

Zusammenfassung

Unter den soliden Tumoren stellen die vier Hauptformen der Schilddrüsentumore ein einzigartiges Beispiel dar, wie spezifische Umweltfaktoren, definierte molekulargenetische Läsionen und bestimmte histopathologische Entitäten zusammenhängen. Papilläre (PTC), follikuläre (FTC) und anaplastische (ATC) Schilddrüsentumore entstehen aus den epithelialen follikulären Zellen. Die medullären (MTC) Formen hingegen leiten sich von den parafollikulären C-Zellen ab. RET und NTRK1 Fusionsgene stellen ein besonderes molekulares Merkmal der relativ benignen PTC dar. Die im Signalübertragungsweg involvierten Gene RAS, TSHR α , TSHR β und G α s sind hingegen häufig in gut differenzierten follikulären Adenomen und FTC mutiert. P53 Mutationen treten andererseits häufig bei den extrem aggressiven ATC auf. Bei den MTC findet man sporadische und mit dem Tumorprädispositionssyndrom „multiple endokrine Neoplasie“ assoziierte Tumore, für welche entweder somatische oder, bei den familiären Formen auch Keimbahnmutationen des RET Protoonkogens verantwortlich sind.

Schlüsselwörter

Schilddrüsentumore – RET Mutationen – RET Fusionsgene – RAS Mutationen – Thyreotropin Mutationen – p53 Mutationen

Summary

Within the group of solid tumors, the four main classes of thyroid tumors provide a unique example for the connection between particular environmental triggers, distinct molecular genetic lesions and specific histological entities. Papillary (PTC), follicular (FTC) and anaplastic (ATC) thyroid tumors derive from the epithelial follicular cells, whereas the medullary form (MTC) arises from the parafollicular C-cells. The hallmark of the relative benign, mainly radiation-induced PTC are unique RET and NTRK1 fusion genes. Well-differentiated follicular adenomas and FTC are characterized by mutations in the signal transduction pathway-associated RAS as well as TSHR α , TSHR β and G α s genes. p53 mutations, on the other hand, are the most common feature of the extremely aggressive ATC. MTC can occur sporadically or in the context of the tumor predisposition syndrome multiple endocrine neoplasia and is associated with either somatic or, in the familial form, with germline mutations of the RET proto-oncogene.

Keywords:

Thyroid tumors – RET mutations – RET fusion genes – RAS mutations – Thyreotropin mutations – p53 mutations

Einleitung

Klinisch apparente Schilddrüsenkarzinome machen weniger als 1% aller Krebserkrankungen beim Menschen aus. Sie sind jedoch die häufigsten Tumore des endokrinen Organsystems. Sie treten entweder sporadisch oder im Rahmen von verschiedenen familiären Tumorprädispositionssyndromen bei genetisch prädisponierten Individuen auf (Abbildung 1) (Alsanea und Clark, 2001). Ihre jährliche Inzidenzrate in verschiedenen Regionen der Welt reicht von 0,5 bis 10 Fälle pro 100.000 Einwohner und zeigt eine starke Alters- und Geschlechtsabhängigkeit. Das mediane Alter der Patienten beträgt 45 bis 50 Jahre. Frauen sind zwei bis vier mal häufiger betroffen als Männer (Schlumberger, 1998; Alsanea und Clark, 2001; Gimm, 2001).

Die vier wichtigsten Arten von Schilddrüsenkarzinomen machen zusammen mehr als 98% aller Tumore aus (Abbildung 1). Zu den differenzierten Formen zählen das papilläre (PTC) und das follikuläre (FTC) und zu den undifferenzierten Formen das medulläre (MTC) und das anaplastische (ATC) Schilddrüsenkarzinom (Gimm, 2001). Während PTC, FTC und ATC sich aus dem follikulären Schilddrüsenepithel entwickeln, entspringt das MTC aus den parafollikulären, Calcitonin-produzierenden C-Zellen. Das FTC ist vor allem mit einer niedrigen Jodeinnahme und endemischen Strumen assoziiert. Es metastasiert praktisch ausschließlich über den Blutweg und häufig in die Knochen. Das PTC hingegen tritt insbesondere nach

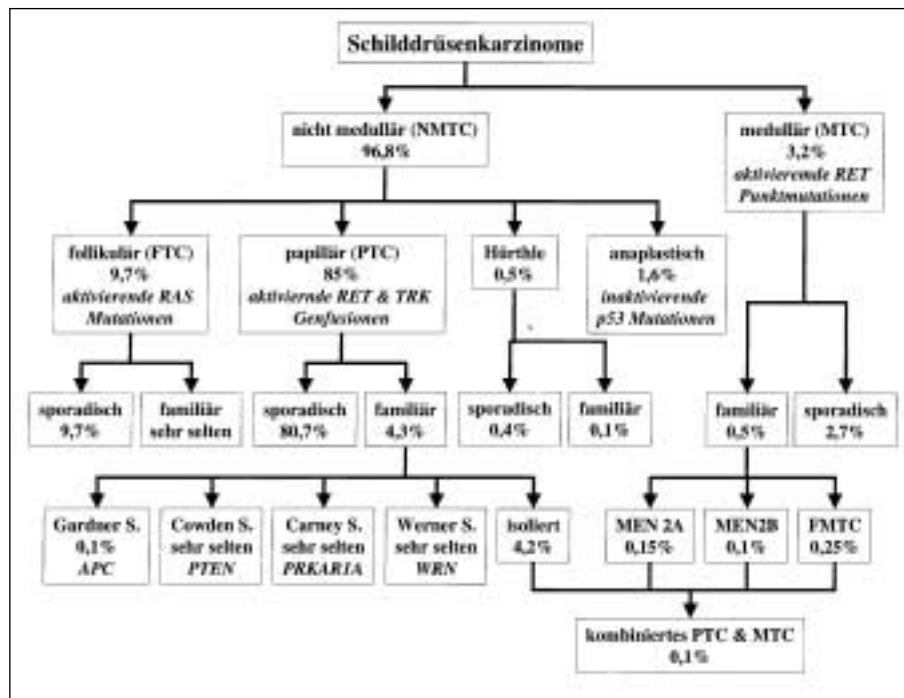


Abb 1 Relative Frequenz der Verteilung der verschiedenen Schilddrüsenkarzinomen mit deren charakteristischen Mutationsmarkern (adaptiert nach Alsanea, Curr Op in Oncol 2001).

Strahlenexposition und in Zusammenhang mit einer hohen Jodeinnahme auf. Es metastasiert über das Lymphsystem vor allem in die regionalen Lymphknoten. Obwohl PTC und FTC aus der gleichen Ursprungszelle hervorgehen, weisen sie dennoch sehr unterschiedliche, jedoch für die jeweilige Tumorform auch sehr charakteristische genetische Veränderungen auf.

Die molekularen Mechanismen, welche zu den verschiedenen Tumorarten führen, inkludieren Mutationen und epigenetische Veränderungen von an der normalen Entwicklung der Schilddrüse beteiligten Genen, aber auch von solchen, welche unter normalen Umständen in den betroffenen Zellpopulationen nicht exprimiert werden (Moretti et al. 2000). Dazu zählen vor allem die Tyrosinkinase Rezeptoren RET und TRK, die Thyreotropinrezeptoren $THR\alpha$ und $THR\beta$, die in Signalübertragungswegen beteiligten Regulatoren RAS und $G_s\alpha$, sowie, vor allem in späteren Stadien und bei undifferenzierten Formen, die Tumorsuppressorgene p53 und p16 (Vecchio und Santoro, 2000; Gimm, 2001; Puzianowska-Kuznicka et al. 2002). Im Gegensatz zu vielen anderen Tumorformen findet man bei Schilddrüsenkarzinomen jedoch keine kaskadenförmige und Stadien-typische sequentielle Aktivierung pathogenetisch relevanter Protoonkogene, sondern eine sehr spezifische Assoziation einzelner Zielgene mit bestimmten histopathologischen, prognostisch und klinisch relevanten Tumorentitäten (Schlumberger, 1998;

Learoyd et al. 2000; Pacini et al. 2000; Vecchio und Santoro, 2000; Alsanea und Clark, 2001; Gimm, 2001).

Papilläre Schilddrüsenkarzinome

PTC weisen für epitheliale Karzinome einzigartige Genfusionen auf, welche durch intra- und interchromosomale Rearrangements, meist in Form von Inversionen und Translokationen hervorgerufen werden (Tabelle 1).

RET/PTC1 war das erste Beispiel einer durch eine Genfusion ausgelösten transformierenden Onkogenaktivierung in einem soliden Tumor. Dabei fusionieren die intrazellulären Domänen der in normalen Thyreozyten nicht exprimierten Rezeptor-Tyrosinkinasen RET und NTRK1 jeweils mit dem N-terminalen Ende verschiedener aktivierender Gene. Die Fusionsgene produzieren eine chimäre mRNA, die ein neues hybrides Protein generiert. Die jeweiligen RET und NTRK1 Partnergene weisen drei gemeinsame charakteristische Merkmale auf, welche für die transformierenden Eigenschaften der Fusionsgene mitverantwortlich sind. Sie sind universell exprimierte Gene mit Domänen, welche Di- oder Multimere bilden die potentiell zu einer RET Autophosphorylierung und damit zur Aktivierung intrazellulärer Signalübertragungswege führen können (Rabes et al. 2000). Ihre mit der Tyrosinkinase assoziierte Aktivität wird dabei von der Membran in das Zytoplasma verlagert.

RET und NTRK1 Genfusionen werden bei über 50% aller PTC gefunden. Sowohl ihre Inzidenz insgesamt, als auch die von speziellen Subtypen, weist jedoch große geographische Schwankungen auf. Neben Unterschieden in den Untersuchungstechniken, populationsgenetischen Faktoren und dem variablen Alter der Patienten, wird dies vor allem auf die variable Exposition gegenüber Umweltfaktoren zurückgeführt. So wurde bei 62,3% der nach dem Reaktorunfall in Tschernobyl aufgetretenen strahlungsinduzierten Schilddrüsentumore ein RET Rearrangement nachgewiesen (Rabes et al. 2000; Rabes, 2001). Die häufigste Form ist dabei die RET/PTC3 Fusion, welche mit einem aggressiven Tumorwachstum einhergeht. RET/PTC1 Fusionsgene hingegen sind unterrepräsentiert und NTRK1 Rearrangements sehr selten. Dieses Spektrum von Genrearrangements hat auch wichtige biologische und klinische Implikationen, da es mit typischen Tumorformen korreliert (Rabes et al. 2000; Rabes, 2001).

Strahlungsinduzierte Rearrangements des RET Protoonkogens stellen aber nicht nur einen wichtigen und für die Pathogenese der PTC charakteristischen Marker dar (Rabes et al. 2000). Im Sinne einer molekularen Epidemiologie zeigen sie auch in einer einzigartigen Art und Weise den direkten Konnex zwischen einem spezifischen karzinogenen Faktor, dem radioaktiven Jod, und einem spezifischen molekularen Ereignis, der Genfusion, auf. Sie ist das Ergebnis von aberrant reparierten strahleninduzierten DNA

Tab 1 Spezifische Genfusionen und Chromosomen-Rearrangements bei papillären (PTC) und follikulären (FTC) Schilddrüsenkarzinomen (Literaturzusammenstellung)

Tumor	TKR*	Lokalisation	Aktivierendes Gen	alternative Bezeichnung	Lokalisation	Chromosomen-Rearrangement
PTC	RET	10q11.2	H4/D10S170	PTC1	10q21	inv(10)(q11.2;q21.2)
PTC	RET	10q11.2	PRKAR1 / PKA	PTC2	17q23	t(10;17)(q11.2;q23)
PTC	RET	10q11.2	NCOA4/ELE1	PTC3***	10q11.2	inv(10)(q11.2;q21)
PTC	RET	10q11.2	NCOA4/ELE1	PTC4***	10q11.2	inv(10)(q11.2;q21)
PTC	RET	10q11.2	GOLGA5/RFG5	PTC5	14q32	?
PTC	RET	10q11.2	TIF1/HTIF1	PTC6	7q34	?
PTC	RET	10q11.2	TRIM33/RFG7	PTC7	1p13	?
PTC	RET	10q11.2	KTN1	PTC8	14q22	t(10;14)(q11.2;q22.1)
PTC	RET	10q11.2	RFG8(9)	PTC9	18q21-22	?
PTC	RET	10q11.2	PCM1	?	8p21-22	t(8;10)(p21-22;q11.2)
PTC	RET	10q11.2	ELKS	?	12p13	t(10;12)(q11;p13)
PTC	NTRK1	1q22	TPM3	?	1q25	inv(1)(q?)
PTC	NTRK1	1q22	TPR	?	1q25	inv(1)(q?)
PTC	NTRK1	1q22	TFG	?	3q11-12	t(1;3)
PTC**	?	?	?	?	-	t(3;5)(q12;p15.3)
FTC	?	?	?	?	-	(3;7)(p25;q34)
FTC	PAX8	2q13	PPAR γ	?	3p25	t(2;3)(q13;p25)

* Tyrosin Kinase Rezeptor Gen

** multifokale follikuläre Variante;

*** PTC3 und PTC4 entsprechen zwei verschiedenen Spleißvarianten des NCOA4/ELE1 Gens

Doppelstrangbrüchen (Rabes et al. 2000; Klugbauer et al. 2001). Interessanterweise konnten äquivalente RET Genrearrangements auch experimentell durch Bestrahlung sowohl von in vitro Zellkulturen als auch von in Nacktmäuse transplantiertem normalen humanen Schilddrüsengewebe in unterschiedlicher Häufigkeit und nach variabler Latenzzeit induziert werden (Ito et al. 1993; Mizuno et al. 2000). Die Induktion dieser Genfusion wird dabei anscheinend sowohl durch die gewebespezifische räumliche Nähe der daran beteiligten Gene im Interphasekern als auch die relative Strahlenresistenz der Thyreozyten wesentlich begünstigt (Nikiforova et al. 2000; Yang et al. 1997).

Neben der überwiegend eingesetzten multiplex RT-PCR wurden bereits auch Fluoreszenz-in situ-Hybridisierungsmethoden (FISH) zur Erfassung aller RET Genrearrangements entwickelt (Cinti et al. 2000; Corvi et al. 2001). Die FISH dient vor allem zum Nachweis bereits bekannter RET/PTC1, RET/PTC2 und RET/PTC3 Genrearrangements, aber auch zur Suche nach potentiell neuen RET Genfusionen. Daneben lieferten die Ergebnisse solcher FISH Untersuchungen nicht nur weitere Hinweise, dass sich PTC aus den wesentlich häufigeren Mikrokarzinomen entwickeln, sondern auch, dass RET/PTC offensichtlich in Mikrokarzinomen wesentlich häufiger vorkommen als in PTCs (Corvi et al. 2001).

Follikuläre Schilddrüsenkarzinome

FTC entwickeln sich überwiegend aus Adenomen. Es kommen daher alle Übergangsformen von gut bis schlecht differenziert vor. Die charakteristischen molekulargenetischen Merkmale dieser Tumore sind aktivierende Mutationen der drei RAS Gene, welche sehr früh in der Tumorentwicklung auftreten. Sie werden in Adenomen und in multinodulären Strumen, aber auch in den späten Stadien von undifferenzierten Schilddrüsenkarzinomen gefunden (Manenti et al. 1994; Challeton et al. 1995). Erst kürzlich wurde eine Fusion des für die Schilddrüsenentwicklung essentiellen Transkriptionsfaktors PAX8 mit dem „peroxisomalen Proliferations-aktivierenden Rezeptor gamma (PPAR γ) als das molekulare Äquivalent einer rekurrenten t(2;3)(q13;p25) in fünf von acht follikulären Tumoren nachgewiesen (Kroll et al. 2000). Bei zwei anderen Fällen lag wahrscheinlich eine weitere Fusion von PPAR γ mit einem bislang nicht identifizierten Partnergen vor. Diese PAX8/PPAR γ Fusion scheint eine für FTC sehr spezifische Veränderung zu sein, da sie weder in follikulären Adenomen, noch in multinodulären Hyperplasien oder in PTC gefunden wurde. Das Produkt des PAX8/PPAR γ Fusionsgen agiert wahrscheinlich als dominant negativer Repressor der Wildtyp PAX8 Aktivität, da das PPAR γ Protein nach Ligandenbindung das Zellwachstum inhibiert und Differenzierung induziert. Inwieweit eventuell auch ein möglicher Zusammenhang zwischen der PPAR γ Inaktivierung und den bereits länger be-

kannten RAS Mutationen besteht, ist zur Zeit noch nicht bekannt.

Ein Teil der Adenome, unter ihnen auch die hochdifferenzierten follikulären Adenome mit autonomer Funktion, welche praktisch nie entarten, weisen konstitutiv aktivierende Mutationen in den beiden Thyreotropin Rezeptor Genen (THR α und THR β) und im G β Gen auf (Matsuo et al. 1993; Waldmann und Rabes, 1997; Puziawska-Kuznicka et al. 2002). Thyreotropin aktiviert zum Teil die c-AMP abhängige Signaltransduktionskaskade und wirkt dadurch als Wachstumsfaktor für Thyreozyten. Die G β Subeinheit gehört zu den G-Proteinen, welche ebenfalls ein wichtiger Bestandteil des intrazellulären Signalübertragungsweges sind. Bisher wurden zwei spezifische Einzelbasenaustausche im G β Gen bei 14% von insgesamt 297 erwachsenen Patienten mit differenziertem FTC gefunden (Waldmann und Rabes, 1997). Bei Kindern mit strahlen-induziertem PTC hingegen konnten weder Mutationen in den G β noch RAS oder p53 Genen nachgewiesen werden (Nikiforov et al. 1996; Waldmann und Rabes, 1997; Suchy et al. 1998). Obwohl solche Mutationen in diesen Tumoren prinzipiell auftreten könnten, nimmt man jedoch an, dass ihr klonales Potential wesentlich geringer als jenes von RET-Fusionsgenen ist und sie sich daher wahrscheinlich nicht als klonal nachweisbare Veränderung manifestieren können (Waldmann und Rabes, 1997).

Anaplastische Schilddrüsenkarzinome

ATC entsprechen undifferenzierten Endstadien von papillären und follikulären Karzinomen. Diese extrem aggressiven Tumore weisen häufig eine Überexpression und Mutationen des p53 Tumorsuppressorgens auf, welche auch als wesentliche Auslöser dieser Tumore betrachtet werden (Gimm, 2001). Daneben werden auch noch in zirka 60 % der Fälle Mutationen im β -Catenin Gen gefunden (Gimm, 2001).

Medulläre Schilddrüsenkarzinome

MTC entwickeln sich aus den Calcitonin produzierenden C-Zellen. Diese Tumore treten sporadisch oder familiär gehäuft im Rahmen der Tumorprädispositionssyndrome „multiple endokrine Neoplasien“ (MEN) 2A und 2B auf. Klinische Hinweise auf eine mögliche konstitutionelle Prädisposition sind multifokal auftretende Tumore, eine immunhistochemisch nachgewiesene C-Zell-Hyperplasie sowie eine familiäre Belastung. Ein pathologischer Anstieg des basalen und/oder stimulierten Tumormarkers Calcitonin ist ein sicherer biochemischer Nachweis der Erkrankung. Ungefähr die Hälfte der sporadischen Fälle weist auf das Tumorgewebe beschränkte somatische Missense-Mutationen der Exons 13 und 16 des RET Protoonkogens auf (Fink et al. 1996; Romei et al. 1996; Eng und Mulligan, 1997; Chieffari et al. 1998). Es handelt sich dabei überwiegend um aktivierende Punktmutationen im Codon 918, welche als Keimbahnmutation exklusiv mit MEN2 B assoziiert ist, und wesentlich seltener um Codon 768 Mutationen (Fink et al. 1996; Romei et al. 1996; Eng und Mulligan, 1997; Chieffari et al. 1998). Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass solche RET Mutationen MTC induzieren können (Michiels et al. 1997; Smith-Hicks et al. 2000). Andererseits scheinen multifokale MTC einen polyklonalen Ursprung zu haben, wie molekulare Untersuchung von mikrodisseziertem Tumorgewebe und auf der X-Inaktivierung beruhende Klonalitätsuntersuchungen ergeben haben (Learoyd et al. 2000; Pacini et al. 2000; Vecchio und Santoro, 2000; Gimm, 2001).

Dabei wurde sowohl eine heterogene Verteilung von somatischen RET Mutationen in verschiedenen Tumorfoci und Metastasen als auch ein polyklonales X-Inaktivierungsmuster gefunden (Ferraris et al. 1997; Eng et al. 1998).

Zytogenetik, Molekularzytogenetik und „loss of heterozygosity“ (LOH)

Die bisher beschriebenen und für die einzelnen Tumorformen sehr charakteristischen Veränderungen bilden verständlicherweise nur die Spitze des Eisberges. Die mit der Entwicklung und Progression von Schilddrüsenkarzinomen einhergehenden genetischen Veränderungen sind naturgemäß viel komplexer. So wurden neben den durch die diversen spezifischen Genfusionen assoziierten Chromosomenrearrangements noch eine Reihe anderer Karyotypanomalien mittels zytogenetischen bzw. molekularzytogenetischen Methoden nachgewiesen (Gama et al. 1991) (Herrmann et al. 1991) (Herrmann und Lalley, 1992; Sozzi et al. 1992; Taruscio et al. 1994; Pierotti et al. 1996; Bol et al. 1999; Cortezzi et al. 2002). Wie auch bei vielen anderen Tumorarten findet man vor allem eine Trisomie 7 bei praktisch allen Formen der Schilddrüsenkarzinomen bereits in einem sehr frühen Stadium (Gama et al. 1991) (Herrmann und Lalley, 1992; Taruscio et al. 1994; Cortezzi et al. 2002). Die Bedeutung dieses Befundes ist jedoch unklar. Mittels CGH wurden bei PTC je nach Studie in 12-88% der Fälle verschiedenste Imbalancen nachgewiesen (Kjellman et al. 2001; Chen et al. 1998; Hemmer et al. 1999). Der häufigste, aber insgesamt nur bei zirka 30% der Fälle vorhandene Zugewinn betraf die Region 9q33-qter, gefolgt von einem zusätzlichen X Chromosomen bei Männern, sowie ein 1q, 17q und 22q Zugewinn. Verluste betrafen bei PTC vor allem 22q und 9q21-q32. Ein 1q Gewinn kombiniert mit einem 9q21-q32 Verlust wurde ausschließlich bei Patienten mit aggressiven Tumoren bzw. mit Metastasen gefunden (Kjellman et al. 2001; Kitamura et al. 2000b). Insgesamt nimmt der Genom-weite Allelverlust mit der Aggressivität von Tumoren von PTC zu FTC und ATC zu

(Grebe et al. 1997; Gillespie et al. 2000; Kitamura et al. 2000b; Kitamura et al. 2000a; Kitamura et al. 2001). Die am häufigsten betroffenen Regionen sind bei FTC 7q, 11p und 22q, bei ATC hingegen 1q, 9p, 11, 17, 19p und 22q (Kitamura et al. 2000b; Kitamura et al. 2000a; Kitamura et al. 2001). Eine für ATC spezifische Region am kurzen Arm des Chromosoms 16p13.3 wurde bereits auf 7 cM eingegrenzt (Kadota et al. 2000). Jedoch ist in keinem der beschriebenen Fälle bekannt, welche potentiellen Tumorsuppressorgene in den jeweiligen Fällen wesentlich sind. Insbesondere wurde aber darauf hingewiesen, dass bei den FTC-assoziierten 3p und 17p Verlusten dem von Hippel-Lindau (VHL) oder p53 Tumorsuppressorgen keine pathogenetisch signifikante Rolle zukommt (Grebe et al. 1997).

Zukünftige Aufgaben der Zyto- und Molekulargenetik bei Schilddrüsentumoren beinhalten einerseits die Suche nach weiteren spezifischen, mit den einzelnen histopathologischen Entitäten assoziierten Markern, aber auch die Identifizierung und nähere Charakterisierung von sekundären, mit der Progression der Erkrankung einhergehenden Veränderungen. Ein wesentlicher Stellenwert kommt natürlich auch der Abklärung der pathophysiologischen Funktion und prognostischen Bedeutung solcher Veränderungen zu. Von besonderem Interesse im Zusammenhang mit der Entstehung solcher Tumore sind sicherlich auch die Erforschung epigenetischer Veränderungen, wie z.B. von globalen und mit spezifischen Genläsionen assoziierten Methylierungsanomalien. Die heterogenen Befunde von Klonalitätsuntersuchungen mittels X-Inaktivierung und Mutationsanalysen bei multiplen benignen, prä-malignen und malignen Läsionen weisen darauf hin, dass mit den bisher definierten tumor-spezifischen Markern möglicherweise doch noch nicht der wesentliche erste „Hit“, der zur Tumorentstehung führt, identifiziert ist (Namba et al. 1990; Apel et al. 1995) (Learoyd et al. 2000) (Pacini et al. 2000) (Vecchio und Santoro, 2000). Alternativ könnte es sich natürlich bei diesen Tumoren auch um simultan

auftretende echte polyklonale Veränderungen handeln, deren Pathogenese jedoch ebenfalls einer Erklärung harret.

Zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen von Schilddrüsentumoren liefern zum Teil bereits heute schon wesentliche, klinisch relevante Informationen. Insbesondere sei in diesem Zusammenhang die wichtige differentialdiagnostische Abklärung von sporadischen und hereditären MTC mittels RET Mutationsscreening hervorgehoben (Fink et al. 1996; Romei et al. 1996; Eng und Mulligan, 1997; Chiefari et al. 1998). Ansatzweise kann man auch schon prognostische Informationen aus den Ergebnissen solcher Befunde ableiten. Die Weiterentwicklung und Applikation von innovativen Untersuchungstechniken, wie FISH, Methylierungs- und Genexpressionsanalysen, wird sicherlich auch bei den Schilddrüsentumoren noch wesentliche neue Erkenntnisse und Überraschungen liefern, welche dann letztendlich zum Wohle des Patienten klinisch umgesetzt werden können.

Literatur

- Alsanea, O.Clark, O.H. (2001) Familial thyroid cancer. *Curr Opin Oncol* 13:44-51.
- Apel, R.L., Ezzat, S., Bapat, B.V., Pan, N., LiVolsi, V.A. and Asa, S.L. (1995) Clonality of thyroid nodules in sporadic goiter. *Diagn Mol Pathol* 4:113-121.
- Bol, S., Belge, G., Thode, B., Bartnitzke, S. and Bullerdiek, J. (1999) Structural abnormalities of chromosome 2 in benign thyroid tumors. Three new cases and review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet* 114:75-77.
- Challeton, C., Bounacer, A., Du Villard, J.A., Cailou, B., De Vathaire, F., Monier, R., Schlumberger, M. and Suarez, H.G. (1995) Pattern of ras and gsp oncogene mutations in radiation-associated human thyroid tumors. *Oncogene* 11:601-603.
- Chen, X., Knäuf, J.A., Gonsky, R., Wang, M., Lai, E.H., Chissov, S., Fagin, J.A. and Korenberg, J.R. (1998) From amplification to gene in thyroid cancer: a high-resolution mapped bacterial-artificial-chromosome resource for cancer chromosome aberrations guides gene discovery after comparative genome hybridization. *Am J Hum Genet* 63:625-637.
- Chiefari, E., Russo, D., Giuffrida, D., Zampa, G.A., Meringolo, D., Arturi, F., Chiodini, I., Bianchi, D., Attard, M., Trischitta, V., Bruno, R., Gianasio, P., Pontecorvi, A. and Filetti, S. (1998) Analysis of RET proto-oncogene abnormalities in patients with MEN 2A, MEN 2B, familial or sporadic medullary thyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest* 21:358-364.
- Cinti, R., Yin, L., Ilc, K., Berger, N., Basolo, F., Cuccato, S., Giannini, R., Torre, G., Miccoli, P., Amati, P., Romeo, G., Corvi, R. (2000) RET rearrangements in papillary thyroid carcinomas and adenomas detected by interphase FISH. *Cytogenet Cell Genet* 88:56-61.
- Cortezzi, S.S., Cesar, A.C., Tajara, E.H., Suzigan, S., Gois Filho, J.F., Fukuyama, E.E., Ribeiro, P.R. (2002) Does trisomy 7 occur in a particular cell type in the thyroid? *Cancer Genet Cytogenet* 132:77-78.
- Corvi, R., Martinez-Alfaro, M., Harach, H.R., Zini, M., Papotti, M., Romeo, G. (2001) Frequent RET rearrangements in thyroid papillary microcarcinoma detected by interphase fluorescence in situ hybridization. *Lab Invest* 81:1639-1645.
- Eng, C. and Mulligan, L.M. (1997) Mutations of the RET proto-oncogene in the multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes, related sporadic tumours, and hirsched disease. *Hum Mutat* 9:97-109.
- Eng, C., Thomas, G.A., Neuberger, D.S., Mulligan, L.M., Healey, C.S., Houghton, C., Frilling, A., Raue, F., Williams, E.D. and Ponder, B.A. (1998) Mutation of the RET proto-oncogene is correlated with RET immunostaining in subpopulations of cells in sporadic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 83:4310-4313.
- Ferraris, A.M., Mangerini, R., Gaetani, G.F., Romei, C., Pinchera, A., Pacini, F. (1997) Polyclonal origin of medullary carcinoma of the thyroid in multiple endocrine neoplasia type 2. *Hum Genet* 99:202-205.
- Fink, M., Weinhäusel, A., Niederle, B. and Haas, O.A. (1996) Distinction between sporadic and hereditary medullary thyroid carcinoma (MTC) by mutation analysis of the RET proto-oncogene. „Study Group Multiple Endocrine Neoplasia Austria (SMENA)“. *Int J Cancer* 69:312-316.
- Gama, N.B., Gama, R., Thome, J.A. and Tajara, E.H. (1991) Cytogenetic analysis of a multinodular thyroid goiter. *Cancer Genet Cytogenet* 55:73-77.
- Gillespie, J.W., Nasir, A., Kaiser, H.E. (2000) Loss of heterozygosity in papillary and follicular thyroid carcinoma: a mini review. *In Vivo* 14:139-140.
- Gimm, O. (2001) Thyroid cancer. *Cancer Lett* 163:143-156.
- Grebe, S.K., McIver, B., Hay, I.D., Wu, P.S., Maciel, L.M., Drabkin, H.A., Goellner, J.R., Grant, C.S., Jenkins, R.B. and Eberhardt, N.L. (1997) Frequent loss of heterozygosity on chromosomes 3p and 17p without VHL or p53 mutations suggests involvement of unidentified tumor suppressor genes in follicular thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3684-3691.
- Hemmer, S., Wasenius, V.M., Knuutila, S., Franssila, K. and Joensuu, H. (1999) DNA copy number changes in thyroid carcinoma. *Am J Pathol* 154:1539-1547.
- Herrmann, M.A., Hay, I.D., Bartelt, D.H.J., Ritland, S.R., Dahl, R.J., Grant, C.S. and Jenkins, R.B. (1991) Cytogenetic and molecular genetic studies of follicular and papillary thyroid cancers. *J Clin Invest* 88:1596-1604.
- Herrmann, M.E. and Lalley, P.A. (1992) Significance of trisomy 7 in thyroid tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 62:144-149.
- Ito, T., Seyama, T., Iwamoto, K.S., Hayashi, T., Mizuno, T., Tsuyama, N., Dohi, K., Nakamura, N., Akiyama, M. (1993) In vitro irradiation is able to cause RET oncogene rearrangement. *Cancer Res* 53:2940-2943.
- Kadota, M., Tamaki, Y., Sakita, I., Komoike, Y., Miyazaki, M., Ooka, M., Masuda, N., Fujiwara, Y., Ohnishi, T., Tomita, N., Sekimoto, M., Ohue, M., Ikeda, T., Kobayashi, T., Horii, A. and Monden, M. (2000) Identification of a 7-cM region of frequent allelic loss on chromosome band 16p13.3 that is specifically associated with anaplastic thyroid carcinoma. *Oncol Rep* 7:529-533.
- Kitamura, Y., Shimizu, K., Ito, K., Tanaka, S. and Emi, M. (2001) Allelotyping of follicular thyroid carcinoma: frequent allelic losses in chromosome arms 7q, 11p, and 22q. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4268-4272.
- Kitamura, Y., Shimizu, K., Tanaka, S., Ito, K. and Emi, M. (2000a) Allelotyping of anaplastic thyroid carcinoma: frequent allelic losses on 1q, 9p, 11, 17, 19p, and 22q. *Genes Chromosomes Cancer* 27:244-251.
- Kitamura, Y., Shimizu, K., Tanaka, S., Ito, K. and Emi, M. (2000b) Association of allelic loss on 1q, 4p, 7q, 9p, 9q, and 16q with postoperative death in papillary thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res* 6:1819-1825.
- Kjellman, P., Lagercrantz, S., Hoog, A., Wallin, G., Larsson, C., Zedenius, J. (2001) Gain of 1q and loss of 9q21.3-q32 are associated with a less favorable prognosis in papillary thyroid carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 32:43-49.
- Klugbauer, S., Pfeiffer, P., Gassenhuber, H., Beimfohr, C., Rabes, H.M. (2001) RET rearrangements in radiation-induced papillary thyroid carcinomas: high prevalence of topoisomerase I sites at breakpoints and microhomology-mediated end joining in ELE1 and RET chimeric genes. *Genomics* 73:149-160.
- Kroll, T.G., Sarraf, P., Pecciarini, L., Chen, C.J., Mueller, E., Spiegelman, B.M., Fletcher, J.A. (2000) PAX8-PPARGgamma1 fusion in oncogene human thyroid carcinoma. *Science* 289:1357-1360.
- Learoyd, D.L., Messina, M., Zedenius, J., Robinson, B.G. (2000) Molecular genetics of thyroid tumors and surgical decision-making. *World J Surg* 24:923-933.
- Manenti, G., Pilotti, S., Re, F.C., Della Porta, G. and Pierotti, M.A. (1994) Selective activation of ras oncogenes in follicular and undifferentiated thyroid carcinomas. *Eur J Cancer* 30A:987-993.
- Matsuo, K., Friedman, E., Gejman, P.V. and Fagin, J.A. (1993) The thyrotropin receptor (TSH-R) is not an oncogene for thyroid tumors: structural studies of the TSH-R and the alpha-subunit of Gs in human thyroid neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1446-1451.

- Michiels, F.M., Chappuis, S., Caillou, B., Pasini, A., Talbot, M., Monier, R., Lenoir, G.M., Feunteun, J. and Billaud, M. (1997) Development of medullary thyroid carcinoma in transgenic mice expressing the RET protooncogene altered by a multiple endocrine neoplasia type 2A mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:3330-3335.
- Mizuno, T., Iwamoto, K.S., Kyoizumi, S., Nagamura, H., Shinohara, T., Koyama, K., Seyama, T., Hamatani, K. (2000) Preferential induction of RET/PTC1 rearrangement by X-ray irradiation. *Oncogene* 19:438-443.
- Moretti, F., Nanni, S., Pontecorvi, A. (2000) Molecular pathogenesis of thyroid nodules and cancer. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 14:517-539.
- Namba, H., Matsuo, K. and Fagin, J.A. (1990) Clonal composition of benign and malignant human thyroid tumors. *J Clin Invest* 86:120-125.
- Nikiforov, Y.E., Nikiforova, M.N., Gnepp, D.R., Fagin, J.A. (1996) Prevalence of mutations of ras and p53 in benign and malignant thyroid tumors from children exposed to radiation after the Chernobyl nuclear accident. *Oncogene* 13:687-693.
- Nikiforova, M.N., Stringer, J.R., Blough, R., Medvedovic, M., Fagin, J.A., Nikiforov, Y.E. (2000) Proximity of chromosomal loci that participate in radiation-induced rearrangements in human cells. *Science* 290:138-141.
- Pacini, F., Elisei, R., Romei, C., Pinchera, A. (2000) RET proto-oncogene mutations in thyroid carcinomas: clinical relevance. *J Endocrinol Invest* 23:328-338.
- Pierotti, M.A., Bongarzone, I., Borello, M.G., Greco, A., Pilotti, S., Sozzi, G. (1996) Cytogenetics and molecular genetics of carcinomas arising from thyroid epithelial follicular cells. *Genes Chromosomes Cancer* 16:1-4.
- Puzianowska-Kuznicka, M., Krystyniak, A., Madej, A., Cheng, S.Y., Nauman, J. (2002) Functionally Impaired TR Mutants Are Present in Thyroid Papillary Cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1120-1128.
- Rabes, H.M. (2001) Gene rearrangements in radiation-induced thyroid carcinogenesis. *Med Pediatr Oncol* 36:574-582.
- Rabes, H.M., Demidchik, E.P., Sidorow, J.D., Lengfelder, E., Beimfohr, C., Hoelzel, D., Klugbauer, S. (2000) Pattern of radiation-induced RET and NTRK1 rearrangements in 191 post-Chernobyl papillary thyroid carcinomas: biological, phenotypic, and clinical implications. *Clin Cancer Res* 6:1093-1103.
- Romei, C., Elisei, R., Pinchera, A., Ceccherini, I., Molinaro, E., Mancusi, F., Martino, E., Romeo, G. and Pacini, F. (1996) Somatic mutations of the ret protooncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma are not restricted to exon 16 and are associated with tumor recurrence. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1619-1622.
- Schlumberger, M.J. (1998) Medical progress – Papillary and follicular thyroid carcinoma. *N Engl J Med* 338:297-306.
- Smith-Hicks, C.L., Sizer, K.C., Powers, J.F., Tischler, A.S. and Costantini, F. (2000) C-cell hyperplasia, pheochromocytoma and sympathoadrenal malformation in a mouse model of multiple endocrine neoplasia type 2B. *EMBO J* 19:612-622.
- Sozzi, G., Bongarzone, I., Miozzo, M., Cariani, C.T., Mondellini, P., Calderone, C., Pilotti, S., Pierotti, M.A., Della Porta, G. (1992) Cytogenetic and molecular genetic characterization of papillary thyroid carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 5:212-218.
- Suchy, B., Waldmann, V., Klugbauer, S. and Rabes, H.M. (1998) Absence of RAS and p53 mutations in thyroid carcinomas of children after Chernobyl in contrast to adult thyroid tumours. *Br J Cancer* 77:952-955.
- Taruscio, D., Carcangiu, M.L., Ried, T., Ward, D.C. (1994) Numerical chromosomal aberrations in thyroid tumors detected by double fluorescence in situ hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 9:180-185.
- Vecchio, G., Santoro, M. (2000) Oncogenes and thyroid cancer. *Clin Chem Lab Med* 38:113-116.
- Waldmann, V. and Rabes, H.M. (1997) Absence of G(s)alpha gene mutations in childhood thyroid tumors after Chernobyl in contrast to sporadic adult thyroid neoplasia. *Cancer Res* 57:2358-2361.
- Yang, T., Namba, H., Hara, T., Takamura, N., Nagayama, Y., Fukata, S., Ishikawa, N., Kuma, K., Ito, K. and Yamashita, S. (1997) p53 induced by ionizing radiation mediates DNA end-jointing activity, but not apoptosis of thyroid cells. *Oncogene* 14:1511-1519.

Korrespondenzadresse:

Univ. Prof. Dr. Oskar A. Haas
 Forschungsinstitut für krebserkrankte Kinder
 Kinderspitalgasse 6
 1090 Wien
 Tel. +43-1-40170-480,
 Fax +43-1-40170-481
 haas@ccri.univie.ac.at