

# Genetische Veränderungen bei sporadischem Wilms Tumor

Brigitte Royer-Pokora, Valérie Schumacher

Institut für Humangenetik  
und Anthropologie  
Medizinische Einrichtungen  
der Heinrich Heine Universität  
Düsseldorf

## Zusammenfassung

Wilms Tumor tritt bei 1/10 000 Lebendgeburten auf, ist meist sporadisch und selten erblich. Die Ätiologie erweist sich genetisch als sehr heterogen. Neben dem WT1-Gen postuliert man für die Entstehung der sporadischen Form drei weitere Gene. WT1-Mutationen findet man bei 15% aller scheinbar sporadischen Tumoren von denen 38% in der Keimbahn vorliegen. Davon entwickeln 55% einen unilateralen und 45% einen bilateralen Tumor. Dagegen haben alle Patienten mit somatischen Mutationen im WT1-Gen einen unilateralen Tumor. Der Nachweis einer WT1-Keimbahnmutation kann genutzt werden, um das Risiko für die Entwicklung eines kontralateralen Tumors vorauszusagen. Zytogenetisch wird der Zugewinn der Chromosomen 1q, 6, 7, 8, 12, 13 und Verlust von 1p, 11q, 16q, 22q gefunden. Zusammen mit LOH-Daten ist der Verlust von 22q als einziger prognostisch signifikanter Marker für einen ungünstigen Verlauf zu bewerten. Wilms Tumor gehört zu den gut therapierbaren kindlichen Tumoren, nur ein geringer Anteil an Patienten hat eine schlechte Prognose.

## Schlüsselwörter

Wilms Tumor, WT1-Mutationen, genetische Heterogenität

## Genetic alterations in sporadic Wilms tumors

### Summary

Wilms tumor affects 1/10 000 children and is usually sporadic, only in a few cases it is inherited. At least four genes, including the WT1 gene, are involved in tumorigenesis, demonstrating the genetic heterogeneity. Mutations of the WT1 gene are found in 15% of the apparently sporadic tumors, 38% of these being constitutional. Patients with a germline WT1 mutation developed an unilateral tumor in 55% and a bilateral tumor in 45%. On the other hand, all patients with somatic mutations have an unilateral tumor. The identification of a constitutional WT1 mutation might be useful in predicting the risk for developing a tumor in the contralateral kidney. Cytogenetic changes include gains of chromosomes 1q, 6, 7, 8, 12, 13 and losses of 1p, 11q, 16q and 22q. Together with data from LOH analysis only loss of 22q is a prognostic significant marker for poor outcome. Wilms tumors can be treated successfully and patients achieve a high rate of relapse free survival except some cases with a poor prognosis.

### Key words

Wilms tumor, WT1 mutations, genetic heterogeneity

## Einleitung

Wilms Tumor tritt bei 1/10000 Lebendgeburten auf und ist meist unilateral, in seltenen Fällen auch bilateral. Es wurde postuliert, dass alle unilateralen Tumoren sporadisch sind und die bilateralen auf eine genetische Prädisposition zurückzuführen sind. Die erbliche Form von Wilms Tumor wird autosomal dominant und mit variabler Penetranz vererbt. Ein Gen, welches an der Entstehung von Wilms Tumor beteiligt ist, WT1, wurde in der Bande 11p13 identifiziert. Somatische als auch Keimbahnmutationen in diesem Gen wurden in Wilms Tumoren nachgewiesen. Bei Familien mit Wilms Tumor in mehreren Generationen ist das WT1-Gen meist nicht beteiligt.

## Molekulargenetische Grundlagen für die Entstehung des Wilms Tumors

Epidemiologische Beobachtungen, bei denen das Alter der Patienten beim Auftreten eines Tumors und die Häufigkeit bilateraler Tumoren bei sporadischen und erblichen Fällen berücksichtigt wurden, führten zur Formulierung des „two hit“ Modells für die Entstehung des Wilms Tumors durch A. Knudson (1972). Es besagt, dass bei der Entstehung dieser Tumoren zwei nacheinander auftretende Mutationen („hits“) mitwirken: zuerst eine germinale oder somatische, danach folgt als zweite stets eine somatische Mutation. Für familiäre oder erbliche Tumoren wird aufgrund des frühen Erkrankungsalters und des gehäufteten Auftretens bilateraler Tumo-

Tab 1 Häufigste genetische Veränderungen in Wilms Tumoren

Veränderung	Zytogenetik	CGH	LOH	WT1-Mutation
Vorhanden	65%	70%		15%
Nicht vorhanden	35%	30%		85%
Am häufigsten beobachteter Verlust	22 1p 16q 11p 11q	22q 1p 16q 11p	22q 1p 16q 11p 11q	
Am häufigsten beobachtete Zunahme	1q 8 12	1q 8 12		

ren postuliert, dass eine Mutation bereits über die Keimbahn in alle Körperzellen gelangt ist. Die sporadischen Tumoren entstehen durch zwei somatische Mutationen in derselben Zelle und da dies ein seltenes Ereignis ist, treten sie meistens unilateral und später auf.

Für diese „hits“ kommen verschiedene genetische Veränderungen in Frage, wie zum Beispiel Mutationen, Translokationen oder Mechanismen, die zum Verlust der Heterozygotie (LOH) eines chromosomalen Markers oder Gens führen. Ein LOH kann durch verschiedene Mechanismen entstehen, z.B. durch eine mitotische Rekombination oder Verlust eines ganzen oder Teile eines Chromosoms. Die genetische Kartierung von LOH und homozygoten Deletionen in 11p13 waren entscheidend bei der Identifizierung und Klonierung des Wilms Tumor-Gens, *WT1*, aus dieser Region.

### Beschreibung des Krankheitsbildes

Wilms Tumor manifestiert sich in den ersten Lebensjahren als asymptomatische abdominale Masse, die anfangs meist nur durch die vom Tumor selbst hervorgerufene Bauchschwellung auffällt. Metastasen bilden sich vor allem in der Lunge und der Leber und bei 10-15% der Patienten sind die Lymphknoten befallen. Ultraschall und Computertomographie, sowie Röntgenuntersuchungen kommen als bildgebende Verfahren zum Nachweis eines Tumors in Betracht. Wilms Tumoren werden in 5 Stadien eingeteilt,

bei Stadium I-III werden Tumoren mit günstiger Histologie, Standardhistologie und ungünstiger Histologie unterschieden, Stadium IV entspricht einem Tumor mit Metastasen in Leber, Lunge, Knochen oder Gehirn und bei Stadium V liegt ein bilateraler Tumor vor. Die Tumoreinteilung nach der Amerikanischen National Wilms Tumor Study (NWTS) erfolgt in Gruppen mit günstiger (favorable) und ungünstiger (unfavorable) Histologie. Die letztere Gruppe besteht aus anaplastischen und sarkomatösen Wilms Tumoren. Sie beträgt ungefähr 11,5% aller Wilms Tumoren, die zu mehr als der Hälfte der tumorbedingten Todesfälle beiträgt. Die Gruppe der günstigen Wilms Tumoren ist heterogen und setzt sich aus histopathologisch unterschiedlichen Tumoren zusammen.

Histologisch gesehen, entsteht der Wilms Tumor durch eine Entwicklungsstörung in Form einer aberranten Differenzierung embryonaler metanephritischer Blastemzellen. Dadurch verbleibt embryonales Gewebe in einem frühen Stadium des Differenzierungsprozesses und proliferiert in einem nicht angemessenen Rahmen. Die meisten Tumoren zeigen eine typische triphasische Histologie, bestehend aus dem primitiven Blastem, dem differenzierteren Epithel (Tubuli) und dem Stroma (mesenchymale Komponente). Im Stroma findet man häufig eine aberrante Differenzierung in quergestreifte Muskulatur, Knorpel, Knochen und Fett.

Die Tumoren sind häufig assoziiert mit nephrogenen Resten, krankhafte Nie-

renveränderungen, bei denen es sich vermutlich um Vorläuferstadien des Wilms Tumors handelt. Sie werden entsprechend ihrer Position in der Niere und ihrer zellulären Zusammensetzung in intralobäre (ILNR) und perilobäre (PLNR) nephrogene Reste eingeteilt. Wilms Tumoren, die mit intralobären Resten assoziiert sind, entstehen früh während der Nierenentwicklung, haben eine heterogene Histologie, sind eher stromareich und häufiger mit dem Wilms Tumor-Anir-die-Genitalmissbildung-mentale Retardierung (WAGR) -Syndrom assoziiert. Wilms Tumoren, die mit perilobären Resten assoziiert sind entstehen später, setzen sich meist aus homogenen Zelltypen (Blastem und Epithel) zusammen und werden bei Patienten mit Beckwith-Wiedemann Syndrom und Hemihypertrophie gefunden.

In Deutschland werden über 90% aller Kinder in multizentrische und randomisierte Therapiestudien eingebracht, in der die Patienten eine präoperative Kombinationschemotherapie erhalten ([www.kompetenznetzpaed-onkologie.de](http://www.kompetenznetzpaed-onkologie.de)). In der SIOP9/GPOH Studie wurde ein ereignisfreies Überleben 3 Jahre nach der Diagnose bei insgesamt 85% der Kinder erreicht (Stadium I, Standardhistologie 96%; ungünstige Histologie alle Stadien 45%). Je nach Stadium und Histologie erfolgt zusätzlich eine postoperative Chemotherapie und gegebenenfalls eine Radiotherapie.

Wilms Tumor gehört zu den gut therapierbaren kindlichen Tumoren, nur ein geringer Anteil an Patienten hat eine schlechte Prognose. Dabei handelt es

sich hauptsächlich um Patienten im Stadium IV mit chemotherapieresistenten Zellen in den Metastasen. Zur Zeit fehlen jedoch eindeutige molekulare/zytogenetische Marker mit denen die gut von den schlecht ansprechenden Tumoren zu unterscheiden sind.

### Genetische Marker und deren klinische Signifikanz

Mehrere zytogenetische Analysen zeigten, dass bei ca. 13-40% der Wilms Tumoren ein normaler Karyotyp gefunden wird. In einer Arbeit wurde eine Einteilung in zwei Gruppen vorgenommen: 1) hypodiploide, pseudodiploide und hyperdiploide mit 47-49 und 2) hyperdiploide mit mehr als 50 Chromosomen (Nakadate et al., 1999). Die Autoren haben dabei hyperdiploide mit spezifischen Trisomien, meist mit der Beteiligung von Chromosom 12 am häufigsten beobachtet. Sie fanden, dass Veränderungen des *WT1*-Gens hauptsächlich bei der Gruppe der hypodiploiden, pseudodiploiden und hyperdiploiden mit 47-49 Chromosomen vorkommen und dass diese Patienten eine schlechtere Prognose haben. In der Gruppe der hyperdiploiden mit über 50 Chromosomen wurden keine *WT1*-Gen-Veränderungen gefunden und alle Patienten aus dieser Gruppe waren zum letzten Beobachtungszeitraum noch am Leben.

Spezifische Anomalien, die in verschiedenen zytogenetischen Studien beschrieben wurden, sind +6, +7, +8, +12, +13, +18, sowie strukturelle Veränderungen von 1p, 11p und 16q. Trisomie 8 und 12 kamen in 20 und 25% der Fälle vor und Zunahme von 1q in 20%. Die Zunahme von 1q, die auch in CGH gefunden wurde, siehe unten, kann auf ein iso(1q) oder eine unbalancierte Translokation zurückzuführen sein. Chromosomenverluste kamen seltener vor und betrafen hauptsächlich 11p (20%). Eine unbalancierte Translokation, der(16)t(1;16)(q21;q13) wurde mehrmals in Wilms Tumoren gefunden. Diese Veränderung kommt bei verschiedenen kindlichen und adulten Neoplasien vor. Sie führt zum Verlust von 16q und Zunahme von 1q. Mathew et al., konnten bei Wilms Tumor Patienten keine Unterschiede

hinsichtlich der Überlebensrate zwischen 7 Patienten mit dieser Translokation und 58 Fällen ohne beobachteten (Mathew et al., 1996).

Die größte Studie beschreibt die Ergebnisse von insgesamt 195 Fällen aus 13 britischen Zytogenetik Laboren (Brown et al., 2002). 68 (35%) hatten einen normalen Karyotyp und 127 klonale chromosomale Veränderungen. Da unklar ist, ob die normalen Karyotypen auf das Wachstum normaler Fibroblasten zurückzuführen sind, wurden in dieser Arbeit nur die abnormalen Karyotypen mit den klinischen Daten korreliert (Alter, Tumorstadium und Histologie). 78 der 127 Patienten mit abnormalen Karyotyp hatten eine der Eigenschaften, die mit schlechter Prognose korrelieren. Ein in der Tumorzytogenetik akzeptiertes Dogma, dass Tumoren mit komplexeren Karyotypen generell ein aggressiveres Verhalten haben, konnte in dieser Studie für Wilms Tumoren nicht verifiziert werden.

Die Autoren sahen in 24 Fällen einen Verlust von 16q Material, 7 Fälle davon waren auf die unbalancierte Translokation t(1;16) und 9 auf eine Translokation mit anderen Chromosomen zurückzuführen. Sie fanden jedoch ebenfalls keinen Unterschied im Überleben von Patienten mit und ohne 16 q Verlust. Allerdings war das Überleben der 7 Kinder mit der unbalancierten der(16)t(1q;16q) Translokation (Verlust von 16q und Zugewinn von 1q Material) nur 50% und alle drei Fälle mit anderen t(1;16) waren nach 40, 45 und 75 Monaten noch am Leben. Dies könnte bedeuten, dass der Verlust von 16q nur dann eine schlechte Prognose bedeutet, wenn die unbalancierte der(16)t(1q;16q) Translokation vorliegt. Diese Ergebnisse müssen jedoch in weiteren zytogenetischen Studien bestätigt werden.

Dagegen war die Monosomie 22 in dieser Studie ein signifikanter Marker für einen ungünstigen Verlauf und wird von den Autoren als ein echter Hochrisikofaktor bei Wilms Tumoren bewertet. In einer multivariaten Analyse waren signifikante unabhängige

Prädiktoren für einen schlechten Verlauf die Zunahme von 1q, Stadium IV und die Monosomie 22. Eine prognostische Aussage zur Zunahme von 1q, Verlust von 16q und der Translokation 16 dagegen ist mit den vorhandenen Daten noch nicht eindeutig möglich.

Eine interessante Beobachtung dieser Arbeit war, dass Patienten mit einem normalen Karyotyp signifikant jünger waren bei der Diagnosestellung als die Kinder mit chromosomalen Anomalien in den Tumoren. Dies ist ein erster Hinweis, dass es mindestens zwei biologisch unterschiedliche Klassen an Tumoren gibt.

Mit der Comparativen genomischen Hybridisierung (CGH) kann die Problematik des Zellwachstums in Kultur umgangen werden, da hier die DNA direkt aus dem Tumormaterial isoliert wird. Bisher wurden nur drei CGH-Arbeiten an Wilms Tumoren publiziert. Diese zeigten, dass bei 126 Fällen aus zwei Publikationen insgesamt 72% keine genetischen Imbalancen hatten (Steenman et al., 1997; Getman et al., 1998). Allerdings wurden bei einer weiteren Arbeit bei mehr als 70% der Tumoren eine Zunahme oder ein Verlust von genetischem Material gefunden (Hing et al., 2001). Dies zeigt eine große Variationsbreite in der klassischen Zytogenetik und der CGH Literatur für die Anzahl an Wilms Tumoren mit normalem Karyotyp. Die Tatsache, dass LOH in einigen CGH normalen Tumoren und normale Karyotypen in Tumoren, die in der Nacktmaus passagiert wurden, gefunden wurde, zeigt, dass sicher einige Wilms Tumoren einen normalen Chromosomensatz haben. Hing et al., fanden in ihrer CGH-Studie, dass die Zunahme von 1q signifikant häufiger in der Gruppe der Patienten mit günstiger Histologie und Rezidiv vorkam. Da diese Zunahme schon zum Zeitpunkt der Erstdiagnose nachzuweisen war, könnte damit unter den Tumoren mit günstiger Histologie eine Untergruppe identifiziert werden, bei denen ein erhöhtes Rezidivrisiko besteht. Diese Patienten könnten vermutlich von einer früheren Behandlungsintensivierung profitieren.

Tab 2 WT1-assoziierte Syndrome

	Urogenital- fehlbildungen	Aniridie	WAGR	DDS	ICNS (DMS)	Frasier-Syndrom
<b>OMIM</b>		106200	194072	194080	256370	136680
<b>Häufigkeit der WT-Patienten</b>	4-8%	1%	1-2%	2%	?	?
<b>WT-Risiko</b>	30-50% (?)	50% (?)	50%	90%	90% (?)	gering
<b>Genetik/ Vererbungs- modus</b>	sp.; kon. de-novo	30% sp.; kon. de-novo; 70% familiär (AD)	sp.; kon. de-novo; selten familiär (AD)	sp.; kon. de-novo	85% sp.; kon. de-novo	sp.; kon. de-novo selten familiär (AD)
<b>Chromosomaler Locus</b>	11p13	11p13	11p13	11p13	11p13	11p13
<b>Gen</b>	WT1	Pax6/(WT1)	WT1/Pax6	WT1	WT1	WT1
<b>Mutationsart</b>	Nonsense	Deletion, Punktmutation	Deletion	Missense	Missense	Spleißmutation
<b>Diagnostik</b>	WT1-Genanalyse	Cytogenetik, Pax6-Genanalyse FISH,	Cytogenetik, FISH	WT1-Genanalyse	WT1-Genanalyse	WT1-Genanalyse
<b>Tumor- screening*</b>	Ultraschall der Niere alle 3 Monate bis 7. Lebensjahr		Ultraschall der Niere und Urinanalyse alle 3 Monate bis 6. Lebensjahr; tägliches Abtasten des Abdomens	Ultraschall der Niere und Urinanalyse alle 3 Monate bis 6. Lebensjahr; tägliches Abtasten des Abdomens	WT1-Mutations-analyse siehe DDS	Prophylaktische Gonadektomie bei Diagnose; Screening auf Wilms-Tumor?
<b>Labor</b>	Humangenetik Düsseldorf	Humangenetik Kinderklinik Mainz	Kinderklinik Mainz Düsseldorf;	Humangenetik Düsseldorf	Humangenetik Düsseldorf	Humangenetik Düsseldorf

**Legende**

BWS: Beckwith-Wiedemann Syndrom;

DDS: Denys-Drash Syndrom;

ICNS(DMS): isoliertes Kongenitales nephrotisches Syndrom mit diffuser mesangialer Sklerose;

WAGR: Wilms-Tumor, Aniridie, Genitalfehlbildungen, mentale Retardierung Syndrom;

WT: Wilms-Tumor;

sp: sporadisch;

kon: konstitutionell;

?: keine Angaben bekannt;

Genetik und Mutationsart: hier sind nur die häufigsten Formen angegeben; Ausnahmen gibt es.

Labor: Adressen sind der Diagnostik-Liste – www.bvmedgen.de – zu entnehmen;

\* Angaben aus Clericuzio, 1-999

Die häufigsten, in zahlreichen LOH-Analysen gefundenen Veränderungen bei Wilms Tumoren, waren der Verlust von 1p, 11p, 11q, 16q und 22q. Eine Korrelation dieser Veränderungen mit schlechter Prognose war in einigen Arbeiten zu finden. Eine sehr ausführliche Untersuchung von spezifischen Allel-Verlusten wurde von Klamt et al., 1998 durchgeführt. Diese Analysen zeigten, dass der Verlust von 11q und 22q in anaplastischen Tumoren, bei Tumorrezidiven und fatalem Ausgang häufig vorkommt. 50% der Patienten mit LOH von 11q und 67% mit LOH von 22q sind an ihrem Tumor verstorben. Sie haben außerdem beobachtet, dass sich bei 3/4 der Patienten mit LOH von 11q und 5/7 der Patienten mit LOH von 16 der Tumor unter der Chemotherapie nicht verkleinerte oder sogar in der Größe zunahm. In unseren eigenen Untersuchungen haben wir eine hohe Rate an *WT1*-Genveränderungen und LOH von 11p in der Untergruppe von stromareichen Tumoren gefunden (Schumacher et al., 1997; und unpu-

blizierte Ergebnisse). Wenn die LOH-Analysen mit den zusammengefassten zytogenetischen Ergebnissen der englischen Studie verglichen werden, bleibt als einzige prognostisch signifikante Veränderung Verlust von Chromosom 22. Um größere Fallzahlen zu erhalten, werden solche Analysen zur Zeit im Rahmen der europäischen SIOP/GPOH Studien gemeinsam durchgeführt.

Eine weitere neue Methode, die Genexpressionanalyse mit DNA-Arrays wird voraussichtlich ebenfalls in nächster Zeit zu einer besseren Unterteilung von Wilms Tumoren in therapeutisch signifikante Unterklassen beitragen.

**Veränderungen des *WT1*-Gens in Wilms Tumoren**

Das *WT1*-Gen besteht aus 10 Exons und kodiert für einen Zink-Finger-(ZF)Transkriptionsfaktor. Das *WT1*-Transkript enthält zwei alternative Spleißstellen, die zur Synthese von vier verschiedenen Transkripten füh-

ren. Die stärkste Expression des *WT1*-Gens wird in den Podozyten des frühen Glomerulus während der Nierentwicklung gefunden. In den männlichen Gonaden ist die Expression auf die Sertolizellen und in den Ovarien auf die Granulosazellen begrenzt. Die *WT1*-Expression steigt in diesen Geweben während der fetalen Entwicklung an und bleibt auch im adulten Gewebe erhalten. Dieses Expressionsmuster des *WT1*-Gens weist auf eine spezifische Rolle während der Urogenitalentwicklung und Nierendifferenzierung hin.

Die molekulargenetische Untersuchung des *WT1*-Gens in Wilms Tumoren zeigte, dass die meisten Mutationen einen Kettenabbruch des Proteins bewirken. Die Mutationen sind über das gesamte Gen verteilt, wobei eine Häufung in Exon 7 und 8 festzustellen ist. In unseren eigenen Untersuchungen fanden wir heraus, dass Mutationen auffallend häufig bei stromareichen oder triphasischen Wilms Tumoren zu finden waren und er-

Tab 3 Nicht WT1-assoziierte Syndrome

	Beckwith-Wiedemann Syndrom (BWS)	Perlmann Syndrom	Simpson-Golabi- Behmel Syndrom	Mulibrey Nanismus
OMIM	130650	267000	312870	253250
Häufigkeit der WT-Patienten	0,5%	sehr selten	selten	selten
WT-Risiko	3-5%	>50%	unklar	niedrig
Genetik/Vererbungsmodus	sp.; kon.de-novo; 15% familiär (AD var. Penetranz)	familiär; autosomal rezessiv	X-chromosomal rezessiv	sp.; familiär (AR)
Chromosomaler Locus	11p15	11p15?	Xq26	17q21-q24
Gen	IGF2?; KVLQT1?, p57 in 10%	unbekannt	GPC3	MUL / TRIM 37
Mutationsart	UPD, Punktmutation	unbekannt	Intragenische Deletionen	
Diagnostik	Cytogenetik; UPD; p57-Genanalyse		Genanalyse	Genanalyse
Tumorscreening*	Ultraschall des Abdomens und Urinanalyse alle 3 Monate bis 7. Lebensjahr; tägliches Abtasten des Abdomens; Serum AFP alle 3 Monate bis 3. Lebensjahr	Ultraschall des Abdomens und Urinanalyse alle 3 Monate bis 7. Lebensjahr; tägliches Abtasten des Abdomens	Ultraschall des Abdomens und Urinanalyse alle 3 Monate bis 7. Lebensjahr; tägliches Abtasten des Abdomens	

**Legende**

sp: sporadisch;

kon: konstitutionell;

?: keine Angaben bekannt;

AD: autosomal dominant;

AR: autosomal rezessiv;

Laboradressen sind der Molekulargenetischen Diagnostik-Liste – www.bvmedgen.de – zu entnehmen;

Genetik und Mutationsart: hier sind nur die häufigsten Formen angegeben; Ausnahmen gibt es.

\* Angaben aus Clericuzio, 1999

staunlicherweise waren 72% konstitutionell (Schumacher et al., 1997). Drei der acht Tumoren mit konstitutionellen Mutationen waren bilateral. Wir fanden auch heraus, dass bei den meisten Tumoren zuerst eine Nonsense-Mutation eines Allels auftrat, gefolgt vom Verlust des Wildtyp-Allels durch LOH. Dies bedeutet, dass in den Zellen keine funktionsfähige Kopie des *WT1*-Gens mehr vorliegt und damit der von Knudson postulierte „two hit“-Mechanismus zur Entstehung dieses Subtyps von Wilms Tumor bestätigt werden konnte. Bei den blastem/epithelreichen Wilms Tumoren dagegen konnten wir nur bei einem eine *WT1*-Gen Mutationen nachweisen, so dass diese vermutlich durch einen anderen Mechanismus entstehen und molekular von den stromareichen mit Mutationen abzugrenzen sind. Diese Ergebnisse sind ein erster Hinweis für zwei molekular unterschiedliche Klassen an Wilms Tumoren.

In einer Zusammenfassung aller bisher publizierten Patienten mit *WT1*-Mutationen ist zu beobachten, dass 38% bereits in der Keimbahn vorliegen (Jeanpierre et al., 1998). Unter den Patienten mit Keimbahnmutationen haben 55% einen unilateralen und 45% einen bilateralen Tumor entwickelt, wohingegen alle Patienten mit einer somatischen Mutation einen unilateralen Tumor hatten.

**Genotyp-Phänotyp Korrelation für WT1-Mutationen**

Durch die Identifizierung spezifischer molekularer Veränderungen im *WT1*-Gen bei Patienten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern, können folgende Genotyp/Phänotyp Korrelationen abgeleitet werden:

- 1) Das Fehlen einer Kopie des *WT1*-Gens (z.B. bei WAGR-Syndrom) oder eine Kettenabbruchsmutation führt bei männlichen Patienten zu Genitalfehlbildungen (Hypospadie und Kryptorchismus). Ein Wilms Tumor entwickelt sich bei diesen Patienten erst, wenn das zweite Allel ebenfalls inaktiviert/mutiert ist.
- 2) Eine Missens-Mutationen im Zinkfingerbereich des *WT1*-Proteins verursacht ein kongenitales/infantiles nephrotisches Syndrom (NS). Männliche Patienten mit einer Missens-Mutationen haben schwerwiegende Genitalfehlbildungen (Pseudohermaphroditismus, z.B. bei Denys-Drash Syndrom). Patienten mit Missens-Mutationen entwickeln einen Wilms Tumor ebenfalls nur nach Inaktivierung des zweiten Allels.
- 3) Spleißmutationen, bei denen nur eine Isoform gebildet werden kann, führen zu einem sich später manifestierenden nephrotischen Syndrom mit terminalem Nierenversa-

gen (Frasier Syndrom). Patienten mit Spleißmutationen entwickeln selten (bisher nur ein Fall bekannt!) Wilms Tumor, häufiger aber Gonadoblastome. Männliche Patienten haben meist komplette XY Gonadendysgenese.

**Wilms Tumor assoziierte Syndrome**

Bei verschiedenen kongenitalen Anomalien findet man eine genetische Prädisposition und somit ein erhöhtes Risiko, an einem Wilms Tumor zu erkranken. Diese Syndrome sind in mehreren Übersichtsartikeln vor Kurzem ausführlich beschrieben worden (Royer-Pokora und Schumacher, 2001; Royer-Pokora, 2000) und sind hier nur tabellarisch zusammengefasst. In Tabelle 2 sind *WT1*-assoziierte Syndrome und in Tabelle 3 nicht *WT1*-assoziierte Syndrome aufgeführt.

**Familiäre Wilms Tumoren**

Bisher wurde angenommen, dass der Anteil an erblichen Tumoren bei den unilateralen Wilms Tumoren verschwindend gering ist. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch klar (siehe oben), dass *WT1*-Keimbahnmutationen bei unilateralen Wilms Tumoren ohne assoziierte Fehlbildungen durchaus vorkommen können und andererseits bei familiären Fällen unilaterale Tumoren nicht selten sind. Allein in unserem Kollektiv befanden

sich zwei Kinder mit unilateralem Wilms Tumor, bei denen später ein Geschwister an einem bilateralen Tumor erkrankte. In beiden Fällen war jedoch keine *WT1*-Mutation nachzuweisen. Nur etwa 1-2% aller Wilms Tumoren treten in mehreren Generationen auf. Das *WT1*-Gen ist bei den meisten familiären Wilms Tumoren nicht betroffen. Ähnlich wie bei sporadischen Wilms Tumoren scheint auch bei familiären Formen die genetische Ätiologie heterogen zu sein. Kopplungsanalysen haben bisher zwei familiäre Genloci gefunden, die entsprechenden Gene sind jedoch beide noch nicht identifiziert worden.

### Genetische Beratung

Für Risikopatienten mit spezifischen Syndromen (z.B. Genitalfehlbildungen, kongenitales/infantiles nephrotisches Syndrom (NS) oder sporadische Anridie) bei denen noch kein Wilms Tumor aufgetreten ist, sollte eine humangenetische Beratung der Eltern vor Untersuchung des Patienten stattfinden. Hierbei handelt es sich um eine präsymptomatische molekulare Diagnostik, bei der die Richtlinien der Bundesärztekammer zur prädiktiven Diagnostik bei erblichen Tumorerkrankungen beachtet werden sollten. Dazu gehört das Einholen eines informed consent von den Eltern, das Recht auf Nicht-Wissen, Zeit für Entscheidung, mit anschließender Diagnostik und Befundmitteilung durch einen Humangenetiker/in. Es ist außerdem wünschenswert, dass auch bei *WT1*-Gen Untersuchungen von erkrankten Wilms Tumor Patienten die möglichen Ergebnisse und deren Konsequenzen den Eltern im Rahmen einer genetischen Beratung vorab dargelegt werden.

### Fazit für die Praxis

Die Identifizierung von spezifischen genetischen Veränderungen bei Wilms Tumoren wird letztendlich zu einem besseren Verständnis der unterschiedlichen biologischen Eigenschaften und zu einer besseren, tumorspezifischen Therapie führen. Zur Zeit ist schon der Nachweis einer Keimbahnmutation im *WT1*-Gen nützlich für eine akkuratere Diagnose und Voraussage des Risikos, einen

kontralateralen Tumor zu entwickeln. Mutationen im p53 Gen wurden in der Gruppe der ungünstigen anaplastischen Wilms Tumoren nachgewiesen. Da diese Mutationen jedoch selten vorkommen, ist eine Analyse dieses Gens routinemäßig nicht angebracht. Veränderungen in spezifischen anderen Genen sind zwar beschrieben worden, eine prognostischen Bedeutung ist jedoch bisher für keines gesichert und diese sind deshalb noch nicht für eine Diagnostik einsetzbar.

Zytogenetische und CGH-Analysen sollten, wenn möglich, durchgeführt werden, können aber zur Zeit –mit Ausnahme von Monosomie 22– noch nicht für prognostische Aussagen herangezogen werden. Da einige Analysen nur an unfixiertem Material, welches schnell verarbeitet werden muss, möglich sind, ist es außerordentlich wichtig, dass alle Fälle vor einer Operation an ein entsprechendes Referenzzentrum weitergeleitet werden, damit das Kind die beste Diagnostik und Therapie erhält.

Die Identifizierung von Patienten mit konstitutionellen *WT1*-Mutationen oder Deletionen ermöglichen einen prädiktiven Test für das Risiko, einen Tumor zu entwickeln, welches jedoch nicht 100% ist. Solche Analysen sind deshalb nicht unumstritten und werfen ethische Probleme auf. Dennoch ist diese Untersuchung bei Nachkommen von Personen mit *WT1*-Mutationen gerechtfertigt, da dadurch invasive Screening Verfahren bei Kindern ohne Mutationen vermieden werden können.

Die Erkenntnis, dass ein gewisser Prozentsatz an scheinbar sporadischen Tumoren durch Keimbahnmutationen verursacht werden, bedeutet, dass eine *WT1*-Mutationsanalyse zur Zeit noch bei allen Kindern mit Wilms Tumor sinnvoll ist.

### Literatur

Bown N, Cotterill SJ, Roberts P, Griffiths M, Larkins S, Hibbert S, Middleton H, Kelsey A, Tritton D, Mitchell C (2002) Cytogenetic abnormalities and clinical outcome in Wilms tumor: a study by the U.K. cancer cytogenetics group and the U.K. Children's Cancer Study Group. *Med Pediatr Oncol* 38:11-21

Getman ME, Houseal TW, Miller GA, Grundy PE, Cowell JK, Landes GM (1998) Comparative genomic hybridization and its application to Wilms' tumorigenesis. *Cytogenet Cell Genet* 82:284-90

Hing S, Lu YJ, Summersgill B, King-Underwood L, Nicholson J, Grundy P, Grundy R, Gessler M, Shipley J, Pritchard-Jones K (2001) Gain of 1q is associated with adverse outcome in favorable histology Wilms' tumors. *Am J Pathol* 158:393-8

Jeanpierre C, Beroud C, Niaudet P and Junien C (1998) Software and database for the analysis of mutations in the human *WT1* gene. *Nuc Acids Res* 26: 271-274

Klamt B, Schulze M, Thäte C, Mares J, Goetz P, Kodet R, Scheurlen W, Weirich A, Graf N, Gessler M (1998b) Allele loss in Wilms tumors of chromosome arms 11q, 16q, and 22q correlates with clinicopathological parameters. *Genes, Chromosomes & Cancer* 22: 287-294

Knudson AG, Strong LC (1972) Mutation and cancer: A model for Wilms' tumor of the kidney. *J Natl Canc Inst* 48: 313-32

Mathew P, Douglass EC, Jones D, Valentine M, Valentine V, Rowe S, Shapiro DN (1996) Der(16)t(1;16)(q21;q13) in Wilms' tumor: friend or foe. *Med Pediatr Oncol* 27:3-7.

Nakadate H, Tsuchiya T, Maseki N, Hatae Y, Tsunenatsu Y, Horikoshi Y, Ishida Y, Kikuta A, Egushi H, Endo M, Miyake M, Sakurai M, Kaneko Y (1999) Correlation of chromosome abnormalities with presence or absence of *WT1* deletions/mutations in Wilms tumor. *Genes, Chromosomes & Cancer* 25: 26-32

Royer-Pokora B. Molekulargenetische Grundlagen der Tumoren des Kindesalters- das Beispiel Wilms-Tumor. *Onkologie* 2000, 6:819-831

Royer-Pokora B, Schumacher V (2001) Wilms Tumor, Seite 471-495. in: Molekularmedinische Grundlagen von hereditären Tumorerkrankungen, eds: Ganten und Ruckpaul.

Schumacher V, Schneider S, Figge A, Wildhardt G, Harms D, Schmidt D, Weirich A, Ludwig R, Royer-Pokora B (1997) Correlation of germ-line mutations and two-hit inactivation of the *WT1* gene with Wilms tumors of stromal-predominant histology. *Proc Natl Acad Sci, USA* 94: 3972-3977

Steenman M, Redeker B, de Meulemeester M, Wiesmeijer K, Voûte PA, Westerveld A, Slater R, Mannens M (1997) Comparative genomic hybridization analysis of Wilms tumor. *Cytogenet Cell Genet* 77: 296-303

### Korrespondenzadresse

Institut für Humangenetik und Anthropologie des Universitätsklinikums Düsseldorf  
Heinrich Heine Universität  
Universitätsstrasse 1  
40225 Düsseldorf  
Tel 0211-8112350  
Fax 0211-8112538  
royer@uni-duesseldorf.de