

# Neuroblastom

Peter F. Ambros, Inge M. Ambros

CCRI,  
Children's Cancer Research Institute,  
Wien, Austria

## Zusammenfassung

Obwohl das Neuroblastom (NB) genetisch zu einem der best untersuchten Tumoren gehört, ist die Frage der Tumorentstehung nur unzureichend geklärt. Die genetischen Veränderungen sind sehr heterogen und es konnte bis dato keine spezifische und konstante genetische Veränderung gefunden werden, welche in allen NBs auftritt. Es sollte auch erwähnt werden, dass das NB eine enorme klinische/biologische Vielfalt aufweist, die von spontaner Regression und spontaner Maturation bis hin zu einem äußerst aggressiven Verhalten reicht. Es war daher eine große Herausforderung, diese klinischen, biologischen Untertypen mit genetischen Merkmalen zu korrelieren. Dies ist nun in den letzten Jahren weitgehend gelungen, sodass die genetischen Grundmuster der einzelnen klinischen/biologischen Gruppen erhellt werden konnten.

## Schlüsselwörter

Neuroblastom, Ganglioneuroblastom, Ganglioneurom, FISH Fluoreszenz in situ-Hybridisierung, Regression, Maturation, Genetik, Progression, MYCN

## Summary

Despite the fact that neuroblastomas (NBs) belong genetically to one of the best studied entities of human tumors, the question of tumorigenesis, however, remains unsolved. The genetic changes in NBs are heterogeneous and no single genetic change common to all NBs has been identified so far. The biological and clinical behavior is also extremely heterogeneous, ranging from spontaneous regression and spontaneous maturation to a very aggressive behavior. In this chapter, an attempt is made to assign the different biological/clinical features of neuroblastic tumors to certain genetic features.

## keywords

neuroblastoma, ganglioneuroblastoma, ganglioneuroma, fluorescence in situ hybridisation (FISH), regression, maturation, genetics, progression, MYCN

## 1. Genetik des Neuroblastoms – eine Übersicht

### Neuroblastom Subtypen: DNA Gehalt und strukturelle chromosomale Aberrationen

Auf Grund der Unterschiede im DNA-Gehalt können wir Neuroblastische Tumoren in zwei Gruppen einteilen. Ein diploider DNA-Gehalt wird in etwa 45% aller Tumoren beobachtet, hingegen ist ein nahe-triploider Chromosomensatz in der Mehrzahl der Tumoren (55%) zu finden<sup>1</sup>. Wenn wir die Ploidie-Daten mit den klinischen, biologischen Daten korrelieren, sehen wir, dass spontane Regressions- und Maturationsprozesse auf die nahe-triploide Tumorgruppe beschränkt sind [1-4]. Dessen ungeachtet zeigt eine nicht vernachlässigbare Anzahl von 15% der nahe-triploiden Tumoren ein aggressives klinisches, biologisches Verhalten (I.M.A. nicht publiziert). In diesen Tumoren finden wir immer eine Assoziation mit strukturellen chromosomalen Aberrationen, meist Amplifikationen des *MYCN* Onkogens oder Deletionen des kurzen Armes von Chromosom 1, *del(1)(p36)* [3;5;6]. Allerdings handelt es sich bei der Mehrzahl der triploiden Tumoren, nämlich bei eben jenen, die keine strukturellen Veränderungen aufweisen, um sich gutartig verhaltende Tumoren. Ausnahmen sind selten, doch kommen sie speziell bei Patienten über 5 Jahren vor.

Die meisten diploiden Tumoren hingegen sind, auch ohne *MYCN* Amplifikation oder *del(1)(p36)*, aggressive Tumoren weitgehend unabhängig

vom Alter des Patienten bei Diagnose und vom Ausbreitungsstadium des Tumors [7]. Vierzig Prozent der disseminierten Stadium 4 Tumoren weisen einen diploiden DNA-Gehalt, aber keine Deletion 1p36 oder *MYCN*-Gen Amplifikation auf. Allerdings finden sich bei so gut wie allen diploiden Tumoren Umbauten des Genoms. Hierzu gehören die Vermehrung des langen Armes des Chromosoms 17 aber auch andere strukturelle Aberrationen, sowie auch die schon erwähnte Amplifikation des *MYCN*-Onkogens und die *del(1p)(36)* [3;5;6;8;9].

Es ist völlig unklar, warum *MYCN* Amplifikationen und/oder Deletionen der chromosomalen Region 1p36 nur in etwa 15% der nahe-triploiden NBs beobachtet werden, wohingegen diese Aberrationen in etwa 56% der diploiden Gruppe gefunden werden (Ambros unveröffentlicht). Wenn wir die gleichen Mechanismen, die zu diesen Aberrationen führen, postulieren, würden wir erwarten, dass die Frequenz, mit der diese Veränderungen auftreten, in beiden Neuroblastom-Gruppen gleich ist. Da dem nicht so ist, müssen wir unterschiedliche Mechanismen, die für die Entstehung dieser Veränderungen verantwortlich zeichnen, postulieren.

## 2. Gibt es einen gemeinsamen ‚first hit‘ bei diploiden Neuroblastomen?

Obwohl eine große Anzahl von chromosomalen Aberrationen in NBs beschrieben wurde, ist bis jetzt noch keine singuläre Veränderung, die bei allen oder der Mehrzahl der NBs auftritt, bekannt. Daher liegen auch die tumorinitiierenden Mechanismen im Dunkeln. Nicht einmal der Zugewinn von chromosomalem Material des langen Armes von Chromosom 17, (17q), welcher heute als häufigste Aberration angesehen wird, kann als universaler Initiator gesehen werden (was den möglichen Entstehungsmechanismus triploider Neuroblastome betrifft siehe Punkt 4.). Dies steht im klaren Widerspruch zu anderen Neoplasien des Kindes- bzw. Jugendalters. Ewing Tumoren (ET) zeigen zum Beispiel eine konstante Veränderung des *EWS* Gens, welche als initiieren-

des Schlüsselereignis angesehen werden kann. Eine reziproke Translokation führt zu einer Fusion mit dem *FLI1* Gen (dies manifestiert sich als *t(11;22)*) oder einem anderen Mitglied der *ETS* Onkogen Familie (siehe Beitrag in diesem Heft). In Retinoblastomen (RBs) hingegen kann die Tumori- nition durch das Knudson'sche Modell sowohl bei den sporadisch wie auch bei den familiär auftretenden Tumoren in der Mehrzahl erklärt werden. Wenn wir hingegen die Entstehung des NB zu verstehen versuchen, finden wir eine verwirrende Anzahl von Aberrationen. Bei der *del(1)(p36)* [3;5;9;10] könnte man versucht sein, anzunehmen, dass ähnliche Mechanismen vorliegen wie dies beim RB beschrieben ist. Es konnte aber gezeigt werden, dass keine Gene, die auf dem kurzen Arm von Chromosom 1 liegen für eine familiäre Neuroblastomprädisposition verantwortlich zeichnen [11]. Auf der anderen Seite finden wir in einer Reihe von Tumoren eine Amplifikation des *MYCN* Oncogens [12-15], oder einen Zugewinn von 17q [8;16-19], was wiederum das Konzept der Onkogenaktivierung bzw. eines Gendosiseffektes unterstützen würde. Jedoch sind all diese Aberrationen nicht konstant in allen Tumoren zu finden. Es gibt Tumoren mit beiden Aberrationstypen, i.e. mit einer Onkogenaktivierung (Amplifikation) und einer Inaktivierung eines oder mehrerer vermuteter Tumorsuppressorgene (Verlust von 1p36), Tumoren mit keiner dieser Veränderungen oder nur mit einer von beiden. In triploiden NBs scheint der Zugewinn eines zusätzlichen Genoms selbst ein initiierendes Ereignis darzustellen. Bei diploiden Tumoren kann man hingegen strukturelle Genomumbauten oder andere Mutationen als wahrscheinliche Kandidaten für initiierende Faktoren annehmen.

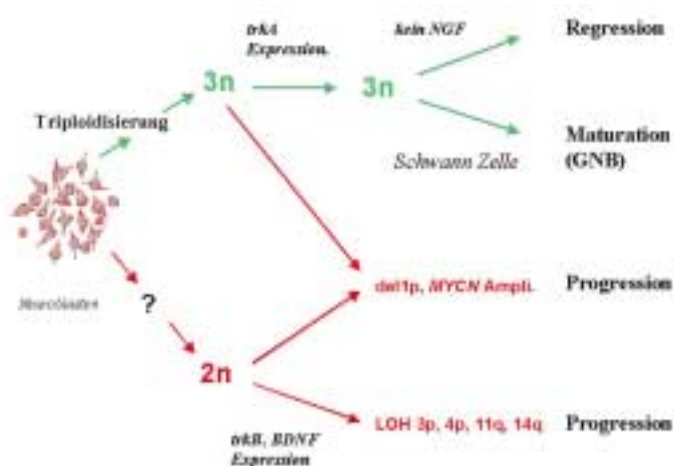
## 3. Kann die *MYCN* Amplifikation im Verlauf der Tumorprogression erworben werden?

Bisherige Daten wiesen darauf hin, dass die Amplifikation des *MYCN* Onkogens ein sehr frühes, wenn nicht sogar initiales Ereignis, zumindest in einer Gruppe von Neuroblastomen, darstellt. Diese Genomanalysen wur-

den dahingehend interpretiert, dass die Kopienanzahl üblicherweise konstant vorliegt und zwar nicht nur bei Primärtumor und Metastase sondern auch zu verschiedenen Zeitpunkten der Tumorentnahmen. All diese Daten sprachen für einen unveränderlichen Status der Onkogenamplifikation. [20].

Trotzdem blieb die Frage offen, ob ein derartig dramatischer Anstieg in der Kopienzahl des nukleären *MYCN* Gens ein initiales Ereignis darstellen kann, oder ob diese Onkogenamplifikation in einem Mehrstufenprozess während der Tumorentwicklung erworben wird. Die *MYCN* Amplifikation ist mit einem enormen Genomumbau verbunden, der zu einem drastischen Anstieg der Kopienzahl des immer gleichen Gens führt. Wir dürfen auch nicht außer Acht lassen, dass nicht nur das *MYCN* Gen amplifiziert wird, sondern dass auch andere Gene wie das *DDX1* and *NAG* mit dem *MYCN* Gen koamplifiziert werden können [21-24]. Zudem geht dieser Amplifikationsprozess mit einem erheblichen Umbau der Amplifikationseinheit, welcher durch eine hohe Anzahl von Bruch- und Fusionschritten verursacht wird, einher [25;26]. Es scheint daher unwahrscheinlich, dass eine bis zu 100-fache Amplifikation des *MYCN* Gens, die mit den oben beschriebenen Genomumbauten verbunden ist, in einem einzigen Zellzyklusschritt ablaufen kann. Es ist hingegen naheliegender, dass eine Reihe von Zellteilungen notwendig ist, um diesen Grad an Genamplifikation zu erreichen.

Daher kann man annehmen, dass frühe Ereignisse zu einer Duplikation, Excision und Ringbildung von großen DNA-Fragmenten, die das *MYCN* Gen miteinschließen, führen [25]. Durch darauffolgende Selektionsmechanismen kommt es über eine Reihe von Zellzyklen zu einer Genamplifikation und einer entsprechenden Hochregulierung der *MYCN* Expression. Diese Hypothese wird durch zwei unabhängige Beobachtungen gestützt. Beide Publikationen beschreiben genetisch unterschiedlichen Zellklone innerhalb eines Tumors, wobei Zellen mit einer *MYCN* Amplifikation (bis 70 Genko-



**Abb 1** Genetische und klinische, biologische Gruppen der Neuroblastischen Tumoren.

Spontane Regression und Maturation sind ausschließlich auf die nahe-triploide (+/-3n) Tumorgruppe beschränkt (grüne Linien). Das Fehlen von nerve growth factor (NGF) wird in Tumoren mit spontaner Regression häufig beobachtet [52;53]. Konstantes Merkmal der ausreifenden Tumoren (Ganglioneuroblastome, Ganglioneurome) ist die Anwesenheit von normalen Schwann Zellen [2]. In diploiden (2n) Neuroblastomen können zwei Hauptgruppen unterschieden werden. Eine Gruppe weist meist Amplifikationen des *MYCN* Gens und/oder Deletionen des kurzen Armes von Chromosom 1 auf. Hingegen weist die andere Gruppe hauptsächlich Verlust von Heterozygotie (LOH) von 11q neben 3p, 4p, und 14q auf [32]. Auch triploide Tumoren können ungünstige genetische Eigenschaften dazugewinnen (roter schräger Pfeil), was zu einem aggressiven Tumorwachstum führt. Zugewinn von 17q kann sowohl in der +/-3n wie auch in der 2n Gruppe gefunden werden.

pien) neben Tumorzellen ohne Genamplifikation gefunden wurden [27]. Diese Daten unterstützen die Ansicht, dass die *MYCN* Amplifikation im Laufe der Tumorentwicklung entstanden ist und nicht in der Initiationsphase. Nichts desto weniger dürfte es sich um ein frühes Ereignis in der Tumorentstehung handeln. Erwähnenswert ist auch die Tatsache, dass 4 von 6 genetisch heterogenen Tumoren durch ein Urin-Massen-Screening im Alter von etwa 8 Monaten entdeckt wurden.

Die Beobachtungen heterogener Tumoren sind zwar für Neuroblastome unerwartet, aber keineswegs untypisch für andere Tumoren, bei denen amplifizierte neben nicht-amplifizierten Arealen anzutreffen sind [28;29].

#### 4. Modell der Entstehung Neuroblastischer Tumoren

Auf der Basis des DNA-Gehaltes der Tumorzellen, können wir zwei unterschiedliche Entitäten bei Neuroblastischen Tumoren unterscheiden, i.e. nahe-triploide (+/-3n) und diploide (2n) Tumoren (Abbildung 1). In beiden Gruppen finden wir zusätzliche Genomveränderungen wie die Amplifikation des *MYCN* Onkogens und/oder Deletionen am kurzen Arm von Chromosom 1. Wie schon erwähnt weisen nur 15% der nahe-triploiden Tumoren eine oder beide Aberrationen auf (oberer langer roter Pfeil in Abb.1). Da die Triploidisierung zumindest in den heterogenen Tumoren eindeutig der *MYCN* Amplifikation bzw. del(1p)(p36) voraus geht, können wir diese Aberrationen als sekundäre Veränderungen

gen einstufen, die die Transformation eines gutartigen Tumors in einen aggressiven begünstigen. Da in der überwiegenden Mehrzahl der triploiden Tumoren keine weiteren strukturellen Aberrationen gefunden wurden, kann angenommen werden, dass der Zugewinn von intakten Chromosomen ausreichend für das Tumorwachstum ist. Zudem muss der meist günstige Verlauf dieser Tumoren hervorgehoben werden. Spontane Regression und Ausreifung werden ausschließlich in der nahe-triploiden Tumorgruppe gefunden (Abbildung 1).

Wie oben beschrieben, ist in der diploiden (2n) Tumorgruppe das initiale Ereignis (oder die Ereignisse), welche(s) zur Tumorentstehung führt (führen), nach wie vor unbekannt. Auffällig ist, dass der Zugewinn von 17q häufig mit *MYCN* Amplifikation und del(1p) assoziiert ist. Hingegen ist bei der Gruppe, die keine *MYCN* Amplifikation aufweist, vermehrt ein Verlust an Heterozygotie (LOH von 11q) des langen Arms von Chromosom 11 zu beobachten [30]. In der Gruppe der nicht *MYCN* amplifizierten Tumoren finden sich auch weitere LOH Bereiche und zwar der Regionen 3p, 4p und 14q [31;32]. Gemeinsam ist aber allen diploiden Tumoren ein aggressives Zellwachstum (untere beiden Bereiche in Abbildung 1).

#### 5. Spontane Tumorregression

Die biologische Vielfalt neuroblastischer Tumoren ist erheblich, wobei vor allem das Auftreten von spontaner Regression, d.h. einer Tumorrückbildung ohne zytotoxische Thera-

pie selbst ‚metastasierte‘ Tumoren, ein bis heute nicht geklärtes Phänomen darstellt. Auch wenn die spontane Regression am häufigsten in diesen als 4s bezeichneten Stadien vorkommt, so ist sie nicht nur auf diese Tumorstadien beschränkt, sondern wird auch bei lokalisierten Tumoren [33] und sogar in ‚klassischen‘ Stadien 4 beobachtet. Bei Patienten im Stadium 4s sind ‚Metastasen‘ meist auf die Leber und Haut [34;35] beschränkt, aber auch eine Infiltration des Knochenmarks durch Tumorzellen tritt häufig auf. Was unterscheidet nun Stadium 4s Tumoren von ‚klassischen‘ Stadium 4 Tumoren? Auffallend ist erstens eine im Vergleich zu aggressiven Tumoren unterschiedliche Altersverteilung – spontane Regression kommt fast ausschließlich nur im ersten Lebensjahr vor; zweitens zeigen diese Tumoren genetische Gemeinsamkeiten (siehe unten); und drittens sind in spontan regredierenden Tumoren, im Unterschied zu aggressiven, die Telomere nicht verlängert. Dasselbe gilt für die Telomeraseaktivität, die in Stadium 4s Tumoren nicht erhöht ist, wie das in vielen anderen menschlichen Neoplasien jedoch der Fall ist [36;37].

#### Voraussetzungen für spontane Tumorregression: Alter und Genetik

Der Zusammenhang zwischen dem Alter des Patienten bei Diagnose und dem Potential des Tumors zu spontaner Regression ist schon seit längerem bekannt und beschrieben worden [33;38]. Yamamoto und Mitarbeiter berichteten über ein ungewöhnlich

häufiges Auftreten von sich spontan zurückbildenden Tumoren bei Patienten, die im sechsten Lebensmonat durch das Neuroblastom Massenscreening detektiert wurden. Auf Grund der Genetik jener Tumoren, die durch ein zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführtes Screening (zwischen dem 7. und 12. Lebensmonat) entdeckt wurden, können wir annehmen, dass spontane Regression gegen Ende und jenseits des ersten Lebensjahres nur mehr selten auftritt.

Abgesehen vom Alter des Patienten bei der Diagnose scheint es ‚zellinhärente‘ Faktoren zu geben, die eine spontane Regression ermöglichen. Auffallend ist auch die genetische Übereinstimmung jener Tumoren, die zur Rückbildung fähig sind. Beinahe alle spontan regredierenden Tumoren, lokalisiert oder Stadium 4s, zeigen einen annähernd triploiden Chromosomensatz. Zudem konnte in diesen Tumoren keine *MYCN* Amplifikation und auch keine Deletionen der chromosomalen Region 1p36 beobachtet werden [3;9]. Interessant ist auch, dass diese Tumoren die gleiche Genetik wie spontan ausreifende Neuroblastome aufweisen [1-3]. Abgesehen von wenigen Ausnahmen, wurde keine erhöhte Telomeraseaktivität in nicht progredienten 4s Neuroblastomen gefunden. Hingegen wiesen 4s Tumoren von Patienten mit letalem Verlauf eine erhöhte Telomeraseaktivität auf [36;37]. Außerdem sind Stadium 4s Neuroblastome beschrieben, die zuerst Regression und später Maturation zeigten. Aus diesen Gründen schließen wir, dass es für beide Prozesse, spontane Rückbildung und Ausreifung, bestimmte genetische ‚Grundbedingungen‘ gibt, nämlich ein nahe-triploider (oder penta-, hexaploider) Chromosomensatz, eine intakte chromosomale Region 1p36, das Vorliegen eines nicht amplifizierten *MYCN* Gens und eine geringe Telomeraseaktivität.

## 6. Tumorausreifung

Neben dem Phänomen der spontanen Tumorrückbildung gibt es beim Neuroblastom noch die spontane, also ebenfalls nicht durch zytotoxische Therapie induzierte, Tumorausreifung.

Diese tritt aber so gut wie nie im ersten Lebensjahr auf, sondern wird erst beginnend mit dem zweiten Lebensjahr beobachtet (differenzierende Neuroblastome, Ganglioneuroblastome ‚intermixed‘), wobei vollständig ausgereifte Tumoren, sog. Ganglioneurome, meist erst nach dem vierten Lebensjahr und sogar auch im Erwachsenenalter, hier oft als Zufallsbefunde, diagnostiziert werden. Wie schon erwähnt, weisen Neuroblastome, die Ausreifungstendenz zeigen bzw. ausgereifte Tumoren, dieselben genetischen Veränderungen auf wie jene, die spontan regredieren, d.h. eine Triploidisierung des Genoms (bzw. Penta- oder Hexaploidisierung) und ein Fehlen von Chromosom 1p und *MYCN* Veränderungen. Dies dürften also auch für die Tumormaturation die genetischen Voraussetzungen sein [2], da bisher nicht beobachtet wurde, dass diploide Tumoren oder solche mit 1p36 Deletion oder *MYCN* Amplifikation spontan ausreifen. Interessant ist aber, dass trotzdem in allen Ganglioneuroblastomen und Ganglioneuromen eine diploide Zellpopulation, neben einer triploiden Zellpopulation, gefunden werden kann. An histologischen Schnitten von ausreifenden Tumoren durchgeführte in situ-Hybridisierungen, die also eine verlässliche Zuordnung des Hybridisierungsmusters zu den verschiedenen Zelltypen erlaubt, zeigten, dass es sich bei der diploiden Zellpopulation um die in ausreifenden Tumoren auftretenden Schwann-Zellen handelt [2;39]. Bis dahin wurden die in Ganglioneuroblastomen und Ganglioneuromen auftretenden und mit zunehmender Ausreifung immer zahlreicher werdenden Schwann-Zellen genau so wie die in diesen Tumoren vorhandenen Ganglienzellen als Tumorzellen betrachtet. Nach der bis vor kurzem vorherrschenden Lehrmeinung entwickelten sich Neuroblastome aus einer ‚pluripotenten‘ Neuralleistenzelle [40;41], die die Fähigkeit sowohl zu ganglionärer Differenzierung aufweist als auch zur Differenzierung in die im peripheren Nervensystem mit komplexen Aufgaben versehenen Schwann-Zelle. Die in situ-Hybridisierungsuntersuchungen legten allerdings nahe, dass es sich bei den in

Neuroblastomen auftretenden Schwann-Zellen um Normalzellen handeln müsse, da eine Differenzierung eines triploiden Neuroblasten in eine triploide Ganglienzelle und in eine diploide Schwann-Zelle nicht möglich erscheint. Mit diesem Wissen und den aus Embryologie und Neurophysiologie bekannten Untersuchungsergebnissen über die Funktionen der Schwann-Zelle [42-45] konnte man nun ein Modell für die Maturation beim Neuroblastom erstellen [2;46]. Auch in weiterer Folge durchgeführte in vitro Versuche dürften die vorgeschlagene Hypothese unterstützen [47]. Nach diesem Modell sind es die Neuroblastomzellen selbst, die wahrscheinlich im Laufe des zellulären Differenzierungsprozesses beginnen chemotaktische, mitogene und auch differenzierungsinduzierende Faktoren zu exprimieren, die Schwann-Zellen aus dem den Tumor umgebenden Gewebe ‚anzulocken‘ und zur Proliferation und schließlich auch zur Differenzierung anzuregen [48-50]. Nun üben aber nicht nur Neuroblasten und somit wahrscheinlich auch Neuroblastomzellen eine Wirkung auf Schwann-Zellen aus, sondern es wirken auch umgekehrt Schwann-Zellen auf Neuroblastomzellen. So wie physiologischerweise ein intensiver ‚cross-talk‘ zwischen diesen beiden Zelltypen bekannt ist, dürfte dies auch bei der Ausreifung des Neuroblastoms der Fall sein. Demnach ist es naheliegend, dass Schwann-Zellen, die in Neuroblastomen auftreten, ebenfalls jene in der Entwicklung und nach peripherer Nervenschädigung so wichtigen Faktoren, die einerseits antiproliferativ und andererseits differenzierungsfördernd wirken (siehe [45] und [51] als Übersichtsarbeiten), exprimieren. Dieses Modell der Tumorausreifung stützt sich also auf die genetischen Unterschiede der beiden in diesen Tumoren vorkommenden Zellpopulationen sowie auch auf bekannte Interaktionen zwischen Schwann-Zellen und Neuroblasten. Es erklärt somit auch, warum der Wachstumsprozess in diesen Tumoren schließlich zum Stillstand kommt, legt die zentrale Rolle der Schwann-Zelle beim Ausreifungspro-

zess nahe und bietet Ansatzpunkte für weitere Untersuchungen.

## 7. Schlussbemerkung

Die beschriebenen Daten sprechen dafür, dass Neuroblastische Tumoren zu zwei distinkten biologischen Gruppen gehören. Eine ist durch einen nahe-triploiden DNA-Gehalt aber ohne Amplifikation des *MYCN* Onkogens und ohne Deletion 1p36 charakterisiert. Die andere Gruppe stellt diploide Tumoren mit oder ohne Amplifikation von *MYCN*, Deletion 1p36 oder anderen Genombauten, oder triploide mit mindestens einer dieser Aberrationen dar. Das klinische Verhalten von Tumoren aus der ersten Patientengruppe ist meist günstig, da mit hoher Wahrscheinlichkeit spontane Regressions- und/oder Maturationsprozesse ablaufen können. Die zweite Gruppe stellt in jedem Fall aggressiv verlaufende Formen dar. Dies trifft auch auf triploide Tumoren zu, die eine *MYCN* Amplifikation und/oder Deletion 1p36 aufweisen. Diese Aberrationen verleihen auch diesen Zellen ein aggressives Verhalten.

Der initiale genetische ‚hit‘ scheint jedoch in beiden Gruppen unterschiedlich zu sein. In der nahe-triploiden Tumorgruppe dürfte der Zugewinn eines zusätzlichen Genomäquivalents ausreichen damit diese Zellen der normalen Kontrolle zumindest für eine gewisse Zeitspanne entkommen. In der diploiden Gruppe hingegen scheint der erste ‚hit‘ noch unklar. Interessanterweise können beide biologische nGruppen an einem bestimmten Entwicklungsabschnitt weitere genetische Aberrationen, wie *MYCN* Amplifikation, Deletion 1p36 oder Zugewinn von 17q, erwerben.

### Anmerkung

1 Der DNA Gehalt von triploiden NB Zellen stellt nur selten eine genaue Verdreifachung eines intakten haploiden Genoms dar. Dies würde einem DNA Index von 1.5 entsprechen. Vielmehr werden, vereinbarungsgemäß, DNA Indices im Bereich von 1.26 bis 1.74 als nahe-triploid eingestuft. Diese D.I.s entsprechen, gemäß der Definition (ISCN), einer Chromosomenzahl von 58 bis 80. Diese Tumorgruppe wird daher als ‚nahe-triploide‘ Gruppe bezeichnet. Neben den diploiden und nahe-triploiden Tumoren findet man in einer geringeren Frequenz auch tetraploide, pentaploide, hexaploide und alle erdenklichen Variationen.

### Literatur

- (1) Hayashi Y, Inaba T, Hanada R, Yamada M, Nakagome Y, Yamamoto K. Similar chromosomal patterns and lack of N-myc gene amplification in localized and IV-S stage neuroblastomas in infants. *Med Pediatr Oncol* 1989; 17(2):111-115.
- (2) Ambros IM, Zellner A, Roald B, Amann G, Ladenstein R, Printz D, Gadner H, Ambros PF. Role of ploidy, chromosome 1p, and Schwann cells in the maturation of neuroblastoma [see comments]. *N Engl J Med* 1996; 334(23):1505-1511.
- (3) Ambros PF, Ambros IM, Strehl S, Bauer S, Luegmayer A, Kovar H, Ladenstein R, Fink FM, Horcher E, Printz G, et al. Regression and progression in neuroblastoma. Does genetics predict tumour behaviour? *Eur J Cancer* 1995; 31A(4):510-515.
- (4) Ichihara T, Hamazaki M, Sawada T. Cytogenetic analysis of infantile neuroblastomas by comparative genomic hybridization. *Cancer Lett* 2002; 178(1):83-89.
- (5) Brodeur GM, Sekhon G, Goldstein MN. Chromosomal aberrations in human neuroblastomas. *Cancer* 1977; 40(5):2256-2263.
- (6) Kaneko Y, Kanda N, Maseki N, Sakurai M, Tsuchida Y, Takeda T, Okabe I. Different karyotypic patterns in early and advanced stage neuroblastomas. *Cancer Res* 1987; 47(1):311-318.
- (7) Ladenstein R, Ambros IM, Potschger U, Amann G, Urban C, Fink FM, Schmitt K, Jones R, Slociak M, Schilling F, Ritter J, Berthold F, Gadner H, Ambros PF. Prognostic significance of DNA di-tetraploidy in neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol* 2001; 36(1):83-92.
- (8) Gilbert F, Feder M, Balaban G, Brangman D, Lurie DK, Podolsky R, Rinaldi V, Vinikoor N, Weisband J. Human neuroblastomas and abnormalities of chromosomes 1 and 17. *Cancer Res* 1984; 44(11):5444-5449.
- (9) Hayashi Y, Kanda N, Inaba T, Hanada R, Nagahara N, Muchi H, Yamamoto K. Cytogenetic findings and prognosis in neuroblastoma with emphasis on marker chromosome 1. *Cancer* 1989; 63(1):126-132.
- (10) Caron H, van SP, de KJ, Bokkerink J, Egeler M, Laureys G, Slater R, Westerveld A, Voute PA, Versteeg R. Allelic loss of chromosome 1p as a predictor of unfavorable outcome in patients with neuroblastoma [see comments]. *N Engl J Med* 1996; 334(4):225-230.
- (11) Maris JM, Kyemba SM, Rebbeck TR, White PS, Sulman EP, Jensen SJ, Allen C, Biegel JA, Yanofsky RA, Feldman GL, Brodeur GM. Familial predisposition to neuroblastoma does not map to chromosome band 1p36. *Cancer Res* 1996; 56(15):3421-3425.
- (12) Kohl NE, Kanda N, Schreck RR, Bruns G, Latt SA, Gilbert F, Alt FW. Transposition and amplification of oncogene-related sequences in human neuroblastomas. *Cell* 1983; 35(2 Pt 1):359-367.
- (13) Brodeur GM, Seeger RC, Schwab M, Varmus HE, Bishop JM. Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science* 1984; 224(4653):1121-1124.
- (14) Schwab M, Varmus HE, Bishop JM, Grzeschik KH, Naylor SL, Sakaguchi AY, Brodeur G, Trent J. Chromosome localization in normal human cells and neuroblastomas of a gene related to c-myc. *Nature* 1984; 308(5956):288-291.
- (15) Seeger RC, Brodeur GM, Sather H, Dalton A, Siegel SE, Wong KY, Hammond D. Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N Engl J Med* 1985; 313(18):1111-1116.
- (16) Bown N, Cotterill S, Lastowska M, O'Neill S, Pearson AD, Plantaz D, Meddeb M, Danglot G, Brinkschmidt C, Christiansen H, Laureys G, Speleman F. Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma [see comments]. *N Engl J Med* 1999; 340(25):1954-1961.
- (17) Vandesompele J, Van RN, Van GM, Laureys G, Ambros P, Heimann P, Devalck C, Schuurinck E, Brock P, Otten J, Gyselinck J, De PA, Speleman F. Genetic heterogeneity of neuroblastoma studied by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 23(2):141-152.
- (18) Van RN, Laureys G, Van GM, Opdenakker G, Miura R, van-der DP, Chan A, Versteeg R, Speleman F. Analysis of 1;17 translocation breakpoints in neuroblastoma: implications for mapping of neuroblastoma genes. *Eur J Cancer* 1997; 33(12):1974-1978.
- (19) Plantaz D, Mohapatra G, Matthay KK, Pellarin M, Seeger RC, Feuerstein BG. Gain of chromosome 17 is the most frequent abnormality detected in neuroblastoma by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 1997; 150(1):81-89.
- (20) Brodeur GM, Hayes FA, Green AA, Casper JT, Wasson J, Wallach S, Seeger RC. Consistent N-myc copy number in simultaneous or consecutive neuroblastoma samples from sixty individual patients. *Cancer Res* 1987; 47(16):4248-4253.
- (21) Squire JA, Thorner PS, Weitzman S, Maggi JD, Dirks P, Doyle J, Hale M, Godbout R. Co-amplification of *MYCN* and a DEAD box gene (*DDX1*) in primary neuroblastoma. *Oncogene* 1995; 10(7):1417-1422.
- (22) Amler LC, Schurmann J, Schwab M. The *DDX1* gene maps within 400 kbp 5' to *MYCN* and is frequently coamplified in human neuroblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1996; 15(2):134-137.
- (23) Kuroda H, White PS, Sulman EP, Manohar CF, Reiter JL, Cohn SL, Brodeur GM. Physical mapping of the *DDX1* gene to 340 kb 5' of *MYCN*. *Oncogene* 1996; 13(7):1561-1565.
- (24) Wimmer K, Zhu XX, Lamb BJ, Kuick R, Ambros PF, Kovar H, Thoraval D, Motyka S, Alberts JR, Hanash SM. Co-amplification of a novel gene, *NAG*, with the N-myc gene in neuroblastoma. *Oncogene* 1999; 18(1):233-238.
- (25) Corvi R, Savelyeva L, Schwab M. Duplication of N-MYC at its resident site 2p24 may be a mechanism of activation alternative to amplification in human neuroblastoma cells. *Cancer Res* 1995; 55(16):3471-3474.
- (26) Zehnbauser BA, Small D, Brodeur GM, See-

ger R, Vogelstein B. Characterization of N-myc amplification units in human neuroblastoma cells. *Mol Cell Biol* 1988; 8(2):522-530.

(27) Ambros PF, Ambros IM, Kerbl R, Luegmayer A, Rumpler S, Ladenstein R, Amann G, Kovar H, Horcher E, De Bernardi B, Michon J, Gadner H. Intratumoral heterogeneity of 1p deletions and *MYCN* amplification in neuroblastomas. *Med Pediatr Oncol* 2001; 36(1):1-4.

(28) Jenkins RB, Qian J, Lieber MM, Bostwick DG. Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res* 1997; 57(3):524-531.

(29) Lonn U, Lonn S, Nilsson B, Stenkvist B. Intratumoral heterogeneity for amplified genes in human breast carcinoma. *Int J Cancer* 1994; 58(1):40-45.

(30) Guo C, White PS, Weiss MJ, Hogarty MD, Thompson PM, Stram DO, Gerbing R, Matthay KK, Seeger RC, Brodeur GM, Maris JM. Allelic deletion at 11q23 is common in *MYCN* single copy neuroblastomas. *Oncogene* 1999; 18(35):4948-4957.

(31) Luttkhuis ME, Powell JE, Rees SA, Genus T, Chughtai S, Ramani P, Mann JR, McConville CM. Neuroblastomas with chromosome 11q loss and single copy *MYCN* comprise a biologically distinct group of tumours with adverse prognosis. *Br J Cancer* 2001; 85(4):531-537.

(32) Brodeur GM, Ambros P.F. Genetic and Biological Markers of Prognosis in Neuroblastoma. 355-369. 2000. *Neuroblastoma*. Brodeur, Eds.: G. M., Sawada, T., Tsuchida, Y., and Voute, P. A.

(33) Yamamoto K, Hanada R, Kikuchi A, Ichikawa M, Aihara T, Oguma E, Moritani T, Shimanuki Y, Tanimura M, Hayashi Y. Spontaneous regression of localized neuroblastoma detected by mass screening. *J Clin Oncol* 1998; 16(4):1265-1269.

(34) D'Angio GJ, Evans AE, Koop CE. Special pattern of widespread neuroblastoma with a favourable prognosis. *Lancet* 1971; 1(7708):1046-1049.

(35) Evans AE, Chatten J, D'Angio GJ, Gerson JM, Robinson J, Schnauffer L. A review of 17 IV-S neuroblastoma patients at the children's hospital of Philadelphia. *Cancer* 1980; 45(5):833-839.

(36) Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, Fukuba I, Yamaoka H, Shay JW, Matsuura Y. Rapid detection of *MYCN* gene amplification and telomerase expression in neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 1999; 5(3):601-609.

(37) Poremba C, Willenbring H, Hero B, Christensen H, Schafer KL, Brinkschmidt C, Jurgens H, Bocker W, Dockhorn-Dworniczak B. Telomerase activity distinguishes between neuroblastomas with good and poor prognosis [In Process Citation]. *Ann Oncol* 1999; 10(6):715-721.

(38) Bolande RP. Models and concepts derived from human teratogenesis and oncogenesis in early life. *J Histochem Cytochem* 1984; 32(8):878-884.

(39) Ambros IM, Zellner A, Stock C, Amann G, Gadner H, Ambros PF. Proof of the reactive na-

ture of the Schwann cell in neuroblastoma and its clinical implications. *Prog Clin Biol Res* 1994; 385:331-337.

(40) Tsokos M, Scarpa S, Ross RA, Triche TJ. Differentiation of human neuroblastoma recapitulates neural crest development. Study of morphology, neurotransmitter enzymes, and extracellular matrix proteins. *Am J Pathol* 1987; 128(3):484-496.

(41) Ross RA, Spengler BA, Biedler JL. Coordinate morphological and biochemical interconversion of human neuroblastoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71(4):741-747.

(42) Levi-Montalcini R. The saga of the nerve growth factor. *Neuroreport* 1998; 9(16):R71-R83.

(43) Wood PM, Bunge RP. Evidence that sensory axons are mitogenic for Schwann cells. *Nature* 256, 662-664. 1975. Ref Type: Generic

(44) Bunge RP. Tissue culture observations relevant to the study of axon-Schwann cell interactions during peripheral nerve development and repair. *J Exp Biol* 1987; 132:21-34.

(45) Reynolds ML, Woolf CJ. Reciprocal Schwann cell-axon interactions. *Curr Opin Neurobiol* 1993; 3(5):683-693.

(46) Ambros I.M., Ambros P.F. The Role of Schwann Cells in Neuroblastoma. 229-243. 2000. *Neuroblastoma*. Eds.: Brodeur, G. M., Sawada, T., Tsuchida, Y., and Voute, P. A.

(47) Ambros I.M., Attarbaschi A, Rumpler S., Luegmayer A., Turkof E., Gadner H., Ambros P.F. Neuroblastoma cells provoke Schwann cell proliferation in vitro. *Eur J Cancer* 1999.

(48) Marchionni MA, Goodearl AD, Chen MS, Birmingham-McDonogh O, Kirk C, Hendricks M, Danehy F, Misumi D, Sudhalter J, Kobayashi K. Glial growth factors are alternatively spliced erbB2 ligands expressed in the nervous system [see comments]. *Nature* 1993; 362(6418):312-318.

(49) Morrissey TK, Levi AD, Nuijens A, Sliwkowski MX, Bunge RP. Axon-induced mitogenesis of human Schwann cells involves heregulin and p185erbB2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(5):1431-1435.

(50) Minghetti L, Goodearl AD, Mistry K, Stroobant P. Glial growth factors I-III are specific mitogens for glial cells. *J Neurosci Res* 1996; 43(6):684-693.

(51) Snider WD. Functions of the neurotrophins during nervous system development: what the knockouts are teaching us. *Cell* 1994; 77(5):627-638.

(52) Kogner P, Barbany G, Bjork O, Castello MA, Donfrancesco A, Falkmer UG, Hedborg F, Kouvidou H, Persson H, Raschella G. Trk mRNA and low affinity nerve growth factor receptor mRNA expression and triploid DNA content in favorable neuroblastoma tumors. *Prog Clin Biol Res* 1994; 385:137-45:137-145.

(53) Nakagawara A, Arima-Nakagawara M, Scavarda NJ, Azar CG, Cantor AB, Brodeur GM. Association between high levels of expression of the TRK gene and favorable outcome in human neuroblastoma. *N Engl J Med* 1993; 328(12):847-854.

#### Korrespondenzadresse

Doz. Dr. Peter F. Ambros  
Dr. Inge M. Ambros  
CCRI, Children's Cancer Research Institute,  
St. Anna Kinderspital  
Kinderspitalg. 6  
A-1090, Vienna  
Tel. 43-1-404070 411  
Fax 43-1-408 72 30  
ambros@ccri.univie.ac.at