



Test urinaire PCA3 en pratique clinique



PCA3 urinary test in clinical use

**Guillaume Ploussard,
Alexandre de la Taille**

Service d'urologie, Centre hospitalier
universitaire Henri-Mondor (AP-HP),
Créteil.

Résumé

Depuis la découverte, à la fin des années 1990, du gène PCA3 et de sa surexpression au sein du tissu prostatique cancéreux, des méthodes de mesure quantitative de son expression ont été développées et standardisées. Actuellement, on dispose de méthodes fiables et reproductibles de mesure des copies d'ARNm de PCA3 dans les urines, permettant de calculer un score. Les données actuelles de la littérature démontrent la supériorité du score PCA3 sur le dosage du PSA en termes de valeur prédictive et de spécificité, au détriment d'une sensibilité un peu inférieure. Ces résultats sont particulièrement encourageants pour la population particulière des patients ayant une première série de biopsies négatives, pour lesquels l'utilisation du test PCA3 permettrait d'éviter une seconde biopsie inutile. Du point de vue pronostique, les résultats de petites séries vont dans le sens d'une corrélation du score PCA3 au volume tumoral.

Mots-clés : Biopsie prostatique, cancer de prostate, PCA3, volume tumoral.

Abstract

Since the discovery at the end of the 1990s of the PCA3 gene and of its over-expression within cancerous prostate tissue, methods of quantitative measurement of its expression have been developed and standardized. At the moment, reliable and reproducible methods are available to measure copies of the ARNm of PCA3 in urine, allowing for the calculation of a score. Current trends in research show the superiority of the PCA3 score over the dosage of PSA in terms of predictive and specific values, though of slightly inferior sensitivity. These results are particularly encouraging for those patients who have had a first series of negative biopsies, for whom the PCA3 test allows the possibility to avoid a second unnecessary biopsy. From the point of view of prognosis, results of preliminary research point towards a correlation between PCA3 scores and tumor volume.

Key-words: Prostate biopsy, prostate cancer, PCA3, tumor volume.

Correspondance

Guillaume Ploussard

Service d'urologie
Centre hospitalier universitaire Henri-Mondor
51, av. du Maréchal de-Lattre-de-Tassigny
94010 Créteil cedex
g.ploussard@gmail.com

© 2009 - Elsevier Masson SAS - Tous droits réservés.

Introduction

Le dépistage du cancer de la prostate repose sur le toucher rectal et le dosage sérique du PSA. L'apport diagnostique du PSA a été considérable à la fin du siècle dernier, permettant la détection de cancers de la prostate à des stades encore localisés. Cependant, en raison d'une valeur prédictive faible du PSA,

jusqu'à trois-quarts des patients avec un PSA compris dans la zone grise entre 4 et 10 ng/ml auront des biopsies prostatiques négatives. De nouveaux marqueurs diagnostiques ont été recherchés ces dernières années afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage. Le gène PCA3 a été isolé en 1999 grâce à son expression différentielle



dans le tissu prostatique cancéreux et non cancéreux, et des méthodes de mesure quantitative des copies d'ARNm du gène ont été développées. Plusieurs études cliniques ont démontré la reproductibilité et la faisabilité d'une méthode de détection urinaire de l'expression du gène PCA3. L'objectif de cet article est de faire le point sur les données actuelles concernant l'utilisation du test urinaire PCA3 en pratique clinique, par son impact diagnostique et pronostique.

Gène PCA3 et mesure de son expression en pratique clinique

La découverte du gène PCA3, initialement nommé *differential display code 3* (DD3), localisé en 9q21-22, date de la fin des années 1990 [1]. Son identification s'est faite grâce à l'expression majoritaire de PCA3 dans le cancer de prostate par rapport au tissu prostatique non tumoral. La surexpression de PCA3 dans le cancer de prostate est ainsi quasi-constante, et de 66 à 140 fois plus forte que dans le tissu prostatique non cancéreux, hypertrophique ou non [1-3]. Les métastases de cancer de prostate surexpriment également PCA3. À l'inverse, l'expression de PCA3 est inexistante dans les tissus sains autres que prostatiques, ainsi que dans les autres cancers étudiés (dont rein et vessie) [4].

Le gène PCA3 produit des ARNm non codants, excluant toute mesure d'expression tissulaire d'une protéine spécifique. L'ARN en lui-même doit donc être mesuré. Cette recherche a été testée dans le tissu prostatique, l'éjaculat et le sang après manœuvres prostatiques invasives avec succès. La nécessité d'un test diagnostique facile d'accès a permis la standardisation d'une technique de recueil et de mesure de l'expression de PCA3 dans les urines [2, 5, 6-8]. Un toucher rectal permettant d'effectuer un massage ferme de prostate, en trois passages successifs par lobe, est réalisé. Les premières urines sont recueillies avec principalement le prélèvement du

premier jet urinaire. L'analyse s'effectue ensuite sur la totalité des urines prélevées ou sur le sédiment urinaire après centrifugation. Trois techniques d'amplification sont disponibles afin d'isoler les ARN d'intérêt et de les amplifier pour augmenter la sensibilité du test : la RT-PCR, la NASBA ou *nucleic acid sequence-based amplification*, commercialisé par DiagnoCure (kit uPM3™), et la TMA ou *transcription-mediated amplification*, commercialisée par Gen-Probe (kit Progenesa® ou Aptima® PCA3 Assay).

L'utilisation des urines est limitée par la variabilité du nombre de cellules prostatiques recueillies. La mesure parallèle quantitative du nombre de copies d'ARNm du PSA permet de considérer les échantillons urinaires comme informatifs ou non. L'expression du PSA étant réputée constante d'un tissu prostatique sain à l'autre, les échantillons urinaires ne contenant pas assez d'ARNm du PSA sont donc considérés comme non informatifs. Cette mesure permet également d'obtenir le score PCA3, en calculant le ratio du nombre de copies d'ARNm du PCA3 par le nombre de copies d'ARNm du PSA. On obtient ainsi une sensibilisation du test PCA3 et une normalisation des scores d'un individu à l'autre. Les taux d'informativité des tests varient de 79 à 98,2 % suivant la technique d'amplification, le meilleur résultat étant obtenu par le kit Progenesa® en raison d'une sensibilité de détection accrue. Le score PCA3 est stable chez un même individu d'une mesure à l'autre grâce à de faibles variations physiologiques [9].

Validation du test urinaire PCA3 chez des patients tout-venant candidats à des biopsies prostatiques

Cinq études prospectives mono ou multicentriques publient les résultats de l'utilisation du test urinaire PCA3 chez des patients tout-venant subissant des biopsies prostatiques en raison d'une élévation

du PSA (seuil de 2,5 à 4 ng/ml) et/ou d'une anomalie au toucher rectal [2, 5, 6, 7, 10]. La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives et l'aire sous la courbe ROC (AUC) étaient calculées en fonction de la positivité ou de la négativité du résultat histologique, et comparées aux résultats du simple dosage sérique du PSA (**tableau I**). La construction de courbe ROC permettait notamment de trouver le seuil de score PCA3 correspondant à une meilleure spécificité tout en préservant la sensibilité. La valeur seuil de 35 semble être la plus discriminante. Les résultats de ces études attestent de la supériorité du score PCA3 sur le dosage du PSA (total et/ou libre) en termes de valeur prédictive (positive ou négative) et de spécificité, au détriment d'une sensibilité un peu inférieure. Ainsi, l'aire sous la courbe, ROC augmentait de 0,55 à 0,66 et 0,69 en comparant PSA et score PCA3 [7, 10]. La spécificité était améliorée de 47 à 66 % en utilisant le score PCA3 plutôt que le PSA dans la série de van Gils et al. [7]. Les patients ayant un test PCA3 négatif ont donc peu de chances d'avoir un cancer de prostate. Un autre point important est que les performances du score PCA3 persistent quel que soit le taux de PSA (inférieur à 4, de 4 à 10, supérieur à 10 ng/ml) ou le volume prostatique [5, 10]. Le score PCA3 apporte donc une valeur diagnostique indépendante du PSA.

Évaluation du score PCA3 chez les patients ayant une première série de biopsies négatives

Aucune recommandation n'existe quant aux modalités de surveillance des patients ayant eu une première série de biopsies négatives, effectuées pour un toucher rectal anormal ou une élévation du PSA. Or 10 à 35 % des hommes ayant eu une première série de biopsies négatives, auront un cancer sur les deuxièmes biopsies. Deux études prospectives multicentriques ont étudié l'apport diagnostique du test PCA3



Tableau I : Évaluation diagnostique du test urinaire PCA3 dans cinq études publiées.

Références	Nombre de patients	Taux de cancer détectés (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	AUC PCA3	AUC PSA
Hessels <i>et al.</i> [2]	108	22	67	83	53	90	0.72	
Tinzl <i>et al.</i> [5]	201	39	82	76	69	87	0.87	
Fradet <i>et al.</i> [6]	517	34	66	89	75	83	0.86	
van Gils <i>et al.</i> [7]	583	33	65	66	48	80	0.66	0.55
Deras <i>et al.</i> [10]	570	36	54	74	54	74	0.69	0.55

Tableau II : Évaluation diagnostique du test urinaire PCA3 chez des patients ayant eu au moins une série de biopsies négatives.

Références	Nombre de patients	Taux de cancer détectés (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	AUC PCA3
Marks <i>et al.</i> [11]	233	27	58	72	43	83	0.68
Haese <i>et al.</i> [12]	463	28	47	72	39	78	0.66

chez des patients ayant eu une ou deux séries de biopsies prostatiques négatives [11, 12]. Les résultats confirment le gain diagnostique du test, notamment grâce à une meilleure valeur prédictive négative comparée au dosage du PSA et au rapport PSA libre/PSA total (**tableau II**). Le risque d'avoir un cancer en cas de score PCA3 inférieur à 35 était de 17 et 22 %, alors qu'il était de 39 % en cas de score > 35 [11, 12]. Plus ce score est élevé, plus le risque de cancer est élevé. Dans la série européenne, seulement 12 % de cancers étaient retrouvés en cas de score PCA3 < 10, comparé à 41 % en cas de score PCA3 > 50 (**figure 1**). Le score PCA3 était également indépendant du dosage du PSA total, de l'âge, du volume prostatique et du nombre de biopsies précédentes. Dans cette population de patients aux antécédents de biopsies négatives, le score PCA3 apporte un gain diagnostique important et discriminant, et permettrait en cas de faible score, d'éviter aux patients de nouvelles biopsies.

patients avec indication de biopsies prostatiques, quel que soit le nombre de biopsies précédentes [2, 5, 6, 7, 10]. Cependant, dans l'étude de Deras *et al.*, une sous-analyse comparant sensibilité, spécificité et AUC du score PCA3 en fonction du nombre de biopsies précédentes ne montrait pas de différence significative en cas de biopsie initiale ou répétée [10]. Une étude multicentrique européenne s'adressant spécifiquement aux premières séries est en cours de réalisation. Les résultats

préliminaires en septembre 2008 portant sur 155 patients dont 63 avec biopsies positives (41 %) confirment les bonnes performances diagnostiques du score PCA3 dans une série homogène de patients français ayant un PSA compris entre 3 et 10 ng/ml. La sensibilité et la spécificité sont de 88 % et 73 %, respectivement pour un cut-off à 25. Au-dessus de ce seuil, la probabilité d'avoir des biopsies positives est de 70 % ; en dessous, cette probabilité n'est plus que de 11 %. Plus le score PCA3 est élevé, plus la probabilité d'avoir

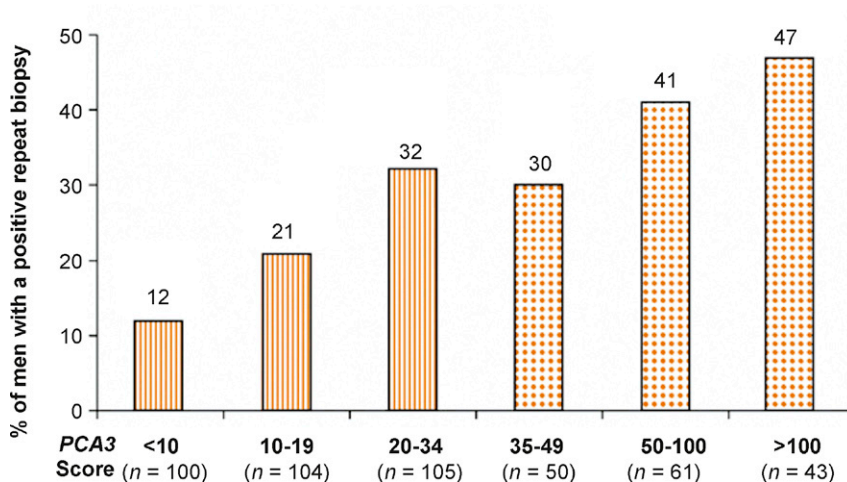


Figure 1 : Pourcentage de biopsies positives en fonction du score PCA3 chez des patients ayant eu une première série ou deux séries de biopsies négatives [12].

Intérêt du score PCA3 en cas de première série de biopsies

Apport diagnostique

Les études nord-américaines et européennes précitées ont été conduites sur des

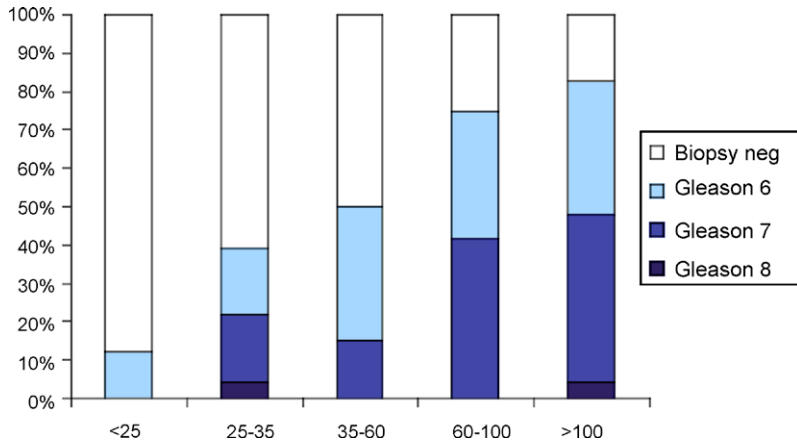


Figure 2 : Distribution des résultats des biopsies prostatiques en fonction du score PCA3 chez 155 patients consultant pour première série de biopsies [13].

des biopsies positives est élevée (**figure 2**). Aucun cancer de score de Gleason 7 n'est retrouvé dans le sous-groupe de patients ayant un score PCA3 <25 [13].

En associant les résultats de la littérature concernant les premières, deuxièmes et troisièmes séries de biopsies prostatiques, Bastien *et al.* ont récemment montré qu'un patient ayant initialement un score PCA3 > 35 avait une probabilité cumulée de 96 % d'avoir des biopsies positives après trois séries (76 % lors de la première série, 85 % pour deux séries et 96 % pour trois séries) [14].

Apport pronostique : corrélation au volume et/ou à l'agressivité tumorale

Récemment, des séries ont étudié la corrélation du score PCA3 préopératoire aux facteurs d'agressivité et au volume tumoral sur les pièces de prostatectomies [15-17]. Van Gils *et al.* n'ont pas retrouvé d'association significative entre un score de PCA3 élevé et les facteurs classiques histopronostiques (volume tumoral, pT, score de Gleason). En revanche, la médiane du score PCA3 était significativement plus élevée chez les patients avec cancer significatif sur la pièce de prostatectomie (volume tumoral >0,5 ml, absence de Gleason 4 ou 5) [15]. Les autres études publiées confirment la différence significative du score de PCA3 entre les cancers de faible volume tumoral (ou indolents) et les cancers

significatifs, avec notamment une courbe ROC discriminante dans la série de Nakanishi (AUC à 0,76) [12, 16, 17]. En analyse multivariée, le score PCA3 ressortait comme facteur prédictif indépendant du volume tumoral [16]. Une différence significative en termes d'effraction capsulaire et de score de Gleason

sur la pièce de prostatectomie (6 versus 7 et plus) était également retrouvée. Ainsi, l'analyse de l'agressivité du cancer semble montrer que plus le score est élevé, plus le cancer est agressif [17]. En revanche, le score PCA3 ne semble pas corrélé au score de Gleason biopsique [11, 17].

En pratique

Le test n'est pas encore remboursé en France et seulement deux laboratoires le proposent au prix de 300 euros (Biomnis (www.biomnis.com) à Ivry-sur-Seine et Pasteur Cerba à Cergy (www.pasteur-cerba.com)). Le patient doit contacter le laboratoire qui lui transmet les tubes pour le transport de l'urine. Une consultation chez l'urologue est nécessaire pour valider l'indication et réaliser le toucher rectal (**figure 3**). Les premières urines sont transférées dans

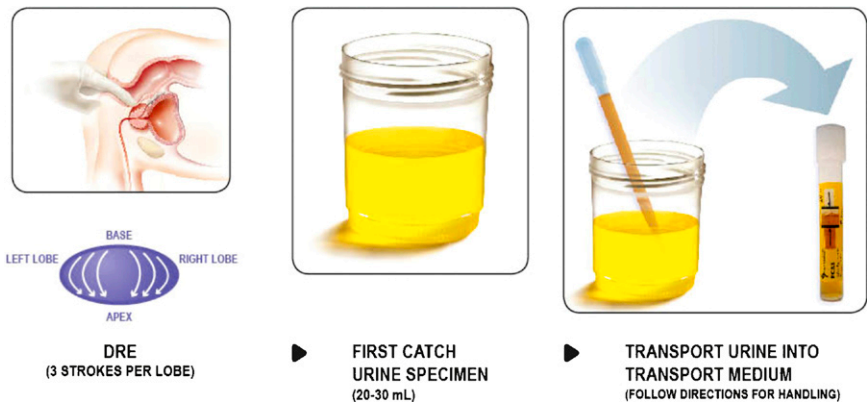


Figure 3 : Réalisation du test PCA3.

Les points essentiels à retenir

- Le test urinaire PCA3 est fiable, reproductible et facile à réaliser.
- Sa spécificité pour la prédiction du résultat des biopsies prostatiques est supérieure au dosage du PSA et au rapport PSA libre/PSA total.
- Son utilisation après une première série de biopsies négatives peut ainsi aider l'urologue dans la décision de réaliser ou non une deuxième série de biopsies.
- Son coût élevé limite actuellement son utilisation en première intention.
- En plus de cette valeur diagnostique, le score PCA3 pourrait apporter des informations pronostiques, en termes d'agressivité tumorale et de volume tumoral.



Conclusion

Le test urinaire PCA3 semble apporter des éléments intéressants pour le diagnostic et le pronostic du cancer de prostate. Il remplit les conditions nécessaires aux outils diagnostiques grâce à sa fiabilité, la facilité du recueil de l'échantillon examiné, et des performances statistiques intéressantes. Il apporte un gain de spécificité et de valeur prédictive négative par rapport au PSA total et/ou libre et se révèle un bon indicateur du résultat des biopsies prostatiques. Ainsi, son utilisation chez des patients ayant eu une première série de biopsies négatives permettrait d'éviter chez ces hommes de nouvelles biopsies inutiles. Son utilisation en dépistage n'est pour l'instant pas souhaitable en raison du coût élevé du kit d'examen. D'un point de vue pronostique, de plus larges séries sont nécessaires afin de confirmer sa corrélation au volume tumoral et sa capacité à distinguer cancer indolent et cancer significatif.

les tubes puis adressées par courrier au laboratoire. Une quinzaine de jours sont nécessaires pour obtenir le résultat.

Conflit d'intérêt

A.D.T. Investigateur pour **Gen-Probe**.

Références

[1] Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999;59:5975-9.

[2] Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, et al. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003; 44:8-15.

[3] Vlaeminck-Guillem V, Ruffion A, Andre J. Place du test urinaire PCA3 pour le diagnostic du cancer de prostate. *Prog Urol* 2008;18:259-65.

[4] de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW, et al. DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. *Cancer Res* 2002;62:2695-8.

[5] Tinzl M, Marberger M, Horvath S, et al. DD3PCA3 RNA analysis in urine--a new perspective for detecting prostate cancer. *Eur Urol* 2004;46:182-6.

[6] Fradet Y, Saad F, Aprikian A, et al. uPM3, a new molecular urine test for the detection of prostate cancer. *Urology* 2004;64:311-5.

[7] van Gils MP, Hessels D, van Hooij O, et al. The time-resolved fluorescence-based PCA3 test on urinary sediments after digital rectal examination; a Dutch multicenter validation of the diagnostic performance. *Clin Cancer Res* 2007;13:939-43.

[8] Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, et al. APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 2006;52:1089-95.

[9] Partin AW, et al. *J Urol* 2007;177(4 Suppl):538 abs. 1623.

[10] Deras IL, Aubin SM, Blase A, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol* 2008;179:1587-92.

[11] Marks LS, Fradet Y, Deras IL, et al. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology* 2007;69: 532-5.

[12] Haese A, de la Taille A, van Poppel H, et al. Clinical Utility of the PCA3 Urine Assay in European Men Scheduled for Repeat Biopsy. *Eur Urol* 2008;26: [Epub ahead of print].

[13] Ploussard G, et al. *Prog Urol* 2008;18:769 [abs. 167].

[14] Bastien L, et al. *Prog Urol* 2008;18:768 [abs. 166].

[15] van Gils MP, Hessels D, Hulsbergen-van de Kaa CA, et al. Detailed analysis of histopathological parameters in radical prostatectomy specimens and PCA3 urine test results. *Prostate* 2008;68: 1215-22.

[16] Whitman EJ, Groskopf J, Ali A, et al. PCA3 score before radical prostatectomy predicts extracapsular extension and tumor volume. *J Urol* 2008;180:1975-8.

[17] Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, et al. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol* 2008;179:1804-9.