (carbohydrate-responsive element-binding protein) [107, 108, 109]. Anabole Stoffwechsellagen mit hoher Zufuhr von Kohlenhydraten/Proteinen [110] stimulieren im Tierversuch die Expression ebenso wie die Zufuhr der anabolen Hormone Insulin [111] und Trijodthyronin (T3) [112, 113]. Glucagon [114] und Katecholamine als Hormone des katabolen Stoffwechsels hemmen hingegen die FASN-Expression.

1.2.3 Die Rolle des Fettstoffwechsels und von FASN in Tumorgewebe

Zahlreiche Studien haben in den letzten Jahren auf die wichtige Rolle des Fettstoffwechsels in Tumoren hingedeutet. Tumorzellen sind meistens schnell wachsende Zellen, welche im Rahmen ihres expansiven Verhaltens in hypoxische Gewebезonen eindringen. Die Kombination von Hypoxie und Wachstum führt zu einem gesteigerten Bedarf an Fettsäuren, einerseits zur Neubildung von Zellbestandteilen, andererseits zur Energiegewinnung. Im Detail sind für die Proliferation von Tumorzellen die schnelle ATP-Produktion, die gesteigerte Synthese von Makromolekülen sowie die Aufrechterhaltung des Redox-Status essentiell. Hierfür ist eine Veränderung des Zellstoffwechsels vonnöten, welcher auf unterschiedlichem Wege die o.g. Bedingungen schafft. Otto Heinrich Warburg beschrieb in den 20er Jahren erstmals den veränderten Tumormetabolismus in Bezug auf den Glukosestoffwechsel in Form der sogenannten aeroben Glykolyse [115]. Dieser Mechanismus ist seitdem im Zusammenwirken mit einer gesteigerten Glukoseaufnahme in vielen Tumorzelllinien dokumentiert [116, 117, 118]. Darüber hinaus ist auch der Fettsäuremetabolismus für die Proliferation von Tumorzellen essentiell. Während im Normalfall vorwiegend exogene Fettsäuren metabolisiert werden, kommt es in Tumorzellen zu einer deutlichen Zunahme der de-novo-Fettsäuresynthese [119, 120]. Dies geschieht vor allem zum Zwecke der Bildung von Plasmamembranen im Rahmen der Proliferation, zur Energiegewinnung sowie zur Nutzung als intrazellulärer Botenstoff [121, 122]. Darüber hinaus führt das zunehmend hypoxische Milieu in Tumorzellen zur Ausbildung eines lipolytischen Phänotyps zum Zweck der gesteigerten Bildung von Oxidationsenergie [123], was eine verbesserte Resistenz der Tumorzellen gegen säureinduzierte Apoptose zur Folge hat [116, 124, 125]. Der erste Nachweis der Überexpression von FASN als Schrittmacherenzym der de-novo-Fettsäuresynthese gelang 1994 bei Brustkrebs [126]. Seither ist die gesteigerte Expression in multiplen Tumoren nachgewiesen worden, wobei in vielen Fällen die Expressionsrate mit dem klinischen Befund und der Prognose korreliert. Diese sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tab. 5: Literaturüberblick über die FASN-Expression in unterschiedlichen Tumoren

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
Mamma-karzinom	Corominas-Faja et al. 2017 [127]	189 primär invasive Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 60% - Signifikante Korrelation mit HER-2-Überexpression ($p < 0,001$) - Signifikante Korrelation mit geringerem Rezidiv-freiem Überleben ($p = 0,0037$) und geringerem Metastasen-freiem Überleben ($p = 0,036$) bei HER-2+-Tumoren
	Giro-Perafita et al. 2017 [128]	100 Triple negative Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 92% (55% schwache Expression, 45% starke Expression) - Signifikante Korrelation zwischen starker Expression und N1 Stadium ($p = 0,038$) - Signifikante inverse Korrelation zwischen FASN-Expression und Biomarker Vimentin ($p < 0,001$) - Signifikante, inverse Korrelation von Kombination von starker FASN- und EGFR-Expression mit Gesamtüberleben ($p = 0,0821$) und Rezidiv-freiem Überleben ($p = 0,00714$)
	Zhou et al. 2015 [129]	70 Proben - 12 Normalgewebe - 58 infiltrierende duktales Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 72,4 % Anteil FASN-positiver Normalgewebeproben: 8,3 % (Signifikante Differenz ($p < 0,01$) - Signifikante Korrelation mit N1-Status und Tumorgroße ($p < 0,01$)
	Kim et al. 2015 [130]	476 Karzinome: - 242 Luminal A - 134 Luminal B	Signifikante Unterschiede in FASN-Expression ($p < 0,001$) - Luminal A-Tumoren 33,9% pos. - Luminal B-Tumoren 34,3 %

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
		- 50 HER2-positiv - 50 Triple negativ	- HER2-positive Tumoren 56,0 % - Triple negative Tumoren 16,0 %
Fortsetzung Mamma- karzinom	Alo et al. 2001 [131]	66 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 92,4 % - Signifikante Korrelation zwischen FASN-Expression und Tumorstadium (I-II, I-III) ($p = 0,03$)
	Alo et al. 1996 [132]	110 Stadium-1-Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 37 % - Signifikante Korrelation mit Tumorgroße ($p=0,04$) und N-Status ($p=0,001$) - FASN als signifikanter Prädiktor von Rezidivfreiem Überleben ($p=0,0001$) und Gesamtüberleben ($p=0,003$)
	Milgraum et al. 1997 [133]	58 Proben - 12 Normalgewebe - 25 In-situ-Karzinome - 21 Invasive Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome (in-situ): 96 % Anteil FASN-positiver Karzinome (invasiv): 80,9 % Anteil FASN-positivem Normalgewebe: 91,6 % - Signifikant niedrigere Expression in low-grade DCIS gegenüber anderen Gruppe (high-Grade-DCIS, Invasion, LCIS) ($p<0,003$)
	Jensen et al. 1995 [134]	118 Niedrig-Risiko-Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 38,2% ($p=0,03$)
Bronchial- Karzinom	Orita et al. 2007 [135]	205 Proben - 181 Bronchial-Karzinome (94 Plattenepithel-Karzinome, 72 Adeno-Karzinome, 15 Großzell.-Bronchial-Karzinome) - 24 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome: 88,4 % Normalgewebe: Keine/geringe FASN-Expression (Score 0/1 von 4) - Signifikante Unterschiede von Normalgewebe zu jeder Tumorentität ($p<0,001$)
	Visca et al. 2004 [136]	106 Nicht-kleinzell. Karzinome - 53 Plattenepithel-Karzinome - 41 Adeno-Karzinome - 12 großzellige-Karzinome) 10 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome: 57,5 % - FASN-positive Tumoren zeigen Trend zu besserem Überleben ($p=0,1$)
	Piyathilake et al. 2000 [137]	120 Proben - 60 Plattenepithel-Karzinome - 60 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100% Anteil FASN-positiver Normalgewebeproben: 95% FASN-Expression in 95% Nicht-Tumor-Gewebe und 100% Tumorgewebe - Signifikanter schrittweiser Anstieg der FASN-Expression von Normalgewebe zu Plattenepithelkarzinom ($p<0,001$)
Kolorektales Karzinom	Zaytseva et al. 2012 [138]	k.A.	- FASN-Überexpression in Tumorstadien II-IV ggü. Normalgewebe ($p=0,03$) - signifikante Überexpression bei Primärtumoren ($p=0,05$) sowie Lebermetastasen ($p=0,023$)
	Uddin et al. 2009 [139]	448 Kolorektale Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome (hohes level): 27,1 % - Signifikante Korrelation von FASN-Expression mit p-AKT ($p<0,01$), Ki67($p<0,01$), SKP2-Überexpression($p=0,02$)
	Ogino et al. 2008 [140]	647 Kolorektale Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 13 % - Signifikante Korrelation von FASN-Expression und Tumorstadium IV ($p=0,01$) - Signifikante Korrelation von FASN-Expression und hochgradiger Mikrosatelliteninstabilität ($p=0,01$)

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
			- Signifikant höheres 5-Jahres-Überleben in FASN-positiven gegenüber FASN-negativen Tumoren ($p=0,0002$) - signifikant höheres Gesamtüberleben in FASN-positiven gegenüber FASN-negativen Tumoren ($p=0,008$)
Fortsetzung Kolorektales Karzinom	Ogino et al. 2007 [141]	967 Kolorektale Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 60 % (FASN 1+ 49%, FASN 2+ 11%) Anteil FASN-negativer Karzinome: 40% - Signifikante Korrelation von FASN 2+ mit hochgradiger Mikrosatelliteninstabilität, unabhängig von CIMP-Status ($p=0,004$)
	Visca et al. 1999 [142]	210 Proben - 10 Normalgewebe - 100 Adenome (verschiedene Dysplasiegrade) - 100 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 81% Anteil FASN-positiver Dysplasien: niedriggradig: 2%, mittelgradig: 17%, hochgradig: 53% - Signifikante Zunahme der Expression in Abhängigkeit von Dysplasiegrad ($p<0,0001$) Anteil FASN-pos. Normalgewebe: 0% - Signifikante Differenz ($p<0,0001$)
	Rashid et al. 1997 [143]	181 Proben - 139 Karzinome (Stage II, III) - 25 Adenome - 17 Dysplasien bei chronisch entzündl. Darmerkrankungen	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100% (53% hohe Expression, 38% mittelgradige Expression, 12% schwache Expression) Anteil FASN-positiver Adenome: 100% Anteil FASN-positiver Dysplasien bei CED: 100%
Pankreas- Karzinom	Bian et al. 2015 [144]	125 Proben - 81 duktale Adenokarzinome - 44 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome : 59,3 % - Signifikanter Unterschied der FASN-Überexpression zwischen Normalgewebe (9,1%) und Tumorgewebe ($p< 0,001$) - Signifikante Korrelation von FASN-Überexpression mit Tumorgroße ($p=0,048$) und TNM-Stadium ($p=0,033$) - Signifikante Korrelation von FASN-Überexpression mit niedrigem Gesamtüberleben ($p<0,01$)
	Walter et al. 2009 [145]	483 Proben - 399 primäre duktale Adeno-Karzinome - 30 intraduktales papillär-muzinöse Neoplasien (IPNM) - 54 chronische Pankreatitis	Anteil FASN-positiver Karzinome : 86,0 % - Signifikante Korrelation mit Gefäßinvasion ($P=0,002$) Anteil FASN-positiver IPMN: 93,3 % - Signifikante Korrelation mit histologischem Grad ($p=0,001$) - Signifikante Korrelation mit assoz. Invasivem Tumor ($P=0,001$)
	Witkiewicz et al. 2008 [146]	38 Proben - 33 duktales PankreasCA - 5 Intraepitheliale Neoplasien (PanIN)	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100% - signifikante Korrelation von hoher FASN-Expression und hohem histolog. Tumorgrad ($p=0,013$) - keine Expression in tumorfreiem Gewebe und PanIN-Gewebe
	Alo et al. 2007 [147]	30 Stadium-1- Adenokarzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 40% - signifikante Korrelation von Überexpression von FASN und p53-Expression ($p=0,002$), Ki-67-Expression, ($p=0,003$), Gesamtüberleben ($p=0,001$)
Hepato- zelluläres Karzinom (HCC)	Hao et al. 2014 [148]	40 Proben - 20 HCC - 20 tumorfreie benachbarte Gewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100% Anteil FASN-positives tumorfreies Gewebe: 10 % - Signifikanter Unterschied ($p<0,05$)
Ovarial- Karzinom	Bauer- schlag et al. 2015 [149]	116 Proben - 104 Karzinome - 12 benigne Eileiter	- Signifikante FASN-Expression für LMP1/G1-Tumoren ($p<0,005$) und G2/G3-Tumoren ($p<0,001$) gegenüber Normalgewebe

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
	Cai et al. 2014 [150]	75 Proben - 60 Karzinome - 15 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome 70,5 % (hohe Expression) Anteil FASN-positives Normalgewebe: 0%
	Uddin et al. 2011 [151]	151 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 75,5 % (hohes Level) - Signifikante Korrelation von FASN-Überexpression mit Expression von p-AKT ($p=0,0017$), XIAP ($p=0,0046$), Ki-67 ($p=0,0009$)
	Alo et al. 2000 [152]	98 Karzinome (37 serös, 18 muzinös, 27 endometriös, 6 weitere Entitäten)	Anteil FASN-positiver Karzinome: Serös 83,8 %, Muzinös 100%, Endometrium 100% - Signifikant höhere Expression in höheren Tumorgraden (Grad 0,1 – 69% vs. Grad 3 – 96,0%) ($p=0,0001$) - FASN-Expression in multivariater Analyse unabhängiger prognostischer Prädiktor ($p=0,05$)
	Gansler et al. 1997 [153]	68 Proben - 10 Zystadenome, - 11 Tumoren mit niedrigem malignen Potential (LMP) - 49 Karzinome - 5 Müllerscher Misch tumor (MMMT)	Anteil FASN-positiver Karzinome 70,6 % (hohe Expression) Keine/minimale Expression in Adenomen, LMP - Signifikante Korrelation von hoher (multifokaler, diffuser) Expression mit schlechterem Gesamtüberleben ($p=0,005$), 1-Jahresüberleben ($p=0,58$), 2-Jahresüberleben ($p=0,03$), 5-Jahresüberleben ($p=0,06$)
Endometrium-Karzinom	Rahman et al. 2013 [154]	108 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 77,8% (hohe Expression) - Signifikante inverse Korrelation mit Myometriuminvasion ($p=0,037$) - Signifikante Korrelation mit Östrogen-Rezeptor ($p=0,018$) und Progesteron-Rezeptor ($p=0,012$)
	Sebastiani et al. 2004 [155]	95 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 56% - Signifikante Korrelation zu hohen Tumorgraden ($p<0,004$)
	Pizer et al. 1998 [156]	35 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100%, - Hohe Expression und Proliferation korrelieren signifikant mit Tumorgrad (ab Grad 2) ($p<0,0001$) - Signifikante Korrelation von FASN-Expression und Ki-67-Expression ($p<0,0001$)
Magen-Karzinom	Duan et al. 2016 [157]	194 Proben - 167 Karzinome - 27 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome: 90,0 % (hohes Level: 50,9 % , ($p=0,001$) - Signifikante Korrelation mit Tumorstadium ($p<0,05$) - Stadien I-III: Sign. Korrelation mit Alter ($p<0,05$), TNM-Status ($p<0,001$), Magenwandinvasion ($p<0,001$), N1-Status ($p>0,001$), postoperativen Rezidiven ($p<0,001$) - Stadium IV: Signifikante Korrelation mit Metastasierung ($p<0,001$) und Mortalität ($p<0,001$)
	Xiang et al. 2015 [158]	60 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 90,0 % - Signifikante Korrelation von erhöhter FASN-Expression mit TNM-Status ($p<0,05$) und peritonealen Metastasen ($p<0,05$) - FASN-Expression ist signifikanter Risikofaktor für Mortalität ($p<0,05$) - Signifikante inverse Korrelation von FASN-Expression mit PTEN-Expression ($p<0,01$)
	Ito et al. 2013 [159]	47 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 46,8 % - Signifikante Korrelation von hoher Expression mit Tumordinvasionstiefe ($p=0,0423$) und N1-Status ($p=0,0023$)
	Hou et al. 2012 [160]	180 Proben - 90 Adenokarzinome - 90 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100% - Signifikant höhere Expression gegenüber Normalgewebe ($p<0,05$)

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
			- Signifikante Korrelation von hoher Expression mit niedrigerem Gesamtüberleben ($p=0,0078$) und niedrigerem 3-Jahres-Überleben ($p=0,0023$)
Fortsetzung Magen-Karzinom	Kusakabe et al. 2002 [161]	677 Proben - 626 Karzinome - 51 Tubuläre Adenome (low-grade-Dysplasie) - 386 Foveolae gastricae - 490 Intestinale Metaplasien - 406 Regeneratives Epithel - 453 Magendrüsen	Anteil FASN-positiver Karzinome: 70,6 % (hohe Expression 34,5 %, niedrige Expression 36,1%) - Signifikante Korrelation von hoher FASN-Expression und histologischem Grad (gut-differenz.) ($p=0,0001$) - Signifikante Korrelation mit Vorkommen von Lebermetastasen ($p=0,0142$) - Signifikante Korrelation mit hohem Alter ($p<0,0001$) und männlichem Geschlecht ($p=0,0291$) Anteil FASN-positiver Adenome: 78,4 % (hohe Expression 49,0 %, niedrige Expression 29,4%) Anteil FASN-positiver Foveolae gastricae: 9,3 % (hohe Expression 0,8 %, niedrige Expression 8,5%) Anteil FASN-positiver Intest. Metaplasien: 79,2 % (hohe Expression 34,5 %, niedrige Expression 43,7%) Anteil FASN-positives Regeneratives Epithel: 73,2 % (Hohe Expression 25,4 %, Niedrige Expression 47,8%) Anteil FASN-positiver Magendrüsen: 30,9 % (Hohe Expression 4,4 %, Niedrige Expression 26,5%)
Ösophagus-Karzinom	Zhou et al. 2012 [162]	90 Proben - 60 Plattenepithel-Karzinome - 20 Adeno-Karzinome - 10 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Plattenepithel-Karzinome: 95 % (hohe Expression: 32%) Anteil FASN-positiver Adeno-Karzinome: 90 % (hohe Expression: 50%) - Signifikante Korrelation mit Tumordifferenzierung ($p=0,039$) FASN-Expression in Normalgewebe: 0%
	Orita et al. 2010 [163]	162 Proben - 22 invasive Plattenepithel-Karzinome - 81 invasive Adeno-Karzinome - 31 Barrett-Ösophagus (10 ohne Dysplasie, 5 low grade Dysplasie, 16 high grade Dysplasie) - 18 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Plattenepithel-Karzinome 100 % (Hohe Expression: 77 %, niedrige Expression: 23 %) - signifikant erhöht gegenüber Normalgewebe (keine p-Angabe) Anteil FASN-positiver Adeno-Karzinome: 100% (hohe Expression: 96 %, niedrige Expression: 4 %) - signifikant erhöht gegenüber Normalgewebe Anteil FASN-positiver Barrett- ohne Dysplasien: 30% (niedrige Expression) Anteil FASN-positiver Barret-low-grade-Dysplasien: 60% (niedrige Expression) Anteil FASN-positiver Barret-high-grade-Dysplasien: 93,8% (moderate/hohe Expression) FASN-Expression in Normalgewebe: keine/minimal (Level 0-1)
	Nemoto et al. 2001 [164]	104 Proben - 4 Normalgewebe - 14 Dysplasien - 80 Plattenepithel-Karzinome - 4 x weitere Tumorentitäten	Anteil FASN-positiver Dysplasien: 81,6 % , (milde/moderate Intensität) Anteil FASN-positiver Plattenepithel-Karzinome: 96,3 % (hohe Expression: 73,8 %, niedrige Expression: 22,5 %) Anteil FASN-positiver Übriger Tumorentitäten: 100% (hohe Expression) - Signifikante Korrelation von FASN-Expression und präoperativer Therapie ($p<0,005$) FASN-Expression in Normalgewebe: keine/minimal
Urothel/Blasen-Karzinom	Hamada et al. 2014 [165]	113 Urothel-Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100 % (niedrige Expression 72,6%, hohe Expression 27,4%) - Signifikante Korrelation von hoher Expression mit hohem Tumorgrad ($p=0,0273$) und kürzerem Rezidivintervall ($p=0,0171$) - in multivariater Analyse hohe Expression als unabhängiger signifikanter Prädiktor für kürzeres Rezidivintervall
	Jiang et al. 2012	54 Urothel-Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 59%

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
	[166]		- Signifikante Korrelation mit schlechter Zelldifferenzierung ($p < 0,05$) und früheren Rezidiven ($p < 0,05$)
	Sugino et al. 2011 [167]	79 Proben - 21 Carcinoma in situ - 58 Urothel-Karzinome	Anteil FASN-positiver Urothel-Karzinome : 98% Anteil FASN-positiver Carcinoma-in-situ 81% - Signifikante Korrelation mit Tumorstadium ($p = 0,0002$) und histologischem Grad ($p < 0,001$)
Nierenzellkarzinom	Horiguchi et al. 2008 [168]	120 Karzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 15% - Signifikante Korrelation mit hohem Tumorstadium (pT3,T4) ($p = 0,0009$), regionären Lymphknotenmetastasen ($p = 0,0429$), Fernmetastasierung ($p = 0,0042$), hohem histologischem Grad ($p = 0,0017$), Mikrogefäßinvasion ($p = 0,0357$) - Signifikante Korrelation mit kürzerer Überlebenszeit ($p < 0,0001$) - in multivariater Analyse FASN-Expression als unabhängiger signifikanter Prädiktor für kürzeres Überleben ($p = 0.0363$)
Sarkom (Weichteilsarkom, Osteosarkom)	Liu et al. 2012 [169]	136 Osteosarkome (osteoblastische Osteosarkome 57.4%, fibroblastische Osteosarkome 25%, chondroblastische Osteosarkome 17.6%)	Anteil FASN-positiver Sarkome: 63,2% Anteil FASN-positiver Sarkome bei Vorliegen von Lungenmetastasen: 86.4% (gegenüber 52,2% ohne Lungenmetastasen, signifikante Differenz $p = 0,002$) - Signifikante Korrelation mit Tumorgröße ($p = 0,013$)
	Takahiro et al. 2003 [170]	64 Weichteilsarkome - 23 maligne fibröse Histiozytome - 17 Liposarkome - 7 maligne periphere Nervenscheiden-Tumoren - 1 extraskellettales mesenchymales Chondrosarkome	Anteil FASN-positiver Sarkome: 31% (Maligne fibröse Histiozytome: 56% - signifikant höhere Expression als andere Entitäten ($p = 0,002$), Liposarkome: 17,6%, Maligne periphere Nervenscheiden-Tumoren: 42,9%, Extraskellettales mesenchymales Chondrosarkome: 100%) - Signifikante Korrelation mit Tumorgröße ($p = 0,03$) und Tiefe ($p = 0,02$). - Signifikante Korrelation mit Ki-67-Expression ($p = 0,02$) - Signifikante inverse Korrelation mit Rezidivfreiheit ($p = 0,006$) und Gesamtüberleben ($p = 0,003$) - in multivariate Analyse FASN-Expression als unabh. Signifik. Prädiktor für Rezidivfreies Überleben ($p = 0.003$)
Lymphom	Gelebart et al. 2012 [171]	20 Proben - 15 Mantelzellymphome - 5 benignes lymphatisches Gewebe	Anteil FASN-positiver Lymphome: 100% FASN-Expression in Normalgewebe: 0%
	Uddin et al. 2010 [172]	259 diffuse großzell. B-Zellymphome	Anteil FASN-positiver Lymphome: 62,6% - Signifikante Korrelation mit Expression von p-AKT ($P = 0.0309$), c-Met ($P = 0.0002$), and Ki-67 ($P < 0.0001$) - Signifikante FASN-Überexpression in GC-Subtyp vs. ABC-Subtyp ($P = 0.0122$) - Sign. FASN-Überexpression in weiblichen Proben ($P = 0.0026$)
	Wang et al. 2008 [173]	39 Proben 27 Multiples Myelome 12 Normalgewebe	Anteil FASN-positiver Multiple Myelome: 70,4%
	Okawa et al. 2008 [174]	18 Multiple Myelome	Anteil FASN-positiver Multiple Myelome: 100%
Leukämie	Pizer et al. 1996	HL60 promeolyt. Leukämie-Proben	Anteil FASN-positiver Leukämien: erhöht (keine näheren Angaben)

Art des Karzinoms	Autor / Jahr	Probenanzahl, -arten	Häufigkeit FASN-positiver Karzinome, Korrelationen
	[175]	(keine Angabe der Anzahl)	
Schilddrüsenkarzinom	Liu et al. 2011 [176]	32 Follikuläre Schilddrüsenkarzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 53,1% Expression in Normalgewebe: 0%
	Uddin et al. 2008 [177]	487 Pappiläre Schilddrüsenkarzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 6,2% - Signifikante Korrelation mit Expression von p-AKT ($p=0,0261$)
	Sekiguchi et al. 2001 [178]	4 Anaplastische Schilddrüsenkarzinome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100 %
Retinoblastom	Camassei et al. 2002 [179]	66 Retinoblastome	Anteil FASN-positiver Karzinome: 82 % (31 moderate Expression, 16 starke Expression, 7 sehr starke Expression) - Signifikante Korrelation von starker Expression mit Choroidea-Invasion ($p<0,001$), N.-opticus-Invasion ($p=0,016$), hohem Mitose-Index ($p<0,001$), schlechterer histologischer Differenzierung ($p=0,047$)
Plattenepithelkarzinom im Kopf- und Halsbereich (HSNCC)	Silva et al. 2010 [180]	33 HSNCCs	Anteil FASN-positiver Karzinome: 59 % - Signifikante Korrelation von hoher Expressionsintensität und hohem Tumordifferenzierungsgrad (G1) ($p=0,054$) - Signifikante inverse Korrelation von Expression und Lungenmetastasierung ($p=0,006$)
Mesotheliom	Gabrielson et al. 2001 [181]	30 Mesotheliome	Anteil FASN-positiver Mesotheliome: 73 % (43% hohe Expression, 30% moderate Expression)

1.2.4 Die Rolle der Fettsäure-Synthase im Prostatakarzinom

Auch das Prostatakarzinom wurde hinsichtlich FASN untersucht. Insgesamt 17 Studien hatten an Patientenkohorten von 31-909 immunhistochemische Untersuchungen mit verschiedenen Antikörpern gegen FASN durchgeführt. Die Erkenntnisse dieser Studien sind in Tabelle 6 dargestellt. Insgesamt sprechen die Daten für eine Assoziation einer erhöhten FASN-Expression mit hohem Gleason-Grad (182, 184), erhöhtem pT-Stadium (182) und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen (196) sowie für einen Zusammenhang mit ungünstigem klinischem Verlauf (195). Die betreffenden Studien in in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tab. 6: Literaturüberblick über die FASN-Expression beim Prostatakarzinom

Autor	Jahr	Fälle	Vorbehandlung	Verdünnung	Antikörper	Häufigkeit FASN-pos. Karzinome, Korrelationen
Huang et al. [182]	2016	164 Karzinome	Radikale Prostatektomie	1:100	FASN monoklonaler Maus-Antikörper (Santa Cruz Biotechnologies)	Signifikant höhere FASN-Expression bei höherem Gleason-Score (GS=7, n=56; GS >7, n=27) im Vergleich zu niedrigerem Gleason-Score (GS < 7, n=53). ($P < 0.01$) Signifikant höhere FASN-Expression bei höherem Tumorstadium \geq pT3 (n=34) oder höher \leq pT2 (n=102) ($P < 0,001$)
Cheng et al. [183]	2015	164 Karzinome	Radikale Prostatektomie	k.A.	FASN Antikörper (Lifespan BioSciences, Seattle, WA, USA)	Signifikant erhöhte FASN-Expression in malignem gegenüber benignem Gewebe (durchschn. Anfärbungsintensität 2,37 vs. 1,07) ($P < 0.001$) Signifikante Assoziation von neoadjuvanter Androgendeprivation und erniedrigter FASN-Expression
Madigan et al. [184]	2014	45 Karzinome	Radikale Prostatektomie	1:250	Monoklonaler FASN-Antikörper (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)	Signifikanter Anstieg der FASN-Expression in Abhängigkeit von Gleason-Score (anhand von Anfärbungs-Score) ($P < 0.001$) Benignes Epithel: Score 0,43 High grade PIN: Score 3,63 PCA Gleason 6: 3,39 PCA Gleason 7: 22,73 PCA Gleason \geq 8: Score 43,69
Hamada et al. [185]	2014	80 Proben - 32 niedrige-Expression-Biopsien - 48 hohe-Expression-Biopsien	Sonographiegesteuerte transrektale / transperitoneale Prostatektomie mit anschließender radikaler	1:50	Polyklonaler FASN-Maus-Antikörper (Immunobiological Laboratories Co., Fujioka, Japan)	Hohe FASN-Expression korreliert mit Gleason-Hochstufung von Biopsie-Gleason 5-6 zu Gleason 7 nach radikaler Prostatektomie ($P < 0.0001$) (Hochgestufte Niedrig-Expressionsproben: 8 = 25%; Hochgestufte Hoch-Expressionsproben: 38 = 79,2%)

Autor	Jahr	Fälle	Vorbehandlung	Verdünnung	Antikörper	Häufigkeit FASN-pos. Karzinome, Korrelationen
			Prostat-ektomie			
Wu et al. [186]	2011	98 Proben - 36 Adeno-Karzinome - 62 Benignes Gewebe	k.A.	1:3200	FASN-Antikörper Clone 23 (BD Biosciences, San Diego, CA, USA)	Anteil FASN-positiver Karzinome (+AMACR): 93,6 +/- 4,2 % (AMACR 88,3 +/- 5,4) ($p < 0,008$) Expression in benignem Gewebe: 67 +/- 5 % (AMACR 10,5 +/- 2,9) ($p < 0,0001$) (P jeweils für errechneten Score)
Tischler et al. [187]	2010	622 Karzinome	k.A.	1:2000	Monoklonaler FASN-Maus-Antikörper clone 3F2-1F3, (US Biological)	Anteil FASN-pos. Karzinome: 98,4% - Signifikante Überexpression in 92,6% gegenüber Normalgewebe ($p < 0,01$) (Normalgewebe: negativ 4.5%, 1+ 46.1%, 2+ 37.5% und 3+ 11.9% Karzinom: negativ 1.6%, 1+ 10.3%, 2+ 27.5%, und 3+ 60%) - Korrelation zu Ki-67-Expression ($P < 0.05$)
Nguyen et al. [188]	2010	909 Karzinome	Radikale Prostat-ektomie	1:400	Polyklonaler FASN-Maus-Antikörper (Assay Designs, Ann Arbor, MI, USA)	- Assoziation von FASN Polymorphismus (SNPs) mit der Inzidenz von Prostatakarzinom, verstärkt für fortgeschrittene Stadien (T3, T4, N1, oder M1) ($p < 0,01$) - Korrelation von hoher FASN-Expression und hohem BMI in Bezug auf PCA-Mortalität ($p < 0,02$)
Migita et al. [189]	2009	745 Karzinome	- k.A.	1:200	Polyklonaler FASN-Maus-Antikörper (Assay Designs, Ann Harbor, MI, USA)	- Inverse Assoziation von FASN – Expression mit Apoptose (mittels TUNEL-Nachweis) ($p: 0,046$)
Shah et al. [190]	2006	166 Proben - 11 Gutartiges Gewebe - 14 BPH - 32 high-grade PIN - 42 NAT - 106 Adeno-karzinome - 7 N1-Status - 6 M1-Status	- k.A.	1:1000	Monoklonaler FASN-Antikörper (Baltimore, Md., USA)	Anteil FASN-pos. Karzinome : 59 % (hohe Expression) - Signifikant ($P < 0,001$) erhöhte Expression in Adenokarzinom (Durchschnittswert 1,998), Metastasen (2.061) und high-grade PIN lesions (1.679) im Vergleich mit Normalgewebe (0.781), BPH (0.284), NAT prostate tissue (0.370)
Van den Sande et al. [191]	2005	181 Proben - 36 Normal-gewebe - 23 low-grade-PIN - 36 high-grade PIN - 86 Karzinome	Biopsie n, Prostat-ektomie	1:20	Monoklonaler FASN-Antikörper, Transduction Laboratories (Lexington, KY, USA)	Anteil FASN-positiver Karzinome: 100 % - hier signifikante Korrelation mit Gleasonscore ($P < 0,001$) - 0 % FASN-Expression in Normalgewebe - Anteil FASN-pos. Low-grade-PINs: 50 % - Anteil FASN-pos. High-grade-PINs 100 %

Autor	Jahr	Fälle	Vorbehandlung	Verdünnung	Antikörper	Häufigkeit FASN-pos. Karzinome, Korrelationen
						- Signifikante Korrelation von pAkt-Expression und FASN-Expression ($p < 0,001$)
Rossi et al. [192]	2003	128 Proben - 64 Normalgewebe - 64 Karzinome	k.A.	1:2000	Monoklonaler FASN-Antikörper (Transduction Laboratories, Lexington, KY, USA)	Anteil FASN-positiver Karzinome: 91 % Anteil FASN-pos. Normalgewebe (31%) - Expression durchschnittlich 10-fach erhöht - Signifikante Unterschiede zwischen High grade PIN und Normalgewebe, Tumorgewebe und Normalgewebe ($p < 0,001$) - Signifikante Korrelation zwischen FASN-mRNA und FASN-Protein Expression
Swinen et al. [193]	2002	138 Proben -25 low-grade-PIN -26 high-grade-PIN - 87 Karzinome	Biopsien	1:20	Monoklonaler FASN-Antikörper (Transduction Laboratories, Lexington, KY)	Anteil FASN-positiver Karzinome: 94,2 % Anteil FASN-positiver Low-Grade-Läsionen: 96 % Anteil FASN-pos. High-Grade-Läsionen: 100 % - keine Expression in Normalgewebe/BPH - zunehmende Staining/Anfärbungsintensität (=Expression) in höhergradigen Tumoren - hohe FASN-Expression korreliert mit hoher Ki-67Aktivität/Expression (=Proliferation)
Pizer et al. [194]	2001	31 Karzinome (Gleason ≥ 6) gegenüber benignen Proben	Radikale Prostatektomie	0,1 \pm 0,5 mikrog/ml	Monoklonaler FASN-Antikörper	- Benigne Proben zeigen keine oder niedrige Expression - ubiquitär hohe Expression in Tumorgewebe (2-3x höher) - Signifikante Reduktion der FASN-Expression im benignen Gewebe unter Androgen-Deprivation ($P= 0.000002$)
Shurba-ji et al. [195]	1996	99 Karzinome (Status A bis D1)	- 38 Biopsien - 27 TUR - 39 Radikale Prostatektomie - 2 Neukleationen	k.A.	Polyklonaler OA-519 (=FASN)-Maus-Antikörper, ChekTec Corporation (Baltimore, MD, USA)	Anteil FASN-positiver Karzinome: 57 % Keine Expression in Normalgewebe/BPH - Signifikante Korrelation zwischen FASN-pos. Tumoren und Krankheitsprogress ggü. FASN-neg. Tumoren ($p < 0,04$) - in univariaten Analysen FASN-Expression, GleasonScore, clinical State als signifikante Prädiktoren für Krankheitsprogress - in multivariater Analyse bzgl. Gleason 2-7-Tumoren FASN-Expression als einziger signifikanter Prädiktor für Krankheitsprogress ($p < 0,02$)
Epstein et al. [196]	1995	66 Karzinome (Gleason 6-7)	Radikale Prostatektomie	k.A.	Anti-OA-519 (=FASN)-Maus-Antikörper	- keine / geringe Expression in benignem Gewebe - gegenüber organbegrenzten Tumoren zeigen Tumoren mit Samenblaseninfiltration ($P = 0,034$) und Lymphknoteninfiltration ($P = 0,025$) höhere Expressionen

Autor	Jahr	Fälle	Vorbe- hand- lung	Ver- dünn- ung	Antikörper	Häufigkeit FASN-pos. Karzinome, Korrelationen
						- Signifikant höhere Expression in höheren Tumorstadien gegenüber niedrigeren Stadien - in multivariater Analyse sind FASN-Expression und Gleason Score jeweils signifikante unabhängige Prädiktoren für Tumorstadium
Shurba- ji et al., [197]	1992	42 Karzinome - 23 TUR - 14 Biospien - 5 Prostat- ektomien		1:20	polyclonal anti-OA-519 antibody	Anteil FASN-pos. Karzinome: 48% Normalgewebe / BPH: keine Expression - Signifikante Korrelation von FASN-Expression mit Tumor-Grading (Expression in Grade I: 0 % , Grade II: 61 % , Grade III: 67%) ($P < 0,006$) - Signifikante Korrelation von FASN-Expression und Tumorgröße (FASN-pos. Gewebe: 57 % pos. Proben, FASN-neg. Gewebe: 15 % pos. Proben ($P = 0,004$))

1.3 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Angesichts der starken Hinweise auf eine mögliche Prognoserelevanz von FASN beim Prostatakarzinom haben wir uns die Frage gestellt, ob es sich bei FASN um einen klinisch nutzbaren Prognosemarker handeln könnte. Um diese Frage zu klären, müsste ein großes Patientenkollektiv untersucht werden, bei dem auch andere Prognosefaktoren vorliegen, sodass die Betrachtung der relativen prognostischen Bedeutung von FASN im Verhältnis zu anderen Parametern deutlich würde, verbunden mit der Frage, inwieweit die FASN-Expression ein unabhängiger Prognosefaktor sein könnte. Da Untersuchungen aus dem UKE Hamburg gezeigt haben, dass viele Prognosemarker ihre prognostische Bedeutung entweder in ERG-positiven [198, 199] oder ERG-negativen [200, 201, 202] Prostatakarzinomen besonders stark entfalten, sollte in dieser Untersuchung auch die prognostische Relevanz der FASN-Expression in diesen beiden wichtigen molekularen Untergruppen des Prostatakarzinoms erfolgen. Ein weiteres Ziel der Arbeit war der Vergleich der FASN-Expression mit anderen molekularen Schlüsselveränderungen beim Prostatakarzinom. Dies geschah in der Absicht, möglicherweise Rückschlüsse auf die biologische Funktion von FASN in Prostatakarzinomen zu ziehen.

Um die genannten Ziele anzugehen, nutzten wir in dieser Studie einen Prostatakarzinom-Tissue-Microarray, bestehend aus Gewebeproben von 11.152 verschiedenen Prostatakarzinom-Patienten, wovon in den meisten Fällen klinische Verlaufsdaten vorlagen. Für die Analyse der Korrelationen zu molekularen Parametern konnten wir auf zahlreiche früher an diesem Patientenkollektiv durchgeführte Studien zurückgreifen.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Es lagen Proben radikaler Prostatektomien von 11.152 Patienten vor, welche sich zwischen 1992 und 2011 in der Urologischen Abteilung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und in der Martini-Klinik Hamburg hatten operieren lassen. Des Weiteren lagen Follow-up Daten von insgesamt 9.695 Patienten mit einer medianen Follow-up Zeit von 31,2 Monaten vor (Range: 0,3 - 228 Monate). Regelmäßige PSA-Bestimmungen erfolgten postoperativ. Ein PSA-Rezidiv wurde definiert als ein Serum PSA Wert von $\geq 0,2$ ng/ml, der nach der initialen Bestimmung mindestens einmal bestätigt wurde. Prostatektomiepräparate wurden nach einem Standardverfahren analysiert einschließlich der vollständigen Einbettung zur histologischen Beurteilung [203].

Die Qualität der zur Verfügung stehenden klinischen Daten wird durch die hochsignifikante Prognoserelevanz der bekannten Prognoseparameter Gleasongrad (Abb. 2a), quantitativer Gleasongrad (Abb. 2b), pT-Stadium (Abb. 2c) und pN-Status (Abb. 2d) dokumentiert.

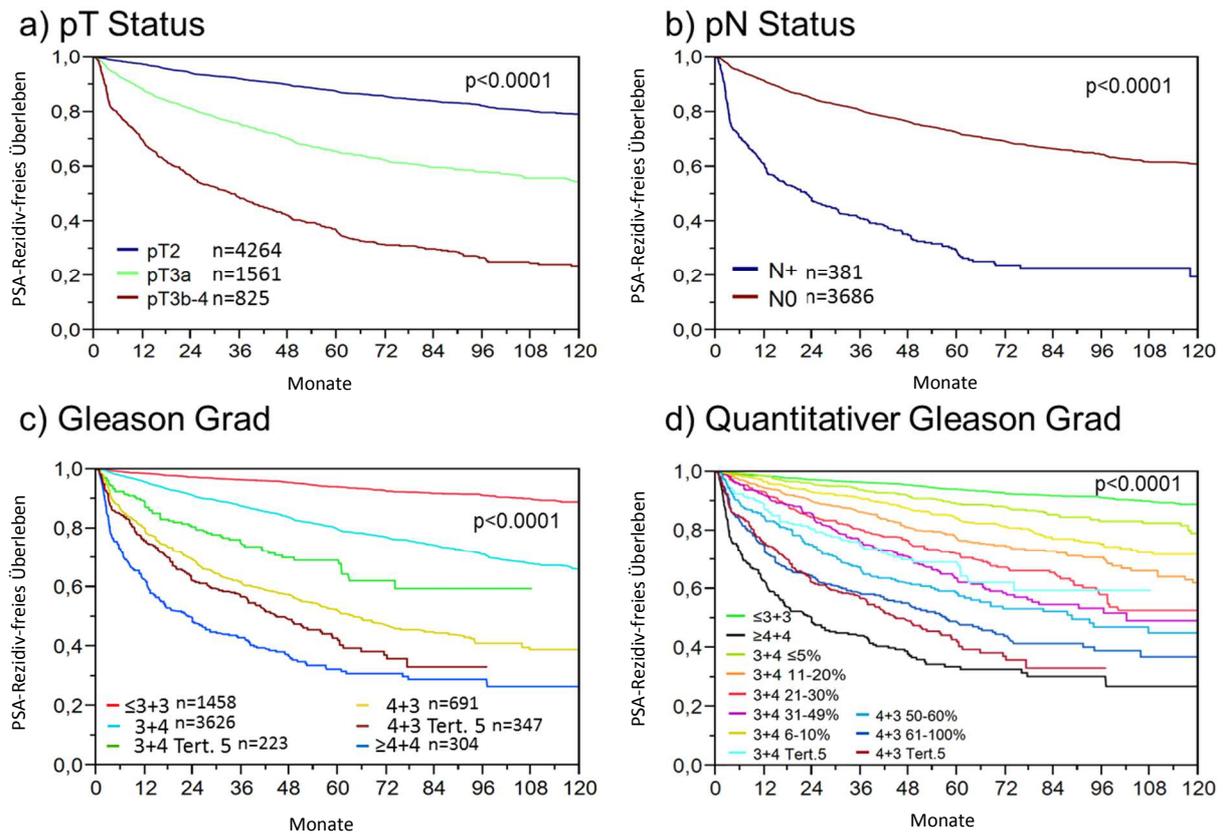


Abb. 2: Prognostische Bedeutung etablierter Parameter a) pT Status b) pN-Status c) Gleason Grad d) Quantitativer Gleason Grad in einem Kollektiv von 7160 Patienten

Von allen Tumoren war eine umfassende Gleason-Gradierung durchgeführt worden einschließlich einer Bestimmung der prozentualen Anteile von Gleason 3, 4 und 5-Mustern im Tumor. Eine detaillierte Darstellung der wichtigsten Parameter zu den Patienten, welche in dieses Projekt eingeschlossen wurde, ist in Tabelle 7 dargestellt.

Tab. 7: Patientenkollektiv des Hamburger Prostatakarzinom-TMA

	Anzahl der Patienten	
	TMA Studienkohorte (n=11152)	PSA-Rezidiv (n=1824; 18,5%)
Follow-up (Monate)		
Mean	64,5	-
Median	59	-
Alter (Jahre)		
≥50	323	51 (15,8%)
51-59	2696	445 (16,5%)
60-69	6528	1078 (16,5%)
≥70	1498	241 (16,1%)
Präoperativer PSA (ng/ml)		
<4	1417	142 (10,0%)
4-10	6866	823 (12,0%)
10-20	2160	525 (24,3%)
>20	719	308 (42,8%)
Tumorstadium (AJCC 2002)		
pT2	7514	565 (7,5%)
pT3a	2403	586 (24,4%)
pT3b	1265	623 (49,2%)
pT4	63	49 (77,8%)
Gleason Score		
≤3+3	2734	342 (12,5%)
3+4	5622	1057 (18,8%)
3+4 Tert.5	379	84 (22,2%)
4+3	912	405 (44,4%)
4+3 Tert.5	520	230 (44,2%)
≥4+4	416	221 (53,1%)
Lymphknoten-Metastasen		
pN0	6115	1126 (18,4%)
pN+	568	298 (52,5%)
Resektionsrand		
Negative	8999	1148 (12,8%)
Positive	2096	639 (30,5%)

2.2 Tissue Microarray

Das Tissue Microarray-Verfahren erlaubt die gleichzeitige Untersuchung hunderter verschiedener Tumorproben auf einem einzigen Objektträger. Kern der Methode ist die Entnahme eines repräsentativen Tumorgewebezyinders aus einem tumorhaltigen Paraffinblock mittels einer

Hohlnadel mit einem inneren Durchmesser von 0,6 mm. Die entnommenen Gewebestücke werden an einer genau definierten Stelle eines Empfängerblocks in ein vorgefertigtes Loch eingebracht. In einem Empfängerblock werden am UKE ca. 600 Gewebeprobeen eingebracht. Dabei handelt es sich vor allem um Tumorfragmente, teilweise aber auch um Kontrollgewebe zur Sicherstellung einer konstanten immunhistochemischen Färbung. Ein repräsentativer Tissue Microarray-Schnitt des Prostatakarzinom-TMAs ist in Abbildung 3 dargestellt. Das in Abbildung 4 gezeigte Koordinatensystem erklärt, wie jeder einzelnen Tumorposition eine Koordinate zugeordnet wird, bestehend aus 2 Buchstaben und einer Zahl. Der erste Buchstabe definiert den TMA-Sektor, die Zahl die Reihe und der dritte Buchstabe die Spalte (X-Achse).

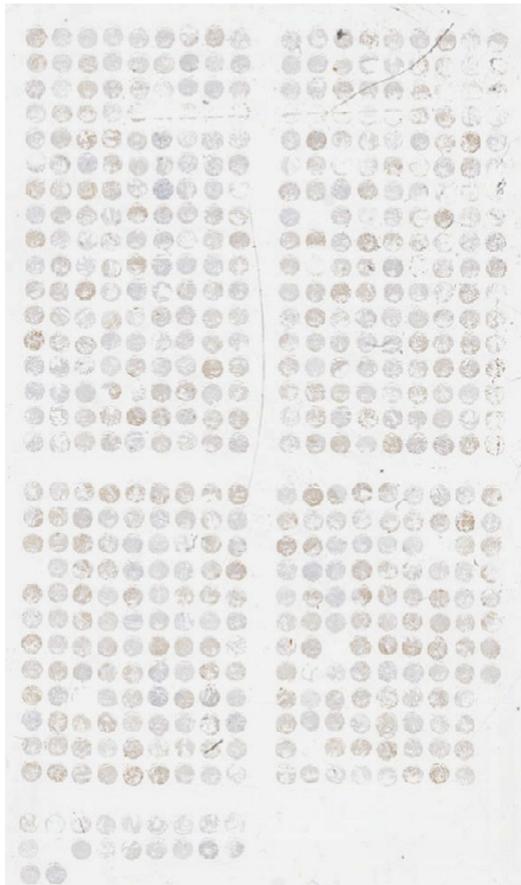


Abb. 3: Prostatakarzinom - TMA

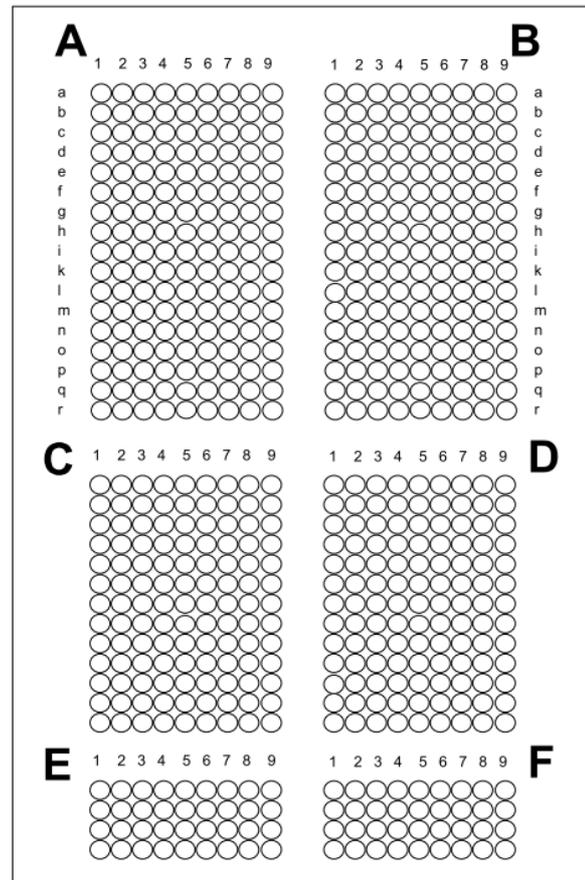


Abb. 4: TMA-Modell mit Koordinatensystem

Da der Hamburger Prostatakarzinom-Prognose-TMA aus 60 verschiedenen Blöcken (48 ohne Blöcke E, F mit Normalgewebe) besteht, kommt als zusätzliche Komponente zur Pseudonymisierung der Gewebeprobeen die Blockkennzahl hinzu. Tabelle 8 zeigte einen Ausschnitt der für die Studie zur Verfügung stehenden Datenbank.

Tab. 8: Datenbank-Ausschnitt zum Prostatakarzinom-TMA

PatID	TMA	TMAblock nr	localisat	AlterbeiOP	PSA präOP	Bx.klin.Stadium 2	pGleason	path.T	path.N	R_Status	Bx.Anz Stenzen ...	Bx.Anz Stenzen ...	Bx.Proz Stenzen ...	Bx.Gleason max	Bx.klin.Stadium
1	1	Pro 6.1	1 A 1a	68.6	52.7	T2a	3+3	pT3a	N0	positive	6	4	66.7	3+4	T2
2	2	Pro 6.1	1 A 1b	61.1	11	T2a	3+4	pT3a	N0	negative	6	1	16.7	3+4	T2
3	3	Pro 6.1	1 A 1c	54.5	35.8	T2b	3+4	pT3a	N0	negative	6	3	50	3+4	T2
4	4	Pro 6.1	1 A 1d	56.3	11.33	T2a	3+4	pT3a	N0	negative	2	2	100		T2
5	5	Pro 6.1	1 A 1e	72.5	10.06	T2a	3+4	pT3a	N0	positive	6	2	33.3	3+4	T2
6	6	Pro 6.1	1 A 1f	66.3	3.3		5+3	pT3b	N0	negative				*	
7	7	Pro 6.1	1 A 1g	54.8	4.14	T2a	3+4	pT3a	N0	negative	6	3	50	3+4	T2
8	8	Pro 6.1	1 A 1h	72.1		T2b	3+3	pT2	N0	negative	6	2	33.3	3+3	T2
9	9	Pro 6.1	1 A 1i	69.3	15.4	T1c	3+4	pT3b	N0	negative	1	1	100	4+3	T1
10	10	Pro 6.1	1 A 1k	65.6	14	T2a	3+2	pT3a	N0	negative	6	3	50	2+3	T2
11	11	Pro 6.1	1 A 1l	72	5		2+3	pT2	N0	negative	6			*	
12	12	Pro 6.1	1 A 1m	63.2	50	T2c	3+4	pT3b	N0	positive	6	6	100		T2
13	13	Pro 6.1	1 A 1n	70.2	3.85	T1c	4+3	pT3a	N0	positive				* 3+3	T1
14	14	Pro 6.1	1 A 1o	53.1	7.48	T2a	3+4	pT3a	N0	negative	6	1	16.7	3+4	T2
15	15	Pro 6.1	1 A 1p	60.3	20.61	T2c	3+4	pT3a	N0	positive	6	5	83.3	3+3	T2
16	16	Pro 6.1	1 A 1q	54.4	6.4	T2a	3+2	pT2	N0	negative	6	1	16.7	3+3	T2
17	17	Pro 6.1	1 A 1r	56.4	12.26	T1c	4+5	pT3b	N0	positive	6	2	33.3	3+4	T1
18	18	Pro 6.1	1 A 2a	72	15.4	T2a	3+3	pT2	N0	negative	7	3	42.9	3+2	T2
19	19	Pro 6.1	1 A 2b	67.4		T3a	4+3	pT3a	N0	positive				* 3+3	T3

2.3 Molekulare Datenbank

Die molekulare Datenbank, welche an diesen TMA angegliedert ist, enthält bzgl. ERG-Expression 10.678 Ergebnisse [204], bzgl. des Status des ERG-Rearrangements bzw. Fusion 7.099 Ergebnisse [205]. Darüber hinaus umfasst sie den Deletions-Status von 5q21 (CHD1) in 7.932 Tumorproben [206], von 6q15 (MAP3K7) in 6.069 Tumorproben [207], von 10q23 (PTEN) in 6.704 Tumorproben [208] und 3p13 (FOXP1) in 7.081 Tumorproben [209]. Immunhistochemische Proben lagen vor zu: Androgenrezeptor (7971), p53 (7732), PSA (15926), TUBB3 (8371) und Ki-67 (7188).

2.4 Immunhistochemie

Alle frisch zugeschnittenen TMA-Schnitte wurden in einer einzelnen Prozedur an einem Tag gefärbt. Die Schnitte wurden entparaffiniert und zur Hitze-induzierten Antigen-Demaskierung für 5 Minuten in einem Autoklaven bei 121° in Dako Target Retrieval Solution mit pH 7,8 behandelt. Es wurde ein primärer Antikörper, spezifisch für FASN (Kaninchen, polyklonal, Enzo Life Sciences, Lörrach, Germany; ADI-905-069-100; Verdünnung 1:1800) für 60 Minuten bei 37° aufgetragen. Gebundene Antikörper wurden mit Hilfe des EnVision Kit (Dako, Glostrup, Denmark) den Herstellerangaben folgend sichtbar gemacht. FASN zeigte eine zytoplasmatische Anfärbung. Die Anfärbungsintensität (0, 1+, 2+, 3+) und die Fraktion positiver Tumorzellen wurden für jeden Spot erfasst. Aus diesen Parametern wurde ein finaler Score nach den folgenden Kriterien gebildet: Tumoren ohne jede Anfärbung erhielten den Score „negativ“. Tumoren mit dem Score „schwach“ zeigten eine Anfärbungsintensität von 1+ in $\leq 70\%$ der Tumorzellen oder 2+ in $\leq 30\%$. Tumoren mit dem Score „moderat“ zeigten eine Anfärbungsintensität von 1+ in $>70\%$ der Tumorzellen oder 2+ in $>30\%$ oder $\leq 70\%$ der Tumorzellen oder 3+ in $\leq 30\%$ oder der Tumorzellen. Tumoren mit dem Score „stark“ zeigten eine Anfärbungsintensität von 2+ in $>70\%$ der Tumorzellen oder 3+ in $>30\%$.

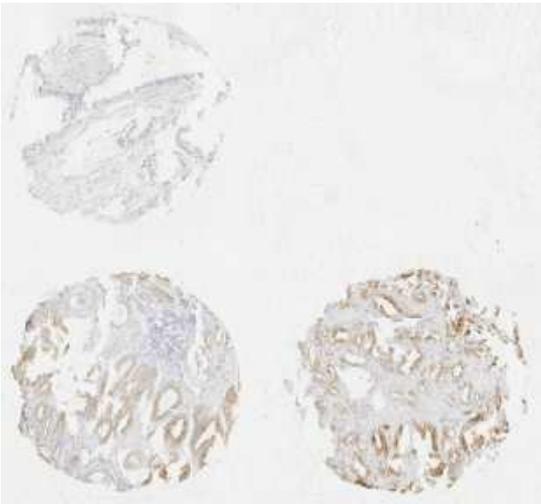
2.5 Statistik

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit der Software JMP 12.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Es wurden Kontingenztafeln erstellt und der Chi-Quadrat-Tests zur Suche nach Assoziationen und signifikanten Beziehungen durchgeführt, im Speziellen bezogen auf FASN-Expression und klinisch pathologische Faktoren. Assoziationen zwischen FASN und Zellproliferation (wie im Ki67-Labeling-

Index angegeben) wurden mithilfe von ANOVA-Statistics errechnet. Kaplan-Meier-Kurven wurden unter Berücksichtigung des biochemischen (PSA)-Rezidivs als klinischem Endpunkt angefertigt. Der Log-Rank-Test wurde zur Detektierung signifikanter Unterschiede im klinischen Verlauf durchgeführt. Die proportionale Hazard Regression nach Cox wurde durchgeführt, um die statistische Unabhängigkeit und Signifikanz zwischen pathologischen, molekularen und klinischen Variablen zu testen.

3 Ergebnisse

3.1 Technische Aspekte



7.018 von 11.152 untersuchten Gewebeproben ergaben ein auswertbares Ergebnis bzgl. FASN-Expression. Die Ursachen für nicht interpretierbare Fälle waren einerseits das Fehlen eindeutiger Tumorzellen im Gewebespot und andererseits das völlige Fehlen einzelner Gewebeproben an den entsprechenden TMA-Positionen (Abbildung 5). Dies kommt bei Tissue Microarray-Untersuchungen regelmäßig vor, da einzelne Gewebestücke während des Färbeprozesses abschwimmen können. Zudem sind nicht alle in einen Tissue Microarray eingebrachten Gewebezylinder gleich lang, sodass auf den tieferen Schnitten durch einen TMA-Block einzelne Tumoren nicht mehr vorhanden sein können.

Abb. 5: Fehlende Gewebeprobe im TMA

3.2 FASN-Expression, Tumorphänotyp und Prognose

Von 7.018 auswertbaren Proben zeigten 18,9 % eine starke, 25,5 % eine mäßiggradige und 7,5 % eine schwache Anfärbung. 48,1 % der Proben zeigten keine FASN-Anfärbung. Normales Prostataepithel zeigte ebenfalls keine Anfärbung bzw. nur gelegentlich eine schwache FASN-Positivität. Repräsentative Beispiele von immunhistochemischen FASN-Färbungen für normales Prostataepithel und Tumoren unterschiedlicher Gleason-Grade sind in den Abbildungen 6, 7, 8 und 9 dargestellt.

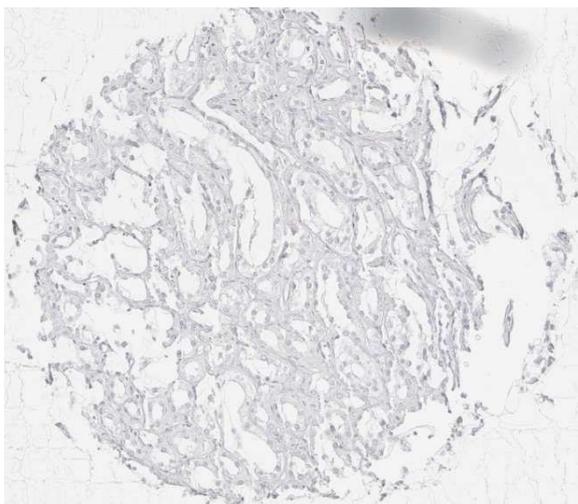


Abb. 6: FASN-negative Probe (Normalgewebe)

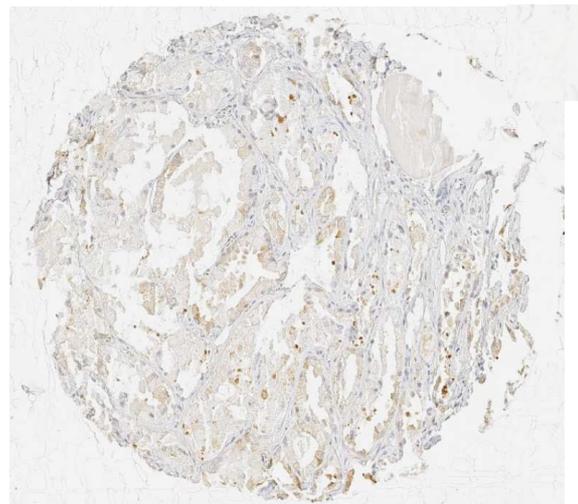


Abb. 7: Schwache FASN-Anfärbung (Prostatakarzinom)

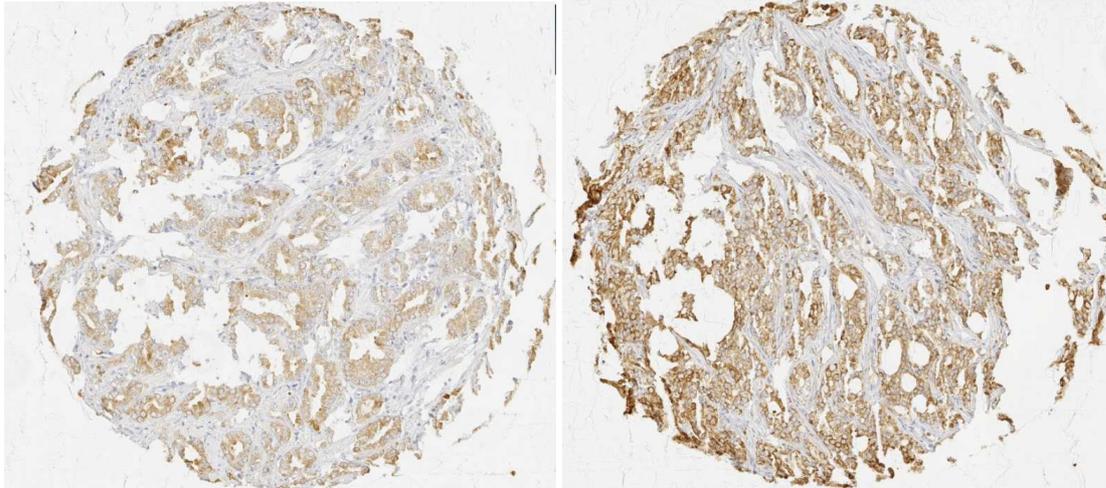


Abb. 8: Moderate FASN-Anfärbung (Prostatakarzinom) Abb. 9: Starke FASN-Anfärbung (Prostatakarzinom)

Tabelle 9 zeigt die Beziehung zwischen FASN-Expression und dem histologischen Phänotyp bzw. den präoperativen Serum-PSA-Werten. Die Daten zeigen, dass die FASN-Expression tendenziell mit höherem Gleason-Grad ansteigt. Circa 25 % der Gleason 4+3-Tertiär-5-Karzinome und der \geq Gleason-8-Karzinome zeigen eine starke FASN-Expression. Allerdings zeigen auch 15 % der Gleason3+3-Karzinome eine kräftige FASN-Expression ($p < 0,0001$). Ein statistischer Zusammenhang besteht auch zum präoperativen Serum-PSA. Patienten mit niedrigem Serum-PSA (≤ 4) zeigen am häufigsten eine starke FASN-Expression (19,5 %). Die FASN-Expression ist in Tumoren von Patienten mit einem präoperativen Serum-PSA von > 20 ng/ml signifikant geringer (14,8 %, $p = 0,0018$). Die FASN-Expression erwies sich auch als prognostisch relevant. Patienten mit negativer oder schwacher FASN-Expression zeigten einen signifikant günstigeren klinischen Verlauf als Patienten mit einer mäßiggradigen oder starken FASN-Expression. (Abb. 10, $p = 0,001$).

Tab. 9: FASN-Expression und Tumorphänotyp (alle Tumoren)

Parameter	n untersuchbar	negativ (%)	schwach (%)	moderat (%)	stark (%)	P-Wert
Alle Tumoren	7018	48,1	7,5	25,5	18,9	
Tumor-Stadium						
pT2	4512	49,1	7,4	25,6	18,0	0,1197
pT3a	1621	45,3	7,6	26,2	20,9	
pT3b-pT4	858	47,4	7,8	25,1	19,7	
Gleason Grad						
≤3+3	1570	53,9	9,2	21,5	15,3	<0,0001
3+4	3825	47,1	7,2	27,1	18,7	
3+4 Tert.5	236	45,3	5,5	27,1	22,0	
4+3	711	45,9	8,3	25,3	20,5	
4+3 Tert.5	357	40,6	5,6	27,2	26,6	
≥4+4	314	46,5	4,8	24,5	24,2	
Lymphknotenmetastasen						
N0	3842	46,7	6,9	26,3	20,0	0,1174
N+	392	44,1	6,4	24,2	25,3	
Präoperativer PSA-Wert (ng/ml)						
<4	846	44,7	9,5	26,4	19,5	0,0018
4-10	4248	47,0	7,1	26,3	19,6	
10-20	1407	51,1	6,8	24,3	17,8	
>20	467	54,0	8,8	22,5	14,8	
Resektionsrand						
Negativ	5594	48,1	7,5	25,9	18,5	0,5528
Positiv	1397	47,5	7,6	24,8	20,1	

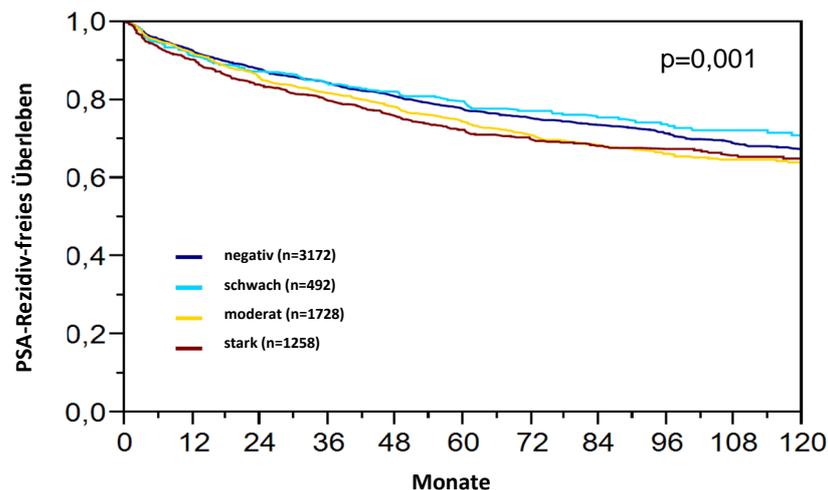
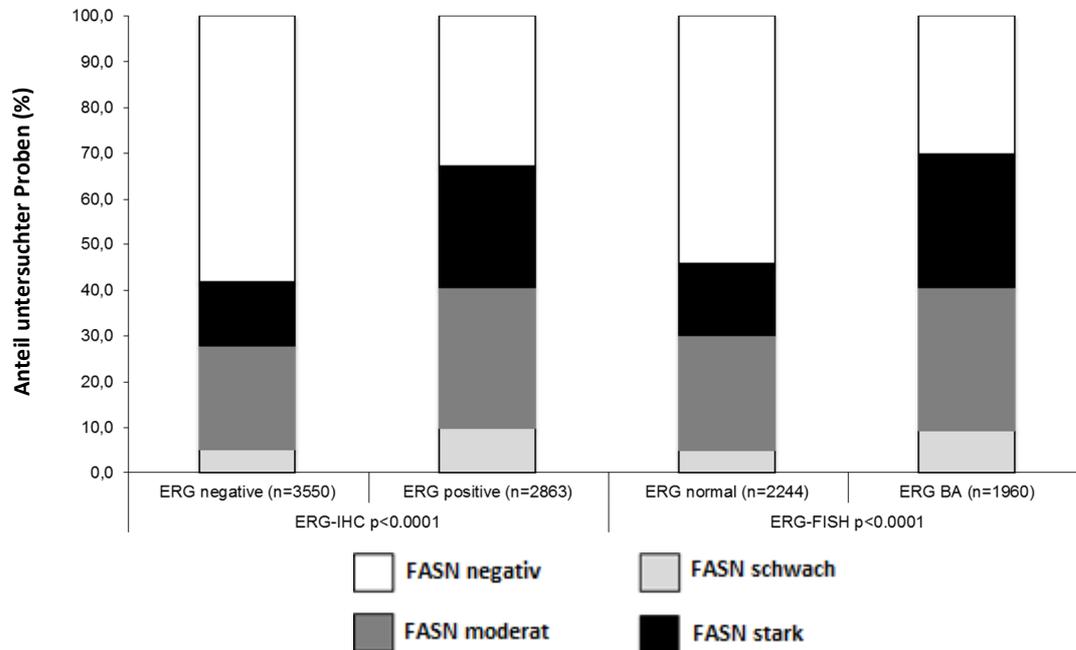


Abb. 10: FASN-Expression und biochemisches Rezidiv (alle Tumoren)

3.3 FASN-Expression und ERG-Status

Die FASN-Expression war signifikant mit einem positiven ERG-Status assoziiert. Sowohl bei Bestimmung des ERG-Status mit immunhistochemischem Nachweis von ERG-Protein wie auch bei

molekularem Nachweis der TMPRSS2-ERG-Fusion war die FASN-Expression hochsignifikant häufiger und stärker in ERG-positiven- als in ERG-negativen Karzinomen nachweisbar. (Abbildung 11, p jeweils <0,0001). Ca. 70 % der ERG-positiven, aber nur knapp 45 % der ERG-negativen Karzinome zeigten eine messbare FASN-Expression.



3.4 FASN-Expression und Tumor-Phänotyp in ERG-positiven und ERG-negativen Tumoren

Die Subgruppenanalyse ERG-negativer und ERG-positiver Karzinome ergab eine klare Beziehung zwischen der FASN-Expression und dem Tumor-Phänotyp bzw. der Prognose in ERG-negativen Karzinomen. Die entsprechenden Daten sind für ERG-negative Karzinome in Tabelle 10 und Abbildung 12 dargestellt. In ERG-negativen Karzinomen war eine vermehrte FASN-Expression hochsignifikant mit einem hohen Gleason-Grad ($p < 0,0001$) und signifikant mit einem positiven Lymphknotenstatus ($p = 0,0012$) assoziiert. Eine erhöhte FASN-Expression war in dieser Gruppe auch mit einer ungünstigen Prognose assoziiert ($P = 0,01$).

Tab. 10: FASN-Expression und Tumorphänotyp (ERG-negative Tumoren)

Parameter	n untersuchbar	negativ (%)	schwach (%)	moderat (%)	stark (%)	P-Wert
Alle Tumoren	3484	58,1	5,1	22,8	14,0	
Tumorstadium						
pT2	2301	58,8	4,8	22,8	13,6	0,3877
pT3a	737	58,3	5,6	21,4	14,7	
pT3b-pT4	435	53,6	6,4	25,3	14,7	
Gleason Grad						
≤3+3	712	65,9	6,2	18,0	10,0	<0,0001
3+4	1852	58,2	4,5	23,7	13,6	
3+4 Tert.5	142	56,3	3,5	23,2	16,9	
4+3	384	53,9	6,8	22,1	17,2	
4+3 Tert.5	205	47,8	5,4	27,8	19,0	
≥4+4	186	48,9	4,8	27,4	18,8	
Lymphknotenmetastasen						
N0	1966	58,5	5,1	23,4	13,0	0,0012
N+	195	46,7	5,1	25,1	23,1	
Präoperativer PSA-Wert (ng/ml)						
<4	348	53,4	5,7	27,0	13,8	0,3408
4-10	2063	57,8	5,1	22,4	14,7	
10-20	783	59,0	4,7	23,5	12,8	
>20	272	62,9	5,9	19,1	12,1	
Resektionsrand						
negativ	2769	58,0	5,3	23,0	13,7	0,5856
positiv	704	58,4	4,4	22,2	15,1	

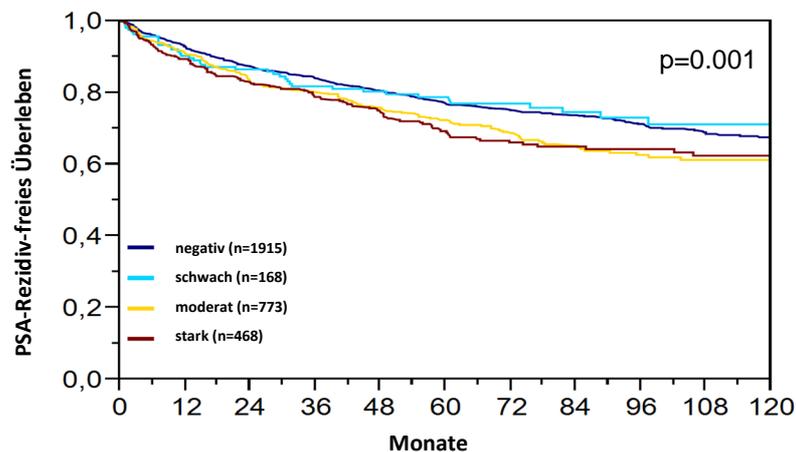


Abb. 12: FASN-Expression und biochemisches Rezidiv (ERG-negative Tumoren)

Die Beziehung zwischen der FASN-Expression und Tumorphänotyp und Prognose in ERG-positiven Karzinomen ist in Tabelle 11 und Abbildung 13 dargestellt. Auch in dieser Gruppe besteht eine signifikante Beziehung zwischen hoher FASN-Expression und hohem Gleason-Grad, doch ist der statistische Zusammenhang weniger deutlich als in ERG-negativen Tumoren. ($p=0,0027$). Es findet sich aber in dieser Gruppe der bereits im Gesamtkollektiv festgestellte Zusammenhang zwischen hoher FASN-Expression im Primärtumor und geringem präoperativem Serum-PSA-Wert ($p=0,0184$). Die

Beziehung zwischen einer erhöhten FASN-Expression erweist sich trotz einer Tendenz zu unterschiedlichen Verläufen in den ersten 36 Monaten postoperativ als statistisch nicht signifikant ($p=0,2387$).

Tab. 11: FASN-Expression und Tumorphänotyp (ERG-positive Tumoren)

Parameter	n untersuchbar	negativ (%)	schwach (%)	moderat (%)	stark (%)	P-Wert
Alle Tumoren	2793	32,8	10,0	30,5	26,6	
Tumorstadium						
pT2	1682	32,6	10,4	31,0	26,0	0,3523
pT3a	755	31,3	9,3	31,8	27,7	
pT3b-pT4	346	37,3	9,2	26,3	27,2	
Gleason Grad						
≤3+3	599	35,1	13,2	27,7	24,0	0,0027
3+4	1617	32,4	9,9	32,0	25,7	
3+4 Tert.5	79	27,8	7,6	35,4	29,1	
4+3	267	32,2	8,6	30,7	28,5	
4+3 Tert.5	130	27,7	4,6	26,9	40,8	
≥4+4	99	38,4	6,1	23,2	32,3	
Lymphknotenmetastasen						
N0	1544	30,6	8,7	31,0	29,7	0,09
N+	163	39,3	8,0	23,3	29,4	
Präoperativer PSA-Wert (ng/ml)						
<4	379	33,2	13,5	27,2	26,1	0,0184
4-10	1743	31,4	8,9	32,4	27,4	
10-20	496	35,3	9,7	27,8	27,2	
>20	156	39,1	12,8	28,8	19,2	
Resektionsrand						
negativ	2219	32,9	9,6	30,9	26,6	0,7312
positiv	564	32,4	11,2	29,6	26,8	

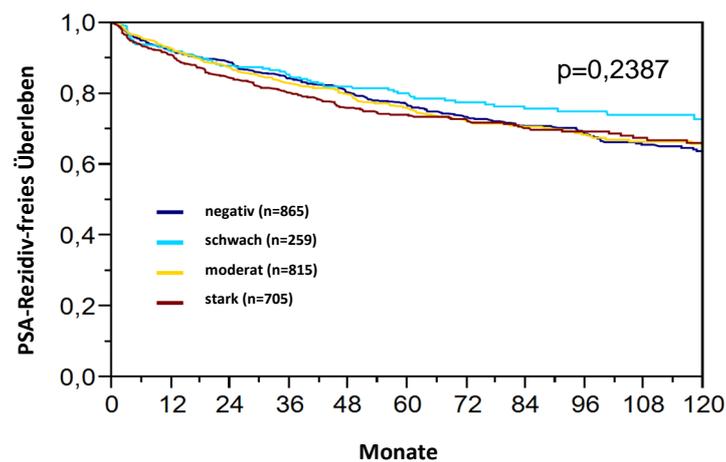


Abb. 13: FASN-Expression und biochemisches Rezidiv (ERG-positive-Tumoren)

3.5 FASN-Expression und chromosomale Deletionen

Eine erhöhte FASN-Expression war mit dem Vorliegen von chromosomalen Aberrationen assoziiert. 8 von 13 untersuchte Deletionen waren statistisch signifikant mit einer erhöhten FASN-Expression assoziiert. Bei 4 weiteren (2q23, 5q21, 8p21, 12p13) bestand eine entsprechende Tendenz, nur eine Deletion (18q21) war mit einer signifikant geringeren FASN-Expression im Vergleich zu nicht-deletierten Tumoren assoziiert. (Abbildung 14, $p=0,0131$).

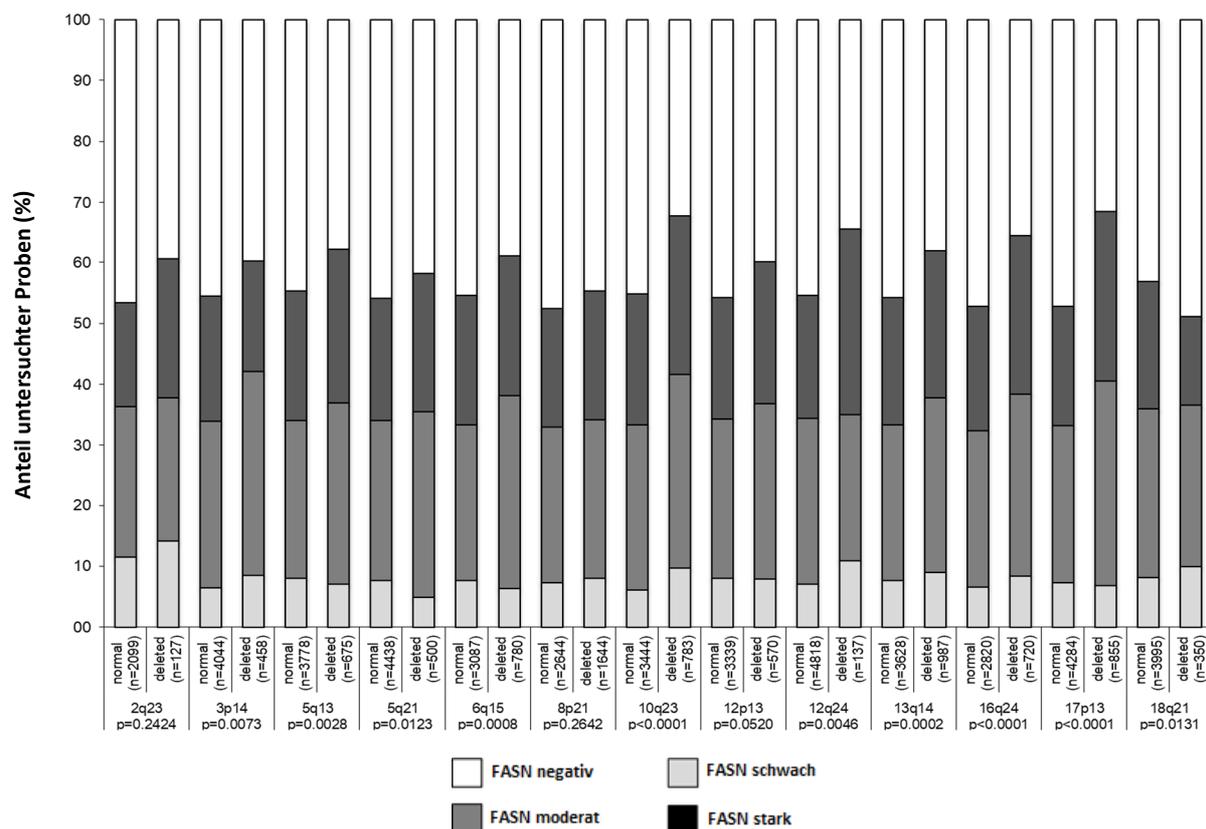


Abb. 14: FASN-Expression und chromosomale Deletionen (alle Tumoren)

Die separate Analyse ERG-positiver und ERG-negativer Tumoren machte deutlich, dass die Beziehung zwischen einer erhöhten FASN-Expression und dem Vorkommen von Deletionen insbesondere in ERG-negativen Karzinomen besteht. Hier waren 9 von 13 untersuchten Deletionen statistisch signifikant mit einer erhöhten FASN-Expression assoziiert, bei 3 weiteren bestand eine analoge Tendenz, welche den statistischen Signifikanzwert aber nicht erreichte (3p14, 12q24, 8p21). 18q21-Deletionen waren als Einzige auch nicht tendenziell nicht mit einer FASN-Expression assoziiert (Abbildung 15).

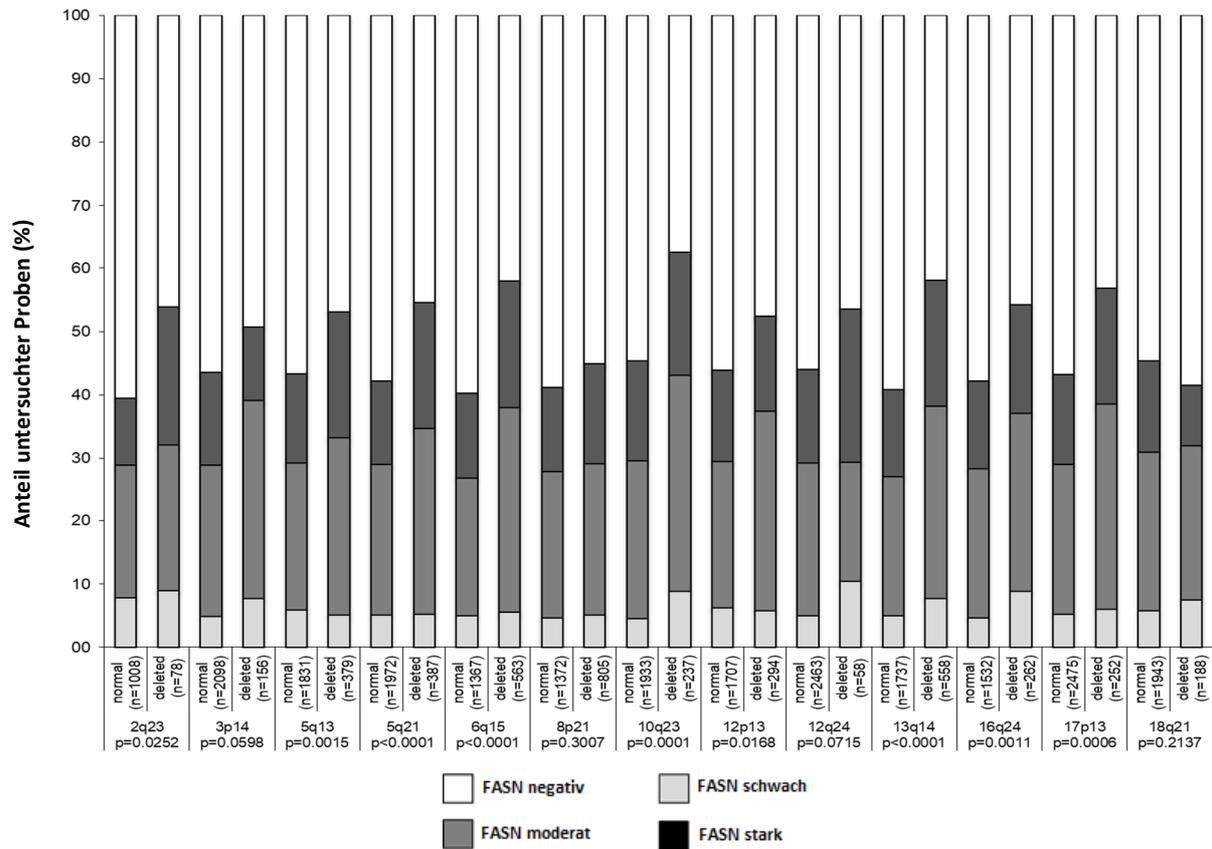


Abb. 15: FASN-Expression und chromosomale Deletionen (ERG-negative Tumoren)

Die Beziehung zwischen Deletionen und der FASN-Expression war in ERG-positiven Tumoren deutlich weniger ausgeprägt. Hier fand sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer erhöhten FASN-Expression und dem Vorliegen von Deletionen nur für 5q21 und für 17p13. Für 3b14 fand sich eine inverse Korrelation mit höherer FASN-Expression in nicht deletierten als in deletierten Tumoren ($p=0,0337$, Abbildung 16).

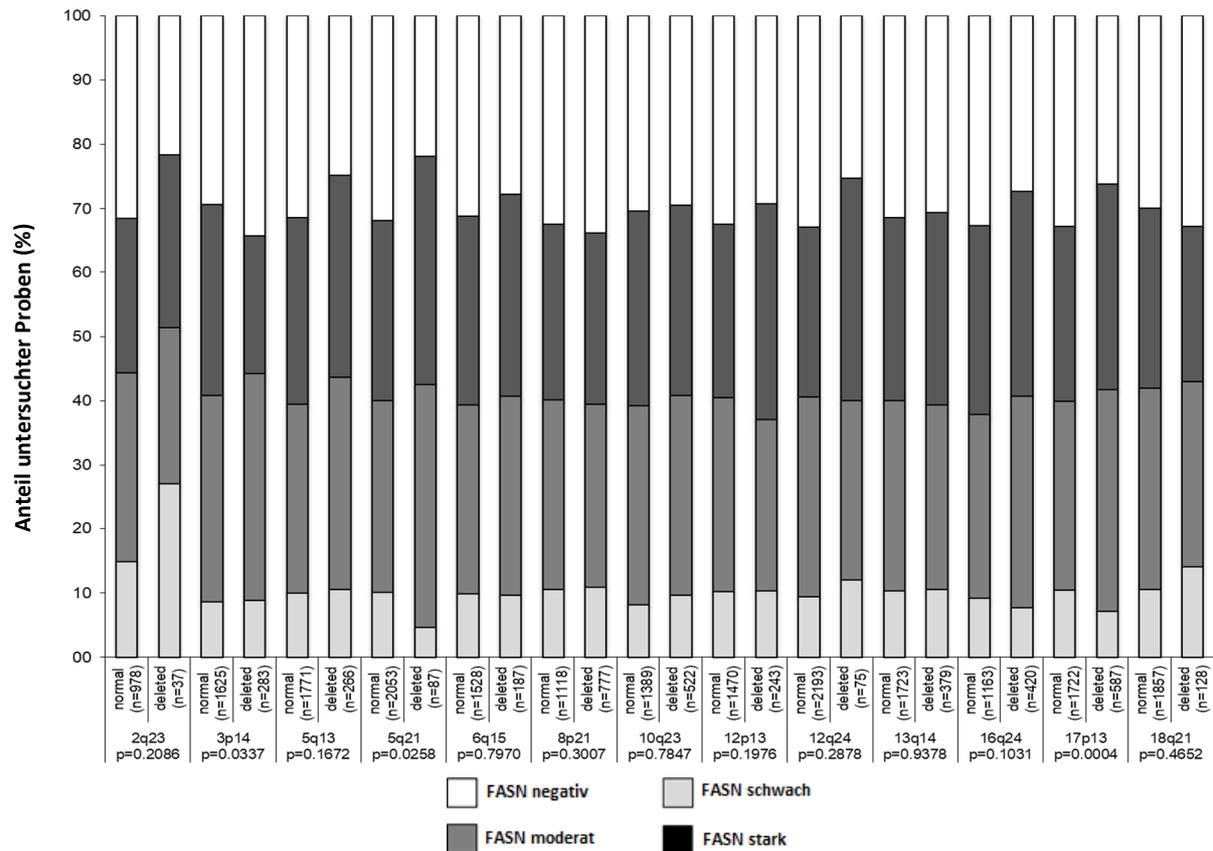


Abb. 16: FASN-Expression und chromosomale (ERG-positive Tumoren)

Aufgrund der starken Beziehung zwischen den einzelnen Deletionen und der FASN-Expression wurde auch der Zusammenhang zwischen der FASN-Expression und der Anzahl der in einem Tumor nachgewiesenen Deletionen ermittelt. Diese Untersuchung ergab einen deutlichen Anstieg der FASN-Expression mit der Zahl der Deletionen (Abbildung 17, $P < 0,0001$). Die separate Analyse ERG-negativer und ERG-positiver Tumoren zeigte, dass diese Beziehung in ERG-negativen Tumoren (Abbildung 18, $p < 0,0001$) deutlicher war als in ERG-positiven Tumoren (Abbildung 19, $p = 0,0002$).

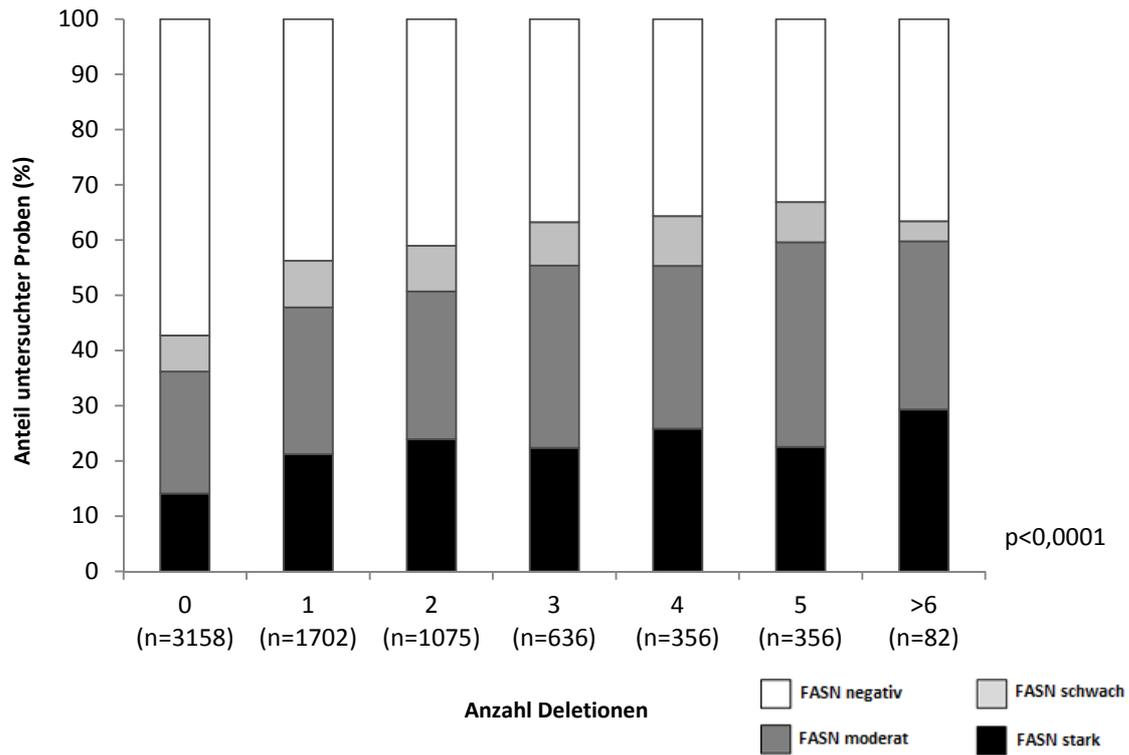


Abb. 17: FASN-Expression und Anzahl Deletionen (alle Tumoren)

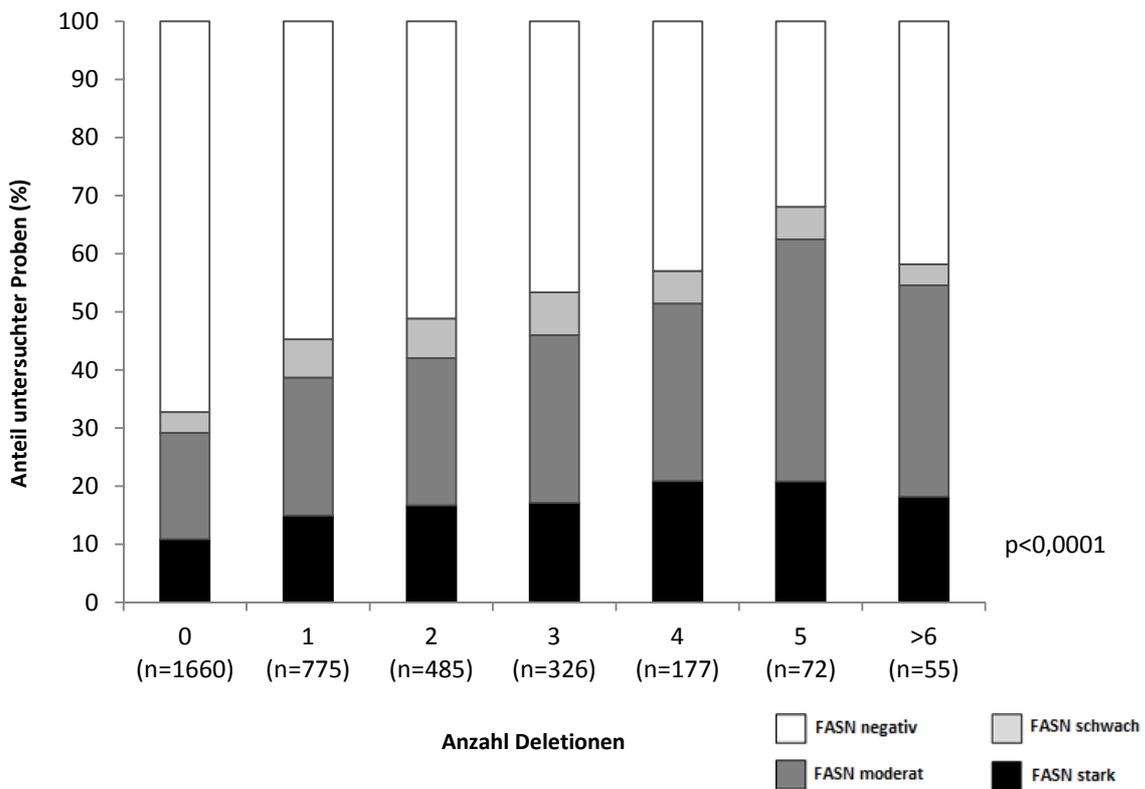


Abb. 18: FASN-Expression und Anzahl Deletionen (ERG-negative Tumoren)

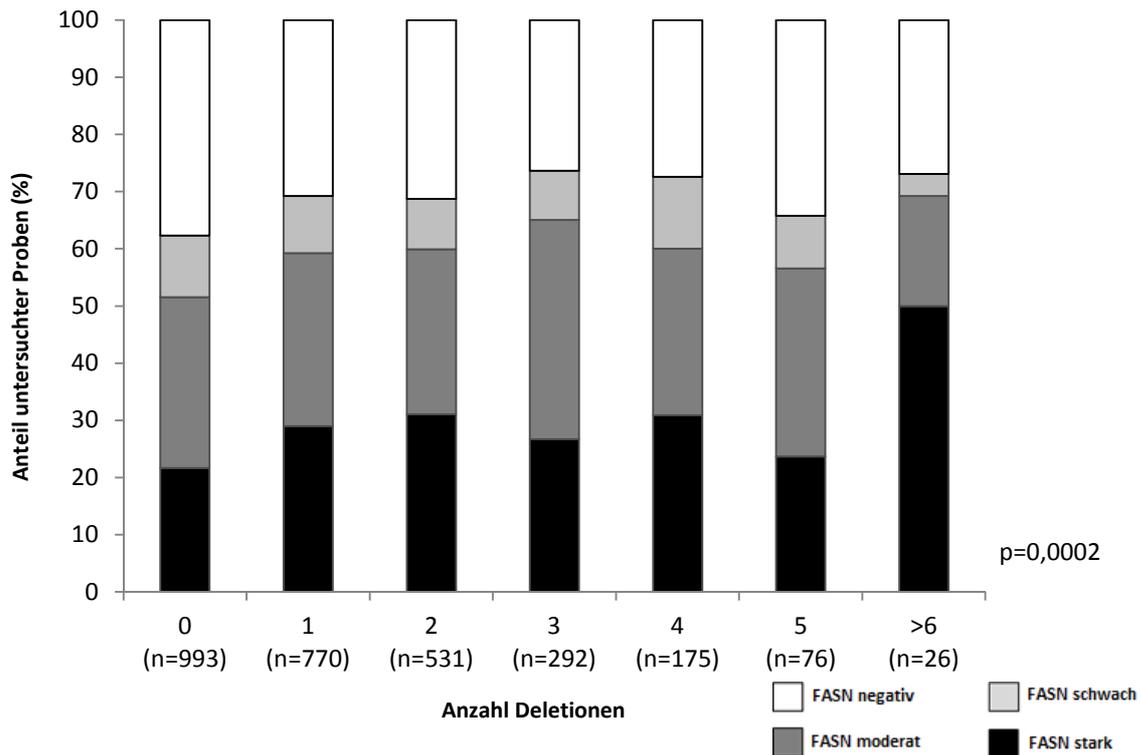


Abb. 19: FASN-Expression und Anzahl Deletionen (ERG-positive Tumoren)

3.6 FASN-Expression und Tumorzellproliferation

Die Tumorzellproliferation war in unserem Patientenkollektiv mittels Ki67-Immunhistochemie untersucht worden. Ein Beispiel einer Ki-67-Färbung aus einer früheren Studie [219] ist in Abbildung 20 dargestellt.

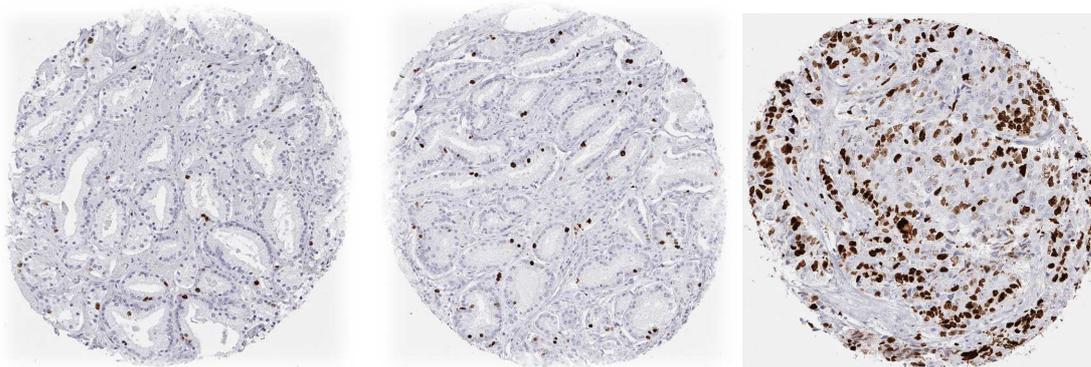


Abb. 20: Ki-67 Anfärbungen unterschiedlicher Intensitäten (aus früherer Studie)

Ki-67 färbt alle Zellen der G1-, S-, G2- und M-Phase des Zellzyklus an und erlaubt so mit der Bestimmung des prozentualen Anteils Ki-67-positiver Zellkerne eine valide Messung der Tumorzellwachstumsgeschwindigkeit. Der Ki-67-Labeling-Index war in unserem Patientenkollektiv signifikant mit der FASN-Expression assoziiert. Bei gleichzeitiger Untersuchung aller Tumoren betrug

der Ki-67-Labeling-Index in FASN-negativen Tumoren 2,2, bei FASN-schwach-positiven 2,9, bei FASN-mäßig-positiven 3,2 und bei stark positiven 3,6 ($p < 0,0001$, Tabelle 12). Die beschriebene Beziehung zwischen erhöhter FASN-Expression und hohem Ki-67-Labeling-Index konnte auch in Subgruppen von Tumoren mit identischem Gleasongrad gefunden werden. Sie war insbesondere deutlich in Gleason 3+3-, 3+4-, und 4+3-Karzinomen (P jeweils $< 0,0001$).

Tab. 12: FASN-Expression und Ki-67-Labeling-Index

ki67	Marker	n=	Ki67 Li (durchschn.)		Standardabweichung
alle Tumoren $p < 0,001$	Negativ	2355	2,22	±	0,06
	Schwach	378	2,94	±	0,14
	Moderat	1322	3,19	±	0,07
	Stark	974	3,66	±	0,09
pGleason $\leq 3+3$ $p < 0,0001$	Negativ	520	1,84	±	0,09
	Schwach	98	2,26	±	0,21
	Moderat	228	2,71	±	0,14
	Stark	174	2,42	±	0,16
pGleason 3+4 $p < 0,0001$	Negativ	1290	2,10	±	0,06
	Schwach	212	3,07	±	0,16
	Moderat	782	2,94	±	0,08
	Stark	537	3,49	±	0,10
pGleason 3+4 Tert.5 $p = 0,0061$	Negativ	86	2,56	±	0,24
	Schwach	8	3,00	±	0,79
	Moderat	52	3,83	±	0,31
	Stark	43	3,63	±	0,34
pGleason 4+3 $p < 0,0001$	Negativ	253	2,48	±	0,20
	Schwach	38	3,68	±	0,51
	Moderat	119	3,72	±	0,29
	Stark	99	4,70	±	0,31
pGleason 4+3 Tert.5 $p = 0,0129$	Negativ	109	2,90	±	0,37
	Schwach	10	3,60	±	1,21
	Moderat	82	4,23	±	0,42
	Stark	64	4,73	±	0,48
pGleason $\geq 4+4$ $p = 0,0084$	Negativ	109	2,90	±	0,37
	Schwach	10	3,60	±	1,21
	Moderat	82	4,23	±	0,42
	Stark	64	4,73	±	0,48

3.7 FASN-Expression und Androgenrezeptorexpression

Die FASN-Expression war hochsignifikant mit der Expression des Androgenrezeptors assoziiert (Abbildung 21). Diese galt für das Gesamtkollektiv, besonders deutlich für die ERG-negativen Tumoren, aber auch hochsignifikant für ERG-positive Karzinome (p jeweils $< 0,0001$).

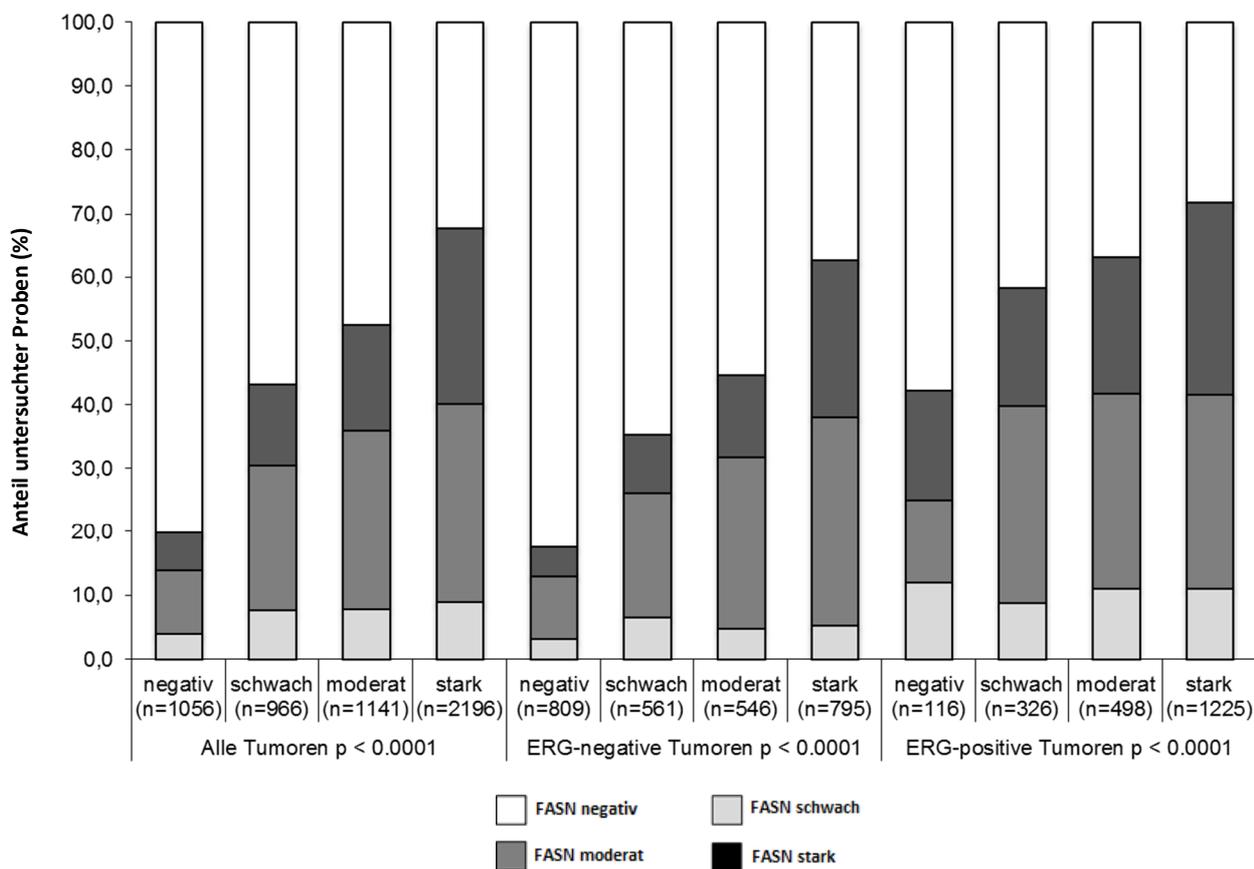


Abb. 21: FASN-Expression und Androgenrezeptorexpression

3.8 FASN-Expression und p53-Immunhistochemie

Die Expression von FASN war in p53-positiven Tumoren höher als in p53-negativen Tumoren, unabhängig von der p53-Färbeintensität. Bereits bei geringgradiger p53-Expression zeigte sich ein eindeutiger Unterschied im Vergleich zu p53-negativen Tumoren (Abbildung 22, $p < 0,0001$).

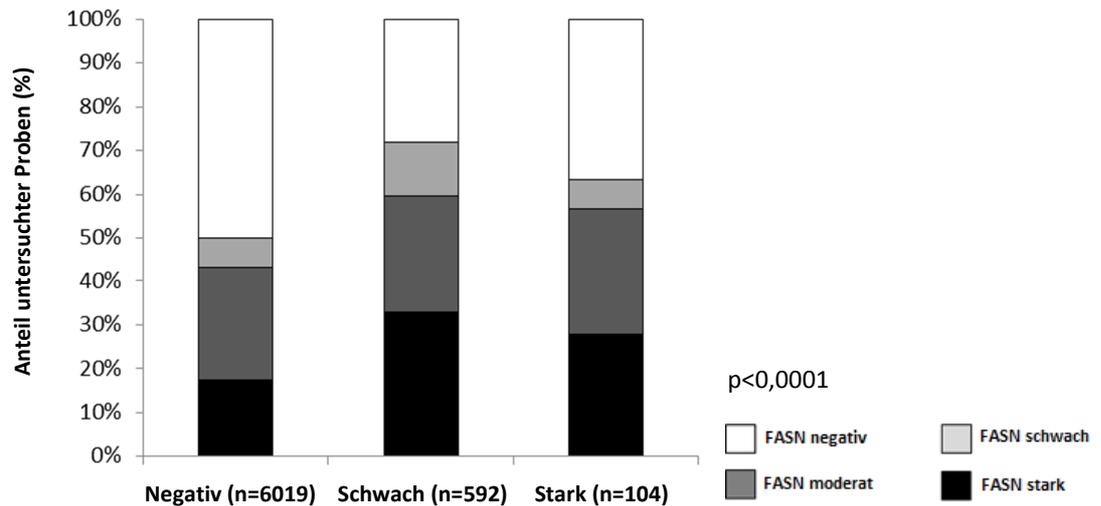


Abb. 22: FASN-Expression und p53-Status

3.9 FASN-Expression und weitere Fettstoffwechsellmoleküle

Am Institut für Pathologie waren bereits früher zwei andere Moleküle des Fettstoffwechsels untersucht worden. LPCAT1 (Lysophosphatidylcholine Acyltransferase 1) ist ein Schlüsselenzym des Lands-Zyklus, welches für die Herstellung von Phosphatidylcholinen benötigt wird. AZGP1 (alpha-2-glycoprotein 1, zinc-binding) spielt eine Rolle beim Lipidabbau in Adipozyten. Die FASN-Expression erwies sich als signifikant assoziiert mit dem Nachweis von LPCAT1 ($p < 0,0001$, Abbildung 23). Eine signifikante Beziehung bestand auch zu AZGP1 ($p < 0,0001$, Abbildung 23). Hier fällt allerdings auf, dass eine besonders hohe FASN-Expression in AZGP1-negativen Tumoren bestand.

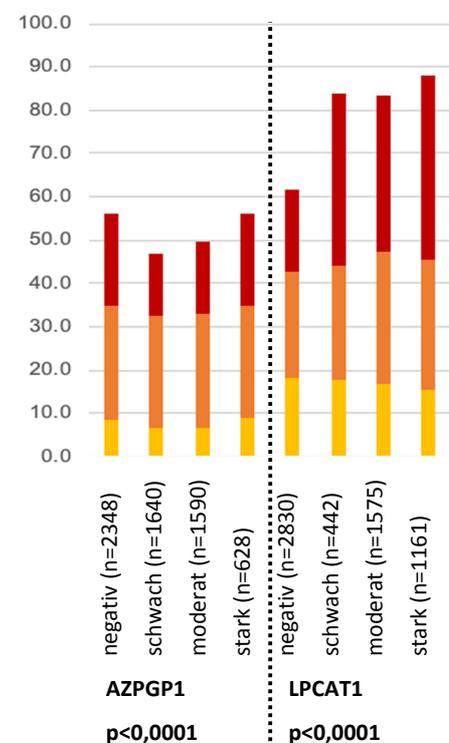


Abb. 23: FASN-Expression und AZGP1, LPCAT1

3.10 FASN-Expression und DNA-Reparaturproteine

Die Beziehung zwischen der FASN-Expression und früher am UKE Hamburg untersuchten DNA-Reparaturproteinen ist in Abbildung 24 dargestellt. Die Abbildung macht deutlich, dass die Expression von APE1, DNase, ERCC1, LIG4, MLH1, MSH6 und PMS2 alle eine hochsignifikante positive Korrelation mit FASN aufwiesen ($p < 0,0001$).

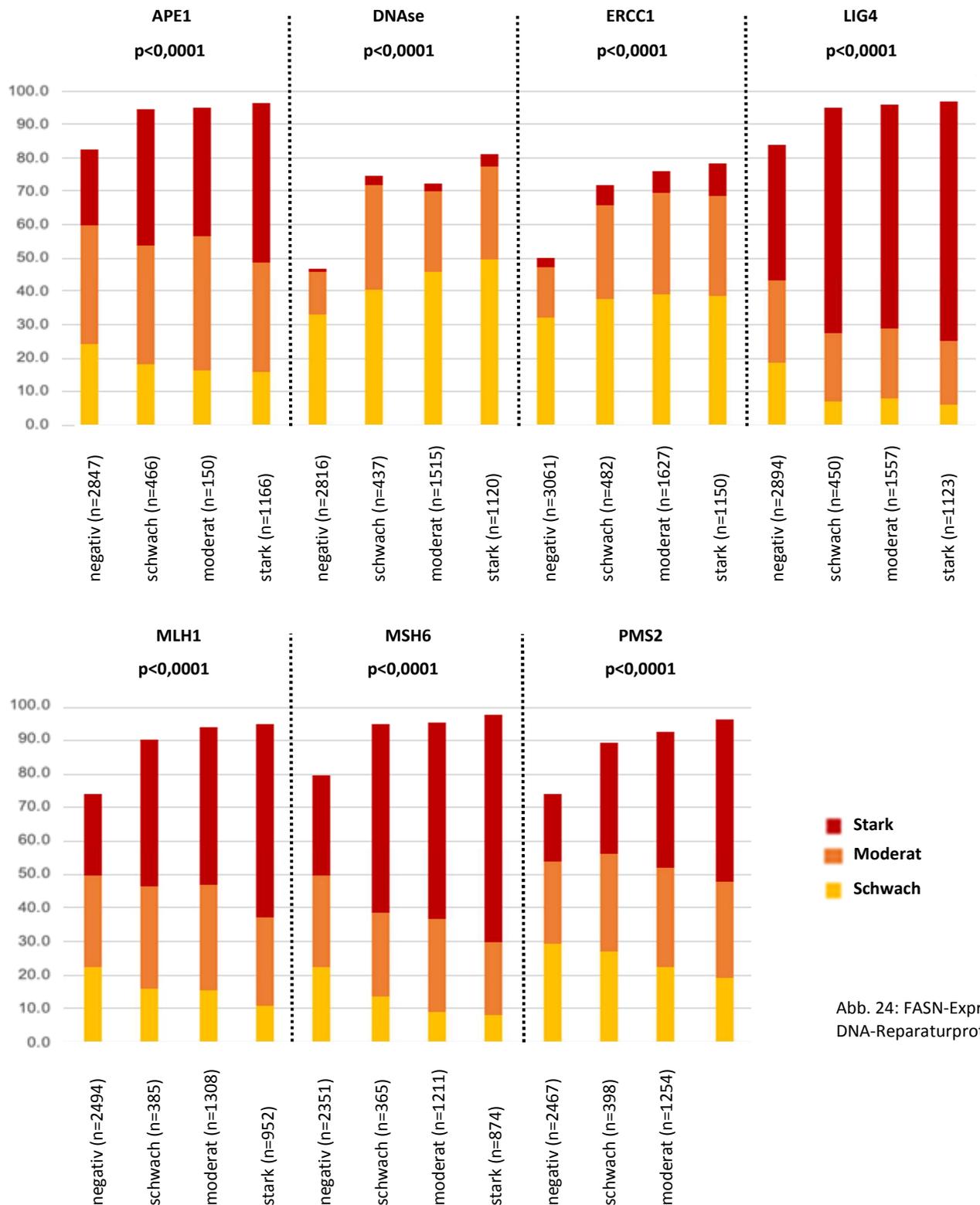


Abb. 24: FASN-Expression und DNA-Reparaturproteine

3.11 FASN-Expression und TUBB3 / BCL2

Die Beziehung zwischen TUBB3, BCL2 und FASN ist in Abbildung 25 dargestellt. Die Darstellung zeigt eine starke, hochsignifikante positive Assoziation zwischen TUBB3 und FASN ($p < 0,0001$). Auch für die Beziehung der FASN-Expression mit BCL2-Expression fand sich ein signifikanter Zusammenhang ($p = 0,0004$).

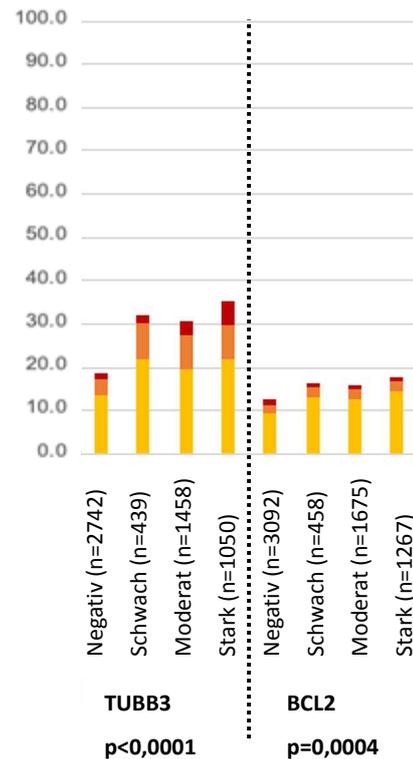


Abb. 25: FASN-Expression und Expression von TUBB3/BCL2

3.12 Multivariate Analyse zur Prognoseabschätzung

Für die Beurteilung der klinischen Brauchbarkeit der FASN-Expression zur Prognoseabschätzung wurden multivariate Analysen unter Einbeziehung der etablierten Prognosefaktoren vorgenommen. Um die prä- und postoperative Situation angemessen zu untersuchen, wurden vier verschiedene Szenarien analysiert. Die Szenarien 1 und 2 beschäftigen sich mit der postoperativen Prognoseabschätzung. Szenario 1 verwendete alle vorhandenen Prognoseparameter einschließlich pT, pN, postoperativer Gleason-Grad, präoperatives Serum-PSA und R-Status. Szenario 2 beinhaltet die gleichen Parameter mit Ausnahme des N-Status. Lymphknoten gelangen nicht bei allen Tumoren zur Untersuchung und werden vor allem bei Patienten entnommen, bei welchen der Chirurg einen höhergradigen Tumor erwartet. Der Einschluss des Nodalstatus in die Analyse führt somit zu einer Selektion eher ungünstigerer Tumoren und daher zu einem möglichen „Bias“.

Die Szenarien 3 und 4 sollen die präoperative Situation simulieren. Beide Szenarien enthalten den präoperativen Serum-PSA-Wert und das klinische Stadium. Szenario 3 verwendet den ursprünglich extern bestimmten Gleasongrad des erstdiagnostizierenden Pathologen, Szenario 4 den Gleasongrad, der bei der Prostatektomie bestimmt wurde. Beide Gleasongrade entsprechen nicht der bestmöglichen realen Situation. Der extern bestimmte Gleasongrad wurde von hunderten verschiedenen Pathologen mit unterschiedlichem Können in Bezug auf Prostata-Pathologie bestimmt. Es ist anzunehmen, dass dieser Gleasongrad „schlechter“ ist als ein von einem Experten bestimmten Gleasongrad. Der postoperative Gleasongrad ist besser als der bestmögliche an der Stanzbiopsie zu ermittelnde Gleasongrad, da die Untersuchung des gesamten Tumorgewebes die unweigerlich in einem Teil der Fälle entstehenden Fehlbeurteilungen durch Trefferfehler in der Biopsie eliminieren. Die Ergebnisse der multivariaten Analysen sind für alle Tumoren und die Unterkollektive der ERG-positiven und ERG-negativen Karzinome in Tabelle 13 dargestellt. Es zeigt sich, dass die FASN-Expression im Gesamtkollektiv für alle Szenarien ein unabhängiger Prognoseparameter ist. Auch im

Unterkollektiv der ERG-negativen Tumoren ist die FASN-Expression für alle Szenarien außer Szenario 2 signifikant unabhängig von den klassischen Parametern. In ERG-positiven Tumoren wird hingegen keine unabhängige Prognoserelevanz von FASN deutlich.

Tabelle 13: Multivariate Analysen

Tumor-Untergruppe	Szenario	n analysierbar	p -Wert							
			Präoperatives PSA-Level	pT Status	cT Status	Gleason Grad Prostatektomie	Gleason Grad Biopsie	pN Status	R Status	FASN-Expression
alle Tumoren	1	4045	<0,0001	<0,0001	-	<0,0001	-	0,0002	0,0014	0,0011
	2	6627	<0,0001	<0,0001	-	<0,0001	-	-	<0,0001	0,0046
	3	6558	<0,0001	-	<0,0001	<0,0001	-	-	-	0,01
	4	6440	<0,0001	-	<0,0001	-	<0,0001	-	-	0,0016
ERG-negative Tumore	1	2075	0,05	<0,0001	-	<0,0001	-	0,0029	0,24	0,01
	2	3316	0,0005	<0,0001	-	<0,0001	-	-	0,02	0,01
	3	3291	<0,0001	-	<0,0001	<0,0001	-	-	-	0,1
	4	3231	<0,0001	-	<0,0001	-	<0,0001	-	-	0,01
ERG-positive Tumore	1	1629	0,01	<0,0001	-	<0,0001	-	0,3400	0,01	0,33
	2	2635	0,0001	<0,0001	-	<0,0001	-	-	<0,0001	0,48
	3	2598	<0,0001	-	0,0001	<0,0001	-	-	-	0,25
	4	2551	<0,0001	-	<0,0001	-	<0,0001	-	-	0,05

4 Diskussion

Die Bedeutung des Stoffwechsels und speziell des Lipidstoffwechsels für Tumoren wird zunehmend deutlich. Diese Tatsache betrifft auch das Prostatakarzinom. Ebenfalls am UKE waren bereits zuvor zwei Untersuchungen zu wichtigen Molekülen des Fettstoffwechsels durchgeführt worden. In einer Studie von Grupp et al. waren am gleichen Tissue Microarray wie für diese Untersuchung klinische und molekulare Parameter mit der Expression von Lysophosphatidylcholine Acyltransferase 1 (LPCAT1) verglichen worden [86]. Eine LPCAT1-Positivität war in 73,8 % der Tumoren gefunden worden, wobei eine erhöhte Expression signifikant mit einem ungünstigen Tumorphänotyp und einer schlechten Prognose assoziiert war. Dabei erwies sich die LPCAT1-Expression als unabhängiger Prognosefaktor. Ebenso wie in der aktuellen Studie war LPCAT1 hochsignifikant mit einem positiven ERG-Status und in ERG-negativen mit 3 von 4 untersuchten Deletionen (pTEN, 6q15, 5q21) assoziiert.

In einer späteren Studie von Burdelski et al. war Zink-alpha-2-Glykoprotein (AZGP1) ebenfalls am gleichen Prostatakarzinom-Tissue-Microarray untersucht worden [87]. AZGP1 ist ein wichtiges Protein für den Lipid-Abbau in Adipozyten, welches ubiquitär exprimiert wird. Die Untersuchung hatte einen Expressionsverlust von AZGP1 bei 27,5 % der Tumoren ergeben. Der AZGP1-Verlust war hochgradig mit einem ungünstigen Phänotyp und einer ungünstigen Patientenprognose assoziiert. Die prognostische Bedeutung war auch für AZGP1-Expressionsverlust unabhängig von klinischen Parametern und selbst in pTEN-deletierten Tumoren hatte sich AZGP1 als signifikanter Prognoseparameter erwiesen. Auch die AZGP1-Expression zeigte sich als signifikant mit dem ERG-Status assoziiert mit einer geringeren AZGP1-Expression in ERG-positiven als in ERG-negativen Tumoren. Des Weiteren bestanden signifikante Zusammenhänge mit allen 4 untersuchten Deletionen (pTEN, 6q15, 5q21 und 3p13). Die am UKE durchgeführten Studien sind die einzigen Großuntersuchungen zur Frage einer klinischen Relevanz von Veränderungen im zellulären Fettstoffwechsel beim Prostatakarzinom. Die vielversprechenden Ergebnisse dieser beiden Studien waren Motivation dafür, weitere Fettstoffwechsellmoleküle zu untersuchen.

Unsere aktuelle Untersuchung zeigte eine im Vergleich zu normalem Prostataepithel häufig vermehrte Expression von FASN. Die von uns festgestellte Rate FASN-positiver Karzinome von 51,9% zeigt sich etwas geringer als in den meisten früheren Studien. So hatten beispielsweise Tischler et al. bei 622 untersuchten Karzinomen eine Überexpression von FASN in 92,6 % gefunden [187]. Van den Sande et al. hatten bei 100 % von 86 untersuchten Karzinomen eine FASN-Positivität gefunden [191], während Rossi et al. 91 % Positivität bei 64 Karzinomen [192] und Svinnen et al. 94,2 % Positivität bei 87 Karzinomen [193] beschrieben. Andere Autoren lagen in ihrer Analyse näher an unseren Daten. So hatten Shurbaji et al. bei Untersuchungen von 99 Tumoren 57 % FASN-positive Karzinome gefunden [195]. Diese differenten Ergebnisse sind offensichtlich auf unterschiedliche Färbeprotokolle und verschiedene verwendete Reagenzien zurückzuführen. Das für diese Studie angewandte Protokoll war absichtlich so gewählt worden, um Tumoren mit besonders hoher Expression von Tumoren mit besonders niedriger Expression zu separieren. Dabei hatte sich unter den gewählten Bedingungen gezeigt, dass viele Tumoren eindeutig negativ blieben und andere kräftig positiv waren. Mit einem veränderten Protokoll wäre es mit hoher Wahrscheinlichkeit möglich gewesen, auch mit dem in diesem Projekt verwendeten Antikörper eine höhere Rate FASN-positiver Tumoren zu identifizieren. Die Immunhistochemie ist als Methode nicht geeignet, das Vorhandensein eines interessierenden Proteins in einem Gewebe auszuschliessen. Proteine können nur dann nachgewiesen werden, wenn ihre Menge groß genug ist, dass sie unter einem bestimmten Protokoll nachgewiesen werden können. Immunhistochemisch negative Gewebe können trotzdem eine größere Menge eines bestimmten Proteins enthalten (*G. Sauter, Persönliche Mitteilung*).

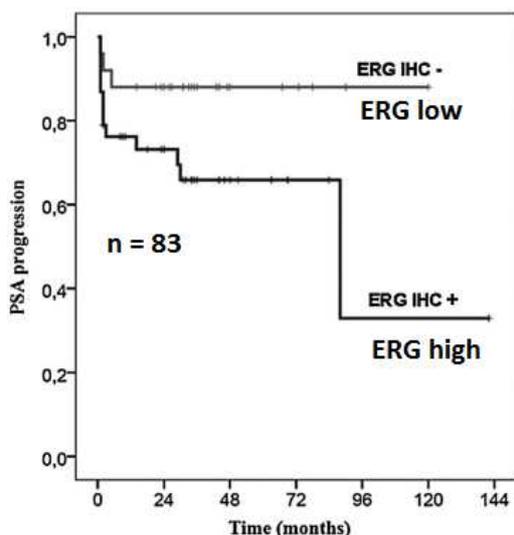
Die im Vergleich zu Normalgewebe in vielen Tumoren höhere Expression von FASN deutet darauf hin, dass die FASN-Expression in einem Teil der Prostatakarzinome benötigt wird und eine biologische Rolle spielt. Die höhere Expression in Tumoren als in korrespondierendem Normalgewebe passt auch zu den Daten zahlreicher früherer Studien (siehe Literaturtabelle - Tabelle 6). Keine der früher publizierten Studien hat ähnliche FASN-Expressionslevel in Normalgeweben und Tumoren beschrieben.

Die FASN-Expression war in unserem Tumorkollektiv signifikant mit einem hohen Gleasongrad und einer ungünstigen Prognose assoziiert. Dies passt zu den Befunden früherer Untersucher, welche ebenfalls Beziehungen einer gesteigerten FASN-Expression zu einer ungünstigen Patientenprognose und einem ungünstigen Tumorphänotyp beschrieben hatten [195, 196]. Insgesamt passen die Daten zu einer tumorbegünstigenden Rolle einer vermehrten FASN-Expression in Tumoren, sehr wahrscheinlich bedingt durch einen generell aktivierten Fettstoffwechsel in den Tumorzellen. Eine progressionsassoziierte tumorbegünstigende Rolle der FASN-Expression ist auch durch zahlreiche andere Studien belegt, welche in anderen Tumorarten als dem Prostatakarzinom eine in Tumoren gesteigerte Expression und einen Zusammenhang zwischen Expressionslevel und Patientenprognose berichtet hatten. Eine prognostische Rolle einer erhöhten FASN-Expression ist beispielsweise in Mamma-, Ovarial- und Bronchialkarzinomen gefunden worden (siehe Literaturtabelle - Tabelle 5).

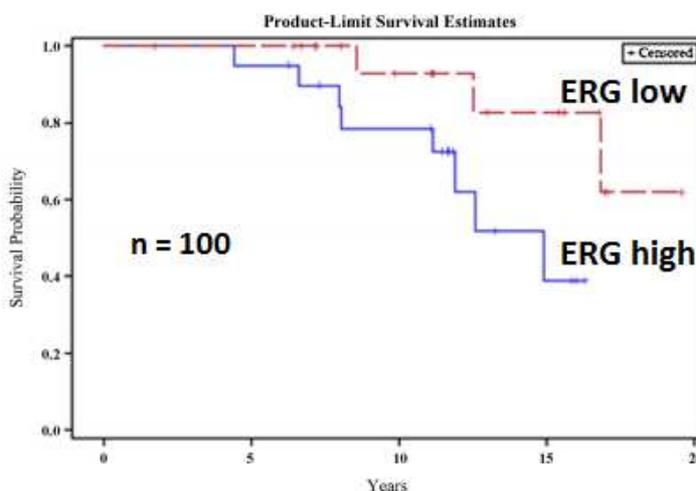
Die Bedeutung der Abschätzung der Prognose einer Tumorerkrankung ist von der Tragweite der Handlungen abhängig, die sich aus der Prognoseabschätzung ergeben. Eine korrekte Abschätzung der Patientenprognose ist daher beim Prostatakarzinom von besonderer Wichtigkeit. Die Voraussage einer günstigen Patientenprognose kann zur Nichtbehandlung eines Patienten führen mit komplettem Erhalt der Lebensqualität. Ist diese günstige Prognoseabschätzung aber fehlerhaft, kann sie zum katastrophalen Ergebnis eines zu spät behandelten, letztlich tödlich verlaufenden Karzinoms führen. Für eine Abschätzung der Patientenprognose ist es notwendig, große Patientenkollektive mit hervorragenden klinischen Verlaufsdaten zu untersuchen. Große Patientenkollektive sind insbesondere bei Tumoren von Relevanz, bei denen lange Verläufe und eine grundsätzlich gute Prognose vorliegen. Für die Untersuchung molekularer Prognoseparameter besteht in Hamburg eine einzigartige Voraussetzung. Mit der Martiniklinik ist die größte Prostataklínik weltweit vor Ort ansässig. Jährlich werden hier seit vielen Jahren mehr als 2000 Prostatakarzinome operiert. Alle Patienten der Martiniklinik erhalten jedes Jahr einen Fragebogen, in welchem die Patienten über ihren weiteren Krankheitsverlauf befragt werden. Mittlerweile stehen am UKE Hamburg Verlaufsdaten von fast 20.000 Prostatakarzinomen zur Verfügung [210]. Ein weiterer positiver Aspekt ist die seit 2005 erfolgte standardisierte Aufarbeitung der Gewebeproben mit detaillierter Gleason-Graduierung. Das Vorliegen von mehr als 11.000 Tumoren in einem Tissue Microarray-Format erlaubt die effiziente molekulare Untersuchung dieser Tumoren. Die Tissue Microarray-Technik ist eine äußerst effiziente und ökonomische Methode zur Tumoruntersuchung. Mit der gleichen Menge an Reagenzien und der gleichen Manpower, die früher zur Untersuchung eines einzigen Tumors benötigt wurde, ist heute die gleichzeitige Untersuchung von 600 Tumoren möglich. Für die Untersuchung der in dieses Projekt eingeschlossenen 24 Tissue Microarray-Schnitte betragen die Reagenzienkosten weniger als 400 €. Es ist eine Limitierung der Tissue Microarray-Technik, dass pro Tumor lediglich ein einziges Gewebefragment mit einem Durchmesser von 0,6 mm zur Untersuchung gelangt. Damit besteht grundsätzlich die Frage, ob Tissue Microarray-Befunde repräsentativ sind für große Tumoren. Zahlreiche Studien haben aber gezeigt, dass etablierte molekulare Prognosefaktoren an ausreichend großen Tissue Microarrays immer gefunden werden. Beispielsweise haben Untersuchungen am Mammakarzinom hochsignifikante Beziehungen von Östrogenrezeptor, Progesteronrezeptor, HER2, p53- oder Ki-67-Protein mit der Patientenprognose identifiziert [211, 212]. Zahlreiche frühere Untersuchungen am Prostatakarzinom-TMA des UKE haben darüber hinaus nicht nur die etablierten Prognoseparameter wie PTEN-Deletionen oder p53-Alterationen validiert, sondern weiterhin zahlreiche zusätzliche molekulare Prognoseparameter identifiziert. Die Bedeutung großer

Tumorkollektive lässt sich insbesondere am Beispiel der TMPRSS2-ERG-Fusion erkennen. Die TMPRSS2-ERG-Genfusion ist die häufigste genomische Veränderung in Prostatakarzinomen und kommt bei ca. 50% der Patienten vor. Betroffen sind vor allem jüngere Prostatakarzinom-Patienten. Durch die TMPRSS2-ERG-Fusion kommt der im Prostataepithel nicht exprimierte Transkriptionsfaktor ERG in die Nachbarschaft des Promotors für das androgenabhängige Gen TMPRSS2. Dies führt zu einer konsekutiven Überexpression von ERG. Die TMPRSS2-ERG-Fusion wurde 2005 erstmals beschrieben. Initiale Studien haben der ERG-Expression beim Prostatakarzinom erhebliche prognostische Bedeutung zugemessen. Abbildung 26 zeigt eine Zusammenfassung von publizierten Kaplan-Meier-Kurven, welche in 5 verschiedenen Studien eine erhebliche Prognoserelevanz von ERG suggerieren. Alle diese Untersuchungen hatten zwischen 26 und 196 Prostatakarzinome untersucht.

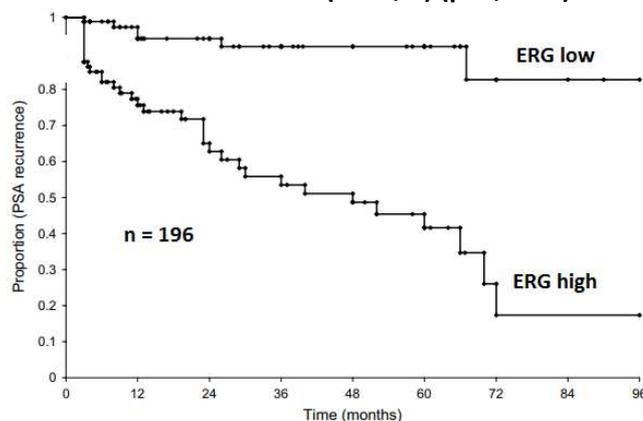
Font-Tello et al. (2015) (p=0,048)



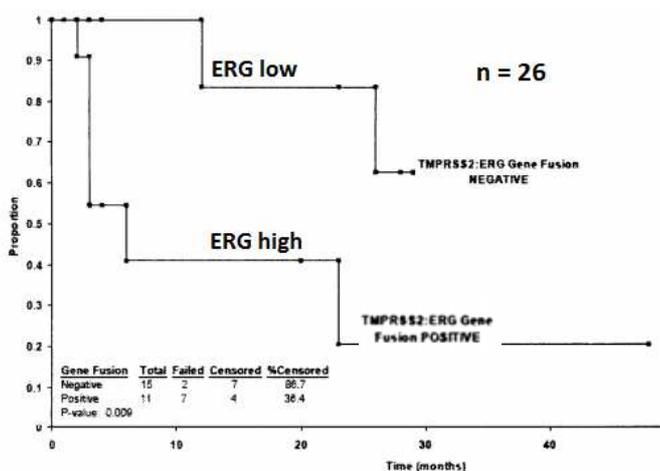
Spencer et al. (2013) (p=0,047)



Nam et al. (2007, b) (p<0,0001)



Nam et al. (2007) (p=0,009)



Demichelis et al. (2007) (p<0,001)

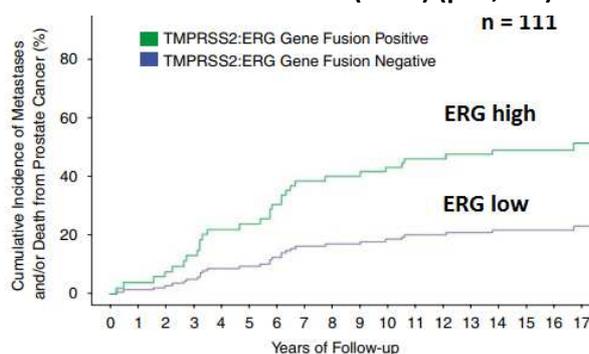


Abb. 26: Zusammenfassung mehrerer Studien, welche ERG-Prognoserelevanz nahelegen

Die Untersuchung von mehr als 2500 Karzinomen am UKE-Prostatakarzinom-TMA ergab sowohl bei Verwendung der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zum Nachweis der Fusionen wie auch bei der immunhistochemischen Bestimmung des ERG-Proteins keinerlei prognostische Bedeutung des ERG-Status (Abbildung 27) [50].

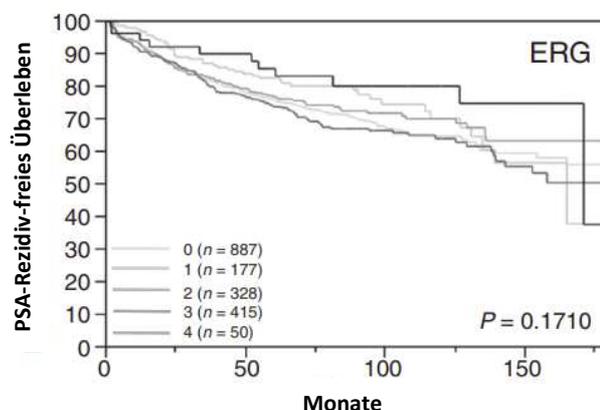


Abb. 27: ERG-Status und biochemisches Rezidiv

Mittlerweile wurden am Prostatakarzinom-Prognose-TMA des UKE mindestens 81 Prognosestudien mittels Immunhistochemie oder FISH durchgeführt und publiziert, was zur Identifikation von zahlreichen prognostisch relevanten Parametern wie z.B. verschiedenen Deletionen [60, 62, 59], TUBB3 [84] oder LPCAT und AZGP1 [86, 87] führte (Stand März 2019).

Die Gesamtheit dieser früheren Studien hat zu einer großen molekularen Datenbank geführt, welche den Hamburger Prostatakarzinom-Tissue Microarray zusätzlich aufwertet. Die molekulare Datenbank ermöglicht den Vergleich neu untersuchter Proteine mit potentiell relevanten, früher untersuchten Parametern. Für die aktuelle Studie wurden die folgenden Parameter ausgewählt: Der ERG-Status mittels FISH und Immunhistochemie wegen seiner großen Bedeutung für das Prostatakarzinom (häufigste genomische Veränderung). Alle bisher untersuchten Deletionen (2q23, 3p14, 5q13, 5q21, 6q15, 8p21, 10q23, 12p13, 12q24, 13q14, 16q24, 17p13, 18q21) wegen der in früheren Untersuchungen beobachteten Assoziation zwischen Fettstoffwechselproteinen und den meisten Deletionen. Die DNA-Reparaturproteine APE1, DNase, ERCC1, LIG4, MLH1, MSH2 und PMS2 wurden ausgewählt, da sich diese Proteine in früheren Studien ebenfalls als assoziiert mit chromosomalen Deletionen erwiesen hatten. Das p53-Tumorsuppressorgen wurde ausgewählt wegen einer in der Literatur beschriebenen Rolle als Regulator des Lipidmetabolismus bei Karzinomen [213]. Das Ki-67-Protein wurde ausgewählt wegen der Schlüsselrolle der Proliferation für den Verlauf von Tumorerkrankungen. Das Androgenrezeptorprotein wurde aufgrund seiner zentralen Bedeutung für die Biologie von Prostataepithelzellen ausgewählt, BCL-2 als Protein mit einer Rolle bei der Apoptose. TUBB3 wurde ausgewählt als Beispiel eines Zytoskelett-Proteins mit ausgeprägter prognostischer Bedeutung.

Wie erwartet fand sich in unserem Kollektiv ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der ERG-Expression und auch der Expression des Androgenrezeptors mit einer erhöhten FASN-Expression. Die Beziehung mit dem ERG-Status war erwartet, da auch die beiden früher untersuchten Fettstoffwechselproteine AZGP1 und LPCAT1 deutliche Unterschiede zwischen ERG-positiven und ERG-negativen Tumoren gezeigt hatten. Die TMPRSS2-ERG-Translokation mit konsekutiver ERG-Überexpression ist zwar nicht prognostisch relevant, führt aber zu einer erheblichen Veränderung der

Biologie einer Zelle mit einer Dysregulation von hunderten Genen [48]. Verschiedene frühere Daten hatten gezeigt, dass ERG-abhängige Gene den Lipidmetabolismus von Tumorzellen beeinflussen können. Beispielsweise induziert ERG direkt die Phospholipase PLA2G7 – ein wichtiges Enzym für die Herstellung von Membranphospholipiden [214]. Zudem ist ERG ein androgenabhängiges Protein. Auch FASN wird indirekt über KLF5 und SREBP-1 über den Androgenrezeptor stimuliert [215]. Angesichts der komplexen Interaktion von ERG, Androgenrezeptor und FASN erstaunt es nicht, dass die biologischen Konsequenzen der FASN-Überexpression in ERG-positiven und ERG-negativen Karzinomen nicht identisch sind.

Einer der hervorstechendsten Befunde dieser Studie ist die Beziehung zwischen dem Vorliegen zahlreicher chromosomaler Deletionen und einer gesteigerten FASN-Expression. Chromosomale Deletionen sind nach Mutationen die häufigsten genomischen Veränderungen in Prostatakarzinomen. In der Rangliste der häufigsten genomischen Veränderungen nehmen chromosomale Deletionen einschließlich der in dieser Studie untersuchten die Plätze 2 bis 10 ein (siehe Tabelle 4). Die biologische Bedeutung der meisten Deletionen ist nicht vollständig geklärt. Neue Untersuchungen unter Verwendung von Next-Generation-Sequencing haben gezeigt, dass bei den meisten Deletionen keine gleichzeitige Inaktivierung des zweiten Allels eines putativen Tumorsuppressors vorliegt. Die beim Prostatakarzinom vorliegenden Deletionen sind allgemein sehr groß und enthalten meistens hunderte verschiedene Gene, welche im Falle einer Deletion alle vermindert exprimiert werden. Es wird angenommen, dass die tumorfördernde Wirkung einer solchen Deletion durch das Zusammenwirken mehrerer tumorrelevanter Gene bedingt ist, welche nicht komplett inaktiviert werden, aber durch die verminderte Expression einen tumorbegünstigenden Effekt erzeugen [216]. Der Vergleich von tumorrelevanten Proteinen mit chromosomalen Deletionen ist von Interesse, denn die spezifische Assoziation mit einer oder wenigen Deletionen könnte auf eine funktionelle Interaktion mit spezifischen Genen dieser Chromosomenabschnitte hindeuten. Ein statistischer Zusammenhang mit allen oder fast allen Deletionen spricht hingegen für einen biologischen Zusammenhang mit dem Parameter „genetische Instabilität“. Das Ergebnis der vorliegenden Studie macht deutlich, dass eine erhöhte genetische Instabilität eines Tumors mit einer gesteigerten FASN-Expression zusammenhängt. Dies zeigt sich in der Beziehung zu den zahlreichen Deletionen, aber auch in der Beziehung mit der Zahl der Aberrationen eines Tumors. Da nicht davon auszugehen ist, dass ein veränderter Fettstoffwechsel einer Zelle zu Chromosomenbrüchen führt, wäre zu postulieren, dass genetisch instabile Tumoren vermehrt dazu genötigt sind, den Fettstoffwechsel zu aktivieren. Unsere Befunde könnten darauf hindeuten, dass die FASN-Überexpression in genetisch instabilen Tumoren durch eine Umstellung der Energieproduktion in genetisch instabilen Tumoren bedingt ist oder das genetisch instabile Tumoren generell einen aktiveren Stoffwechsel benötigen und deswegen ihren Lipidmetabolismus verändern. Auch die in diese Untersuchung einbezogenen DNA-Reparaturproteine erwiesen sich in früheren Studien als generell mit Deletionen assoziiert. Die Überexpression von Reparaturproteinen dürfte eine Folge und nicht eine Ursache für das Auftreten von Chromosomenbrüchen sein. Die in dieser Studie beobachteten signifikanten Zusammenhänge zwischen FASN und allen untersuchten DNA-Reparaturproteinen sind somit wahrscheinlich Folge der chromosomenbruchinduzierten Überexpression von sowohl DNA-Reparaturproteinen als auch FASN.

Mehrere Studien hatten in der Vergangenheit auf einen Zusammenhang zwischen dem p53-Protein und dem Lipidmetabolismus hingewiesen. Das physiologische p53-Protein (Wildtyp) spielt beispielsweise eine Rolle in der Regulation von SREBP1, einem Protein, welches auch FASN reguliert [217]. Darüber hinaus liegen Daten vor, welche einen Einfluss von mutiertem p53 über sogenannte „Gain-of-function“-Eigenschaften auf den Fettstoffwechsel zeigen. „Gain-of-function“-Eigenschaften von mutierten p53-Proteinen betreffen Funktionen, welche nur durch mutiertes, aber nicht normales p53-Protein ausgeübt werden. In Mammakarzinom-Zelllinien konnte gezeigt werden, dass mutiertes p53 SREBP1 beeinflusst [218]. Unsere Daten würden zu einem funktionellen Zusammenhang zwischen

p53 und FASN passen. In einer früheren Studie war am UKE gezeigt worden, dass eine hochgradige p53-Überexpression meist mit Mutationen (mit der Möglichkeit von „Gain-of-function“) einhergeht, während eine geringgradige p53-Positivität nicht mit Mutationen assoziiert ist. Dass in unserer Studie sowohl eine geringgradige wie auch eine hochgradige p53-Überexpression zu gleichermaßen erhöhten FASN-Werten führte, würde zumindest gut zu einer Rolle der physiologischen p53-Expression für den FASN-Metabolismus passen.

Weitere Analysen hatten signifikante Beziehungen zwischen einer erhöhten FASN-Expression und dem Nachweis von BCL2-Protein, TUBB3 und einem hohen Ki-67-Labeling-Index ergeben. Diese drei Proteine stehen stellvertretend für drei weitere wichtige Zelleigenschaften: Zellproliferation, Zellmobilität und Verhinderung der Apoptose. Dass auch für diese Parameter signifikante Beziehungen zur FASN-Expression gefunden wurden, spricht zusammen mit den anderen gefundenen Assoziationen für eine große Bedeutung der FASN-Expression und damit des Fettstoffwechsels für Prostatakarzinomzellen. Basierend auf unseren Daten könnte die Hypothese formuliert werden, dass zelluläre Aktivität ganz unterschiedlicher Art (oder aller Art) von einem gesteigerten, aktivierten Fettstoffwechsel profitieren, was für eine sehr zentrale Rolle des Fettstoffwechsels im Prostatakarzinom und seiner Progression spricht. Trotz aller Hinweise auf eine hohe biologische Relevanz der FASN-Expression sprechen die Daten dieser Studie gegen eine überragende klinische Relevanz der FASN-Messung beim Prostatakarzinom. Die multivariate Analyse ergibt zwar für alle Tumoren und auch für die ERG-negativen Tumoren eine unabhängige Prognoserelevanz der FASN-Expression, doch sind die effektiven Unterschiede im Verlauf zwischen FASN-negativen und stark positiven Tumoren für die Praxis wohl zu gering, um klinische Bedeutung zu erlangen.

Zusammenfassend sprechen die Daten dieser Studie für eine hohe biologische Relevanz der FASN-Expression beim Prostatakarzinom mit einer besonderen Beziehung zu Parametern der genetischen Instabilität. Die vergleichsweise geringe prognostische Bedeutung der FASN-Expression spricht aber gegen den Einsatz der FASN-Messung zur Prognoseabschätzung des Prostatakarzinoms.

5 Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist der wichtigste Tumor bei Männern. Circa 70 % der 70-jährigen Männer weisen in ihrer Prostata ein Karzinom auf. Die meisten Prostatakarzinome sind klinisch nicht relevant und müssen nicht behandelt werden. Wird ein Prostatakarzinom diagnostiziert, ist es daher von großer Wichtigkeit, die Prognose möglichst genau abzuschätzen. Verschiedene Proteine des Fettstoffwechsels haben sich in der Vergangenheit als potentiell relevante Prognoseparameter beim Prostatakarzinom und anderen Tumoren erwiesen. Zur Klärung der Prognoserelevanz von FASN (Fatty acid synthase) wurde ein Prostatakarzinom-Tissue Microarray mit 11.152 verschiedenen Gewebeproben immunhistochemisch untersucht. Von den 7.018 auswertbaren Proben waren 48,1 % FASN-negativ und 7,5 % schwach, 25,5 % mäßig stark sowie 18,9 % stark positiv. Die FASN-Expression war signifikant mit einem hohen Gleason-Grad ($p < 0,0001$) und einer ungünstigen Patientenprognose assoziiert ($p = 0,001$). Der Vergleich der FASN-Expression mit dem ERG-Status zeigte eine deutlich höhere Expression von FASN in ERG-positiven (ca. 70 %) als in ERG-negativen Tumoren (ca. 40 %) (p jeweils $< 0,0001$). Die Beziehung mit dem Tumorphänotyp war deutlicher in den ERG-negativen Tumoren als in ERG-positiven Tumoren. Vor allem die Prognoserelevanz blieb nur in ERG-negativen Tumoren erhalten ($p = 0,0001$), nicht aber in ERG-positiven Tumoren ($p = 0,2387$). Der Vergleich mit anderen, früher untersuchten Parametern ergab einen signifikanten Zusammenhang mit Deletionen von 3p14, 5q13, 6q15, 10q23, 12q24, 13q14, 16q24 und 17p13 sowie mit der Gesamtzahl der chromosomalen Deletionen eines Tumors ($p < 0,0001$). Weitere signifikante Assoziationen fanden sich für eine erhöhte FASN-Expression mit einem erhöhten Ki-67-Labeling-Index, immunhistochemischer p53-Positivität, der Androgenrezeptorexpression und der Expression weiterer Moleküle des Fettstoffwechsels (AZGP1, LPCAT1) sowie allen untersuchten DNA-Reparaturproteinen (APE1, DNase, ERCC1, LIG4, MLH1, MSH6, PMS2) (p jeweils $< 0,001$). Aus den Daten wird geschlossen, dass FASN eine wichtige Rolle in der Zellbiologie spielt, denn die FASN-Expression ist mit zahlreichen wichtigen zellulären Vorgängen wie DNA-Reparatur, Zellproliferation und Androgenrezeptoraktivität assoziiert. Obwohl die FASN-Expression in der multivariaten Analyse im Gesamtkollektiv und im Unterkollektiv der ERG-negativen Tumoren statistisch unabhängig von etablierten Prognoseparametern ist, unterscheiden sich die Kaplan-Meier-Kurven bezüglich rezidivfreiem Überleben nur wenig. Aus diesem Grund dürfte die FASN-Expression eher eine geringe klinische Relevanz bei der Prognoseabschätzung des Prostatakarzinoms besitzen.

6 Summary

Prostate cancer is the most relevant cancer in men. It is found in about 70 % of the 70-year old men's prostate glands. However, most of the prostate cancers are not clinically relevant and deserve no treatment. Therefore, it is highly important to estimate a sufficient prognosis for newly diagnosed prostate cancers. Different proteins of the lipid metabolism have been shown to be potentially relevant prognostic markers in prostate cancer and other malignant tumors. In order to investigate the prognostic impact/relevance of FASN (fatty acid synthase), a tissue microarray including 11,152 prostate cancer specimen was analyzed by immunohistochemistry. 7,018 evaluable specimen were analyzed, the immunostaining for FASN was negative in 48,1 % while 7,5 % showed a weak staining. 25,5 % showed moderate and 18,9 % showed strong staining. The expression of FASN was significantly associated with a high Gleason grade ($p < 0,0001$) and poor prognosis of the disease ($p = 0,001$). The comparison of the FASN-expression with the ERG-Status showed a clearly higher expression of FASN in ERG-positive tumors (around 70 %) than in ERG-negative tumors (around 40 %) (p respectively $< 0,0001$). The association to the phenotype of the tumor was more obvious in ERG-negative tumors than in ERG-positive tumors. Especially the prognostic impact was only seen in ERG-negative tumors ($p = 0,0001$) while no impact was shown in ERG-positive tumors ($p = 0,2387$). Moreover, the comparison to other parameters, which had been investigated before, showed a significant association to chromosomal deletions of 3p14, 5q13, 6q15, 10q23, 12q24, 13q14, 16q24 and 17p13 and the overall amount of deletions in the tumor ($p < 0,0001$). Other significant associations with FASN expression were found for an elevated Ki-67-labeling index, p53-positivity in immunohistochemistry, the expression of the androgen receptor, the expression of other molecules of the lipid metabolism (AZGP1, LPCAT1) and all analyzed DNA mismatch repair (MMR) proteins (APE1, DNase, ERCC1, LIG4, MLH1, MSH6, PMS2) (p respectively $< 0,001$). From this data we conclude that FASN has an important role concerning the cell biology because the expression of FASN is associated with many highly important cellular mechanisms such as DNA mismatch repair, cell proliferation and the activity of the androgen receptor. Although the multivariate analysis shows no significant association between the expression of FASN and the established parameters of prognosis in all tumors and ERG-negative tumors, the Kaplan-Meier-curves concerning disease-free-survival just vary slightly. For this reason, we conclude a low clinical relevance of the FASN-expression in terms of the prognostic impact in prostate cancer.

7 Literaturverzeichnis

- [1] Robert Koch Institut(RKI), Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland (GEKID) (2017): Krebs in Deutschland für 2013/2014. 11th Edition. Berlin.
- [2] Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F (2013): Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer* 49(6): 1374-403.
- [3] Statistisches Bundesamt (2012): Periodensterbetafeln für Deutschland. Allgemeine Sterbetafeln, abgekürzte Sterbetafeln und Sterbetafeln.
- [4] Haas GP, Delongchamps N, Brawley OW, Wang CY, de la Roza G (2008): The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Canadian Journal of Urology* 15(1): 3866-71.
- [5] Bott SR, Birtle AJ, Taylor CJ, Kirby RS (2003): Prostate cancer management: (1) an update on localised disease. *Postgraduate Medical Journal* 79(936): 575-80.
- [6] Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, Clegg L, Horner MJ, Howlander N, Eisner MP, Reichmann M, Edwards BK (2007): *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004*. National Cancer Institute. Section 23: Prostate Cancer.
- [7] Zeegers MP, Jellema A, Ostrer H (2003): Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: a meta-analysis. *Cancer* 97(8): 1894-903.
- [8] Johns LE, Houlston RS (2003): A systematic review and meta-analysis of familial prostate cancer risk. *BJU International* 91(9): 789-94.
- [9] Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, Goh C, Govindasami K, Guy M, O'Brien L, Sawyer E, Hall A, Wilkinson R, Easton D; UKGPCS Collaborators, Goldgar D, Eeles R, Kote-Jarai Z (2012): Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *British Journal of Cancer*. 106(10):1697-701.
- [10] Graham S, Haughey B, Marshall J, Priore R, Byers T, Rzepka T, Mettlin C, Pontes JE (1983): Diet in the epidemiology of carcinoma of the prostate gland. *Journal of the National Cancer Institute* 70(4): 687-92.
- [11] Hebert JR, Hurley TG, Olendzki BC, Teas J, Ma Y, Hampl JS (1998): Nutritional and socioeconomic factors in relation to prostate cancer mortality: a cross-national study. *Journal of the National Cancer Institute* 90(21): 1637-47.
- [12] Morton RA, Jr (1994): Racial differences in adenocarcinoma of the prostate in North American men. *Urology* 44(5): 637-45.
- [13] A120 Abidi SH, Bilwani F, Ghias K, Abbas F (2018): Viral etiology of prostate cancer: Genetic alterations and immune response. A literature review. *International Journal of Surgery*. 52:136-140.
- [14] Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C (2017): TNM classification of malignant tumours. John Wiley & Sons. 8th Edition.

- [15] Wittekind C, Klimpfnger M, Sobin LH. (2017:) TNM: Klassifikation maligner Tumoren. 8th ed. Weinheim.
- [16] Rübber H (2014): *Uroonkologie*, Springer Verlag, 6. Auflage, 554-570.
- [17] Gleason DF (1966): Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemotherapy Report S.* 125-128.
- [18] Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA; Grading Committee (2016): The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *The American Journal of Surgical Pathology* 40(2): 244-252.
- [19] Sauter G, Steurer S, Clauditz TS, Krech T, Wittmer C, Lutz F, Lennartz M, Janssen T, Hakimi N, Simon R, von Petersdorff-Campen M, Jacobsen F, von Loga K, Wilczak W, Minner S, Tsourlakis MC, Chirico V, Haese A, Heinzer H, Beyer B, Graefen M, Michl U, Salomon G, Steuber T, Budäus LH, Hekeler E, Malsy-Mink J, Kutzera S, Fraune C, Göbel C, Huland H, Schlomm T (2016): Clinical Utility of Quantitative Gleason Grading in Prostate Biopsies and Prostatectomy Specimens. *European Urology* 69(4):592-598.
- [20] Sauter G, Clauditz T, Steurer S, Wittmer C, Büscheck F, Krech T, Lutz F, Lennartz M, Harms L, Lawrenz L, Möller-Koop C, Simon R, Jacobsen F, Wilczak W, Minner S, Tsourlakis MC, Chirico V, Weidemann S, Haese A, Steuber T, Salomon G, Matiu M, Vettorazzi E, Michl U, Budäus L, Tilki D, Thederan I, Pehrke D, Beyer B, Fraune C, Göbel C, Heinrich M, Juhnke M, Möller K, Bawahab AAA, Uhlig R, Huland H, Heinzer H, Graefen M, Schlomm T (2018): Integrating Tertiary Gleason 5 Patterns into Quantitative Gleason Grading in Prostate Biopsies and Prostatectomy Specimens. *European Urology* 73(5):674-683.
- [21] Leitlinienprogramm Onkologie (DGU, Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe) (2018): Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms.
- [22] Heidenreich A, Bolla M, Joniau S, Mason MD, Matveev V, Mottet N, Schmid HP, van der Kwast TH, Wiegel T, Zattoni F (2013): EAU guidelines on prostate cancer.
- [23] Harris R, Lohr KN (2002): Screening for prostate cancer: an update of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine* 137(11): 917-29.
- [24] Mistry K, Cable G (2003): Meta-analysis of prostate-specific antigen and digital rectal examination as screening tests for prostate carcinoma. *Journal of the American Board of Family Practice* 16(2): 95-101.
- [25] Amiel GE, Slawin KM (2006): Newer modalities of ultrasound imaging and treatment of the prostate. *Urologic Clinics of North America* 33: 329-337.
- [26] Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Zappa M, Nelen V, Kwiatkowski M, Lujan M, Määttänen L, Lilja H, Denis LJ, Recker F, Paez A, Bangma CH, Carlsson S, Puliti D, Villers A, Rebillard X, Hakama M, Stenman UH, Kujala P, Taari K, Aus G, Huber A, van der Kwast TH, van Schaik RH, de Koning HJ, Moss SM, Auvinen A (2014): Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet.* 384(9959):2027-35.
- [27] Andriole G L, Crawford E D, Grubb R L, Buys S S, Chia D, Church T R, Fouad M N, Gelmann E P, Kvale P A, Reding D J, Weissfeld J L, Yokochi L A, O'Brien B, Clapp J D, Rathmell J M, Riley T L, Hayes R B, Kramer B S, Izmirlian G, Miller A B, Pinsky P F, Prorok P C, Gohagan J K, Berg C D, PLCO Project Team

- (2009): Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *The New England journal of medicine*, 360(13), 1310-9.
- [28] Shoag J E, Mittal S & Hu J C (2016): Reevaluating PSA Testing Rates in the PLCO Trial. *The New England Journal of Medicine*, 374(18), 1795–1796.
- [29] National Comprehensive Cancer Network (NCCN, 2007). Prostate Cancer Early Detection. *Clinical Practice Guidelines in Oncology*. Fort Washington.
- [30] National Collaborating Centre for Cancer, National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE, 2008). Prostate Cancer: diagnosis and treatment.
- [31] Seitz M, Weiss C, Nanke R (2010): MRT/real-time TRUS Fusions-gesteuerte Prostatastanzbiopsie bei der Detektion des Prostatakarzinoms- Eine Pilotstudie. *Urologe* 143: 54.
- [32] Seitz M, Gratzke C, Stief C, Tilki D (2012): Bildgestützte Prostatastanzbiopsie. *Aktuelle Urologie* 43: 321-329.
- [33] D'Amico AV, Hui-Chen M, Renshaw AA, Sussman B, Roehl KA, Catalona WJ (2006): Identifying men diagnosed with clinically localized prostate cancer who are at high risk for death from prostate cancer. *Journal of Urology* 176: 11-15.
- [34] Klotz L, Vesprini D, Sethukavalan P, Jethava V, Zhang L, Jain S, Yamamoto T, Mamedov A, Loblaw A (2015): Long-term follow-up of a large active surveillance cohort of patients with prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology* 33(3): 272-277.
- [35] Egevad L, Ahmad AS, Algaba F, Berney DM, Boccon-Gibod L, Compérat E, Evans AJ, Griffiths D, Grobholz R, Kristiansen G, Langner C, Lopez-Beltran A, Montironi R, Moss S, Oliveira P, Vainer B, Varma M, Camparo P (2013): Standardization of Gleason grading among 337 European pathologists. *Histopathology* 2013; 62(2): 247–56.
- [36] Briganti A, Chun FK, Salonia A, Suardi N, Gallina A, Da Pozzo LF, Roscigno M, Zanni G, Valiquette L, Rigatti P, Montorsi F, Karakiewicz PI (2006): Complications and other surgical outcomes associated with extended pelvic lymphadenectomy in men with localized prostate cancer. *European Urology*. 50(5):1006-13.
- [37] Wilczak W, Wittmer C, Clauditz T, Minner S, Steurer S, Büscheck F, Krech T, Lennartz M, Harms L, Leleu D, Ahrens M, Ingwerth S, Günther CT, Koop C, Simon R, Jacobsen F, Tsourlakis MC, Chirico V, Höflmayer D, Vettorazzi E, Haese A, Steuber T, Salomon G, Michl U, Budäus L, Tilki D, Thederan I, Fraune C, Göbel C, Henrich MC, Juhnke M, Möller K, Bawahab AA, Uhlig R, Adam M, Weidemann S, Beyer B, Huland H, Graefen M, Sauter G, Schlomm T (2018): Marked Prognostic Impact of Minimal Lymphatic Tumor Spread in Prostate Cancer. *European Urology* 74(3):376-386.
- [38] Sar M, Lubahn DB, French FS, Wilson EM (1990): Immunohistochemical localization of the androgen receptor in rat and human tissue. *Endocrinology* 127: 3180-6.
- [39] Sar M, Lubahn DB, French FS, Wilson EM (1990): Immunohistochemical localization of the androgen receptor in rat and human tissue. *Endocrinology* 127: 3180-6.
- [40] Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, Willard HF, French FS, Wilson EM (1988): Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science* 240: 327-30.
- [41] Trapman J, Klaassen P, Kuiper GG, van der Korput JA, Faber PW, van Rooij HC, Geurts van Kessel A, Voorhorst MM, Mulder E, Brinkmann AO (1988): Cloning, structure and expression of a cDNA

encoding the human androgen receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 153(1): 241-8.

[42] Brinkmann AO, Klaasen P, Kuiper GG, van der Korput JA, Bolt J, de Boer W, Smit A, Faber PW, van Rooij HC, Geurts van Kessel A (1989): Structure and function of the androgen receptor. *Urological Research* 17(2) 87-93.

[43] Heinlein CA, Chang C (2002): Androgen receptor (AR) coregulators: An overview. *Endocrine Reviews* 23(2): 175-200.

[44] Rosner IL, Ravindranath L, Furusato B, Chen Y, Gao C, Cullen J, Sesterhenn IA, McLeod DG, Srivastava S, Petrovics G (2007): Higher tumor to benign ratio of the androgen receptor mRNA expression associates with prostate cancer progression after radical prostatectomy. *Urology* 70: 1225-1229.

[45] Li R, Wheeler T, Dai H, Frolov A, Thompson T, Ayala G (2004): High level of androgen receptor is associated with aggressive clinicopathologic features and decreased biochemical recurrence-free survival in prostate cancer patients treated with radical prostatectomy. *American Journal of Surgical Pathology* 28(7): 928-934.

[46] Donovan MJ, Osman I, Khan FM, Vengrenyuk Y, Capodieci P, Koscuizka M, Anand A, Cordon-Cardo C, Costa J, Scher HI (2010): Androgen receptor expression is associated with prostate cancer-specific survival in castrate patients with metastatic disease. *BJU International* 105: 462-467.

[47] Waltering KK, Helenius MA, Sahu B, Manni V, Linja MJ, Jänne OA, Visakorpi T (2009): Increased expression of androgen receptor sensitizes prostate cancer cells to low levels of androgens. *Cancer Research* 69(20): 8141-8149.

[48] Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, Arora VK, Kaushik P, Cerami E, Reva B, Antipin Y, Mitsiades N, Landers T, Dolgalev I, Major JE, Wilson M, Socci ND, Lash AE, Heguy A, Eastham JA, Scher HI, Reuter VE, Scardino PT, Sander C, Sawyers CL, Gerald WL (2010): Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell* 18(1):11-22.

[49] Weischenfeldt J, Simon R, Feuerbach L, Schlangen K, Weichenhan D, Minner S, Wuttig D, Warnatz HJ, Stehr H, Rausch T, Jäger N, Gu L, Bogatyrova O, Stütz AM, Claus R, Eils J, Eils R, Gerhäuser C, Huang PH, Hutter B, Kabbe R, Lawrenz C, Radomski S, Bartholomae CC, Fälth M, Gade S, Schmidt M, Amschler N, Haß T, Galal R, Gjonj J, Kuner R, Baer C, Masser S, von Kalle C, Zichner T, Benes V, Raeder B, Mader M, Amstislavskiy V, Avci M, Lehrach H, Parkhomchuk D, Sultan M, Burkhardt L, Graefen M, Huland H, Kluth M, Krohn A, Sirma H, Stumm L, Steurer S, Grupp K, Sültmann H, Sauter G, Plass C, Brors B, Yaspo ML, Korbel JO, Schlomm T (2013): Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer Cell* 2013 23(2):159-70.

[50] Minner S, Enodien M, Sirma H, Luebke AM, Krohn A, Mayer PS, Simon R, Tennstedt P, Müller J, Scholz L, Brase JC, Liu AY, Schlüter H, Pantel K, Schumacher U, Bokemeyer C, Steuber T, Graefen M, Sauter G, Schlomm T (2011): ERG Status Is Unrelated to PSA Recurrence in Radically Operated Prostate Cancer in the Absence of Antihormonal Therapy *Clinical cancer research* 17(18):5878-88.

[51] Tomlins SA1, 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 (2005): Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer *Science* 310(5748):644-8.

- [52] Brase J C, Johannes, M, Mannsperger H, Fälth M, Metzger J, Kacprzyk L A, Andrasiuk, T, Gade S, Meister M, Sirma H, Sauter G, Simon R, Schlomm T, Beissbarth T, Korf U, Kuner R, Sültmann H. (2011): TMPRSS2-ERG -specific transcriptional modulation is associated with prostate cancer biomarkers and TGF- β signaling. *BMC cancer* 11, 507.
- [53] Sun J, Liu W, Adams TS, Sun J, Li X, Turner AR, Chang B, Kim JW, Zheng SL, Isaacs WB, Xu J (2007): DNA copy number alterations in prostate cancers: a combined analysis of published CGH studies. *Prostate* 67(7):692-700.
- [54] Williams JL, Greer PA, Squire JA (2014): Recurrent copy number alterations in prostate cancer: an in silico meta-analysis of publicly available genomic data. *Cancer Genet.* 207(10- 12):474-88.
- [55] Aubrey BJ, Strasser A, Kelly GL (2016): *Tumor-Suppressor* Functions of the TP53 Pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 6(5).
- [56] Wang X, Jiang X (2008): PTEN: a default gate-keeping tumor suppressor with a versatile tail. *Cell Res.* 18(8):807-16.
- [57] Li L, Ross AH (2007): Why is PTEN an important tumor suppressor? *Journal of Cellular Biochemistry* 102(6):1368-74.
- [58] Krohn A, Seidel A, Burkhardt L, Bachmann F, Mader M, Grupp K, Eichenauer T, Becker A, Adam M, Graefen M, Huland H, Kurtz S, Steurer S, Tsourlakis MC, Minner S, Michl U, Schlomm T, Sauter G, Simon R, Sirma H (2013): Recurrent deletion of 3p13 targets multiple tumour suppressor genes and defines a distinct subgroup of aggressive ERG fusion-positive prostate cancers. *The Journal of Pathology* 231(1):130-41.
- [59] Kluth M, Graunke M, Möller-Koop C, Hube-Magg C, Minner S, Michl U, Graefen M, Huland H, Pompe R, Jacobsen F, Hinsch A, Wittmer C, Lebok P, Steurer S, Büscheck F, Clauditz T, Wilczak W, Sauter G, Schlomm T, Simon R (2016): Deletion of 18q is a strong and independent prognostic feature in prostate cancer. *Oncotarget* 7(52):86339-49.
- [60] Kluth M, Harasimowicz S, Burkhardt L, Grupp K, Krohn A, Prien K, Gjoni J, Haß T, Galal R, Graefen M, Haese A, Simon R, Hühne-Simon J, Koop C, Korbel J, Weischenfeld J, Huland H, Sauter G, Quaas A, Wilczak W, Tsourlakis MC, Minner S, Schlomm T (2014): Clinical significance of different types of p53 gene alteration in surgically treated prostate cancer. *International Journal of Cancer / Journal international du cancer* 135(6):1369-80.
- [61] Kluth M, Hesse J, Heini A, Krohn A, Steurer S, Sirma H, Simon R, Mayer PS, Schumacher U, Grupp K, Izbicki JR, Pantel K, Dikomey E, Korbel JO, Plass C, Sauter G, Schlomm T, Minner S (2013): Genomic deletion of MAP3K7 at 6q12-22 is associated with early PSA recurrence in prostate cancer and absence of TMPRSS2:ERG fusions. *Modern Pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 26(7):975-83.
- [62] Krohn A, Diedler T, Burkhardt L, Mayer PS, De Silva C, Meyer-Kornblum M, Kötschau D, Tennstedt P, Huang J, Gerhäuser C, Mader M, Kurtz S, Sirma H, Saad F, Steuber T, Graefen M, Plass C, Sauter G, Simon R, Minner S, Schlomm T (2012): Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. *American Journal of Pathology* 181(2):401-12.

- [63] Kluth M, Ahrary R, Hube-Magg C, Ahmed M, Volta H, Schwemin C, Steurer S, Wittmer C, Wilczak W, Burandt E, Krech T, Adam M, Michl U, Heinzer H, Salomon G, Graefen M, Koop C, Minner S, Simon R, Sauter G, Schlomm T (2015): Genomic deletion of chromosome 12p is an independent prognostic marker in prostate cancer. *Oncotarget* 6(29):27966-79.
- [64] Kluth M, Amschler NN, Galal R, Möller-Koop C, Barrow P, Tsourlakis MC, Jacobsen F, Hinsch A, Wittmer C, Steurer S, Krech T, Büscheck F, Clauditz TS, Beyer B, Wilczak W, Graefen M, Huland H, Minner S, Schlomm T, Sauter G, Simon R (2017): Deletion of 8p is an independent prognostic parameter in prostate cancer. *Oncotarget* 8(1):379-92.
- [65] D. P. Lane, L. V. Crawford (1979): T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 278: 261–263.
- [66] Vogelstein B, Lane D and Levine AJ (2000): Surfing the p53 network. *Nature* 408: 307-310.
- [67] Lane DP (1992): Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 358, 15–16.
- [68] Porter P, Gown A, Kramp S, Coltrera MD (1992): Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. *American Journal of Pathology* Vol.140, No.1.
- [69] Brosh R, Rotter V (2009): When mutants gain new powers: news from the mutant p53 field. *Nature Reviews Cancer* 9(10), 701–713.
- [70] Leroy B, Fournier JL, Ishioka C, Monti P, Inga A, Fronza G, Soussi T (2013): The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. *Nucleic Acids Research* 41, D962–9.
- [71] Schlomm T, Iwers L, Kirstein P, Jessen B, Köllermann J, Minner S, Passow-Drolet A, Mirlacher M, Milde-Langosch K, Graefen M, Haese A, Steuber T, Simon R, Huland H, Sauter G, Erbersdobler A. (2008): Clinical significance of p53 alterations in surgically treated prostate cancers. *Modern Pathology* 21, 1371-78.
- [72] Zinkel S, Gross A, Yang E (2006): BCL2 family in DNA damage and cell cycle control. *Cell Death & Differentiation* 13(8):1351-9.
- [73] Searle CJ, Brock IW, Cross SS, Balasubramanian SP, Reed MW, Cox A (2012): A BCL2 promoter polymorphism rs2279115 is not associated with BCL2 protein expression or patient survival in breast cancer patients. *Springerplus* 1():38.
- [74] Khor LY, Desilvio M, Li R, McDonnell TJ, Hammond ME, Sause WT, Pilepich MV, Okunieff P, Sandler HM, Pollack A (2006): Bcl-2 and bax expression and prostate cancer outcome in men treated with radiotherapy in Radiation Therapy Oncology Group protocol 86-10 *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 66(1):25-30.
- [75] Khor LY, Moughan J, Al-Saleem T, Hammond EH, Venkatesan V, Rosenthal SA, Ritter MA, Sandler HM, Hanks GE, Shipley WU, Pollack A (2007): Bcl-2 and Bax expression predict prostate cancer outcome in men treated with androgen deprivation and radiotherapy on radiation therapy oncology group protocol 92-02. *Clinical Cancer Research* 13 (12):3585-90.

- [76] Anvari K, Seilanian Toussi M, Kalantari M, Naseri S, Karimi Shahri M, Ahmadnia H, Katebi M, Sedighi Pashaki A, Dayani M, Broumand M (2012): Expression of Bcl-2 and Bax in advanced or metastatic prostate carcinoma. *The Journal of Urology* 9(1):381-8.
- [77] Katsetos CD, Draberova E, Legido A, Dumontet C, Draber P (2009): Tubulin Targets in the Pathobiology and Therapy of Glioblastoma Multiforme. I. Class Iii Beta-Tubulin. *Journal of Cellular Physiology* 221 (2009), 505-13.
- [78] Katsetos CD, Herman MM, Mork SJ (2003): *Class Iii Beta-Tubulin in Human Development and Cancer. Cell Motil Cytoskeleton* 55 (2003), 77-96.
- [79] Koh Y, Jang B, Han SW, Kim TM, Oh DY, Lee SH, Kang CH, Kim DW, Im SA, Chung DH, Kim YT, Kim TY, Kim YW, Kim JH, Heo DS, Bang YJ (2010): Expression of Class Iii Beta-Tubulin Correlates with Unfavorable Survival Outcome in Patients with Resected Non-Small Cell Lung Cancer *Journal of Thoracic Oncology* 5 (2010), 320-5.
- [80] Hetland TE, Hellesylt E, Florenes VA, Trope C, Davidson B, Kaern J (2011): Class Iii Beta-Tubulin Expression in Advanced-Stage Serous Ovarian Carcinoma Effusions Is Associated with Poor Survival and Primary Chemoresistance. *Human Pathology* 42 , 1019-26.
- [81] Ferrandina G, Zannoni GF, Martinelli E, Paglia A, Gallotta V, Mozzetti S, Scambia G, Ferlini C (2006): Class Iii Beta-Tubulin Overexpression Is a Marker of Poor Clinical Outcome in Advanced Ovarian Cancer Patients *Clinical Cancer Research* 12, 2774-9.
- [82] Ploussard G, Terry S, Maillé P, Allory Y, Sirab N, Kheuang L, Soyeux P, Nicolaiew N, Coppolani E, Paule B, Salomon L, Culine S, Buttyan R, Vacherot F, de la Taille A (2010): Class Iii Beta-Tubulin Expression Predicts Prostate Tumor Aggressiveness and Patient Response to Docetaxel-Based Chemotherapy. *Cancer Research* 70 9253-64.
- [83] Egevad L, Valdman A, Wiklund NP, Sève P, Dumontet C (2010): BetaTubulin Iii Expression in Prostate Cancer. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology* 44, 371-7.
- [84] Tsourlakis MC, Weigand P, Grupp K, Kluth M, Steurer S, Schlomm T, Graefen M, Huland H, Salomon G, Steuber T, Wilczak W, Sirma H, Simon R, Sauter G, Minner S, Quaas A (2014): β III-Tubulin Overexpression Is an Independent Predictor of Prostate Cancer Progression Tightly Linked to ERG Fusion Status and PTEN Deletion. *The American Journal of Pathology* 184(3), 609–617.
- [85] Scholzen T, Gerdes J (2000): *The Ki-67 protein: from the known and the unknown. Journal of Cellular Physiology* 182, 311–22.
- [86] Grupp K, Sanader S, Sirma H, Simon R, Koop C, Prien K, Hube-Magg C, Salomon G, Graefen M, Heinzer H, Minner S, Izbicki JR, Sauter G, Schlomm T, Tsourlakis MC (2013): High lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 expression independently predicts high risk for biochemical recurrence in prostate cancers. *Molecular Oncology* 7(6), 1001–1011.
- [87] Burdelski C, Kleinhans S, Kluth M, Hube-Magg C, Minner S, Koop C, Graefen M, Heinzer H, Tsourlakis MC, Wilczak W, Marx A, Sauter G, Wittmer C, Huland H, Simon R, Schlomm T, Steurer S. (2015): Reduced AZGP1 expression is an independent predictor of early PSA recurrence and associated with ERG-fusion positive and PTEN deleted prostate cancers. *International Journal of Cancer* 138(5), 1199–1206.

- [88] Lord, C J, Ashworth, A (2012): The DNA damage response and cancer therapy. *Nature* 481(7381), 287–294.
- [89] Martin L, Coffey M, Lawler M, Hollywood D, Marignol L (2010): DNA mismatch repair and the transition to hormone independence in breast and prostate cancer. *Cancer Letters* 291(2), 142–149.
- [90] Kunkel TA, Erie DA (2005): DNA Mismatch repair. *Annual Review of Biochemistry* 74(1), 681–710.
- [91] Chen Y, Wang J, Fraig MM, Metcalf J, Turner WR, Bissada NK, Watson DK, Schweinfest CW (2001): Defects of DNA mismatch repair in human prostate cancer. *Cancer Research* 61(10):4112-21.
- [92] Burger M, Denzinger S, Hammerschmied CG, Tannapfel A, Obermann EC, Wieland WF, Hartmann A, Stoehr R (2006): Elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotides (EMAST) and mismatch repair gene expression in prostate cancer. *Journal of Molecular Medicine* 84(10), 833–841.
- [93] Wilczak W, Rashed S, Hube-Magg C, Kluth M, Simon R, Büscheck F, Clauditz TS, Grupp K, Minner S, Tsourlakis MC, Möller-Koop C, Graefen M, Adam M, Haese A, Wittmer C, Sauter G, Izbicki JR, Huland H, Schlomm T, Steurer S, Krech T, Lebok P (2016): Up-regulation of mismatch repair genes MSH6, PMS2 and MLH1 parallels development of genetic instability and is linked to tumor aggressiveness and early PSA recurrence in prostate cancer. *Carcinogenesis* 38(1), 19–27.
- [94] Löffler, Petrides (2014): Biochemie und Pathobiochemie, 9. Auflage, S. 257-279.
- [95] Berg, Tymoczko, Stryer, (2013): Stryer Biochemie, 7. Auflage, S. 645-680.
- [96] Maier T, Leibundgut M, Ban N (2008): The Crystal Structure of a Mammalian Fatty Acid Synthase. *Science*. 321: 1315-1322.
- [97] Chirala S, Wakil S (2004): Structure and function of animal fatty acid synthase. *Lipids* 39, 1045-1053.
- [98] Smith S (1994): The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB Journal* 8:1248-1259.
- [99] Semenkovich CF, Coleman T, Fiedorek FT (1995): Human fatty acid synthase mRNA: tissue distribution, genetic mapping and kinetics of decay after glucose deprivation. *Journal of Lipid Research* 36:1507-1521.
- [100] Amy CM, Williams-Ahlf B, Naggert J, Smith S (1992): Intron-exon organization of the gene for the multifunctional animal fatty acid synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89:1105-1108.
- [101] Tennant D, Durán RV, Gottlieb E (2010): Targeting metabolic transformation for cancer therapy. *Nature Reviews* 10 267–277.
- [102] Waite M, Wakil SJ (1962): Studies on the mechanism of fatty acid synthesis. XII. Acetylcoenzyme A carboxylase. *Journal of Biological Chemistry* 237:2750- 2757.
- [103] Jayakumar A, Tai MH, Huang WY, al-Feel W, Hsu M, Abu-Elheiga L, Chirala SS, Wakil SJ (1995): Human fatty acid synthase: properties and molecular cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92(19):8695-9.

- [104] Pizer ES, Kurman RJ, Pasternack GR, Kuhajda FP (1997): Expression of fatty acid synthase is closely linked to proliferation and stromal decidualization in cycling endometrium. *International Journal of Gynecological Pathology* 16, 45–51.
- [105] Anderson SM, Rudolph MC, McManaman JL, Neville MC (2007): Key stages in mammary gland development. Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis! *Breast Cancer Research* 9, 204.
- [106] Wagle S, Bui A, Ballard PL, Shuman H, Gonzales J, Gonzales LW (1999): Hormonal regulation and cellular localization of fatty acid synthase in human fetal lung. *American Journal of Physiology*. 277, 381–390.
- [107] da Silva Xavier G, Rutter GA, Diraison F, Andreolas C, Leclerc I (2006): ChREBP binding to fatty acid synthase and L-type pyruvate kinase genes is stimulated by glucose in pancreatic beta-cells. *Journal of Lipid Research* 47:2482–91.
- [108] Gosmain Y, Dif N, Berbe V, Loizon E, Rieusset J, Vidal H, Lefai E (2005): Regulation of SREBP-1 expression and transcriptional action on HKII and FAS genes during fasting and refeeding in rat tissues. *Journal of Lipid Research* 46:697–705.
- [109] Griffin MJ, Sul HS (2004): Insulin regulation of fatty acid synthase gene transcription: roles of USF and SREBP-1c. *IUBMB Life* 56:595–600.
- [110] Katsurada A, Iritani N, Fukuda H, Matsumura Y, Nishimoto N, Noguchi T, Tanaka T (1990): Effects of nutrients and hormones on transcriptional and post-transcriptional regulation of fatty acid synthase in rat liver. *The European Journal of Biochemistry* 190(2):427-33.
- [111] Claycombe KJ, Jones BH, Standridge MK, Guo Y, Chun JT, Taylor JW, Moustaid-Moussa N (1998): Insulin increases fatty acid synthase gene transcription in human adipocytes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 274:1253-1259.
- [112] Dudek SM, Semenkovich CF (1995): Essential Amino Acids Regulate Fatty Acid Synthase Expression through an Uncharged Transfer RNA-dependent Mechanism. *Journal of Biological Chemistry* 270:29323-29329.
- [113] Stapleton SR, Mitchell DA, Salati LM, Goodridge AG (1990): Triiodothyronine stimulates transcription of the fatty acid synthase gene in chick embryo hepatocytes in culture. Insulin and insulin-like growth factor I amplify that effect. *Journal of Biological Chemistry* 265:18442-18446.
- [114] Ma GY, Gove CD, Hems DA (1978): Effects of glucagon and insulin on fatty acid synthesis and glycogen degradation in the perfused liver of normal and genetically obese (ob/ob) mice. *Biochemical Journal* 174:761–8.
- [115] Warburg O, Posener K, Negelein E (1924): Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochemische Zeitschrift* 152 309–344.
- [116] Gatenby RA, Gillies RJ (2004): Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nature Reviews Cancer* 4 891–899.
- [117] Moreno-Sánchez R, Rodríguez-Enríquez S, Marín-Hernández A, Saavedra E (2007): Energy metabolism in tumor cells. *The FEBS Journal* 274 1393–1418.
- [118] Marín-Hernández A, Gallardo-Pérez JC, Rodríguez-Enríquez S, Encalada R, Moreno-Sánchez R, Saavedra E (2011): Modeling cancer glycolysis. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1807 755–767.

- [119] Medes G, Thomas A, Weinhouse S (1953): Metabolism of neoplastic tissue IV: a study of lipid synthesis in neoplastic tissue slices in vitro. *Cancer Research* 13, 27–29.
- [120] Ookhtens M, Kannan R, Lyon I, Baker N (1984): Liver and adipose tissue contributions to newly formed fatty acids in an ascites tumor. *American Journal of Physiology* 247:R146–R153.
- [121] Liu H, Liu JY, Wu X, Zhang JT (2010): Biochemistry, molecular biology, and pharmacology of fatty acid synthase, an emerging therapeutic target and diagnosis/prognosis marker. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 1: 69-89. 10.
- [122] Mashima T, Seimiya H, Tsuruo T (2009): De novo fatty-acid synthesis and related pathways as molecular targets for cancer therapy. *British Journal of Cancer* 100: 1369-1372.
- [123] Hochachka P (2002): Going malignant: the hypoxia- cancer connection in the prostate. *Bioessays* 24, 749-757.
- [124] Gatenby R (2006): Acid- mediated tumor invasion: a multidisciplinary study. *Cancer Research* 66, 5216-5223.
- [125] Smalbone K (2007): Metabolic changes during carcinogenesis: potential impact on invasiveness. *Journal of Theoretical Biology* 244, 703-713.
- [126] Kuhajda FP, Jenner K, Wood FD, Hennigar RA, Jacobs LB, Dick JD, Pasternack GR (1994): Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 6379–6383.
- [127] Corominas-Faja B, Vellon L, Cuyàs E, Buxó M, Martín-Castillo B, Serra D, García J, Lupu R, Menendez JA (2017): Clinical and therapeutic relevance of the metabolic oncogene fatty acid synthase in HER2+ breast cancer. *Histology & Histopathology* 32(7):687-698.
- [128] Giró-Perafita A, Sarrats A, Pérez-Bueno F, Oliveras G, Buxó M, Brunet J, Viñas G, Miquel TP (2017): Fatty acid synthase expression and its association with clinico-histopathological features in triple-negative breast cancer. *Oncotarget* 8(43):74391-74405.
- [129] Zhou L, Zhao YH, Wang XD, Jiang SF, Li H (2015): Expression of fatty acid synthase and adipocyte fatty acid-binding protein and the relationship with the clinicopathological characteristics in human infiltrating ductal breast cancer. *Journal of Sichuan University (Medical Science Edition)* 46(2):228-33.
- [130] Kim S, Lee Y, Koo JS (2015): Differential expression of lipid metabolism-related proteins in different breast cancer subtypes. *PLoS One* 10(3):e0119473.
- [131] Alò PL, Visca P, Botti C, Galati GM, Sebastiani V, Andreano T, Di Tondo U, Pizer ES (2001): Immunohistochemical expression of human erythrocyte glucose transporter and fatty acid synthase in infiltrating breast carcinomas and adjacent typical/atypical hyperplastic or normal breast tissue. *American Journal of Clinical Pathology* 116(1):129-34.
- [132] Alo PL, Visca P, Marci A, Mangoni A, Botti C, Di Tondo U (1996): Expression of fatty acid synthase (FAS) as predictor of recurrence in stage I breast carcinoma patients. *Cancer* 77(3):474-82.
- [133] Milgram LZ, Witters LA, Pasternack GR, Kuhajda FP (1997): Enzymes of the fatty acid synthesis pathway are highly expressed in in situ breast carcinoma. *Clinical Cancer Research* 3(11):2115-20.

- [134] Jensen V, Ladekarl M, Holm-Nielsen P, Melsen F, Sørensen FB (1995): The prognostic value of oncogenic antigen 519 (OA-519) expression and proliferative activity detected by antibody MIB-I in node-negative breast cancer. *The Journal of Pathology* 176(4), 343–352.
- [135] Orita H, Coulter J, Lemmon C, Tully E, Vadlamudi A, Medghalchi SM, Kuhajda FP, Gabrielson E (2007): Selective inhibition of fatty acid synthase for lung cancer treatment. *Clinical Cancer Research* 13(23):7139-45.
- [136] Visca P, Sebastiani V, Botti C, Diodoro MG, Lasagni RP, Romagnoli F, Brenna A, De Joannon BC, Donnorso RP, Lombardi G, Alo PL (2004): Fatty acid synthase (FAS) is a marker of increased risk of recurrence in lung carcinoma. *Anticancer Research* 24(6):4169-73.
- [137] Piyathilake CJ, Frost AR, Manne U, Bell WC, Weiss H, Heimbürger DC, Grizzle WE (2000): The expression of fatty acid synthase (FASE) is an early event in the development and progression of squamous cell carcinoma of the lung. *Human Pathology* 31(9), 1068–1073.
- [138] Zaytseva YY, Rychahou PG, Gulhati P, Elliott VA, Mustain WC, O'Connor K, Morris AJ, Sunkara M, Weiss HL, Lee EY, Evers BM (2012): Inhibition of Fatty Acid Synthase Attenuates CD44-Associated Signaling and Reduces Metastasis in Colorectal Cancer. *Cancer Research* 72(6), 1504–1517.
- [139] Uddin S, Hussain AR, Ahmed M, Abubaker J, Al-Sanea N, Abduljabbar A, Ashari LH, Alhomoud S, Al-Dayel F, Bavi P, Al-Kuraya KS (2009): High Prevalence of Fatty Acid Synthase Expression in Colorectal Cancers in Middle Eastern Patients and Its Potential Role as a Therapeutic Target. *The American Journal of Gastroenterology* 104(7), 1790–1801.
- [140] Ogino S, Nosho K, Meyerhardt JA, Kirkner GJ, Chan AT, Kawasaki T, Giovannucci EL, Loda M, Fuchs CS (2008): Cohort Study of Fatty Acid Synthase Expression and Patient Survival in Colon Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 26(35), 5713–5720.
- [141] Ogino S, Kawasaki T, Ogawa A, Kirkner GJ, Loda M, Fuchs CS (2007): Fatty acid synthase overexpression in colorectal cancer is associated with microsatellite instability, independent of CpG island methylator phenotype. *Human Pathology* 38(6), 842–849.
- [142] Visca P, Alò PL, Del Nonno F, Botti C, Trombetta G, Marandino F, Filippi S, Di Tondo U, Donnorso RP (1999): Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, apoptotic-regulating genes, proliferating factors, and ras protein product in colorectal adenomas, carcinomas, and adjacent nonneoplastic mucosa. *Clinical Cancer Research* 5(12):4111-8.
- [143] Rashid A, Pizer E S, Moga M, Milgraum LZ, Zahurak M, Pasternack G R, Kuhajda F P, Hamilton S R (1997): Elevated expression of fatty acid synthase and fatty acid synthetic activity in colorectal neoplasia. *The American Journal of Pathology* 150(1), 201-8.
- [144] Bian Y, Yu Y, Wang S, Li L (2015): Up-regulation of fatty acid synthase induced by EGFR/ERK activation promotes tumor growth in pancreatic cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 463(4), 612–617.
- [145] Walter K, Hong SM, Nyhan S, Canto M, Fedarko N, Klein A, Griffith M, Omura N, Medghalchi S, Kuhajda F, Goggins M (2009): Serum Fatty Acid Synthase as a Marker of Pancreatic Neoplasia. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 18(9), 2380–2385.
- [146] Witkiewicz AK, Nguyen K, Dasgupta A, Kennedy EP, Yeo CJ, Lisanti MP, Brody JR (2008): Co-expression of fatty acid synthase and caveolin-1 in pancreatic ductal adenocarcinoma: Implications for tumor progression and clinical outcome. *Cell Cycle*, 7(19), 3021–3025.
- [147] Alo PL, Amini M, Piro F, Pizzuti L, Sebastiani V, Botti C, Murari R, Zotti G, Di Tondo U (2007): Immunohistochemical expression and prognostic significance of fatty acid synthase in pancreatic carcinoma. *Anticancer Research* 27(4B):2523-7.

- [148] Hao Q, Li T, Zhang X, Gao P, Qiao P, Li S, Geng Z (2014): Expression and roles of fatty acid synthase in hepatocellular carcinoma. *Oncology Reports* 32(6), 2471–2476.
- [149] Bauerschlag DO, Maass N, Leonhardt P, Verburg FA, Pecks U, Zeppernick F, Morgenroth A, Mottaghy FM, Tolba R, Meinhold-Heerlein I, Bräutigam K. (2015): Fatty acid synthase overexpression: target for therapy and reversal of chemoresistance in ovarian cancer. *Journal of Translational Medicine*, 13(1).
- [150] Cai Y, Wang J, Zhang L, Wu D, Yu D, Tian X, Liu J, Jiang X, Shen Y, Zhang L, Ren M, Huang P (2014): Expressions of fatty acid synthase and HER2 are correlated with poor prognosis of ovarian cancer. *Medical Oncology* 32(1).
- [151] Uddin S, Jehan Z, Ahmed M, Alyan A, Al-Dayel F, Hussain A, Bavi P, Al-Kuraya KS (2011): Overexpression of fatty acid synthase in Middle Eastern epithelial ovarian carcinoma activates AKT and Its inhibition potentiates cisplatin-induced apoptosis. *Molecular Medicine* 17(7-8):635-45.
- [152] Alò PL, Visca P, Framarino ML, Botti C, Monaco S, Sebastiani V, Serpieri DE, Di Tondo U (2000): Immunohistochemical study of fatty acid synthase in ovarian neoplasms. *Oncology Reports* 1383-8.
- [153] Gansler TS, Hardman W, Hunt DA, Schaffel S, Hennigar RA (1997): Increased expression of fatty acid synthase (OA-519) in ovarian neoplasms predicts shorter survival. *Human Pathology* 28(6), 686–692.
- [154] Rahman MT, Nakayama K, Ishikawa M, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Iida K, Miyazaki K (2013): Fatty Acid Synthase Is a Potential Therapeutic Target in Estrogen Receptor-/Progesterone Receptor-Positive Endometrioid Endometrial Cancer. *Oncology* 84(3), 166–173.
- [155] Sebastiani V (2004): Fatty acid synthase is a marker of increased risk of recurrence in endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncology* 92(1), 101–105.
- [156] Pizer ES, Lax SF, Kuhajda FP, Pasternack GR, Kurman RJ (1998): Fatty acid synthase expression in endometrial carcinoma. *Cancer* 83(3), 528–537.
- [157] Duan J, Sun L, Huang H, Wu Z, Wang L, Liao W (2016): Overexpression of fatty acid synthase predicts a poor prognosis for human gastric cancer. *Molecular Medicine Reports* 13(4), 3027–3035.
- [158] Xiang HG, Hao J, Zhang WJ, Lu WJ, Dong P, Liu YB, Chen L. (2015): Expression of Fatty Acid Synthase Negatively Correlates with PTEN and Predicts Peritoneal Dissemination of Human Gastric Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 16(16):6851-5.
- [159] Ito T, Sato K, Maekawa H, Sakurada M, Orita H, Shimada K, Daida H, Wada R, Abe M, Hino O, Kajiyama Y (2014): Elevated levels of serum fatty acid synthase in patients with gastric carcinoma. *Oncology letters*, 7(3), 616-620.
- [160] Hou W, Fei M, Qin X, Zhu X, Greshock J, Liu P, Zhou Y, Wang H, Ye BC, Qin CY (2012): High overexpression of fatty acid synthase is associated with poor survival in Chinese patients with gastric carcinoma. *Experimental and therapeutic medicine* 4(6), 999-1004.
- [161] Kusakabe T, Nashimoto A, Honma K, Suzuki T (2002): Fatty acid synthase is highly expressed in carcinoma, adenoma and in regenerative epithelium and intestinal metaplasia of the stomach. *Histopathology* 40(1), 71–79.
- [162] Zhou Y, Niu C, Li Y, Gao B, Zheng J, Guo X, Ma W (2012): Fatty acid synthase expression and esophageal cancer. *Molecular Biology Reports* 39(10), 9733–9739.

- [163] Orita H, Coulter J, Tully E, Abe M, Montgomery E, Alvarez H, Sato K, Hino O, Kajiyama Y, Tsurumaru M, Gabrielson E (2010): High levels of fatty acid synthase expression in esophageal cancers represent a potential target for therapy. *Cancer Biology & Therapy* 10(6), 549–554.
- [164] Nemoto T, Terashima S, Kogure M, Hoshino Y, Kusakabe T, Suzuki T, Gotoh M (2001): Overexpression of Fatty Acid Synthase in Oesophageal Squamous Cell Dysplasia and Carcinoma. *Pathobiology* 69(6), 297–303.
- [165] Hamada S, Horiguchi A, Asano T, Kuroda K, Asakuma J, Ito K, Asano T, Miyai K, Iwaya K (2014): Prognostic Impact of Fatty Acid Synthase Expression in Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 44(5), 486–492.
- [166] Jiang B, Li EH, Lu YY, Jiang Q, Cui D, Jing YF, Xia SJ (2012): Inhibition of Fatty-acid Synthase Suppresses P-AKT and Induces Apoptosis in Bladder Cancer. *Urology* 80(2), 484.e9–484.e15.
- [167] Sugino T, Baba K, Hoshi N, Aikaw K, Yamaguchi O, Suzuki T (2011): Overexpression of fatty acid synthase in human urinary bladder cancer and combined expression of the synthase and Ki-67 as a predictor of prognosis of cancer patients. *Medical Molecular Morphology* 44(3), 146–150.
- [168] Horiguchi A, Asano T, Asano T, Ito K, Sumitomo M, Hayakawa M (2008): Fatty Acid Synthase Over Expression is an Indicator of Tumor Aggressiveness and Poor Prognosis in Renal Cell Carcinoma. *The Journal of Urology* 180(3), 1137–1140.
- [169] Liu ZL, Zhou Y, Luo QF, Hu M, Wang G, Huang SH, Shu Y (2012): Inhibition of fatty acid synthase supresses osteosarcoma cell invasion and migration. *The Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2012 55(2):163-9.
- [170] Takahiro T, Shinichi K, Toshimitsu S (2003): Expression of fatty acid synthase as a prognostic indicator in soft tissue sarcomas. *Clinical Cancer Research*: 9(6):2204-12.
- [171] Gelebart P, Zak Z, Anand M, Belch A, Lai R (2012): Blockade of Fatty Acid Synthase Triggers Significant Apoptosis in Mantle Cell Lymphoma. *PLoS ONE* 7(4), e33738.
- [172] Uddin S, Hussain AR, Ahmed M, Bu R, Ahmed SO, Ajarim D, Al-Dayel F, Bavi P, Al-Kuraya KS (2010): Inhibition of Fatty Acid Synthase Suppresses c-Met Receptor Kinase and Induces Apoptosis in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Molecular Cancer Therapeutics* 9(5), 1244–1255.
- [173] Wang W, Zhao X, Wang H, Liang Y (2008): Increased fatty acid synthase as a potential therapeutic target in multiple myeloma. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(6), 441–447.
- [174] Okawa Y, Hideshima T, Ikeda H, Raje N, Vallet S, Kiziltepe T, Yasui H, Enatsu S, Pozzi S, Breitkreutz I, Cirstea D, Santo L, Richardson P, Anderson KC (2008): Fatty acid synthase is a novel therapeutic target in multiple myeloma. *British Journal of Haematology* 141, 659-671.
- [175] Pizer E, Wood FD, Pasternack GR, Kuhajda FP (1996): Fatty Acid Synthase (FAS): A Target for Cytotoxic Antimetabolites in HL60 Promyelocytic Leukemia Cells. *Cancer Research* 745-751.
- [176] Liu J, Brown RE (2011): Immunohistochemical expressions of fatty acid synthase and phosphorylated c-Met in thyroid carcinomas of follicular origin. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 4(8), 755-64.
- [177] Uddin S, Siraj AK, Al-Rasheed M, Ahmed M, Bu R, Myers JN, Al-Nuaim A, Al-Sobhi S, Al-Dayel F, Bavi P, Hussain AR, Al-Kuraya KS (2008): Fatty Acid Synthase and AKT Pathway Signaling in a Subset of Papillary Thyroid Cancers. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(10), 4088–4097.

- [178] Sekiguchi M., Shiroko Y., Arai T., Kishino T., Sugawara I., Kusakabe T., Suzuki T., Yamashita T., Obara T., Ito K, Hasumi K (2001) Biological characteristics and chemosensitivity profile of four human anaplastic thyroid carcinoma cell lines. *Biomed Pharmacother* 55(8):466-74.
- [179] Camassei FD, Cozza R, Acquaviva A, Jenkner A, Ravà L, Gareri R, Donfrancesco A, Bosman C, Vadalà P, Hadjistilianou T, Boldrini R (2003): Expression of the Lipogenic Enzyme Fatty Acid Synthase (FAS) in Retinoblastoma and Its Correlation with Tumor Aggressiveness. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 44(6), 2399.
- [180] Silva S, Cunha I, Younes R, Soares F, Kowalski L, Graner E (2010): ErbB receptors and fatty acid synthase expression in aggressive head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Diseases* 16(8),
- [181] Gabrielson EW, Pinn ML., Testa JR, Kuhajda FP (2001): Increased fatty acid synthase is a therapeutic target in mesothelioma. *Clinical Cancer Research* 7(1):153-7.
- [182] Huang M, Koizumi A, Narita S, Inoue T, Tsuchiya N, Nakanishi H, Numakura K, Tsuruta H, Saito M, Satoh A, Nanjo H, Sasaki T and Habuchi T (2016): Diet-induced alteration of fatty acid synthase in prostate cancer progression. *Oncogenesis* 5:e195.
- [183] Cheng J, Ondracek RP, Mehedint DC, Kasza KA, Xu B, Gill S, Azabdaftari G, Yao S, Morrison CD, Mohler JL, Marshall JR (2015): Association of fatty-acid synthase polymorphisms and expression with outcomes after radical prostatectomy. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 18(2), 182-9.
- [184] Madigan AA, Rycyna KJ, Parwani AV, Datiri YJ, Basudan AM, Sobek KM, Cummings JL, Basse H, Bacich DJ, O'Keefe DS (2014): Novel Nuclear Localization of Fatty Acid Synthase Correlates with Prostate Cancer Aggressiveness. *The American Journal of Pathology* 184(8), 2156–2162.
- [185] Hamada S, Horiguchi A, Kuroda K, Ito K, Asano T, Miyai K, Iwaya K (2013): Elevated fatty acid synthase expression in prostate needle biopsy cores predicts upgraded Gleason score in radical prostatectomy specimens. *The Prostate*, 74.
- [186] Wu X, Zayzafoon M, Zhang X, Hameed O (2011): Is There a Role for Fatty Acid Synthase in the Diagnosis of Prostatic Adenocarcinoma? *American Journal of Clinical Pathology* 136(2), 239–246.
- [187] Tischler V, Fritzsche FR, Gerhardt J, Jäger C, Stephan C, Jung K, Dietel M, Moch H, Kristiansen G (2010): Comparison of the diagnostic value of fatty acid synthase (FASN) with alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR) as prostatic cancer tissue marker. *Histopathology* 56(6), 811–815.
- [188] Nguyen PL, Ma J, Chavarro JE, Freedman ML, Lis R, Fedele G, Fiore C, Qiu W, Fiorentino M, Finn S, Penney KL, Eisenstein A, Schumacher FR, Mucci LA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Loda M (2010): Fatty Acid Synthase Polymorphisms, Tumor Expression, Body Mass Index, Prostate Cancer Risk, and Survival. *Journal of Clinical Oncology*, 28(25).
- [189] Migita T, Ruiz S, Fornari A, Fiorentino M, Priolo C, Zadra G, Inazuka F, Grisanzio C, Palescandolo E, Shin E, Fiore C, Xie W, Kung AL, Febbo PG, Subramanian A, Mucci L, Ma J, Signoretti S, Stampfer M, Hahn WC, Finn S, Loda M (2009): Fatty Acid Synthase: A Metabolic Enzyme and Candidate Oncogene in Prostate Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 101(7).
- [190] Shah US, Dhir R, Gollin SM, Chandran UR, Lewis D, Acquafondata M, Pflug BR (2006): Fatty acid synthase gene overexpression and copy number gain in prostate adenocarcinoma. *Human Pathology*, 37(4), 401–409.
- [191] Van de Sande T, Roskams T, Lerut E, Joniau S, Van Poppel H, Verhoeven G, Swinnen, JV (2005): High-level expression of fatty acid synthase in human prostate cancer tissues is linked to activation and nuclear localization of Akt/PKB. *The Journal of Pathology* 206(2), 214–219.

- [192] Rossi S, Graner E, Febbo P, Weinstein L, Bhattacharya N, Onody T, Bubley G, Balk S, Loda M (2003): Fatty acid synthase expression defines distinct molecular signatures in prostate cancer. *Molecular Cancer Research* 1(10):707-15.
- [193] Swinnen JV, Roskams T, Joniau S, Van Poppel H, Oyen R, Baert L, Heyns W, Verhoeven G (2002): Overexpression of fatty acid synthase is an early and common event in the development of prostate cancer. *International Journal of Cancer*. 98(1):19-22.
- [194] Pizer ES, Pflug BR, Bova GS, Han WF, Udan MS, Nelson, JB (2001): Increased fatty acid synthase as a therapeutic target in androgen-independent prostate cancer progression. *The Prostate*, 47(2).
- [195] Shurbaji MS, Kalbfleisch JH, Thurmond TS (1996): Immunohistochemical detection of a fatty acid synthase (OA-519) as a predictor of progression of prostate cancer. *Human Pathology*, 27(9), 917–921.
- [196] Epstein JI, Carmichael M, Partin AW (1995): OA-519 (fatty acid synthase) as an independent predictor of pathologic state in adenocarcinoma of the prostate. *Urology*. 45(1):81-6.
- [197] Shurbaji MS, Kuhajda FP, Pasternack GR, Thurmond TS (1992): Expression of oncogenic antigen 519 (OA-519) in prostate cancer is a potential prognostic indicator. *The American Journal of Clinical Pathology* 97(5):686-91.
- [198] Burdelski C, Bujupi E, Tsourlakis MC, Hube-Magg C, Kluth M, Melling N, Lebok P, Minner S, Koop C, Graefen M, Heinzer H, Wittmer C, Sauter G, Wilczak W, Simon R, Schlomm T, Steurer S, Krech T (2015): Loss of SOX9 Expression Is Associated with PSA Recurrence in ERG-Positive and PTEN Deleted Prostate Cancers. *PLoS On* 10(6):e0128525.
- [199] Müller J, Ehlers A, Burkhardt L, Sirma H, Steuber T, Graefen M, Sauter G, Minner S, Simon R, Schlomm T, Michl U (2013): Loss of pSer2448-mTOR expression is linked to adverse prognosis and tumor progression in ERGfusion-positive cancers. *International Journal of Cancer* 132(6):1333-40.
- [200] Juhnke M, Heumann A, Chirico V, Höflmayer D, Menz A, Hinsch A, Hube-Magg C, Kluth M, Lang DS, Möller-Koop C, Sauter G, Simon R, Beyer B, Pompe R, Thederan I, Schlomm T, Luebke AM (2017): Apurinic/ apyrimidinic endonuclease 1 (APE1/Ref-1) overexpression is an independent prognostic marker in prostate cancer without TMPRSS2: ERG fusion. *Molecular Carcinogenesis* 56(9):2135-2145.
- [201] Melling N, Rashed M, Schroeder C, Hube-Magg C, Kluth M, Lang D, Simon R, Möller-Koop C, Steurer S, Sauter G, Jacobsen F, Büscheck F, Wittmer C, Clauditz T, Krech T, Tsourlakis MC, Minner S, Huland H, Graefen M, Budäus L, Thederan I, Salomon G, Schlomm T, Wilczak W (2017): High- Level gamma-Glutamyl-Hydrolase (GGH) Expression is Linked to Poor Prognosis in ERG Negative Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 18(2).
- [202] Burdelski C, Dieckmann T, Heumann A, Hube-Magg C, Kluth M, Beyer B, Steuber T, Pompe R, Graefen M, Simon R, Minner S, Tsourlakis MC, Koop C, Izbicki J, Sauter G, Krech T, Schlomm T, Wilczak W, Lebok P (2016): p16 upregulation is linked to poor prognosis in ERG negative prostate cancer. *Tumor Biology* 37(9):12655-63.
- [203] Erbersdobler A, Fritz H, Schnöger S, Graefen M, Hammerer P, Huland H, Henke RP (2002): Tumour Grade, Proliferation, Apoptosis, Microvessel Density, p53, and bcl-2 in Prostate Cancers: Differences Between Tumours Located in the Transition Zone and in the Peripheral Zone. *European Urology*, Volume 41, Issue 1, 40 – 46.

- [204]: Weischenfeldt J, Simon R, Feuerbach L, Schlangen K, Weichenhan D, Minner S, Wuttig D, Warnatz HJ, Stehr H, Rausch T, Jäger N, Gu L, Bogatyrova O, Stütz AM, Claus R, Eils J, Eils R, Gerhäuser C, Huang PH, Hutter B, Kabbe R, Lawerenz C, Radomski S, Bartholomae CC, Fälth M, Gade S, Schmidt M, Amschler N, Haß T, Galal R, Gjoni J, Kuner R, Baer C, Masser S, von Kalle C, Zichner T, Benes V, Raeder B, Mader M, Amstislavskiy V, Avci M, Lehrach H, Parkhomchuk D, Sultan M, Burkhardt L, Graefen M, Huland H, Kluth M, Krohn A, Sirma H, Stumm L, Steurer S, Grupp K, Sültmann H, Sauter G, Plass C, Brors B, Yaspo ML, Korbel JO, Schlomm T (2013): Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer Cell*. 23(2):159-70.
- [205] Minner S, Enodien M, Sirma H, Luebke AM, Krohn A, Mayer PS, Simon R, Tennstedt P, Müller J, Scholz L, Brase JC, Liu AY, Schlüter H, Pantel K, Schumacher U, Bokemeyer C, Steuber T, Graefen M, Sauter G, Schlomm T (2011): Erg Status Is Unrelated to Psa Recurrence in Radically operated Prostate Cancer in the Absence of Antihormonal Therapy, *Clinical Cancer Research*, 17 , 5878-88.
- [206] Burkhardt L1, Fuchs S, Krohn A, Masser S, Mader M, Kluth M, Bachmann F, Huland H, Steuber T, Graefen M, Schlomm T, Minner S, Sauter G, Sirma H, Simon R (2013): CHD1 is a 5q21 tumor suppressor required for ERG rearrangement in prostate cancer. *Cancer Research* 73(9):2795-805.
- [207] Kluth M1, Hesse J, Heini A, Krohn A, Steurer S, Sirma H, Simon R, Mayer PS, Schumacher U, Grupp K, Izbicki JR, Pantel K, Dikomey E, Korbel JO, Plass C, Sauter G, Schlomm T, Minner S (2013): Genomic deletion of MAP3K7 at 6q12-22 is associated with early PSA recurrence in prostate cancer and absence of TMPRSS2:ERG fusions. *Modern Pathology* 26(7):975-83.
- [208] Krohn A, Diedler T, Burkhardt L, Mayer PS, De Silva C, Meyer-Kornblum M, Kötschau D, Tennstedt P, Huang J, Gerhäuser C, Mader M, Kurtz S, Sirma H, Saad F, Steuber T, Graefen M, Plass C, Sauter G, Simon R, Minner S, Schlomm T (2012): Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. *American Journal of Pathology*. (2):401-12.
- [209] Krohn A, Seidel A, Burkhardt L, Bachmann F, Mader M, Grupp K, Eichenauer T, Becker A, Adam M, Graefen M, Huland H, Kurtz S, Steurer S, Tsourlakis MC, Minner S, Michl U, Schlomm T, Sauter G, Simon R, Sirma H (2013): Recurrent deletion of 3p13 targets multiple tumour suppressor genes and defines a distinct subgroup of aggressive ERG fusion-positive prostate cancers. *Journal of Pathology* (1):130-41.
- [210] Huland H, Graefen M, Deerberg-Wittram J (2018): *Das Martini-Prinzip*, MWV Medizinisch Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1. Auflage.
- [211] Ruiz C, Seibt S, Al Kuraya K, Siraj AK, Mirlacher M, Schraml P, Maurer R, Spichtin H, Torhorst J, Popovska S, Simon R, Sauter G (2006): Tissue microarrays for comparing molecular features with proliferation activity in breast cancer. *International Journal of Cancer* 118(9):2190-4.
- [212] Al-Kuraya K, Schraml P, Torhorst J, Tapia C, Zaharieva B, Novotny H, Spichtin H, Maurer R, Mirlacher M, Köchli O, Zuber M, Dieterich H, Mross F, Wilber K, Simon R, Sauter G (2004): Prognostic relevance of gene amplifications and coamplifications in breast cancer. *Cancer Research* 64(23):8534-40.
- [213] Liu J, Zhang C, Hu W, Feng Z (2015): Tumor suppressor p53 and its mutants in cancer metabolism. *Cancer Letters* 356(2), 197–203.

- [214] Massoner P, Kugler KG, Unterberger K, Kuner R, Mueller LA, Fälth M, Schäfer G, Seifarth C, Ecker S, Verdorfer I, Graber A, Sülthmann H, Klocker H (2013): Characterization of transcriptional changes in ERG rearrangement-positive prostate cancer identifies the regulation of metabolic sensors such as neuropeptide Y. *PLoS One*. 8(2):e55207.
- [215] Lee MY, Moon JS, Park SW, Koh Y, Ahn YH, Kim KS (2009): KLF5 enhances SREBP-1 action in androgen-dependent induction of fatty acid synthase in prostate cancer cells. *Biochemical Journal* 417(1), 313–322.
- [216] Murken J, Grimm T, Holiski-Feder E (2006): *Taschenlehrbuch Humangenetik*, 7. Auflage, S. 75.
- [217] Napoli M, Flores E (2017): The p53 family orchestrates the regulation of metabolism: physiological regulation and implications for cancer therapy. *British Journal of Cancer* 116(2): 149–155.
- [218] Freed-Pastor WA, Mizuno H, Zhao X, Langerød A, Moon SH, Rodriguez-Barrueco R, Barsotti A, Chicas A, Li W, Polotskaia A, Bissell MJ, Osborne TF, Tian B, Lowe SW, Silva JM, Børresen-Dale AL, Levine AJ, Bargonetti J, Prives C (2012): Mutant p53 disrupts mammary tissue architecture via the mevalonate pathway. *Cell* 148(1–2):244–58.10.1016/j.cell.2011.12.017.
- [219] Schlomm T, Erbersdobler A, Mirlacher M, Sauter G (2007): Molecular staging of prostate cancer in the year 2007. *World Journal of Urology*, 25(1).

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

ABB	Abbildung
ACC	Acetyl-CoA-Carboxylase
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMACR	Alpha-methylacyl-CoA-Racemase
AMP	Adenosinmonophosphat
APE1	AP-Endonuklease 1
ATP	Adenosintriphosphat
AZGP1	Zink-alpha-2-Glykoprotein 1
BCL2	b-cell lymphoma 2
BMI	Body Mass Index
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
BRCA1	BRest CAncer 1
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
CIMP	CpG island methylator phenotype
c-Met	tyrosine-protein kinase Met
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CoA	Coenzym A
ChREBP	Carbohydrate-responsive element-binding protein
DCIS	duktales Carcinoma in situ
DHT	Dihydrotestosteron
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuclease
DRU	Digital-rektale Untersuchung
EGFR	epidermal growth factor receptor
ERCC1	excision repair cross-complementation group 1
ERG	ETS-related gene
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FASN, FAS	Fatty acid synthase
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G1-, S-, G2-, M-Phase	Abschnitte des Zellzyklus
GY	Gray, Einheit für Energiedosis
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HDR-Brachytherapie	High-dose-rate-Brachytherapie
HE	Hämatoxylin-Eosin
HER-2	human epidermal growth factor receptor 2
HSNCC	head and neck squamous cell carcinoma
IHC	Immunhistochemie
IPNM	Intraduktale papillär-muzinöse Neoplasie
ISUP	International Society of Urological Pathology
k.A.	keine Angabe
KDa	Kilodalton, atomare Masseneinheit
Ki-67	Proliferationsmarker
KLF5	kruppel-like factor 5
LCIS	lobular carcinoma in situ

LDR- Brachytherapie	Low-dose-rate- Brachytherapie
LIG4	DNA Ligase 4
LMP	low malignant potential
LPCAT1	lysophosphatidylcholine acyltransferase 1
MMMT	malignant mixed Müllerian tumor
MLH1	mutL homolog 1
mpMRT	multiparametrische Prostata-Magnetresonanztomographie
mRNA	messenger ribonucleic acid
MRT	Magnetresonanztomographie
MSH6	mutator S homolog 6
NADPH	Nicotinamidadeninukleotidphosphat
n	Anzahl
NAT	normal adjacent to tumor
P53	Tumorsuppressorgen
p-AKT	phosphorylated Akt
p-Wert	Signifikanzwert
PanIN	pancreatic intraepithelial neoplasia
PCa	Prostatakarzinom
PET-CT	Kombination aus Positronen-Emissions-Tomographie und Computertomographie
PIN	prostatic intraepithelial neoplasia
PLA2G7	phospholipase A2 group VII
PMS2	postmeiotic segregation increased 2
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
pT/pN/pM	pathologic stage (TNM)
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
SH	Sulfhydrylgruppe
SNP	single nucleotide polymorphism
SKP2	S-phase kinase-associated protein 2
SREBP-1	sterol-regulatory element-binding protein-1
TAB	Tabelle
TMA	Tissue Microarray
TMPRSS2	transmembrane serine protease 2
TNM	tumor, nodes, metastases
TP53	tumor protein 53
TRUS	transrektaler Ultraschall
TUBB3	class III β -tubulin
TUNEL	TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling
TUR	Transurethrale Resektion
UICC	Union internationale contre le cancer
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
USF	upstream stimulatory factor
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein

8.2 Tabellenverzeichnis

Seite

Tabelle 1:	TNM-Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms	2
Tabelle 2:	UICC - Klassifikation des Prostatakarzinoms	2
Tabelle 3:	Kategorien/Morphologien beim Gleason-Grading	3
Tabelle 4:	Die häufigsten genomischen Veränderungen beim Prostatakarzinom	8
Tabelle 5:	Literaturüberblick über die FASN-Expression in unterschiedlichen Tumoren	12
Tabelle 6:	Literaturüberblick über die FASN-Expression beim Prostatakarzinom	19
Tabelle 7:	Patientenkollektiv des Hamburger Prostatakarzinom-TMA	24
Tabelle 8:	Datenbank-Ausschnitt zum Prostatakarzinom-TMA	26
Tabelle 9:	FASN-Expression und Tumorphänotyp (alle Tumoren)	30
Tabelle 10:	FASN-Expression und Tumorphänotyp (ERG-negative Tumoren)	32
Tabelle 11:	FASN-Expression und Tumorphänotyp (ERG-positive Tumoren)	33
Tabelle 12:	FASN-Expression und Ki67-Labeling-Index	39
Tabelle 13:	Multivariate Analyse	44

8.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Gleason-Grading beim Prostatakarzinom	3
Abbildung 2:	Prognostische Bedeutung etablierter Parameter	23
Abbildung 3:	Prostatakarzinom – TMA	25
Abbildung 4:	TMA-Modell mit Koordinatensystem	25
Abbildung 5:	Fehlende Gewebeprobe im TMA	28
Abbildung 6:	FASN-negative Probe	28
Abbildung 7:	Schwache FASN-Expression (Prostatakarzinom)	28
Abbildung 8:	Moderate FASN-Anfärbung (Prostatakarzinom)	29
Abbildung 9:	Starke FASN-Anfärbung (Prostatakarzinom)	29
Abbildung 10:	FASN-Expression und biochemisches Rezidiv (alle Tumoren)	30
Abbildung 11:	FASN-Anfärbung und ERG-Status (IHC/FISH) (alle Tumoren)	31
Abbildung 12:	FASN-Expression und biochemisches Rezidiv (ERG-negative Tumoren)	32
Abbildung 13:	FASN-Expression und biochemisches Rezidiv (ERG-positive Tumoren)	33
Abbildung 14:	FASN-Expression und Deletionen (alle Tumoren)	34
Abbildung 15:	FASN-Expression und Deletionen (ERG-negative Tumoren)	35
Abbildung 16:	FASN-Expression und Deletionen (ERG-positive Tumoren)	36
Abbildung 17:	FASN-Expression und Anzahl Deletionen (alle Tumoren)	37
Abbildung 18:	FASN-Expression und Anzahl Deletionen (ERG-negative Tumoren)	37
Abbildung 19:	FASN-Expression und Anzahl Deletionen (ERG-positive Tumoren)	38
Abbildung 20:	Ki-67 Anfärbungen unterschiedlicher Intensitäten (aus früherer Studie)	38
Abbildung 21:	FASN-Expression und Androgenrezeptorexpression	40
Abbildung 22:	FASN-Expression und p53-Expression	41
Abbildung 23:	FASN-Expression und LPCAT1 und AZGP1	41
Abbildung 24:	FASN-Expression und DNA-Reparaturproteine	42
Abbildung 25:	FASN-Expression mit Expression von TUBB3/BCL2	43
Abbildung 26:	Zusammenfassung mehrere Studien, welche ERG-Prognoserelevanz nahelegen	47
Abbildung 27:	ERG-Status und biochemisches Rezidiv	48

9 Danksagung

Ich möchte mich zuerst herzlich bei meinem Doktorvater und Institutsdirektor Herrn Prof. Dr. med. Guido Sauter für das Ermöglichen dieser Arbeit und die fortwährende Unterstützung während der Fertigstellung am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf bedanken.

Des Weiteren danke ich allen Mitarbeitern des Instituts und im Besonderen PD Dr. Ronald Simon und Christina Möller-Koop für ihre hervorragende Betreuung und Unterstützung während des Anfertigens dieser Arbeit.

Und schließlich bedanke ich mich herzlich bei meiner Familie und meiner Freundin Christina für ihre Hilfe, Geduld und konstruktive Kritik während der Erstellung dieser Arbeit.

10 Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

11 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: