

Prädiktion aggressiver Prostatakarzinome

Entwicklung und Validierung genomischer Klassifizierer

Bei Prostatakrebs-Patienten, die sich der radikalen Prostatektomie unterziehen, entscheidet sich nach der Operation die Klassifizierung ihrer Krankheit als mit hohem oder niedrigem klinischem Risiko behaftet. Hierzu werden gewöhnlich pathologische Merkmale wie der Gleason Score ≥ 7 , extrakapsuläre Ausbreitung, positive Schnittränder, Invasion der Samenblasen und positiver Nodalstatus herangezogen, die auf ein erhöhtes Risiko der klinischen Metastasierung hindeuten. Andererseits sind klinisch-pathologische Merkmale und auch ein biochemisches Rezidiv beim Prostatakrebs trotz hoher Sensitivität keine spezifischen Prädiktoren für Metastasierung und Letalität. Deshalb wird nach verbesserten Möglichkeiten der Klassifizierung von Prostatakrebs nach radikaler Prostatektomie geforscht. Insbesondere werden hierbei Veränderungen im Genom der Krebszellen im Zusammenhang mit Genexpressions-Signaturen ins Auge gefasst. Denn seit dem Aufkommen der DNA-Microarray-Technologie werden zunehmend Genexpressionsanalysen zur Aufklärung zellbiologischer Mechanismen unternommen, die sich bei Prostatakrebs-Patienten als Klassifizierer für Prognose und Therapieansprechen anwenden lassen.

Bei einem Großteil der Prostatakrebs-Patienten finden sich nach der radikalen Prostatektomie ungünstige pathologische Merkmale. Das bedingt zumeist die postoperative Behandlung mit Strahlentherapie alleine oder zusammen mit einer Hormontherapie. Aufgrund der unzureichenden Möglichkeit, Prostatakrebs in aggressive und nicht bzw. weniger aggressive Tumoren zu klassifizieren, wurde im letzten Jahrzehnt in zahlreichen Studien nach verbesserten Prädiktoren für deren biologisches Risiko, metastasierten Prostatakrebs zu entwickeln, geforscht. Dabei wurden einzelne Biomarker und Genexpressionssignaturen getestet. Doch trotz vielfältiger Bemühungen haben die Ergebnisse bislang kaum Anwendung in der klinischen Praxis gefunden.

Adjuvante Strahlentherapie versus Überwachungsstrategie bei negativen pathologischen Merkmalen

In verschiedenen randomisierten klinischen Studien zu adjuvanter Strahlentherapie gegenüber bloßer Überwachung bei

Patienten mit negativen pathologischen Merkmalen war eine signifikante Abnahme biochemischer Rezidive [1, 2], lokaler Rezidive [3, 4], und der Metastasierung sowie ein verlängertes Gesamtüberleben für die Patienten mit adjuvanter Strahlentherapie nachgewiesen worden [3].

Mit konventioneller externer Bestrahlung (60 Gy über sechs Wochen) unmittelbar nach der radikalen Prostatektomie wurde bei 502 randomisierten Patienten mit pT3-Tumor oder positiven Schnitträndern und hohem Progressionsrisiko ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben und eine bessere lokale Kontrolle erreicht als bei 503 Kontrollpatienten unter „Wait-and-see-Strategie“ [1]. Dieses nach fünf Jahren registrierte Ergebnis bestätigte sich bei der Analyse eines Follow-up von median 10,6 Jahren bezüglich signifikanter Verbesserung des biochemischen progressionsfreien Überlebens und der lokalen Kontrolle. Andererseits blieben die Verbesserungen des klinischen progressionsfreien Überlebens nicht aufrecht erhalten. Aus einer exploratorischen Analyse geht aber hervor, dass die postoperative Bestrahlung das klini-

Männer, die an Prostatakrebs versterben, hatten bei der Diagnose überwiegend eine lokalisierte Krankheit. Nach radikaler Prostatektomie stellte sich dann heraus, dass ihr Tumor ungünstige pathologische Merkmale aufweist. In dieser Situation haben prädiktive Instrumentarien bisher begrenzte Fähigkeiten, Patienten mit erhöhtem Risiko für Metastasierung zu identifizieren.

Anhand archivierter Gewebeproben von Männern, die sich an der Mayo Clinic einer radikalen Prostatektomie aufgrund eines lokalisierten Prostatakarzinoms unterzogen hatten, wurde ein genomischer Klassifizierer mit 22 Markern entwickelt, der auch zahlreiche, nicht kodierende RNA-Sequenzen enthält. In mehreren Studien wurde dessen überlegener prognostischer Nutzen gegenüber herkömmlichen pathologischen Variablen validiert. Der unmittelbar postoperativ anwendbare Test kann anhand des Primärtumors frühzeitig Patienten selektieren, die von intensiveren Therapien profitieren können.

sche progressionsfreie Überleben bei Patienten unter 70 Jahren und bei denen mit positiven Schnitträndern verbessern könnte, aber bei Patienten ab 70 Jahren einen unzuträglichen Effekt hat [4].

Entwicklung eines genomischen 22-Marker-Klassifizierers (Decipher® Prostatakrebs-Klassifizierer)

Begründet auf der Hypothese, dass sich das biologische Potenzial eines aggressiven Prostatakarzinoms in einer im Primärtumor entdeckten genomischen Expressionssignatur widerspiegelt, wurde von einem Untersucherteam aus Mitarbeitern der GenomeDx Biosciences (Vancouver, BC, Kanada), Forschern der Universität Vancouver, der Universität von Los Angeles, CA und der Mayo Clinic (Rochester, MN) ein genomischer Klassifizierer (GK) mit 22 Markern entwickelt. Hierfür stand von 545 Patienten aus dem Tumorregister der Mayo Clinic (192 Fälle bei denen ein biochemisches Rezidiv und Fernmetastasen aufgetreten sind und 353 Kontrollen ohne Progression oder mit biochemischem Rezidiv) RNA zur Verfügung, die für die Analyse erfolgreich auf Microarrays hybridisiert werden konnte. Für den überwachten Lernprozess wurde ein Satz mit Trainingsdaten von 359 per Zufallsentscheid ausgewählten Patienten gebildet. Zur Validierung diente der Datensatz der verbliebenen 166 Patienten.

Der GK wurde im Trainingsset aus der Analyse von 1,1 Millionen RNA-Features (Positionen auf dem Chip) auf den Microarrays entwickelt. Nach verschiedenen Selektionsschritten verblieb letztlich ein Satz mit 22 RNA-Biomarkern aus Protein-kodierenden und nicht Protein-kodierenden Regionen des Genoms. Der GK liefert einen kontinuierlichen Variablen score zwischen 0 und 1, wobei ein höherer Score auf die höhere Wahrscheinlichkeit klinischer Metastasierung hinweist. Kaplan-Meier-Kurven der Patientengruppen (alle Fälle) mit niedrigem und hohem Score des GK zeigen deutliche Unterschiede hinsichtlich des Prostatakrebs-spezifischen Überlebens (Abb. 1) wie auch hinsichtlich des Gesamtüberlebens (Abb. 2). Die Biomar-

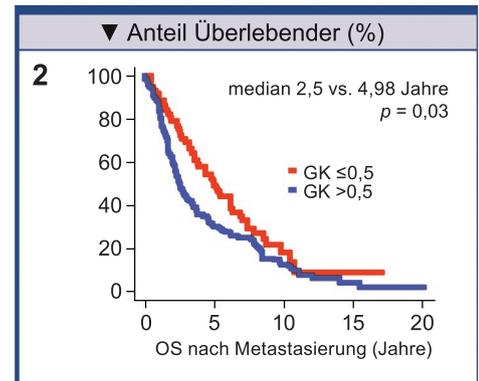
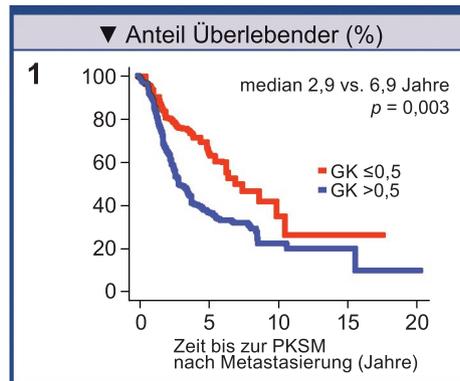


Abb. 1 und 2: Kaplan-Meier-Kurven für Prostatakrebs-spezifische Mortalität (PKSM) (1) und Gesamtüberleben (OS) (2). Alle Fälle wurden nach dem genomischen Klassifizierer (GK)-Score als Niedrigrisiko ($\leq 0,5$) und Hochrisiko ($> 0,5$) getrennt. Die Zeit bis zur PKSM und die OS wurden ab dem biochemischen Rezidiv gemessen [5].

ker erwiesen sich als mit einer Reihe entscheidender biologischer Prozesse bei der Progression von Prostatakrebs zur metastasierten Krankheit assoziiert.

Der GK wurde anhand des Validierungssets überprüft. Er wies hinsichtlich seiner prädiktiven Fähigkeit, frühe klinische Metastasierung zu identifizieren, gegenüber zuvor beschriebenen einzelnen Genen, Multigen-Signaturen und klinisch-pathologischen Variablen signifikant überlegene Ergebnisse auf. Bei prospektiver Validierung des Tests ließen sich im praktischen Klinikbetrieb jene Patienten identifizieren, die nach der radikalen Prostatektomie von einer früheren und intensiveren Therapie profitieren könnten [5].

Der 22-Feature-GK wird von GenomeDx Biosciences, Vancouver, BC, als Decipher® Prostate Cancer Classifier vermarktet. Mit dem Test lässt sich gemäß Firmenangaben nach radikaler Prostatektomie anhand der Expression der 22 Biomarker die Wahrscheinlichkeit klinischer Metastasen innerhalb von fünf Jahren und die eines biochemischen Rezidivs innerhalb von drei Jahren errechnen.

Validierungen des 22-Feature-Klassifizierers Decipher®

Eine der ersten unabhängigen Validierungen des 22-Biomarker-GK erfolgte anhand von Patienten mit negativen pathologischen Merkmalen nach radikaler Prostatektomie aus dem Tumorregister der Mayo Clinic (nicht identisch mit den

Patienten in der Entwicklungskohorte). Der GK erwies sich in einer multivariaten Analyse als der überlegene Prädiktor für Metastasierung und Letalität [6].

Zu einem ähnlich positiven Urteil kommen Untersucher aus dem John Hopkins Medical Institute, Baltimore, MD: Ihre Studienpopulation umfasste 85 Hochrisiko-Patienten, die nach radikaler Prostatektomie ein biochemisches Rezidiv entwickelt hatten. Verglichen mit klinisch-pathologischen Variablen war der 22-Biomarker-GK in der Untersuchungskohorte ein exakterer Prädiktor der me-

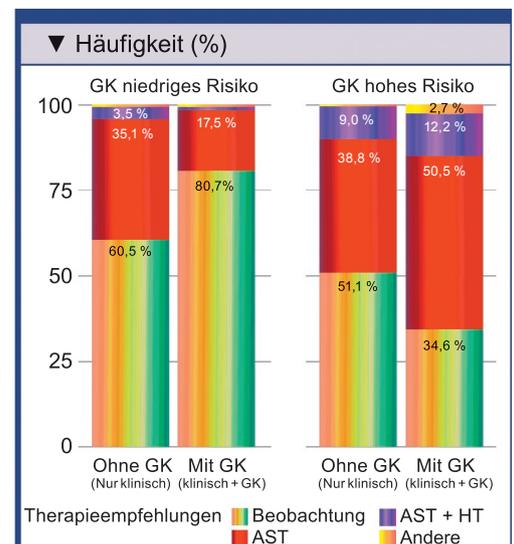


Abb. 3: Veränderungen der Therapieempfehlung teilnehmender Urologen in Patientengruppen mit niedrigem und hohem GK-ermitteltem Risiko bei Kenntnis des GK-Testergebnisses. GK = genomischer Klassifizierer, AST = adjuvante Strahlentherapie, HT = Hormontherapie [10].

tastatischen Progression. In der multivariaten Analyse war der GK zugleich der alleinige signifikante Prädiktor für Metastasierung [7].

In einer Studienpopulation mit 169 Prostatakrebs-Patienten, die sich an der Cleveland Clinic, Cleveland, OH, zwischen 1987 und 2008 einer radikalen Prostatektomie unterzogen hatten (pT3 oder positive Schnittränder), wurde geprüft, ob sich die Genauigkeit der Prädiktion der Metastasierung innerhalb von fünf Jahren nach der Operation mit dem Decipher®-Tests gegenüber der standardmäßigen Risiko-Stratifizierung mit CAPRA-S und dem Stephenson Nomogramm verbessern lässt. Dabei erwies sich Decipher® nach Bereinigungen für klinische Risikofaktoren als signifikanter Prädiktor einer frühzeitigen Metastasierung. Von den drei prädiktiven Instrumenten erreichte Decipher® den höchsten Konkordanz-Index (Harrell's C-Index) mit 0,77 gegenüber dem Stephenson-Modell mit 0,75 und CAPRA-S mit 0,72 [8].

In einer weiteren retrospektiven Untersuchung wurde der Frage nachgegangen, ob kombinierte Risikomodelle aus Biomarkern und klinisch-pathologischen Variablen zur Verbesserung der Prädiktion und damit Entscheidungsfindung nach radikaler Prostatektomie genutzt werden können. Es wurde die prognostische Fähigkeiten von CAPRA-S und dem 22-Biomarker-GK Decipher® jeweils allein und in Kombination bewertet [9].

Aus einer Kohorte von Prostatakrebs-Patienten mit hohem Rezidivrisiko nach der radikalen Prostatektomie, die an der

Mayo Clinic zwischen 2000 und 2006 behandelt worden waren, konnten in 185 Fällen zugleich Scores für CAPRA-S und GK bestimmt werden. Siebzehn von ihnen waren am Prostatakrebs verstorben. Für CAPRA-S wurde ein C-Index von 0,75 und für GK von 0,78 ermittelt. Von 82 der Patienten, die nach dem CAPRA-S-Score ≥ 6 mit hohem Risiko bewertet wurden, hatten 33 auch nach dem GK-Score ein hohes Risiko. Von ihnen starben 17 am Prostatakrebs. Anhand des GK-Scores wurden die restlichen 49 Patienten mit niedrigem bis intermediärem Risiko eingestuft. Allerdings verstarben auch von ihnen drei Männer an dem Prostatakrebs. Für Patienten, die sowohl hohe GK- und hohe CAPRA-S-Scores aufwiesen, betrug die kumulierte Inzidenzrate für Prostatakrebs-spezifische Mortalität innerhalb von zehn Jahren 45 %. Sowohl der CAPRA-S-Score als auch der GK waren in der multivariaten Analyse signifikant unabhängige Prädiktoren der Prostatakrebs-spezifischen Mortalität [9].

Einfluss des 22-Marker-Klassifizierers auf klinische Entscheidungen

In einer prospektiven, multizentrischen Studie wurde ermittelt, dass der 22-Marker-GK die Therapieentscheidung bei der Erwägung adjuvanter Strahlentherapie nach radikaler Prostatektomie signifikant beeinflusst und das Vertrauen in die Entscheidungsfindung erhöht [10]. Die Studienteilnehmer waren 51 Urologen, deren

Aufgabe es war, Fälle aus den Krankenakten neu zu beurteilen. Bei den vorgelegten Fällen war nach der radikalen Prostatektomie bei 71 % der Patienten ein pT3-Tumor und bei 63 % positive Schnittränder gefunden worden. Insgesamt standen 110 Kasuistiken zum Review zur Verfügung. Für den GK-Test wurden die archivierten Gewebeproben dieser Patienten herangezogen [10].

Hatten die Urologen keine Kenntnis des GK-Testergebnisses, wurde für 57 % der Patienten anhand der klinischen Faktoren eine Beobachtung, für 36 % eine adjuvante Strahlentherapie und für 7 % eine andere Therapie empfohlen. Mit Kenntnis des GK-Testergebnisses wurden 31 % andere Therapieentscheidungen getroffen als ohne deren Kenntnis. Davon waren 52 % der Wechsel von einer Therapie zur Beobachtung [10].

Bei Fallberichten, die nach GK-Testergebnis als Niedrigrisiko eingestuft wurden, war in 81 % der Fälle Beobachtung empfohlen worden. Im Gegensatz dazu war in Fallberichten, die nach GK-Testergebnis als Hochrisiko eingestuft wurden, die Empfehlung zu Beobachtung bei dieser Kenntnis von ursprünglich 51,1 % auf 34,6 % zurückgegangen (Abb. 3) [10].

Einer weiteren aktuellen Analyse lag die Hypothese zugrunde, dass die Anwendung des genomischen Klassifizierers zwischen Patienten, die von adjuvanter Strahlentherapie und denen, die von der Salvage-Strahlentherapie profitieren würden, unterscheiden könne. Diesbezüglich wurde retrospektiv geprüft, welchen Einfluss die Einbeziehung des Tests mit 22 RNA-Biomarkern auf die Terminierung der Strahlentherapie nach radikaler Prostatektomie haben kann [11].

Anhand der GenomeDx-Gendatenbank wurden die Daten aller Patienten mit einem T3-Prostatakarzinom und/oder positiven Schnitträndern, die sich an der Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA, und der Mayo Clinic Rochester, MN, zwischen 1990 und 2009 eine Strahlentherapie erhalten hatten, extrahiert [11].

Die kumulativen 5-Jahres-Inzidenzraten bei Patienten mit niedrigem, durchschnittlichem und hohem CAPRA-S-Score betragen 13 %, 2 % bzw. 14 % (Abb. 4A). Bei Patienten mit niedrigem, durchschnittlichem

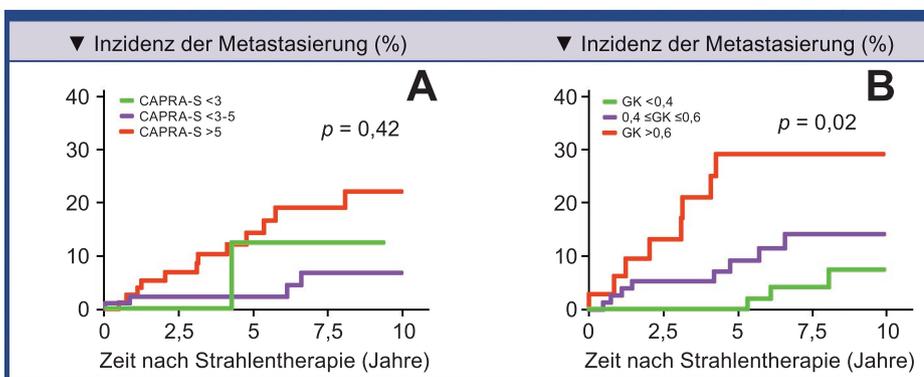


Abb. 4: Kumulative Inzidenz stratifiziert nach dem Cancer of the Prostate Risk Assessment Postsurgical (CAPRA-S)-Score (A) und dem genomischen Klassifizierer (GK)-Score (B) zur Ermittlung ihrer Prognose für Metastasierung nach der Strahlentherapie [11].

chem und hohem GK-Score betragen die kumulativen 5-Jahres-Inzidenzraten 0 %, 9 % bzw. 29 % (Abb. 4B) [11].

Patienten mit einem GK-Score <0,4 hatten sowohl bei adjuvanter als auch bei Salvage-Strahlentherapie die kumulative 5-Jahres-Inzidenzrate von 0 % (Abb. 5A). Im Gegensatz dazu war bei Patienten mit einem GK-Score ≥0,4 die Salvage-Strahlentherapie deutlich vorteilhafter als die adjuvante Strahlentherapie. Die kumulativen 5-Jahres-Inzidenzraten betragen 6 % bzw. 23 % (Abb. 5B) [11].

Im Vergleich zum GK-Score war der CAPRA-S-Score nicht geeignet, Patienten zu identifizieren, die wahrscheinlich von einer adjuvanten Strahlentherapie profitieren würden. Dementsprechend war der C-Index für CAPRA-S 0,66 und 0,83 für GK. Er erhöhte sich in einem kombinierten Modell nur geringfügig auf 0,85 [11].

Überprüft wurde ferner die Hypothese, dass ein genomischer Klassifizierer auch als prädiktives Instrument für biochemisches Rezidiv und Fernmetastasen bei Prostatakrebs-Patienten dienen kann, die nach der radikalen Prostatektomie eine Strahlentherapie erhalten. Hierzu wurden Prostatakrebs-Patienten mit pT3-Tumor oder positiven Schnitträndern identifiziert, die sich am Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA, nach radikaler Prostatektomie einer Strahlentherapie unterzogen hatten. Von 139 Männern lagen Formalin-fixierte, Paraffin-eingebettete Blöcke des resektierten Prostatagewebes vor. Die RNA aus dem Fokus mit dem höchsten Gleason-Grad wurde extrahiert und auf einen High-density Oligonukleotid-Microarray aufgebracht. Auf die Microarray-Expressionsdaten wurde der

22-Marker-GK angewandt. Die kumulativen Inzidenzraten der Wahrscheinlichkeit für biochemisches Versagen und für Fernmetastasen waren für drei GK-Risikogruppen signifikant. Für biochemisches Versagen betragen die 4-Jahres-Inzidenzraten bei niedrigem, intermediärem und hohem GK-Score 13 %, 31 % bzw. 49 %. Sie erhöhten sich nach acht Jahren auf 21 %, 48 % bzw. 81 % (Abb. 6A). Die 8-Jahres-Inzidenzraten für Fernmetastasen waren 0 %, 12 % und 17 % für niedrigem, intermediären bzw. hohen GK-Score (Abb. 6B) [12].

Entwicklung und Validierung eines 32-Gen-Prognoseindex für Progressionsrisiko bei PCa-Patienten

Von einer Forschergruppe am Massachusetts General Hospital der Harvard University, Boston, MA, wurde ein 32-Gen-Prognoseindex entwickelt [13]. Mittels bioinformatischer Datenanalyse der Expression von 1 536 Genen in malignem Prostatagewebe wurde eine Gen-Expressionssignatur mit prognostischer Potenz für biochemische Rezidivierung identifiziert. Die 32-Gen-Signatur umfasst Gene verschiedener Funktionsklassen wie Gene für Transkriptionsfaktoren, Zellzyklus-Gene, Gene für Regulatoren metabolischer Prozesse sowie Gene unbekannter Funktion. Es wurde ein kontinuierlicher Risikoindex entwickelt, der eine individuelle Risikobewertung auf der Grundlage des im Tumorgewebe ermittelten Gen-Expressionsprofils zulässt.

Für die Validierung des Index dienten Gewebeproben einer anderen Gruppe mit 270 Prostatakrebs-Patienten, deren radikale Prostatektomie in den Jahren zwischen 1996 und 1997 stattgefunden hatte. Der 32-Gen-Prognoseindex erwies sich als unabhängiger Prädiktor für biochemisches Rezidiv nach radikaler Prostatektomie und ergänzte die standardmäßigen klinischen und pathologischen Variablen mit signifikantem prognostischem Nutzen. Eine multivariate Analyse zeigte, dass nur der 32-Gen-Prognoseindex und die Schnittränder für biochemisches Rezidiv signifikant prädiktiv waren.

Eine Weichen stellende Therapieent-

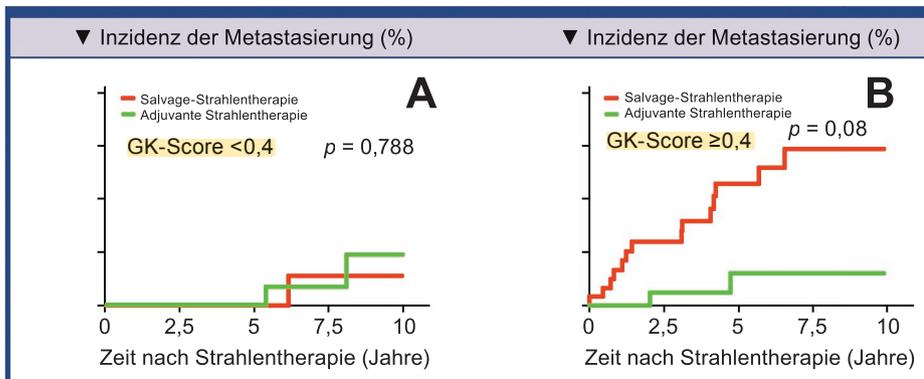


Abb. 5: Kurven der kumulativen Inzidenz zur Ermessung des Nutzens einer adjuvanten Strahlentherapie gegenüber einer Salvage-Strahlentherapie bei Anwendung des genomischer Klassifizierer (GK)-Scores stratifiziert nach Scores <0,4 (A) und ≥0,4 (B) [11].

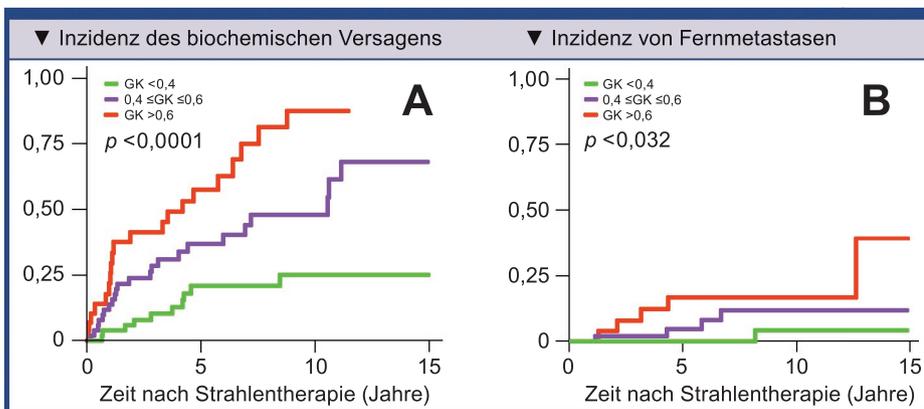


Abb. 6: Kumulative Inzidenz des biochemischen Versagens (A) und von Fernmetastasen (B) nach Strahlentherapie für Patientengruppen mit niedrigem (<0,4), intermediärem (0,4 bis ≤0,8) und hohem (>0,8) genomischer Klassifizierer (GK)-Score [12].

scheidung muss bereits nach jeder positiven Prostatabiopsie bei der Prostatakrebs-Diagnose getroffen werden. Im Vordergrund steht dabei die Alternative Active Surveillance versus radikale Prostatektomie. Die Suche nach prognostischen Kriterien, um in dieser Situation die Identifizierung eines klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms zu gewährleisten, hat noch längst nicht zu einem allgemein befriedigenden Ergebnis geführt. Zur Optimierung der diesbezüglichen Klassifizierung der Patienten lässt sich auch an genomische Marker denken, die in positiven Biopsiestanzen statt in Gewebeproben nach radikaler Prostatektomie, bestimmt werden könnten. Der 32-Gen-Expressionsindex wurde zwar an letzterem Gewebe entwickelt und validiert, doch er zeigte auch an Biopsieproben potenzielle klinische Verwendungsmöglichkeit. Als „proof of concept“ wurden zusammenfassende Biopsie- und Prostatektomie-Proben untersucht. Dabei wurde eine signifikante Korrelation zwischen den jeweiligen Scores des Risiko-Index festgestellt. Andererseits bestehen wesentliche Vorbehalte wie die multifo-

kale Natur des Prostatakrebses, die Heterogenität des Gleason-Grades und potenzielle Fehlinterpretationen aufgrund der Probenentnahme gegenüber der Anwendbarkeit eines genomischen Klassifizierers auf Biopsieproben. *jfs* ◀

[1] Bolla M, van Poppel H, Collette L et al. 2005. Postoperative radiotherapy after radical prostatectomy: a randomised controlled trial (EORTC trial 22911). *Lancet* 366:572-678.

[2] Wiegel T, Bottke D, Steiner U et al. 2009. Phase III postoperative adjuvant radiotherapy after radical prostatectomy compared with radical prostatectomy alone in pT3 prostate cancer with postoperative undetectable prostate-specific antigen: ARO 96-02/AUO AP 09/95. *J Clin Oncol* 27:2924-2930.

[3] Thompson IM, Tangen CM, Paradelo J et al. 2009. Adjuvant radiotherapy for pathological T3N0M0 prostate cancer significantly reduces risk of metastases and improves survival: long-term followup of a randomized clinical trial. *J Urol* 181:956-962.

[4] Bolla M, van Poppel H, Tombal B et al. 2012. Postoperative radiotherapy after radical prostatectomy for high-risk prostate cancer: long-term results of a randomised controlled trial (EORTC trial 22911). *Lancet* 380:2018-2027.

[5] Erho N, Crisan A, Vergara IA, et al. 2013. Discovery and validation of a prostate cancer genomic classifier that predicts early metastasis following radical prostatectomy. *PLoS ONE* 8:e66855.

[6] Karnes RJ, Bergstralh EJ, Davicioni E, et al. 2013. Validation of a genomic classifier that predicts metastasis following radical prostatectomy in an at risk patient population. *J Urol* 190:2047-2053.

[7] Ross AE, Feng FY, Ghadessi M, et al. 2014. A genomic classifier predicting metastatic disease progression in men with biochemical recurrence after prostatectomy. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 17:64-69.

[8] Klein EA, Yousefi K, Haddad ZA, et al. 2015. Genomic classifier improves prediction of metastatic disease within 5 years after surgery in node-negative high-risk prostate cancer patients managed by radical prostatectomy without adjuvant therapy. *Eur Urol* 67:778-786.

[9] Cooperberg MR, Davicioni E, Crisan A, et al. 2015. Combined value of validated clinical and genomic risk stratification tools for predicting prostate cancer mortality in a high-risk prostatectomy cohort. *Eur Urol* 67:326-333.

[10] Badani KK, Darby J, Thompson DJ, Brown G, et al. 2015. Effect of a genomic classifier test on clinical practice decisions for patients with high-risk prostate cancer after surgery. *BJU Int* 115:419-429.

[11] Den RB, Yousefi K, Trabulsi EJ, et al. 2015. Genomic classifier identifies men with adverse pathology after radical prostatectomy who benefit from adjuvant radiation therapy. *J Clin Oncol* 33:944-951.

[12] Den RB, Feng FY, Showalter TN, et al. 2014. Genomic prostate cancer classifier predicts biochemical failure and metastases in patients after postoperative radiation therapy. *Int J Radiation Oncol Biol Phys* 89:1038-1046.

[13] Wu C-L, Schroeder BE, Ma X-J, et al. 2013. Development and validation of a 32-gene prognostic index for prostate cancer progression. *PNAS* 110:6121-6126.