



TAMPEREEN
YLIOPISTO

ATAD2-Histoscore Eturauhassyövässä

Lääketieteen lisensiaatin syventävien opintojen opinnäytetyö

Tekijä: Matti Häkkinen
Tarkastaja: Tapio Visakorpi
Päivämäärä: Marraskuu 2014

TIIVISTELMÄ

Tampereen Yliopisto

Lääketieteen yksikkö

Lääketieteen lisensiaatin syventävien opintojen opinnäytetyö

Eturauhassyövän molekyylibiologia

Tekijä: Matti Häkkinen

Raportti: ATAD2-Histoscore Eturauhassyövässä

Sivu-/liitelukumäärä: 31 sivua/0 liitettä

Päivämäärä: Marraskuu 2014

Tarkastaja: Tapio Visakorpi

Avainsanat: Prostatan Adenokarsinooma, Hormoninaiivi Eturauhassyöpä, Kastratioresistentti Eturauhassyöpä, ATAD2

Eturauhassyöpä on ilmaantuvuudeltaan yleisin ja kuolleisuudeltaan toiseksi yleisin miesten syöpäsairauksista. Opinnäytetyössä tarkastelemme ATAD2-geenin geeniekspressiotuotteen, ATAD2-proteiinin, immunohistokemialliseen värjäytymiseen perustuvaa histoscore-menetelmää sekä menetelmän soveltuvuutta eturauhassyöpäennusteen arvioimisessa.

Potilasaineisto muodostui 326 hormoninaiivista sekä 189 kastratioresistentista havaintoyksikköstä. Hormoninaiivien ja kastratioresistenttien havaintoyksiköiden frekvenssijakaumien välillä havaittiin tilastollisesti merkittävä ero tarkasteltaessa sekä kategorisen sytoplasman (p-arvo 0.000) että kategorisen tuman (p-arvo 0.000) histoscoren suhteen. Kastratioresistenttien havaintoyksiköiden histoscore oli keskimääräisesti hormoninaiivien havaintoyksiköiden histoscorea suurempi. Hormoninaiivien havaintoyksiköiden sytoplasman osuus ja tuman histoscore korreloivat positiivisesti (p-arvo 0.000) kontrolloitaessa sytoplasman luokan suhteen.

Hormoninaiivien havaintoyksiköiden kategorisen Gleason-luokituksen (2-6, 7, 8-10) ja kategorisen tuman histoscoren (0, 1-5, 6-300) välillä oli tilastollisesti merkittävä ero (p-arvo 0.003). Ki67:n ja kategorisen sytoplasman histoscoren (0, 1-50, 51-300) sekä Ki67:n ja kategorisen tuman histoscoren välillä oli tilastollisesti merkittävä riippuvuus (p-arvo 0.000 ja p-arvo 0.000 vastaavasti). PSA:n pitoisuuden ja kategorisen sytoplasman histoscoren sekä PSA:n pitoisuuden ja kategorisen tuman histoscoren välillä ei merkittävää tilastollista riippuvuutta havaittu. Diagnoosi-ikä ei ollut tilastollisesti merkittävä sekoittava tekijä.

Kategorisen tuman histoscoren luokkien välinen ero potilaan eturauhassyöpäennusteeseen oli tilastollisesti merkittävä (p-arvo 0.009). Cox-regressioanalyysi osoitti, että tuman histoscore oli tilastollisesti merkittävä potilaan eturauhassyöpäennusteeseen vaikuttava muuttuja (p-arvo 0.008) e^b :n ollessa 1.037.

ESIPUHE

Opinnäytetyötäni kirjoittaessa vuosina 2013 ja 2014 on eturauhassyöpä ilmaantuvuudeltaan yleisin suomalaisten miesten syöpäsairauksista. Eturauhassyöpä selittää arviolta kolmanneksen miesten syöpäsairauksien ilmaantuvuusjakaumasta. Eturauhassyöpä on toiseksi yleisin miesten syöpäkuolleisuuden aiheuttaja, miesten keuhkosityöpäkuolleisuuden jälkeen. Voidaankin todeta, että miesten syöpäsairautena eturauhassyöpä on erittäin merkittävässä asemassa.

Lääketieteen syventävien opintojen opinnäytetyöni sai alkunsa työskennellessäni kesällä 2013 tutkimusapulaisena eturauhassyövän molekyylibiologian tutkimusryhmässä. Mahdollisuudesta työskennellä eturauhassyöpätutkimuksen parissa haluankin kiittää lämpimästi silloista työnantajaani sekä nykyistä opinnäytetyöni ohjaajaa professori Tapio Visakorpea. Haluan kiittää myös tohtoritutkija Heini Kalliota opinnäytetyöhöni liittyvistä neuvoista.

SISÄLTÖ

| | |
|---|----|
| 1. Johdanto | 1 |
| 1.1 Eturauhasen anatomia, histologia ja molekyylibiologia | 1 |
| 1.2 Eturauhassyöpä | 3 |
| 1.3 Eturauhassyövän histologia | 5 |
| 1.4 Eturauhassyövän molekyylibiologiaa | 6 |
| 1.5 Gleason-luokitus | 8 |
| 1.6 TNM-luokitus | 9 |
| 1.7 Prostataspesifinen antigeeni | 10 |
| 1.8 Eturauhassyövän diagnostiikka ja hoito | 12 |
| 2. Menetelmät | 15 |
| 2.1 Tutkimusaineisto | 15 |
| 2.2 Tilastolliset menetelmät | 17 |
| 3. Tulokset | 22 |
| 4. Pohdinta | 27 |
| 4.1 Yhteenveto tutkimustuloksista | 27 |
| 4.2 Tutkimustulosten reflektio tieteellisiin julkaisuihin | 29 |
| 4.3 Tutkimuksen vahvuudet ja heikkoudet | 30 |
| Lähteet | 32 |

TERMINOLOGIA

| | |
|-------------|--|
| AR | Androgeenireseptori |
| Benigni | Hyvänlaatuinen |
| CA | Adenokarsinooma |
| CRPC | Kastraatioresistentti eturauhassyöpä |
| DHT | Dihydrotestosteroni |
| Gleason | Erilaistumattomuuden (gradus) luokitus |
| Histoscore | Intensiteetin ja prosentuaalisen frekvenssin tuloon perustuva luokitus |
| IHC | Immunohistokemia |
| Maligni | Pahanlaatuinen |
| Metastaasi | Etäpesäke |
| Nodus | Imusolmuke |
| PIN | Prostatan intraepiteelinen neoplasia |
| Prostata | Eturauhanen |
| PSA | Prostataspesifinen antigeeni |
| pT-luokitus | Patologinen T (tuumori) -luokitus |
| TMA | Kudosmikrokartta |
| TNM | Levinneisyyden (stage) luokitus |
| Tuumori | Kasvain |

1. JOHDANTO

1.1 Eturauhasen anatomia, histologia ja molekyylibiologia

Eturauhanen (prostata) on pariton, eksokriininen lisäsukupuolirauhanen. Eturauhasen massa on keskimäärin 20 g ja halkaisija on likimäärin 3-4 cm. Eturauhanen sijaitsee mediaalisagittaalitasossa symmetrisesti sekä virtsarakon kaulan, proksimaalisen virtsaputken että distaalisten siemenheittotiehyeiden ympärillä, vatsakalvon ulkopuolella retroperitoneaalisesti. [5]

Eturauhasen uloimpana kerroksena on epätarkkarajainen sidekudoskapseli. Eturauhanen jaetaan seuraaviin anatomisiin vyöhykkeisiin: perifeerinen, transitionaalinen ja sentraalinen parenkymaalinen vyöhyke sekä anteriorinen fibromuskulaarinen strooma. [5]

Anteriorinen fibromuskulaarinen strooma ei muodostu rauhasepiteelikudoksesta. Fibromuskulaarisen sidekudoksen, strooman, tehtävä eturauhasessa on liittää eturauhasen rauhasepiteelikudos, parenkyma, konsistenssiksi eturauhaskudokseksi. Eturauhanen on kombinaatio sekä parenkyma- että stroomakudosta. [5]

Sentraalinen parenkymaalinen vyöhyke ympäröi distaalisia osia siemenheittotiehyistä. Siemenheittotiehyet laskevat bilateraalisesti siemenjohtimista sekä rakkularauhasista prostataaliseen virtsaputkeen. Periferaalinen parenkymaalinen vyöhyke sijaitsee sentraalisesta parenkymaalisesta vyöhykkeestä posteriorisesti ja ympäröi proksimaalisia osia siemenheittotiehyistä. Transitionaalinen parenkymaalinen vyöhyke ympäröi virtsarakon kaulan distaalisia osia sekä periuretraalisesti proksimaalisia osia virtsaputkesta. Anteriorinen fibromuskulaarinen strooma sijaitsee transitionaalisesta parenkymaalisesta vyöhykkeestä anteriorisesti. [5]

Vyöhykkeillä on keskeinen kliininen merkitys. Mainittakoon, että eturauhassyövistä 90 %:a esiintyy perifeeraalisella parenkymaalisella vyöhykkeellä; eturauhasen hyvänlaatuisen liikakasvu (benigni prostatan hyperplasia) esiintyy sentraalisella parenkymaalisella vyöhykkeellä [3; 4].

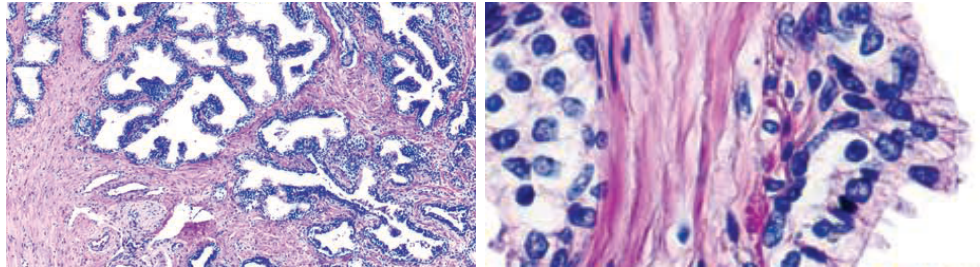
Eturauhasen posteriorinen osa on palpoitavissa transrektaalisesti [3]. Tuseeraus peräsuolen kautta on yksinkertainen toimenpide. Toimenpidettä pidetään epäherkänä ja -tarkkana, mutta yksinkertaisuudestaan huolimatta tuseeraus per rectum (TPR) on kliinisen eturauhastutkimuksen diagnostiikan perustutkimus ja urologisen potilaan ensimmäinen tutkimus tutkimussarjassa. [5]

Histologisesti eturauhanen koostuu sekä epiteelikudoksen muodostamasta rauhas-

ja tiehyeparenkyymista että sidekudoksen ja sileän lihaskudoksen muodostamasta fibromuskulaarisesta stroomasta. [5]

Fibromuskulaarinen strooma on supistumiskykyinen. Rauhas- ja tiehyerakenteita verhoava epiteeli on kaksikerroksinen. Luminaalisen kerroksen muodostaa sekreto-rinen, yksinkertainen lieriöepiteeli; basaalisen kerroksen yksinkertainen kuutioepi-teeli. Epiteelin alla sijaitsee tyvikalvo. Tyvikalvon alla sijaitsee fibromuskulaarinen strooma liittämässä eturauhaskudoksen konsistenssiksi kudokseksi. [5]

Epiteelikudoksen parenkyymista sekä fibromuskulaarisesta stroomasta muodostuvat rauhasrakenteet poimuuntuvat lumeniin. Eturauhasen mikroskooppinen ku-dosrakenne on visualisoitavissa kuvassa 1 sekä pienemmällä että suuremmalla suu-rennoksella. Kyseessä on hematoksyliini-eosiini (HE) -värjätyn eturauhaskudoksen virtuaalimikroskooppikuva. [5]



Kuva 1. Rauhas- ja tiehyeparenkyymi sekä fibromuskulaarinen strooma (vasemmalla). Luminaali- ja basaalisolut sekä epiteelinalainen fibromuskulaarinen strooma (oikealla). [52]

Dihydrotestosteroni (DHT) on testosteronia kymmenen kertaa potentiaalisempi androgeeni. DHT:n osuuden arvoidaan olevan 90 %:a eturauhasen androgeenivaikutuksesta. [5]

DHT konvertoidaan testosteronista fibromuskulaaristen stroomasolujen tyyppin 2 $5\text{-}\alpha$ -reduktaasin katalysoimassa biokemiallisessa reaktiossa. Immunohistokemiallisesti on osoitettu, että epiteelin luminaalisolut eivät ekspressoivat $5\text{-}\alpha$ -reduktaasia; basaalisolut ekspressoivat. Kuriositeettina mainittakoon, että tyyppin 1 $5\text{-}\alpha$ -reduktaasia ei ole osoitettavissa eturauhasessa, vaan ihossa sekä maksassa. [5]

DHT vuorovaikuttaa autokriinisesti fibromuskulaarisissa stroomasoluissa ja parakriinisesti rauhas- ja tiehye-epiteelisoluissa. DHT läpäisee rasvaliukoisena steroidihormonina solukalvon ja sitoutuu androgeenireseptoriin (AR) tumassa. AR on tumareseptoriperheen reseptori. [5]

DHT:n ja AR:n ligandi-reseptori -kompleksi indusoi AR:n reguloimien geenien transkriptiota. Transkriptoituvia geneja ovat lukuisat kasvutekijägenit: FGF-7, FGF-1, FGF-2 sekä TGF- β . Kasvutekijöiden epäillään vahvistavan fibromuskulaaristen stroomasolujen proliferaatiota; toisaalta vaimentavan sekä rauhas- että tiehye-

epiteelisolujen apoptoosia. Kasvutekijävaikutuksen arvellaan selittävän eturauhaskudoksen kudosuutokset. AR-geenin lokus on fluoresenssi in situ hybridisaatio (FISH) -menetelmällä paikannettu X-sukukromosomiin. [5; 26; 50; 51]

1.2 Eturauhassyöpä

Prostatan adenokarsinooma (CA) on eturauhasen maligni glandulaarinen epiteeli-neoplasia. Kansankielellä prostatan adenokarsinooma on eturauhassyöpä. Kansankielisestä termistä puuttuu etiologiaan ja patogeneesiin liittyvä lääketieteellinen eksaktius. [1; 2; 3]

Eturauhassyövän ilmaantuvuus vuonna 2012 raportoitiin olevan 4659 tapausta. Ikävakioitu ilmaantuvuus oli 82.1 tapausta 100 000 kohti. Vastaavasti vuonna 2012 kirjattiin 855 kuolemaa. Kuolleisuus oli 24.9 kuolematapausta 100 000 kohti. [1; 2; 3]

Eturauhassyöpä oli vuonna 2012 ilmaantuvuudeltaan yleisin miesten syöpäsairauksista sekä toiseksi yleisin miesten syöpäkuoleman aiheuttaja, miesten keuhkosyöpäkuolleisuuden jälkeen. Seuraavassa esitetään myös vuoden 2011 ja 2005 tilastot.

Vuonna 2011 todettiin 4726 tapausta. Eturauhassyövän ikävakioitu ilmaantuvuus oli 85.7 tapausta 100 000 kohti. Vuonna 2011 todettiin 885 kuolemaa. Eturauhassyövän ikävakioitu kuolleisuus oli 13.4 kuolematapausta 100 000 kohti. [1; 2; 3]

Vuonna 2005 raportoitiin 5539 tapausta, ja eturauhassyövän ikävakioitu ilmaantuvuus oli 100 tapausta 100 000 kohti. Vastaavasti todettiin 776 kuolemaa, ja eturauhassyövän ikävakioitu kuolleisuus oli 16.1 kuolemaa 100 000 kohti. [1; 2; 3]

Vuoden 2012 ilmaantuvuus- ja kuolleisuusluvut ovat tiivistettynä Syöpäjärjestön taulukoissa kuvissa 1 ja 2 vastaavasti. [1; 2; 3]

Yleisimmät syövät vuonna 2012, MIEHET.

| Primaariipaikka | Tapausten määrä | Prosentti-jakauma | Ilmaantuvuus 100.000 kohti ¹ |
|----------------------------------|-----------------|-------------------|---|
| Eturauhanen | 4659 | 30.0 | 82.1 |
| Keuhkot, henkitorvi | 1616 | 10.4 | 28.6 |
| Rakko ja virtsatiet ³ | 929 | 6.0 | 16.1 |
| Paksusuoli | 905 | 5.8 | 16.5 |
| Iho, ei-melanooma ² | 884 | 5.7 | 13.8 |
| Ihomelanooma | 707 | 4.5 | 14.6 |
| Non-Hodgkin-lymfooma | 671 | 4.3 | 14.3 |
| Peräsuoli, peräaukko | 635 | 4.1 | 11.9 |
| Haima | 514 | 3.3 | 9.2 |
| Munuainen | 493 | 3.2 | 10.1 |
| Aivot, keskushermosto | 413 | 2.7 | 11.0 |
| Maha | 335 | 2.2 | 6.0 |
| Leukemia | 317 | 2.0 | 7.5 |
| Maksa | 303 | 1.9 | 5.2 |
| Ruokatorvi | 207 | 1.3 | 3.9 |
| Myelooma | 179 | 1.2 | 3.2 |
| Kives | 149 | 1.0 | 5.6 |
| Kilpirauhanen | 129 | 0.8 | 3.2 |
| Nielu | 123 | 0.8 | 2.6 |
| Sappirakko, sappitiet | 116 | 0.7 | 2.0 |
| Kurkunkpää | 104 | 0.7 | 2.0 |
| Kokonaissyöpä ² | 15555 | 100.0 | 294.3 |

¹ Ikävakioitu "maailman standardiväestöön".

² Ihon basaliomat eivät sisälly lukuihin.

³ Sisältäen uroteelin PUNLMP sekä uroteelin ca in situ tapaukset.

Kuva 2. Miesten syöpäilmaantuvuus vuonna 2012 [2].

Yleisimmät syöpäkuolemansyyt vuonna 2012, MIEHET.

| Primaariapaikka | Tapausten määrä | Prosentti-jakauma | Kuolleisuus 100.000 kohti ¹ |
|----------------------------------|-----------------|-------------------|--|
| Keuhkot, henkitorvi | 1427 | 22.9 | 24.9 |
| Eturauhanen | 855 | 13.7 | 12.6 |
| Häima | 494 | 7.9 | 8.6 |
| Paksusuoli | 388 | 5.7 | 5.9 |
| Maksa | 264 | 4.2 | 4.6 |
| Peräsuoli, peräaukko | 259 | 4.2 | 4.5 |
| Maha | 253 | 4.1 | 4.5 |
| Non-Hodgkin-lymfooma | 251 | 4.0 | 4.5 |
| Rakko ja virtsatiet ³ | 229 | 3.7 | 3.4 |
| Aivot, keskushermosto | 215 | 3.5 | 4.9 |
| Munuainen | 206 | 3.3 | 3.6 |
| Ruokatorvi | 177 | 2.8 | 3.3 |
| Leukemia | 148 | 2.4 | 2.7 |
| Myelooma | 134 | 2.2 | 2.2 |
| Ihmelanooma | 128 | 2.1 | 2.3 |
| Kokonaissyöpä ² | 6230 | 100.0 | 107.7 |

¹ Ikävakiointu "maailman standardiväestöön".

² Ihon basaliomat eivät sisälly lukuun.

³ Sisältäen uroteelin PUNLMP sekä uroteelin ca in situ tapaukset.

Kuva 3. Miesten syöpäkuolleisuus vuonna 2012 [1].

Eturauhassyövistä osa on letaaleja, hoitotoresistenttejä eturauhassyöpiä; toisaalta osa on latenteja, hoitoon reagoivia eturauhassyöpiä. Eturauhassyövän diversiteetti on eräs merkittävimmistä diagnostisista ja terapeuttisista haasteista. [3]

Prostatan intraepiteelinen neoplasia (PIN) lokaali carcinoma in situ -kudosmuutos on todennäköinen malignin eturauhassyövän prekursori. PIN:an liittyy epiteeli- ja stroomasoluissa havaittavat irreversiibelit, somaattiset mutaatiot sekä epigeneettiset muutokset. PIN on dysplastinen. [3; 5; 12]

Eturauhassyöpäpotilaiden keski-ikä on 71 vuotta. Eturauhasen kudosmuutokset ilmaantuvat kaikille miehelle jossakin elämänvaiheessa, ennemmin tai myöhemmin, enemmässä tai vähemmässä määrin. Keskimäärin eturauhassyöpä on vanhusten syöpäsairaus. [3]

Eturauhassyöpä sekundaarisena satunnaislöydöksenä on tavallinen [28]. Eturauhassyövän seulonta on intensiivisen debatin kohteena, erityisesti kysymys eturauhassyövän seulonnalle asetettävien ehtojen täyttämistä. Seulottavalta syöpäsairaudelta oletetaan seuraavaa: kansanterveydellisesti merkittävä, olemassa oleva seulontamenetelmä varhaisvaiheen dysplastisten ja neoplastisten kudosmuutosten havaitsemiseksi. Seulontamenetelmällä havaittavat kudosmuutokset tulevat olla hoidettavissa, kun primaaripreventio ei ole mahdollinen. [3]

Käytännön seulontamenetelmiksi olisi vakiintumassa prostataspesifinen antigeeni (PSA). Eturauhassyövän seulonnan kustannusvaikuttavuudesta ei ole olemassa luotettavaa tutkimusnäyttöä, ja seulonnan vaikutusta elinvuosiin pidetään kiistanalaisena. [3]

Oikeutusperiaatteen on täytyttävä eli seulonnasta saatavan hyödyn on oltava suurempi kuin seulonnasta koituvan haitan. Eturauhassyövän seulonnassa riskinä on yli diagnostiikka sekä yli diagnostiikasta syntyvä ylihoito. Ylihoito altistaa terveydenhuollon kustannuksille sekä komplikaatioille. [3]

Konsensus on, että eturauhassyövän seulontaa suositellaan riskiryhmän potilaille

40-45 -ikävuodesta alkaen. Riskiryhmän potilaina pidetään potilaita, joilla on eturauhassyöpää sairastava ensimmäisen asteen sukulainen eli vanhempi, sisarus tai lapsi. Riskiryhmällä arvioidaan olevan kaksikertainen todennäköisyys sairastua eturauhassyöpään. Eturauhassyövästä arvellaan perinnöllisiä olevan keskimäärin 2-3 %:a, perheittäin esiintyviä keskimäärin 20 %:a. [3; 5]

Eturauhassyöpä on ilmaantuvuudeltaan yleisin afroamerikkalaisilla; toisaalta ilmaantuvuudeltaan harvinaisin aasialaisilla. Kaukasialaisten eturauhassyövän ilmaantuvuus asettuu afroamerikkalaisten ja aasialaisten välille [5; 21]. Kaksoistutkimuksissa on havaittu, että ympäristötekijöiden merkitys eturauhassyövässä on geneettisiä tekijöitä merkittävämpi [3].

Länsimaalainen dieetti ja länsimaalaiset elämäntavat ovat eturauhassyövän riskitekijöitä kuten korkea ikä [18], rotu ja korkea androgeenipitoisuus. Runsas tyydyttynneiden rasvojen käyttö, lihavuus, tupakointi [32], β -karoteeni sekä inflammaatiot lisäävät; toisaalta soija, tomaatti, α -tokoferoli, 25-OH-kolekalsiferoli [24] sekä seleeni vähentävät eturauhassyöpäriskiä. Alkoholilla ja A-vitamiinilla ei ole osoitettu olevan merkittävää roolia eturauhassyövässä. Fyysisen aktiivisuuden merkityksestä tieteellinen tutkimusnäyttö on puutteellista. [3]

Genominlaajuisten assosiaatiotutkimusten (GWAS) perusteella on osoitettu, että AR-geenin X-sukukromosomissa esiintyvät pidentyneet CAG-toistojaksovariaatiot ovat sekä muskulaariatrofiana että neurodegeneratiivisina oireina ilmenevän Kennedyn taudin merkittäviä riskitekijöitä. AR-geenit, joiden CAG-toistojaksot ovat lyhimmät, ovat androgeenisensitiivisimpiä. [5; 40]

Eturauhassyövästä osa etenee kastroatiosta huolimatta kastroatioresistenteiksi eturauhassyöviksi (CRPC). CRPC:n kehittymiseen on esitetty lukuisia mekanismeja AR-geenin amplifikaatiosta [6; 7; 9; 23; 37], AR:n hypersensitiivisyyteen [8] sekä AR:n hyposelektiivisyyteen.

Geneettiset muutokset näyttävät selittävän eturauhassyövän progressiota; toisaalta hormoni-resistenssin kehittymistä. On esitetty, että antiandrogeenit voisivat paradoksaalisesti toimia inhiboivien antagonistien asemasta stimuloivina agonisteina. [8; 33]

Geneettisellä variaatiolla on keskeinen rooli antiandrogeenihoitoa tulevaisuudessa harkittaessa yksilöllisen lääketieteen yleistyessä. Soluissa tapahtuvat somaattiset mutaatiot, epigeneettiset muutokset sekä PI-3-kinaasi/Akt -signaalikaskadin, kasvutekijöiden ja kasvutekijäreseptorien muutokset voisivat selittää CRPC:n muodostumista. [8; 33]

1.3 Eturauhassyövän histologia

Eturauhaskudoksen histologisia muutoksia on todettavissa noin 30 %:lla yli 50-vuotiaista ja 70-80 %:lla yli 80-vuotiaista. Latenteista eturauhaskudoksen histologi-

sista muutoksista arviolta 10 %:a kehittyä eturauhassyöviksi [3].

Eturauhassyövässä epiteelikudoksessa ei havaita basaalista kuutioepiteelikerrosta, eivätkä epiteelikudoksen parenkymista ja fibromuskulaarisesta stroomasta muodostuvat rauhasrakenteet poimuunnu lumeniin. Neoplastisten solujen sytoplasman koostumus vaihtelee ja tumat ovat atyyppisiä, suurikokoisia sekä sisältävät lukuisia tumajyväsiä. [5]

Neulabiopsiat sisältävät vaihtelevasti benignia ja malignia eturauhaskudosta. Diagnostiikka riippuu neulabiopsianäytteen laadusta, joten vrheellisen diagnosoinnin riski on olemassa. Histologisia löydöksiä, kuten perineuraalista invaasiota, pidetään maligniteetin tunnusmerkkeinä [20].

Diagnostiikkaa helpottamaan on kehitetty immunohistokemiallisia vasta-ainevärjäysmenetelmiä. Menetelmien ohella käytetään usein standardi, hematoksyliini-eosiini -värjättyjä rinnakkaisleikkeitä. [3; 5]

Eturauhassyöpänäytteistä yli 80 %:ssa on havaittavissa eturauhassyövän prekursoriksi todennäköinen PIN. Histologisesti PIN on dysplastinen. Epiteelisolut ovat atyyppisiä ja suuritumaisia. PIN:ssa epiteelikudos muodostuu sekä luminaalisesta lieriöepiteelistä että basaalisesta kuutioepiteelistä. PIN:ssa epiteelin alla sijaitsee tyvikalvo. [5]

1.4 Eturauhassyövän molekyylibiologiaa

Oppikirjaesimerkki eturauhassyövän somaattisista mutaatioista on ERG-geenin translokaatio ja fuusio androgeenien reguloiman TMPRSS2-geenin promoottorialueelle. TMPRSS2-geenin androgeeniriippuvainen yliekspressio saa aikaan ERG-geenin yliekspression. Genotyypin variaatio ekspressoituu fenotyypiltään invasiivisena eturauhassyöpänä, matriksimetalloproteiinaasien hajoittaessa eturauhaskudoksen ekstracellularista matriksia [5].

On myös osoitettu, että TMPRSS2:ERG-fuusiogeeni assosioituisi fuusioimatonta verrokiaan parempaan ennusteeseen [10]. TMPRSS2- ja ERG-geenin fuusiotuotteita on kvantitoitu virtsanäytteistä polymeerasiketjureaktio (PCR) -menetelmän avulla.

ERG-geenin geeniekspressiotuote on proliferaatiota ja apoptoosia reguloiva transkriptiotekijä. ERG-geenin lokus sijaitsee kromosomissa 21. TMPRSS2-geenin geeniekspressiotuote on seriiniproteaasi, jonka toiminta on kiistanalainen. TMPRSS2-geenin lokus sijaitsee ERG-geenistä alavirtaan kromosomissa 21. [36]

Glutathioni-S-tranferaasi P -geenin hypermetylaatio on oppikirjaesimerkki epigeeneettisistä muutoksista. Glutathioni-S-tranferaasi P -geenin lokus sijaitsee kromosomissa 11. Geenituotteella on keskeinen rooli hydrofobisten karsinogeenien konjugaatiossa hydrofiiliseen glutationiin. Geenin hypermetylaatio vaimentaa geeniekspressiota, mikä vahvistaa vapaiden radikaalien pitoisuutta eturauhaskudoksessa. Vapaiden

radikaalien arvellaan altistavan eturauhassyövälle. [5]

p53-geeni on tuumorisupressorigeeni, joka reguloi solusyklia sekä apoptoosia. p53-geenin lokus sijaitsee kromosomissa 17. p53-geenin geeniekspressiotuote on transkriptiotekijä, jonka säätelymekanismin perustuu miRNA:n ja p21-geenin ekspresion säätelyyn. [5]

p21-geenin geeniekspressiotuote sitoutuu solusyklin G1-S -vaiheiden transitiokohdan sykliiniriippuvaan kinaasiin (CDK). Sitoutuminen CDK:in vaimentaa CDK:n fosforylaatiokapasiteettia, mikä estää solusyklin siirtymisen G1-vaiheesta S-vaiheeseen. p53-geeni kytkeytyy RB-geeniin p14-geenin avulla. p53-geenin geenimutaatio on eräs merkittävimmistä geenimutaatioista lukuisissa maligniteeteissa kuten eturauhas- ja rintasyövässä. [5]

PTEN-geeni on tuumorisupressorigeeni. PTEN-geenin geeniekspressiotuote on fosfatidyylinositoli-trifosfaatti-fosfaasi, joka säätelee PI-3-kinaasi/Akt -kaskadia. PTEN-geeni osallistuu solusyklin, apoptoosin sekä soluväliliitosten regulaatioon. PTEN-geenin lokus on kromosomissa 10. PTEN-geenin geenimutaatio selittää PI-3-kinaasi/Akt -signaalikaskadin säätelyhäiriön eturauhassyövässä. [5]

EZH2-geenin geeniekspressiotuote on transkriptiotekijä, joka metyloi kromatiinin histoniproteiineja. EZH2-geenin lokus sijaitsee kromosomissa 7. EZH2-geenin yliexpressio vaimentaa lukuisia tuumorisupressorigenejä. EZH2-geenin ekspresio korreloi negatiivisesti adheesioproteiinin, E-kadheriinin, ekspresion kanssa. Neoplastiset solut vaimentavat solujen välisiin liitoksiin osallistuvien proteiinien ekspresiota, mikä mahdollistaa invaasion ja metastasoinnin. [5; 41]

AMACR-geenin geeniekspressiotuote on rasvahappojen β -oksidation entsyymi. β -oksidatiossa rasvahapot hapetetaan asetyyli-CoA:ksi, joka trikarboksyylihappokierrossa (TCA) muodostaa pelkistynyttä nikotiiniamidiadeniinidinukleotidia (NADH). NADH luovuttaa elektroninsa energiansiirtoketjuun ja protoninsa pumpattavaksi mitokondrion intermembraanitilaan. Oksidatiivisessa fosforylaatiossa lopputuotteena muodostuu adenosiinitrifosfaattia (ATP) ATP-syntaasin kautta purettavan protonigradientin avulla. PCA3-geenin geeniekspressiotuote osallistuu RNA-välitteiseen geenien regulaatioon. EZH2-, AMACR- ja PCA3-geenin geeniekspressiotuotteita on käytetty PSA:n rinnalla molekyyli-markkereina eturauhassyöpätutkimuksessa. [5; 41]

ATAD2-geenin (ATPase family, AAA domain containing 2) geeniekspressiotuote on ATAD2-proteiini, jonka toiminta on kiistanalainen. ATAD2-proteiinin arvelaan kytkeytyvän solun proliferaation ja apoptoosin regulaatioon. AR:n on osoitettu osallistuvan ATAD2-geenin geeniekspression regulaatioon [47]. ATAD2-geeni sijaitsee kromosomissa 8.

Ki67-geenin geeniekspressiotuote on proliferaatioon ja rRNA:n transkription regulaatioon osallistuva tumaproteiini. Ki67-tumaproteiini on tuumorisolujen proliferaatiomarkkeri, joka ekspresoituu solusyklin interfaasin vaiheiden G1, S ja G2 sekä

mitoosin M-vaiheen aikana. Ki67-tumaproteiini ei ekspressoidu solusyklin lepovaiheen G0-vaiheen aikana. [5]

Ki67-geenin geeniekspressio ilmenee mitoottisesti aktiivisissa soluissa kuten labiileissa luuytimen hematopoeieettisissa, ihon stratum basalen sekä ruuansulatuskanavan Lieberkühnin kryptojen kantasoluissa sekä neoplastisissa soluissa kuten eturauhassyöpäsoluissa; toisaalta inaktiiviset G0-vaiheen solut kuten stabiilit hepatosyytit ja permanentit kardiomyosyytit sekä neuronit eivät ilmennä Ki67-tumaproteiinia. Ki67-tumaproteiinille on käytössä proliferaatioindeksi, joka kuvaa Ki67-tumaproteiinia ilmentävien solujen prosentuaalista frekvenssia. Ki67-geeni sijaitsee kromosomissa 10. [5; 19; 22; 25; 35; 39; 41]

1.5 Gleason-luokitus

Eturauhassyövän erilaistumattomuusasteen (graduksen) arvioimisessa käytetään viisiportaista Gleason-luokitusta, jossa asetetaan luokka syöpäkudoksen erilaistumattomuusasteen perusteella. [3; 5]

Erilaistumattomuusaste arvioidaan histologisia kudosleikkeitä mikroskopoimalla. Gradus 1 tarkoittaa erilaistunutta neoplasiaa; Gradus 5 anaplastista neoplasiaa. Gradukset 2-4 sijoittuvat gradusten 1 ja 5 välille kasvavan erilaistumattomuuden mukaisesti. [3; 5]

Gleason-luokitus on erityisesti eturauhassyövän erilaistumattomuusasteen määrittämiseen käytettävä mittari, jonka on osoitettu olevan käyttökelpoinen prognostinen mittari. [5]

Histologiset näytteet sisältävät tiettyä ajanhetkenä t erilaisissa erilaistumattomuusasteissa olevia syöpäkudostyyppejä. Gleason-luokituksessa asetetaan primaarinen gradus dominantille syöpäkudokselle ja sekundaarinen gradus resessiiviselle syöpäkudokselle. [3; 5]

Gleason-luokituksen Gleason-luku saadaan summaamalla primaarinen ja sekundaarinen gradus. Gleason-luku on erilaistumattomuusasteen indeksi. Määritelmän mukaisesti Gleason-luku saa kokonaislukuarvoja väliltä 2-10. [3; 5]

Syöpäkudoksen, joka sisältää yhdentyyppistä erilaistumattomuusastetta, Gleason-luku saadaan kertomalla gradus kahdella. Jos syöpäkudoksen pahanlaatuisuusasteita on enemmän kuin kaksi, saadaan Gleason-luku tarkastelemalla kahta suurinta gradusta ja jättämällä jäljelle jääneet gradukset huomiotta. [3; 5]

Karkea Gleason-luokituksen jaottelu on seuraavanlainen: Gleason-luvun ≤ 6 syöpäkudos on erilaistunut, Gleason-luvun 7 keskimääräisesti erilaistumaton sekä Gleason-luvun ≥ 8 erilaistumaton syöpäkudos. Gleason-luvun ≤ 6 syöpäkudoksia löydetään transuretraalisten höyläysleikkausten yhteydessä eturauhasen transitionaaliselta parenkymaaliselta vyöhykkeeltä sekä neulabiopsioiden yhteydessä. [3; 5; 30; 38]

1.6 TNM-luokitus

Eturauhassyövän levinneisyyden (stagen) arvioimisessa käytetään kliinistä TNM-luokitusta. Lisäksi käytössä on patologinen luokitus. Sekä kliininen TNM-luokitus että patologinen luokitus muodostavat keskeisen prognostisen mittarin. Kliiniseen TNM-luokitukseen perustuva luokittaminen on monivaiheinen, moniammatillinen prosessi. [3; 5]

Levinneisyyden arvioimisessa käytetään T-, N- ja M-luokkia. Levinneisyyttä arvioidaan kliinisen TNM-luokituksen perusteella seuraavasti: T-luokka kuvaa tuumorin kokoa ja sijaintia, N-luokka kuvaa tuumorin imusolmukeinvaasioita ja M-luokka kuvaa tuumorinmetastaaseja. Taulukoissa 1, 2 ja 3 esitetään kliinisen TNM-luokituksen T-, N- ja M-luokkia vastaavat kriteerit. [3; 5; 34]

Taulukko 1. Kliinisen TNM-luokituksen T-luokan kriteerit [3].

| | Primaarikasvain (T-luokka) |
|-----|---|
| TX | Kasvainta ei voida määrittää |
| T0 | Ei viitettä primaarikasvaimesta |
| T1 | Ei palpoitavissa, ei inspektoitavissa |
| T1a | Histologinen sattumalöydös, ≤ 5 % kasvainta |
| T1b | Histologinen sattumalöydös, > 5 % kasvainta |
| T1c | Kasvain todettu neulabiopsiassa |
| T2 | Kasvain rajoittunut eturauhaseen |
| T2a | Kasvain rajoittunut yhteen lohkoon, ≤ 50 % lohkosta |
| T2b | Kasvain rajoittunut yhteen lohkoon, > 50 % lohkosta |
| T2c | Kasvain rajoittunut molempiin lohkoihin |
| T3 | Kasvain tunkeutuu eturauhaskapselin läpi |
| T3a | Toispuoleinen tai molemminpuoleinen invaasio |
| T3b | Kasvain tunkeutuu rakkularauhaseen |
| T4 | Kasvain tunkeutuu lähielimiin |

T1a-luokka on usein transuretraalisen höyläysleikkauksen (TURP) sattumalöydös, T1b-luokka on neulabiopsian sattumalöydös ja T1c-luokka on neulabiopsian löydös korkean seerumin PSA:n yhteydessä. T2-luokka tarkoittaa eturauhaseen rajoittunutta tuumoria. T3-luokka tarkoittaa eturauhasen epätarkkarajaisen sidekuduskapselin läpäisyyttä tuumoria tai rakkularauhasiin invasoitunutta tuumoria. T4-luokka tarkoittaa lähielimiin rakkularauhasten ulkopuolelle invasoitunutta tuumoria. [3]

Imusolmukkeisiin invasoimattomat ja invasoituneet tuumorit merkitään N0- ja N1-luokilla (N2- sekä N3-luokkia käytetään ilmaisemaan invasoitujen imusolmukkeiden lukumäärää) sekä imusolmukkeiden ulkopuolelle metastasoimattomat ja metastasoineet M0- ja M1-luokilla vastaavasti. Merkinnöissä X-kirjain (TX, NX tai MX) tarkoittaa luokituksen arvioimiseen soveltumaton näytettä. [3]

Taulukko 2. Kliinisen TNM-luokituksen N-luokan kriteerit [3].

| | Alueelliset imusolmukkeet (N-luokka) |
|----|---|
| NX | Alueellisia imusolmukkeita ei voida määrittää |
| N0 | Ei alueellisia imusolmuke-etäpesäkkeitä |
| N1 | Alueellisia imusolmuke-etäpesäkkeitä |

T1a-luokan tuumorit eivät usein progressoi yli 10 vuoden seurannassa. Iäkkäät T1a-luokan potilaat on perusteltua asettaa aktiiviseen seurantaan, ja nuoret T1a-luokan potilaat ohjataan neulabiopsiaan. [3; 5]

Neulabiopsianäyte otetaan eturauhasen perifeeraaliselta parenkymaaliselta vyöhykkeeltä ultraääniohjauksessa transrektaalisesti. Tarkoitus on poissulkea eturauhassyövän progressio. Ongelmana on, että neulabiopsianäytteen laatu vaikuttaa diagnostiikkaan. Syöpäkudosta ei välttämättä saada neulabiopsia näytteeseen, mikä heikentää testin herkkyyttä. On muistettava, että T1b- ja T1c-luokkien tuumoreihin liittyy merkittävä 20 %:n kuolleisuus. [3; 5]

Taulukko 3. Kliinisen TNM-luokituksen M-luokan kriteerit [3].

| | Etäpesäkkeet (M-luokka) |
|-----|---|
| MX | Etäpesäkkeitä ei voida määrittää |
| M0 | Ei etäpesäkkeitä |
| M1 | Etäpesäkkeitä |
| M1a | Etäpesäkkeitä muissa kuin alueellisissa imusolmukkeissa |
| M1b | Etäpesäkkeitä luissa |
| M1c | Etäpesäkkeitä muissa elimissä |

Levinneisyyden arvioinnissa kliinisen TNM-luokituksen rinnalla tehdään patologisten luokitus. Patologisessa luokituksessa eturauhasesta, imusolmukkeista sekä eturauhasen lähielimistä kuten rakkularauhasista saaduista kudoksenäytteistä määritetään erilaistumattomuus- ja levinneisyysaste. Patologinen luokitus perustuu patologin lausuntoon T-luokasta ja mahdollisesti N- ja M-luokista. Patologista luokitusta täydentää Gleason-luku, marginaalistasus sekä läpimitat.

Patologisen luokituksen lausunto riippuu kudoksenäytteistä. Patologilla on käytävissään potilasasiakirjat, kliinisen TNM-luokituksen tulokset sekä histopatologiset kudoksenäytteet.

1.7 Prostataspesifinen antigeeni

Seerumista mitattava prostataspesifinen antigeeni (PSA) on kliinisen laboratoridiagnostiikan kultainen standardi. PSA on rauhasepiteelin sekreetiotuote, joka eritetään ejakulaation yhteydessä siemennesteeseen. PSA on seriiniproteaasi, jolla on keskeinen rooli ejakulaatin, erityisesti rakkularauhasista vapautuvan viskoosin koagulumin, juoksettumisessa. PSA on KLK3-geenin geeniekspressiotuote. KLK3-geeni sijaitsee kromosomissa 19. [5]

PSA on kudosspesifinen; ei syöpäspesifinen. Seerumin PSA:n on osoitettu kohoavan sekä eturauhasen hyvänlaatuisessa liikakasvussa että eturauhassyövässä. Lisäksi on osoitettu, että eturauhastulehdus (prostatitiitti) ja ejakulaatio saattavat kohottaa seerumin PSA:n pitoisuutta. Kliininen TPR-tutkimus ei kohota PSA:ta. [3; 4; 27]

Seerumin PSA:n ikäkohtaisina viitearvoina pidetään seuraavia rajoja: < 2.5 ng/ml 40-49 -vuotiaille, < 3.5 ng/ml 50-59 -vuotiaalle, < 4.5 ng/ml 60-69 -vuotiaille sekä < 6.5 ng/ml 70-79 -vuotiaille miehille. Seeruminäytteen ikäkohtaiset viitearvot on koottu taulukkoon 4. [3]

Taulukko 4. PSA:n ikäkohtaiset viitearvot [3].

| Ikä(v) | Seerumin PSA (ng/ml) |
|--------|----------------------|
| 40-49 | < 2.5 |
| 50-59 | < 3.5 |
| 60-69 | < 4.5 |
| 70-79 | < 6.5 |

Seerumin PSA:n pitoisuuden rinnalla on käytettävissä herkempiä ja tarkempia menetelmiä. PSA-tiheys kuvaa seerumin PSA:n pitoisuuden suhdetta eturauhasen tilavuuteen. PSA-tiheyttä käytetään erottamaan eturauhasen hyvänlaatuinen liikakasvu eturauhassyövästä. PSA-tiheys säilyy vakiona benignissa prostatan hyperplasiassa (BPH). [3; 4; 5]

PSA:n muutosnopeus sekä vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n pitoisuuksien suhde ovat herkkiä ja tarkkoja menetelmiä. PSA:n pitoisuuden muutosnopeus on korkea eturauhassyövässä. Kokonais-PSA:n ollessa 4-10 ng/ml ja PSA:n muutosnopeuden ollessa > 0.75 ng/ml/v on eturauhassyövän riski korkea. PSA:n muutosnopeuden määrittämisessä tulisi olla käytössä vähintään kolme mittauskertaa vuoden ajalta. [3; 4; 16]

PSA:n muutosnopeutta käytetään arvioitaessa post-operatiivista ennustetta. Jos seerumin PSA:n pitoisuuden kahdentumisaika (t_2 vrt. puoliintumisaika $t_{1/2}$) on alle 2 vuotta, on eturauhassyövän riski 5 vuoden kuluttua prostatektomiasta korkea. [3; 4; 16]

Vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n pitoisuuksien suhde on matala eturauhassyövässä ja korkea benignissa protatan hyperplasiassa. Jos kokonais-PSA:n pitoisuus on 4-10 ng/ml sekä vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n suhde on > 25 %:a, on eturauhassyövän riski suuruusluokkaa 8 %:a. Jos vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n suhde on 10-20 %:a, on eturauhassyövän riski suuruusluokkaa 20-28 %:a. [3; 4; 16]

Taulukko 5. Seerumin PSA:n pitoisuus ja eturauhassyövän todennäköisyys [3].

| Seerumin PSA (ng/ml) | Eturauhassyövän todennäköisyys |
|----------------------|--------------------------------|
| 0-2 | 0.01 |
| 2-4 | 0.15 |
| 4-10 | 0.25 |
| > 10 | > 0.50 |

Tutkimuksissa on havaittu, että 20-40 %:lla eturauhassyöpäpotilaista seerumin PSA:n pitoisuus on < 4 ng/ml [5]. PSA:n pitoisuuden kohoaminen radikaalisen prostatektomian, radioterapian tai kemoterapian jälkitilana on usein indikaatio relapsoituneesta eturauhassyövästä, metastaaseista tai kastraatioresistentistä eturauhassyövästä. [3]

Taulukossa 5 esitetään PSA:n pitoisuuden ja eturauhassyövän todennäköisyyden yhteys. Taulukossa 6 vastaavasti vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n pitoisuuksien suhteen ja eturauhassyövän todennäköisyyden yhteys.

Taulukko 6. Vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n pitoisuuksien suhde ja eturauhassyövän todennäköisyys [3].

| Vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n pitoisuuksien suhde, kun kokonais-PSA on 4-10 ng/ml | Eturauhassyövän todennäköisyys |
|--|--------------------------------|
| 0-0.10 | 0.58 |
| 0.10-0.15 | 0.28 |
| 0.15-0.20 | 0.20 |
| 0.20-0.25 | 0.16 |
| > 0.25 | 0.08 |

1.8 Eturauhassyövän diagnostiikka ja hoito

Prostatan adenokarsinooma ekpressoituu 70 %:ssa tapauksista eturauhasen perifeeraalisella parenkymaalaisella vyöhykkeellä. Neoplastiset solut infiltroituvat fibromuskulaariseen stroomaan, läpäisevät epätarkkarajaisen sidekuduskapselin ja tunkeutuvat periprostataalisiin kudoksiin kuten rakkularauhasiin (T3-luokka) tai virtarakon kaulaan, uloimpaan sulkijalihakseen, peräsuoleen tai lantiopohjan lihaksiin (T4-luokka). [3; 5]

Neoplastiset solut leviävät metastaaseina lymfogeenisesti imunestekierron välityksellä para-aortan sekä lantion imusolmukkeisiin. Karsinooman neoplastiset solut suosivat lymfogeenista metastasointia. Imunestekierto laskee laskimoverenkiertoon, jonka välityksellä neoplastiset solut leviävät metastaaseina hematogeenisesti aksiaaliluustoon sekä sisäelimiin. [3; 5]

Aksiaaliluuston metastaasipaikkoja ovat seuraavat: lannenikamat, reisiluiden proksimaaliset päät, lantion luut, rintanikamat sekä kylkiluut, joista selkärangan lannenikamat ovat tyypillisimmät. Tämä on todennäköisesti seurausta laskimoverenkierrosta, joka laskee eturauhasesta selkärangan anterioriseen Batson-laskimopleksukseen. [3; 5]

Tyypillistä kliinistä kuvaa ei ole olemassa, vaan ensioireet voivat olla epämääräisiä. Varhaisvaiheen eturauhassyöpä on usein oireeton tai vähäoireinen. Korkea potilaan ikä ja epämääräiset virtsaamishäiriöt herättävät epäilyn eturauhasen kudostuoksesta. Epäilyä tukevat korkea seerumin PSA:n pitoisuus tai TPR-löydös. [3; 5]

Koska prostatan adenokarsinooma ilmenee perifeeraalisella parenkymaalisella vyöhykkeellä, ei eturauhassyöpä aiheuta virtsatieoireita; toisaalta eturauhasen hyvälaatuinen liikakasvu ilmenee transiotionaalaisella parenkymaalisella vyöhykkeellä, ja liikakasvusta seuraa heikentynyt virtsasuihku, virtsaretentio ja ylivuotoinkontinenssi, jotka ajan saatossa hoitamattomana saattavat kulminoitua virtsaummeksi. [3; 4]

Eturauhassyöpä saattaa oireilla dysuriana tai hematuriana. Aksiaaliluustoperäinen kipu tai patologiset fraktuurat ovat harvinaisia. Pitkälle edennyt metastaattinen eturauhassyöpä on fataali, ja diagnoosin voidaan todeta olevan myöhässä. [3; 4]

TPR-menetelmällä havaitaan perifeeraalisen parenkymaalisen vyöhykkeen tuumorit. TPR on menetelmänä epäherkkä ja epätarkka. Kuvantamismodaliteetit kuten ultraääni (US), tietokonetomografia (CT), magneettiresonanssikuvantaminen (MRI) sekä positroniemissiotomografia (PET) eivät sovellu eturauhassyövän poissulkemiseen, koska kuvantamismodaliteettien herkkyys ei ole riittävän korkea. Magneettiresonanssikuvantamisen kehitys eturauhassyövän diagnostiikassa on kuitenkin edennyt merkittävästi ja lupaavia tuloksia saadaan lähitulevaisuudessa. [3]

Eturauhassyövän diagnostiikka etenee systemaattisesti. Potilaalta määritetään seerumin PSA. Diagnostiikan kultainen standardi on seerumin PSA:n lisäksi ultraääniohjauksessa transrektaalisesti otettava 10-12:sta neulabiopsianäytteestä koostuva leikesarja. [3; 11; 15]

Eturauhassyöpää hoidetaan aktiivisen seurannan, radioterapian, radikaalisen prostatektomian sekä kemoterapian menetelmin. Hoitoratkaisuun vaikuttavat kliininen TNM-luokitus, Gleason-luokitus, PSA:n pitoisuus, potilaan ikä, liittännäissairaudet sekä yleiskunto. Pienen ja keskisuuren riskin potilaiden ennuste on riippumaton valitusta hoitomuodosta, mutta suuren riskin potilaat keskimäärin hyötyvät radikaalisesta leikkaushoidosta. [3; 13]

Sädehoidon menetelmistä käytetyimmät ovat 70-72 Gy:n radioterapia sekä 140 Gy:n brakyterapia. Radioterapiassa ympäröivien kudosten absorboitunutta annosta pienennetään rajaamalla säteilytettävä kohde tai kohdistamalla säteily eturauhaseen kirurgisesti esiasettettujen kultajyvästen avulla. Brakyterapiassa eturauhaseen asete-

taan paikallisesti radioisotooppia, I^{125} , sisältäviä jyviä. Sädehoitoa varten luodaan sädehoitosuunnitelma, jossa säteilyannosta seurataan annos-tilavuus histogrammin avulla. [3; 14; 29]

Eturauhassyövän hoidon kultainen standardi on radikaalinen prostatektomia, jossa poistetaan eturauhassyöpäkudos normaalin eturauhaskudoksen kudosemarginaalilla. Kymmenen vuoden kuluessa eturauhassyöpä relapsoi 23 %:lla. Kymmenen vuoden elossaoloaika vaihtelee 88-95 %:a. Prostatektomian jälkeinen prognoosi perustuu TNM-luokitukseen, Gleason-luokitukseen, PSA:n pitoisuuteen ja PSA:n muutosnopeuteen. [3; 31]

Invasiivisen ja metastasoineen eturauhassyövän hoitomuodoksi valitaan antiandrogeni, LHRH-agonisti tai -antagonisti tai yhdistelmähoito. Antiandrogeni farmakologisena kastraatina on osoittautunut yhtä tehokkaaksi kuin kirurginen kastratio (orkiektomia) metastasoimattomassa eturauhassyövässä. LHRH-agonisti farmakologisena kastraatina paradoksaalisesti inhiboi, negatiivisen feedback-ilmion avulla, gonadotropiinien kokonaispitoisuutta. LHRH-antagonisti inhiboi gonadotropiinien kokonaispitoisuutta suorasti. Maksimaalisesta androgeenisalpauksesta ei ole havaittavaa lisähyötyä verrattuna kirurgiseen kastratioon. [3; 17]

Hoidon tavoitteena on laskea seerumin PSA:n pitoisuus < 1 ng/ml. Alhainen seerumin PSA:n pitoisuus ja latenssi PSA:n minimiarvon (nadir) saavuttamiseksi ovat yhteydessä PSA-relapsoimattomuuteen. Seerumin PSA:n pitoisuuden kasvu > 3 ng/ml on usein indikaatio relapsoituneesta eturauhassyövästä, metastaaseista tai CRPC:sta. Potilasta seurataan määrääjain. Alussa seurataan 3-6 kuukauden välein, edelleen 6-12 kuukauden välein riippumatta onko pyritty kuratiiviseen vai palliativiseen hoitoon. [3]

Erilaistuneen eturauhassyövän 10 vuoden elossaoloennuste on 90-94 %:a riippumatta käytetystä hoitomuodosta. Jos eturauhassyöpä on huonosti erilaistunut, saavutetaan paras lopputulos radikaalisella prostatektomialla yhdessä adjuvanttisädehoidon kanssa. Invasiivisen, metastasoineen eturauhassyövän elinaikaennuste on keskimäärin 2-3 vuotta ja 5 vuoden elossaoloennuste on 33 %:a. Kastratioresistentin eturauhassyövän elinaikaennuste on keskimäärin 1.5 vuotta ja hoito on palliativista. [3]

2. MENETELMÄT

Menetelmät-kappaleessa pohjustamme opinnäytetyön kannalta keskeisessä asemassa olevan hitoscore-menetelmän taustoja. Tarkoituksena on rakentaa ATAD2-hitoscoreen perustuva luokitus, jonka sopivuutta eturauhassyöpäennusteen arvioimisessa tulemme arvioimaan.

2.1 Tutkimusaineisto

Lääketieteen syventävien opintojen opinnäytetyöni ohjaaja professori Tapio Visakorpi luovutti tutkimusta varten 2 Excel-tiedostoa (.xls). Toisessa Excel-tiedostossa oli data radikaalisen prostatektomian hormoninaiiveista näytteistä; toisessa data kastreatioresistenteistä näytteistä.

Hormoninaiiveja näytteitä oli 326 havaintoyksikköä; kastreatioresistenteja näytteitä 189 havaintoyksikköä. Yhteensä näytteitä oli 515 havaintoyksikköä. Excel-tiedostojen lisäksi tutkimukseen kuului immunohistokemiallisesti värjättyjen kudoksetäiden kudostmikrokatat (.jpeg) sekä Word- (.doc)/Excel-formaatissa kudostmikrokatkuvia vastaavat koodittavat kartat.

Kudostmikrokatkta (TMA) on histologinen menetelmä, jossa objektilasille kiinnitetään kudostleikkeitä pysty- ja vaakasuunnassa matriisirakenteeksi. Ultraääniohjauksessa tehdyssä transrektaalibiopsiassa saaduista kudostnäytteistä valetaan Tissue-Tek:in avulla kudostblokkeja.

Valetuista kudostblokeista leikataan kryomikrotomilla 5-15 μm kudostleikkeitä objektilasille pysty- ja vaakasuunnassa. Kudostleikkeet kiinnitetään adhesiivin avulla, ja objektilasi kudostleikkeineen peitetään peitinlasilla. Kudostmikrokatktaa tarkastellaan mikroskoopilla tai digitoidussa tapauksessa virtuaalimikroskoopilla.

Opinnäytetyössä ei paneuduta kudostnäytteiden valmistusmenetelmiin, mutta yleisesti permanentteja kudostnäytteitä saadaan, kun kudostnäytteet fiksoidaan formaliinissa otannan jälkeen, kovetetaan parafiinissa ja värjätään histokemiallisesti tai immunohistokemiallisesti HE-standardivärjäyksellä tai IHC-värjäyksellä vastaavasti. Valmistusmenetelmä on työläs. Välitöntä patologin lausuntoa varten kudostnäytteet voidaan käsitellä nestetypellä ja värjätään metyleeninsinisellä tumien erottamiseksi.

Opinnäytetyössä kudostnäytteet olivat kasattu kudostmikrokatktoiksi. Työn kannalta oli keskeistä, että sytoplasman ja tuman luokittaminen perustui patologin lausuntoon. Mitä voimakkaampi oli näytteen immunohistokemiallisen värjäytymisen

intensiteetti, sitä korkeammalla luokalla kyseinen näyte koodattiin. Patologi graderasi luokat kokonaisluvulla 0-3 siten, että luokka 0 koodasi negatiivista, ja luokat 1-3 koodasivat positiivisia eturauhassyöpänäytteitä. Toisaalta mitä runsaampaa oli näytteen immunohistokemiallinen värjäytyminen, sitä korkeammalla osuudella kyseinen näyte koodattiin. Sytoplasman ja tuman osuudet patologi graderasi prosentuaalisesti 0-100 %:a.

Koodittavista kartoista luettiin kudismikrokarttakuvan näytettä vastaava PAD-numero. PAD-numeron avulla täydennettiin patologin lausuntoon perustuen sytoplasman ja tuman sekä luokat että osuudet näytettä vastaavan PAD-numeron kohdalle Excel-tiedostoihin.

Kudismikrokartassa sytoplasman luokka ja osuus ilmoitettiin systemaattisesti ennen tuman luokkaa ja osuutta. Tuman luokka koodattiin lisäksi N-kirjaimella. Kudismikrokarttakuvia ja koodaavia karttoja tarkasteltaessa havaittiin, että eräät kudismikrokarttojen kudosleikkeet eivät patologin lausunnon perusteella sisältäneet eturauhassyöpää. Patologi esitti kyseiset kudosleikkeet termillä eiCA (ei adenokarsinoomaa). Kyseiset näytteet rajattiin opinnäytetyön ulkopuolelle.

Lisäksi havaittiin, että tiettyä PAD-numeroa vastaavia lausuntoja saattoi olla kahdesta eri kudosblokista. Päädyimme yksimieliseen ratkaisuun siitä, että rajataan toinen kudosleikkeistä satunnaisesti satunnaislukugeneraattorin avulla opinnäytetyön ulkopuolelle.

Tällaisissa tapauksissa sytoplasman ja tuman sekä luokat että osuudet olivat yhtäsuuret tai poikkesivat lievästi. Mikäli tiettyä PAD-numeroa vastaavista kudosleikkeistä ainoastaan toisella oli patologin lausunto, rajattiin opinnäytetyön ulkopuolelle kudosleike, jota patologi ei ollut lausunut.

Opinnäytetyössä käytettävä histoscore-menetelmä perustui immunohistokemialliseen värjäykseen. Keskeistä oli patologin lausunto kudosnäytteiden immunohistokemiallisesta värjäytymisestä, tarkemmin ottaen kudosnäytteiden kudosten solujen sytoplasman ja tuman immunohistokemiallisesta värjäytymisestä. Immunohistokemiallinen värjäys perustui sekä sytoplasman että tuman ATAD2-proteiinin immunohistokemialliseen värjäytymiseen.

Immunohistokemiallinen värjäytyminen sytoplasmassa sekä tumassa korreloi ATAD2-proteiinin ekspressioon solulimassa sekä tumalimassa vastaavasti. Molekyylibiologian dogman avulla deoksiribonukleiinihapon (DNA) transkriptio johtaa ribonukleiinihapon synteesiin (RNA). RNA:n translaatio johtaa polypeptidin laskostuessa rakenteelliseen tai toiminnalliseen proteiiniin.

Proteiinin rakenne määrää proteiinin toiminnan. Tietyillä proteiineilla on rakenteellisia; tietyillä proteiineilla on toiminnallisia tehtäviä soluissa. Molekyylibiologian dogmaa soveltamalla immunohistokemiallinen värjäytyminen kytkeytyi ATAD2-geenin geeniekspressioon. Opinnäytetyössä olemme kiinnostuneita ATAD2-geeniekspression

ja potilaan eturauhassyöpäennusteen välisestä yhteydestä.

Histoscore-menetelmää varten luotiin Excel-tiedostoihin seuraavat muuttujat: sytoplasman histoscore ja tuman histoscore. Histoscore määriteltiin intensiteetin ja prosentuaalisen frekvenssin tulona.

Histoscoren määritelmää soveltamalla laskimme sytoplasman histoscoren luokan eli intensiteetin ja osuuden eli prosentuaalisen frekvenssin tulona; tuman histoscoren luokan ja osuuden vastaavasti. Molemmat sekä sytoplasman histoscore että tuman histoscore saivat kokonaislukuarvoja väliltä 0-300:

sytoplasman histoscore = sytoplasman luokka x sytoplasman osuus

tuman histoscore = tuman luokka x tuman osuus

Sytoplasman ja tuman histoscore laskettiin vastaavien luokkien ja osuuksien tulona. Kuvauksen voitiin ajatella olevan epälineaarinen. Jakaumat laskettiin vastaavien luokkien ja osuuksien jakaumien tulona, kun sekä sytoplasman että tuman luokat ja osuudet mielettiin tilastollisesti riippumattomiksi.

Seuraavan kappaleen tilastollisia menetelmiä varten yhteenvetona todettakoon, että hormoninaiivien ja kastroatioresistenttien näytteiden tiedostot sisälsivät seuraavat muuttujat: sytoplasman luokka, sytoplasman osuus, sytoplasman histoscore, tuman luokka, tuman osuus ja tuman histoscore. Lisäksi jatkossa tarkastelun keskipisteessä oleva, hormoninaiivien näytteiden data sisälsi seuraavat muuttujat: PSA, Ki67; ensilöydöksen päivä, kuukausi ja vuosi; diagnoosi-ikä, progressiostatus; progression päivä, kuukausi ja vuosi; progressio-vapaat kuukaudet, primaarinen Gleason-gradus, sekundaarinen Gleason-gradus, laskettu Gleason-luku sekä patologinen pT-luokka.

2.2 Tilastolliset menetelmät

Lääketieteellisessä tilastollisessa tutkimuksessa kuten tieteellisessä tilastollisessa tutkimuksessa yleensä pyritään otoksen perusteella tekemään johtopäätöksiä populaatiosta. Erityisesti opinnäytetyön kannalta populaatiosuureiden estimointi tulee perustumaan populaatiojakauman parametreista tehtyjen hypoteesien testaamiseen. Häntätodennäköisyys, jota P-arvo kuvaa, on keskeisessä asemassa. P-arvoa ja P-arvon käyttöä sekä erityisesti P-arvoon liittyvää väärinkäyttöä tieteellisessä tutkimuksessa on runsaasti kritisoitu.

P-arvo on testisuureen häntätodennäköisyys, jolla saadaan vähintään havaitun suuruinen testisuure nollahypoteesin H_0 :n ollessa voimassa. P-arvoa verrataan yleisesti hyväksytyyn riskitasoon α . Riskitaso α kiinnitetään tutkimuksen suunnittelun yhteydessä, eikä ennalta määrättyä riskitasoa ole olemassa. Usein käytetään riskitasoja: 0.01, 0.05 sekä 0.10. On huomattava, että pakotetta tälle ei ole.

Riskitaso α kuvaa riskiä hylättäessä H_0 . Mitä suurempi on riskitaso, sitä suurempi on tyypin 1-virhe. Tyypin 1 -virhe kuvaa riskiä, joka liittyy H_0 :n hylkäämiseen, kun H_0 on totta. Puhutaan väärästä positiivisesta testituloksesta. Mitä suurempi on riskitaso α , sitä pienempi on tyypin 2 -virhe. Tyypin 2 -virhe kuvaa riskiä, joka liittyy H_0 :n hyväksymiseen, kun H_0 on väärä. Tällöin puhutaan väärästä negatiivisesta testituloksesta. Mitä pienempi on tyypin 2 -virhe, sitä suurempi on tilastollinen voima.

Riskitasona eli α -kriteerinä käytettiin opinnäytetyössä yleisesti hyväksyttyä riskitason arvoa 0.05. Kun testisuureen häntätodennäköisyys eli P-arvo, oli pienempi kuin 0.05, nollahypoteesi H_0 hylättiin ja ryhmien välisen havaitun eron sanottiin olevan tilastollisesti merkittävä. Saadun otoksen perusteella oli erittäin epätodennäköistä, että H_0 olisi totta, jolloin H_0 hylättiin olettaen H_0 vääräksi. Edelleen pääteltiin, että tutkimushypoteesi tai vaihtoehtoinen hypoteesi H_1 oli totta. H_0 :n hylkääminen ei vahvista H_1 :n olemassa oloa. Puhutaan tilastollisesta paradoksista. Nollahypoteesia H_0 :a ei hylätty, jos P-arvo oli suurempi tai yhtäsuuri kuin 0.05, koska tyypin 1 -virheen riski oli liian korkea.

Opinnäytetyössä tilastollisena ohjelmana käytettiin SPSS:ia (Statistical Package for the Social Sciences). Tarkastelimme dataa, erityisesti sytoplasman histoscoren ja tuman histoscoren jakaumia deskriptiivisinä esityksinä. Osoittautui, että sekä sytoplasman histoscore että tuman histoscore olivat vinojakautuneita. Negatiivisten näytteiden frekvenssi oli dominoiva sekä sytoplasman histoscorea että tuman histoscorea tarkasteltaessa.

Ohjaajani suositteli sytoplasman histoscoren ja tuman histoscoren osittamista maksimissaan neljään kategoriseen luokkaan. Luokkien rajausta toteutettiin siten, että rajanvedon tulkinta oli perusteltua sekä kliinisestä näkökulmasta ja että näytteet jakautuivat mahdollisimman tasaisesti kategoristen luokkien suhteen. Yksinkertaisin menetelmä olisi ollut luokkien rajaaminen kvartiileihin tai tertiileihin. Tämä olisi ollut kliinisesti perusteeton, emmekä olisi saaneet negatiivisia näytteitä omaksi luokakseen.

Rajasin sytoplasman histoscoren kolmeen luokkaan seuraavasti: 0, 1-50 ja 51-300. Valitsin kyseiset luokkien rajat siten että luokka 0 sisälsi negatiiviset, luokka 1-50 matalan histoscoren luokan ja/tai matalan histoscoren osuuden ja luokka 51-300 korkean histoscoren luokan ja korkean histoscoren osuuden näytteet.

Rajasin tuman histoscoren vastaavasti kolmeen luokkaan: 0, 1-5 ja 6-300. Kyseiset luokkien rajat valitsin siten että luokka 0 sisälsi negatiiviset, luokka 1-5 matalan histoscoren luokan ja/tai matalan histoscoren osuuden ja luokka 6-300 korkean histoscoren luokan ja korkean histoscoren osuuden näytteet.

Loin kolmiluokkaisen, kategorisen muuttujan Gleason-luvulle seuraavasti: 2-6, 7 ja 8-10. Kategorisen Gleason-luvun luokkien rajauksen perustin kirjallisuuteen [3].

Kolmiluokkainen, kategorinen Gleason-luku toimi opinnäytetyössä eturauhassyöpäkudoksen erilaistumattomuusasteen ja eturauhassyöpäennusteen referenssinä. Luokka ≤ 6 sisälsi matalan erilaistumattomuusasteen sekä hyvän ennusteen ja luokka ≥ 8 korkean erilaistumattomuusasteen ja huonon ennusteen näytteet. Luokka 7 asettui luokkien ≤ 6 ja ≥ 8 välille sekä eturauhassyöpäkudoksen erilaistumattomuusasteen että ennusteen suhteen.

pT-luokkaa ei tarvinnut erikseen luokitella, koska kyseessä oli kaksiluokkainen kategorinen muuttuja seuraavilla luokilla: pT2 ja pT3. pT1- ja pT4-luokat eivät olleet edustettuina.

Tarkastelimme kategoristen muuttujien jakaumia frekvenssitaulukoiden avulla. Normaalijakautuneille, jatkuville muuttujille käytimme keskilukuna keskiarvoa ja hajontalukuna keskihajontaa; vinojakautuneille, jatkuville muuttujille mediaania ja kvartiiliväliä vastaavasti. Jatkuvien muuttujien jakaumat tarkastimme deskriptiivisinä esityksinä. Graafisen tarkastelun ohella testasimme muuttujien normaaliutta Kolmogorov-Smirnov tai Shapiro-Wilk -testeillä.

Määritimme kategorisen sytoplasman histoscoren luokkakohtaiset frekvenssit ja suhteelliset frekvenssit sekä hormoninaiiveille että kastraatioresistenteille näytteille. Taulukoimme tulokset. Määritimme vastaavasti kategorisen tuman histoscoren luokkakohtaiset frekvenssit ja suhteelliset frekvenssit. Kirjasimme tulokset taulukkoon. Testasimme hormoninaiivien ja kastraatioresistenttien näytteiden frekvenssijakaumia χ^2 -testillä, kun näytteet olivat ositettu kategorisen sytoplasman histoscoren sekä kategorisen tuman histoscoren suhteen.

Seuraavaksi laskimme sytoplasman histoscoren sekä tuman histoscoren välisen Spearman-korrelaatiokertoimen sekä hormoninaiiveille että kastraatioresistenteille näytteille. Spearman-korrelaatiokertoimen valitsimme, koska kyseessä olivat vinojakautuneet, jatkuvat muuttujat.

Tarkastelimme sytoplasman luokan ja tuman histoscoren sekä sytoplasman osuuden ja tuman histoscoren välistä partial-korrelaatiota, jossa kontrolloimme tarkastelemattoman muuttujan suhteen. Tarkastelun toteutimme erikseen sekä hormoninaiiveille että kastraatioresistenteille näytteille.

Määritimme kategorisen Gleason-luvun sekä kategorisen pT-luokan frekvenssit ja suhteelliset frekvenssit. Taulukoimme laskemamme tulokset. Laskimme kategorisen Gleason-luvun frekvenssit ja suhteelliset frekvenssit ositettujen, kategoristen sytoplasman histoscoren sekä tuman histoscoren suhteen. Vastaavasti määritimme kategorisen pT-luokan frekvenssit ja suhteelliset frekvenssit kyseisten kategoristen muuttujien suhteen.

Testasimme kategorisen Gleason-luvun luokkien ja ositettujen, kategoristen sytoplasman histoscoren sekä tuman histoscoren luokkien välistä riippuvuutta Linear-by-linear -testillä. Laskimme Gleason-luvun sekä sytoplasman histoscoren että tu-

man histoscoren väliset Spearman-korrelaatiokertoimet. Testasimme kategorisen pT-luokan välistä riippuvuutta vastaavasti Linear-by-linear -testillä.

Ositimme Ki67:n kolmiluokkaiseksi seuraavasti: 0-5, 6-15 sekä 16-100. Luokkien rajaus perustui kirjallisuuteen, erityisesti Käypä hoito -suositukseen [3], siten että luokka 0-5 sisälsi negatiiviset sekä normaalin Ki67-ekspression näytteet, 6-15 normaalia korkeamman ja 16-100 korkean Ki67-ekspression näytteet vastaavasti. [5]

Tarkastelimme Ki67:n mediaaneja ja kvartiilivälejä kategoristen sytoplasman histoscoren ja tuman histoscoren suhteen. Testasimme mediaanien välistä eroa tarkasteltavien luokkien suhteen ei-parametrisella Kruskal-Wallis -testillä. Seuraavaksi laskimme Ki67:n sekä sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren väliset Spearman-korrelaatiokertoimet.

Luokitimme PSA:n kolmeen luokkaan seuraavasti: 0-3.9; 4.0-10.0 sekä ≥ 10.1 . Luokkien rajanveto perustui kirjallisuuteen. Luokka 0-3.9 sisälsi negatiiviset, normaalin PSA-ekspression sekä normaalia PSA-ekspressiota korkeammat näytteet, luokka 4.0-10.0 korkean ja luokka ≥ 10.1 erittäin korkean PSA-ekspression näytteet vastaavasti. [3; 5]

Tarkastelimme PSA:n sekä kategoristen sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren välistä riippuvuutta ei-parametrisella Kruskal-Wallis -testillä. Seuraavaksi laskimme PSA:n sekä sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren väliset Spearman-korrelaatiokertoimet vastaavasti.

Tarkastelimme sekoittavana tekijänä luokkien diagnoosi-ikä. Diagnoosi-ian ja kategoristen sytoplasman histoscoren sekä tuman histoscoren välistä riippuvuutta testasimme parametrisella, yksisuuntaisella ANOVA-testillä. Testin positiivinen löydös vaati jatkotoimenpiteitä. Valitsimme post hoc -testiksi Tuckey HSD -testin. Laskimme lisäksi diagnoosi-ian sekä sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren väliset Spearman-korrelaatiokertoimet.

Opinnäytetyössä PSA:n pitoisuuden kohoamista käytettiin eturauhassyövän relapsoitumisen, metastaasien sekä kastroatioresistentin eturauhassyövän indikaattorina, vaikka esimerkiksi PSA:n muutosnopeutta pidetään sekä herkempänä että tarkempänä. PSA:n pitoisuuden kohoaminen kytkettiin eturauhassyövän progressioon. Eturauhassyövän progressio kytkettiin huonoon ennusteeseen.

Hormoninaiiveille näytteille oli ilmoitettu ensilöydöksen päivä, kuukausi ja vuosi; lisäksi oli määritetty progressiostatus; progression päivä, kuukausi ja vuosi sekä progressiovapaat kuukaudet. Progressiovapaat kuukaudet saatiin laskemalla progressio- ja ensilöydöksen aikapisteiden välinen erotus. Mikäli progressiota ei tapahtunut, progressiovapaat kuukaudet laskettiin ensilöydöksestä seurannan päättymiseen.

PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyyttä tarkastelimme progressiovapaiden kuukausien funktiona Kaplan Meier -selviytymiskuvaajien avulla luokkien suhteen. PSA-relapsoimattomuuden luokkien välistä eroa testasimme logaritmisella Mantel-

Cox -testillä. Selviytymiskuvaajia tarkastelimme kategoristen sytoplasman histoscoren, tuman histoscoren sekä Gleason-luvun tapauksissa.

Cox-regressioanalyysissä tarkastelimme sytoplasman histoscoren ja tuman histoscoren tilastollista merkittävyyttä ennusteeseen. Cox-regressioanalyysia varten muodostimme seuraavan tilastollisen mallin: $\ln h(t) = \ln h_0(t) + b_1 * x_1 + b_2 * x_2$, jossa $h(t)$ on hazard-funktio, $h_0(t)$ on perustason hazard-funktio, x_1 on sytoplasman histoscore, b_2 on sytoplasman histoscorea vastaava vakio, x_2 on tuman histoscore sekä b_2 on tuman histoscorea vastaava vakio.

Cox-regressioanalyysimalli voitiin esittää sievennetyssä matemaattisessa muodossa seuraavasti: $\ln \frac{h(t)}{h_0(t)} = b_1 * x_1 + b_2 * x_2$. Kyseessä oli hazard-suhteen luonnollinen logaritmi eli luonnollinen logaritmi hazard-funktion suhteesta perustason hazard-funktioon. Kun tarkastelimme sytoplasman histoscoren vaikutusta hazard-suhteeseen, oletimme tuman histoscoren vaikutuksen vakioksi; toisaalta kun tarkastelimme tuman histoscoren vaikutusta hazard-suhteeseen, oletimme sytoplasman histoscoren vaikutuksen vakioksi. Tulkinta tapahtuu siten, että b_i kuvaa hazard-suhteen luonnollisen logaritmin muutosta, kun x_i muuttuu yhden yksikön. Tieteellisissä julkaisuissa esitetään e^{b_i} perustuen seuraavaan malliin: $\frac{h(t)}{h_0(t)} = e^{b_1 * x_1 + b_2 * x_2} = e^{b_1 * x_1} e^{b_2 * x_2}$.

3. TULOKSET

Opinnäytetyön menetelmät-osassa, erityisesti tilastolliset menetelmät -kappaleessa, suoritettavat toimenpiteet johtivat tutkimusdataan, joka kerättiin tekstiksi, taulukoiksi sekä kuviksi. Tulokset-osassa esitetään opinnäytetyön kannalta oleellinen tutkimusdata, jonka tutkimuslöydöksiä rinnastetaan kirjallisuuteen opinnäytetyön pohdintaosassa. Taulukot ovat Excel:llä käsiteltyjä ja Kaplan-Meier -selviytymiskuvaajat ovat manipuloituja SPSS-selviytymiskuvaajia. Opinnäytetyön keskeiset tutkimustulokset ovat koottuna ja esitettynä alla.

Taulukko 7. Kategoristen sytoplasman sekä tuman histoscoren frekvenssit ja suhteelliset frekvenssit luokittain. Lisäksi Gleason-luku sekä pT-luokka.

| | Sytoplasman | histoscore | | Tuman | histoscore | |
|-----------------------|-------------|------------|----------|-----------|------------|----------|
| | 0 | 1-50 | 51-300 | 0 | 1-5 | 6-300 |
| Hormoninaaivi | 129 50.0% | 52 20.2% | 77 29.8% | 169 65.5% | 66 25.6% | 23 8.9% |
| Kastraatioresistentti | 12 9.9% | 12 9.9% | 97 80.2% | 39 32.5% | 18 15.0% | 63 52.5% |
| Gleason: | | | | | | |
| ≤ 6 | 51 53.1% | 16 16.7% | 29 30.2% | 73 76.0% | 20 20.8% | 3 3.1% |
| 7 | 61 49.2% | 28 22.6% | 35 28.2% | 76 61.3% | 35 28.2% | 13 10.5% |
| ≥ 8 | 17 48.6% | 7 20.0% | 11 31.4% | 20 57.1% | 9 25.7% | 6 17.1% |
| pT: | | | | | | |
| pT2 | 84 47.5% | 37 20.9% | 56 31.6% | 121 68.4% | 45 25.4% | 11 6.2% |
| pT3 | 45 56.2% | 15 18.8% | 20 25.0% | 48 60.0% | 20 25.0% | 12 15.0% |

Hormoninaaivien ja kastraatioresistenttien näytteiden frekvenssijakaumien välinen ero oli tilastollisesti merkittävä sekä kategorisen sytoplasman histoscoren että kategorisen tuman histoscoren suhteen (χ^2 -testi p-arvo 0.000 ja χ^2 -testi p-arvo 0.000 vastaavasti).

Hormoninaaivien näytteiden sytoplasman histoscoren ja tuman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli 0.465 (p-arvo 0.000). Kastraatioresistenttien kudoksenäytteiden sytoplasman histoscoren ja tuman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli vastaavasti 0.068 (p-arvo 0.459).

Hormoninaaivien näytteiden sytoplasman luokan ja tuman histoscoren välinen korrelaatio oli 0.039 (partial-korrelaatio p-arvo 0.533) kontrolloitaessa sytoplasman osuuden suhteen. Vastaavasti korrelaatio kastraatioresistenteille näytteille oli 0.177

(partial-korrelaatio p-arvo 0.056). Hormoninaivien kudoksen näytteiden sytoplasman osuuden ja tuman histoscoren välinen korrelaatio oli 0.224 (partial-korrelaatio p-arvo 0.000) kontrolloitaessa sytoplasman luokan suhteen. Kastratioresistenteille näytteille vastaava korrelaatio oli -0.060 (partial-korrelaatio p-arvo 0.520).

Kategorisen Gleason-luvun ja kategorisen sytoplasman histoscoren välinen riippuvuus ei ollut tilastollisesti merkittävä (Linear-by-linear p-arvo 0.743). Jatkuvan Gleason-luvun ja jatkuvan sytoplasman histoscoren Spearman-korrelaatiokerroin oli 0.034 (p-arvo 0.588). Kategorisen pT-luokan ja kategorisen sytoplasman histoscoren välinen ero ei ollut tilastollisesti merkittävä (Linear-by-linear p-arvo 0.188).

Kategorisen Gleason-luvun ja kategorisen tuman histoscoren välinen riippuvuus oli tilastollisesti merkittävä (Linear-by-linear p-arvo 0.003). Jatkuvien Gleason-luvun ja tuman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli tilastollisesti merkittävä 0.193 (p-arvo 0.002). Kategorisen pT-luokan ja kategorisen tuman histoscoren välinen ero ei ollut tilastollisesti merkittävä (Linear-by-linear p-arvo 0.051).

Ki67:n prosentuaalisen osuuden ja kategorisen sytoplasman histoscoren välinen ero oli tilastollisesti merkittävä (Kruskal-Wallis p-arvo 0.000). Ki67:n ja sytoplasman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli 0.430 (p-arvo 0.000).

Ki67:n prosentuaalisen osuuden sekä kategorisen tuman histoscoren välinen ero oli tilastollisesti merkittävä (Kruskal-Wallis p-arvo 0.000) kuten sytoplasman histoscoren tapauksessa. Ki67:n ja tuman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli 0.384 (p-arvo 0.000).

PSA:n pitoisuuden ja kategorisen sytoplasman histoscoren välinen ero ei ollut tilastollisesti merkittävä (Kruskal-Wallis p-arvo 0.312). PSA:n pitoisuuden ja sytoplasman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli vastaavasti -0.090 (p-arvo 0.163).

PSA:n pitoisuuden ja kategorisen tuman histoscoren välinen yhteys ei ollut tilastollisesti merkittävä (Kruskal-Wallis p-arvo 0.811), kuten ei sytoplasman histoscoren tapauksessa. PSA:n pitoisuudelle ja tuman histoscorelle laskettu Spearman-korrelaatiokerroin oli -0.013 (p-arvo 0.836).

Diagnoosi-ään ja kategorisen sytoplasman histoscoren välillä ei ollut tilastollisesti merkittävää yhteyttä (ANOVA p-arvo 0.125). Diagnoosi-ään ja sytoplasman histoscoren välinen Spearman-korrelaatiokerroin oli yhdenmukaisesti -0.039 (p-arvo 0.556).

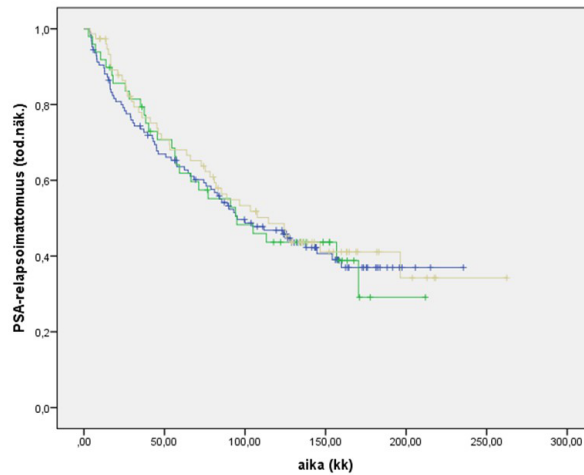
Diagnoosi-ään sekä kategorisen tuman histoscoren välinen ero oli tilastollisesti merkittävä (ANOVA p-arvo 0.002). Diagnoosi-ään sekä tuman histoscoren väliselle Spearman-korrelaatiokertoimelle saatiin arvoksi -0.090 (p-arvo 0.143).

Tilastollisesti merkittävä korrelaatio esiintyi diagnoosi-ään ja PSA:n pitoisuuden välillä (Spearman-korrelaatiokerroin 0.151 p-arvo 0.012). Diagnoosi-ään keskiarvot jakautuivat likimäärin tasaisesti kategorisen PSA:n pitoisuuden luokissa, kun tar-

kastelu tehtiin box plot -kuvaajan avulla.

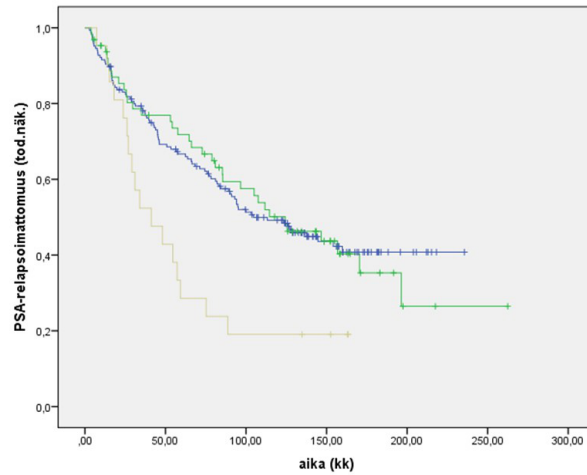
Testasimme lisäksi parametrisella, yksisuuntaisella ANOVA-testillä diagnoosi-ään ja kategorisen PSA:n pitoisuuden luokkien välistä yhteyttä. Osoittautui, että kokonaistarkastelussa oli havaittava tilastollisesti merkittävä riippuvuus diagnoosi-ään ja PSA:n pitoisuuden luokkien kesken (ANOVA p-arvo 0.025).

Tarkastelimme yhteyttä post hoc -testin perusteella. Tuckey HSD -testin perusteella kategorisen PSA:n pitoisuuden luokkien 4.0-10.0 sekä ≥ 10.1 välinen ero oli ainostaan tilastollisesti merkittävä (Tuckey HSD p-arvo 0.019). Kyseessä oli todennäköisesti tilastollinen detailji.



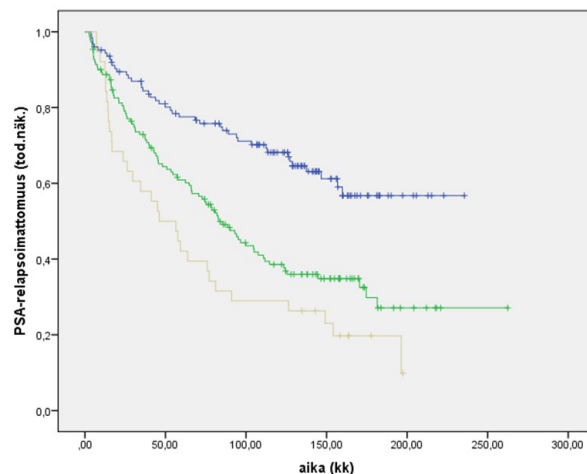
Kuva 4. PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyys vapaiden kuukausien funktiona tarkasteltuna kategorisen sytoplasman histoscoren luokkien suhteen (sin. 0, vih. 1-50, kel. 51-300).

Kategorisen sytoplasman histoscoren luokkien välillä ei ollut tilastollisesti merkittävää eroa PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyydessä (logaritminen Mantel-Cox p-arvo 0.887). Kuvasta 4 voidaan tulkita, että sytoplasman histoscoren luokan 0 PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyys oli seuranta-ajan päättyessä noin 0.4; luokan 1-50 noin 0.3 ja luokan 51-300 noin 0.35.



Kuva 5. PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyys progressio-vapaiden kuukausien funktiona tarkasteltuna kategorisen tuman histoscoren luokkien suhteen (sin. 0, vih. 1-5, kel. 6-300).

Kategorisen tuman histoscoren luokkien kesken oli tilastollisesti merkittävä ero PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyydessä (logaritminen Mantel-Cox p-arvo 0.009). Kuvaajasta havaittiin, että tuman histoscoren luokan 6-300 ennuste oli luokkien ennusteista huonoin. Luokkien 1-5 ja 0 välinen ero PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyydessä oli havaittavissa siten, että luokan 1-5 ennuste oli merkittävästi huonompi kuin luokan 0 ennuste. Luokan 0 PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyys oli seuranta-ajan päättyessä noin 0.4; luokan 1-5 noin 0.25 ja luokan 6-300 noin 0.2.



Kuva 6. PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyys progressio-vapaiden kuukausien funktiona tarkasteltuna kategorisen Gleason-luvun luokkien suhteen (sin. 2-6, vih. 7, kel. 8-10).

Kategorisen Gleason-luvun luokkien välillä oli tilastollisesti merkittävä ero PSA-

relapsoimattomuuden todennäköisyydessä (logaritminen Mantel-Cox p-arvo 0.000). Luokalla 8-10 oli huonoin ennuste; luokalla 2-6 oli paras ennuste. Luokan 7 ennuste oli odotetusti luokkien 2-6 ja 8-10 ennusteiden välissä. Luokan 2-6 PSA-relapsoimattomuuden todennäköisyys oli seuranta-ajan päättyessä noin 0.6; luokan 7 noin 0.25 ja luokan 8-10 noin 0.1.

Sytoplasman histoscoreen sekä tuman histoscoreen perustuva rakentamamme Cox-regressioanalyysimalli oli tilastollisesti merkittävä ($-2 * \log$ likelihoud p-arvo 0.025). Muuttujatarkastelun hajautuksessa havaittiin, että sytoplasman histoscore ei ollut tilastollisesti merkittävä muuttuja (p-arvo 0.661); tuman histoscore oli (p-arvo 0.008). Sytoplasman histoscoren $e^{b_1} = 0.999$ ja tuman histoscoren $e^{b_2} = 1.037$.

4. POHDINTA

Opinnäytetyöni tarkoituksena oli tarkastella eturauhassyöpää, eturauhassyövän diagnostiikkaa ja hoitoa sekä molekyylibiologian sovelluksia eturauhassyövässä. Molekyylibiologian sovelluksista tarkastelimme histoscore-menetelmää ja menetelmän soveltuvuutta eturauhassyöpäennusteen arviointiin.

Histoscore-menetelmän perustan muodostivat immunohistokemiallinen värjäytyminen, jossa histoscore laskettiin intensiteetin ja prosentuaalisen frekvenssin tulona. Intensiteettia ja prosentuaalista frekvenssiä approksimoitiin patologin gradeeraamien luokkien sekä osuuksien avulla.

Eturauhassyöpätutkimuksessa käytettäviä molekyyli-markkereita on lukuisia. Opinnäytetyössä histoscore-menetelmä perustui ATAD2-geenin geeniekspressiotuotteen, ATAD2-proteiinin, immunohistokemialliseen värjäytymiseen. Histoscore-menetelmän soveltuvuutta tarkasteltiin radikaalisessa prostatektomiassa saatujen hormoninaiivien ja kastroatioresistenttien kudoksenäytteiden avulla.

Semikvantitatiivisen ja semikvalitatiivisen luonteenpiirteidensä takia histoscore-menetelmä on verraten subjektiivinen. Tavoitteena on objektiivinen luokitus. Luokituksen subjektiivisuus on otettava huomioon arviotaessa menetelmän virhelähteitä, systemaattisen ja satunnaisvirheen osuuksia sekä menetelmän validiteettia ja reliabiliteettia vastaavasti. Luokituksen subjektiivisuus sekä virhe korostuvat käytettäessä luokituksen perusteella saatua informaatiota päätöksenteossa.

4.1 Yhteenveto tutkimustuloksista

Tarkastelemalla suhteellisia frekvenssejä havaittiin, että hormoninaiivien näytteiden suhteelliset frekvenssit painottuivat matalampiin sekä sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren luokkiin kuin kastroatioresistenttien näytteiden.

Hypoteesin testauksessa hylkäsimme nollahypoteesin H_0 : hormoninaiivien ja kastroatioresistenttien näytteiden frekvenssijakaumat ovat kategorisen sytoplasman histoscoren ja kategorisen tuman histoscoren suhteen vastaavia.

Hormoninaiivien näytteiden sytoplasman histoscore sekä tuman histoscore korreloivat positiivisesti. Kontrolloimme korrelaatiot tarkastelemattomien muuttujien suhteen vakioinnin avulla. Osoittautui, että sytoplasman osuus korreloi positiivisesti tuman histoscoren kanssa.

Pidimme mahdollisena, että sytoplasman immunohistokemiallisen värjäytymisen

korkea prosentuaalinen frekvenssi, intensiteetti vakio, maskasi tuman immunohistokemiallisen värjäytymisen. Patologi todennäköisesti arvioi tuman immunohistokemiallisen värjäytymisen todellista värjäytymistä merkittävämmäksi.

Mikäli väite pitää paikkansa, vaikeutuisi tuman histoscoren määrittäminen. Luokijan on syytä muistaa, että tuman histoscore oli muuttuja, jolla oli tilastollisesti merkittävä yhteys eturauhassyöpäennusteeseen.

Eturauhaskudoksen erilaistumattomuusasteeseen perustuvan kategorisen Gleason-luokituksen suhteelliset frekvenssit painottuivat hormoninaaiivien näytteiden tapauksessa mataliin Gleason-luvun luokkiin. Oli todennäköistä, että näyte oli erilaistunut eturauhassyöpänäyte ja potilaan ennuste parempi kuin erilaistumattoman eturauhassyöpänäytteen tapauksessa. [3; 5]

Gleason-luvun ja tuman histoscoren välinen yhteys oli tilastollisesti merkittävä. Kun muuttujia tarkasteltiin, havaittiin että Gleason-luvun kasvaessa tuman histoscore kasvoi. Ilmeisesti erilaistumattomuusasteen kasvaessa syöpäkudoksen syöpäsolut ekspressoivat ATAD2-proteiinia tumassa enenevässä määrin.

Eturauhaskudokseen rajoittuneiden syöpien (pT2-luokka) suhteellinen frekvenssi oli sidekuduskapselin läpäiseiden syöpien (pT3-luokka) suhteellista frekvenssia suurempi. Korkeampi Gleason-luku oli yhteydessä korkeampaan pT-luokkaan; erilaistumattomat eturauhassyöpät todennäköisesti tunkeutuivat eturauhasen sidekuduskapselin läpi kuin erilaistuneet eturauhassyöpät.

Ki67:n prosentuaalisen osuuden sekä sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren välinen yhteys oli tilastollisesti merkittävä. Korkea sytoplasman histoscore sekä tuman histoscore eli merkittävä ATAD2-proteiinin ekspresio sytoplasmassa sekä tumassa oli yhteydessä syöpäsolun Ki67-proliferaatiomarkkerin prosentuaaliseen osuuteen, joka vastaavasti oli syöpäkudoksessa korkeampi. Mielenkiintoinen löydös, koska Ki67 on yleisesti tunnustettu proliferaatiomarkkeri.

Keskeistä opinnäytetyön kannalta oli, että histoscore-menetelmä, jota verrattiin Gleason-menetelmään, oli yhteydessä syöpäkudoksen proliferaatioasteeseen. ATAD2-proteiinin ekspresio sekä solulimassa että tumalimassa olivat yhteydessä syöpäkudoksen syöpäsolujen proliferaatiomarkkeriin, Ki67:ään. On mahdollista, että erilaistumattomat syöpäsolut ovat proliferaatiota säätelevien tekijöiden regulaation ulkopuolella.

PSA:n pitoisuuden sekä sytoplasman histoscoren että tuman histoscoren välillä ei ollut tilastollisesti merkittävää yhteyttä. Toisaalta tiedämme, että PSA on kudosspesifinen; ei syöpäspesifinen. PSA:n pitoisuuden ja Gleason-luvun välillä oli tilastollisesti merkittävä yhteys. Erilaistumattoman eturauhassyöpäkudoksen tapauksessa seerumista mitattiin korkeampia PSA:n pitoisuuksia kuin erilaistuneen syöpäkudoksen.

Osoittautui, että potentiaalisena sekoittavana tekijänä tarkasteltava diagnoosi-ikä

oli tilastollisesti merkittävä, mutta kliinisesti merkityksetön. Kyseessä oli todennäköisesti tilastollinen detailji.

Kaplan-Meier -analyysissa havaittiin, että kategorisen tuman histoscoren yhteys potilaan eturauhassyöpäennusteeseen oli tilastollisesti merkittävä ja rinnastettavissa fererenssina käytettävään kategoriseen Gleason-lukuun. Sytoplasman histoscoren ja potilaan eturauhassyöpäennusteen välillä ei vastaavaa yhteyttä havaittu.

Cox-regressioanalyysimallin parametreista ainoastaan tuman histoscore oli tilastollisesti merkittävä ja yhdenmukainen Kaplan Meier -analyysin kanssa.

4.2 Tutkimustulosten reflektio tieteellisiin julkaisuihin

Opinnäytetyössä esitetyt tilastot perustuivat Suomen Syöpärekisterin dataan. Vertailemalla Suomen Syöpärekisterin tilastoja ulkomaalaisiin, länsimaalaisiin tilastoihin, havaittiin, että eturauhassyöpä on globaalisti sekä ilmaantuvuudeltaan että kuolleisuudeltaan merkittävä miesten syöpäsairaus.

Esitetyt diagnostiikka ja hoito -käytännöt perustuivat Suomen lääkäriseuran, Duodecimin ja Suomen Urologiyhdistys ry:n asettaman työryhmän julkaisuun eturauhassyövän hoitosuosituksista eli Käypä hoito -suositukseen. Käypä hoito -suositus on tieteelliseen tutkimusnäyttöön perustuva hoitosuositus, jota terveydenhuollon alan ammattilaiset sitoutuvat hoitotoimenpiteissään noudattamaan. Hoitosuositusta sovelletaan parhaan tiedon ja taidon valossa, mutta terveydenhuollon alan ammattilaisen poikkeamista omiin uskomuksiinsa vedoten pidetään lääkärietiikan vastaisena.

ATAD2-geeni on suhteellisen vähän huomiota herättänyt geeni. ATAD2-geenin geeniekspressiotuote, ATAD2-proteiini, on erityisesti germinaalisoluisissa ekspressoituva proteiini, joka yliekspressoituu systemaattisesti syövässä kuten eturauhassyövässä. [42]

Aktiivisen domainin, Bromo-domainin, sekä AAA-tyypin ATPaasi-domainin läsnäolo herättää epäilyn ATAD2-proteiinin keskeisestä roolista kromatiinin remodelling -ilmiössä. ATAD2-proteiini vuorovaikuttaa lukuisten transkriptiotekijöiden kanssa, mikä selittäisi osaltaan ATAD2-proteiinin mahdollisen roolin solun proliferaation ja apoptoosin säätelijänä.

ATAD2-proteiinin rooli solun proliferaation ja apoptoosin säätelijänä reflektoituu syöpäkudoksen erilaistumattomuusasteeseen sekä tuumori-indeksiin eli TNM-luokituksen T-luokkaan. [42]

ATAD2:n on havaittu kytkeytyvän rintasyöpäsolujen proliferaation ja apoptoosin säätelyyn B-Myc:n ja EZH2:n välityksellä. Mekanismeissa keskeistä ovat estrogeeni- ja androgeenireseptorit, jotka muodostavat kromatiinia sääteleviä komplekseja. Kromatiinin säätelyä tapahtuu hormonisensitiivisissä syöpäsoluissa. [43]

ATAD2:n yliekspressio, joka ilmenee arvioiden perusteella yli 70 %:ssa rintasyöpänäytteistä, korreloi positiivisesti rintasyövän graduksen kanssa. Vastaavaa mekanis-

mia on tarjottu eturauhassyövän erääksi mekanismiksi. Kyseinen mekanismi vastaisi oppinnäytetyössä saatuja tuloksia. [43]

ATAD2:n merkitystä rintasyövässä tukevat kokeelliset havainnot B-Myc:sta, histonimetyylitransferaasi EZH2:sta ja RB-E2F:sta sekä IRS2:sta, VEGF:sta ja Akt1:sta. Kyseisiä tekijöitä pidetään keskeisinä solun proliferaation ja apoptoosin säätelyssä. [43]

ATAD2-proteiinin on havaittu toimivan Myc:n kofaktorina. On todennäköistä, että ATAD2-geeni yliekspressoituu tai amplifikoituu letaaleissa eturauhassyövässä. Löydös on yhdenmukainen tutkimustulostemme kanssa. [44] Graduksen arvioimiseen käytimme Gleason-luokitusta. Tutkimustuloksistamme havaitsimme, että graduksen ja tuman ATAD2-proteiinin immunhistokemiallisen värjäytymisen välillä oli tilastollisesti merkittävä yhteys, joka assosioitui edelleen potilaan huonoon syöpäennusteeseen.

E2F ja Myc-transkriptiotekijät ovat solun proliferaation säätelijöitä. E2F:n kohdegeeni on todennäköisesti ATAD2-geeni, joka ekspressoituu solusyklin interfaasin S-vaiheessa. ATAD2-proteiini sitoutuu Myc-onkogeneeniin ja saa aikaan kohdegeenin transkription. ATAD2-geeni sijaitsee Myc-geenistä alavirtaan kromosomissa 8. Kyseisen lokuksen arvellaan olevan alttiina amplifikaatiomuutaatioille. Havainto voisi selittää löydöksemme, joissa havaitsimme ATAD2-proteiinin korkean ekspansion. [44; 48; 49]

Tutkimuksissa on havaittu, että ATAD2-proteiini on yhteydessä huonoon rinta- ja keuhkosityöpäennusteeseen sekä korkeaan syöpäkuolleisuuteen. Jos ATAD2-proteiinilla on keskeinen rooli eturauhassyövässä, on tutkimustuloksemme kategorisen tuman histoscoren ja potilaan ennusteen välisestä yhteydestä merkittävä tutkimustulos. [45; 48]

Tutkimuksissa on havaittu, että ATAD2-proteiini toimii konstitutiivisena aktivaattorina pro-inflammatorisen sytokiininin NF- κ B:n säätelyssä. Havainto on tehty kastraatioresistenteissa syöpäsoluissa. [46]

On havaittu, että eturauhassoluissa AR säätelee ATAD2-geenin geeniekspressiota [9]. AR kiinnittyy spesifisti androgeenireseptorin sitoutumiskohtaan ATAD2-geenin säätelyalueelle. Keuhkosityövässä on havaittu merkittävä ATAD2-geenin amplifikaatio, minkä arvellaan kytkeytyvän Myc-geenin välityksellä syöpäsolujen proliferaatioon. ATAD2-proteiinin bromo-domainin arvellaan olevan mekanismissa keskeisessä roolissa. [47]

4.3 Tutkimuksen vahvuudet ja heikkoudet

Oppinnäytetyön kannalta keskeistä oli määrällisesti merkittävä potilasaineisto. Potilasaineistosta tehtävät johtopäätökset sekä johtopäätösten reflektio tieteellisiin julkaisuihin mahdollisti tutkimuksen mielekkyyden.

Potilasaineisto muodostui 326 hormoninaaiivista havaintoyksiköstä ja 189 kastraatioresistentista havaintoyksiköstä. Yhteensä 515 havaintoyksikköä, joka määrällisesti on merkittävä. Tilastollista voimalaskentaa ei tarvittu.

Kirjallisuutta sekä histoscoresta että ATAD2:sta oli rajoitetusti. Histoscore-menetelmän käyttö oli vähäistä. Kirjallisuuden perusteella immunohistokemiallisen värjäytyvyyden intensiteetin ja prosentuaalisen frekvenssin tulon eli histoscore käyttäminen ei ollut vakiintunut tieteellinen käytäntö; lähinnä tuntematon sovellus.

Opinnäytetyön tutkimustulosten ja tieteellisten julkaisujen vertailun perusteella voidaan todeta, että ATAD2-geeni on suhteellisen vähän huomiota herättänyt geeni. ATAD2-geenillä saattaa olla merkittävä asema eturauhassyövässä.

LÄHTEET

- [1] Suomen syöpärekisteri, <http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0020m0.html>
- [2] Suomen syöpärekisteri, <http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0020i0.html>
- [3] Käypä hoito, <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suosituksset/naytaartikkeli/tunnus/hoi11060?hakusana=eturauhanen>
- [4] Käypä hoito, <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suosituksset/naytaartikkeli/tunnus/hoi11010?hakusana=eturauhanen>
- [5] Kumar V., Abbas A., Aster J., Fausto N., Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional 8th edition 2009, Saunders An Imprint of Elsevier
- [6] Visakorpi T., Hyytinen E., Koivisto P., Tanner M., Keinänen R., Palmberg C., Palotie A., Tammela T., Isola J. & Kallioniemi O., In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer, Nature Genetics volume 9 april 1995
- [7] Linja M., Savinainen K., Saramäki O., Tammela T., Vessella R. & Visakorpi T., Amplification and Overexpression of Androgen Receptor Gene in Hormone-Refractory Prostate Cancer, Cancer Res 61:3550-3555 may 1 2001
- [8] Waltering K., Helenius M., Sahu B., Manni V., Linja M., Jänne O. & Visakorpi T., Increased Expression of Androgen Receptor Sensitizes Prostate Cancer Cells to Low Levels of Androgens, Cancer Res 69(20) oct 15 2009
- [9] Urbanucci A., Sahu B., Seppälä J., Larjo A., Latonen L., Waltering K., Tammela T., Vessella R., Lähdesmäki H., Jänne O. & Visakorpi T., Overexpression of androgen receptor enhances the binding of the receptor to the chromatin in prostate cancer, Oncogene 31:2153-2163 2012
- [10] Saramäki O., Harjula A., Martikainen P., Vessella R., Tammela T. & Visakorpi T., TMPRSS2:ERG Fusion Identifies a Subgroup of Prostate Cancers with a Favorable Prognosis, Clin Cancer Res 14(11) jun 1 2008
- [11] Irani J., Blanchet P., Salomon L., Coloby P., Hubert J., Malavaud B. % Mottet N, Is an extended 20-core prostate biopsy protocol more efficient than the standard 12-core? A randomized multicenter trial, Journal of Urology 190(1):77-83 jul 2013

- [12] Eminaga O., Hinkelammert R., Abbas M., Titze U., Eltze E., Bettendorf O., Semjonow A., High-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPI) and topographical distribution in 1,374 prostatectomy specimens: existence of HGPI near prostate cancer, *Prostate* 73(10):1115-22 jul 2013
- [13] Wever E., Heijnsdijk E., Draisma G., Bangma C., Roobol M., Schroder F., de Koning H., Treatment of local-regional prostate cancer detected by PSA screening: benefits and harms according to prognostic factors, *British Journal of Cancer* 108(10):1971-7, may 28 2013
- [14] Guarneri A., Botticella A., Filippi A., Ruggieri A., Piva C., Munoz F., Ragona R., Gontero P., Ricardi U., Radical radiotherapy in high-risk prostate cancer patients with high or ultra-high initial PSA levels: a single institution analysis, *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology* 139(7):1141-7 jul 2013
- [15] Wong L., Trottier G., Toi A., Lawrentschuk N., Van der Kwast T., Zlotta A., Kulkarni G., Hamilton R., Trachtenberg J., Evans A., Timilshina N., Fleshner N. & Finelli A., Should Follow-up Biopsies for Men on Active Surveillance for Prostate Cancer Be Restricted to Limited Templates?, *Urology* 82(2):405-9 aug 2013
- [16] Wallner L., Frencher S., Hsu J., Chao C., Nichol M., Loo R. & Jacobsen S., Changes in serum prostate-specific antigen levels and the identification of prostate cancer in a large managed care population, *BJU International* 111(8):1245-52 jun 2013
- [17] Tolkach Y., Joniau S. & Van Poppel H., Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) receptor agonists vs antagonists: a matter of the receptors?, *BJU International* 111(7):1021-30 jun 2013
- [18] Daskivich T., Fan K., Koyama T., Albertsen P., Goodman M., Hamilton A., Hoffman R., Stanford J., Stroup A., Litwin M. & Penson D., Effect of age, tumor risk, and comorbidity on competing risks for survival in a U.S. population-based cohort of men with prostate cancer, *Annals of Internal Medicine* 158(10):709-17 may 21 2013
- [19] Lopez-Beltran A., Cheng L., Blanca A. & Montironi R., Cell proliferation and apoptosis in prostate needle biopsies with adenocarcinoma Gleason score 6 or 7; *Analytical & Quantitative Cytology & Histology* 34(2):61-5 apr 2012
- [20] Fromont G., Godet J., Pires C., Yacoub M., Dore B. & Irani J., Biological significance of perineural invasion (PNI) in prostate cancer, *Prostate* 72(5):542-8 apr 2012

- [21] Kim H., Moreira D., Jayachandran J., Gerber L., Banez L., Vollmer R., Lark A., Donovan M., Powell D., Khan F. & Freedland S., Prostate biopsies from black men express higher levels of aggressive disease biomarkers than prostate biopsies from white men; *Prostate Cancer & Prostatic Diseases* 14(3):262-5 sep 2011
- [22] Nagao K., Yamamoto Y., Hara T., Komatsu H., Inoue R., Matsuda K., Matsumoto H., Hara T., Sakano S., Baba Y. & Matsuyama H., Ki67 and BUBR1 may discriminate clinically insignificant prostate cancer in the PSA range <4 ng/ml, *Japanese Journal of Clinical Oncology* 41(4):555-64 apr 2011
- [23] Zellweger T., Stürm S., Rey S., Zlobec I., Gsponer J., Rentsch C., Terracciano L., Bachmann A., Bubendorf L. & Ruiz C., Estrogen receptor β expression and androgen receptor phosphorylation correlate with a poor clinical outcome in hormone-naïve prostate cancer and are elevated in castration-resistant disease, *Endocr Relat Cancer* 20(3):403-13 may 21 2013
- [24] Wagner D., Trudel D., Van der Kwast T., Nonn L., Giangreco A., Li D., Dias A., Cardoza M., Laszlo S., Hersey K., Klotz L., Finelli A., Fleshner N. & Vieth R., Randomized clinical trial of vitamin D3 doses on prostatic vitamin D metabolite levels and ki67 labeling in prostate cancer patients, *J Clin Endocrinol Metab.* 98(4):1498-507 apr 2013
- [25] Kachroo N. & Gnanapragasam V., The role of treatment modality on the utility of predictive tissue biomarkers in clinical prostate cancer: a systematic review, *J Cancer Res Clin Oncol* 139(1):1-24 jan 2013
- [26] van der Sluis T., Bijnsdorp I., Jacobs J., Meuleman E., Rozendaal L., Geldof A., van Moorselaar R.J. & Vis A., Serum testosterone plays an important role in the metastatic ability of castration resistant prostate cancer, *World J Urol* 31(2):261-6 apr 2013
- [27] Briganti A., Suardi N., Gallina A., Abdollah F., Novara G., Ficarra V. & Montorsi F., Predicting the risk of bone metastasis in prostate cancer, *Cancer Treat Rev* S0305-7372(13)00132-1 jul 26 2013
- [28] Zlotta A., Egawa S., Pushkar D., Govorov A., Kimura T., Kido M., Takahashi H., Kuk C., Kovylyna M., Aldaoud N., Fleshner N., Finelli A., Klotz L., Sykes J., Lockwood G. & van der Kwast T., Prevalence of Prostate Cancer on Autopsy: Cross-Sectional Study on Unscreened Caucasian and Asian Men, *J Natl Cancer Inst* 105(14):1050-1058 jul 17 2013

- [29] Tran A., Mandall P., Swindell R., Hoskin P., Bottomley D., Logue J., Wylie J., Biochemical outcomes for patients with intermediate risk prostate cancer treated with I-125 interstitial brachytherapy monotherapy, *Radiother Oncol* S0167-8140(13)00271-5 jul 9 2013
- [30] Townsend N., Ruth K., Al-Saleem T., Horwitz E., Sobczak M., Uzzo R., Viterbo R. & Buyyounouski M., Gleason Scoring at a Comprehensive Cancer Center: What's The Difference?, *J Natl Compr Canc Netw* 1;11(7):812-9 jul 2013
- [31] Liu J., Shi L., Sartor O. & Culbertson R., Androgen-deprivation therapy versus radical prostatectomy as monotherapy among clinically localized prostate cancer patients, *Onco Targets Ther.* 17;6:725-32 jun 2013
- [32] Murphy A., Akereyeni F., Nyame Y., Guy M., Martin I., Hollowell C., Walker K., Kittles R. & Ahaghotu C., Smoking and prostate cancer in a multi-ethnic cohort, *Prostate* doi: 10.1002/pros.22699 jul 3 2013
- [33] Feik E., Schweifer N., Baiertl A., Sommergruber W., Haslinger C., Hofer P., Maj-Hes A., Madersbacher S. & Gsur A., Integrative analysis of prostate cancer aggressiveness, *Prostate* doi: 10.1002/pros.22688 jun 27 2013
- [34] Cheng L., Montironi R., Bostwick D., Lopez-Beltran A. & Berney D., Staging of prostate cancer, *Histopathology* 60(1):87-117 jan 2012
- [35] Choudhury A., Eeles R., Freedland S., Isaacs W., Pomerantz M., Schalken J., Tammela T. & Visakorpi T., The role of genetic markers in the management of prostate cancer, *Eur Urol* 62(4):577-87 oct 2012
- [36] Lehmusvaara S., Erkkilä T., Urbanucci A., Waltering K., Seppälä J., Larjo A., Tuominen V., Isola J., Kujala P., Lähdesmäki H., Kaipia A., Tammela T. & Visakorpi T., Chemical castration and anti-androgens induce differential gene expression in prostate cancer, *J Pathol* 227(3):336-45 jul 2012
- [37] Waltering K., Urbanucci A. & Visakorpi T.; Androgen receptor (AR) aberrations in castration-resistant prostate cancer, *Mol Cell Endocrinol* 360(1-2):38-43 sep 5 2012
- [38] Tolonen T., Kujala P., Tammela T., Tuominen V., Isola J. & Visakorpi T., Overall and worst gleason scores are equally good predictors of prostate cancer progression, *BMC Urol.* 11:21 oct 6 2011
- [39] Visakorpi T., The molecular genetics of prostate cancer, *Urology* 62(5 Suppl 1):3-10 nov 2003

- [40] Linja M. & Visakorpi T., Alterations of androgen receptor in prostate cancer, *J Steroid Biochem Mol Biol* 92(4):255-64 nov 2004
- [41] Laitinen S., Martikainen P., Tolonen T., Isola J., Tammela T. & Visakorpi T., EZH2, Ki-67 and MCM7 are prognostic markers in prostatectomy treated patients, *Int J Cancer* 1;122(3):595-602 feb 2008
- [42] Boussouar F., Jamshidikia M., Morozumi Y., Rousseaux S. & Khochbin S., Malignant genome reprogramming by ATAD2, *Biochim Biophys Acta* 1829(10):1010-1014 jul 3 2013
- [43] Kalashnikova E., Revenko A., Gemo A., Andrews N., Tepper C., Zou J., Cardiff R., Borowsky A. & Chen H., ANCCA/ATAD2 overexpression identifies breast cancer patients with poor prognosis, acting to drive proliferation and survival of triple-negative cells through control of B-Myb and EZH2, *Cancer Research* 70(22):9402-12 nov 15 2010
- [44] Ciro M., Prosperini E., Quarto M., Grazini U., Walfridsson J., McBlane F., Nucifero P., Pacchiana G., Capra M., Christensen J. & Helin K., ATAD2 is a novel cofactor for MYC, overexpressed and amplified in aggressive tumors, *Cancer Research* 69(21):8491-8 nov 1 2009
- [45] Caron C., Lestrat C., Marsal S., Escoffier E., Curtet S., Virolle V., Barbry P., Debernardi A., Brambilla C., Brambilla E., Rousseaux S. & Khochbin S., Functional characterization of ATAD2 as a new cancer/testis factor and a predictor of poor prognosis in breast and lung cancers, *Oncogene* 29(37):5171-81 sep 16 2010
- [46] Yang P., Guo L., Duan Z., Tepper C., Xue L., Chen X., Kung H., Gao A., Zou J. & Chen H., Histone methyltransferase NSD2/MMSET mediates constitutive NF- κ B signaling for cancer cell proliferation, survival, and tumor growth via a feed-forward loop, *Molecular & Cellular Biology* 32(15):3121-31 aug 2012
- [47] Altintas D., Shukla M., Goutte-Gattat D., Angelov D., Rouault J., Dimitrov S. & Samarut J., Direct cooperation between androgen receptor and E2F1 reveals a common regulation mechanism for androgen-responsive genes in prostate cells, *Molecular Endocrinology* 26(9):1531-41 sep 2012
- [48] Fouret R., Laffaire J., Hofman P., Beau-Faller M., Mazieres J., Validire P., Girard P., Camilleri-Broet S., Vaylet F., Leroy-Ladurie F., Soria J. & Fouret P., A comparative and integrative approach identifies ATPase family, AAA domain containing 2 as a likely driver of cell proliferation in lung adenocarcinoma, *Clinical Cancer Research* 18(20):5606-16 oct 15 2012

- [49] Raeder M., Birkeland E., Trovik J., Krakstad C., Shehata S., Schumacher S., Zack T., Krohn A., Werner H., Moody S., Wik E., Stefansson I., Holst F., Oyan A., Tamayo P., Mesirov J., Kalland K., Akslen L., Simon R., Beroukhi R. & Salvesen H., Integrated genomic analysis of the 8q24 amplification in endometrial cancers identifies ATAD2 as essential to MYC-dependent cancers, PLoS ONE [Electronic Resource] 8(2):e54873 2013
- [50] Pertschuk L., Schaeffer H., Feldman J., Macchia R., Kim Y., Eisenberg K., Braithwaite L., Axiotis C., Prins G. & Green G., Immunostaining for prostate cancer androgen receptor in paraffin identifies a subset of men with a poor prognosis, Laboratory Investigation 73(2):302-5 aug 1995
- [51] Koivisto P. & Helin H., Androgen receptor gene amplification increases tissue PSA protein expression in hormone-refractory prostate carcinoma, J Pathol 189(2):219-23 oct 1999
- [52] Ross M. & Pawlina W., Histology A Text and Atlas 6th edition 2011, Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins