



Prostat Kanserinin Tanı ve Tedavisinde Moleküler Biyolojinin Kullanım Alanları

Molecular Biology in Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer

Dr. Ece Konaç¹, Dr. Sinan Sözen²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Özet

Prostat kanseri (PK) yüksek mortalite ve morbidite ile ilişkili yaygın bir hastalıktır. PK'ı transkripsiyonel ve proteomik düzeylerde profileme çalışmalarına rağmen, hastalık progresyonu ile ilişkili olabilecek potansiyel genetik alterasyonlar (değişimler) ve hastalığın altında yatan moleküler biyolojik sinyal yolları günümüzde halen açıklığa kavuşturulamamıştır. Ne yazık ki, mevcut klinik diagnostik, prognostik ve prediktif biyobelirteçler, hastadan hastaya varyasyon gösteren klinik sonuçların sadece bir kısmını açıklayabilmektedir. Bu derlemenin amacı, lokalize PK'sından sistemik yayılımına kadar geçen süreçte, heterojenitenin de dahil olduğu, TMPRSS2: ERG ve diğer ETS-aile gen füzyonlarını benzersiz moleküler biyolojik özellikleriyle gözden geçirmektir. Kişiselleştirilmiş tıptaki ilerleme hızlı genomik analiz ve hedefe yönelik ajanların genişleyen portföyüne dayanmıştır. Bu bağlamda, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanserlerinde (mKDPK) moleküler süreç nasıl işler ve kişiye özgü tedavide moleküler hedefler neler olabilir sorularına açıklık getirmeye çalışacağız. Hastalığın moleküler temeli kişiler arasındaki varyasyonlar ile ilişkilendirilerek açıklığa kavuşturulursa, kişiye özel tasarlanmış tedaviler geliştirilebilecektir. Bu da, sağkalımın ve etkilenen bireylerin yaşam kalitesinin önemli ölçüde iyileştirilmesine imkan tanıyabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, moleküler biyoloji, kişiselleştirilmiş tıp, kişiye uyarlanmış ilaç tedavisi

Summary

Prostate cancer (PCa) is a common disease associated with high morbidity and mortality. Despite efforts to profile PCa on transcriptional and proteomic levels, the potential genetic alterations and underlying molecular biological signal pathways that may correlate with disease progression have not yet been resolved. Unfortunately, current clinical diagnostic, prognostic and predictive biomarkers can only partially explain the clinical outcomes which vary from patient to patient. The objective of this review is to investigate the TMPRSS2: ERG and other ETS-family gene fusions including heterogeneity in relation to their unique molecular biological features from localized PCa to systemic metastasis. Progress in personalized medicine has relied on rapid genomic analyses and expanding portfolio of targeting agents. In this respect, we will try to clarify how the molecular processes work and what might be the molecular targets in personalized treatment in metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC). Individually designed treatments-tailored therapy-could be developed, if the molecular basis of the disease is clarified through establishing correlations with variations among individuals. This may allow for significant improvements in survival rates and quality of life of affected individuals.

Key Words: Prostate cancer, molecular biology, personalized medicine, tailoring drug therapy

Giriş

Genel sağkalım süresini uzatabilen günümüz klinik başarılarına rağmen, prostat kanserine (PK) bağlı yaklaşık her yıl 30.000 erkek hayatını kaybetmektedir. Metastatik olgularda, birincil önemi olan androjen reseptör (AR) sinyal yollarından dolayı, androjen deprivasyon (baskılama) tedavisi (ADT) standart tedavi olsa dahi, AR'lerinin genetik aberasyonları sonucu tedavide başarı yakalamak oldukça zordur. Çünkü, ortalama 12-36 ay içinde prostat kanserli hastaların çoğunluğu

androjen ablasyonuna direnç geliştirmekte ve kastre düzeydeki testosterona rağmen androjen bağımlı/bağımsız sinyaller, kanser hücrelerinin çoğalmasına sebep olmaktadır. Günümüzde, kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarını prostat kanseri de dahil olmak üzere kanser tedavilerinde hayata geçirme ihtiyacı, kanserli olgularda görülen yüksek düzeyde genetik ve klinik heterojenlikten kaynaklanmaktadır. Bir ilacın hedefine ulaşım ulaşmadığını değerlendirme yetimizi iyileştirebilecek bazı inovatif stratejiler bulunmaktadır. Genomik sekanslama, microarray teknolojileri, proteomiks profileme uygulamalarıyla

moleküler sınıflandırmadaki gelişmeler prostat kanserinin biyolojisine dönük anlayışımızı geliştirmekte ve ortaya çıkan verileri anlamlı klinik sonuçlara dönüştürmemiz gerektiğini işaret etmektedir. Bu ilerlemelerin giderek artan bir oranda klinik denemeler ve nihayetinde prostat kanseri tedavisine uygulanması beklenmektedir. Klinik ve moleküler biyolojik verilerin paylaşımı da bu alandaki bir diğer önceliği teşkil etmektedir.

Hereditör (Kalıtsal) ve Sporadik Prostat Kanseri Genleri

PK gelişim mekanizmaları net olarak ortaya konulamamış olsa da; biyolojik, genetik, genomik instabilite (kararsızlık) ve epigenetiğin de aralarında olduğu etyolojik faktörlerin hastalığın gelişiminde etkin olduğu bilinmektedir (Şekil 1).

PK epidemiyolojik olarak hereditör ve sporadik olarak sınıflandırılabilmesine rağmen, duyarlılık genlerini belirlemek amacıyla yapılan çok sayıda moleküler düzeydeki çalışmada da görüldüğü gibi, bu iki grubu net olarak ayırt etmek kolay değildir. Çünkü, PK'ya sebep olan yüksek penetranslı yatkınlık geni tespit edilememekte, hatta birçok genin az veya orta düzeyde etkisinin bir arada rol oynadığı bilinmektedir. Hereditör tip PK'ine sebep olduğu bilinen birçok mutasyona uğramış gen, sporadik olgularda da mevcuttur. PK'inin yüksek frekansından dolayı aile içindeki sporadik tümörleri gerçek hereditör formlardan ayırt etmek oldukça zor görünmektedir. Dahası, hereditör PK genlerinin düşük penetranslı olması, prostat karsinogenezinde birden fazla genin aktif rol oynaması bu ayrımı güçleştirmektedir (1).

Hereditör PK, tüm olguların %10'nundan daha azını oluşturmaktadır. Birinci derece akrabalarında PK görülen bireylerdeki yaşam boyu risk 2-3 kat, yine birinci derece akrabalarında iki ve daha fazla birey etkilenmiş ise bu risk 5-11 kat artış göstermektedir. Hereditör formda olan PK sporadik forma göre yaklaşık 6-7 yıl daha erken ortaya çıkmaktadır. Otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağlı olmak üzere üç tip kalıtım paterni gözlemlenmiş, bu da bize birden fazla genin PK kalıtımında katkısı olduğunu göstermiştir. Aile temelli linkaj (bağlantı) analizine ve genom boyu ilişkilendirme (genome-wide association studies (GWAS)) çalışmalarına dayanarak; RNASEL (HPC1), PCAP, HPCX, CAPB, HPC20, MSR1, ELAC2, HSD3B, NBS1, CHEK2 gibi birçok prostat kanseri yatkınlık genleri tespit edilmiştir (1,2,3). PK risk genlerinin arasında en

kritik olan 8q24 bölgesidir. Bu bölgede proto-onkogen MYC geninin de olması, germline riskli varyantlar ile çoklu genlerin transkripsiyon seviyeleriyle ilişkili çalışmalar yapılmamasına yol açmış, ancak, germline risk taşıyan PK'larında MYC ifadeneme seviyelerinde bir fark saptanmamıştır (4). Yine de, tek nükleotid polimorfimlerin (SNP) en sık görüldüğü bu bölge, etkin risk faktörlerinin başında gelmektedir (3).

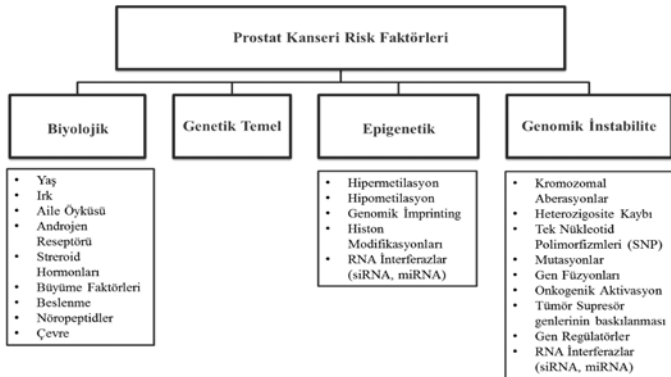
PK'nın başlaması, gelişmesi ve invazyonunda rol oynayan moleküler yolların çoğunluğu sporadiktir. Bu bağlamda, tümör supresör genler ve onkogenler, PK gelişimi, ilerlemesi ve androjenden bağımsız fenotiplerin ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Sporadik PK'sından sorumlu tümör supresör genlerinin başında; p53, PTEN, CDKN1B (p27), MX11, NKX3.1, RB, GSP1, KLF6, CDKN2A, ATFB1 gelirken; onkogen olanlarda ise c-MYC, c-Erb2 (Her-2 neu), BCL-2, PSCA, ERG, ETV1, AMACR, PIM1, Hepsin, AR, CYP17, SRD5A2, CYP3A4, VDR, STAT5 genleri başı çekmektedir (5,6,7,8).

Prostat Kanserinde Sıklıkla Görülen Genomik Sapmalar

PK oluşumu ve progresyonundaki her bir aşama için farklı mekanizmalar tanımlanmıştır. Şekil 2'de PK için patofizyolojik süreçler, moleküler alterasyonlarıyla beraber özetlenmeye çalışılmıştır. Genetik yatkınlık, enflamasyon ve artmış hücre çoğalması PK'nin başlaması için belirleyici faktörlerdir. Normal prostat epitelinde bu başlatıcı faktörler, proliferatif inflamatuvar atrofi (PIA) ve atipik küçük asiner proliferasyon (ASAP) lezyonlarına yol açar. Sonrasında, tümör baskılayıcı genlerin kaybı, onkogen aktivasyonu ve değişmiş hücre sinyalizasyonu lokalize PK'ya zemin hazırlar. Metastatik oluşum ise lokal invazyon, migrasyon, immun sisteme karşın sağkalım, ikincil bölgelere transmigrasyon ile sonuçlanan hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimindeki değişimleri kapsamaktadır.

PK'inin, prostat epitel hücrelerinden geliştiği ortak bir görüş olmasına rağmen, tümörlerin bazal hücrelerden mi ve/veya luminal epitel hücrelerden mi kaynaklandığına dair çelişkili kanıtlar vardır (9). PK, çeşitli mutasyonlar, amplifikasyonlar, genomik translokasyonlar sonucu oluşan gen füzyonları (kimerik gen) ile ilişkilendirilmiştir. PK'sında sıklıkla görülen genomik sapmalar Tablo 1'de özetlenmiştir.

AR, androjenler tarafından aktive edilen ve prostat hücrelerinde androjen sinyalizasyonunu düzenleyen bir anahtar transkripsiyon faktördür. AR geninde olan mutasyon ve amplifikasyonlar, protein kinazlar, büyüme faktörleri, nükleer reseptör ko-aktivatörler, steroid metabolizma enzimleri ve alternatif kesimlenme (splicing) varyantları, AR sinyalizasyonunu modifiye ederek kastrasyon direncine katkıda bulunurlar (10,11,12). KDPK'da en sık görülen genomik düzensizlik, AR proteininin aşırı ifadenemesine yol açan AR amplifikasyonlarıdır. Bu AR amplifikasyonları, splice varyantların ifadenmesini de içeren çok çeşitli genomik aberasyonlara sebep olabilmektedir (13). AR splice varyantlarının keşfi, bu izoformların sadece kesim ürünleri mi yoksa klinik açıdan fonksiyonel yansımalarının olup olmadığı sorusunu akla getirmiştir. PK progresyonunda AR varyantlarının potansiyel rolü birbirinden bağımsız klinik korelasyon çalışmaları tarafından desteklenmektedir (14,15,16,17). AR3/AR-V7 varyantının yüksek ifadeneme seviyesinin, AR-bağımsız sinyal yolağında biyokimyasal nüksün yanı sıra kansere özgü sağkalım için güçlü potansiyele sahip bir prognostik biyobelirteç



Şekil 1. Prostat kanseri risk faktörleri

Tablo 1. Prostat kanserinde sıklıkla görülen genomik sapmalar

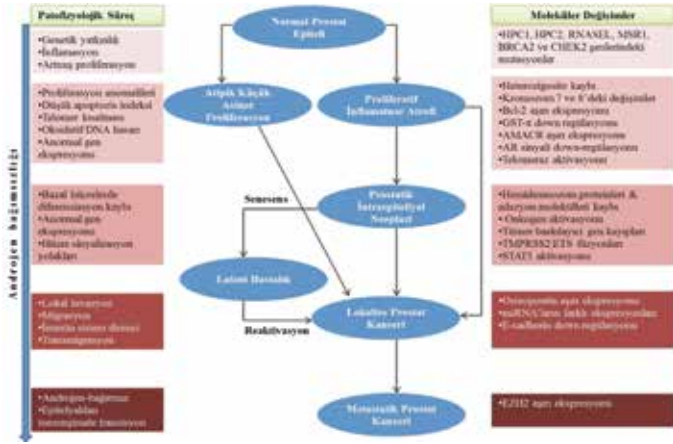
Genler	Lokalizasyon	Genomik Düzensizlik	Temel Özellikler
Androjen Reseptörleri (AR)	Xq11	Amplifikasyon Mutasyon	KDPK'lerinin %58'inde görülür. Kastrasyon direnç gelişimi ile ilişkilidir. KDPK'inde %10 mutasyonla seyredir. Çoğunlukla amplifikasyon eşlik eder.
TMPRSS2-ERG	Kromozom 21	Gen Füzyonu	Lokalize ve metastatik PK'lerinin %50'sinde; erken dönemde görülür.
NKX3.1	8p21	Delesyon	En sık görülen değişim, metastatik PK'lerin %78'inde görülür.
PTEN	10q23	Delesyon	%40 kopya sayısı kaybına kadar giden erken evre bir olaydır.
		Mutasyon	
c-Myc, PSCA, eIF3-p40	8q24, 8q24,3, 8q23	Amplifikasyon	Kromozom 8q'nin geniş bir bölgesi sıklıkla amplifiye olur.
TP53	17p31	Delesyon	%24-40 delesyonla seyredir. Kanselerde en sık mutasyona uğramış gen. Lokalize PK'lerin %5-40'ında görülür.
		Mutasyon	
CHD1	5q21	Delesyon	ERG füzyon negatif tümörlerde sıklıkla görülür.
RB1	13q14	Delesyon	%34 lokalize/%74 metastatik PK'lerde görülür.
FOXA1	6q21	Delesyon	AR transkripsiyon modülatör
		Mutasyon	
NCOA2	8q13	Amplifikasyon	AR ko-aktivatör
		Mutasyon	
SPOP		Mutasyon	KDPK'lerinin %15'inde görülür.
N-Myc	2p24	Amplifikasyon	NEPK'lerin (nöroendokrin diferensiyasyon) %40'ında/primer PK'lerin %5'inde görülür.
Aurora-kinaz A (AURKA)	20q13	Amplifikasyon	NEPK (nöroendokrin diferensiyasyon) ile ilişkilidir.

olabileceği düşünülmüştür (10). AR varyantlarından AR3/AR-V7 ve AR4/AR-V1'in hormon-refrakter PK'sında (HRPK) yüksek oranda ifadelendiği belirlenmiştir (14). Ayrıca, AR'ın nükleer transportu, reseptörün her bölgesinin karşılıklı etkileşimi ile düzenlenip, filamin A (FlnA)/integrin Beta 1 gibi kompleks protein birliktelikleriyle hücre migrasyonu ve invazyonunda görev aldığı gösterilmiştir (18).

PK'da görülen genomik düzensizliğin bir diğeri de, füzyon genleri olup, TMPRSS2: ERG, klinikte erken evrede en sık karşılaşılan gen füzyonudur. Bu kimerik yapı, androjenlerle düzenlendiği için PK'nin kritik başlangıç olayı gibi görünmekte, ve AR'larının füzyon oluşumunu desteklediğine dair kanıtlar da bilinmektedir (13). Tomlins ve ark. (19) ilk defa prostat-spesifik, androjen-yanıtlı bir transmembran serin proteaz olan TMPRSS2 geni promotör bölgesi ile eritroblastozis virüsü E26 (ETS) onkogenik transkripsiyon faktörünün kodlanan bölgeleri arasındaki füzyonun, PK'larının %50'sinden fazlasında olduğunu göstermişlerdir. ETS, hem DNA'ya bağlanma hem de diğer transkripsiyon faktörleri ile protein-protein etkileşimi için tanıma bölgeleri içerir. ETS transkripsiyon faktör ailesinin bir üyesi olan

ERG (ETS-ilişkili gen), hücre çoğalması ve progresyonunda hedef genler olan DNA hasarı, enflamasyon, epigenetik kontrol, farklılaşma, epitelyal-mezenkimal geçiş ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenlemektedir (20). TMPRSS2: ERG füzyonu, androjen duyarlı promotör geni TMPRSS2 kontrolü altında ERG transkripsiyon faktörlerini kodlamakta ve bu faktörlerin hedeflediği genlerin ifadenmesini sağlamaktadır (19) (Şekil 3). TMPRSS2: ERG ve TMPRSS2: ETV1 gen füzyonlarının keşfini (19), TMPRSS2: ETV4 füzyonu (21), sonrasında sırasıyla; HERV_K_22q11.23: ETV1, SLC45A3:ETV1, C15orf21: ETV1, HNRPA2B1: ETV1 (22), KLK2:ETV4, CANT1:ETV4 (23), TMPRSS2: ETV5, SLC45A3:ETV5 (24), SLC45A3: ERG, DDX5: ETV4, FLJ35294: ETV1 (25) ve NDRG1: ERG (26) füzyonları takip etmiştir. Bu alternatif gen füzyon keşifleri, 3' ucundaki ETS gen aile üyeleri değişebileceği gibi, 5' ucundaki gen partnerlerinin de değişebileceğini ve böylece herbiri birbirinden farklı gen ürünleri oluşabileceğini göstermiştir.

ETS gen ekspresyon profil mekanizmalarının moleküler düzeyde aydınlatılması, erken ve geç dönem PK (KDPK) için yeni bir terapötik hedef geliştirme fırsatını doğurmuştur.



Şekil 2. Prostat kanseri başlaması ve ilerlemesindeki karşılaştırmalı moleküler aşamalar



Şekil 3. Prostat kanserinde TMPRSS2: ERG gen füzyonları (kimerik genler)

TMPRSS2	1	2	3	4	5	6-13	14		
ERG	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T1-E4	1	4	5	6	7-10	11			
T1-E2	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T4-E4	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T4-E5	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T5-E4	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T5-E5	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T1-E5	1	5	6	7-10	11				
T2-E5	1	2	5	6	7-10	11			
T1-E3	1	3	4	5	6	7-10	11		
T2-E2	1	2	2	3	4	5	6	7-10	11
T2-E4	1	2	4	5	6	7-10	11		
T3-E4	1	2	3	4	5	6	7-10	11	
T1-E6	1	6	7-10	11					
T1-E3,5	1	3	5	6	7-10	11			
T1-E2,3,4,6	1	2	3	4	6	7-10	11		
T1-E3a4	1	3a	4	5	6	7-10	11		
T1-E3b4	1	3b	4	5	6	7-10	11		
T1-E3e4	1	3c	4	5	6	7-10	11		
T1-E5,6,4	1	ERG6[AY204740.1]	4	5	6	7-10	11		

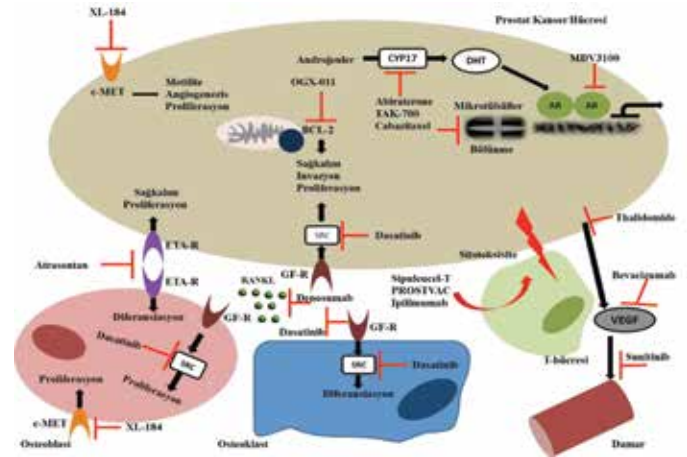
Şekil 4. TMPRSS2: ERG füzyon varyantları. T:TMPRSS2'deki son ekzon, E: ERG'nin ilk ekzonunu temsil etmektedir. Açık renklendirme kodlanmayan bölgeler, koyu renklendirme ise kodlanan bölgeler için kullanılmıştır

TMPRSS2: ERG başta olmak üzere, PK'sında gen füzyonlarının yüksek prevalansı, onları potansiyel diagnostik ve prognostik biyobelirteç olmalarının yanısıra, kişiselleştirilmiş tıpta "tailored" terapiler için hedef haline getirmiştir (27,28).

TMPRSS2: ERG füzyon genleri PK'sında alternatif "spliced transkript" mRNA varyantları oluşturabileceğinden her bir füzyonun gen ifadenmesi de dolayısıyla farklı olabilmektedir (Şekil 4). TMPRSS2'nin 5' ucu genellikle "non-coding" (kodlanmayan) bölgeler olup (UTR), protein ürünleri yoktur. ETS'nin, amino (N) ucu kesilmiş olsa bile, DNA'ya bağlanma ve transaktivasyon bölgesi proteinin karboksil (C) ucunda olduğundan dolayı, fonksiyonel olarak tamdır. Peki, nasıl oluyor ki farklı ERG füzyon varyantları benzer biyolojik fonksiyonlara sahip olabilmektedir? Bu varyasyonlar onkogenik fenotiplere yanısıra tedavi-yanıtı nasıl etkileyebilmektedir?

Kastrasyona dirençli metastatik PK'sında, TMPRSS2: ETS füzyon oluşum mekanizmaları hastalığın daha saldırgan bir moleküler alt-tipini karakterize edebilmektedir. Öyle ki, interstisyel delesyon (Edel) ile oluşan füzyon geni, hastalığın seyriyle ilişkilendirildiğinde, translokasyonlar aracılığıyla oluşan füzyon genine göre daha agresif davranış göstermektedir (29). Üstelik, ERG protein ifadesi olmaksızın, ERG-yeni düzenlenmeleri, bazı hastaların yakından takip edilmesini gerektirecek yeni bir alt-grup olduğu sonucunu aklı getirmiştir. Bu ise, AR'dan farklı bir yolağın KDPK'larında olabileceği fikrini ortaya atmıştır. Bu tümörler, AR-bağımsız KDPK'lı hastaların bugüne kadar tanımlanamayan yeni bir alt grubunu temsil edebilmekte ve AR yoluna karşı yöneltilmiş konvansiyonel tedaviden yararlanamayan hastaları içerebilmektedir (30).

Prostat spesifik antijeni (PSA), her ne kadar prostata özgün bir biyomarker olsa da, PK'ya özgün değildir. Bundan dolayı, PK gibi çoğunlukla yavaş seyreden, yüksek negatif biyopsi oranı ve fazladan tedavi konuları halen tartışma konusu olan durumlarda ek öngörü değeri olabilecek yeni diagnostik, prognostik hatta prediktif biyobelirteç arayışına ihtiyaç duyulmuştur. TMPRSS2:



Şekil 5. Metastatik kastrasyon dirençli prostat kanserinde (mKDPK) kemikte iki-bölmeli model. Şeklin üst bölümü prostat kanseri epitel hücrelerini, alt bölümü ise osteoblastlar, osteoklastlar, T-hücreleri ve endotelial hücreleri temsil göstermektedir. PK progresyonunda birden fazla otokrin ve parakrin sinyal yolları ve bu yolları hedefleyen yeni terapötikler gösterilmiştir

ERG gen füzyonu ve prostat kanser geni 3 (PCA3), serum PSA ile birlikte değerlendirildiğinde, PK erken tanısı ve progresyonunun öngörüsünde dikkate değer sonuçlar elde edilmiştir (31). Bu biyobelirteçlerin hasta idrarlarında noninvaziv yöntemlerle tespit edilebilir olması kliniğe kolay uygulanabilmesini de doğurmuştur.

Kanser epidemiyolojisinde, epigenetik biyobelirteçler bireylerin genetik arkaplan ve çevresel maruziyetine karşı geliştirildiği için avantajlı olabilir. Epigenetik biyobelirteçlerin arasında PK için tanısız olarak Glutasyon S-Transferaz P1 (GSTP1) hipermetilasyonunun yanında; NKX2-5, CLSTN1, SPOCK2, SLC16A12, DPYS ve NSE1 genleri de bildirilmiştir (32). PK epidemiyoloji bilgisi genom, epigenom ve proteom biyobelirteç profil çalışmalarıyla artarak devam ettiği takdirde, tedavide hastalığın yükünün azaltılmasında kişiye yönelik moleküler ilaçları hedefleyen "tailored drug therapy" dönemine geçilebilecektir. Ancak, evre değişiklikleri, prostat dokusu başına düşen yetersiz tümör sayısı, kanser hacimlerinin azalması, multi-fokal ve multi-klonal heterojenite, örneklem sayısı ve standardizasyonu, ıslak lab verilerinin klinik ile ilişkilendirmesindeki güçlükler gibi biyobelirteç keşfinde karşılaşılan birtakım zorluklar bazen istatistiksel anlamlılığı klinik anlamlılık ile bir arada götüremeyebilir. Bütün bu zorluklara rağmen, PK gelişimine karşı proaktif bir eylem olarak biyobelirteçler geliştirmeli ve bu moleküler belirteçlerin popülasyonlar arasındaki farklanmalarını engellemek adına ise validasyon çalışmaları hız kazanmalıdır.

Metastatik Kastrasyon Dirençli Prostat Kanserinde (mKDPK) Androjen Reseptör Yolu Hedefleme: Moleküler Üroonkolojik Gelişmeler ve Beklentiler

Androjen reseptör sinyalizasyonu, PK hücreleri için kritik bir yolaktır. Dolayısıyla, lokal ileri evre ve metastatik PK'lerine yaklaşımda androjen deprivasyon tedavisi (ADT), standart bir yöntemdir. Ancak, zaman içerisinde çoğu tümör ADT'ye direnç geliştirmektedir. Son yıllarda, mKDPK'sına bakış önemli ölçüde değişmiştir. Hastalığın moleküler biyolojisi ve kastrasyon-direnç mekanizmalarının anlaşılmasıyla eş zamanlı olarak tedavide paradigma değişimleri kaydedilmiştir. Literatürde çok sayıda çalışmalardan gördüğümüz üzere, PK hücreleri, AR sinyalizasyonunun devamını sağlamak adına adaptif mekanizmalar (backdoor pathway) geliştirmekte ve evrimleşmektedir (33). Derlememizin takip eden bölümünde, kastrasyon direncinin moleküler mekanizmalarına ve AR sinyalizasyon aks'ını moleküler düzeyde hedefleyen yeni stratejilere güncel bir yaklaşım sağlamayı amaçladık.

Kastrasyona direnç; androjen yolaktaki AR'larının aşırı duyarlılığı ve fosforilasyonu, büyüme faktörleri arasındaki etkileşim, AR ko-faktörleri, intrakin androjen üretimi gibi veya alternatif (by-pass) yolaktaki nöroendokrin tümörler ve anti-apoptotik genlerdeki moleküler genomik sapmalardan kaynaklanmaktadır (34). Androjen yolağındaki reseptörlerin, amplifikasyonlar, mutasyonlar, splice (kesimlenme) varyasyonlar, ko-aktivatörler, steroidogenezis değişimleriyle yeniden aktive olması kastrasyona dirençle sonuçlanır (35,13).

AR varyantlarından klinikte en çok karşılaşılan formları AR-V7 (AR3) ve ARv567es'dir. KDPK'lı hasta dokularında sıklıkla gözlenen AR-V7 varyantı, ligand bağlayan bölgesine (LBD) sahip olmayıp, sürekli (konstitütif) bir şekilde aktif durumdadır. Bu

varyant herhangi bir androjen olmasa dahi DNA'ya bağlanabilir ve bu PK hücre büyümesini indüklemek için yeterlidir. Gen ekspresyon profillemeye çalışmaları AR-V7'nin AR-hedef genlerinin hemen hepsinin regülasyonunda görev aldığını göstermiştir (36). AR nükleer lokalizasyon sinyalini içeren ekzon 4 çoğu varyantında yoktur. Ancak, AR-V7 varyantı kendine özgü ve muhtemelen nükleer lokalizasyon sinyali görevini gören bir dizi bazik amino asite sahiptir. Çalışmalar, varyantların hem kendilerine özgü hem de diğer varyantlar ile çalışabilen rollerini ve yeni jenerasyon ilaçlardan olan anti-androjen enzalutamid de (MDV3100) dahil olmak üzere, hedef tedavilere karşı direncin oluşmasında belirleyici faktör olabileceğini göstermiştir (37). ADT, AR ek-varyantlarının ekspresyonunu indükleyerek hastalığın ilerlemesine yol açabilir. Prostat hücrelerinde, mikrotübül ağı AR nükleer translokasyonu ve aktivitesi için önemli olduğu bilinmektedir. AR del mutasyonları yaratarak, mikrotübüllerin AR'üne tam olarak nereden bağlandığını gösterilmiştir. ARv567es ve AR-V7 varyantlarında, taksan hassasiyetinin farklı olmasının altında yatan moleküler mekanizmanın AR-V7 varyantının (taksan tedavisine cevap vermeyen formu, dosetaksel dirençli) hinge (menteşe) bölgesinin olmaması neticesinde mikrotübüllerle ve dinein proteinleriyle etkileşememesi olduğu açıklanmıştır. mKDPK'lerinde sıklıkla görülen ARv567es varyantı, 5-7'inci ekzonları kesip çıkarıldığından LBD'nin sadece küçük bir kısmına sahiptir ve taksanların anti-tümör etkinliklerini azaltabilir (38). AR ifadenmesi veya yapısındaki alterasyonlara ilave olarak, steroid metabolizmasındaki değişimler, ko-aktivatör ekspresyonları, hücre sinyalizasyonları, özellikle sitoprotektif şaperonlar ve otofaji gibi stresle aktiflenen yollar ve plastisite, serum testosteronu kastre düzeyde olmasına rağmen AR aktivasyonuna sebep olurlar (13).

KDPK, gerçekten androjenik etkiden bağımsız mı hareket etmeye başlar? Bu sorunun cevabı, aslında hayırdır. Çünkü, AR-bağımlı yolların da KDPK'larında aktif olduğu günümüzde artık bilinmektedir (39,40). Kastre düzeydeki testosterona rağmen, androjene bağımlı sinyaller kanser hücrelerini büyütebilmekte, bu nedenle KDPK olguları ikincil hormonal tedavilere de yanıt verebilmektedir. Kastrasyona duyarlı olgularda ADT ile maksimal androjen bloklamaya; kastrasyona dirençli olgularda ise androjen sentez inhibisyonuna ve AR'lerini hedeflemeye gidilmiştir. Androjen biyosentez inhibitörü olan abirateron asetatin ve androjen bağlanmayı, nükleer translokasyonu ve DNA bağlanmasını bloklayan AR sinyal inhibitörü olan enzalutamidin keşifleriyle, 2010-2013 arası PK tedavisinde altın yılları yaşanmıştır (41,42,43). PK tedavisindeki ilaç evrimini, dosetaksel öncesi, sonrası ve iskelet ilişkili olayları engelleme diye sınıflandırabiliriz (44). Abirateron ve enzalutamid hem dosetaksel öncesi hem de sonrasına karakterize olan yeni nesil ilaçlardır. Günümüz PK araştırmaları, kanser hücrelerinin ve konak kemik mikroçevresi arasındaki çift-yönlü etkileşimi üzerine yoğunlaşmasını sürdürmektedir (45). Epiteyal-stromal etkileşim yolları, prostat kanserinin gelişmesi, progresyonu ve kemiğe tutulumunda oldukça etkindir. Normal prostat bezi gelişimi için önemli olan büyüme sinyal yolları ve kemik homeostazı PK'lerinde sıklıkla bozulduğundan, bu yollar moleküler tedaviler için hedef olmaktadır. Bu iki bölümlü (epitel ve stromal kompartman) model yeni tedavi stratejilerine yol açmıştır. PK tedavisinde kullanılan belli başlı ilaçlar ve moleküler etki mekanizmaları Şekil 5'de özetlenmeye çalışılmıştır.

Mevcut veriler göstermektedir ki, AR ligand bağlanmayı hedefleyen ilaçlara cevap oranı, her bir tedavi ile düşmektedir. Ancak, KDPK'nın büyük bir bölümü AR-aks'ına bağlı kalmakta, dolayısıyla AR sinyalizasyonunun bloklanmasına dönük yeni stratejiler halen dikkate değer bulunmaktadır (46). Abirateron, 17- α -hidroksilaz (CYP17) enzimini inhibe ederek etki göstermekte ve sonuçta dolaşımdaki testosteron düzeyini azaltmaktadır. COU-AA-301 çalışması sonrasında KDPK'lı hastalarda abirateron kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır (47). Takip eden yıllarda, abirateron asetatin dosetaksel tedavisi sonrasında mKDPK hastalarında sağkalımda plaseboya göre yaklaşık 4 ay uzama sağladığı ve hem kan hem de kemik iliği aspirasyonunda daha az pikogram başına mililitre seviyelerle testosteronu sürekli bastırdığı gösterilmiştir (48). COU-AA-302 çalışmasında, kemoterapi öncesi hafif semptomatik veya asemptomatik mKDPK hastalarında tek başına prednizona karşı abirateron asetat değerlendirilmiştir. Radyolojik progresyonsuz sağkalım abirateron grubunda prednizona göre daha uzun (16,5 ve 8,2 ay sırasıyla, HR: 0,52) bulunmuştur (49). Bicalutamid, nilutamid ve flutamid gibi birinci nesil anti-androjenlere direnç gelişimini takiben yeni nesil ikinci jenerasyon ilaçlar geliştirilmiştir (34). Bunlardan, enzalutamid nonsteroidal bir AR antagonistidir. Enzalutamid, KDPK tedavisinde kemoterapi sonrasında etkilidir. Plaseboya göre sağkalımda 4,8 aylık bir uzama elde edilmiş ve yan etki profili kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur. PSA seviyesinde azalma, yumuşak doku cevap oranı, PSA progresyonuna kadar geçen süre, radyolojik progresyonsuz sağkalım ve iskelet-ilişkili olaylar gibi ikincil açıdan karşılaştırıldığında da enzalutamidin karşıcı düzeyde üstünlüğü ortaya konmuştur. Ayrıca, beraberinde steroid kullanımı gerekmemesi bir avantaj da olabilir (43). Beer ve ark. (50), KDPK'lı hastalarda kemoterapi öncesi enzalutamid tedavisinin sağkalım üzerine etkinliğini araştırmışlardır. Bin yediyüz on yedi kemoterapi-naiv, asemptomatik veya orta düzeyde semptomatik mKDPK'lı hastalar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, enzalutamidin anlamlı bir düzeyde radyografik progresyon ve ölüm riskini azalttığını ve bu grup hastalarda kemoterapi başlatılmasını geciktirdiğini tespit etmişlerdir. AFFIRM çalışması, post-hoc analiz sonuçları değerlendirildiğinde, enzalutamidin genel sağkalımda, radyografik progresyonsuz sağkalımda ve biyokimyasal rekürensiz sağkalımda etkili olduğu gösterilmiştir (51).

Isı-şok proteinlerini (hsp) bloklarak AR'larını destabilize etmek tedaviye yönelik geliştirilen stratejilerden biri olmuştur. Hsp90 inhibitörlerinden alvespimycin (17-DMAG (17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin)) ile tedavi edilen KDPK'lı hastaların bir grubunda, bir yıldan daha uzun süre anti-tümör etkisi gözlemlenmiştir (52). AR ve fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt yolakları arasında karşılıklı bir geri- besleme döngüsü olduğu göz önüne alındığında, yeni nesil AR-hedefli ilaçlar olan enzalutamid ve abirateron asetatin PI3K/Akt inhibitörleriyle kombinasyonu ümit verici görülmektedir (53).

Taksan'lar, mikrotübülleri stabilize ederek, hücre siklusunun metafaz-anafaz safhasında durmasına sebep olabileceği gibi mikrotübül ilişkili motor proteinlerden dineine bağlanarak, AR translokasyonunu da engelleyebilirler. Üstelik, ATP-bağımlı bir ilaç akış pompası olan p-glikoprotein afinitesini azaltabilirler (54). Taksan sınıfı bileşiklerden olan dosetaksel ve paklitaksel

dirençli tümörlere üçüncü nesil semi-sentetik taksan analogu olan kabazitaksel etki gösterebilir. Kabazitaksel, dosetakselden sonra sağkalım avantajı sağlayan ilk ajandır. Ancak, kabazitaksel ile grade III-IV nötrojeni riski %80 düzeyindedir. Granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) profilaktik kullanımı, nötrojenin kontrolünde etkilidir. Kabazitaksel artı prednizon tedavisi mKDPK'lı hastalarda dosetaksel bazlı tedavi sonrası genel sağkalım açısından önemli klinik antitümör aktiviteye sahiptir (55). TROPIC çalışması sonlandırıldıktan 2 yıl sonra yapılan bir analizde, kabazitaksel tedavisi alan hastalarda ortalama olarak 2 yılın üzerinde sağkalım teyit edilmiştir (56).

Tümörün ortadan kaldırılmasını temel alan sitotoksik terapide direnç ve/veya tümörün rekürensi olabilmektedir. Oysa ki, immunoterapiyle bağışıklık sistemi aktive olduğundan, klinik etki zaman alsa bile, verilen cevap immunolojik hafıza sebebiyle sürekli olur. Dolayısıyla, tedavide sitotoksik terapi mi? yoksa immunoterapi (aşı tedavisi) mi? sorusu gündeme gelmiştir. Sipuleucel-T, prostat hücre membranında yerleşmiş bir enzim olan prostatik asit fosfataza (PAP) karşı sitotoksik etki yapan dendritik hücre bazlı bir aşıdır. Faz 3 IMPACT çalışmasında, kemoterapi almamış KDPK'lı hastalarda sipuleucel-T tedavisi ve plasebo sonuçları karşılaştırıldığında, aşı kolunda 4,1 ay kadar fazla anlamlı bir sağkalım avantajı ortaya konmuştur (57). Sipuleucel-T tedavisinden büyük ölçekte fayda gören hasta grubunun başlangıç prognostik faktörleri daha toleranslı ve düşük bazal PSA değerleri olduğu gözlemlenmiştir. Sitoredüktif tedaviler, ileri evreli hastalarda (PSA>median değer) daha etkin bir yöntem olduğu görüşünden yola çıkarak, KDPK'larında immunoterapiyi "erken adım" olarak düşünebiliriz (58). Sipuleucel-T tedavisi almış mKDPK'lı hastaların eozinofillerinde 6. haftada geçici artışlar gözlemlenmiş ve kısa dönem immün-aktivasyonu için bu artışların bir biyobelirteç olabileceği söylenmiştir (59).

Kemik-hedefli tedavi aktif bir araştırma alanıdır. mKDPK hastalarının yaklaşık %75'inde kemik metastazları gelişir. Osteoklast aktivasyonuna bağlı destrüksiyon sonucu patolojik kırık, kord kompresyonu gibi sorunlar, cerrahi ve radyoterapi ihtiyacı ortaya çıkarabilmektedir. Reseptör aktivatör nükleer kapp B ligandı (RANKL) kemik metabolizmasının regülasyonundan sorumlu olup, kemik metastazında rolü olan osteoblastlar ve kemik iliği stromal hücreleri tarafından salınır. RANKL, osteoklastı aktive ederek apoptozu engeller. Kemik üzerine etkili ajanlardan olan denosumab, RANKL'ye bağlanarak osteoklast aktivasyonunu inhibe eden bir monoklonal antikordur. İlk kemik hedef ajanı olan denosumab ile zoledronik asitin karşılaştırmalı analiz faz 3 çalışmasında, denosumab grubunda iskelete bağlı olay gelişimini %18 oranında geciktirdiği bulunmuştur (60). Ancak, mandibula osteonekrozu riski benzerlik göstermiştir. Son çalışmalar, denosumabın (subkutan) zoledronik asite (intravenöz) göre iskelet ilişkili olayların önlenmesinde ve kemiğe metastazsız sağkalım artışında daha etkin olduğunu göstermiştir (61).

Hedefe yönelik tedavi stratejilerinde yer alan ve alfa partikül ışınımı yapan bir ajan olan radium-223'ün genel sağkalım faydasının dışında ağırlı kemik metastazı olan hastalarda önemli palyatif etkisi gösterilmiştir (62). Faz 3 çalışmasında (ALSYMPCA) 921 KDPK'lı hastada radium-223'ün genel sağkalımı 3,6 ay arttırdığı saptanmış ve grade III-IV hematolojik toksisite düşük oranlarda görülmüştür (63). Randomize kontrollü bir diğer faz

3 çalışmasında, dosetaksel tedavisi görmüş veya dosetaksel için uygun olmayan mKDPK'li hastalarda, radium-223'ün genel sağkalımda avantaj sağladığı ve iskelete bağlı olayları geciktirdiği saptanmıştır (64).

Sonuç

Diagnostik, prognostik ve prediktif biyobelirteç geliştirme zorluklarının ve kanser heterojenliğinin aşılması, ancak yakın gelecekte hız kazanacak moleküler sub-tiplerin keşfedilmesine dönük genom boyu ilişkilendirme ve gen-profil imza çalışmalarını mümkün görmektedir.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Mazaris E, Tsiotras A. Molecular pathways in prostate cancer. *Nephrourol Mon* 2013;5:792-800.
2. Alvarez-Cubero MJ, Saiz M, Martinez-Gonzalez LJ, et al. Genetic analysis of the principal genes related to prostate cancer: a review. *Urol Oncol* 2013;31:1419-1429.
3. Ishak MB, Giri VN. A systematic review of replication studies of prostate cancer susceptibility genetic variants in high-risk men originally identified from genome-wide association studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1599-1610.
4. Pomerantz MM, Beckwith CA, Regan MM, et al. Evaluation of the 8q24 prostate cancer risk locus and MYC expression. *Cancer Res* 2009;69:5568-5574.
5. Nakagawa H. Prostate cancer genomics by high-throughput technologies: genome-wide association study and sequencing analysis. *Endocr Relat Cancer* 2013;20:171-181.
6. Vecchione A, Gottardo F, Gomella LG, et al. Molecular genetics of prostate cancer: clinical translational opportunities. *J Exp Clin Cancer Res* 2007;26:25-37.
7. Shand RL, Gelmann EP. Molecular biology of prostate-cancer pathogenesis. *Curr Opin Urol* 2006;16:123-131.
8. Karan D, Lin MF, Johansson SL, et al. Current status of the molecular genetics of human prostatic adenocarcinomas. *Int J Cancer* 2003;103:285-293.
9. Wang ZA, Mitrofanova A, Bergren SK, et al. Lineage analysis of basal epithelial cells reveals their unexpected plasticity and supports a cell-of-origin model for prostate cancer heterogeneity. *Nat Cell Biol* 2013;15:274-283.
10. Guo Z, Qiu Y. A New Trick of an Old Molecule: Androgen Receptor Splice Variants Taking the Stage?! *Int J Biol Sci* 2011;7:815-822.
11. Sun S, Sprenger CC, Vessella RL, et al. Castration resistance in human prostate cancer is conferred by a frequently occurring androgen receptor splice variant. *J Clin Invest* 2010;120:2715-2730.
12. Watson PA, Chen YF, Balbas MD, et al. Constitutively active androgen receptor splice variants expressed in castration-resistant prostate cancer require full-length androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:16759-16765.
13. Shafi AA, Yen AE, Weigel NL. Androgen receptors in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer. *Pharmacol Ther* 2013;140:223-238.
14. Hornberg E, Ylitalo EB, Crnalic S, et al. Expression of Androgen Receptor Splice Variants in Prostate Cancer Bone Metastases is Associated with Castration-Resistance and Short Survival. *PLoS One* 2011;6:19059.
15. Karantanos T, Evans CP, Tombal B, et al. Understanding the Mechanisms of Androgen Deprivation Resistance in Prostate Cancer at the Molecular Level. *Eur Urol* 2014 Oct 8. pii: S0302-2838(14)01000-8. doi: 10.1016/j.eururo.2014.09.049. [Epub ahead of print]
16. Lu J, Lonergan PE, Nacusi LP, et al. The cistrome and gene signature of androgen receptor splice variants in castration-resistant prostate cancer cells. *J Urol* 2014 Aug 14. pii: S0022-5347(14)04214-1. doi: 10.1016/j.juro.2014.08.043. [Epub ahead of print]
17. Nakazawa M, Antonarakis ES, Luo J. Androgen receptor splice variants in the era of enzalutamide and abiraterone. *Horm Cancer* 2014;5:265-273.
18. Castoria G, D'Amato L, Ciociola A, et al. Androgen-induced cell migration: role of androgen receptor/filamin A association. *PLoS One* 2011;6:17218.
19. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005;310:644-648.
20. Hollenhorst PC, McIntosh LP, Graves BJ. Genomic and biochemical insights into the specificity of ETS transcription factors. *Annu Rev Biochem* 2011;80:437-471.
21. Tomlins SA, Mehra R, Rhodes DR, et al. TMPRSS2:ETV4 gene fusions define a third molecular subtype of prostate cancer. *Cancer Res* 2006;66:3396-3400.
22. Tomlins SA, Laxman B, Dhanasekaran SM, et al. Distinct classes of chromosomal rearrangements create oncogenic ETS gene fusions in prostate cancer. *Nature* 2007;448:595-599.
23. Hermans KG, Bressers AA, van der Korput HA, et al. Two unique novel prostate-specific and androgen-regulated fusion partners of ETV4 in prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:3094-3098.
24. Helgeson BE, Tomlins SA, Shah N, et al. Characterization of TMPRSS2:ETV5 and SLC45A3:ETV5 gene fusions in prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:73-80.
25. Han B, Mehra R, Dhanasekaran SM, et al. A fluorescence in situ hybridization screen for E26 transformation-specific aberrations: identification of DDX5-ETV4 fusion protein in prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:7629-7637.
26. Pflueger D, Rickman DS, Sboner A, et al. N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) is fused to ERG in prostate cancer. *Neoplasia* 2009;11:804-811.
27. St John J, Powell K, Conley-Lacomb MK, et al. TMPRSS2-ERG Fusion Gene Expression in Prostate Tumor Cells and Its Clinical and Biological Significance in Prostate Cancer Progression. *J Cancer Sci Ther* 2012;4:94-101.
28. Gasi Tandefelt D, Boormans J, Hermans K, et al. ETS fusion genes in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2014;21:143-152.
29. Mehra R, Tomlins SA, Yu J, et al. Characterization of TMPRSS2-ETS gene aberrations in androgen-independent metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 2008;68:3584-3590.
30. Gsponer JR, Braun M, Scheble VJ, et al. ERG rearrangement and protein expression in the progression to castration-resistant prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2014;17:126-131.
31. Salami SS, Schmidt F, Laxman B, et al. Combining urinary detection of TMPRSS2:ERG and PCA3 with serum PSA to predict diagnosis of prostate cancer. *Urol Oncol* 2013;31:566-571.
32. Verma M, Patel P, Verma M. Biomarkers in prostate cancer epidemiology. *Cancers* 2011;3:3773-3798.
33. Lamont KR, Tindall DJ. Minireview: Alternative activation pathways for the androgen receptor in prostate cancer. *Mol Endocrinol* 2011;25:897-907.
34. Ferraldeschi R, Welti J, Luo J, et al. Targeting the androgen receptor pathway in castration-resistant prostate cancer: progresses and prospects. *Oncogene* 2014 May 19. doi: 10.1038/onc.2014.115 [Epub ahead of print]
35. Li Y, Alsagabi M, Fan D, et al. Intragenic rearrangement and altered RNA splicing of the androgen receptor in a cell-based model of prostate cancer progression. *Cancer Res* 2011;71:2108-2117.
36. Hu R, Isaacs WB, Luo J. A snapshot of the expression signature of androgen receptor splicing variants and their distinctive transcriptional activities. *Prostate* 2011;71:1656-1667.

37. Li Y, Chan SC, Brand LJ, et al. Androgen receptor splice variants mediate enzalutamide resistance in castration-resistant prostate cancer cell lines. *Cancer Res* 2013;73:483-489.
38. Thadani-Mulero M, Portella L, Sun S, et al. Androgen receptor splice variants determine taxane sensitivity in prostate cancer. *Cancer Res* 2014;74:2270-2282.
39. Tilki D, Evans CP. The changing landscape of advanced and castration resistant prostate cancer: latest science and revised definitions. *Can J Urol* 2014;21:7-13.
40. Chang KH, Ercole CE, Sharifi N. Androgen metabolism in prostate cancer: from molecular mechanisms to clinical consequences. *Br J Cancer* 2014;111:1249-1254.
41. de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, et al. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2011;364:1995-2005.
42. Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS, et al. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *N Engl J Med* 2013;368:138-148.
43. Scher HI, Fizazi K, Saad F, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med* 2012;367:1187-1197.
44. Mukherji D, Omlin A, Pezaro C, et al. Metastatic castration-resistant prostate cancer (CRPC): preclinical and clinical evidence for the sequential use of novel therapeutics. *Cancer Metastasis Rev* 2014;33:555-566.
45. Efstathiou E, Logothetis CJ. A new therapy paradigm for prostate cancer founded on clinical observations. *Clin Cancer Res* 2010;16:1100-1107.
46. Attard G, Richards J, de Bono JS. New strategies in metastatic prostate cancer: targeting the androgen receptor signaling pathway. *Clin Cancer Res* 2011;17:1649-1657.
47. Fizazi K, Scher HI, Molina A, et al. Abiraterone acetate for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer: final overall survival analysis of the COU-AA-301 randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol* 2012;13:983-992.
48. Efstathiou E, Titus M, Tsavachidou D, et al. Effects of abiraterone acetate on androgen signaling in castrate-resistant prostate cancer in bone. *J Clin Oncol* 2012;30:637-643.
49. Rathkopf DE, Smith MR, de Bono JS, et al. Updated Interim Efficacy Analysis and Long-term Safety of Abiraterone Acetate in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Patients Without Prior Chemotherapy (COU-AA-302). *Eur Urol* 2014 Mar 6. pii: S0302-2838(14)00185-7.
50. Beer TM, Armstrong AJ, Rathkopf DE, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med* 2014;371:424-433.
51. Saad F, de Bono J, Shore N, et al. Efficacy Outcomes by Baseline Prostate-specific Antigen Quartile in the AFFIRM Trial. *Eur Urol* 2014 Aug 26. pii: S0302-2838(14)00778-7.
52. Pacey S, Wilson RH, Walton M, et al. A phase I study of the heat shock protein 90 inhibitor alvespimycin (17-DMAG) given intravenously to patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2011;17:1561-1570.
53. Carver BS, Chapinski C, Wongvipat J, et al. Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer. *Cancer Cell* 2011;19:575-586.
54. Darshan MS1, Loftus MS, Thadani-Mulero M, et al. Taxane-induced blockade to nuclear accumulation of the androgen receptor predicts clinical responses in metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 2011;71:6019-6029.
55. de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M, et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet* 2010;376:1147-1154.
56. Bahl A, Oudard S, Tombal B, et al. Impact of cabazitaxel on 2-year survival and palliation of tumour-related pain in men with metastatic castration-resistant prostate cancer treated in the TROPIC trial. *Ann Oncol* 2013;24:2402-2408.
57. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 2010;363:411-422.
58. Schellhammer PF, Chodak G, Whitmore JB, et al. Lower baseline prostate-specific antigen is associated with a greater overall survival benefit from sipuleucel-T in the Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment (IMPACT) trial. *Urology* 2013;81:1297-1302.
59. McNeel DG, Gardner TA, Higano CS, et al. A transient increase in eosinophils is associated with prolonged survival in men with metastatic castration-resistant prostate cancer who receive sipuleucel-T. *Cancer Immunol Res* 2014;2:988-999.
60. Fizazi K, Carducci M, Smith M, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet* 2011;377:813-822.
61. Dellis A, Papatsoiris AG. Denosumab as a promising novel bone-targeted agent in castration resistant prostate cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2014;14:7-10.
62. Parker C, Nilsson S, Heinrich D, et al. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2013;369:213-223.
63. Bellmunt J. Tackling the bone with alpha emitters in metastatic castration-resistant prostate cancer patients. *Eur Urol* 2013;63:198-200.
64. Ryan CJ, Saylor PJ, Everly JJ, et al. Bone-Targeting Radiopharmaceuticals for the Treatment of Bone-Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Exploring the Implications of New Data. *Oncologist* 2014;19:1012-1018.