




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



ARTICLE DE REVUE

Biomarqueurs urinaires du cancer de prostate

Urinary biomarkers in prostate cancer: An update

X. Durand, E. Xylinas, G. Ploussard, A. De la Taille*

*Inserm U955, GHU Mondor-Chenevier, 51, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny,
94010 Créteil, France*

Reçu le 26 mars 2010 ; accepté le 28 juillet 2010

MOTS CLÉS

Cancer de prostate ;
Dépistage ;
Biomarqueurs ;
PCA3

Résumé Le manque de spécificité des outils diagnostiques usuels du cancer de prostate, en particulier du PSA sérique, rend urgent le développement de nouveaux biomarqueurs pour la détection de ce cancer. À ce titre, les biomarqueurs urinaires semblent particulièrement attractifs car peu invasifs, disponibles et adaptés à un dépistage à grande échelle. De nombreuses études ont émergé ces dernières années qui éprouvent des marqueurs nucléiques ou protéiques extraits d'échantillons urinaires afin d'évaluer leur apport diagnostique ou pronostique dans le cancer de prostate. Plusieurs biomarqueurs ont déjà surpassé certains aspects des performances du PSA sérique. Actuellement, le PCA3 a prouvé sa pertinence clinique dans la prédiction de positivité des rebiopsies prostatiques. De nouvelles voies de recherche émergent, utilisant les technologies à haut débit qui faciliteront la découverte de nouveaux biomarqueurs. Les approches futures résident dans l'exploration du transcriptome, du protéome au sein d'analyses multiplex afin d'identifier des combinaisons de marqueurs. Leur but est d'optimiser la détection du cancer de la prostate mais aussi la discrimination des cancers agressifs afin d'éclairer les décisions de traitement.

© 2010 Publié par Elsevier Masson SAS.

KEYWORDS

Prostate cancer;
Screening;
Biomarker;
PCA3

Summary Widespread screening for prostate cancer has led to an increased incidence, an improved disease specific survival, but also to overdiagnosis and overtreatment. The limitations of screening tools, especially PSA, have led to active investigation of new biomarkers in recent years. Urinary markers, suitable for large scale use, minimally invasive collected, arouse of particular interest. Numerous protein, DNA or RNA markers are explored in order to improve detection and prognostic evaluation of prostate cancer. Some of them have already shown clinical values. PCA3 provided particularly encouraging results for the specific population of patients having a first set of negative biopsy, for which using PCA3 assay could allow to avoid

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : adelataille@hotmail.com (A. De la Taille).

unnecessary repeated biopsy. Fusion genes showed promising abilities in prostate cancer detection. New research methods are also emerging, and high-throughput technologies will facilitate high-dimensional biomarker discovery. Future approaches will probably integrate proteomic, transcriptomic and multiplex approaches to identify combinations of multiple biomarkers to optimize the detection of prostate cancer. In the near future, these markers would probably be able to provide prognostic data to discriminate significant cancers, a major challenge for prostate cancer treatment.

© 2010 Published by Elsevier Masson SAS.

Introduction

Le cancer de la prostate (CaP) est le carcinome le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes occidentaux (Europe et Amérique du Nord) avec 670 000 nouveaux cas par an environ. En dépit d'une utilisation de plus en plus étendue du dépistage, il reste la deuxième cause de décès par cancer dans cette population : 87 400 décès en 2006 en Europe [1]. Les limites des outils de dépistage, au premier rang desquels, l'antigène spécifique de prostate sérique (PSA), ont largement été prouvées. La valeur prédictive négative du PSA est de 85 % seulement. Parmi les patients explorés pour un PSA compris entre 2,5 et 10 ng/ml (et/ou un TR pathologique), 75 % ont des biopsies négatives [2]. A contrario, 10 à 35 % de ces patients sont diagnostiqués ultérieurement pour un adénocarcinome prostatique lors de biopsies répétées. L'utilisation de la vélocité (PSAv), de la densité du PSA (PSAd), du PSA rapporté à l'âge, du PSA complexé (PSAc), du rapport PSA libre/total n'ont apporté que des améliorations diagnostiques marginales. Ces limites contribuent à alimenter le débat sur la pertinence d'un dépistage de masse du cancer de prostate, qui a pourtant prouvé une diminution de mortalité spécifique de 20 % mais a souligné également le risque de surdiagnostic et de traitement par excès [3].

Le développement de nouveaux marqueurs du CaP est aujourd'hui une nécessité urgente, afin d'améliorer la détection de la maladie et de discriminer les formes agressives nécessitant un traitement. Délaissant l'approche invasive de l'exploration tissulaire et biopsique, un fort intérêt s'est porté ces dix dernières années sur les marqueurs issus de fluides biologiques et en particulier les urines. Ces fluides représentent un reflet plus juste de la nature polyclonale des tumeurs prostatiques que ne peut le faire un échantillonnage tissulaire aléatoire. Ils contiennent à la fois des produits de dégradation de cellules bénignes et malignes, ainsi que leur sécrétion protéique. Enfin, le recueil d'urines, disponible, peu invasif, place ces marqueurs en situation de candidats idéaux à un dépistage de masse. Ainsi, trois groupes de marqueurs urinaires peuvent être distingués : marqueurs d'ADN, d'ARN et protéiques (Tableau 1). Nous discutons dans cette revue chacune de ces approches en éclairant tour à tour les différents marqueurs explorés dans les études cliniques.

Marqueurs d'ADN

Méthylation aberrante de l'ADN

La liaison d'un radical méthyl (CH₃) à une cytosine en 5', dans des régions promotrices riches en cytosine, appe-

lées îlots CpG, est un important mécanisme d'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. L'hyperméthylation de gènes à différents sites a été associée à la survenue de nombreux carcinomes. Plusieurs gènes d'intérêt ont été mis en évidence pour le CaP [4]. La révélation des méthylations d'ADN repose sur le traitement des acides nucléiques par le sodium bisulfite à l'origine d'une désamination des cytosines non méthylées en uracile. Une altération épigénétique non analysable est ainsi transformée en un polymorphisme de séquence accessible aux techniques usuelles de biologie moléculaire, en particulier la *Polymerase chain reaction* (PCR).

GSTP1

La perte d'expression du gène *glutathion-S-transférase P1* (*GSTP1*) consécutive à l'hyperméthylation de son promoteur est l'altération moléculaire la plus fréquemment rapportée dans le CaP [5]. *GSTP1* a un rôle de détoxification et de protection de l'ADN vis-à-vis des radicaux libres. La méthylation du gène *GSTP1* à partir d'échantillons d'urine a été étudiée dans diverses séries. La spécificité de ce test pour la détection du CaP varie entre 93 et 100 %, sa sensibilité de 21,4 à 38,9 % [6,7]. La standardisation du prélèvement d'urines (massage prostatique) a amélioré la sensibilité à 75 % [8]. Enfin, la méthode de traitement des acides nucléiques semble influencer la sensibilité de détection puisque Jérónimo et al. retrouvent seulement 18,8 % en

Tableau 1 Principaux biomarqueurs urinaires en cours d'investigation.

Marqueurs d'ADN
Hyperméthylation
<i>GSTP1</i>
Panel de gènes (<i>RARB2</i> , <i>RASSF</i> , <i>APC</i>)
Marqueurs d'ARN
PCA3
Gènes de fusion
AMACR
GOLM1
Activité télomérase
Marqueurs protéiques
PSA urinaire
Annexine A3
Métalloprotéines
Sarcosine

PSA : antigène spécifique de prostate sérique.

appliquant une PCR quantitative en temps réel [7]. Woodson et al. ont observé une fréquence élevée de méthylation *GSTP1* dans l'urine des hommes atteints du cancer de haut stade, qui ouvre la voie à la méthylation aberrante de *GSTP1* comme biomarqueur potentiel de l'agressivité de la maladie [8].

Panels de gènes d'intérêt

Trois études ont évalué les performances diagnostiques d'exploration de panels de gènes d'intérêt, incluant toutes *GSTP1* [4,9]. Hoque et al. ont examiné la méthylation de neuf promoteurs de gènes et a constaté que la combinaison de quatre d'entre eux (*p16*, *ARF* [P14], *MGMT* et *GSTP1*) positifs a une sensibilité de 87% et une spécificité de 100% [9]. Pour Rouprêt et al., la méthylation d'au moins un promoteur a été détectée dans tous les échantillons d'urine de 52 cas de cancer. Il n'a pas trouvé de corrélation entre la présence de cancer et la méthylation de *p14* ou *p16*. La combinaison de gènes (*GSTP1*, *RASSF1a*, *RARB* et *APC*) semble être le meilleur panel discriminant, avec une sensibilité de 86% et une spécificité de 89% [4]. Payne a exploré quatre gènes (*RASSF2*, *HIST1H4K*, *TFAP2E* et *GSTP1*) et n'a pas trouvé le rendement diagnostique nettement amélioré par rapport à un marqueur unique. L'aire sous la courbe (ASC) des quatre gènes testés variait de 0,64 à 0,69 pour discriminer les patients avec des biopsies positives. De tous les marqueurs inclus dans ces études, la méthylation *GSTP1* offre les meilleures performances diagnostiques. Enfin, une étude prospective multicentrique a testé 337 échantillons d'urine prélevés après un toucher rectal (178 cancers et 159 non cancéreux) par recherche de méthylation PCR de trois gènes d'intérêt (*GSTP1*, *RARB* et *APC*). Les auteurs ont démontré qu'un tel test apporte un gain dans le processus de décision de réalisation de biopsie. Dans cette série, qui a inclus des patients de neuf centres, l'ASC du test de détection de cancer a été de 0,72, supérieure à l'ASC du PSA sérique seul (en utilisant un seuil de 4,0 ng/ml). La valeur prédictive positive a été 54% chez les hommes avec un PSA compris entre 2–4 ng/ml et la valeur prédictive négative était de 87% avec un PSA compris entre 4–10 ng/ml. Ces résultats prometteurs placent les biomarqueurs de méthylation comme candidat à la détection du CaP.

Autres marqueurs d'ADN

La 8-hydroxydésoxyguanosine est un marqueur de l'oxydation cellulaire, le stress et a été associée à de nombreuses tumeurs malignes. Chiou et al. ont rapporté des concentrations supérieures de 8-hydroxydésoxyguanosine dans des échantillons d'urine de patients atteints de CaP par rapport aux témoins. Seize patients ayant un CaP et 24 témoins sains ont été inclus dans cette étude [10]. Certains caractères d'aneusomie, tels que la perte d'hétérozygotie, ont été identifiés comme pouvant témoigner de la présence d'un CaP. Deux études d'effectifs limités ont approché la sensibilité de LOH pour la détection du CaP entre 73 et 86,7% et la spécificité située entre 44 et 67% [11].

Marqueurs d'ARN

PCA3

Le gène *PCA3*, ou *differential display code 3* (DD3), est localisé en 9q21-22. Sa surexpression dans le CaP est quasi constante, de 66 à 140 fois plus importante que dans le tissu prostatique non tumoral [12]. Elle est inexistante dans les tissus sains autres que prostatique, ainsi que dans d'autres cancers.

Le gène *PCA3* produit des ARNm non codants, objet d'un dosage dans les urines, selon une technique de recueil standardisée après massage prostatique. Les ARN d'intérêt sont isolés et amplifiés selon différentes techniques basées sur la *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR). La mesure parallèle quantitative du nombre de copies d'ARNm du PSA (réputée constante dans le tissu prostatique sain ou tumoral) permet de considérer les échantillons urinaires comme informatifs ou non et d'obtenir le score PCA3, ratio du nombre de copies d'ARNm *PCA3* par le nombre de copies d'ARNm PSA.

Cinq études prospectives mono- ou multicentriques ont publié les résultats de l'utilisation du test urinaire *PCA3* chez des patients non sélectionnés ayant subi 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 [13,14]. 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. La valeur seuil de 35 semble être la plus discriminante. 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 [13,14].

Deux études prospectives multicentriques ont étudié l'apport diagnostique du test *PCA3* chez des patients ayant eu une ou deux séries de biopsies prostatiques négatives [15,16]. 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. Plus ce score est élevé, plus le risque de cancer est élevé. Le score *PCA3* était également indépendant du dosage du PSA total, de l'âge, du volume prostatique et du nombre de biopsies précédentes, permettant en cas de faible score, d'éviter aux patients de nouvelles biopsies. Le test *PCA3* améliore la prédiction de positivité des biopsies également en situation de biopsie initiale. L'ASC ROC du test est supérieure à celle du PSA total, du PSA libre et du PSA densité (Fig. 1).

Récemment, trois séries ont étudié la corrélation du score *PCA3* préopératoire aux facteurs d'agressivité et au volume tumoral sur les pièces de prostatectomies [17,18]. Pour Van Gils et al., 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) [17]. 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 Nakaniishi et al. (AUC à 0,76) [18]. En analyse multivariée, le score *PCA3* ressortait comme facteur prédictif indépendant

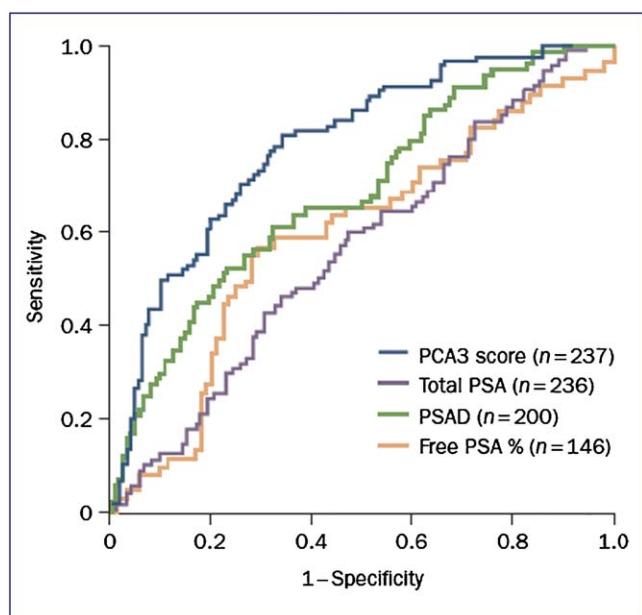


Figure 1. PCA3 versus antigène spécifique de prostate sérique (PSA) dans la détection du cancer de prostate en situation de biopsies initiales. Courbes ROC PCA3 (AUC 0.787), PSA (AUC 0.564), pourcentage PSA libre (AUC 0.594) et PSA densité (AUC 0.684). L'aire sous la courbe du PCA3 est significativement supérieure aux autres paramètres. Image originale de La Taille et al. *Improved prediction of biopsy outcome using prostate cancer gene 3 (PCA3) in men undergoing an initial biopsy. Presented at the 24th Annual European Association of Urology Congress, Stockholm, Sweden.*

du volume tumoral [30]. 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 [18]. En revanche, le score PCA3 ne semble pas corrélé au score de Gleason biopsique [15, 18].

Gènes de fusion

Les gènes de fusion *TMPRSS2-ETS* ont été mis en évidence dans la majorité de cancers de prostate. Le variant le plus habituel implique deux gènes situés sur le chromosome 21 : *TMPRSS2* et *ERG*. Le gène *TMPRSS2* code pour la sérine protéase transmembranaire 2 fortement exprimée par les cellules prostatiques normales et cancéreuses, son expression est régulée par les androgènes. Les gènes de la famille ETS (*ERG*, *ETV1*, *ETV4*) codent pour des facteurs de transcription intervenant dans les voies de signalisation qui régulent la croissance cellulaire, la différenciation cellulaire et la cancérogenèse. L'activation d'*ERG* par la fusion avec *TMPRSS2* serait responsable sous l'influence d'une stimulation androgénique de la surexpression de facteurs de transcription qui pourrait conduire à une reprogrammation épigénétique, une dysrégulation des voies de l'apoptose (Fig. 2). Les différentes isoformes des gènes de fusion et leur niveau d'expression pourraient également affecter la progression tumorale [19].

Depuis 2004, plusieurs études ont révélé une surexpression des gènes codants pour des facteurs de transcription

ETS : *ERG* et *ETV1* [20]. La découverte de ces réarrangements géniques est à la base de nombreux travaux de recherche laissant prévoir une nouvelle approche moléculaire diagnostique, pronostique et prédictive du CaP. La signification pronostique de ces fusions a été évoquée par plusieurs études de cohortes de patients présentant une tumeur localisée sous simple surveillance *watchful waiting* et ont retrouvé un impact négatif, avec une diminution de la survie spécifique en cas de fusion *TMPRSS2-ERG* [21]. La présence de ces gènes de fusion semble être corrélée aux autres critères d'agressivité tumorale : stade (pT3), marges positives, métastase ganglionnaire et score de Gleason élevé [22]. Comme l'ont montré Laxman et al., il est possible par technique PCR, à partir des urines de patients atteints de CaP localisé après massage prostatique, de mettre en évidence la présence de transcrits de fusion : 42 % des 19 patients porteurs d'un CaP de cette étude étaient positifs, la présence de ce gène de fusion a été contrôlée par un test tissulaire d'immunofluorescence [23]. Hessels et al. ont exploré les sédiments urinaires de 108 patients porteurs d'un CaP à la recherche de *TMPRSS2-ETS* [24]. La sensibilité et la spécificité du test par RT-PCR ont été de 37 et 93 %. Les valeurs prédictives négatives et positives, respectivement de 34 et 94 %. La présence de *TMPRSS2-ETS* n'a pas été corrélée au Gleason biopsique. La combinaison PCA3 et *TMPRSS2-ETS* a conduit à une sensibilité de 73 % pour la détection du CaP.

AMACR

La surexpression d'AMACR (isomérase impliquée dans la bêta-oxydation des chaînes ramifiées des acides gras et dérivés) dans le tissu prostatique tumoral est un facteur épidémiologique important, puisque la principale source d'acides gras se trouve dans le bœuf et les produits laitiers, dont la consommation excessive est corrélée au risque de CaP. Le taux de transcription d'ARNm AMACR rapporté à celui d'ARNm PSA semble avoir une valeur prédictive significative de CaP. L'association PCA3 et AMACR sur une cohorte de 92 patients a montré des performances de détection intéressantes. Le score AMACR a été affecté d'une sensibilité de 70 % et d'une spécificité de 71 %. Ces chiffres atteignent 81 et 84 % si l'on considère la combinaison des deux marqueurs [25].

GOLM1

La surexpression tissulaire des transcrits *Golgi Membrane Protein-1* (GOLM1, protéine impliquée dans les transferts moléculaires du réticulum endoplasmique) semble être significativement prédictive du CaP. L'étude des transcrits urinaires de GOLM1 a dépassé les performances diagnostiques de détection du PSA (ASC = 0,622 versus 0,495) dans une étude où sensibilité, spécificité et valeurs prédictives positives et négatives étaient respectivement de 59, 71, 73 et 49 %. L'augmentation de l'expression de GOLM1, protéine impliquée dans les transferts moléculaires du réticulum endoplasmique, a été constatée dans le tissu prostatique cancéreux. Laxman et al. ont montré que la surexpression tissulaire des transcrits GOLM1 était significativement prédictive du CaP [26]. Une étude plus large a analysé les échantillons d'urines de 195 patients atteints de CaP localisé et 124 cas témoins (biopsies négatives) [27].

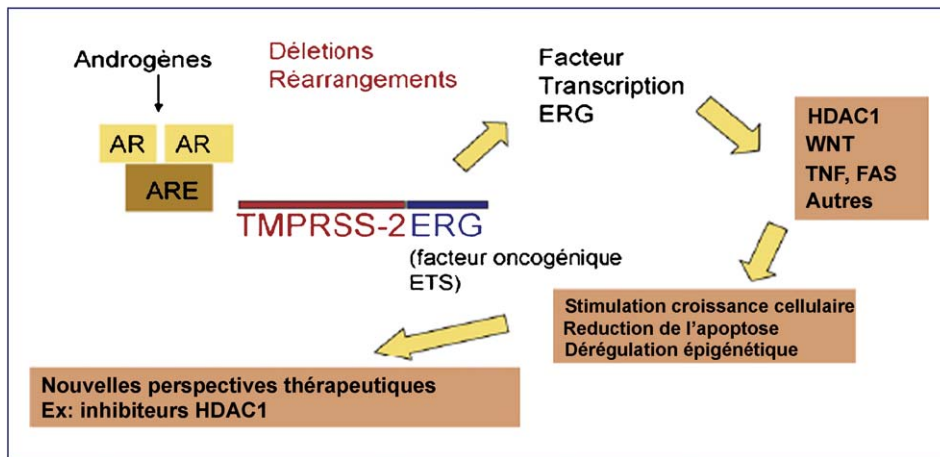


Figure 2. Oncogénèse médiée par les androgènes, après fusion/translocation TMPRSS2 dans les cancers de prostate. Fusion TMPRSS2-ERG : activation d'ERG par la fusion avec TMPRSS2 conduisant à une surexpression d'HDAC1, une reprogrammation épigénétique, une signalisation de WNT et une *down* régulation des voies de l'apoptose [33].

GOLM1 ARNm a dépassé les performances diagnostiques de détection du PSA (AUC 0,622 vs 0,495). La sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative ont été respectivement de 59, 71, 73 et 49%. Par ailleurs, l'expression protéique de GOLM1 urinaire a été trouvée significativement augmentée dans le groupe CaP (75 vs 28%) par rapport au groupe témoin.

Analyse multiplexe ARNm

Il incombe aux analyses multiplex la tâche d'augmenter la sensibilité de détection de la maladie, sans sacrifier la spécificité du test. Dans ce contexte, Laxman et al. ont mené une étude fondée sur l'amplification par PCR quantitative de l'ensemble du transcriptome urinaire chez 152 hommes atteints de CaP et 105 sujets témoins. L'expression des transcrits de GOLM1, SPINK1, PCA3 et de TMPRSS2-ETS ont été significativement prédictifs de la détection du CaP (Fig. 3). L'ASC ROC du panel multiplex était significativement plus importante que celle du test PCA3 seul (0,758 versus 0,662). La sensibilité et la spécificité de la combinaison de ces quatre marqueurs étaient respectivement de 65,9 et 76,0%. L'analyse de l'expression différentielle des ARNm de patients sains confrontée à celle de patients porteurs d'un CaP semble devenir un outil majeur du développement de nouveaux biomarqueurs.

Exosomes urinaires

Une nouvelle approche d'exploration des marqueurs prédictifs du CaP consiste en l'analyse des exosomes urinaires, vésicules sécrétées contenant des protéines et ARN fonctionnels. Plusieurs études ont montré une augmentation de la sécrétion d'exosomes chez des hommes atteints de CaP comparativement à des sujets sains. Les exosomes contiennent des acides nucléiques intacts que l'on peut amplifier plus sensiblement que l'ARN cellulaire. Nilsson et al. ont démontré que l'analyse du transcriptome dans les exosomes sécrétés est instructive, en mettant en évidence, à partir d'échantillon d'urine de patient atteint de CaP, deux marqueurs d'ARN connus : PCA3 et TMPRSS2-ERG [28].

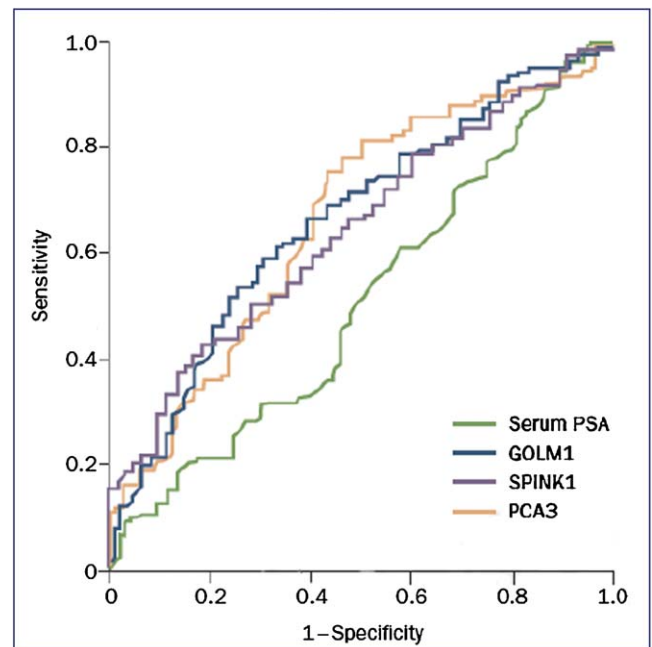


Figure 3. Courbes ROC de différents marqueurs d'ARN : GOLM1 (AUC 0.664), PCA3 (AUC 0.661), SPINK1 (AUC 0.642), supérieure à antigène spécifique de prostate sérique (PSA) (AUC 0.508) (46).

Marqueurs protéiques

Antigène spécifique de prostate sérique urinaire

La présence de PSA dans les urines après prostatectomie radicale a été reliée dès 1993 à la récurrence du CaP. Une étude prospective multicentrique s'est intéressée à la pertinence du ratio PSA urinaire/sérique dans la détection du CaP. Le rationnel de cette étude est la normalisation du PSA sérique par rapport à un taux constant (que le sujet soit atteint d'un CaP ou d'une hypertrophie bénigne) : le PSA urinaire. Cent soixante-cinq patients ont été explorés par biopsies prostatiques, positives pour 83 d'entre eux

[29]. Pour un PSA compris entre 4 et 10 ng/ml, l'analyse des courbes ROC a montré que l'ASC du ratio (0,63) était supérieure à celle du PSA sérique (0,55) et celle du rapport PSA libre/total (0,60). Une étude prospective similaire plus récente a été conduite chez 170 patients. Dans un sous-groupe dont le PSA sérique était compris entre 1,5 et 10 ng/ml, le ratio PSA urinaire/sérique était significativement différent entre CaP et hypertrophie bénigne de prostate ($p=0,007$). L'analyse de la courbe ROC a permis de fixer une valeur de PSA urinaire supérieure à 150 ng/ml pour une sensibilité de 95 % dans la détection du cancer.

Activité télomérase

TERT encode pour une télomérase transcriptase inverse qui joue un rôle majeur dans le maintien de l'intégrité des extrémités chromosomiques. Son hyperactivité est rapportée dans 90 % des CaP. La sensibilité de TERT en détection du CaP varie entre 36 et 100 % et la spécificité entre 66 et 100 %, selon des études de faibles effectifs [30].

Annexine A3

L'annexine A3 (ANXA3) appartient à un groupe de protéines de transport calcique dont le rôle est l'échange transmembranaire, la migration lymphocytaire et la stimulation de la réponse immunitaire spécifique. Son expression tissulaire a été (inversement) corrélée à la présence et à l'agressivité (pT et score de Gleason) du CaP. L'association PSA et ANXA3 a récemment montré des performances diagnostiques synergiques (ASC = 0,81) [31].

Métalloprotéines

Les métalloprotéines (MMP) de la matrice extracellulaire ont un rôle présumé dans la croissance, l'invasion tumorale et le pouvoir métastatique de nombreux cancers. La présence de MMP a une sensibilité de 82 % et une spécificité de 82 % pour la détection des CaP et semble constituer (pour MMP9), en analyse multivariée, un facteur prédictif indépendant [32].

Analyses protéomiques

Les plateformes protéomiques permettent l'analyse rapide de centaines de peptides, de caractériser leur signature métabolique et conduisent à l'identification de nouveaux marqueurs moléculaires du cancer. Cette approche participe à la compréhension des mécanismes de progression tumorale. L'approche protéomique offre l'avantage d'identifier les altérations post-transcriptionnelles et le niveau global d'expression protéique, qui n'est pas accessible aux techniques de biologie moléculaire basées sur la détection de l'ADN ou de l'ARN. Alors que l'analyse d'acides nucléiques nécessite l'excrétion de cellules dans l'urine, l'exfoliation épithéliale, la sécrétion de protéines peuvent être détectées probablement plus tôt dans le processus de cancérogenèse. Enfin, l'urine n'est pas un milieu de protéolyse intense contrairement au sérum ou au plasma sanguin.

Les premières expériences de profilage protéomique pour détecter le cancer de prostate ont été conduites par Rehman et al. qui ont identifié la calgranuline B (MRP14) comme marqueur potentiel du CaP [33]. À partir de 12 échantillons

d'urines faisant l'objet d'une analyse protéomique sur gel, les auteurs ont été en mesure de distinguer, au travers du profil de calgranuline B, les cancers des hyperplasies bénignes avec une sensibilité de 67,4 % et une spécificité de 71,2 %. A contrario, sur une série de 106 prélèvements, Muller et al. n'ont pas trouvé de relation entre le MRP 14 urinaire et le CaP. Un essai prospectif, multicentrique, incluant l'électrophorèse capillaire et la spectrophotométrie de masse, a porté sur 86 échantillons d'urines pour une série d'essai puis sur 264 patients pour une série de validation [34]. Un panel de 12 peptides urinaires a été identifié comme étant prédictif de la présence de cancer sur les biopsies prostatiques. Afin de s'assurer du caractère informatif des échantillons, un panel polypeptidique de référence renseignant sur la présence de suffisamment de fluide prostatique dans les urines a été utilisé et a conduit à l'exclusion de 20 % des échantillons urinaires. Utilisant le panel de 12 peptides, la sensibilité et la spécificité du test ont été de 89 et 51 %, atteignant 91 et 69 % si l'on intégrait l'âge et le pourcentage de PSA libre aux résultats. La plus importante étude de profilage métabolique dans le cancer de prostate a été conduite par Sreekumar et al. [35]. À partir de l'analyse de 262 prélèvements biologiques (tissus, urines, plasma) de patients cancéreux et de patients sains, en spectrographie de masse et chromatographie, cette étude a permis de séparer et identifier la composition atomique de 1126 métabolites. Parmi eux, six substances présentaient un profil métabolique suspect et en particulier la sarcosine, acide aminé naturel dérivé du N-méthyl de glycine. Le niveau de sarcosine s'est révélé plus élevé dans l'urine de patients souffrant d'un CaP métastatique dans 79 % des cas, plus élevé dans les prélèvements de patients porteur d'un CaP localisé dans 49 % des cas, par rapport à des sujets témoins dépourvus de sarcosine urinaire. Cependant, ces promesses de performance diagnostique ont été remises en cause très récemment par Jentzmlk et al. qui ont réalisé l'analyse en spectrophotométrie de masse de 103 échantillons d'urines de patients atteint de CaP et 33 patients témoins. La sarcosine n'a pas amélioré le pouvoir prédictif de détection du cancer du PSA total et a fait moins bien que le PSA libre. Les valeurs de sarcosine urinaires n'ont pas non plus été corrélées au stade ou au Gleason des CaP [36].

Autres marqueurs protéiques

La delta caténine, pour un seuil d'immunoscore de 45, a montré une sensibilité et une spécificité de détection de 87,5 et de 83,3 %, respectivement. C-Met est un récepteur à tyrosine kinase dont la mutation ou la surexpression ont été associées aux CaP agressifs. C-Met a été identifié comme très surexprimé dans un groupe métastatique comparativement à des CaP localisés. La thymosine B15, théoriquement absente du tissu sain, est réputée surexprimée dans plusieurs néoplasies. Un groupe de recherche a montré que, couplé au PSA sérique, le dosage urinaire de la thymosine B15 améliorerait de 15 % la spécificité et la sensibilité du test de détection du CaP comparativement au PSA seul [37]. La possible valeur diagnostique de la 5 α -réductase de type 2, du peptide *prostatic inhibin-like*, du bradeion, de la *mini-chromosome maintenance 5* a été évaluée sur de très faibles effectifs. La valeur diagnostique de la transferrine urine est

sujette à controverse et a été récemment déclassée en deçà des performances diagnostiques du PSA.

Conclusion

Les données de la littérature parcourues dans cette revue légitiment la stratégie d'utilisation des biomarqueurs urinaires dans la CaP. L'accumulation d'informations relatives à des marqueurs d'ADN, d'ARN ou protéiques de plus en plus nombreux semble prometteuse. Néanmoins, ces études peinent à inclure de larges effectifs. De plus, un biais de sélection de patients inclus, alors que le diagnostic de CaP est déjà établi, augmente artificiellement la sensibilité de ces tests par rapport à des conditions réelles de dépistage. La comparaison entre les études est difficile compte tenu de différences entre les cohortes, les méthodes de prélèvements de conservation, de traitement technique des échantillons urinaires, qui sont trop peu souvent décrites. La valeur diagnostique des marqueurs est souvent basée sur les résultats de six biopsies en sextant dont les performances diagnostiques sont elles-même sujettes à débat.

Malgré ces limites, le développement de ces marqueurs est un défi passionnant des années à venir, aux enjeux scientifiques lourds. Plusieurs biomarqueurs ont déjà surpassé certains aspects des performances du PSA sérique. Actuellement, le PCA3 a prouvé sa pertinence clinique dans la prédiction de positivité des rebiopsies prostatiques.

De nouvelles voies de recherche émergent, utilisant les technologies à haut débit qui faciliteront la découverte de nouveaux biomarqueurs utilisables à grande échelle.

Le champ de l'analyse protéomique a également émergé, qui pourrait conduire à l'identification de nouveaux marqueurs moléculaires. Les progrès futurs dans ce domaine viseront probablement à intégrer analyses protéomiques, transcriptomiques et approches multiplex afin d'identifier des combinaisons de biomarqueurs et d'optimiser la détection et la caractérisation du CaP.

Conflit d'intérêt

Aucun.

Références

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43–66.
- [2] Bozeman CB, Carver BS, Caldito G, Venable DD, Eastham JA. Prostate cancer in patients with an abnormal digital rectal examination and serum prostate-specific antigen less than 4.0 ng/mL. *Urology* 2005;66:803–73.
- [3] Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 2009;360:1320–8.
- [4] Rouprêt M, Hupertan V, Yates DR, Catto JW, Rehman I, Meuth M, et al. Molecular detection of localized prostate cancer using quantitative methylation-specific PCR on urinary cells obtained following prostate massage. *Clin Cancer Res* 2007;13:1720–5.
- [5] Harden SV, Sanderson H, Goodman SN, Partin AA, Walsh PC, Epstein JI, et al. Quantitative GSTP1 methylation and the detection of prostate adenocarcinoma in sextant biopsies. *J Natl Cancer Inst* 2005;95:1634–7.
- [6] Cairns P, Esteller M, Herman JG, Schoenberg M, Jeronimo C, Sanchez-Cespedes M, et al. Molecular detection of prostate cancer in urine by GSTP1 hypermethylation. *Clin Cancer Res* 2001;7:2727–30.
- [7] Jerónimo C, Usadel H, Henrique R, Silva C, Oliveira J, Lopes C, et al. Quantitative GSTP1 hypermethylation in bodily fluids of patients with prostate cancer. *Urology* 2002;60:1131–5.
- [8] Woodson K, O'Reilly KJ, Hanson JC, Nelson D, Walk EL, Tangrea JA. The usefulness of the detection of GSTP1 methylation in urine as a biomarker in the diagnosis of prostate cancer. *J Urol* 2008;179:508–11.
- [9] Hoque MO, Topaloglu O, Begum S, Henrique R, Rosenbaum E, Van Criekinge W, et al. Quantitative methylation specific polymerase chain reaction gene patterns in urine sediment distinguish prostate cancer patients from control subjects. *J Clin Oncol* 2005;23:6569–75.
- [10] Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an Elisa and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 2003;334:87–94.
- [11] Thuret R, Chantrel-Groussard K, Azzouzi AR, Villette JM, Guimard S, Teillac P, et al. Clinical relevance of genetic instability in prostatic cells obtained by prostatic massage in early prostate cancer. *Br J Cancer* 2005;92:236–40.
- [12] Vlaeminck-Guillem V, Ruffion A, Andre J. Value of urinary PCA3 test for prostate cancer diagnosis. *Prog Urol* 2008;18:259–65.
- [13] Tinzl M, Marberger M, Horvath S, Chypre C. DD3PCA3 RNA analysis in urine—a new perspective for detecting prostate cancer. *Eur Urol* 2004;46:182–6.
- [14] Deras IL, Aubin SM, Blase A, Day JR, Koo S, Partin AW, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol* 2008;179:1587–92.
- [15] Marks LS, Fradet Y, Deras IL, Blase A, Mathis J, Aubin SM, et al. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology* 2007;69:532–5.
- [16] Haese A, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, et al. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 2008;54:1081–8.
- [17] Van Gils MP, Hessels D, Hulsbergen-van de Kaa CA, Witjes JA, Jansen CF, Mulders PF, et al. Detailed analysis of histopathological parameters in radical prostatectomy specimens and PCA3 urine test results. *Prostate* 2008;68:1215–22.
- [18] Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV, 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.
- [19] Beuzeboc P, Soulié M, Richaud P, Salomon L, Staerman F, Peyromaure M, et al. Fusion genes and prostate cancer. From discovery to prognosis and therapeutic perspectives. *Prog Urol* 2009;19:819–24.
- [20] Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005;310:644–8.
- [21] Clark J, Merson S, Jhavar S, Flohr P, Edwards S, Foster CS, et al. Diversity of TMPRSS2-ERG fusion transcripts in the human prostate. *Oncogene* 2007;26:2667–73.
- [22] Mehra R, Tomlins SA, Yu J, Cao X, Wang L, Menon A, et al. Characterization of TMPRSS2-ETS gene aberrations in androgen-independent metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:3584–90.
- [23] Laxman B, Tomlins SA, Mehra R, Morris DS, Wang L, Helgeson BE, et al. Non invasive detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts in the urine of men with prostate cancer. *Neoplasia* 2006;8:885–8.

- [24] Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW, Witjes JA, Cornel EB, Schalken JA. Detection of TMPRSS2–ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:5103–8.
- [25] Ouyang B, Bracken B, Burke B, Chung E, Liang J, Ho SM. A duplex quantitative polymerase chain reaction assay based on quantification of alpha-methylacyl-CoA racemase transcripts and prostate cancer antigen 3 in urine sediments improved diagnostic accuracy for prostate cancer. *J Urol* 2009;181:2508–13.
- [26] Laxman B, Morris DS, Yu J, Siddiqui J, Cao J, Mehra R, et al. A first-generation multiplex biomarker analysis of urine for the early detection of prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:645–9.
- [27] Varambally S, Laxman B, Mehra R, Cao Q, Dhanasekaran SM, Tomlins SA, et al. Golgi protein GOLM1 is a tissue and urine biomarker of prostate cancer. *Neoplasia* 2008;10:1285–94.
- [28] Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, Baranov V, Mincheva-Nilsson L, Breakefield XO, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer* 2009;100:1603–7.
- [29] Irani J, Salomon L, Soulié M, Zlotta A, de la Taille A, Doré B, et al. Urinary/serum prostate-specific antigen ratio: comparison with free/total serum prostate-specific antigen ratio in improving prostate cancer detection. *Urology* 2005;65:533–7.
- [30] Botchkina GI, Kim RH, Botchkina IL, Kirshenbaum A, Frischer Z, Adler HL. Non invasive detection of prostate cancer by quantitative analysis of telomerase activity. *Clin Cancer Res* 2005;11:3243–9.
- [31] Schostak M, Schwall GP, Poznanović S, Groebe K, Müller M, Messinger D, et al. Annexin A3 in urine: a highly specific non invasive marker for prostate cancer early detection. *J Urol* 2009;181:343–53.
- [32] Roy R, Louis G, Loughlin KR, Wiederschain D, Kilroy SM, Lamb CC, et al. Tumor-specific urinary matrix metalloproteinase fingerprinting: identification of high molecular weight urinary matrix metalloproteinase species. *Clin Cancer Res* 2008;14:6610–7.
- [33] Rehman I, Azzouzi AR, Catto JW, Allen S, Cross SS, Feeley K, et al. Proteomic analysis of voided urine after prostatic massage from patients with prostate cancer: a pilot study. *Urology* 2004;64:1238–43.
- [34] Muller H, Haug U, Rothenbacher D, Stegmaier C, Brenner H. Evaluation of serum and urinary myeloid related protein-14 as a marker for early detection of prostate cancer. *J Urol* 2008;180:1309–12.
- [35] Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, Khan AP, Cao Q, Yu J, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature* 2009;457:910–4.
- [36] Jentzmik F, Stephan C, Schrader M, Erbersdobler, Kristiansen G, Lein M, et al. Sarcosine in urine after digital rectal examination fails as a marker in prostate cancer detection and identification of aggressive tumors. *Eur Urol* 2010;58:12–18.
- [37] Hutchinson LM, Chang EL, Becker CM, Ushiyama N, Behonick D, Shih MC, et al. Development of a sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay for thymosin beta15, a urinary biomarker of human prostate cancer. *Clin Biochem* 2005;38:558–71.