



**HAL**  
open science

# Facteurs de risques génétiques associés à la patho-biologie du vieillissement prostatique

Jean-Nicolas Cornu

► **To cite this version:**

Jean-Nicolas Cornu. Facteurs de risques génétiques associés à la patho-biologie du vieillissement prostatique. Génétique humaine. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014. Français. NNT : 2014PA066090 . tel-01037914

**HAL Id: tel-01037914**

**<https://theses.hal.science/tel-01037914>**

Submitted on 23 Jul 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale 394

*Groupe de Recherche Clinique – UPMC N°5*

*« Analyse sémiotique des données moléculaires en onco-urologie clinique »*

## **Facteurs de risques génétiques associés à la patho-biologie du vieillissement prostatique**

Par Jean-Nicolas CORNU

Né le 19 décembre 1978 à Rueil Malmaison

Thèse de doctorat en sciences de l'Université Pierre et Marie Curie

Dirigée par Monsieur le Professeur Olivier Cussenot

Présentée et soutenue publiquement le 11 mars 2014

Devant un jury composé de :

François Haab, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Président

Olivier Cussenot, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Directeur

Bernard Prum, Professeur des Universités, Rapporteur

Antoine Valeri, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Rapporteur

Bernard Grandchamp, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Stephen Chanock, MD, PhD, Director Department of Cancer Epidemiology and Genetics,

NCI\NIH, Bethesda, USA

*A Ariela, Dov, Boaz, Sharon, ...*

## Remerciements

---

### **A mon Directeur de Thèse, Monsieur le Professeur Olivier Cussenot**

Monsieur,

Travailler sous votre direction est un privilège tant vous personnifiez l'intensité du savoir, l'excellence scientifique et la hauteur de vue. Je mesure la chance qui est la mienne de m'épanouir et mener des travaux de recherche à vos côtés ainsi que toute l'équipe de recherche et collaborateurs du laboratoire. Par-delà mon admiration, recevez mes remerciements sincères pour votre disponibilité hors du commun et votre aide précieuse dans la réalisation de ce travail, qui, sans vous, n'aurait pas été possible.

### **A Mesdames Isabelle Cremer et Catherine Monnot, Directrices de l'ED 394**

Mesdames,

J'ai eu l'honneur de faire partie de votre Ecole Doctorale et de mener mes travaux de recherche sous cette noble bannière. Recevez mes sincères remerciements pour votre disponibilité et votre collaboration, ainsi que l'expression de mon plus profond respect.

### **A mon Président de Jury, Monsieur le Professeur François Haab**

Monsieur,

Vous avez accepté de présider ce jury de thèse de sciences. C'est avec honneur et fierté, intacts comme au premier jour, que ces travaux vous sont présentés. C'est aussi une nouvelle occasion de vous témoigner toute ma gratitude et le bonheur que j'éprouve à travailler à vos côtés au quotidien depuis notre première rencontre.

**A Monsieur le Professeur Antoine Valéri, Rapporteur**

Monsieur,

Vous avez accepté d'être rapporteur de ce travail. Que vous ayez jugé mon travail est pour moi un honneur ; recevez ici l'expression de toute ma gratitude et de ma profonde admiration.

**A Monsieur le Professeur Bernard Prum, Rapporteur**

Monsieur,

Merci d'avoir accepté de juger ce travail, qui je l'espère, a été à la hauteur de vos exigences. Recevez l'expression de ma gratitude et de ma plus grande considération.

**A Monsieur le Professeur Bernard Grandchamp, Membre du Jury**

Monsieur,

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse de sciences, ainsi que pour votre expertise et votre disponibilité. Recevez l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Stephen Chanock, Membre du Jury**

Stephen,

Vous m'avez accueilli un an dans votre laboratoire à Bethesda. Votre génie, votre grandeur d'esprit ont été toujours doublés d'une humanité, d'une disponibilité et d'une gentillesse hors du commun. Merci encore de tout ce que vous avez fait pour moi; puisse le futur consolider notre collaboration.

**A toute l'équipe du CeRePP et ses collaborateurs, sans qui ce travail n'aurait pas été possible :**

Géraldine Cancel Tassin

Cécile Gaffory

Valérie Ondet

Anne Lemaitre

Abdel Rahmène Azzouzi

Françoise Baschet

Eva Compérat

Luc Cormier

Isabelle Cussenot

Isabelle Drelon

Georges Fournier

Gaelle Fromont

Stéphane Larré

Morgan Rouprêt

Philippe Mangin

Guy Vallancien

Ainsi qu'aux équipes des CHU de Dijon, d'Angers et de la Pitié Salpêtrière.

**A l'équipe du Laboratory of Translational Genomics (LTG at DCEG NCI\NIH), ainsi que du SAIC-Frederick et du Core Genotyping Facility :**

Stephen Chanock

Meredith Yeager

Kevin Jacobs

Charles C. Chung

Zhaoming Wang

Hemang Parikh

Mitch Machiella

Nils Sidkar

Phoebe Lee

Kim Hye

Ainsi que Renée, Fidelia, Lea, Joe et les autres membres de l'ATC Building

**A mes collègues de l'équipe du service d'urologie de l'hôpital Tenon  
pour leur collaboration au quotidien, leur amitié, leur soutien :**

Bertrand Lukacs

Olivier Traxer

Mohamed Tligui

Calin Ciofu

Laurence Peyrat

Philippe Sèbe

Philippe Thibault

Sébastien Beley

Sabrina Benbouzid

Nicolas Henry

Dorian Legraverend

Saeed Al-Qahtani

Julien Letendre

Jean-Baptiste Terrasa

Marie Audouin

**A mes proches:**

Ariela, merci à toi d'exister, comme un prodige.

David, tu as été depuis notre première rencontre un repère, un frère, une référence dans ce monde « scientifique » que tu connais si parfaitement – merci pour tout

Jeff et Nic, merci pour votre éternel soutien plein d'amour, moral, matériel et logistique sans lequel nous n'en serions sans doute pas là aujourd'hui.

Norb et Rn, merci pour tout.

# Sommaire

---

<b>Remerciements</b> .....	3
<b>Sommaire</b> .....	9
<b>Introduction</b> .....	10
<b>Objectifs</b> .....	29
<b>I. Résultats (1) Epidémiologie du vieillissement prostatique</b> .....	30
a. Prévalence et incidence globale des pathologies du vieillissement prostatique .....	30
b. Bases de données populationnelles et administratives (étude OBSERVAPUR) : principes, objectifs, résultats et perspectives .....	31
c. Apport des bases de données phénotypiques : exemple de l'étude PLCO .....	33
d. Bases du lien épidémiologique entre cancer de la prostate, hyperplasie bénigne de la prostate et syndrome métabolique .....	33
<b>II. Résultats (2) Facteurs génétiques constitutionnels associés aux pathologies du vieillissement prostatique</b> .....	34
a. Formes cliniques familiales « génétiques » et approche historique par gènes candidats .....	34
b. SNPs associés au cancer de la prostate : revue de la littérature .....	35
c. Utilité des marqueurs génétiques en pratique clinique .....	60
d. Application des panels de SNPs pour la détermination du risque de cancer de la prostate .....	61
e. Vers une intégration de la patho-biologie du vieillissement prostatique .....	62
<b>III. Résultats (3) Outils prédictifs et biomarqueurs</b> .....	64
a. Principes des calculateurs de risque : exemple du cancer de la prostate .....	64
b. Marqueurs de risque génétique du cancer la prostate : principes et limites des panels de marqueurs génétiques .....	66
c. Outils de prédictions intégrés du vieillissement vésico-prostatique .....	68
d. Défis supplémentaires .....	70
<b>Conclusion</b> .....	72
<b>Bibliographie</b> .....	74

## Introduction

---

La prostate est un ensemble de glandes péri-urétrales (universelles chez les mammifères), organisées en une glande macroscopique chez certaines espèces. Ses variations en termes d'anatomie, de fonctionnement biochimique et de physiologie cellulaire sont considérables [1].

Chez l'homme, la prostate est au centre du tractus reproducteur masculin tant du point de vue anatomique que du point de vue fonctionnel (en entrant pour une part importante dans la constitution du sperme). Positionnée en situation sous-vésicale, entourant la partie initiale de l'urètre, sa place et sa configuration anatomique lui valent le qualificatif fréquent de « carrefour urogénital ». Elle est enfin, du fait de son rôle endocrine, au centre du système hormonal chez l'homme, étant elle-même dépendante pour son développement et son fonctionnement des androgènes et des œstrogènes circulants tout en jouant un rôle crucial dans le métabolisme des hormones sexuelles.

### Physiologie de la prostate normale

La prostate se développe chez les fœtus masculins au cours du 3ème mois, à partir du sinus urogénital. Sa formation est issue de l'invasion du tissu mésenchymateux adjacent par la composante épithéliale (mésodermique et endodermique) du sinus urogénital. La croissance dynamique de la glande et son développement en canaux systématisés et bilatéraux résulte d'une interaction moléculaire primordiale entre le tissu mésenchymateux et le tissu épithélial [2]. Certains gènes homeobox, parmi lesquels NKX3.1 et HOXB13, sont essentiels au développement et à la maturation prostatique. Cet échange entre cellules stromales et épithéliales couplé à l'action des stéroïdes sexuels est la base du principe de fonctionnement de la glande prostatique, qui est à l'âge adulte dépendante de la testostérone biodisponible plasmatique [3].

La prostate est composée, en volume, d'environ 30% de cavités, 30% de tissu épithélial, 10 à 20% de tissu musculaire et environ 20% de tissu conjonctif. Le fonctionnement de la prostate

normale est lié à l'interaction de l'épithélium et du « stroma prostatique », qui contient la matrice extracellulaire, des fibroblastes, des capillaires, des cellules endothéliales lymphatiques, des cellules musculaires lisses, des cellules neuro-endocrines et des axones.

L'homéostasie prostatique inclut de nombreux mécanismes : une régulation endocrine (via testostérone, œstrogènes, prolactine, vitamines et peptides sanguins), un mode neuro-endocrine (sérotonine, etc.), un mode paracrine (des facteurs de croissance produits localement par la prostate diffusent localement vers les cellules adjacentes via la matrice extracellulaire), un mode autocrine, un mode intracrine, ainsi qu'un rôle spécifique de la matrice extracellulaire elle-même en modifiant les paramètres d'adhésion cellulaire. Ce fonctionnement complexe résulte en la production par les cellules prostatiques de nombreuses molécules à action locale ou distante (mode endocrine, tableau 1) ainsi que de constituants libérés dans la lumière des acini prostatiques, constituants du sperme, dont le Prostate Specific Antigen (PSA), d'autres kallikréines, des transglutamisases et séménogélines, les prostate specific-membrane antigen (PSMA, et la  $\beta$ -microsémipoprotéine (MSMB)) [4].

L'action des stéroïdes au niveau cellulaire prostatique est résumée dans la figure 1. La conversion de la testostérone en DHT est sous la dépendance de deux isozymes :  $5\alpha$ RD1 et  $5\alpha$ RD2. Ces deux formes sont présentes dans la prostate mais également dans d'autres tissus (tableau 2). La  $5\alpha$ RD2 a une affinité plus élevée pour la testostérone. Ainsi, la conversion de la testostérone a lieu principalement dans les cellules stromales où la  $5\alpha$ RD2 est prédominante, mais est aussi possible dans les cellules épithéliales. La liaison de la DHT au récepteur des androgènes provoque l'activation ou la répression de gènes aboutissant à la sécrétion (entre autres) de PSA et PAP par la cellule épithéliale. Au sein de la cellule stromale, l'action de la DHT résulte en la production de substances variées, dont des facteurs de croissance et cytokines essentiels à l'homéostasie prostatique (prolifération, différenciation, apoptose).

Le rôle des œstrogènes au niveau des cellules prostatiques est complexe et mal connu. Les œstrogènes ont une influence sur l'homéostasie prostatique via les récepteurs aux œstrogènes ( $ER\alpha$  et  $ER\beta$ ), qui pourraient modifier l'action du couple DHT-AR sur l'ADN. Le récepteur  $ER\alpha$  est localisé dans les cellules stromales et son activation a un effet prolifératif sur les cellules stromales, et aboutit à une métaplasie épithéliale ; le récepteur  $ER\beta$  est localisé dans les cellules épithéliales et son activation entraîne des fonctions anti-prolifératives, de pro-différenciation, associées à un effet

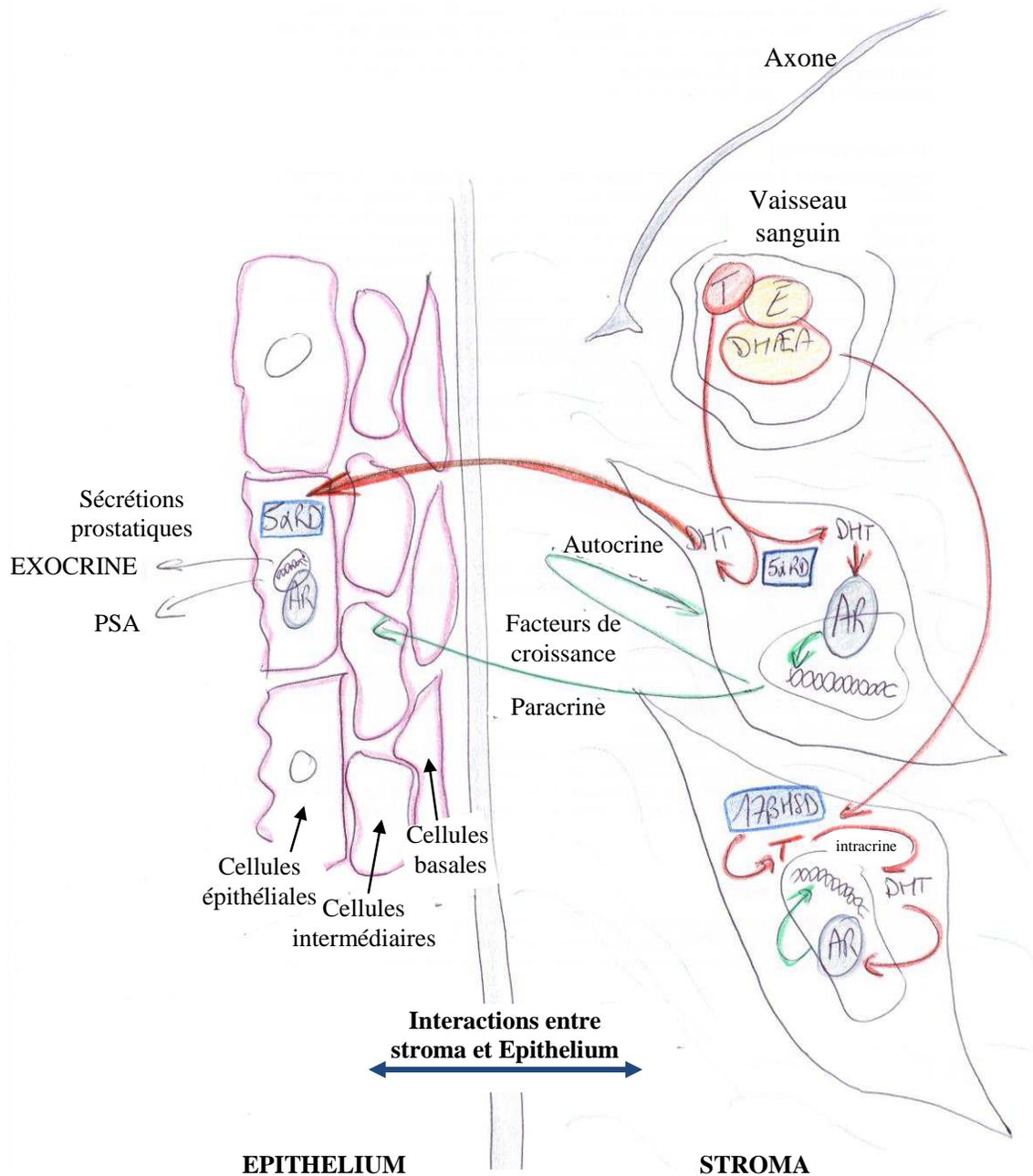
anti-inflammatoire et anti-oxydant. Le rôle de ces récepteurs a aussi été étudié en physiopathologie (CaP et HBP, voir ci-dessous).

**Tableau 1.** Principales molécules identifiées comme produites par les cellules stromales et épithéliales prostatiques, en réponse à une stimulation par la voie des androgènes (d'après [5]).

<b>Facteur</b>	<b>Récepteur</b>	<b>Actions</b>
FGF-2	FGFR-1,4	Prolifération, angiogénèse, et chimiotactisme, action autocrine et paracrine prédominant sur les cellules stromales, faible sur les cellules épithéliales
FGF7	FGFR-2	Prolifération épithéliale, différenciation stromale, développement de canaux glandulaires
FGF8	FGFR-1,4	Prolifération, stimulé par les androgènes (andromédine)
FGF9	FGFR-3	Mitogène
FGF10	FGFR-2	Régulation paracrine de la croissance épithéliale
TGFβ 1-3	TGFβ R 1-2	Inhibiteur de la croissance et de la migration des cellules épithéliales, stimulation de la migration de cellules stromales Transdifférenciation des fibroblastes en myofibroblastes Blocage de la croissance des cellules stromales Induction de la production de matrice extracellulaire Favorise la production de FGF-2
PDF	ERK1/2 pathway	Prolifération des cellules porteuses de AR
PDGF	-	Stimulation de TGF beta, IGF-1, HGF, FGF-2, endothelin-3
EGF/ TGF alpha	EGFR/erbB1	Croissance cellulaires, mitogène
HGF	c-Met, nucleolin	Croissance cellulaire, angiogénèse Effet paracrine sur les myofibroblastes et epithelium
IGF-1	IGF-R1	Produit par les cellules stromales, stimule la croissance et la prolifération des cellules épithéliales, blocage de l'apoptose
IL-6	IL6-R	Sécrété par les cellules stromales, sur un mode autocrine et paracrine, module l'activation du récepteur AR
VEGF		Sécrété par les myofibroblastes, stimule l'angiogénèse tumorale

**Figure 1.** Schéma récapitulatif du fonctionnement de la prostate normale.

## Fonctionnement de la prostate normale



- AR = Récepteurs aux androgènes
- 17βHSD = 17β hydroxystéroïde déshydrogénase
- DHT = dihydrotestostérone
- 5αRD = 5α-réductase
- T = Testostérone
- E = Oestrogènes
- DHEA = Dihydroépiandrostérone

## **Vieillesse prostatique**

Le vieillissement, selon l'organisation mondiale de la Santé (OMS), correspond à l'ensemble des processus physiologiques et psychologiques qui modifient la structure et les fonctions de l'organisme à partir de l'âge mûr (la limite retenue pour la vieillesse est variable, mais dans les pays industrialisés correspond à un âge de 65 ans) [6]. Le processus de vieillissement est la résultante des effets intriqués de facteurs génétiques (vieillesse intrinsèque) et de facteurs environnementaux, extrinsèques, auquel est soumis l'organisme. Le phénomène de vieillissement peut être analysé dans sa dimension sociale, épidémiologique, à l'échelle de l'individu, de l'organisme, de l'organe, de la cellule et enfin au niveau moléculaire. Il peut être normal, correspondant à la sénescence, ou pathologique, c'est-à-dire émaillé de pathologies dont l'épidémiologie, l'histoire naturelle et la physiopathologie sont liées à l'âge de l'individu.

A l'échelle de l'organe, le vieillissement pathologique de la glande prostatique prend le masque de trois cadres pathologiques principaux : l'hyperplasie bénigne de la prostate, le cancer de la prostate, et inflammation (les perturbations du système hormonal incluant le métabolisme de stéroïdes et le déficit androgénique lié à l'âge) [7].

## **L'hyperplasie bénigne de la prostate**

La croissance globale du volume prostatique avec l'âge est un concept ancien, déjà exposé par Sir Benjamin Brodie en 1853 sous la forme suivante : *'When the hair becomes grey and scanty, when specks of earthy matter begin to be deposited in the tunics of the arteries and when a white zone is formed at the margin of the cornea, at this same period the prostate gland usually, I might perhaps say invariably, becomes increased in size'* [8]. L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) est donc considérée de manière générale comme une pathologie liée au vieillissement [9]. L'HBP est d'après la littérature médicale récente une maladie fréquente, dont l'incidence (histologique par définition), est de 20% à 40 ans, de 70% à 60 ans [10], et jusqu'à 90% chez les hommes de plus de 90 ans sur les séries autopsiques [11]. Certains auteurs considèrent ainsi la survenue d'une HBP chez l'homme au cours du vieillissement comme un phénomène inéluctable et ubiquitaire [12].

La définition de l'HBP (HBP) est histologique et correspond à une hyperplasie globale de l'épithélium (dont les cellules basales) ainsi que des cellules stromales (cellules musculaires surtout), avec une augmentation de la quantité de matrice extracellulaire, une réduction des fibres élastiques, une infiltration lymphocytaire péri-canalaire, et le plus souvent des calcifications prostatiques [13]. L'HBP est une particularité chez l'homme et le singe et ne touche pas ou peu les autres espèces [10].

La physiopathologie de l'HBP est encore imparfaitement connue et implique par définition des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Les éléments retenus sont principalement les anomalies locales du système nerveux autonome, les dysfonctions endocrines prostatiques, les anomalies des cellules neuroendocrines, les anomalies des interactions entre stroma et épithélium, les anomalies épithéliales, les anomalies génétiques. Le rôle de l'inflammation a été documenté avec présence en excès de prostaglandines (PGE2) et régulation positive de la COX2 et qui produit un cercle vicieux impliquant un stress oxydatif permanent, également via d'autres chémokines [14]. Les anomalies du métabolisme du glucose, du cholestérol, du système immunitaire sont également évoqués comme liées à l'HBP, ainsi que les pathologies liées au syndrome métabolique [15-17]. Les calcifications prostatiques intraluminales ont été reliées à la mise en évidence d'une élévation des protéines S100 calcium-binding A8 et A9 en présence d'une inflammation [18]. Ces mécanismes potentiels sont résumés dans la figure 2.

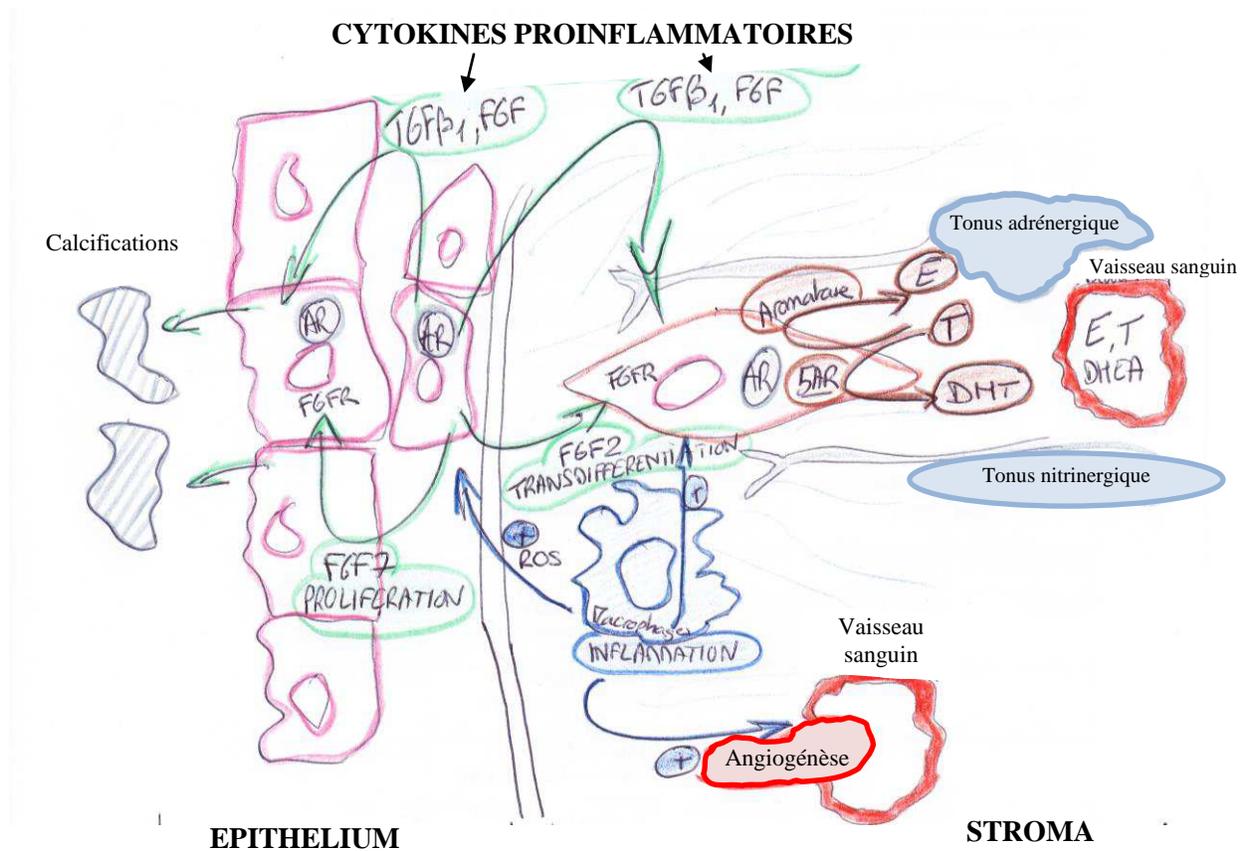
Le rôle des œstrogènes et des androgènes a été largement étudié, mais reste mal élucidé [8, 19, 20]. Les androgènes semblent avoir un rôle permissif dans la survenue de la maladie, alors que la responsabilité des œstrogènes semble beaucoup plus complexe. Les œstrogènes, localement ou par voie systémique, peuvent en effet avoir un rôle promoteur de la croissance cellulaire comme un rôle inhibiteur en fonction de du type d'œstrogène, du timing de l'exposition, de l'état prostatique, du médiateur de l'effet et du type cellulaire. L'aromatation locale, augmentant la production d'œstrogènes intraprostatique a ainsi été évoquée comme cause d'hypertrophie des cellules musculaires lisse du stroma prostatique, et une augmentation des récepteurs ER $\alpha$  dans le stroma et ER $\alpha$ +ER $\beta$  dans les cellules basales de l'épithélium ont été documentés. Cependant, si le rôle propre des œstrogènes et l'équilibre entre œstrogènes et androgènes sont évoqués, les mécanismes restent mal compris.

Sur le plan anatomique, l'HBP est un phénomène développé essentiellement aux dépens de la zone de transition, pouvant se matérialiser par des nodules macroscopiques laminant la zone périphérique [21]. Encore parfois appelée « adénome prostatique », l'HBP peut s'accompagner d'une augmentation variable du volume prostatique pouvant provoquer une obstruction sous-vésicale et générer des symptômes du bas appareil urinaire (SBAU), voire des complications telles que la rétention aiguë ou chronique d'urines, l'insuffisance rénale obstructive, l'infection urinaire, la lithiase vésicale ou la détérioration de la fonction détrusorienne. L'histoire naturelle de cette pathologie est la progression, avec une rapidité variable.

Sur le plan clinique, l'HBP peut ainsi générer des symptômes du bas appareil urinaire de tous types : troubles de la vidange, troubles de stockage, et/ou nycturie [22]. Cependant chez l'homme âgé la correspondance entre les symptômes chroniques du bas appareil urinaire et la présence d'une n'est pas univoque, car d'autres phénomènes du vieillissement peuvent engendrer des troubles de la miction [22, 23]. En particulier, le vieillissement vésical est une source fréquente et mal connue de symptômes du bas appareil urinaire et il convient d'effectuer. De surcroît, il n'existe pas de parallélisme entre la clinique, la présence d'une HBP et le volume de la glande prostatique lui-même [24]. Le bilan initial doit donc s'employer à déterminer la part de responsabilité de l'HBP dans les symptômes, sans qu'il existe à l'heure actuelle de biomarqueur ou d'élément radiologique fiable pour cela [25]. Le traitement médical est instauré en cas de symptômes gênants et repose sur l'utilisation de la phytothérapie, des alpha-bloquants (AB), et/ou des inhibiteurs de la 5-alpha-réductase (5ARIs) et /ou des inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5 (IPDE5) [25]. Le traitement chirurgical, indiqué en cas de complication ou d'inefficacité du traitement médical, consiste en une désobstruction de la filière urinaire par des techniques ablatives endoscopiques, de chirurgie ouverte ou plus rarement laparoscopique.

**Figure 2.** Schéma résumant les phénomènes physiopathologiques se produisant au cours de l'HBP.

## Physiopathologie de l'hyperplasie bénigne de la prostate



- AR = Récepteurs aux androgènes
- FGFR= FGF-récepteur
- ROS = espèces réactives de l'oxygène
- DHT = dihydrotestostérone
- 5αRD = 5α-réductase
- T = Testostérone
- E = Oestrogènes
- DHEA = Dihydroépiandrostérone

## **Le cancer de la prostate**

Le CaP est une maladie fréquente avec 56800 nouveaux cas par an en France en 2012 selon le rapport de l'Institut National du Cancer 2013 [26, 27], et son incidence est en augmentation globale dans la quasi-totalité des pays du monde depuis une vingtaine d'années [28]. Les facteurs de risque démontrés comprennent les antécédents familiaux, certaines mutations génétiques, l'origine géographique ; les facteurs hygiéno-diététiques n'ont pas d'influence majeure prouvée, tant du point de vue épidémiologique que du point de vue pathophysiologique. De fait, il n'existe pas de mesure préventive dans la population générale permettant de réduire le risque de survenue de CaP.

### *Facteurs de risques et prédisposition génétiques.*

D'après les données épidémiologiques, notamment comparant les jumeaux dizigotes et homozygotes, il existe une forte part due à l'hérédité pour expliquer la survenue d'un CaP [29]. Il existe plusieurs types de « prédisposition génétique » au CaP.

Dans certains cas plutôt rares (moins de 5% des cas), il existe une hérédité de type mendélienne à l'origine de la prédisposition qui peut être autosomique dominante, récessive ou liée à l'X. Ces formes sont cliniquement reconnues devant des critères cliniques particuliers : trois cas de CaP chez des apparentés du premier degré (père, fils ou frères) ou du deuxième degré (neveux ou oncles du côté maternel ou paternel), ou bien deux cas de CaP, diagnostiqués avant l'âge de 55 ans, chez des apparentés du premier degré (père, fils ou frères) ou du deuxième degré (neveux ou oncles du côté maternel ou paternel) [30]. Face à de tels tableaux, une enquête génétique à la recherche d'une mutation particulière est menée, ainsi qu'un conseil génétique.

Dans la majorité des cas, soit 95% des cancers, l'hérédité est à la fois polygénique et multifactorielle, due à la combinaison de marqueurs génétiques conférant individuellement un risque modéré de survenue de CaP, en association avec d'autres facteurs (environnementaux notamment). La recherche de ces marqueurs de prédisposition a bénéficié de l'initiative ayant mené à l'introduction de l'approche heuristique des Genome-Wide Association Studies (GWAS) qui ont permis d'identifier des marqueurs génétiques de prédisposition disséminés à travers tout le

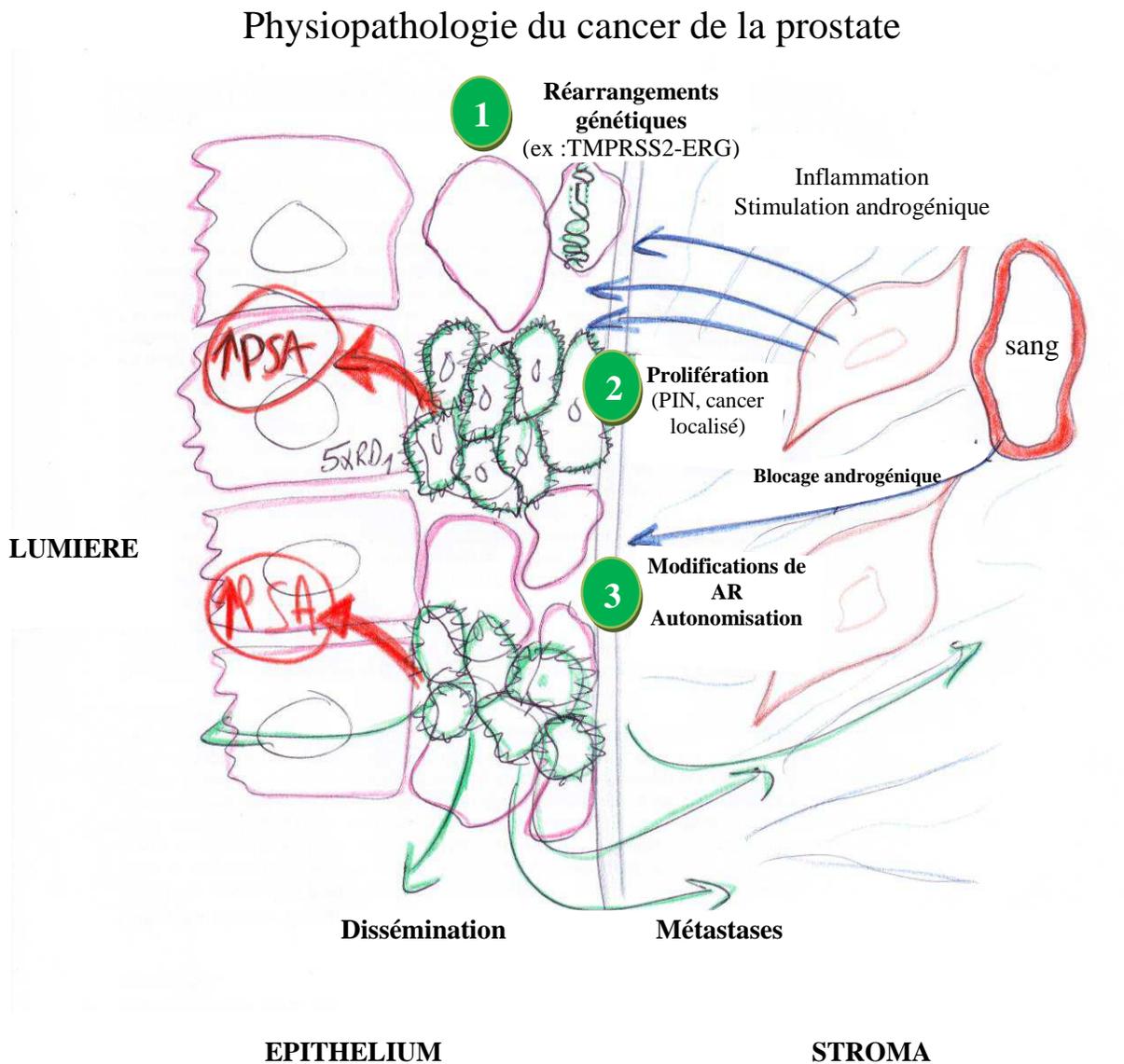
génomique. D'autres études basées sur les nouvelles approches de séquençage à haut débit dont l'*exome sequencing* ont permis l'identification d'autres mutations germinales prédisposantes.

Cette approche novatrice, qui sera développée dans la deuxième partie de cette thèse, a plusieurs implications potentielles en termes de dépistage, de diagnostic et de traitement de la maladie.

#### *Histologie et oncogénèse.*

Le CaP est le plus souvent un adénocarcinome, développé aux dépens de l'épithélium prostatique, envahissant d'abord la prostate puis la capsule prostatique avant de disséminer par voie lymphatique et hématogène. La physiopathologie classique initiale du développement carcinologique est largement admise : les cellules tumorales naissent au niveau de l'épithélium, dans les couches basales, et perdent leur équilibre prolifération/quiescence à la faveur de l'accumulation d'anomalies génétiques (mutations somatiques tumorales). Puis cette prolifération épithéliale augmente, avec une réaction stromale, puis les cellules tumorales envahissent le stroma (figure 3).

**Figure 3.** Résumé des phénomènes physiopathologiques au cours du CaP.



5 $\alpha$ RD<sub>1</sub> = 5 $\alpha$ -réductase de type 1  
 PIN= Néoplasie intraépithéliale

Cette vision simplifiée recouvre une notion essentielle de la physiopathologie du CaP qui est la notion d'agressivité du cancer. Il existe en effet différents « types » de tumeurs qui peuvent être déclinés sur le plan clinique [31], sur le plan thérapeutique, sur le plan histologique et sur le plan moléculaire : certains cancers sont dits « indolents », ou « peu agressifs » ou « non significatifs » et sont associés à une évolution clinique favorable, une faible capacité de progression, un profil histologique particulier avec une différenciation cellulaire importante (score de Gleason faible), et une forte sensibilité au traitement par déprivation androgénique. D'autres tumeurs sont dites « agressives », associées à des signes histologiques d'indifférenciation (score de Gleason élevé), à une évolution clinique plus importante, plus rapide et pouvant menacer le pronostic vital, car douées de potentiel métastatique. Cependant, la distinction entre ces deux « formes » est manifestement trop simpliste, car l'agressivité des cellules tumorales obéit à un continuum, à la faveur d'altérations moléculaires dont la séquence, la nature et le timing de survenue reste imparfaitement connu.

Au cours des années 2000, des travaux portant sur les proto-oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeur connus ont permis d'identifier des mutations somatiques des gènes TP53, PIK3CA et PTEN, ainsi que la mise en évidence dans de nombreuses tumeurs des produits de gènes de fusion entre TMRSS2 et ERG, présent dans environ la moitié des tumeurs prostatiques issus de patients caucasiens. Les mutations somatiques présentes au sein des cellules tumorales prostatiques ont été ensuite étudiées sur des échantillons histologiques issus de cancer de gravité variables, grâce au séquençage à haut débit de ces tumeurs ainsi que par le séquençage de l'exome (exome-sequencing) [32-34]. Dean et al [35] ont comparé ces trois travaux majeurs et mis en évidence les principaux résultats retrouvés dans l'ensemble de ces études (tableau 2).

De surcroît, d'autres études ont mis en évidence d'autres anomalies concernant la méthylation, le nombre de copies et des anomalies d'expression laissant entrevoir des mécanismes encore plus complexes [36]. Barbieri et al [37] ont proposé une représentation schématique des mutations survenant au cours de la carcinogenèse prostatique, proposant un début de classification moléculaire du CaP.

Tous ces travaux ont révélé l'extrême complexité des phénomènes mutationnels lors de l'oncogenèse et de la progression du CaP. Enfin, il n'existe pas encore de lien clairement identifié entre les différents marqueurs génétiques de prédisposition (mutations germinales) et l'histoire moléculaire du CaP.



*Problématique diagnostique.*

Le diagnostic du CaP est histologique et repose sur l'identification de cellules tumorales sur des prélèvements histologiques recueillies au cours de biopsies prostatiques. Les biopsies prostatiques, dont la morbidité est comprise entre 5 et 23% selon les études, et dont la mortalité est rare mais non nulle [38] sont pratiquées selon des règles de bonne pratique publiées par les sociétés savantes [39]. Leur indication repose sur la présence d'une anomalie au toucher rectal et/ou d'une probabilité élevée de CaP estimée en premier lieu par le dosage du Prostate Specific Antigen (PSA), qui peut être prescrit à visée diagnostique (i.e. face à une situation clinique faisant évoquer un CaP) ou à titre de dépistage (i.e. chez un sujet asymptomatique, présentant ou non des facteurs de risque de CaP) [39].

La problématique diagnostique du CaP est double.

*Premièrement*, le couple toucher rectal et dosage de PSA est imparfait, car (i) tout cancer, surtout si la lésion est antérieure ou de petite taille n'est pas forcément palpable au toucher rectal (ce geste manque de sensibilité) et (ii) le PSA est un marqueur dont la sensibilité et la spécificité sont plutôt faibles [40]. La valeur prédictive du PSA dépend du seuil utilisé mais sa valeur prédictive positive est de 25-35 % pour un PSA entre 4 et 10 ng/ml et de 50-80 % pour un PSA au-dessus de 10 ng/ml [41]. Ainsi, il existe un besoin d'affiner le risque individuel de chaque patient pour optimiser la stratégie diagnostique, doublé d'une problématique médico-économique si le cadre d'une campagne de dépistage est considéré. L'amélioration des performances du PSA peut se concevoir de trois manières :

- soit « corriger » les chiffres de PSA par l'adjonction de données clinico-biologiques, génétiques ou radiologiques supplémentaires, de façon à établir des scores de risque [42]
- soit remplacer le PSA par de nouveaux biomarqueurs associés au risque de CaP [40], y compris génétiques
- soit l'association des deux (PSA corrigé + biomarqueurs indépendants)

*Deuxièmement*, le diagnostic du CaP le plus pertinent du point de vue du dépistage et du point de vue de la santé publique est celui des formes graves ou à risque évolutif, pour éviter le risque de diagnostic massif de formes indolentes et éviter les risques potentiels de « surtraitement ». Cette problématique se pose pour les CaP localisés à la glande prostatique, de faible volume et de faible

grade de Gleason sur les biopsies. En l'état actuel des connaissances, la détermination du risque évolutif des tumeurs localisées n'est pas optimale. De même que pour déterminer le risque absolu de CaP chez un patient, une recherche similaire est menée à la recherche de nouveau marqueurs biologiques, cliniques, radiologiques et ou génétiques prédictifs de l'évolution ou de l'agressivité des tumeurs de la prostate, pour mener à la meilleure décision de traitement d'une tumeur localisée.

Ainsi, un des défis principaux de prise en charge du CaP aujourd'hui reste l'identification préthérapeutique (lors de la phase diagnostique) des formes potentiellement agressives, ce qu'aucun biomarqueur ou examen complémentaire ne permet encore parfaitement [31].

### *Traitements du cancer de la prostate*

Les traitements disponibles pour traiter le CaP ont considérablement évolué au cours des dix dernières années. Les approches thérapeutiques disponibles peuvent dorénavant être classées en approches :

- conservatrice : surveillance active et traitements apparentés dont la modulation hormonale
- curative ciblée par traitements focaux (cryothérapie, laser curithérapie focale) dont la plupart sont en cours d'évaluation
- curative locale par traitement radicaux (prostatectomie totale, curiethérapie, radiothérapie, ultrasons de haute fréquence)
- systémique, par une approche médicamenteuse aujourd'hui principalement indiquée et développée pour les formes de CaP disséminées et métastatiques

L'indication respective de ces traitements et leur association éventuelle est un des enjeux immédiats de l'évaluation initiale des cancers de la prostate décrite ci-dessus. Ces indications et l'utilisation des ressources thérapeutiques disponibles est aussi un facteur important dans la conception et l'évaluation d'une approche du dépistage du CaP qui prend en compte les données de survie et de qualité de vie des patients traités.

## Le déficit androgénique lié à l'âge

Le déficit androgénique lié à l'âge ou DALA est une entité physiopathologique longtemps restée floue. Ce phénomène associé au vieillissement masculin est un exemple de la difficulté à déterminer la frontière entre le normal et le pathologique.

### *Définitions.*

Le déficit androgénique lié à l'âge est actuellement défini par l'association de critères cliniques et biologiques, qui sont (i) l'existence de symptômes sexuels (baisse de la libido et faiblesse des érections matinales et dysfonction érectile) associé à une baisse de la testostérone totale (inférieure à 8 nmol/L) ou à une baisse modérée de la testostérone totale (<11 nmol/L) avec un niveau anormal de testostérone biodisponible (<0,22 nmol/L), mesurée sur deux dosages biologiques différents [43]. Ces critères précis sont ceux issus de L'European Male Ageing Study (EMAS). Le terme d'andropause n'est pas adapté pour la description de cette situation chez l'homme car à l'inverse de la ménopause il n'existe pas de déficit gonadique primaire profond et systématique [44]. La littérature internationale évoque le « late-onset hypogonadism », ou hypogonadisme masculin de survenue tardive qui est défini par L'ISSAM (International Society for the Study of the Aging Male), dans ses recommandations publiées en 2002, comme « un syndrome biochimique associé à l'avancée en âge et caractérisé par une diminution des androgènes dans le sérum avec ou sans diminution de la sensibilité aux androgènes...(qui) peut induire une altération significative de la qualité de vie et affecter de manière néfaste la fonction de plusieurs organes » [45].

### *Physiopathologie.*

La problématique centrale du DALA est celle de la défaillance de la fonction androgénique (c'est un hypogonadisme idiopathique lié à l'âge). Le niveau de testostérone produit par le testicule décrit régulièrement avec l'âge, de 1 à 2% par an partir de 40 ans ; il s'y associe une lente croissance de la luteinizing hormone (LH). Cette baisse de fonction testiculaire est une altération

de la fonction endocrine, due principalement à la réduction du nombre et de la fonction des cellules de Leydig [46]. Le taux sanguin de testostérone total est ainsi maximal aux alentours de l'âge de 30 ans puis décroît ensuite. Travison et al ont pu montrer au cours d'une étude longitudinale récente [47] qu'avec l'âge, après 55 ans, le taux total de testostérone décroît de en moyenne 1,4% par an, celui de testostérone libre de 2,7% par an, alors que le taux de Sex Hormon Binding Globulin (SHBG) augmente. Ces données expliquent que le taux de testostérone biodisponible (celle liée à l'albumine, ou libre, et non liée à la SHBG) diminue de façon relative. Il existe par ailleurs une très grande variabilité individuelle. En effet, de nombreux éléments influençant le taux de testostérone et de facteurs confondant et maladies associées devant faire interpréter les chiffres avec prudence (surpoids et maladies chroniques telles, diabète, hypertension artérielle, syndrome métabolique, insuffisance cardiaque, rénale et hépatique, bronchopneumopathie chronique et inflammation, etc) [43]. Ainsi, le dosage de la testostérone biodisponible est recommandé chez certains patients en complément de la forme totale, en particulier chez des patients obèses ou quand une hausse de la SHBG est suspectée [48]. Il existe enfin une variabilité inter-individuelle potentielle due à des polymorphismes des gènes des récepteurs aux stéroïdes, de la SHBG, ou du récepteurs des androgènes [49, 50].

La problématique de la définition des valeurs normales selon l'âge n'est toujours par résolue. La prévalence de l'hypogonadisme « biologique », correspondant à un taux de testostérone anormalement bas selon les normes de références, est de 20% environ [51] chez les hommes de 40 à 79 ans. L'absence de symptômes cliniques d'hypogonadisme malgré des taux considérés comme anormaux chez certains patients justifie l'inclusion des symptômes cliniques au sein de la définition du DALA.

Cette modification de la testostérone s'accompagne d'autres modifications hormonales au cours du vieillissement [46] : réduction de la sécrétion surrénalienne d'androgènes faibles, DHEA et son sulfate SDHEA, diminution de la concentration des récepteurs associée à une réponse variable des différents tissus aux androgènes. Le taux d'oestrogènes, lui, reste plutôt stable. La SHBG ayant plus d'affinité pour les androgènes que pour les oestrogènes, son augmentation contribue à accroître le déséquilibre de la balance androgènes/oestrogènes.

Ces anomalies hormonales liées à l'âge ont une influence directe potentielle dans la survenue et la progression de l'HBP, et du CaP, qui sont des pathologies hormono-dépendantes.

*Présentation clinique.*

Les signes cliniques liés au déficit androgénique lié à l'âge sont la baisse de la force musculaire ou de l'endurance, la baisse de la performance professionnelle ou athlétique, la baisse de la taille, les fractures, la baisse de la pilosité et les troubles des phanères, l'atteinte de la sexualité (baisse du désir, de la libido, de la force des érections) , la fatigue, la lassitude, le manque d'énergie et d'élan vital, les troubles de l'humeur (irritabilité, humeur dépressive,) , des troubles du sommeil, des sueurs et bouffées de chaleur, des troubles de la concentration, un hausse de l'adiposité, l'ostéoporose, une baisse de la taille des testicules, une gynécomastie, ainsi qu'une anémie normocytaire normochrome [46]. De nombreux questionnaires ont été conçus pour rechercher ces signes cliniques de manière systématisée, et sont utilisables en pratique clinique. Le questionnaire ADAM (Androgen Deficiency of the Aging Male) est validé et utilisable en Français [52, 53]. D'autres questionnaires comme le Ageing Male Symptom Score (AMS ) ou le Massachusetts Male Aging Study Questionnaire ont été proposés [54, 55].

**Tableau :** Version française du questionnaire ADAM. D'après [53].

<b>Version Française</b>
1. Avez vous constaté une diminution de votre libido (désir d'avoir des rapports sexuels) ?
2. Sentez vous un manque d'énergie ?
3. Avez vous constaté une diminution de force musculaire et d'endurance à l'effort
4. Avez vous remarqué que vous aviez rapetissé ?
5. Avez vous remarqué une diminution de votre joie de vivre ?
6. Vous sentez vous triste ou grincheux ?
7. Vos érections sont – elles moins fortes ?
8. Avez vous remarqué une diminution de votre capacité de « faire du sport » ?
9. Tombez vous endormi après les repas ?
10. Avez vous remarqué une diminution récente de votre capacité de travail ?

*Traitement du DALA.*

La prise en charge du DALA repose sur la supplémentation androgénique par l'administration de testostérone. Il n'existe cependant pas de seuil consensuel justifiant l'administration d'un tel traitement, qui doit aussi être entrepris en cas de symptômes cliniques marqués et suffisamment gênants. Avant l'administration de testostérone, les pathologies connexes évoquées ci-dessus (obésité, maladies chroniques) doivent être recherchées et traitées. Il existe enfin des contre-indications absolues qui sont le cancer du sein et le CaP [48, 56]

D'après les travaux de la littérature, des symptômes du bas appareil urinaire marqués, un risque de CaP important, une hémocrite élevée, une apnée du sommeil ou une insuffisance cardiaque non contrôlées [43].

## Objectifs

---

Les objectifs de ce travail étaient :

- de documenter l'épidémiologie des maladies du vieillissement prostatique (HBP et CaP)
- d'étudier leurs facteurs de risque intrinsèques (en particulier génétiques) et extrinsèques
- et de rationaliser les bases de leur prise en charge diagnostique intégrée en pratique clinique.

## Résultats (1) : Epidémiologie du vieillissement prostatique

---

### a. Prévalence et incidence globale des pathologies du vieillissement prostatique

L'incidence et la mortalité du CaP sont estimées à l'aide de registres nationaux et internationaux, et font l'objet de publications régulières [26, 28] grâce à des programmes de recherche et des registres dédiés. Il existe en revanche peu de données épidémiologiques concernant la prévalence de cette pathologie, qui n'est estimable que de manière indirecte. Certains projets concernant des bases de données administratives (dépendantes du système de santé et potentiellement incomplètes en raison des écueils inhérents à la collection des données) ont estimé la fréquence et le nombre de traitements administrés pour cancer de prostate (exemple de la prostatectomie en annexe 1). Les données populationnelles disponibles montrent une réduction de la part de l'usage de la prostatectomie totale, la part de la surveillance active et des traitements focaux augmentant [57-59]. Une étude récente ( issue du Urologic Disease In America Project) a par ailleurs montré aux Etats-Unis une stagnation voire une tendance baissière de la part de la curiethérapie [60].

Concernant l'épidémiologie de l'HBP, il existe plusieurs points d'entrée dans l'analyse. En effet, l'HBP étant un diagnostic histologique, il n'existe pas sauf dans les séries autopsiques de diagnostic formel de cette maladie au travers des études publiées. Les paramètres liés à l'HBP, analysable en épidémiologie sont :

- Les troubles mictionnels (symptômes)
- Le volume prostatique
- Les traitements médicaux et chirurgicaux

Plusieurs études ont estimé la prévalence des symptômes du bas appareil urinaire dans la population. Ces études ont toujours, par définition, concerné des échantillons de population, répondant à des questionnaires – symptômes utilisés de manière standardisée pour évaluer les troubles mictionnels chez l'homme [61]. D'autres études sur échantillons populationnels ont analysés la part relative des traitements chirurgicaux [62].

## **b. Bases de données populationnelles et administratives (étude OBSERVAPUR) : principes, objectifs, résultats et perspectives**

**Article:** Lukacs B, Cornu JN, Aout M, Tessier N, Hodée C, Haab F, Cussenot O, Merlière Y, Moysan V, Vicaut E. Management of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia in real-life practice in France: a comprehensive population study. *Eur Urol.* 2013;64(3):493-501.

**Introduction:** Les symptômes du bas appareil urinaire chez l'homme liés à l'HBP sont une des maladies chroniques les plus fréquentes chez l'homme, mais l'épidémiologie du traitement de ces troubles (médicaments utilisés, traitements chirurgicaux, combinaisons, séquences et trajectoires) reste imparfaitement connue. Les essais thérapeutiques, aux critères d'inclusion stringents et aux objectifs prédéterminés, sont insuffisants pour obtenir un reflet fiable des pratiques cliniques. Les données disponibles actuellement concernent essentiellement des groupes de patients plus ou moins représentatifs de la population générale. L'objectif de ce travail était de décrire de manière exhaustive, à l'échelle populationnelle, les traitements dispensés dans toute la population française pour traitement des troubles mictionnels de l'homme en lien avec une HBP.

**Méthodes :** L'ensemble des prescriptions de traitements médicaux par alpha-bloquants, inhibiteurs de la 5alpha réductase et/ou phytothérapie a été extrait des bases de données de l'assurance maladie (SNIIR-AM), recensant l'intégralité des prescriptions médicamenteuses remboursées par l'assurance maladie. Pour chaque prescription était obtenu le type de molécule, la date de prescription, la qualification du prescripteur et le lieu de prescription. L'ensemble des actes chirurgicaux en rapport avec le traitement d'une HBP a été recensé à partir de la base de données nationale PMSI, avec les renseignements suivants : date, durée de séjour, réopération, complications. Pour chaque patient traité, la séquence de traitements reçus de 2004 à 2008 inclus a été identifiée

**Résultats :** 2620269 patients ont été traités durant 5 ans, avec d'importantes variations géographiques, permettant d'établir que 13% des hommes de plus de 50 ans sont traités pour HBP en France. Le taux d'interruption de traitement a été estimé à 16% .Les alpha-1 bloqueurs ont été le plus largement prescrits, mais la phytothérapie, de façon surprenante, représentait 27% des monothérapies et était incluse dans 54% des bithérapies. Les médecins généralistes et les urologues (92% et 3,7% du volume de prescription, respectivement) avaient le même profil de prescription,

excepté pour les traitements combinés. L'initiation du traitement était médicamenteuse dans 95,4% des cas, principalement par alpha-bloqueurs (60,3%), puis phytothérapie (31,8%), et inhibiteurs de la 5-alpha réductase (7,9%). L'incidence trimestrielle des taux de changement de traitement était très élevée au cours du suivi (3% en moyenne).

La durée médiane d'hospitalisation après traitement chirurgical était beaucoup plus longue que celle rapportée dans les essais thérapeutiques. Les complications à long terme et le taux de ré-opération étaient en faveur de la prostatectomie par voie haute. Après un traitement chirurgical, de nombreux patients nécessitaient encore un traitement médical, dans 30% des cas associé à un anticholinergique.

**Conclusion:** Ces données démontrent que les traitements reçus en pratique clinique quotidienne sont très différentes de ceux décrits dans les essais thérapeutiques et les recommandations. Cette méthode unique de suivi des traitements pourraient permettre de proposer et de mesurer l'effet de mesures de santé publique dans le domaine.

### **c. Apport des bases de données phénotypiques : exemple de l'étude PLCO**

L'étude PLCO (Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian trial) [63] est une étude à grande échelle permettant de recueillir sur un grand nombre de patients (37000 hommes), de nombreux critères cliniques, qui font défaut dans les bases de données administratives. Cette étude a été conçue avec l'objectif initial d'établir l'efficacité d'une politique de dépistage organisé pour les quatre pathologies étudiées (CaP, cancer du poumon, cancer colorectal, cancer ovarien), avec un suivi pluri-annuel. Les patients ont été randomisés en deux groupes (groupe expérimental / groupe contrôle).

Ces données phénotypiques permettant de comparer différentes groupes, ont conduit à des multiples analyses secondaires concernant les effets des traitements, les effets du dépistage, etc, en pouvant utiliser les données d'un groupe contrôle. Ces données sont également précieuses pour conduire des analyses génétiques à partir d'échantillons malades vs. témoins.

### **d. Bases du lien épidémiologique entre cancer de la prostate et hyperplasie bénigne de la prostate.**

Plusieurs travaux ont mis en évidence la coexistence d'une HBP et d'un CaP, en premier lieu sur les séries autopsiques [13], ou la plupart des cancers de la prostate co-existent avec des lésions d'HBP. Par ailleurs, les études montrent la prévalence importante de l'HBP chez les patients présentant un PSA élevé, associé au risque de cancer la prostate [64, 65].

Par ailleurs, il existe un certain nombre de d'éléments qui ont été corrélés au risque de l'HBP et au risque de CaP : inflammation, anomalie du système endocrine (dont équilibre entre androgènes et œstrogènes), syndrome métabolique... [66-68]. Ces données suggèrent des éléments de physiopathologie commune dans la naissance ou l'évolution des deux pathologies.

## **Résultats (2) : Facteurs génétiques constitutionnels associés aux pathologies du vieillissement prostatique**

---

### **a. Formes cliniques familiales « génétiques » et approche historique par gènes candidats**

La caractérisation de formes familiales du CaP a été postulé dans les années 1950 [69]. Néanmoins, les cancers de la prostate héréditaires (au sens d'une hérédité mendelienne) ne représentent que moins de 5% des cas de CaP. Dans 15% des cas, le CaP survient dans un contexte d'antécédents familiaux, et 80% des CaP sont des cas « sporadiques » [30].

Les facteurs de risque génétiques du CaP ont ainsi été d'abord caractérisés « grossièrement » par la présence d'antécédents familiaux de CaP, ou l'appartenance à une ethnie (l'origine africaine étant considéré comme un facteur de risque ; le cancer étant considéré comme de plus faible incidence dans les populations asiatiques par rapport aux populations caucasiennes). Par la suite, des marqueurs génétiques de susceptibilité ont été caractérisés au gré des progrès de la génétique contemporaine.

Dans les années 1980, les études de ségrégation puis chez les jumeaux ont permis de postuler une hérédité autosomique dominante, liée à l'X et/ou récessive, puis de décrire des loci de prédisposition, menant à la caractérisation de gènes candidats [70].

Par la suite, plusieurs travaux collaboratifs ont été mis en place à l'échelle internationale, concernant l'étude de marqueurs génétiques des formes familiales (ICPCG, International Consortium for Prostate Cancer Genetics) [71] mais aussi des formes sporadiques (CGEMS- Cancer Genetic Markers of Susceptibility, Cancer Research UK et DeCode Genetics) [72] [REF]

Les études menées dans le cadre du CGEMS ont inclus les premières genome-wide association studies (GWAS) concernant le CaP, qui ont permis l'identification de loci de prédisposition par une approche heuristique, non basé sur une hypothèse a priori [72]. Cette approche intègre le concept de quantitative trait loci et d'hérédité polygénique. Il existe à ce jour plus de cinquante polymorphismes simples pour un nucléotide identifiés au cours des différents GWAS. Un des objectifs au cours de cette thèse était de recenser ces résultats par une revue

systématique de la littérature, rapportée ci-dessous (manuscrit finalisé pour soumission). Ces résultats ont été récemment amplifiés par les résultats obtenus avec la puce iCOGS sur les patients inclus dans le consortium PRACTICAL [73], et les données obtenues par les techniques de séquençage complet.

## **b. SNPs associés au cancer de la prostate : revue de la littérature**

### **REVIEW OF GENOME WIDE ASSOCIATION STUDIES (GWAS) AND SUSCEPTIBILITY TO PROSTATE CANCER.**

*Jean-Nicolas Cornu<sup>1,2</sup>, Charles C Chung<sup>1</sup>, Zhaoming Wang<sup>1,3</sup>, Olivier Cussenot<sup>2</sup>, Stephen J Chanock<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Laboratory of Translational Genomics, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, Department of Health and Human Services, National Cancer Institute/NIH, 8717 Grovemont Circle, Bethesda, MD 20892, USA.

<sup>2</sup>Hopital Tenon, Urology Department, University Pierre et Marie Curie (UPMC)-Paris 6, France

<sup>3</sup>Cancer Genomics Research Laboratory, SAIC-Fredrick, National Cancer Institute, Department of Health and Human Services, National Cancer Institute/NIH, 8717 Grovemont Circle, Bethesda, MD 20892, USA.

## INTRODUCTION

Genome wide association studies (GWAS) have substantially advanced the discovery of common genetic variants and their contribution to susceptibility to many different types of cancer, including prostate cancer (PrCa). This approach arose as a natural consequence of the generation of a draft sequence of the human genome and its annotation of common genetic variants in first the International HapMap and then, the 1000 Genomes Projects (1-4); these surveys have captured common genetic variation in continental populations with a minor allele frequency of greater than 1%. The success of GWAS has been based on the collaborative interactions between epidemiologists and geneticists to discover regions harboring biology, that in turn, represents the next major challenge- to understand the basic biology underlying PrCa susceptibility alleles.

To date, GWAS have successfully been employed to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) markers for over 250 regions associated conclusively with at least two dozen different cancers- from common cancers, such as breast and PrCa to rare pediatric cancers, Ewing sarcoma and neuroblastoma (5-9). The identified loci, marked by common variants point to regions in the genome that require fine-mapping and then subsequent laboratory investigation to explain the biological basis of the SNPs that directly associate with the cancer of interest (5, 10).

The discovery and characterization of susceptibility loci provide two important elements: first, the localization of regions that biologically contribute to carcinogenesis, and second, the accumulation of a sufficiently large number of independent markers (i.e., marking distinct and uncorrelated places in the genome) that can be studied in subsequent studies to determine if they either provide robust information for reclassification of risk or as a set that can be used in risk models for either public health or individual decisions. Though many have hoped that the latter would have been realized by now, it has not. This is partly due to the spectra of genetic architectures of genetic susceptibility to different cancers (11, 12); for example, the range of effect sizes and allele frequencies varies between prostate cancer (PrCa) and breast cancer, the latter of which includes BRCA1, BRCA2, TP53, and an emerging set of moderately penetrant genetic mutations. Clearly, a tremendous amount of work is still required to establish the role of common SNPs in risk modeling with clinical relevance. Furthermore, the new findings of GWAS establish a new foundation for understanding the factors contributing to a disease, such as PrCa, for which there have been few exogenous risk factors, of which PrCa is a good example (13).

Over the past six years, the prosecution of GWAS in many different complex diseases, including over two dozen cancers has led to a set of important guidelines for interpreting reported findings. Because thousands of SNPs are assayed on the commercial SNP microarray chips, over several hundred thousand distinct regions of the genome are tested. Hence, the challenge of false positives has been addressed by the emergence of the threshold of genome-wide significance for reporting GWAS results, now generally defined as a trend association test with a p value of  $5 \times 10^{-8}$  or smaller after adjustment for age and covariates (5). Conclusive findings are established based on independent replication in follow-up studies or very large meta-analyses (14, 15). The value of independent replication cannot be overstated to guard against the false positive claims and also it should be kept in mind that the extensive follow-up required should not begin unless there is a small chance for a false positive finding (16, 17). Replication studies can be part of the initial work (as second or third stage) but are reassuring when reported by other groups, to strengthen the association initially described (15).

The basic principle behind discovery of new regions associated with susceptibility to a cancer is that a large set of surrogate markers are tested in cases and controls to determine if the markers point to regions harboring susceptibility alleles. The actual functional marker does not have to be tested but instead, its surrogate, which is in linkage disequilibrium (LD), can be tested and replicated in subsequent studies, pointing to the susceptibility haplotype(s). Consequently, for nearly every locus, there is a set of highly correlated SNPs. In fact, there are very few instances in which there is only one GWAS marker, known as a 'singleton'. On occasion, a more common genetic marker may point towards a less common variant with a stronger effect, known as a synthetic association (18). With different commercial and custom SNP microarrays, it stands to reason that different but correlated SNP markers can be reported. Thus, detailed studies of LD between the SNPs located in the same region, known as fine mapping, conducted by further work or in silico consultation with emerging large databases, provides the basis for collecting the set of possibly related SNPs, that could point towards the same signal as part of a haplotype.

Since population genetic studies have clearly shown that distinct histories can result in different patterns of LD, and thus sets of markers at distinct allele frequencies, interpretation of studies across populations requires assessment of the underlying substructure. Indeed, most of the initial GWAS studies have been conducted in subjects of European ancestry, but progressively more have

been conducted in subjects of Asian and African ancestry (19-22). Since there are different patterns of LD, it is not surprising that markers used to identify PrCa in men of European ancestry do not replicate robustly in men of other continental histories. This can be due to differences in allele frequencies, which can have an impact on power and it is important to keep in mind the bias of the commercial SNP microarray chips, focused on European ancestry. Still, the majority of PrCa signals in Europeans have been shown to replicate in men of African and Asian ancestry- and certainly the converse for many of those first reported in Asian men (23, 24).

This review has surveyed the published literature and collated data on known GWAS signals reported to be associated with PrCa susceptibility, including data reported on different populations (of European, African and Asian ancestry). GWAS in PrCa have been successful, identifying nearly 51 regions that contribute to susceptibility to PrCa overall, but interestingly, none of the regions clearly predict for aggressive or non-aggressive disease. Similarly, variants associated with risk for prostate cancer overall do not appear to predict for metastatic disease. In this regard, the PrCa GWAS suggest that specific regions in the genome that harbor variants that contribute to carcinogenesis may be distinct from those that influence outcome or grade of disease, once established. To date, there has been some effort to collect and assess the reported regions between SNPs and PrCa. This information could be important for the design of future GWAS studies, risk modeling and post-GWAS investigations.

## **MATERIAL AND METHODS / EVIDENCE ACQUISITION**

### *Literature search.*

We conducted a literature review in September 2012 beginning with a Pubmed search using the words prostate cancer associated with genome wide, GWAS, SNP, polymorphism, association study, or replication. A first selection was made, based on the abstracts of the papers. The relevant articles were classified in three categories: multistage GWAS (studies containing at least two successive analyses on two different population datasets), replication studies (studies led on one case-control set of patients, based on previously identified SNPs), and fine mapping studies (studies focused on a region of interest previously identified by GWAS). Case-case studies, studies focused on a particular PrCa phenotype, and linkage analyses were excluded.

### *Data collection.*

For each paper, we gathered the population information (ethnicity, number of cases and controls, cohort names), genotyping methods and facility, and relevant SNPs identified in the study. For each SNP, p-value, odd ratio (OR), 95% confidence interval (CI), and reported risk allele frequency (RAF) were included in the dataset when available. Included SNPs were drawn from: (i) multistage GWAS reports, all SNPs identified by the study reaching genome-wide significance (stated as a p-value of  $10^{-7}$  or less (15)) were included (ii) fine mapping studies, all the relevant hits, previously reported or newly identified reaching genome-wide significance or being associated with PrCa after inclusion in a multivariable model were considered and (iii) replication studies, all the SNPs associated with PrCa with a p-value under 0.05 were included.

### *Data Analysis.*

“Known GWAS hits” associated with PrCa. Our first goal was to identify known GWAS markers associated with PrCa risk, including a screen for multistage GWAS studies with  $p\text{-value} < 10^{-7}$ . This group of SNPs was aligned with SNPs described in the NHGRI database associated with PrCa (6) and all the SNPs linked to PrCa according to a recently published online database collecting SNPs with  $p\text{-value} = 10^{-4}$  (25). Fine mapping studies were reviewed to find additional significant hits. The SNPs selected during this phase were those identified as link to PrCa with genome wide significance (previously described or not) or being assessed as a new independent hit according to multivariable analyses and/or LD pairwise analysis.

We conducted a pairwise LD analysis at each locus based on HapMap 3 data available in each of three populations (26). In case of multiple SNPs in strong LD ( $r^2 > 0.2$  and or  $D' > 0.8$ ) published at one unique hit, the representative SNP was chosen with the smallest p-value in the GWAS multistage studies and/or the fine mapping studies when available.

GWAS signals in multiple populations. The level of evidence for each independent signal was assessed in three continental populations, European ancestry (EU), African Americans or African ancestry (AA), and Asian (AS) populations. For each SNP belonging to the “known GWAS hits”, we reported its MAF, p-value, OR, 95% CI according to the reference study (as stated in our first analysis here above), and looked for any significant correlation (with a p-value under 0.05) of this SNPs with PrCa among our set of replication studies, and also in supplementary data of multistage

GWAS studies when available. When a SNP was not tested nor significantly associated with PrCa in one population, we searched for results obtained with other SNPs at the same locus. If one surrogate in strong LD with the GWAS reported SNP, it was also included.

## RESULTS

GWAS findings associated with PrCa susceptibility overall.

The 51 distinct loci associated with susceptibility to PrCa retrieved from the literature are represented in Figure 1 (need updating by CC Chung) and listed in table 1. Of 22 GWAS multistage studies published in the literature (19, 20, 22, 27-44), 18 have reported at least one significant hit associated with PrCa risk exceeding the threshold for genome wide significance. These studies have permitted to identify significant SNPs at 39 different regions of the genome, some of which (11q13.3, 5p15.33, 8q24.21, 17q12, 19q3) harbor more than one independent signal as highlighted by fine mapping studies focused on the region of interest (35, 45-53).

The 8q24.21 locus was one of the first reported regions and has been repeatedly replicated. In multistage GWAS, eight SNPs at this locus (rs445114, rs1016343, rs1447295, rs1512268, rs4242382, rs4242384, rs6983267, rs16901979) have been reproduced multiple times and ten SNPs (rs620861, rs1456315, rs6983561, rs7837688, rs7841060, rs10086908, rs10090154, rs12543663, rs13252298, rs16902094) have been reported once as reaching genome-wide significance. However, a number of these SNPs are in strong LD and thus point towards the same locus, and presumptively, the same functional variants responsible for the direct association. In a fine mapping study (37), based on a second phase of a GWAS, Al Olama et al have demonstrated that all these SNPs fall into five different LD blocks. For each block, we have determined the SNP with the most significant association. For block 1, 3 and 4 containing respectively 4, 5 and 5 SNPs, the representative variants were chosen to be rs10086908, rs620861, and rs6983267 based on the strength of association. In Block 2 some significant SNPs in low LD are reported. In the Al Olama study the best correlation was for a group of 3 SNPs rs1016343, rs13252298 and rs6983561, proposed to be a risk haplotype (37). We thus considered that one hit was significant in this group and although there may be more a more complex haplotype with less common variants exerting a stronger effect, as per the 'synthetic association' described above. The last group of centromeric

markers, known as block 5 has been reported primarily in men of African ancestry and the LD across the region is quite complex, thus explaining the reports of different but somewhat correlated variants.

Two other regions harboring more than multiple, independent SNPs are 11q13.3 and 17q12, both of which have undergone fine mapping with subsequent genotyping and next generation sequence analysis. For 11q13.3, a fine mapping study (49) identified three independent signals, completing a mapping study that confirmed the initial GWAS data (35). The 17q12 region has been explored by two fine mapping studies. Sun J et al (54) have identified two independent loci on 17q12 with evidence for a recombination hotspot between them. Region 1 (HNF1B introns 1 and 2) most important signal was rs4430796 and Region 2 (HNF1B intron 4) most important signal was rs11649743. These results were complemented by Berndt et al (51) who also conducted a fine mapping of the region, with 79 SNPs in a large sample of patients of European Ancestry. Ten SNPs were significant; eight of them were in region1. While rs4430796 was the most significant, located in region 1, it did not explain all the risk since one other SNP (rs7405696,  $p=9.35e-23$ ) remains significantly after adjustment for rs4430796 ( $p=0.007$ ). There was no evidence for a recombination hotspot. In region 2, two SNPs were significant: rs11649743 ( $p=3.54 e-28$ ) and rs4794758 ( $p=4.95e-10$ ). The 2 SNPs seemed correlated ( $r^2=0.61$  in controls) but rs4794758 was more powerful in a multivariable model.

#### *GWAS hits in different populations.*

Of the 51 known GWAS hits identified in the literature, only one was initially discovered in AA, ten in AS and 40 in EU populations. The majority of the 11 discovered in AA and AS were also replicated in population of EU ancestry although constant efforts have been made in the past years to replicate the SNPs in other populations (23, 24, 46, 54-82). Table 2 presents the associations of each of the known GWAS hits in the three populations, according to whether discovered in a multistage GWAS or case-control studies.

As the number of susceptibility regions continues to increase, not all have been tested in each of the three continental populations utilized for discovery; for example a subset of loci have not been reported in European (6), African (17) and Asian (8) ancestry populations (Table 2). As expected, a

subset of tested markers have not shown evidence for replication in different populations. In some cases, another SNP in strong LD with the index SNP was representative of a positive correlation. Based on current reports, evidence has been reported for 16 loci for PrCa susceptibility across populations. The design and the use of commercial SNP microarrays biased towards European ancestry can have an impact on replication efforts. Similarly, the combination of sample size and allele frequency for the tested variants contribute to the power to detect association, a point emphasized by Hayman et al in the largest scan of PrCa in men of AA ancestry (23).

#### *Less common susceptibility alleles in PrCa*

In addition to susceptibility SNPs, germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes have been investigated, initially to document the heritability of the disease in cases of familial history of PrCa. Although linkage studies have not consensually identified any highly prevalent mutation predisposing to PrCa, some reports have brought increasing evidence about the association between BRCA1/BRCA2 mutations and the risk of PrCa (83). Indeed, studies conducted by the Breast Cancer Linkage Consortium reporting an increased risk of PrCa in BRCA1 mutation carriers in men of less than 65 years (RR=1.82) (84) and in BRCA2 mutation carriers (RR=4.65 whatever the age, RR=7.33 in men aged of less than 65 years) (85) have been confirmed in large cohort studies, with a 3.5-fold and 8.6-fold increase in the risk of PrCa associated to BRCA1 and BRCA2 mutations, respectively (86, 87).

Mutations in BRCA1 and BRCA2 genes have shown to confer a higher relative risk to their carriers compared to SNPs identified in GWAS studies, their frequency in the general population remains very low, around 2% for all BRCA2 mutations and less than 1% for BRCA1 mutations. However, their strong effect should make them useful to further empower the statistical risk prediction models for PrCa, given that the GWAS era is shifting, at least in part, to the discovery of rare variants with higher genetic effect (88). Furthermore, the association with young age onset disease and the suggested correlation with aggressive pathologic and clinical features in multiple reports (83) could be of particular interest regarding screening and management of PrCa in BRCA mutation carriers.

Targeted sequencing following linkage studies on hereditary PrCa has recently led to the identification of a new variant in 17q21 (HOXB13 G84E) (89). This allele is considered as a rare

variant predisposing to PrCa as it was found in 0.1% in control subjects and 1.4% in PrCa cases. Whole genome sequencing has also permitted to discover rare variants predisposing to PrCa. Using a GWAS approach based on tenfold coverage whole genome sequencing of 1795 Icelanders, Gudmundsson et al not only confirmed the HOXB13 variant but highlighted a new independent rare variant at 8q24 associated with PrCa (rs188140481[A],  $p= 6.2 \times 10^{-34}$ ) (90). Next generation sequencing should hence be seen as a promising tool for further identification of new hits related to increased PrCa risk.

## DISCUSSION

PrCa is the most common cancer in men in the US with approximately 240,000 new cases and more than 28,000 deaths estimated in 2012 (91). Since no clear risk factor has been yet identified for this disease excluding age, race and familial history, and given the rising doubts about Prostate Specific Antigen (PSA) performance and the lack of alternative reliable biomarkers (92), genetic markers (including SNPs) have established an important foundation for both understanding the basic biology of contributing factors to carcinogenesis and also the future possibility of using the risk markers in risk prediction models.

Many new loci, marked by common and uncommon SNPs remain to be discovered based on current modeling, although most or all are expected to be due to either lower risk allele frequency and/or lower effects (7). PrCa is a complex disease, that with new statistical methods, has been modeled as a polygenic disease in which hundreds of variants, each with small effect could contribute to risk. The current known SNPs have been estimated to explain only a part of the genetic risk of the disease, estimated as around 15% (23, 38, 93), and thus, are not ready for individual risk assessment in current clinical practice (94, 95).

Post-GWAS initiatives are beginning to elucidate the biologic basis of the direct association, marked by SNPs identified in GWAS. For instance, the marker at 10q11 maps to the promoter of the MSMB gene (47). This variant not only influences expression of MSMB but the neighboring gene, NCOA4 (96). Lastly, novel hybrid transcripts between these two genes could contribute to the disease (97). This example underscores the complexity of the underlying biology, and indicates each locus will require individual attention to understand its contribution to PrCa biology.

Because the discoveries have been primarily in men of European ancestry, the reported efforts for mapping and modeling have been focused on this population. Still, the literature shows some differences in the associations between the various SNPs and PrCa risk in the European, African and Asian populations. Our results suggest that despite recent efforts to replicate the known SNPs in African and Asian populations, some associations failed to be demonstrated in these groups even through powerful studies (19). Because PrCa incidence is known to be lower in Asian countries than in western countries, and higher in men of African descent than in men of European descent (98), some genetic factors can then also be suspected to explain the variations in SNPs significance across these populations (99). Indeed, three populations have different genetic backgrounds notably in LD and haplotype structure (7) that could impact the relation between tagging SNPs and causal variants. The interaction between germ-line and somatic events in PrCa is complex and could partially explain some of the differences, supporting the hypothesis of different pathways in carcinogenesis (100).

Further investigations conducted after the release of the first GWAS studies focused on the role of PSA as a potential confounding factor. Indeed, one of the variants reported by Eeles et al (33), namely rs2735839-G was discovered close to the KLK3, that encodes kallikrein-3, also known as PSA. Others pointed out that the association described between rs2735839 variant and PrCa risk could be related to higher PSA levels in cases (99), and thus be correlated with PSA levels. The association between rs2735839 and several other tag SNPs in the 19q13 regions did not replicate in large cohort studies, and in fact, the association could be explained PSA levels in controls (101). Fine mapping of the 19q33.33 region has been further reported, supporting the prominent role of the variant for PSA modifications and also highlighted signals of interest in the surrounding KLK2 and KLK15 genes (102, 103). In addition, Gudmundsson et al have conducted a specific GWAS on PSA, and were able to find six loci (5p15.33 (rs2736098), 10q11 (rs10993994), 10q26 (rs10788160), 12q24 (rs11067228), 17q12 (rs4430796), and 19q13.33 (rs17632542, [KLK3: I179T]) associated with elevated PSA levels, with genome-wide significance (104). Two loci (12q24 and 10q26) were not associated with PrCa and the authors paved the way for a possible adjustment of PSA on these germline variants in the male population. Lastly, it is likely that some loci could contribute to both PSA levels and prostate carcinogenesis directly, but further studies are needed to provide the laboratory corroboration for the latter.

## **CONCLUSION**

The currently available literature shows evidence for 51 independent loci associated with PrCa risk. These hits do not strictly overlap in the three populations of European, African and Asian descent but ongoing studies will further map the most promising variants for functional studies. Large scale, collaborative projects are ongoing that should discover new susceptibility loci, expected to harbor risk variants with low estimated odds ratios. PrCa GWAS have conclusively identified a large set of variants that underscore the complex nature of PrCa susceptibility. In this regard, many regions contribute to genetic susceptibility to PrCa risk. Further studies are needed to explore the PrCa susceptibility variants in each population towards a better understanding of the genetic risk of the disease and new hypotheses entering the post-GWAS era for further potential clinical benefit.

**Table 1.** 51 hits correlated with absolute risk of prostate cancer. The “primary population” data indicates in which population the SNP was initially described through a multistage GWAS study, referenced in the first column. Risk allele frequency (RAF), p-value, odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) are retrieved from the study showing the most consistent association as explained in methods.

PMID	Chr	Region	Chr Position*	Risk Allele	SNP	RAF	p-Value	OR	95% CI (text)	Primary population
18264098	2	2p15	63131731	A	rs721048	0.19	8.00E-09	1.15	[1.10-1.21]	EU
19767753	2	2p21	43553949	A	rs1465618	0.23	2.00E-08	1.08	[1.03-1.12]	EU
21743467	2	2q37.3	238387228	C	rs7584330	0.22	3.00E-09	1.06	[1.02-1.09]	EU
21743467	2	2p11.2	85794297	A	rs10187424	0.59	3.00E-15	1.09	[1.06-1.12]	EU
19767753	2	2q31.1	173311553	A	rs12621278	0.94	9.00E-23	1.33	[1.25-1.43]	EU
20676098	2	2p24.1	20888265	G	rs13385191	0.44	8.00E-08	1.15	[1.10-1.21]	AS
21743467	3	3q23	141102833	T	rs6763931	0.45	2.00E-08	1.04	[1.01-1.07]	EU
22366784	3	3p11.2	87467332	C	rs2055109	0.10	3.94E-08	1.20	[1.13-1.29]	AS
18264097	3	3p12.1	87110674	T	rs2660753	0.11	3.00E-08	1.18	[1.06-1.31]	EU
19767754	3	3q21.3	128038373	A	rs10934853	0.28	3.00E-10	1.12	[1.08-1.16]	EU
21743467	3	3q26.2	170130102	A	rs10936632	0.52	7.00E-22	1.11	[1.08-1.14]	EU
19767753	4	4q24	106061534	A	rs7679673	0.55	3.00E-14	1.1	[1.06-1.14]	EU
19767753	4	4q22.3	95562877	C	rs17021918	0.65	4.00E-15	1.11	[1.08-1.15]	EU
21743467	5	5p12	44365545	G	rs2121875	0.34	4.00E-08	1.05	[1.02-1.08]	EU
21743467	5	5p15.33	1280028	G	rs2242652	0.81	3.00E-24	1.15	[1.11-1.19]	EU
20676098	5	5p15.33	1895829	T	rs12653946	0.44	4.00E-18	1.26	[1.20-1.33]	AS
21743467	6	6p21.33	31118511	G	rs130067	0.21	3.00E-08	1.05	[1.02-1.09]	EU
20676098	6	6q22.1	117210052	T	rs339331	0.37	2.00E-12	1.22	[1.15-1.28]	AS
20676098	6	6p21.1	41536427	T	rs1983891	0.41	8.00E-08	1.15	[1.09-1.21]	AS
18264097	6	6q25.3	160833664	T	rs9364554	0.29	6.00E-10	1.17	[1.08-1.26]	EU
18264097	7	7q21.3	97816327	C	rs6465657	0.46	1.00E-09	1.12	[1.05-1.20]	EU
18264096	7	7p15.2	27976563	G	rs10486567	0.77	2.00E-06	1.12	[1.02-1.25]	EU
19767755	8	8q24.21	128404855	C	rs620861	0.37	1.30E-10	1.17	[1.10-1.24]	EU
19767754	8	8q24.21	128485038	A	rs1447295	0.11	2.00E-19	1.58	[1.43-1.74]	EU
19767753	8	8p21.2	23526463	A	rs1512268	0.45	3.00E-30	1.18	[1.14-1.22]	EU
17401363	8	8q24.21	128413305	G	rs6983267	0.5	9.00E-13	1.26	[1.13-1.41]	EU
19767752	8	8q24.21	128011937	T	rs10086908	0.3	7.90E-08	1.25	NR	EU
19767754	8	8q24.21	128124916	A	rs16901979	0.04	3.00E-14	1.8	[1.55-2.09]	EU
23023329	9	9q31.2	110156300	C	rs817826	0.08	5.45E-14	1.41	[1.29-1.54]	AS
22366784	10	10q26	122844709	G	rs2252004	0.2	1.98E-08	1.16	[1.10-1.22]	AS
18264096	10	10q26.13	126696872	C	rs4962416	0.27	2.00E-07	1.17	[1.05-1.30]	EU

18264096	10	10q11.23	51549496	T	rs10993994	0.4	7.00E-13	1.16	[1.04-1.29]	EU
19767753	11	11p15.5	2233574	A	rs7127900	0.2	3.00E-33	1.22	[1.17-1.27]	EU
22366784	11	11q12	58915110	C	rs1938781	0.30	1.10E-10	1.16	[1.11-1.21]	AS
18264096	11	11q13	68994667	G	rs10896449	0.52	2.00E-09	1.1	[0.98-1.23]	EU
21531787	11	11q13	68731131	A	rs12793759	0.15	1.65E-13	1.23	[1.17-1.30]	EU
21531787	11	11q13	68663146	G	rs10896438	0.3	9.98E-11	1.16	[1.11-1.21]	EU
21743057	12	12q13.13	53273904	A	rs902774	0.17	5.00E-09	1.17	[1.11-1.24]	EU
21743467	12	12q13.12	49676010	C	rs10875943	0.31	7.00E-12	1.07	[1.04-1.10]	EU
20676098	13	13q22.1	73728139	T	rs9600079	0.38	3.00E-09	1.18	[1.12-1.24]	AS
19767753	17	17q24.3	69108753	T	rs1859962	0.46	2.00E-16	1.26	NR	EU
17603485	17	17q12	36098040	A	rs4430796	0.49	1.00E-11	1.22	[1.15-1.30]	EU
21602798	17	17q21.33	47436749	A	rs7210100	0.05	3.00E-13	1.51	[1.35-1.69]	AA
21576123	17	17q12	36074979	G	rs11649743	0.2	3.54E-08	0.86	[0.82-0.91]	EU
23023329	19	19q13.4	54797848	C	rs103294	0.23	5.34E-16	1.28	[1.21-1.36]	AS
18264097	19	19q13.33	51364623	G	rs2735839	0.85	2.00E-18	1.2	[1.10-1.33]	EU
19767754	19	19q13.2	38735613	C	rs8102476	0.54	2.00E-11	1.12	[1.08-1.15]	EU
3065704	19	19q13.2	46677427	G	rs11672691	0.55	2.20E-12	1.12	[1.03-1.21]	EU
19767753	22	22q13.2	43500212	T	rs5759167	0.53	6.00E-29	1.16	[1.14-1.20]	EU
21743467	23	Xq12	67021550	A	rs5919432	0.81	1.00E-08	1.06	[1.02-1.12]	EU
18264097	23	Xp11.22	51241672	C	rs5945619	0.36	2.00E-09	1.19	[1.07-1.31]	EU

\*Obtained from dbSNP Build 135.

SNP: single nucleotide polymorphism.

Chr= Chromosome

AS=Population of Asian ancestry

AA=Population of African American ancestry

EU=Population of European Ancestry



## REFERENCES

1. Seng KC, Seng CK. The success of the genome-wide association approach: a brief story of a long struggle. *European journal of human genetics : EJHG*. 2008;16(5):554-64. Epub 2008/02/21.
2. Hardy J, Singleton A. Genomewide association studies and human disease. *The New England journal of medicine*. 2009;360(17):1759-68. Epub 2009/04/17.
3. Altshuler DM, Gibbs RA, Peltonen L, Dermitzakis E, Schaffner SF, Yu F, et al. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature*. 2010;467(7311):52-8. Epub 2010/09/03.
4. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*. 2010;467(7319):1061-73. Epub 2010/10/29.
5. Chung CC, Magalhaes WC, Gonzalez-Bosquet J, Chanock SJ. Genome-wide association studies in cancer--current and future directions. *Carcinogenesis*. 2010;31(1):111-20. Epub 2009/11/13.
6. Hindorff LA, MJEI, Wise A, Junkins HA, Hall PN, Klemm AK, Manolio TA. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. 2011 [cited 2011 2011 DEC 11]; Available from: [www.genome.gov/gwastudies](http://www.genome.gov/gwastudies).
7. Hindorff LA, Gillanders EM, Manolio TA. Genetic architecture of cancer and other complex diseases: lessons learned and future directions. *Carcinogenesis*. 2011;32(7):945-54. Epub 2011/04/05.
8. Mosse YP, Laudenslager M, Longo L, Cole KA, Wood A, Attiyeh EF, et al. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature*. 2008;455(7215):930-5. Epub 2008/08/30.
9. Postel-Vinay S, Veron AS, Tirode F, Pierron G, Reynaud S, Kovar H, et al. Common variants near TARDBP and EGR2 are associated with susceptibility to Ewing sarcoma. *Nature genetics*. 2012;44(3):323-7. Epub 2012/02/14.
10. Fletcher O, Houlston RS. Architecture of inherited susceptibility to common cancer. *Nature reviews Cancer*. 2010;10(5):353-61. Epub 2010/04/24.
11. Park JH, Gail MH, Weinberg CR, Carroll RJ, Chung CC, Wang Z, et al. Distribution of allele frequencies and effect sizes and their interrelationships for common genetic

- susceptibility variants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(44):18026-31. Epub 2011/10/18.
12. Park JH, Wacholder S, Gail MH, Peters U, Jacobs KB, Chanock SJ, et al. Estimation of effect size distribution from genome-wide association studies and implications for future discoveries. *Nature genetics*. 2010;42(7):570-5. Epub 2010/06/22.
  13. Witte JS. Prostate cancer genomics: towards a new understanding. *Nature reviews Genetics*. 2009;10(2):77-82. Epub 2008/12/24.
  14. Hakonarson H, Grant SF. Planning a genome-wide association study: points to consider. *Annals of medicine*. 2011;43(6):451-60. Epub 2011/05/21.
  15. Chanock SJ, Manolio T, Boehnke M, Boerwinkle E, Hunter DJ, Thomas G, et al. Replicating genotype-phenotype associations. *Nature*. 2007;447(7145):655-60. Epub 2007/06/08.
  16. Barrett JC, Cardon LR. Evaluating coverage of genome-wide association studies. *Nature genetics*. 2006;38(6):659-62. Epub 2006/05/23.
  17. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007;447(7145):661-78. Epub 2007/06/08.
  18. Goldstein DB. The Importance of Synthetic Associations Will Only Be Resolved Empirically. *Plos Biol*. 2011;9(1).
  19. Takata R, Akamatsu S, Kubo M, Takahashi A, Hosono N, Kawaguchi T, et al. Genome-wide association study identifies five new susceptibility loci for prostate cancer in the Japanese population. *Nature genetics*. 2010;42(9):751-4. Epub 2010/08/03.
  20. Haiman CA, Chen GK, Blot WJ, Strom SS, Berndt SI, Kittles RA, et al. Genome-wide association study of prostate cancer in men of African ancestry identifies a susceptibility locus at 17q21. *Nature genetics*. 2011;43(6):570-3. Epub 2011/05/24.
  21. Akamatsu S, Takata R, Haiman CA, Takahashi A, Inoue T, Kubo M, et al. Common variants at 11q12, 10q26 and 3p11.2 are associated with prostate cancer susceptibility in Japanese. *Nature genetics*. 2012;44(4):426-9. Epub 2012/03/01.
  22. Xu J, Mo Z, Ye D, Wang M, Liu F, Jin G, et al. Genome-wide association study in Chinese men identifies two new prostate cancer risk loci at 9q31.2 and 19q13.4. *Nature genetics*. 2012. Epub 2012/10/02.

23. Haiman CA, Chen GK, Blot WJ, Strom SS, Berndt SI, Kittles RA, et al. Characterizing genetic risk at known prostate cancer susceptibility loci in African Americans. *PLoS genetics*. 2011;7(5):e1001387. Epub 2011/06/04.
24. Liu F, Hsing AW, Wang X, Shao Q, Qi J, Ye Y, et al. Systematic confirmation study of reported prostate cancer risk-associated single nucleotide polymorphisms in Chinese men. *Cancer science*. 2011;102(10):1916-20. Epub 2011/07/16.
25. Li MJ, Wang P, Liu X, Lim EL, Wang Z, Yeager M, et al. GWASdb: a database for human genetic variants identified by genome-wide association studies. *Nucleic acids research*. 2012;40(1):D1047-54. Epub 2011/12/06.
26. Johnson AD, Handsaker RE, Pulit SL, Nizzari MM, O'Donnell CJ, de Bakker PI. SNAP: a web-based tool for identification and annotation of proxy SNPs using HapMap. *Bioinformatics*. 2008;24(24):2938-9. Epub 2008/11/01.
27. Yeager M, Orr N, Hayes RB, Jacobs KB, Kraft P, Wacholder S, et al. Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nature genetics*. 2007;39(5):645-9. Epub 2007/04/03.
28. Gudmundsson J, Sulem P, Manolescu A, Amundadottir LT, Gudbjartsson D, Helgason A, et al. Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24. *Nature genetics*. 2007;39(5):631-7. Epub 2007/04/03.
29. Gudmundsson J, Sulem P, Steinthorsdottir V, Bergthorsson JT, Thorleifsson G, Manolescu A, et al. Two variants on chromosome 17 confer prostate cancer risk, and the one in TCF2 protects against type 2 diabetes. *Nature genetics*. 2007;39(8):977-83. Epub 2007/07/03.
30. Murabito JM, Rosenberg CL, Finger D, Kreger BE, Levy D, Splansky GL, et al. A genome-wide association study of breast and prostate cancer in the NHLBI's Framingham Heart Study. *BMC medical genetics*. 2007;8 Suppl 1:S6. Epub 2007/10/16.
31. Duggan D, Zheng SL, Knowlton M, Benitez D, Dimitrov L, Wiklund F, et al. Two genome-wide association studies of aggressive prostate cancer implicate putative prostate tumor suppressor gene DAB2IP. *Journal of the National Cancer Institute*. 2007;99(24):1836-44. Epub 2007/12/13.
32. Thomas G, Jacobs KB, Yeager M, Kraft P, Wacholder S, Orr N, et al. Multiple loci identified in a genome-wide association study of prostate cancer. *Nature genetics*. 2008;40(3):310-5. Epub 2008/02/12.

33. Eeles RA, Kote-Jarai Z, Giles GG, Olama AA, Guy M, Jugurnauth SK, et al. Multiple newly identified loci associated with prostate cancer susceptibility. *Nature genetics*. 2008;40(3):316-21. Epub 2008/02/12.
34. Gudmundsson J, Sulem P, Rafnar T, Bergthorsson JT, Manolescu A, Gudbjartsson D, et al. Common sequence variants on 2p15 and Xp11.22 confer susceptibility to prostate cancer. *Nature genetics*. 2008;40(3):281-3. Epub 2008/02/12.
35. Sun J, Zheng SL, Wiklund F, Isaacs SD, Li G, Wiley KE, et al. Sequence variants at 22q13 are associated with prostate cancer risk. *Cancer research*. 2009;69(1):10-5. Epub 2009/01/02.
36. Hsu FC, Sun J, Wiklund F, Isaacs SD, Wiley KE, Purcell LD, et al. A novel prostate cancer susceptibility locus at 19q13. *Cancer research*. 2009;69(7):2720-3. Epub 2009/03/26.
37. Al Olama AA, Kote-Jarai Z, Giles GG, Guy M, Morrison J, Severi G, et al. Multiple loci on 8q24 associated with prostate cancer susceptibility. *Nature genetics*. 2009;41(10):1058-60. Epub 2009/09/22.
38. Eeles RA, Kote-Jarai Z, Al Olama AA, Giles GG, Guy M, Severi G, et al. Identification of seven new prostate cancer susceptibility loci through a genome-wide association study. *Nature genetics*. 2009;41(10):1116-21. Epub 2009/09/22.
39. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, Blondal T, Gylfason A, Agnarsson BA, et al. Genome-wide association and replication studies identify four variants associated with prostate cancer susceptibility. *Nature genetics*. 2009;41(10):1122-6. Epub 2009/09/22.
40. Yeager M, Chatterjee N, Ciampa J, Jacobs KB, Gonzalez-Bosquet J, Hayes RB, et al. Identification of a new prostate cancer susceptibility locus on chromosome 8q24. *Nature genetics*. 2009;41(10):1055-7. Epub 2009/09/22.
41. FitzGerald LM, Kwon EM, Conomos MP, Kolb S, Holt SK, Levine D, et al. Genome-wide association study identifies a genetic variant associated with risk for more aggressive prostate cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2011;20(6):1196-203. Epub 2011/04/07.
42. Schumacher FR, Berndt SI, Siddiq A, Jacobs KB, Wang Z, Lindstrom S, et al. Genome-wide association study identifies new prostate cancer susceptibility loci. *Human molecular genetics*. 2011;20(19):3867-75. Epub 2011/07/12.

43. Feng J, Sun J, Kim ST, Lu Y, Wang Z, Zhang Z, et al. A genome-wide survey over the ChIP-on-chip identified androgen receptor-binding genomic regions identifies a novel prostate cancer susceptibility locus at 12q13.13. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2011;20(11):2396-403. Epub 2011/10/01.
44. Al Olama AA, Kote-Jarai Z, Schumacher FR, Wiklund F, Berndt SI, Benlloch S, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies to identify prostate cancer susceptibility loci associated with aggressive and non-aggressive disease. *Human molecular genetics*. 2012. Epub 2012/10/16.
45. Prokunina-Olsson L, Fu YP, Tang W, Jacobs KB, Hayes RB, Kraft P, et al. Refining the prostate cancer genetic association within the JAZF1 gene on chromosome 7p15.2. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2010;19(5):1349-55. Epub 2010/04/22.
46. Haiman CA, Patterson N, Freedman ML, Myers SR, Pike MC, Waliszewska A, et al. Multiple regions within 8q24 independently affect risk for prostate cancer. *Nature genetics*. 2007;39(5):638-44. Epub 2007/04/03.
47. Lou H, Yeager M, Li H, Bosquet JG, Hayes RB, Orr N, et al. Fine mapping and functional analysis of a common variant in MSMB on chromosome 10q11.2 associated with prostate cancer susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(19):7933-8. Epub 2009/04/23.
48. Chang BL, Cramer SD, Wiklund F, Isaacs SD, Stevens VL, Sun J, et al. Fine mapping association study and functional analysis implicate a SNP in MSMB at 10q11 as a causal variant for prostate cancer risk. *Human molecular genetics*. 2009;18(7):1368-75. Epub 2009/01/21.
49. Chung CC, Ciampa J, Yeager M, Jacobs KB, Berndt SI, Hayes RB, et al. Fine mapping of a region of chromosome 11q13 reveals multiple independent loci associated with risk of prostate cancer. *Human molecular genetics*. 2011;20(14):2869-78. Epub 2011/05/03.
50. Sun J, Zheng SL, Wiklund F, Isaacs SD, Purcell LD, Gao Z, et al. Evidence for two independent prostate cancer risk-associated loci in the HNF1B gene at 17q12. *Nature genetics*. 2008;40(10):1153-5. Epub 2008/09/02.

51. Berndt SI, Sampson J, Yeager M, Jacobs KB, Wang Z, Hutchinson A, et al. Large-scale fine mapping of the HNF1B locus and prostate cancer risk. *Human molecular genetics*. 2011;20(16):3322-9. Epub 2011/05/18.
52. Kote-Jarai Z, Amin AI, Olama A, Leongamornlert D, Tymrakiewicz M, Saunders E, Guy M, et al. Identification of a novel prostate cancer susceptibility variant in the KLK3 gene transcript. *Human genetics*. 2011;129(6):687-94. Epub 2011/04/06.
53. Lu L, Sun J, Isaacs SD, Wiley KE, Smith S, Pruett K, et al. Fine-mapping and family-based association analyses of prostate cancer risk variants at Xp11. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2009;18(7):2132-6. Epub 2009/06/25.
54. Sun J, Purcell L, Gao Z, Isaacs SD, Wiley KE, Hsu FC, et al. Association between sequence variants at 17q12 and 17q24.3 and prostate cancer risk in European and African Americans. *The Prostate*. 2008;68(7):691-7. Epub 2008/03/26.
55. Lindstrom S, Schumacher FR, Campa D, Albanes D, Andriole G, Berndt SI, et al. Replication of five prostate cancer loci identified in an Asian population--results from the NCI Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3). *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2012;21(1):212-6. Epub 2011/11/08.
56. Wang M, Liu F, Hsing AW, Wang X, Shao Q, Qi J, et al. Replication and cumulative effects of GWAS-identified genetic variations for prostate cancer in Asians: a case-control study in the ChinaPCa consortium. *Carcinogenesis*. 2011. Epub 2011/11/25.
57. Liu M, Wang J, Xu Y, Wei D, Shi X, Yang Z. Risk loci on chromosome 8q24 are associated with prostate cancer in northern Chinese men. *The Journal of urology*. 2012;187(1):315-21. Epub 2011/11/22.
58. Batra J, Lose F, Chambers S, Gardiner RA, Aitken J, Yaxley J, et al. A replication study examining novel common single nucleotide polymorphisms identified through a prostate cancer genome-wide association study in a Japanese population. *American journal of epidemiology*. 2011;174(12):1391-5. Epub 2011/11/17.

59. Kim HJ, Bae JS, Lee J, Chang IH, Kim KD, Shin HD, et al. HNF1B polymorphism associated with development of prostate cancer in Korean patients. *Urology*. 2011;78(4):969 e1-6. Epub 2011/10/11.
60. Zhou CH, Wang JY, Cao SY, Shi XH, Zhang YG, Liu M, et al. Association between single nucleotide polymorphisms on chromosome 17q and the risk of prostate cancer in a Chinese population. *Chinese journal of cancer*. 2011;30(10):721-30. Epub 2011/10/01.
61. Vijai J, Kirchhoff T, Gallagher D, Hamel N, Guha S, Darvasi A, et al. Genetic architecture of prostate cancer in the Ashkenazi Jewish population. *British journal of cancer*. 2011;105(6):864-9. Epub 2011/08/11.
62. Lindstrom S, Schumacher F, Siddiq A, Travis RC, Campa D, Berndt SI, et al. Characterizing associations and SNP-environment interactions for GWAS-identified prostate cancer risk markers--results from BPC3. *PloS one*. 2011;6(2):e17142. Epub 2011/03/11.
63. Okobia MN, Zmuda JM, Ferrell RE, Patrick AL, Bunker CH. Chromosome 8q24 variants are associated with prostate cancer risk in a high risk population of African ancestry. *The Prostate*. 2011;71(10):1054-63. Epub 2011/05/11.
64. Liu M, Suzuki M, Arai T, Sawabe M, Enomoto Y, Nishimatsu H, et al. A replication study examining three common single-nucleotide polymorphisms and the risk of prostate cancer in a Japanese population. *The Prostate*. 2011;71(10):1023-32. Epub 2011/05/11.
65. Zeng Z, Wu X, Chen F, Yu J, Xue L, Hao Y, et al. Polymorphisms in prostate stem cell antigen gene rs2294008 increase gastric cancer risk in Chinese. *Molecular carcinogenesis*. 2011;50(5):353-8. Epub 2011/01/27.
66. Chang BL, Spangler E, Gallagher S, Haiman CA, Henderson B, Isaacs W, et al. Validation of genome-wide prostate cancer associations in men of African descent. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2011;20(1):23-32. Epub 2010/11/13.
67. Wang Y, Ray AM, Johnson EK, Zuhlke KA, Cooney KA, Lange EM. Evidence for an association between prostate cancer and chromosome 8q24 and 10q11 genetic variants in African American men: the Flint Men's Health Study. *The Prostate*. 2011;71(3):225-31. Epub 2010/08/19.

68. Chen M, Huang YC, Yang S, Hsu JM, Chang YH, Huang WJ, et al. Common variants at 8q24 are associated with prostate cancer risk in Taiwanese men. *The Prostate*. 2010;70(5):502-7. Epub 2009/11/13.
69. Zheng SL, Hsing AW, Sun J, Chu LW, Yu K, Li G, et al. Association of 17 prostate cancer susceptibility loci with prostate cancer risk in Chinese men. *The Prostate*. 2010;70(4):425-32. Epub 2009/10/30.
70. Hooker S, Hernandez W, Chen H, Robbins C, Torres JB, Ahaghotu C, et al. Replication of prostate cancer risk loci on 8q24, 11q13, 17q12, 19q33, and Xp11 in African Americans. *The Prostate*. 2010;70(3):270-5. Epub 2009/11/11.
71. Pal P, Xi H, Guha S, Sun G, Helfand BT, Meeks JJ, et al. Common variants in 8q24 are associated with risk for prostate cancer and tumor aggressiveness in men of European ancestry. *The Prostate*. 2009;69(14):1548-56. Epub 2009/06/30.
72. Yamada H, Penney KL, Takahashi H, Katoh T, Yamano Y, Yamakado M, et al. Replication of prostate cancer risk loci in a Japanese case-control association study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(19):1330-6. Epub 2009/09/04.
73. Xu J, Kibel AS, Hu JJ, Turner AR, Pruett K, Zheng SL, et al. Prostate cancer risk associated loci in African Americans. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2009;18(7):2145-9. Epub 2009/06/25.
74. Camp NJ, Farnham JM, Wong J, Christensen GB, Thomas A, Cannon-Albright LA. Replication of the 10q11 and Xp11 prostate cancer risk variants: results from a Utah pedigree-based study. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2009;18(4):1290-4. Epub 2009/04/02.
75. Waters KM, Le Marchand L, Kolonel LN, Monroe KR, Stram DO, Henderson BE, et al. Generalizability of associations from prostate cancer genome-wide association studies in multiple populations. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2009;18(4):1285-9. Epub 2009/03/26.

76. Wokolorczyk D, Gliniewicz B, Sikorski A, Zlowocka E, Masojc B, Debniak T, et al. A range of cancers is associated with the rs6983267 marker on chromosome 8. *Cancer research*. 2008;68(23):9982-6. Epub 2008/12/03.
77. Terada N, Tsuchiya N, Ma Z, Shimizu Y, Kobayashi T, Nakamura E, et al. Association of genetic polymorphisms at 8q24 with the risk of prostate cancer in a Japanese population. *The Prostate*. 2008;68(15):1689-95. Epub 2008/08/30.
78. Tan YC, Zeigler-Johnson C, Mittal RD, Mandhani A, Mital B, Rebbeck TR, et al. Common 8q24 sequence variations are associated with Asian Indian advanced prostate cancer risk. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(9):2431-5. Epub 2008/09/05.
79. Kote-Jarai Z, Easton DF, Stanford JL, Ostrander EA, Schleutker J, Ingles SA, et al. Multiple novel prostate cancer predisposition loci confirmed by an international study: the PRACTICAL Consortium. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(8):2052-61. Epub 2008/08/19.
80. Ghossaini M, Song H, Koessler T, Al Olama AA, Kote-Jarai Z, Driver KE, et al. Multiple loci with different cancer specificities within the 8q24 gene desert. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(13):962-6. Epub 2008/06/26.
81. Salinas CA, Kwon E, Carlson CS, Koopmeiners JS, Feng Z, Karyadi DM, et al. Multiple independent genetic variants in the 8q24 region are associated with prostate cancer risk. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(5):1203-13. Epub 2008/05/17.
82. Schumacher FR, Feigelson HS, Cox DG, Haiman CA, Albanes D, Buring J, et al. A common 8q24 variant in prostate and breast cancer from a large nested case-control study. *Cancer research*. 2007;67(7):2951-6. Epub 2007/04/06.
83. Castro E, Eeles R. The role of BRCA1 and BRCA2 in prostate cancer. *Asian journal of andrology*. 2012. Epub 2012/04/24.
84. Thompson D, Easton DF. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2002;94(18):1358-65. Epub 2002/09/19.

85. Ostrander EA, Udler MS. The role of the BRCA2 gene in susceptibility to prostate cancer revisited. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(8):1843-8. Epub 2008/08/19.
86. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, et al. Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *British journal of cancer*. 2012. Epub 2012/04/21.
87. Kote-Jarai Z, Leongamornlert D, Saunders E, Tymrakiewicz M, Castro E, Mahmud N, et al. BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: implications for genetic testing in prostate cancer patients. *British journal of cancer*. 2011;105(8):1230-4. Epub 2011/09/29.
88. Ioannidis JP, Castaldi P, Evangelou E. A compendium of genome-wide associations for cancer: critical synopsis and reappraisal. *Journal of the National Cancer Institute*. 2010;102(12):846-58. Epub 2010/05/28.
89. Ewing CM, Ray AM, Lange EM, Zuhlke KA, Robbins CM, Tembe WD, et al. Germline mutations in HOXB13 and prostate-cancer risk. *The New England journal of medicine*. 2012;366(2):141-9. Epub 2012/01/13.
90. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, Masson G, Agnarsson BA, Benediktsdottir KR, et al. A study based on whole-genome sequencing yields a rare variant at 8q24 associated with prostate cancer. *Nature genetics*. 2012. Epub 2012/10/30.
91. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2012;62(1):10-29. Epub 2012/01/13.
92. Hoffman RM. Clinical practice. Screening for prostate cancer. *The New England journal of medicine*. 2011;365(21):2013-9. Epub 2011/10/28.
93. Liu H, Wang B, Han C. Meta-analysis of genome-wide and replication association studies on prostate cancer. *The Prostate*. 2011;71(2):209-24. Epub 2010/08/07.
94. Machiela MJ, Chen CY, Chen C, Chanock SJ, Hunter DJ, Kraft P. Evaluation of polygenic risk scores for predicting breast and prostate cancer risk. *Genetic epidemiology*. 2011;35(6):506-14. Epub 2011/05/28.
95. Klein RJ, Hallden C, Gupta A, Savage CJ, Dahlin A, Bjartell A, et al. Evaluation of Multiple Risk-Associated Single Nucleotide Polymorphisms Versus Prostate-Specific Antigen at

- Baseline to Predict Prostate Cancer in Unscreened Men. *European urology*. 2011. Epub 2011/11/22.
96. Pomerantz MM, Shrestha Y, Flavin RJ, Regan MM, Penney KL, Mucci LA, et al. Analysis of the 10q11 cancer risk locus implicates MSMB and NCOA4 in human prostate tumorigenesis. *PLoS genetics*. 2010;6(11):e1001204. Epub 2010/11/19.
  97. Lou H, Li H, Yeager M, Im K, Gold B, Schneider TD, et al. Promoter variants in the MSMB gene associated with prostate cancer regulate MSMB/NCOA4 fusion transcripts. *Human genetics*. 2012;131(9):1453-66. Epub 2012/06/05.
  98. Kheirandish P, Chinegwundoh F. Ethnic differences in prostate cancer. *British journal of cancer*. 2011;105(4):481-5. Epub 2011/08/11.
  99. Cook LS, Goldoft M, Schwartz SM, Weiss NS. Incidence of adenocarcinoma of the prostate in Asian immigrants to the United States and their descendants. *The Journal of urology*. 1999;161(1):152-5. Epub 1999/02/26.
  100. Mao X, Yu Y, Boyd LK, Ren G, Lin D, Chaplin T, et al. Distinct genomic alterations in prostate cancers in Chinese and Western populations suggest alternative pathways of prostate carcinogenesis. *Cancer research*. 2010;70(13):5207-12. Epub 2010/06/03.
  101. Ahn J, Berndt SI, Wacholder S, Kraft P, Kibel AS, Yeager M, et al. Variation in KLK genes, prostate-specific antigen and risk of prostate cancer. *Nature genetics*. 2008;40(9):1032-4; author reply 5-6. Epub 2009/01/24.
  102. Parikh H, Deng Z, Yeager M, Boland J, Matthews C, Jia J, et al. A comprehensive resequence analysis of the KLK15-KLK3-KLK2 locus on chromosome 19q13.33. *Human genetics*. 2010;127(1):91-9. Epub 2009/10/14.
  103. Parikh H, Wang Z, Pettigrew KA, Jia J, Daugherty S, Yeager M, et al. Fine mapping the KLK3 locus on chromosome 19q13.33 associated with prostate cancer susceptibility and PSA levels. *Human genetics*. 2011;129(6):675-85. Epub 2011/02/15.
  104. Gudmundsson J, Besenbacher S, Sulem P, Gudbjartsson DF, Olafsson I, Arinbjarnarson S, et al. Genetic correction of PSA values using sequence variants associated with PSA levels. *Science translational medicine*. 2010;2(62):62ra92. Epub 2010/12/17.

### c. Utilité des marqueurs génétiques en pratique clinique

(article : Cornu JN, Drouin S, Cancel-Tassin G, Bigot P, Azzouzi AR, Koutlidis N, Cormier L, Gaffory C, Rouprêt M, Sèbe P, Bitker MO, Haab F, Cussenot O. Impact of genotyping on outcome of prostatic biopsies: a multicenter prospective study. *Mol Med.* 2011 May-Jun;17(5-6):473-7.)

**Objectif :** Différents polymorphismes simples pour un nucléotide (SNP) ont été associés au risque et/ou à l'agressivité du cancer de prostate (CaP). Le but de cette étude est d'étudier l'utilité en pratique clinique du génotypage préalable aux biopsies de prostate pour le calcul du risque de CaP.

**Matériel et Méthodes:** 598 patients caucasiens adressés pour biopsies de prostate suite à un dépistage individuel ont été inclus dans cette analyse. Les données recueillies rassemblaient les antécédents personnels et familiaux de cancer, l'âge, le taux de PSA, l'indice de masse corporelle (IMC), le volume prostatique mesuré par échographie, et le génotypage pour 3 SNPs (rs1447295 (locus 8q24), rs6983267 (locus 8q24) et rs4054823 (locus 17p12)). L'âge, la densité de PSA, l'IMC et la présence d'un allèle à risque ont été corrélés au résultat des biopsies (cancer ou absence de cancer) et à l'agressivité du cancer (score de Gleason  $\leq 6$  ou score de Gleason  $> 6$ ) par régression logistique.

**Résultats.** L'âge moyen des patients étudiés était de  $65 \pm 7,7$  ans (40-93), le taux de PSA moyen de  $8,8 \pm 6,1$  (0,5-40), et le volume prostatique moyen de  $46,8 \pm 24$  (10-230). 16% des patients présentaient un antécédent familial de CaP. La présence de cancer sur les biopsies était associée à l'âge ( $p=0,008$ ), à la densité de PSA ( $p<0,0001$ ), au variant rs6983267 ( $p=0,004$ ), et de façon non significative au variant 1447295 ( $p=0,07$ ). La gravité des lésions selon le score de Gleason était corrélée à la densité du PSA ( $p=0,03$ ) et une tendance était retrouvée entre l'allèle à risque de rs1447295 et le risque de Gleason  $> 6$  ( $p=0,079$ ).

**Conclusion.** Ces résultats confirment sur une cohorte de patients caucasiens français que certains SNPs sont associés, aux côtés des facteurs traditionnels, à un risque de biopsie positive. Le génotypage pourrait ainsi être utile avant biopsie, lors du dépistage, pour affiner le risque individuel de CaP.

#### **d. Application des panels de SNPs pour la détermination du risque de cancer de la prostate**

Dans notre étude, issu d'un protocole hospitalier de recherche clinique initié en 2008, seuls trois SNPs (publiés à l'époque, et étant ceux présentant l'odd-ratio le plus élevé ) avaient été testés pour prédire le résultat des biopsies prostatique dans une population à risque. Suite à la découverte de loci de susceptibilité introduisant un modèle de risque polygénique pour le CaP (illustrés dans la revue de la littérature ci-dessus), des modèles associant plusieurs SNPs (panels de marqueurs) ont été étudiés pour évaluer l'intérêt de l'utilisation du génotypage en pratique clinique.

Plusieurs études ont exposé des résultats positifs et prometteurs dans différentes populations, permettant d'établir qu'il existe une association entre les scores de risque polynéniques et la positivité des biopsies de prostate [74-76]. En particulier, l'évaluation des marqueurs génétiques semble un marqueur meilleur que le recueil des antécédents familiaux à l'interrogatoire [77]. Par ailleurs, il apparaît que lors de l'utilisation de panels de SNPs (qui sont chacun associé à un odd-ratio, plus ou moins important), il existe un effet plateau qui rend peu probable le fait que l'adjonction future de nouveaux SNPs puisse significativement augmenter la précision des scores génétiques.

L'intérêt potentiel de ces scores est de potentiellement identifier les patients à risque de cancer de prostate sporadique dans le cadre du dépistage, en adjonction éventuelle du PSA. Cependant, les études publiées jusqu'à présent sont sporadiques, réalisées sur des populations différentes et le niveau de preuve établi à ce jour ne permet pas de recommander l'utilisation de ces scores en pratique clinique. La problématique du cout est également essentielle dans ce contexte, doublée des incertitudes liées à l'intérêt incertain [78] d'une politique de dépistage de masse.

L'intérêt ultime de l'utilisation des SNPs pourrait être d'identifier les patients porteurs d'un CaP à risque évolutif (formes agressives). Néanmoins, peu d'études ont permis à ce jour d'établir un lien statistique clair entre un panel de SNPs et la présence de lésions agressives. Une méta-analyse publiée récemment [79] a mis en évidence un SNP associé à la présence d'une maladie agressive. Une étude récente issue du NCI- Brest and Prostate cancer consortium vient également corroborer cette hypothèse, en associant plusieurs SNPs à la mortalité spécifique par CaP [80]. Cependant,

l'amplitude du risque associé à la présence de ces SNPs ne permet pas encore d'entrevoir une utilisation rationnelle en pratique clinique.

### **e. Vers une intégration de la patho-biologie du vieillissement prostatique**

Au-delà de leur impact épidémiologique et de leur intérêt potentiel pour le dépistage, l'identification de loci de susceptibilité pour le CaP a permis de cibler des régions d'intérêt pour découvrir de nouveaux mécanismes physiopathologiques en lien avec la carcinogenèse prostatique. Suite à la découverte des variants SNPs au travers des GWAS à partir de 2007, des travaux dits « post-GWAS », ont testé des hypothèses mécanistiques et fonctionnelles. L'exemple le plus caractéristique de ces études fonctionnelles est matérialisé par les travaux ayant porté sur le gène de la  $\beta$ -microséminoprotéine (MSMB). Au cours de plusieurs GWAS, le SNP rs10993994 a en effet été corrélé à un risque augmenté de CaP, et également associé à une modification de l'expression protéique, ayant redynamisé la recherche autour de cette molécule connue depuis plusieurs années comme un des constituants du sperme [81]. Dans d'autres cas, la découverte de SNPs par la démarche heuristique des GWAS a permis de découvrir de nouvelles cibles potentielles et de nouvelles voies de la carcinogenèse, laissant entrevoir ainsi des progrès considérables [82-85].

Au-delà de l'association des SNPs au risque de CaP, l'analyse des GWAS a permis d'établir que certains SNPs étaient liés à d'autres caractéristiques phénotypiques. Certaines équipes ont ainsi pu établir que des variants peuvent influencer le taux de PSA [86], le volume prostatique chez des patients atteints de CaP [87], les troubles mictionnels [88]. Cependant, il existe peu d'éléments associant l'HBP avec certains variants génétiques, la totalité des éléments connus à ce jour étant basée sur les recherches issues de gènes candidats comme le montre une méta-analyse récente [Cartwright R et al, Eur Urol 2014 in press]. Certains marqueurs génétiques et épigénétiques ont également été proposés comme liés à des anomalies du taux de testostérone [89, 90].

La conduite de futurs GWAS intégrant les caractéristiques phénotypiques des patients atteints d'HBP (volume prostatique, troubles mictionnels) et de déficit androgénique lié à l'âge (modifications du taux ou des effets de la testostérone) pourrait mener, de même que pour le CaP, à la découverte de nouvelles pistes physiopathologiques, éventuellement communes avec la

carcinogène prostatique, pour explorer le lien physiopathologique entre ces maladies du vieillissement.

## Résultats (3): Outils prédictifs et biomarqueurs

---

### a. Principes des calculateurs de risque : exemple du cancer de la prostate

Depuis la découverte du PSA il y a 40 ans, de nombreux autres tests sanguins et urinaires ont été utilisés pour prédire avec la meilleure précision possible la présence d'un CaP de manière non invasive. Les corrélations de chaque marqueur avec le risque de CaP peuvent être étudiée de manière indépendante univariés, ou ajustés selon les paramètres cliniques, ou encore conjointement aux autres marqueurs biologiques (analyse multivariée). En utilisant des cohortes de patients, des nomogrammes et des calculateurs de risque ont pu être conçus, et ce à tous les stades de la maladie (risque absolu de CaP, risque de récurrence après traitement, etc). Les données corrélées au CaP et potentiels éléments d'un score multicritère sont à la fois cliniques, sanguins, urinaires et génétiques.

*Marqueurs cliniques.* L'âge est un facteur associé au CaP, ainsi que l'ethnie. Le volume prostatique est également un élément important pour ajuster le taux de PSA, de même que l'indice de masse corporelle. Le toucher rectal est évidemment un marqueur du risque de CaP, bien que de faible sensibilité. Les antécédents familiaux sont aussi un facteur de risque, bien que l'appréciation du risque génétique soit de plus en plus finement évaluée par l'étude des mutations germinales (cf. ci-dessus).

*Marqueurs biologiques sanguins.* Les PSA et ses dérivés (densité de PSA, PSA libre et rapport PSA libre/total [91], pro-PSA et ses isoformes, dont le [-2]pro-PSA [92] ont été montrés comme potentiellement utile pour détecter le CaP. Plusieurs associations et combinaisons de marqueurs dérivés du PSA ont été étudiés, tel l'index PHI ( $\text{PHI} = \frac{[-2] \text{ proPSA}}{\text{freePSA}} \times \sqrt{\text{PSA}}$ ), qui pourraient, sous réserve de confirmation dans des études plus larges, remplacer le dosage du PSA traditionnel [93]. D'autres kallikréines proches du PSA, tels la hK2, associé au taux de PSA, pourraient permettre d'améliorer encore les performances de ces tests. Le dosage du panel des quatre kallikréines [94] à savoir PSA total, PSA libre, PSA intact et hK2 s'est avéré prometteur pour améliorer les performances du PSA. L'inflammation est également un phénomène impliqué

dans la genèse du CaP, le taux de CRP ayant été récemment proposé comme un élément lié au taux de PSA, et au risque de CaP [95]. Les modifications du métabolisme de la vitamine D ont aussi été montrés comme associés au risque de CaP [96].

*Marqueurs biologiques urinaires.* Les deux marqueurs urinaires les plus utilisés sont le test PCA3 urinaire et la détection de produits de gènes de fusion TMPRSS2-ERG dans les urines.

Le test PCA3 repose sur la détection automatisée dans les urines après massage prostatique de produits du gène PCA3, localisé en 9q21–22. Ce gène produit un long RNA non codant, qui est largement surexprimé par les cellules prostatiques par rapport au tissu sain [97]. La version moderne et commercialisée de ce test délivre un « score PCA3 », qui est le rapport du nombre de copies de l'ARN PCA3 sur l'ARN PSA dans les urines exprimé sous la forme d'un taux. L'intérêt de ce score a d'abord été montré comme prédictif du risque de biopsie positive après une première biopsie négative, avec persistance d'un PSA élevé. Par la suite, certains travaux ont évalué les performances diagnostiques du test PCA3 en première ligne avec des résultats contradictoires [98]. L'utilisation du test PCA3 en pratique clinique courante n'est ainsi pas recommandé en routine et ce test n'est pas remboursé par la sécurité sociale.

La recherche de produits du gène de fusion (TMPRSS2-ERG, cf cidessous) dans les urines a été corrélée à la présence d'un CaP mais avec des résultats contradictoires. Décrit en 2005 par Tomlins [99], ce produit de gène de fusion récurrent est mis en évidence dans 50% des cas de CaP localisés [100].

Schéma illustrant la fusion du gène TMPRSS2 et ERG, d'après [101].

### *Calculateurs de risque*

Plusieurs calculateurs et nomogrammes, basés sur des cohortes de patients soumis à des biopsies de prostate ont été mis au point afin de déterminer le risque de CaP à partir des données clinico-biologiques décrites ci-dessus. Ces outils ont pour but de procurer un risque « personnalisé » en fonction des paramètres mesurés. Le plus ancien calculateur moderne est le PCPT Calculator basé sur les données de l'étude de prévention « Prostate Cancer Prevention Trial ». Les données de base du calculateur de risque sont l'ethnie, l'âge, le niveau de PSA, la notion d'antécédents familiaux, les résultats du toucher rectal, les données d'une biopsie antérieure. Plusieurs publications ont étudié l'intérêt de l'adjonction des données de l'index de masse corporelle [102], du PCA3 [103], de la prise de finastéride [104], du taux de PSA libre et de pro-PSA [105] ou encore du volume prostatique et du nombre de biopsies réalisées [106]. Cependant aucun de ces scores n'a évalué avec précision le risque ajusté sur des marqueurs génétiques ou la présence de gène de fusion.

L'objectif de notre travail était donc d'évaluer la corrélation, en analyse univariée et multivariée, entre les paramètres clinicobiologiques, les SNPs du locus 8q24, les biomarqueurs innovants, et la positivité des biopsies de prostate dans une population à risque de cancer de prostate localisé.

### **b. Performance des marqueurs génétiques au sein des outils clinico-biologiques et des biomarqueurs du cancer de la prostate**

(article : Cornu JN, Cancel-Tassin G, Egrot C, Gaffory C, Haab F, Cussenot O. Urine TMPRSS2:ERG fusion transcript integrated with PCA3 score, genotyping, and biological features are correlated to the results of prostatic biopsies in men at risk of prostate cancer. *Prostate*. 2013 ;15;73(3):242-9)

*Introduction* : De nombreux paramètres clinico-biologiques ont été associés à la présence d'un cancer de prostate dont les marqueurs génétiques, le niveau de PSA, le niveau des testostérone, le score Prostate Cancer Antigen 3 (PCA3) ou encore la présence urinaire de transcrits de fusion du gène transmembrane protease, serine 2 (TMPRSS2) et v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog avian (ERG) urinaires. Le but de ce travail était d'étudier l'association uni et multivariée de ces biomarqueurs avec les résultats des biopsies prostatiques dans une cohorte de patients en phase diagnostique.

*Méthodes* : Entre septembre 2009 et avril 2011, une étude prospective a été menée chez tous 291 patients adressés pour biopsie de prostate en raison d'un PSA > 3.0 ng/mL ou en cours de protocole de surveillance active justifiant une re-biopsie dans le cadre du protocole de surveillance. Les critères d'exclusion étaient un toucher rectal évoquant une extension (T3 clinique), un PSA > 50 ng/mL, la présence de plus de deux antécédents familiaux de cancer prostatique, et les patients aux antécédents personnels de cancer de prostate. Pour chaque patient, ont été réalisés un examen clinique avec toucher rectal, un dosage de PSA libre, un dosage de PSA total, une testostéronémie biodisponible, un test PCA3, un génotypage pour les variants à risque du chromosome 8q24 (rs6983267 et rs1447295) et une mesure du volume prostatique par échographie. La détection des transcrits du gène de fusion TMPRSS2-ERG ont été détecté par le teste Progenesa™. Une analyse univariée et multivariée par régression logistique (modèle logit) ont été conduites pour étudier la corrélation entre TMPRSS2 :ERG, le score PCA3, la densité de PSA, le niveau de testostérone, ainsi que le génotypes 8q24 et le résultat des biopsies et le score de Gleason.

*Résultats* : Sur 291 patients, 173 avaient des biopsies positives et 118 des biopsies négatives. En analyse univariée, le score PCA3, la densité de PSA et le score TMPRSS2-ERG étaient corrélés aux résultats des biopsies ( $p > 0.0001$ ,  $p = 0.031$ , et  $p > 0.0001$ , respectivement). Sur cet échantillon, les antécédents de cancer de prostate, et les génotypes étudiés n'étaient pas associés aux résultats des biopsies. Le seul paramètre lié en univarié à la présence de lésions de grade 4 de Gleason était la densité du PSA ( $p = 0.025$ ). Les modèles multivariés intégrant tous les paramètres ont permis d'obtenir une courbe ROC avec une aire sous la courbe (0.734) meilleure que tous les paramètres indépendants. Des résultats similaires ont été obtenus pour la détection de lésions de grade 4 ( $p = 0.802$ ).

*Conclusion* : Ainsi, même si menée sur de faibles effectifs, cette étude a permis de souligner l'intérêt de la combinaisons des biomarqueurs de nouvelle génération sanguins et urinaires, pour la prédiction du risque de CaP et de lésions de haut grade. Les deux marqueurs génétiques testés avaient un impact faible au sein de ce score, de même que les antécédents familiaux, à mettre sur le compte probable du faible odd-ratio qui caractérise les corrélations individuelles entre marqueurs SNP et risque de CaP.

### **c. Outils de prédictions intégrés du vieillissement vésico-prostatique**

La corrélation épidémiologique entre le CaP, l'HBP et le déficit androgénique lié à l'âge rend logique et potentiellement bénéfique une approche diagnostique intégrée chez l'homme âgé. L'évaluation initiale doit donc utiliser les éléments diagnostiques spécifiques de chaque pathologie, pour réaliser une évaluation initiale intégrée permettant d'appliquer une démarche diagnostique globale. Cette démarche semble d'autant plus utile que les recommandations de prise en charge actuelle, en phase diagnostique de l'HBP, du CaP et du déficit androgénique émanent de consensus différents, sans passerelle claire de raisonnement.

Une stratégie possible serait de considérer tout patient de plus de 50 ans présentant des PSA élevés, des symptômes urologiques ou un terrain à risque comme potentiellement exposé au CaP, à l'HBP évolutive ou à une anomalie de l'axe androgénique et de produire une évaluation intégrée de ces patients. C'est le sens de l'évaluation intégrée proposée au « Centre spécialisé de prise en charge des patients à haut risque de cancer de la prostate » sous la responsabilité du Pr Cussenot à l'hôpital Tenon. Une proposition d'un tel arbre de prise en charge est exposée ci-dessous.

**Patient adressé pour suspicion de pathologie  
du vieillissement vésico-prostatique**

**Evaluation clinico-biologique**

PSA (ng/mL)  
Toucher rectal  
PCA3 (score)  
Volume de la prostate (mL)  
Prostate Health Index  
CRP (mg/mL)  
Vitamine D (ng/mL)  
PSA libre/total  
International Prostate Symptom Score  
Antécédent de biopsie négative (oui/non)  
Antécédent de biopsie avec inflammation (oui/non)

**Facteurs de risque génétiques**

BRCA2/HOXB13  
Antécédent de CaP au premier degré  
Antécédent de cancer du sein  
Marqueurs génétiques > 2SNPs  
Ethnique (peau noire)

**Facteurs de risque évolutifs**

Score ADAM  
Indice de masse corporelle  
Testostérone biodisponible  
PSA nadir sous 5ARI

**Risque collatéraux**

Lobe médian en échographie  
Débitmétrie avec Qmax <10 mL/s  
Chirurgie de l'HBP chez un parent du premier degré avant 65ans  
Tabagisme  
Maladie cardiovasculaire  
Diabète  
Immunodépression  
Insuffisance rénale ou hémodialyse  
Hémocult >2ans  
Cancer du colon familial  
Autre cancer familial  
Autre cancer personnel

**Score total**

HBP à risque évolutif

Risque de cancer de la prostate: IRM et biopsies nécessaires

Suspicion de déficit androgénique symptomatique (ADAM)

Il apparaît possible de considérer trois catégories de phénotypes évocateurs de prédisposition génétique, pouvant mener à une recherche d'un terrain génétique particulier en amont du diagnostic de CaP (tableau ci-dessous).

Risque	Phénotype	Diagnostic génétique
Elevé	Critères de Carter/Cussenot Age jeune/ cancer grave (<50 ans / >Gleason 7) Histoire familiale de cancer (>3)	BRCA2 (1) /HOXB13 Panel predisposing genes Next Generation Sequencing
Modéré	Antécédents familiaux sans haut risque	SNPs profile 8q24
Faible	Survenue à plus de 70 ans Absence de critères risque haut/modéré	Non

#### d. Défis supplémentaires

L'applicabilité d'une telle approche, compte tenu de l'importance de la population concernée, est soumise à une efficacité médico-économique qui reste à établir. De plus amples recherches sont ainsi nécessaires pour évaluer la pertinence de l'utilisation généralisée des nouveaux biomarqueurs notamment (exemple du STIC PCA3), en termes de coût et d'influence sur la prise de décision clinique.

Par ailleurs, une vision dynamique au-delà de la phase diagnostique initiale est nécessaire, notamment au cours du suivi de ces pathologies qui peuvent être considérées comme des maladies chroniques à potentiel évolutif. Le parcours de soins des patients traités pour HBP ou CaP reste ainsi à définir en fonction des nouvelles thérapies disponibles (les implications sont alors plus spécifiques selon la pathologie traitée). Au cours du vieillissement, les enjeux des traitements des troubles mictionnels, du CaP et du déficit androgénique évoluent en fonction de l'espérance de vie du patient ainsi que de ses attentes.

Par ailleurs, au-delà de la question de la survie (spécifique de la pathologie carcinologique évoluée et/ou métastatique), les enjeux de la prise en charge du vieillissement prostatique sont essentiellement fonctionnels, attenants aux troubles génito-sexuels et vésico-sphinctériens générés par les maladies du vieillissement lui-même ou conséquence des traitements entrepris. Les outils d'évaluation tels la qualité de vie, les scores symptômes et le recours aux structures de soins sont ainsi les éléments finaux de la démarche consistant à systématiser la prise en charge de ces patients.

## Conclusion

---

Les pathologies du vieillissement prostatique (CaP, HBP, ADAM) sont des pathologies fréquentes, représentant un problème de santé publique, et faisant appel à des ressources gigantesques du système de santé. Compte tenu du vieillissement de la population, les données épidémiologiques montrent que le poids de la prise en charge de ces maladies chroniques ne va faire que s'accroître dans les années à venir, plusieurs millions d'individus étant concernés. Si HBP, CaP et ADAM ont des liens épidémiologiques importants, coexistant souvent chez les mêmes individus, les liens physiopathologiques les unissant restent mal connus.

Les progrès récents de la génétique, à travers les GWAS ont permis de mettre au jour de nouveaux facteurs de risque génétiques du CaP sporadique, par la caractérisation de SNPs qui permettent d'expliquer une partie de l'héritabilité de la maladie et de d'approcher la quantification du risque génétique de l'individu. Néanmoins, l'utilisation en pratique courante du génotypage des individus à risque n'a pas fait la preuve de sa rentabilité, dans le complexe débat du dépistage du CaP. Il existe de surcroît peu d'arguments pour utiliser ces marqueurs à des fins pronostiques ou afin d'évaluer l'agressivité de la maladie, problématique cruciale de la phase diagnostique. La prédisposition génétique au vieillissement pathologique bénin de la prostate, en particulier vers l'HBP, est encore très peu étudiée. De plus amples travaux sont nécessaires pour caractériser la genèse et l'évolution du vieillissement prostatique.

La prise en charge diagnostique du vieillissement prostatique évolue. La remise en cause du PSA comme seul biomarqueur isolé du risque de CaP est aboutie, de multiples facteurs de correction du PSA et nouveaux biomarqueurs indépendants permettant une évaluation multifactorielle, génétique et environnementale, du risque de CaP. Le poids respectif de ces outils diagnostiques multiples reste à déterminer avec un triple objectif : (i) mettre en place des arbres de décision permettant de cibler les biopsies prostatiques, qui restent le gold standard diagnostique du cancer, (ii) intégrer à la prise en charge diagnostique les pathologies bénignes comme l'HBP dont le bilan, le traitement et le suivi sont connexes à la problématique du CaP et (iii) considérer tout au

long de la prise en charge les pathologies associées tel le syndrome métabolique, dans l'objectif d'une démarche multidisciplinaire.

## Bibliographie

---

- [1] Campbelle Walsh urology.2677.
- [2] Cunha GR. Role of mesenchymal-epithelial interactions in normal and abnormal development of the mammary gland and prostate. *Cancer* 1994;74:1030-44.
- [3] Uzgare AR, Xu Y, Isaacs JT. In vitro culturing and characteristics of transit amplifying epithelial cells from human prostate tissue. *J Cell Biochem* 2004;91:196-205.
- [4] Fung KY, Glode LM, Green S, Duncan MW. A comprehensive characterization of the peptide and protein constituents of human seminal fluid. *Prostate* 2004;61:171-81.
- [5] Berry PA, Maitland NJ, Collins AT. Androgen receptor signalling in prostate: effects of stromal factors on normal and cancer stem cells. *Mol Cell Endocrinol* 2008;288:30-7.
- [6] Definition of an older person.
- [7] Delongchamps NB, de la Roza G, Chandan V, Jones R, Sunheimer R, Threatte G, et al. Evaluation of prostatitis in autopsied prostates--is chronic inflammation more associated with benign prostatic hyperplasia or cancer? *J Urol* 2008;179:1736-40.
- [8] Timms BG, Hofkamp LE. Prostate development and growth in benign prostatic hyperplasia. *Differentiation* 2011;82:173-83.
- [9] Blagosklonny MV. Prospective treatment of age-related diseases by slowing down aging. *Am J Pathol* 2012;181:1142-6.
- [10] Hermann M, Untergasser G, Rumpold H, Berger P. Aging of the male reproductive system. *Exp Gerontol* 2000;35:1267-79.
- [11] Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol* 1984;132:474-9.
- [12] Ho CK, Habib FK. Estrogen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. *Nat Rev Urol* 2011;8:29-41.
- [13] Bostwick DG, Cooner WH, Denis L, Jones GW, Scardino PT, Murphy GP. The association of benign prostatic hyperplasia and cancer of the prostate. *Cancer* 1992;70:291-301.
- [14] Macoska JA. Chemokines and BPH/LUTS. *Differentiation* 2011;82:253-60.
- [15] Wang Z, Olumi AF. Diabetes, growth hormone-insulin-like growth factor pathways and association to benign prostatic hyperplasia. *Differentiation* 2011;82:261-71.
- [16] Cunha GR, Ricke WA. A historical perspective on the role of stroma in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Differentiation* 2011;82:168-72.
- [17] Schauer IG, Rowley DR. The functional role of reactive stroma in benign prostatic hyperplasia. *Differentiation* 2011;82:200-10.
- [18] Sfanos KS, Wilson BA, De Marzo AM, Isaacs WB. Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men with prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:3443-8.
- [19] Nicholson TM, Ricke WA. Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia: past, present and future. *Differentiation* 2011;82:184-99.
- [20] Ricke WA, Macoska JA, Cunha GR. Developmental, cellular and molecular biology of benign prostatic hyperplasia. *Differentiation* 2011;82:165-7.
- [21] McNeal JE. Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol* 1978;15:340-5.
- [22] Abrams P, Chapple C, Khoury S, Roehrborn C, de la Rosette J, International Scientific C. Evaluation and treatment of lower urinary tract symptoms in older men. *J Urol* 2009;181:1779-87.

- [23] Chapple CR, Roehrborn CG. A shifted paradigm for the further understanding, evaluation, and treatment of lower urinary tract symptoms in men: focus on the bladder. *Eur Urol* 2006;49:651-8.
- [24] Roehrborn CG. Male lower urinary tract symptoms (LUTS) and benign prostatic hyperplasia (BPH). *Med Clin North Am* 2011;95:87-100.
- [25] Descazeaud A, Robert G, Delongchamps NB, Cornu JN, Saussine C, Haillot O, et al. [Initial assessment, follow-up and treatment of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia: guidelines of the LUTS committee of the French Urological Association]. *Prog Urol* 2012;22:977-88.
- [26] Rebillard X, Grosclaude P, Leuret T, Patard JJ, Pfister C, Richaud P, et al. [Projected incidence and mortality from urologic cancer in France in 2010.]. *Prog Urol* 2010;20 Suppl 4:S211-4.
- [27] Incidence du cancer en France. Rapport de l'Institut National du Cancer, 2013. <http://www.e-cancer.fr/presse/7761-evolution-de-lincidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-entre-1980-et-2012>. Accessed Janvier 2014.
- [28] Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, Ward E, Ferlay J, Brawley O, et al. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol* 2012;61:1079-92.
- [29] Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.
- [30] Cussenot O, Valeri A. Heterogeneity in genetic susceptibility to prostate cancer. *Eur J Intern Med* 2001;12:11-6.
- [31] Ploussard G, Epstein JI, Montironi R, Carroll PR, Wirth M, Grimm MO, et al. The contemporary concept of significant versus insignificant prostate cancer. *Eur Urol* 2011;60:291-303.
- [32] Kumar A, White TA, MacKenzie AP, Clegg N, Lee C, Dumpit RF, et al. Exome sequencing identifies a spectrum of mutation frequencies in advanced and lethal prostate cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:17087-92.
- [33] Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet* 2012;44:685-9.
- [34] Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, Cao X, Dhanasekaran SM, Khan AP, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature* 2012;487:239-43.
- [35] Dean M, Lou H. Genetics and genomics of prostate cancer. *Asian J Androl* 2013;15:309-13.
- [36] Jeronimo C, Bastian PJ, Bjartell A, Carbone GM, Catto JW, Clark SJ, et al. Epigenetics in prostate cancer: biologic and clinical relevance. *Eur Urol* 2011;60:753-66.
- [37] Barbieri CE, Bangma CH, Bjartell A, Catto JW, Culig Z, Gronberg H, et al. The mutational landscape of prostate cancer. *Eur Urol* 2013;64:567-76.
- [38] Satyanarayana R, Parekh D. Prevention and treatment of biopsy-related complications. *Curr Urol Rep* 2014;15:381.
- [39] Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *Eur Urol* 2014;65:124-37.
- [40] Hessels D, Schalken JA. Urinary biomarkers for prostate cancer: a review. *Asian J Androl* 2013;15:333-9.
- [41] Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1156-61.
- [42] Katz MS, Efstathiou JA, D'Amico AV, Kattan MW, Sanda MG, Nguyen PL, et al. The 'CaP Calculator': an online decision support tool for clinically localized prostate cancer. *BJU Int* 2010;105:1417-22.
- [43] Huhtaniemi I. Late-onset hypogonadism: Current concepts and controversies of pathogenesis, diagnosis and treatment. *Asian J Androl* 2013.

- [44] Rossi D, Tostain J. [Age-related androgen deficiency: diagnostic work-up]. *Prog Urol* 2004;14:809-29.
- [45] Morales A, Lunenfeld B, International Society for the Study of the Aging M. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. Official recommendations of ISSAM. International Society for the Study of the Aging Male. *Aging Male* 2002;5:74-86.
- [46] Tostain J, Rossi D. [Pathophysiology of androgen deficiency in the ageing male]. *Prog Urol* 2004;14:661-77.
- [47] Travison TG, Araujo AB, Kupelian V, O'Donnell AB, McKinlay JB. The relative contributions of aging, health, and lifestyle factors to serum testosterone decline in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:549-55.
- [48] Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ, Matsumoto AM, Snyder PJ, Swerdloff RS, et al. Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2536-59.
- [49] Huhtaniemi IT, Pye SR, Limer KL, Thomson W, O'Neill TW, Platt H, et al. Increased estrogen rather than decreased androgen action is associated with longer androgen receptor CAG repeats. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:277-84.
- [50] Huhtaniemi IT, Pye SR, Holliday KL, Thomson W, O'Neill TW, Platt H, et al. Effect of polymorphisms in selected genes involved in pituitary-testicular function on reproductive hormones and phenotype in aging men. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1898-908.
- [51] Tajar A, Huhtaniemi IT, O'Neill TW, Finn JD, Pye SR, Lee DM, et al. Characteristics of androgen deficiency in late-onset hypogonadism: results from the European Male Aging Study (EMAS). *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:1508-16.
- [52] Tancredi A, Legros JJ, Pire G, Maassen P, Luyckx F, Reginster JY. Analysis of the discriminant ability of shorter versions of the French ADAM questionnaire. *Aging Male* 2007;10:159-64.
- [53] Tancredi A, Reginster JY, Schleich F, Pire G, Maassen P, Luyckx F, et al. Interest of the androgen deficiency in aging males (ADAM) questionnaire for the identification of hypogonadism in elderly community-dwelling male volunteers. *Eur J Endocrinol* 2004;151:355-60.
- [54] Heinemann LA, Saad F, Heinemann K, Thai DM. Can results of the Aging Males' Symptoms (AMS) scale predict those of screening scales for androgen deficiency? *Aging Male* 2004;7:211-8.
- [55] Smith KW, Feldman HA, McKinlay JB. Construction and field validation of a self-administered screener for testosterone deficiency (hypogonadism) in ageing men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000;53:703-11.
- [56] Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, et al. Investigation, treatment, and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA, and ASA recommendations. *J Androl* 2009;30:1-9.
- [57] Lowrance WT, Eastham JA, Savage C, Maschino AC, Laudone VP, Dechet CB, et al. Contemporary open and robotic radical prostatectomy practice patterns among urologists in the United States. *J Urol* 2012;187:2087-92.
- [58] Lowrance WT, Elkin EB, Yee DS, Feifer A, Ehdaie B, Jacks LM, et al. Locally advanced prostate cancer: a population-based study of treatment patterns. *BJU Int* 2012;109:1309-14.
- [59] Kapoor DA, Zimberg SH, Ohrin LM, Underwood W, 3rd, Olsson CA. Utilization trends in prostate cancer therapy. *J Urol* 2011;186:860-4.
- [60] Mahmood U, Pugh T, Frank S, Levy L, Walker G, Haque W, et al. Declining use of brachytherapy for the treatment of prostate cancer. *Brachytherapy* 2013.
- [61] Rosen R, Altwein J, Boyle P, Kirby RS, Lukacs B, Meuleman E, et al. Lower urinary tract symptoms and male sexual dysfunction: the multinational survey of the aging male (MSAM-7). *Eur Urol* 2003;44:637-49.
- [62] Lowrance WT, Southwick A, Maschino AC, Sandhu JS. Contemporary practice patterns of endoscopic surgical management for benign prostatic hyperplasia among urologists in the United States. *J Urol* 2013;189:1811-6.

- [63] Prorok PC, Andriole GL, Bresalier RS, Buys SS, Chia D, Crawford ED, et al. Design of the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial. *Control Clin Trials* 2000;21:273S-309S.
- [64] Musquera M, Fleshner NE, Finelli A, Zlotta AR. The REDUCE trial: chemoprevention in prostate cancer using a dual 5alpha-reductase inhibitor, dutasteride. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008;8:1073-9.
- [65] Toren P, Margel D, Kulkarni G, Finelli A, Zlotta A, Fleshner N. Effect of dutasteride on clinical progression of benign prostatic hyperplasia in asymptomatic men with enlarged prostate: a post hoc analysis of the REDUCE study. *BMJ* 2013;346:f2109.
- [66] Schenk JM, Kristal AR, Arnold KB, Tangen CM, Neuhaus ML, Lin DW, et al. Association of symptomatic benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: results from the prostate cancer prevention trial. *Am J Epidemiol* 2011;173:1419-28.
- [67] Kopp RP, Freedland SJ, Parsons JK. Associations of benign prostatic hyperplasia with prostate cancer: the debate continues. *Eur Urol* 2011;60:699-700; discussion 1-2.
- [68] Alcaraz A, Hammerer P, Tubaro A, Schroder FH, Castro R. Is there evidence of a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer? Findings of a literature review. *Eur Urol* 2009;55:864-73.
- [69] Morganti G. Recherches clinico-statistiques et génétiques sur les néoplasies de la prostate. *Acta Genet Stat Med* 1956;6:304.
- [70] Olivier Cussenot GC-T. Facteurs de risque génétiques pour le cancer de la prostate. *Médecine/sciences* 2004;20:262.
- [71] Schaid DJ, Chang BL, International Consortium For Prostate Cancer G. Description of the International Consortium For Prostate Cancer Genetics, and failure to replicate linkage of hereditary prostate cancer to 20q13. *Prostate* 2005;63:276-90.
- [72] Yeager M, Orr N, Hayes RB, Jacobs KB, Kraft P, Wacholder S, et al. Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nat Genet* 2007;39:645-9.
- [73] Eeles RA, Olama AA, Benlloch S, Saunders EJ, Leongamornlert DA, Tymrakiewicz M, et al. Identification of 23 new prostate cancer susceptibility loci using the iCOGS custom genotyping array. *Nat Genet* 2013;45:385-91, 91e1-2.
- [74] Aly M, Wiklund F, Xu J, Isaacs WB, Eklund M, D'Amato M, et al. Polygenic risk score improves prostate cancer risk prediction: results from the Stockholm-1 cohort study. *Eur Urol* 2011;60:21-8.
- [75] Kader AK, Sun J, Reck BH, Newcombe PJ, Kim ST, Hsu FC, et al. Potential impact of adding genetic markers to clinical parameters in predicting prostate biopsy outcomes in men following an initial negative biopsy: findings from the REDUCE trial. *Eur Urol* 2012;62:953-61.
- [76] Jiang H, Liu F, Wang Z, Na R, Zhang L, Wu Y, et al. Prediction of prostate cancer from prostate biopsy in Chinese men using a genetic score derived from 24 prostate cancer risk-associated SNPs. *Prostate* 2013;73:1651-9.
- [77] Sun J, Na R, Hsu FC, Zheng SL, Wiklund F, Condreay LD, et al. Genetic score is an objective and better measurement of inherited risk of prostate cancer than family history. *Eur Urol* 2013;63:585-7.
- [78] Etzioni R, Gulati R, Cooperberg MR, Penson DM, Weiss NS, Thompson IM. Limitations of basing screening policies on screening trials: The US Preventive Services Task Force and Prostate Cancer Screening. *Med Care* 2013;51:295-300.
- [79] Amin AI, Olama A, Kote-Jarai Z, Schumacher FR, Wiklund F, Berndt SI, Benlloch S, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies to identify prostate cancer susceptibility loci associated with aggressive and non-aggressive disease. *Hum Mol Genet* 2013;22:408-15.
- [80] Shui IM, Lindstrom S, Kibel AS, Berndt SI, Campa D, Gerke T, et al. Prostate Cancer (PCa) Risk Variants and Risk of Fatal PCa in the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Eur Urol* 2014.
- [81] Whitaker HC, Warren AY, Eeles R, Kote-Jarai Z, Neal DE. The potential value of microseminoprotein-beta as a prostate cancer biomarker and therapeutic target. *Prostate* 2010;70:333-40.

- [82] Huang Q, Whittington T, Gao P, Lindberg JF, Yang Y, Sun J, et al. A prostate cancer susceptibility allele at 6q22 increases RFX6 expression by modulating HOXB13 chromatin binding. *Nat Genet* 2014.
- [83] Zhang X, Cowper-Salari R, Bailey SD, Moore JH, Lupien M. Integrative functional genomics identifies an enhancer looping to the SOX9 gene disrupted by the 17q24.3 prostate cancer risk locus. *Genome Res* 2012;22:1437-46.
- [84] Kloth M, Goering W, Ribarska T, Arsov C, Sorensen KD, Schulz WA. The SNP rs6441224 influences transcriptional activity and prognostically relevant hypermethylation of RARRES1 in prostate cancer. *Int J Cancer* 2012;131:E897-904.
- [85] Meyer KB, Maia AT, O'Reilly M, Ghousaini M, Prathalingam R, Porter-Gill P, et al. A functional variant at a prostate cancer predisposition locus at 8q24 is associated with PVT1 expression. *PLoS Genet* 2011;7:e1002165.
- [86] Kote-Jarai Z, Amin Al Olama A, Leongamornlert D, Tymrakiewicz M, Saunders E, Guy M, et al. Identification of a novel prostate cancer susceptibility variant in the KLK3 gene transcript. *Hum Genet* 2011;129:687-94.
- [87] Reinhardt D, Helfand BT, Cooper PR, Roehl KA, W JC, Loeb S. Prostate cancer risk alleles are associated with prostate cancer tumor volume and prostate size. *J Urol* 2013.
- [88] Berges R, Gsur A, Feik E, Hofner K, Senge T, Pientka L, et al. Association of polymorphisms in CYP19A1 and CYP3A4 genes with lower urinary tract symptoms, prostate volume, uroflow and PSA in a population-based sample. *World J Urol* 2011;29:143-8.
- [89] Park JH, Lee J, Kim CH, Lee S. The polymorphism (-600 C>A) of CpG methylation site at the promoter region of CYP17A1 and its association of male infertility and testosterone levels. *Gene* 2014;534:107-12.
- [90] Tsilidis KK, Travis RC, Appleby PN, Allen NE, Lindstrom S, Schumacher FR, et al. Interactions between genome-wide significant genetic variants and circulating concentrations of insulin-like growth factor 1, sex hormones, and binding proteins in relation to prostate cancer risk in the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Am J Epidemiol* 2012;175:926-35.
- [91] Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998;279:1542-7.
- [92] Sokoll LJ, Wang Y, Feng Z, Kagan J, Partin AW, Sanda MG, et al. [-2]proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a national cancer institute early detection research network validation study. *J Urol* 2008;180:539-43; discussion 43.
- [93] Guazzoni G, Nava L, Lazzeri M, Scattoni V, Lughezzani G, Maccagnano C, et al. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/ml: results of a prospective study in a clinical setting. *Eur Urol* 2011;60:214-22.
- [94] Vickers AJ, Gupta A, Savage CJ, Pettersson K, Dahlin A, Bjartell A, et al. A panel of kallikrein marker predicts prostate cancer in a large, population-based cohort followed for 15 years without screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:255-61.
- [95] McDonald AC, Vira MA, Vidal AC, Gan W, Freedland SJ, Taioli E. Association between systemic inflammatory markers and serum prostate-specific antigen in men without prostatic disease-The 2001-2008 National Health and Nutrition examination survey. *Prostate* 2014.
- [96] Mondul AM, Shui IM, Yu K, Travis RC, Stevens VL, Campa D, et al. Genetic variation in the vitamin d pathway in relation to risk of prostate cancer--results from the breast and prostate cancer cohort consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:688-96.
- [97] Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, Smit FP, Karthaus HF, Schalken JA, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999;59:5975-9.

- [98] Crawford ED, Rove KO, Trabulsi EJ, Qian J, Drewnowska KP, Kaminetsky JC, et al. Diagnostic performance of PCA3 to detect prostate cancer in men with increased prostate specific antigen: a prospective study of 1,962 cases. *J Urol* 2012;188:1726-31.
- [99] 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.
- [100] Kumar-Sinha C, Tomlins SA, Chinnaiyan AM. Recurrent gene fusions in prostate cancer. *Nat Rev Cancer* 2008;8:497-511.
- [101] Ploussard G, de la Taille A. Urine biomarkers in prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2010;7:101-9.
- [102] Liang Y, Ankerst DP, Sanchez M, Leach RJ, Thompson IM. Body mass index adjusted prostate-specific antigen and its application for prostate cancer screening. *Urology* 2010;76:1268 e1-6.
- [103] Ankerst DP, Groskopf J, Day JR, Blase A, Rittenhouse H, Pollock BH, et al. Predicting prostate cancer risk through incorporation of prostate cancer gene 3. *J Urol* 2008;180:1303-8; discussion 8.
- [104] Thompson IM, Chi C, Ankerst DP, Goodman PJ, Tangen CM, Lippman SM, et al. Effect of finasteride on the sensitivity of PSA for detecting prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:1128-33.
- [105] Ankerst DP, Koniarski T, Liang Y, Leach RJ, Feng Z, Sanda MG, et al. Updating risk prediction tools: a case study in prostate cancer. *Biom J* 2012;54:127-42.
- [106] Ankerst DP, Till C, Boeck A, Goodman P, Tangen CM, Feng Z, et al. The impact of prostate volume, number of biopsy cores and American Urological Association symptom score on the sensitivity of cancer detection using the Prostate Cancer Prevention Trial risk calculator. *J Urol* 2013;190:70-6.