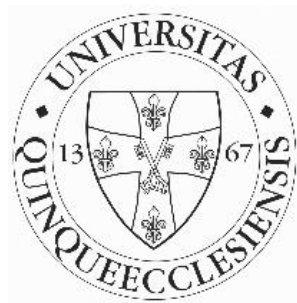


Embryonális eredetű vesetumorok molekuláris pathológiája

Doktori (PhD) értekezés

Szerző: dr. Bányai Daniel

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ
Urológiai Klinika



Pécs, 2019

Doktori iskolavezetője: Prof. Dr. Kovács L. Gábor

Programvezető: Prof. Dr. Pajor László

Témavezető: Prof. Dr. Kovács Gyula

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4
1.1. Cohnheim hipotézis	6
1.2. A vese fejlődése	8
1.3. A leggyakoribb vesetumorok genetikai osztályozása	13
1.4. A vese daganatok beosztása (WHO classification, 2016).....	13
1.5. Leggyakoribb embryonális eredetű tumorkok.....	15
1.5.1. Wilms tumor.....	15
1.5.2. Metanefrogén adenoma.....	16
1.5.3. Mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma.....	18
1.5.4. Papilláris vese tumor.....	19
1.6. Differenciális diagnoszis.....	21
2. Kérdés felvetése.....	22
3. Anyag és módszer.....	23
3.1. Vizsgálati anyag.....	23
3.2. DNS kivonása.....	24
3.3. Mikroszatellita vizsgálat	24
3.4. Array CGH.....	24
3.8. Tissue microarray.....	25
3.9. Immunhisztológia.....	26
4. Eredmények.....	27
4.1. Wilms tumor	27
4.1.1. Wilms tumor és nefrogén rest szövettani képe.....	27
4.1.2. Wilms tumor és nefrogén maradvány immunhisztológiája.....	30
4.2. Metanefrogén adenoma.....	33
4.2.1. Metanefrogén adenoma szövettani képe és változatai.....	33
4.2.2. Metanefrogén adenoma immunhisztológiai vizsgálata.....	34
4.3. Mucinózus és tubuláris orsósejtes karcinóma.....	36
4.3.1. A tumorkok és pre-neoplasztikus léziók szövettani változatossága.....	36
4.3.2. Mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma diagnosztikus értékű DNS elváltozásai.....	38

4.3.3. Mucinosus tubuláris és orsósejtes karcinóma immunhisztológiája.....	39
4.4. Papilláris vese tumor.....	40
4.4.1. Pre-neoplasztikus léziók és papilláris vesetumor társulása	40
4.4.2. Szövetteni heterogenitás.....	42
4.4.5. Papilláris vesetumor immunhisztológiája.....	43
5. Megbeszélés.....	44
5.1. Wilms tumor.....	44
5.2. Metanefrogén adenoma.....	45
5.3. Mucinosus tubuláris és orsósejtes karcinóma.....	45
5.4. Papilláris vese tumor.....	48
5.5. Az embrionális eredetű vesetumorok differenciáldiagnózisa.....	49
5.6. Prékurzor léziók.....	53
5.7. Hypotézis az embryonális vesetumorok kialakulására.....	56
6. Következtetések.....	58
7. Irodalom jegyzék.....	59
8. Közlemények.....	66
8.1. A témához kapcsolódó közlemények.....	66
8.2. A témához nem kapcsolódó közlemények.....	67
9. Köszönetnyilvánítás.....	69

Rövidítések

aCGH	array CGH
Array CGH	DNS alapú összehasonlító genomikus hibridizáció
CAKUT	congenital anomalies of the kidney and urinary tract
CDC	collecting duct carcinoma
CGH	comparative genomic hybridisation
CMM	cap metanephric mesenchyme
CSB	comma-shaped body
CCSK	clear cell sarcoma of the kidney
FFPE	formalinban fixált és paraffinba ágyazott
IL-NR	intralobuláris nefrogén maradvány
ISUP	International Society of Urological Pathology
kCGH	kromoszomális CGH
KRO	kromoszóma vizsgálat
MA	metanephrogen adenóma
MET	mesenchymális-epitheliális tranzíció
MM	metanefrogén mesenchyma
MS	PCR-alapú mikroszatellita analízis
MTSCC	mucinous tubular and spindle cell carcinoma mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma
NR	nephrogenic rest

PA	pretubuláris aggregát
PCR	polimerase chain reaction
PL-NR	perilobuláris nefrogén maradvány
PNL	pre-neoplasztikus lézió
PRCA	papilláris vesesejtes adenoma
PRCC	papilláris vesesejtes karcinóma
RTK	rhabdoid tumour of the kidney
RV	renális vezikula
SM	stromális mesenchyma
SSB	S-shaped body
SSCP	egyszálú DNS Konformációs Polimorfizmus
TMA	tissue microarray
UB	uréter bimbó
WT	Wilms tumor

1.Bevezetés

1.1. Cohnheim hipotézis



1.ábra. Julius Cohnheim, a kísérletes patológia megalapítója

Cohnheim (1. ábra) 1882-ben állította fel mindmáig érvényes hipotézisét: “Die Hauptsache ist und bleibt immer, dass es ein Fehler, eine Unregelmässigkeit der embryonalen Anlage ist in der die eigentliche Ursache der späteren Geschwulst gesucht werden muss. Aber was wir als angeboren verlangen, ist ja nicht die Geschwulst, sondern lediglich die Anlage dazu, d.h. nach der von uns proponierten Formulierung die Existenz desjenigen über das physiologische Mass hinaus produzierten Zellenquantum, aus dem eine Geschwulst sich entwickeln kann“. Azaz olyan embrionális sejtekből,

amelyek nem vesznek részt a normál szövetek képzésében, a későbbiek során tumor alakulhat ki. Ez nem azt jelenti, hogy az újszülöttek tumorra jönnek a világra, hanem egy „Anlage”, azaz a szövetek-szervek kialakulásához főlegben termelt sejtek csoportja az, amelyből később tumor fejlődése indulhat ki (Cohnheim, 1882).

A vese fejlődése egy rendkívül összetett molekuláris biológiai folyamat, amelyben számos jelátviteli rendszer vesz részt. Ezeknek az időbeli és térbeli kifejeződése, a fehérjék szöveti gradiensének változása szabályozza a nefron kialakulását, és az ezt felépítő mintegy 25, működésében és citológiai megjelenésében különböző sejt kialakulását (Little, 2015). Figyelembe véve a sejtek proliferációját és differenciálódását szabályozó jelátviteli rendszerek finoman összehangolt kölcsönhatását, nem meglepetés, hogy bármelyik gén időbeli és térbeli kifejeződésében bekövetkező változás felboríthatja az egyensúlyt, elősegítheti a sejtek proliferációját, gátolhatja a sejtek differenciálódását, vagy fordítva.

A differenciálódási zavar egyik következménye lehet a vese veleszületett rendellenessége, az úgynevezett CAKUT (congenital anomalies of the kidney and urinary tract). Nem véletlen, hogy a vesebetegségben szenvedő gyerekek 40%-ában CAKUT fordul elő (Vivante és mtsai, 2014). Összefüggés lehet a vese működési zavarai és a tumormegelőző állapotok között is, ami a vesefejlődési zavarok összetettségére utalhat. Például a Denys-Drash tünetcsoportban glomerulopátia, veseelégtelenség, és ehhez társulva Wilms-tumor fordul elő (Woolf és Winyard, 2002).

Másik gyakori következménye a vese fejlődése zavarainak a gyermekkori tumorok, mint pl. a Wilms tumor (WT), a clear cell sarcoma of the kidney (CCSK), vagy a rhabdoid tumour of the kidney (RTK) kiindulása. A WT már hosszabb ideje elfogadott modell a tumorok embryonális maradvány sejtekből való kiindulásának vizsgálatára. A maradvány embryonális sejtek és sejtcsoportok -amelyek nem vesznek részt a vese végső formájának kialakításában, és nem, vagy csak részben differenciálódtak, azaz úgynevezett nefrogén maradványok (nephrogenic rest, NR) - és a WT tumor közötti összefüggés az irodalomban jól dokumentált (Beckwith és mtsai 1990, Rivera és Haber, 2005).

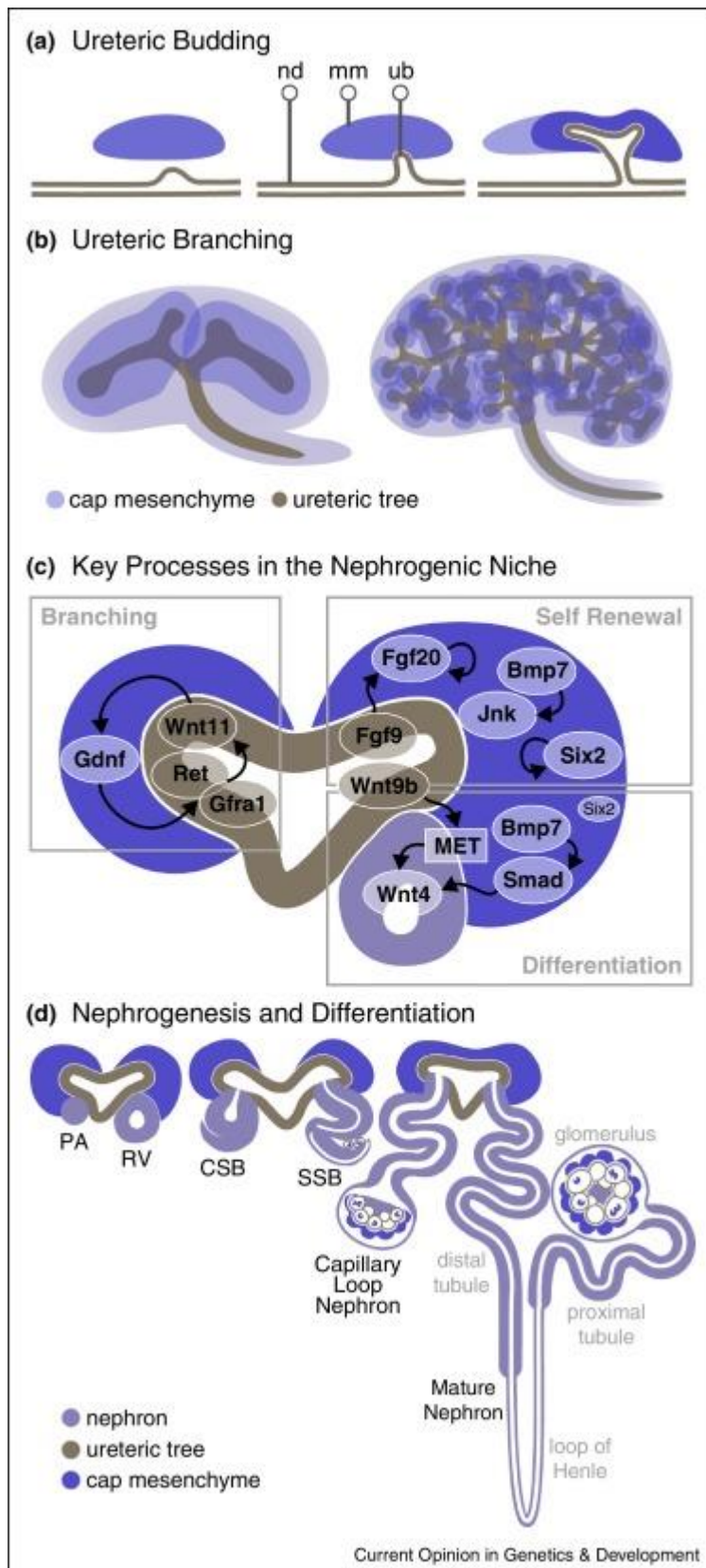
Csaknem 25 évvel ezelőtt történt már utalás arra, hogy a felnőttkori papilláris vesetumor is nagy valószínűséggel az élet folyamán fennmaradó embryonális maradványokból indul ki (Kovacs 1993). A doktori tézis kidolgozása során elvégzett részletes szövettani vizsgálatok egy másik felnőttkori daganathoz, a mucinózus, tubuláris és orsósejtes karcinómához (mucinous tubulary and spindle cell carcinoma,

MTSCC) társuló embrionális maradványhoz hasonló elváltozásokat mutattak ki (Banyai és mtsai, 2017). Ezek az adatok arra utalnak, hogy a vese embrionális fejlődésében bekövetkezett differenciálódási zavar nem csak gyermekkori tumorok, hanem felnőtt korban előforduló tumorok kialakulásában is szerepet játszhat. Ezen tumorok molekuláris biológiai alapjának jobb megértésére szükség van a normál vese kifejlődésében szerepet játszó gének, jelátviteli rendszerek és differenciálódási folyamatok ismeretére.

1.2. A vese fejlődése

Az elmúlt években egyre nagyobb számú gént azonosítottak, amelyek a vese embrionális fejlődését szabályozzák. Bár a legtöbb megfigyelés egér modelleken történt, az eredmények legnagyobb része általános érvényű az összes emlősre. A metanefrogén mesenchyma (MM), az uréter bimbó (UB) epitheliális sejtjei, valamint a stróma közötti kölcsönhatást szabályozó összetett molekuláris mechanizmusokról egyre több ismeretünk van. Az alábbiakban csak azokat említem, amelyeknek valószínűleg szerepe van a tézisben vizsgált tumorok kialakulásában. Úgy gondolom, hogy a különböző megjelenésű és működésű vesesejtek kialakulását szabályozó molekuláris mechanizmusok áttekintése segíthet az embrionális eredetű vesetumorok kialakulásának, szöveti és növekedési jellegzetességének jobb megértéséhez.

A felnőttkori vese egyénenként változó számú, mintegy 200 ezer és 2 millió közötti számú nefronból áll (Puelles és mtsai, 2011). A glomerulus mellett a vese tubulusok különböző működésű és szöveti szerkezetű szakaszokra oszthatóak, mint a proximális kanyarulatos- és egyenes csatornák, a Henle-kacs, a juxtaglomeruláris sejtek, a disztális egyenes- és kanyarulatos csatorna, az összekötő csatorna és a kivezető csatorna. Ezek mind egy szigorúan szervezett működésű strómába ágyazódnak. A nefron - a kivezető csatorna kivételével - az MM sejtjeiből alakul ki ugyanúgy, mint a vese stróma, a myofibroblasztok és endotheliális sejtek. A több százertől több mint egymillióig terjedő számú nefron képződését eredményező, nagyszámú gén által összehangolt bonyolult biológiai folyamat során, mint minden hasonló folyamat során, számos hiba történhet és történik is.



2. Ábra. Az embrionális vese fejlődésében szerepet játszó gének és ezek kölcsönhatására kialakult szöveti formák (Little, 2015). A magyarázatot alábbi bekezdésekben adom meg.

Mind a nefron, mind a vese stróma nem polarizált mezodermális sejtekből ered, amelyek differenciálódását az UB, valamint az MM közötti kölcsönös szignál indítja el (Costantini és Kopan, 2010; Dressler, 2006). Az uréter bimbó kialakulásához szükséges, hogy az MM-ben a *GDNF*, a nefrogén duktusban pedig a *GDNF* receptora, az *RET* gén egyidejűleg kifejeződjön. A kölcsönhatás eredménye az UB dichotóm elágazódása és az MM sejteinek tömörödése (Dressler, 2006). Az UB az MM-hez közeli részén kifejezi a *WNT11* gént is, amely a *GDNF* folyamatos kifejeződését biztosítja (Chi és mtsai, 2009; Georgas és mtsai, 2009) (2. Ábra b). Az UB által közvetített szignál az MM-et két különböző részre, az uréter bimbó körül tömörödött “cap metanephric mesenchyme”-ra (CMM) és a laza szerkezetben megjelenő stromális mesenchymára (SM) osztja (Mugford és mtsai, 2009). A nefron a CMM-ből indul ki, amely tulajdonképpen az ún. “stem cell niche”-nek, azaz őssejt rezervoárnak felel meg (Kobayashi és mtsai, 2008). Az SM pedig az erek, a különböző stromasejtek progenitorait tartalmazza.

A CMM, azaz a “stem cell niche” fokozott, de szabályozott proliferációja (“self renewal”) biztosítja a további nefronok kialakulásához szükséges pluripotens sejthalmazt. A CMM, vagyis a pretubuláris aggregát (PA) mesenchymális-epitheliális tranzícióját (MET) két ellenkező hatású szignál szabályozza: az egyik a pluripotens sejtek szaporodását, míg a másik az epitheliális sejtek differenciálódást segíti elő (2. ábra c). Az őssejt állapot fenntartását a *SIX2* gén folyamatos kifejeződése szabályozza. A *SIX2* expresszió csendesítése esetén a pluripotens blastémális sejtek elhagyják az őssejt niche-t, és a *WNT9* expressziójától függően MET útján differenciálódnak (Self és mtsai, 2006; Kobayashi és mtsai, 2008).

A következő lépésben a PA szolid formában növekvő sejtejei a nem kanonikus *WNT4* szignál hatására kialakítják a renális vezikulumot (RV) (Little, McMahon, 2012), (2. ábra d). Az RV azonnal disztális és proximális gén expressziós doménre osztódik, és a disztális régió a legközelebbi UB végével fuzionál (Nakai és mtsai 2003; Kobayashi és mtsai, 2005; Georgas és mtsai, 2009, Mugford és mtsai, 2009). Az *Lhx1*, valamint *Pou3f3* gének a disztális régióban, a *Wtl* gén pedig kizárólag a proximális doménben fejeződik ki. A *Notch 2* kifejeződése fontos a proximális nefron, azaz a podociták és a proximális tubulus kialakulásához (Cheng és mtsai, 2007), míg az *Lhx1* a disztális domén differenciálódását szabályozza (Kobayashi és mtsai 2005). Ebben a fázisban a

különböző nefron szegmentek és sejtípusok kialakulásához számos gén kölcsönhatása szükséges, amelyek közül talán a legfontosabb a Notch. A Notch expresszió hiányában ugyan a CMM és az UB kölcsönhatása működik, a MET is megtörténik, és a PA-ból kialakul az RV, de nem jön létre egy szegmentált S-shaped body (SSB). Az így képződött nefronokból hiányzik az egész proximális domén, azaz a proximális tubulus, a Bowman kapszula epitheliális sejtjei és a glomerulus (Cheng és mtsai. 2007). Itt érdemes megjegyezni, hogy a Bowman kapszula CD24 és CD133 pozitív sejtjei felnőtt korban képesek podocalyxin pozitív podocitává differenciálódni, és a glomerulusba vándorolni (Appel és mtsai, 2009; Ronconi és mtsai, 2009). Ez arra utal, hogy a CMM eredetű sejtek felnőtt korban is megőrzik a plaszticitásukat és képesek a podociták regenerációjára.

Normál körülmények közt az RV sejtproliferációja a comma-shaped body (CSB), majd SSB kialakulásához vezet. Ebben a folyamatban további új domének jelennek meg. Például a *Pou3f3* az SSB disztális és középső régióiban fejeződik ki, és jelentős szerepe van a Henle-kacs kialakulásában (Nakai és mtsai, 2003). Az elongáció, a szegmentáció és a patterning alatt különböző működésű domének alakulnak ki, mint a vaszkularizált glomerulus, a proximális tubulus, a Henle-kacs, a disztális tubulus és az összekötő tubulus (connecting tubules).

A nefron szegmentálódása során az *Lgr5* gén hatására a mediális SSB sejtjeinek klonális proliferációja a Henle kacs kialakulásához vezet (Barker és mtsai, 2012). Xenopuson végzett kísérletek arra utaltak, hogy az intermedier tubulus kialakulásához, amelynek a sejtjeiből a Henle kacs alakul ki, az Iroquois 3 (*Irx3*) kifejeződésére is szükség van (Reggiani és mtsai, 2007). A *Brn1* (*Pou3f3*) az SSB disztális- és középső régiójában fejeződik ki, és jelentős szerepe van a normál Henle-kacs kifejlődésében (Nakai és mtsai, 2003). *Brn1* génre deficiens egérben a Henle-kacsok száma csökken, és a sejtek kifejezett apoptózisa figyelhető meg (Nakai és mtsai 2003).

A vese gyűjtőcsatornarendszer az ureterogen epithelből alakul ki. A vese medulla morfogenezise során kifejeződő gének hatására a gyűjtőcsatorna sejtjei különböző működésű sejtekre differenciálódnak, amelyek a víz reabszorpcióját, valamint a sav-bázis egyensúlyt szabályozzák. A sejtek többségét kitevő principális sejtek *AQP2*-t fejeznek ki. Az *FOXII* kifejeződésének hatására a principális sejtek egy részéből bipotenciális interkaláris sejtek, azaz alfa és béta interkaláris sejtek alakulnak ki (Blomquist és mtsai 2004). A kivezető cső végső differenciálódása során elkülönülnek a

kizárólag csak kivezető csatornában előforduló *AQP2* pozitív víz reabszorbeáló sejtek és az uroplakin pozitív víz impermeábilis urotheliális sejtek, amelyek a vesemedencét és az urétert bélelik.

A fent említett gének finoman összehangolt működése mellett az extracelluláris mátrixnak is jelentős szerepe van a vese szerkezetének és működésének kialakulásában. A stromális mesenchyma (SM) már korai fázisban kifejezi a *BF-2* transzkripciós faktort (Hatini és mtsai, 1996). A *BF-2* legelőször a laza szerkezetű SM sejtszövetekben fejeződik ki, majd később a vese stróma sejtszövetekben - a vese medullát is beleértve - figyelhető meg. Hasonló módon az *RARA* és az *RARB2* gének kizárólag a stromális sejtszövetekben figyelhetők meg, és szerepük van az UB dichotómias elágazódásában (Mendelsohn, 1999)

A tyrosin-kináz *MET* receptor az embrionális vesefejlődés során elsősorban az UB sejtszövetekben, míg a *MET* ligandja, a hepatocyták növekedési faktora (*HGF*) a mesenchymális sejtszövetekben fejeződik ki (Davis, 2001). A *HGF/MET* szignál átvitelnek jelentős szerepe van a sejtszétválásban, a morfogenezisben és a sejtek mozgásában. A vesében a *MET/HGF* parakrin szignál a Mesenchyma-Epithelium-Transziccióban (MET) és a tubuláris rendszer sejtszöveteinek kialakulásában tölt be fontos szerepet. A két gén idő- és térbeli kifejeződésének zavara az embrionális vese morfogenezisének és a sejtszövet differenciálódásának a zavarához, így például nefrogén maradványok (NR) és WT kialakulásához vezethet. A WT-k 54%-ában, illetve az NR-ek 22%-ában a *MET* receptor fokozott kifejeződését figyelték meg (Vuononvirta és mtsai, 2009; Alami és mtsai, 2002).

A *HNF1B*, vagy más néven *TCF2* transzkripciós faktornak fontos szerepe van az uréter bimbó elágazásában, a nefron kialakulás kezdeményezésében és a szegment specifikus differenciálódás meghatározásában (Massa és mtsai, 2013). A *Hnf1b* kondicionális inaktiválása egerekben abortív nefron kialakulásához vezet, amely a glomerulusból és a kivezető csatornákból, valamint az ezeket összekötő rövid disztális tubulusból áll (Heliot és mtsai, 2013). Ugyan az RV kialakul, de nem fejlődik ki egy normál szegmentálást mutató SSB. A *Hnf1b* domináns negatív konstrukció fokozott kifejeződése *Xenopus* embrióban a proximális és intermediális SSB markerek csendesítéséhez vezet (Wild és mtsai, 2000).

1.3. A vesetumorokban előforduló leggyakoribb kromoszóma- és gén eltérések

A genetikai elváltozások alapján való osztályozás előnye, hogy a tumorspecifikus genotípus állandó, például egy kromoszóma elvesztését a tumor nem tudja visszanyerni, és így ez a progressziója során is a tumor jellemzője marad. A fenotípus, mint például világos sejtek, eosinophil sejtek, kis- és nagy sejtek, a tumorok progressziója során dinamikusan változhatnak. A vesesejtes daganatok „Heidelbergi Klasszifikációja” a legfőbb daganattípusokra jellemző specifikus genomikus eltérések kimutatásán alapszik, amely egymást átfedő szövettani megjelenésű tumorok esetében is egyértelmű diagnózishoz vezet (Kovács és mtsai, 1997). Például a szarkomatózus veserák nem képvisel egy külön entitást, mert mind a konvencionális, papilláris, mind a kromofób veserákból kiindulhat, de megtartja a kiindulási tumorra jellemző genetikai elváltozásokat is.

Tumor	Genetikai változások	Génmutáció
Konvencionális vese rák	-3p, +5q -8p, -9p,-14q,	<i>VHL, PBRM1</i>
Papilláris vese tumor*	-Y, +7, +17, +8, +12, +16,+20,+1q	<i>MET</i>
Kromofób vese rák	-1, -2, -6, -10, -13, -17, -21,	<i>P53</i>
Szarkomatózus vese rák	mint cRCC, pRCC, chRCC	
Kivezető csatorna rák	?	?
Vese onkocitóma	-1, -14, t(11q13;?), véletlenszerű	?
Loopoma	- 1, -4, -6, -9, -13, -14, -15, -18, -22	?
Metanephrogen adenoma	nincs	?

*A papilláris vese rák és az adenoma elkülönítésére egy közleményben már korábban kidolgoztunk egy javaslatot (Banyai és mtsai, 2018).

1.4. A vesedaganatok beosztása (WHO Klasszifikáció, 2016, Moch és mtsai)

A vese gyakoribb tumorait - amelyek az összes vesetumor több, mint 95%-át teszik ki - a WHO alapján véve a Heidelbergi Klasszifikáció alapján osztályozza, és azt kiegészítették újabban leírt, rendkívül ritkán előforduló daganatok katalógusával. Bár a Heidelbergi Klasszifikáció a konvencionális veserák kifejezést ajánlotta (amely lefedi mind a világos sejtes, mind az eozinofil-granulár sejtes, mind a kevert sejtes tumorokat,

amelyeket a kromoszóma 3p deléciója és VHL gén elváltozása jellemez), a főként amerikai patológusok által irányított WHO csoport visszahozta a világos sejtes vese sejtes karcinóma fogalmát, amely sok esetben nem felel meg a szövettani képnek. A Bellini duktust és a medulláris karcinómát külön entitásként jelöli a csoport, , annak ellenére, hogy sokan ugyanazon tumor változatának tartják. Jelentős elméleti és gyakorlati hibája a WHO osztályozásnak, hogy a papilláris veserákot és papilláris vese adenómát a tumor mérete alapján különíti el. A 15 mm átmérőjű papilláris vese tumort adenómának, míg a 16 mm átmérőjűt már karcinómának nevezik.

Vese sejtes tumorok (kivonat)

Világos sejtes vese sejtes karcinóma

Papilláris vese sejtes karcinóma

Kromofób vese sejtes karcinóma

Kivezető csatorna karcinóma

Vese medulláris karcinóma

Mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma

Papilláris adenóma

Onkocitóma

Metanephrogen tumorok

Metanephrogen adenoma

Metanephrogen adenofibróma

Nefroblasztikus tumorok (főként gyermekkori előfordulás)

Nefrogén maradványok

Nefroblastóma (Wilms tumor)

A fent említett embrionális eredetű tumorok, mint a nefroblasztóma (Wilms tumor, WT), metanephrogen adenóma (MA), mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma (MTSCC) és papilláris vesesejtes adenoma (PRCA) és karcinóma (PRCC) időnként megfigyelt hasonló szöveti megjelenésük miatt differenciális diagnosztikai nehézséget jelenthetnek.

1.5. Leggyakoribb embrionális eredetű tumorok

1.5.1. Wilms tumor (nefroblasztóma)

“Nephroblastoma is a malignant embryonal neoplasm derived from nephrogenic blastemal cells.” (WHO,2016).

A Wilms tumor (WT) egy ritka előfordulású gyermekkori vese tumor, 8000 gyermekre egy WT előfordulását figyelték meg. Egyforma gyakorisággal fordul elő mindkét nemben. A kórismézés idején a fiúk átlagos életkora 37 hónap, míg a lányoké 43 hónap. Az esetek 98%-át 10 év alatti gyermekekben észlelték, de ritkán felnőtt korban is leírták (Davidoff, 2012).

A WT volt az első vese tumor, amit összefüggésbe hoztak a vese embrionális fejlődésének zavarával. A WT gyakorlatilag megismétli a vese fejlődésének korai fázisát, de nem differenciált, szervezett nefronra jellemző szerkezetet mutat, hanem különböző differenciálódási fokon megállt sejtek és sejtcsoportok rendezetlen formáit. Így találunk éretlen blasztémális sejteket, differenciálatlan alacsony és magas epitheliális sejteket, glomerulus szerű elemeket, és fibroblasta emlékeztető stromális sejteket. Számos esetben sima vagy harántcsíkolt izom is megfigyelhető.

A jellemző trifázisos formában blasztémás, epitheliális és stromális elemek keverednek, amely arra utal, hogy a WT a blasztéma pluripotens sejtjeiből indul ki. A blasztémás formára a primitív kerek vagy ovális sejtek jellemzőek, amelyek a vese fejlődés kezdeti szakaszában látható tömörödött metanefrogén mesenchymára emlékeztetnek. A WT epitheliális elemei a normál vesefejlődés során megfigyelhető RV, CSB és SSB különböző differenciáltságú tubuláris formáira emlékeztetnek. Számos esetben lehet kis, szűk tubuláris képződményeket látni, amelyeket alacsony köbhám bélel. Időnként éretlen glomerulus-szerű elemek is előfordulnak, sőt, egyes tumorokban ezek túlsúlyban lehetnek. Az adott WT-n belül előforduló változatos szövettani kép ellenére úgy vélik, hogy a WT monoklonális eredetű, és a különböző szöveti megjelenési formák egy közös pluripotens sejtől fejlődnek ki (Willimas és mtsai 1991; Zhuang és mtsai, 1997; Guertl és mtsai, 2006).

„Nephogenic rests are abnormally persistent foci of embryonal cells that are potentially capable of developing into nephroblastoma”(WHO,2016).

Normál körülmények közt az uréter bimbó és a metanefrogén blasztéma kétoldali induktív szignálja az uréter bimbó elágazásához, valamint a blastémális sejtek tömörödéséhez és epithelizációjához vezet. Patológias körülmények közt a metanefrogén mesenchyma nem válaszol az UB szignálra, és így nem, vagy csak részben differenciálódik. Az így visszamaradt sejtcsoportok a vese végső kialakulása, azaz a terhesség 36 hete után is fennmaradnak. Ezeket a vese tokja alatt néha szabad szemmel is látható, de többnyire mikroszkópos elváltozásokat nephrogen rest-nek (NR) azaz nefrogén maradványoknak nevezzük. A perilobáris nefrogén maradványok (PL-NR) a vese lobulusok szélén, a vese tokja alatt található, és legtöbbször tubulárisan rendeződött epitheliális sejtekből állnak. Ezek legnagyobb része regresszív elváltozáson megy keresztül, helyükön később csak kis fibrotikus heg látható. Egy részükben hiperplastikus sejtproliferáció figyelhető meg, és néhányból WT indulhat ki. Az úgynevezett intralobáris nefrogén maradvány (IL-NR) a nevének megfelelően a vese lobulusokon belül fordul elő, és a blastémális, valamint epitheliális sejteken kívül éretlen strómális elemeket is tartalmaz. A klinikailag észlelt Wilms tumort leggyakrabban PL-NR-ek kísérik (Bove és McAdams, 1976; Beckwith és mtsai, 1990).

1.5.2. Metanefrogén adenoma (MA)

“Metanephric adenoma is a highly cellular epithelial tumour composed of small, uniform, embryonic-looking cells” (WHO, 2016)

Az MA többnyire egyforma szűk tubulusokból áll, amelyeket kevés cytoplazmával rendelkező, sötétén festődő sejtek bélelnek. Helyenként tubulopapilláris növekedés és glomerulushoz hasonló szöveti formák, valamint a papilláris vesetumorra jellemző papilláris növekedés és psammoma test is előfordulhat (Jones és mtsai, 1995; Banyai és mtsai, 2017).

A metanefrogén adenóma egy ritkán előforduló jóindulatú vesetumor, eddig alig több, mint 100 esetet közöltek, de a valós előfordulása nem ismert. Az MA a felnőttkor tumora, az érintettek átlagos életkora 50 év körül van, de előfordulhat gyermekekben is

(Bruder et al. 2004). Nőkben kétszer-háromszor gyakrabban alakul ki (Jones és mtsai, 1995; Davis és mtsai, 1995). Néhány esetben szarkomatoid átalakulást és nyirokcsomó áttétet is leírtak (Renshaw és mtsai, 2000; Drut és mtsai, 2001). Ezek az esetek minden valószínűséggel más típusú tumornak felelnek meg, és az ilyen esetek leírása diagnosztikai nehézségre vezethető vissza. A tankönyvi típusos formáktól eltérő MA a papilláris növekedés és psammoma testek előfordulása miatt a papilláris vesetumorról téveszthető össze (Grignon és Eble 1998; Drut és mtsai 2001; Banyai és mtsai, 2017).

Néha hasonló jellegű szövettani kép figyelhető meg WT-ban is, bár többnyire csak a tumor egy részében. Az átfedő szövettani kép miatt felvetették, hogy az MA a WT differenciálódott, jóindulatú formájának felel meg (Henningar és Beckwith 1992; Brisigotti és mtsai. 1992; Gatalica és mtsai 1996). Mások úgy gondolták, hogy a rosszindulatú WT sejteinek későbbi „differenciálódása” vezethet a klinikailag inaktív, azaz jóindulatú MA- hoz (Argani, 2005). A metanefrogén adenóma kialakulása, kapcsolata a megmaradt metanefrogén szövetekkel, a WT-vel és a papilláris vesetumorról az irodalomban jelenleg is vita tárgyát képezi. A jelenlegi beosztások – helyesen - külön entitásként kezelik (Jones és mtsai, 1995; Davis és mtsai, 1995; Drut és mtsai, 2001; Kovacs és mtsai, 1997).

A differenciáldiagnosztikus nehézség megoldására a CD57 immunohisztokémiát javasolták, ami a vizsgálók szerint MA-ban pozitív, míg papilláris vesetumorban negatív, így alkalmas a két szövettani típus elkülönítésére (Muir és mtsai, 2001). Egy legutóbbi tanulmány szerint a CDH17 kimutatása egyértelműen biztosítja az MA diagnózisát (Yakirevich és mtsai, 2015)

Az eddig közölt adatok alapján az MA-ban nincsenek kromoszóma vagy DNS vizsgálattal látható genomikus eltérések (Jones és mtsai, 1995; Gatalica és mtsai, 1996; Tsuji és mtsai 1999; Szponar és mtsai, 2010). Egy esetben leírták a 2-es kromoszóma rövid karjának elvesztését (Stumm és mtsai, 1999) ahol egy tumor szupresszor gén jelenlétét feltételezték. Technikai vagy diagnosztikus nehézségekre utal az az eredmény, amely „MA”-ban FISH vizsgálattal a 7-es és 17-es kromoszóma triszómiáját mutatta ki (Brown és mtsai, 1997). Ez az adat, amennyiben a FISH eredményét elfogadjuk, egyértelműen szövettanilag MA-nak diagnosztizált papilláris vesetumorra utal.

1.5.3. Mucinózus tubuláris és orsósejtes daganat (Mucinous tubular and spindle cell carcinoma, MTSCC)

“Mucinous tubular and spindle cell carcinoma is a renal neoplasm characterized by tubular formations margining with bland spindle cells and a myxoid stroma” (WHO,2016)

Az MTSCC az összes vese tumor jóval kevesebb, mint 1%-át teszi ki. Az érintettek átlag életkora 58 év (13 évtől 81 évig). Az MA-hoz hasonlóan nőkben háromszor gyakrabban fordul elő, mint férfiakban (Shen et al. 2007). A WHO meghatározás tulajdonképpen egy általános szövettani leírásnak felel meg, azaz mucinózus strómába ágyazott tubuláris sejtfarmációk és orsósejtes kötegek. Azonban az MTSCC sok esetben nem felel meg a leírásnak, mert hiányzik a myxoid stróma, és a tubuláris szerkezet mellett megjelenik a papilláris szerkezet, amely nemcsak alacsony, hanem magasabb epitheliális sejtekből is felépülhet. Esetenként fokális habos sejtes infiltráció, psammoma testek és gyulladásoos jelenségek láthatók, olyan szöveti elváltozások, amelyek papilláris vesetumorban viszonylag gyakran fordulnak elő. Ezt a hasonlóságot figyelembe véve az MTSCC-t a papilláris vesetumor (PRCT) szöveti változatának tekintették (Argani és mtsai, 2008; Shen és mtsai, 2007). Az MTSCC metszetekben megfigyelhető szorosan összenyomott párhuzamos tubuláris sejtek leiomyomát vagy leiomyosarcomát is utánozhatnak (Rakozy és mtsai. 2002).

Az utóbbi időben különböző, véletlenszerűen kiválasztott immunhisztológiai markerekkel jellemzett “nem-klasszikus” MTSCC-t írtak le (Alexiev és mtsai 2014; Farghaly 2012). Mivel az MTSCC egyértelmű immunhisztológiai azonosítására nincs megfelelő marker, a közölt esetekben az MTSCC diagnóza kérdéses marad (Reuter és mtsai, 2014; Argani és mtsai, 2008; Zhao és mtsai 2015). Az MTSCC-t a legtöbbször jóindulatú daganatnak tartják, de leírtak differenciálatlan vagy szarkomatoid átalakulást mutató, sőt áttétet adó “MTSCC”-t is (Pillay és mtsai, 2008; Kuroda és mtsai, 2011; Thway és mtsai, 2012; Peckova és mtsai, 2015; Shen és mtsai, 2007; Dhillon és mtsai, 2009). Ezek az esetek arra utalnak, hogy az MTSCC kórismézése nem könnyű, és valószínűleg más típusú tumorok helytelen megítéléséről van szó. A leírt „atípusos” vagy rosszindulatú MTSCC esetekben nem történt meg a jellemző kromoszómális

elváltozások kimutatása, így a diagnózis véleményünk szerint nem kellően alátámasztott.

Kromoszómális CGH (comparative genomic hybridisation) és mikroszatellia vizsgálat segítségével MTSCC-re jellemző, diagnosztikus értékű elváltozást, azaz az 1, 4, 6, 8, 13, 14, 15, 18 és 22 kromoszómák monoszómiáját írták le (Rakozy és mtsai, 2002; Banyai és mtsai, 2017). Szövettanilag kérdéses esetekben a kromoszómális eltérések kimutatása egyértelműen alátámasztja az MTSCC diagnózist. Ezzel kapcsolatban érdekes figyelembe venni egy nemzetközi összefogással összegyűjtött “egyértelműen egységes szövettani szerkezetű MTSCC” sorozat vizsgálatát. A szerzők 11 esetben végeztek sikeres array CGH-t, amelyek közül kettő egyértelműen a papillaris vesetumorra jellemző kromoszómális triszómiát mutatott (Peckova és mtsai, 2015). Ez a közlemény is megerősíti a gyanúkat, hogy a közölt “nem-klasszikus” és rosszindulatú átalakulást mutató “MTSCC” mögött valószínűleg más tumor típus húzódik meg.

A MTSCC eredetéről ellentétesek a vélemények. Egyes szerzők szerint a daganat a Henle-kacsából fejlődik ki, amit a tumor és a Henle kacs sejteinek hasonló elektron mikroszkópos képére alapoztak (Srigley és mtsai, 2002). Más szerzők a disztális kanyarulat csatornából vezetik le (Rakozy et al. 2002). Az MTSCC-hez társuló mikroszkópos méretű tubularis papillaris léziók előfordulása a tumor embryonalis eredetére utal (Banyai és mtsai, 2017).

1.5.4. Papillaris vese tumor

“Papillary adenomas are uncapsulated tumours with papillary or tubular architecture of low grade (ISUP) and a diameter <15 mm” (WHO, 2016).

“Papillary renal cell carcinoma is a malignant tumour derived from renal tubular epithelium. It has papillary or tubulopapillary architecture”. (WHO, 2016)

A papillaris vesetumor (beleértve az adenomát és karcinómát) az összes klinikailag észlelt vesetumor 8-10%-át teszi ki. Bár a vesetumorok egy részében már korábban is leírtak papillaris szövettani szerkezetet, mint tumor entitást sokáig nem ismerték el. Az áttörést a citogenetikai vizsgálatok hozták meg. Ezek alapján azokat a tumorokat

nevezték papilláris vesetumornak, amelyek jellemző kromoszómális elváltozást, azaz a kromoszóma 7, 8, 12, 16, 17 és 20 triszómiáját mutatták (Kovacs és mtsai, 1991). A papilláris vesetumor változó jellegű szövettani képet mutathat, amelyben a kis "kék" sejtektől (amelyeknek rendkívül keskeny cytoplasmája van, szinte csak a haematoxylinnal festődő sejtmag látszik) a magas, többnyire eosinophil epitheliális sejtekig minden átmenet megfigyelhető. Nemcsak a sejt típus, de a növekedési forma is változó, a részben szolid, tubuláris formától a tiszta papilláris megjelenésig terjed. Ez a szöveti változatosság sok esetben okozhat kórismézési nehézséget.

A papilláris vesetumor diagnózisa klinikai szempontból is jelentős. Míg a gyakori konvencionális veserákban szenvedők öt éves túlélése 60% körüli, addig ez a papilláris vesetumrok esetében 90% fölött van. Az utóbbi időben a képalkotó eljárások terjedésével egyre több korai fázisban lévő daganat kerül felismerésre, ami a túlélési statisztikát mindkét tumor típus esetében javítja. Míg a konvencionális veserák kezdettől fogva karcinómának tekinthető, addig a papilláris vesetumor egy adenomakarcinóma fejlődési szekvenciát mutat. A nehézséget az jelenti, hogy a specifikus citogenetikai/DNS elváltozások kimutatásán kívül nincs olyan diagnosztikus eszköz a kezünkben, amellyel az adenomát a karcinómától egyértelműen elkülöníthetnénk. Mai tumor-biológiai szemléletek birtokában nem fogadható el a WHO által javasolt mm-határ a papilláris vesetumrok biológiai-klinikai tulajdonságának megítélésében.

A papilláris veserákban előforduló génelváltozások viszonylag jól ismertek, a kromoszómális eltérések felismerése után több gént azonosítottak, amelyek a tumor keletkezésével összefüggésbe hozhatók. A *MET* tyrozin kináz (kromoszóma 7q21) csírasejtes mutációja öröklődő papilláris vese tumor szindrómával társul (Schmidt és mtsai, 1997). Sajnos a *MET* mutációja a papilláris vesetumrok legnagyobb részét kitevő sporadikus eseteknek csak 5-6%-ban figyelhető meg, így nincs diagnosztikus értéke. A kromoszóma 17 duplikációja a *HNF1B (TCF2)* gén fokozott kifejeződésével jár (Szponar és mtsai, 2011), míg a kromoszóma 12 triszómiájához az *LRRK2* gén fokozott expressziója társul (Looyenga és mtsai, 2011). A papilláris vesetumor férfiakban 6-8-szor gyakrabban fordul elő, mint nőkben, és ezeknek a tumoroknak a 85%-ában az Y kromoszóma vesztese figyelhető meg. Az Y kromoszómán lévő papilláris vesetumor gén még nem ismert.

A papillárisan növő vesetumorer kis részében, különösen fiatalabb korban, az X kromoszóma transzlokációja figyelhető meg az Xp11.2 régió bevonásával. A transzlokációban az X kromoszóma töréspontja állandó, a transzlokációs partner változik, lehet például az 1-es, a 10-es vagy a 17-es kromoszóma. A leggyakrabban megfigyelt transzlokáció az Xp11.2 régió elhelyezkedő *TFE3* gén és az 1q21 régió található *PRCC* gén közt van, de a *TFE3* más génnel is fuzionálhat (Sidhar és mtsai, 1996; Clark és mtsai, 1997). Néha előfordul a transzlokáció mellett a kromoszóma 7 és 17 triszómiája (Meloni és mtsai, 1993), amit a legújabb közlemények már nem említnek.

Az irodalomban egyértelműen dokumentált, hogy a *MET* csírarsejtes mutációjához nemcsak klinikailag észlelt papilláris vesetumor, hanem több ezer embrionális jellegű preneoplasztikus lézió társul (Ornstein et al. 2000). Már korábban is volt utalás a sporadikus papilláris vesetumorer és a hozzájuk társuló preneoplasztikus léziók oki kapcsolatára (Kovacs és mtsai, 1991; Kovacs 1993; Fisher és mtsai, 1998). Ezeket a tényeket a nemzetközi irodalomban mindmáig nem veszik figyelembe, és így patológusok WHO csoportja szerint a papilláris veserák a differenciálódott vese tubulusból indul ki.

1.6. A WT, az MA, az MTSCC és a PRCT szövettani hasonlósága, differenciális diagnosztikája

Az irodalomban jól dokumentált, hogy fenti tumorer egy részében hasonló szövettani formák fordulhatnak elő. A WT kis epitheliális sejtekből álló, szolid- tubuláris, vagy tubuláris-papilláris formája differenciál-diagnosztikai nehézséget okozhat, különösen, ha fiatalokban vagy felnőttr korban fordul elő. A nem "típusos" MA is megjelenhet hasonló formában, és így néha felnőttrkori WT-nek diagnosztizálják. Bár az MTSCC a leírás szerint típusos sejtformációkból áll, amelyek mucinózus strómába vannak ágyazva, sokszor hiányzik a mucinózus stróma, és a szövettani kép is a fentebb leírt szolid-tubuláris-papilláris felépítést mutatja. A PRCT kis sejtes formája gyakran mutat szolid, tubuláris növekedést. Így nem típusos esetekben a négy tumor differenciális diagnózisa nem egyszerű. Bár a genomikus elváltozások egyértelműen elkülönítik az egyes tumorerat, patológusok inkább az immunhisztológiát kedvelik.

2. Kérdés felvetése

Az irodalomban egyértelműen elfogadott, hogy a Wilms' tumor nefrogén maradványokból indul ki, amelyek kialakulása a vese differenciálódási zavarára vezethető vissza.

A metanefrogén adenóma, az MTSCC és a papilláris vesetumor eredete vitatott, eltérő nézetek vannak ezeknek a tumoroknak a különböző vese csatorna szakaszokhoz való hasonlósága és esetleges eredete közt.

Ennek tisztázására megvizsgáltuk

2.1. A Wilms' tumor és kapcsolódó nefrogén maradványok immunhisztológiáját;

2.2. Genomikus DNS vizsgálattal egyértelműen azonosított MA szövettani változatait és ezek immunhisztológiai jellemzőit;

2.3. Genomikus DNS vizsgálattal egyértelműen diagnosztizált MTSCC, valamint az ehhez társuló prekursor léziók immunhisztológiai jellemzőit;

2.4. Genomikus DNS vizsgálattal diagnosztizált sporadikus és *MET*-mutációhoz kötött papilláris vesetumorok és prekursor léziók immunhisztológiai jellemzőit;

2.5. A főtális vesefejlődés során időben és térben kifejeződött géneket.

3. Anyag és módszer

3.1. Vizsgálati anyag

Paraffinba ágyazott WT minták a következő intézetekből származnak: Pathologisches Institut, Medizinische Hochschule Hannover; Pathologisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg; II. számú Patológiai Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest. Az anyagban trifázisos és bifázisos tumorok, valamint tiszta epitheliális és blasztémás típusú tumorok fordulnak elő. A rutin szövettani feldolgozás során makroszkóposan felismerhető nefrogén maradványokat külön paraffin blokkba ágyasztuk.

Az MA szövettani blokkjait a következő intézetekből gyűjtöttük: Pathologisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg; Patológiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem (részben konzíliumba kaptuk).

Az MTSCC eseteket a Pathologisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg és a Pécsi Tudományegyetem Urológiai Klinika Archivumából gyűjtöttük, részben pedig konzíliumba kaptuk. Az egyik betegből az MTSCC miatt eltávolított vese mellett bonctermi anyagként a másik vese is elérhető volt. Részletes feldolgozás során mindkét vesét teljes egészében 47 és 67 paraffin blokkba ágyasztuk. Minden paraffin blokkból egy hematoxilín és eosin festett metszetet készült. A metszetek szövettani vizsgálatát a prekursor léziók keresésére Prof. Kovacs végezte el, majd az általa megjelölt régiókat tanulmányoztam mikroszkóp alatt.

A papilláris vesetumorokat részben a Pathologisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, részben a Pécsi Tudományegyetem Urológiai Klinika Archivumából választottuk ki. Az immunhisztológiai vizsgálatokba bevont 76 PRCT közt 18 eset szolid, vagy szolid-tubuláris növekedésű szövettani megjelenést mutatott.

Fötális vesék abortusz után, illetve az idősebb terhességből származók a fötuszok bonctermi vizsgálata során kerültek kivágásra és beágyazásra. A felnőttkori vese minták a nefrektomia során eltávolított veséből a tumorról ellentétes pólusból lettek kivágva és beágyazva.

A szövetminták gyűjtését és feldolgozását a Ruprecht-Karls-Universität és a PTE ÁOK Etikai Bizottság engedélyének birtokában végeztük el.

3.2. DNS kivonása

Nagy molekulású DNS kivonása a fagyasztott szövetből proteináz K emésztés után fenol/kloroform módszerrel történt. Formalinban fixált és paraffinba ágyazott (FFPE) mintákból DNS kivonása a már korábban leírt módszerrel történt (Szponar és mtsai, 2010).

3.3. Mikroszatellita vizsgálat:

Normál és tumoros szövetből nyert genomikus DNS-ből a mikroszatellita lokuszok vizsgálata PCR alapú amplifikációval történt. Az összes lókuszt vizsgálatára a következő négy multiplex reakcióban került sor:

- multiplex #1: D3S1358, D18S51, D21S11;
- multiplex #2: TPOX, FGA, D5S818, D7S820, D13S317, PentaE, D16S539;
- multiplex #3: D1S1656, D8S1179, D10S1248, D12S391, D19S433, D22S1045; ü
- multiplex #4: D1S214, D1S2799, D9S157, D9S201, D9S1748).

A fluoreszcens módszerrel jelölt PCR termékek elektroforézise és értékelése a LI-COR 4300 DNS szekvenáló automatán történt.

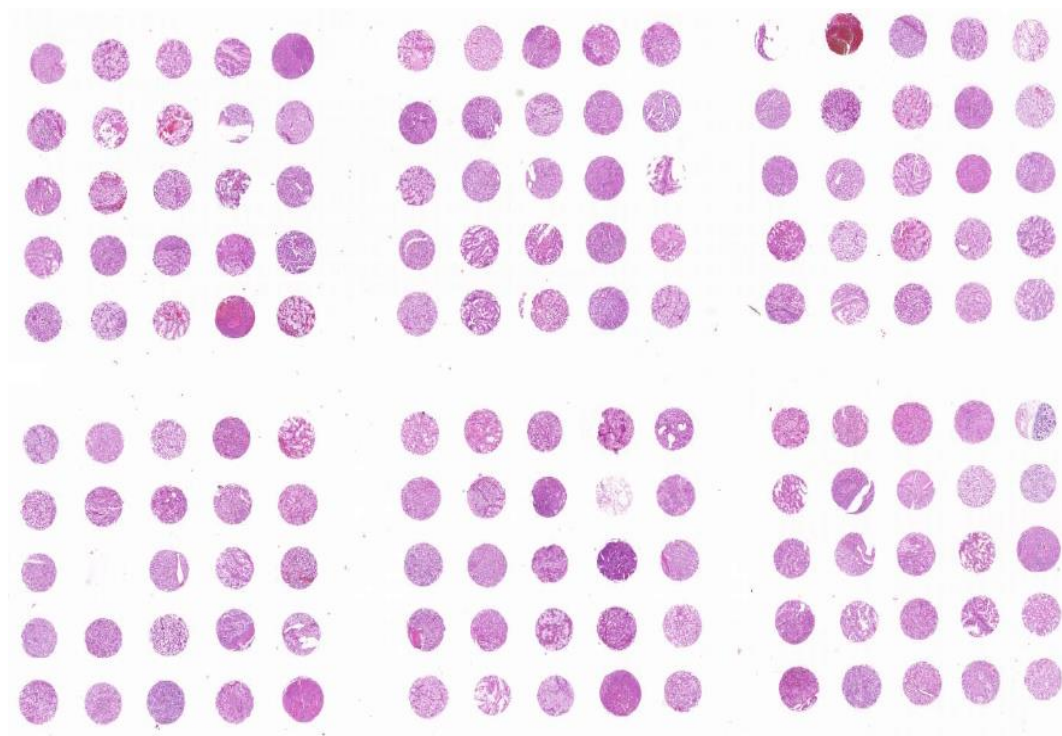
3.4. Array CGH (DNS alapú összehasonlító genomikus hibridizáció)

Nagy molekulájú genomikus DNS hibridizálása a 105 k (105 000 DNS fragmentumot tartalmazó) mikroarray platformon, míg a formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetekből extrahált DNS hibridizálása a 44 k mikroarray platformon történt, a forgalmazó által javasolt protokoll szerint (Agilent Technologies, 5,0-ös verzió) (Szponar és mtsai, 2010). Az eredmények leolvasása az Agilent DNA Microarray Scanner (Agilent) felhasználásával történt, a használati útmutató szerint (2.0 vagy 5.0 változat). Az Agilent Scanner Control Software 7.0 változata 5 µm felbontásban, 100% foto elektron sokszorozóval dolgozik mindkét csatornán. A nyers mikroarray képekből az AMADID 014950 (105k) és AMADID 014950 (44k) rácssablon segítségével a Feature Extraction Software 9.5 változatának felhasználásával nyertük ki az adatokat. A

mikro array elemzése és a fragmentek kromoszómális elhelyezkedése az Agilent CGH Analytics Software felhasználásával történt. A végső kiértékelést az ADM 2 algoritmussal végeztük, amelynek küszöbértéke 6,0 volt, a szűrő feltétel alapértelmezése szerint minimum 3 minta különbség volt a vizsgált régióban.

3.8. Tissue microarray (TMA) készítése

A vizsgálat során főtális és felnőtt egészséges veseszövetet, valamint különféle típusú vesetumorokat tartalmazó paraffin blokkokat használtunk fel tissue microarray (TMA) készítéséhez. A tumoros blokkokból készített hematoxin-eozin festett metszetek áttekintése során került kijelölésre a reprezentatív terület, ez lett a minta vétel helye. Ezt követően a kijelölt területnek megfelelően a paraffinba ágyazott szövetblokkból a Manual Tissue Arrayer (MTA1, Beecher Instruments Inc. Sun Prairie, CA, USA) készülék segítségével 0.6 mm átmérőjű szövethengereket emeltünk ki. Különböző szöveti megjelenésű vagy különböző nukleáris gráddal rendelkező tumorokból több (2-4) mintát vettünk. Az így kapott szövethengereket az MTA1 készülék segítségével egy egységes paraffin blokkba ágyasztuk be, így lehetőség volt 100-150 különböző minta egy metszeten történő egyidejű vizsgálata. Az antitest festődés ellenőrzése céljából a TMA készítésekor egészséges főtális és felnőtt vese mintákat is beépítettünk.



3. ábra. Példa egy 150 biopsiát tartalmazó TMA-ra.

3.9. Immunhisztológia

4%-os formaldehiddel fixált paraffinba ágyazott szövetekből 4 µm vastag metszeteket készítettünk. Ezután a metszeteket legalább egy óráig xyloolban, egy 42C-os termosztátban inkubáltuk. A fedő paraffin réteg eltávolítása után kétszer 10 perc tiszta xilol, 2x 10 perc 100%-os isopropyl alkohol következett, majd leszálló etanol sorban rehidráltuk a metszeteket. (2 x 100%, 96%, és 70%, egyenként 5-5 percig). A metszeteket pH7.4-es foszfát pufferben 2x5 percig kezeltük. Ezt követően az antigén feltárást pH6, illetve pH9 pufferben való forralással értük el, amit a 2100- Retriever (Pick-Cell Laboratories, Amsterdam, Hollandia) készülékben végeztünk el. A nem specifikus kötőhelyek és az endogén peroxidáz blokkolása 1% normál ló szérumot tartalmazó 3%-os hidrogénperoxidban történt szobahőmérsékleten 10 percig. Ezt követően a metszeteket éjszakán át nedves kamrában 4°C-on inkubáltuk. A KRT7, AMACR, CD57 és WT1 antitestek vizsgálatát a BOND-MAX Automatikus IHC/ISH Stainer (Leica Biosystems) segítségével végeztük el, és a reakciót DAB (DAKO) segítségével tettük láthatóvá.

Munkánk során a következő antitesteket használtuk:

- polyklonális nyúl anti-*MET* antitest (sc-12, Santa Cruz Biotechnology, Inc.) 1:100 hígításban;
- polyklonális nyúl anti-*HNF1B* antitest (HPA-002083, Sigma Aldrich, Inc.), 1:100 hígításban;
- monoklonális egér anti-*KRT7* antitest (OV-TL, M7018, DAKO) 1:3000 hígításban;
- polyklonális nyúl anti-*p504S/AMACR* antitest (13H4, RM-9130-A, Thermo-Scientific) 1:150 hígításban;
- monoklonális egér anti-*CD57* antitest (NCL-NK1, Leica Novocastra) 1:100 hígításban;
- monoklonális egér anti-*WT1* antitest (6F-H2, M3561, DAKO) 1:100 hígításban;
- poliklonális nyúl anti-*IRX1* antitest (NBP1-83090, Novus Biologicals) 1:200 hígításban;
- poliklonális nyúl anti-*POU3F3* antitest (18999-1-AP, Proteintech) 1:200 hígításban.

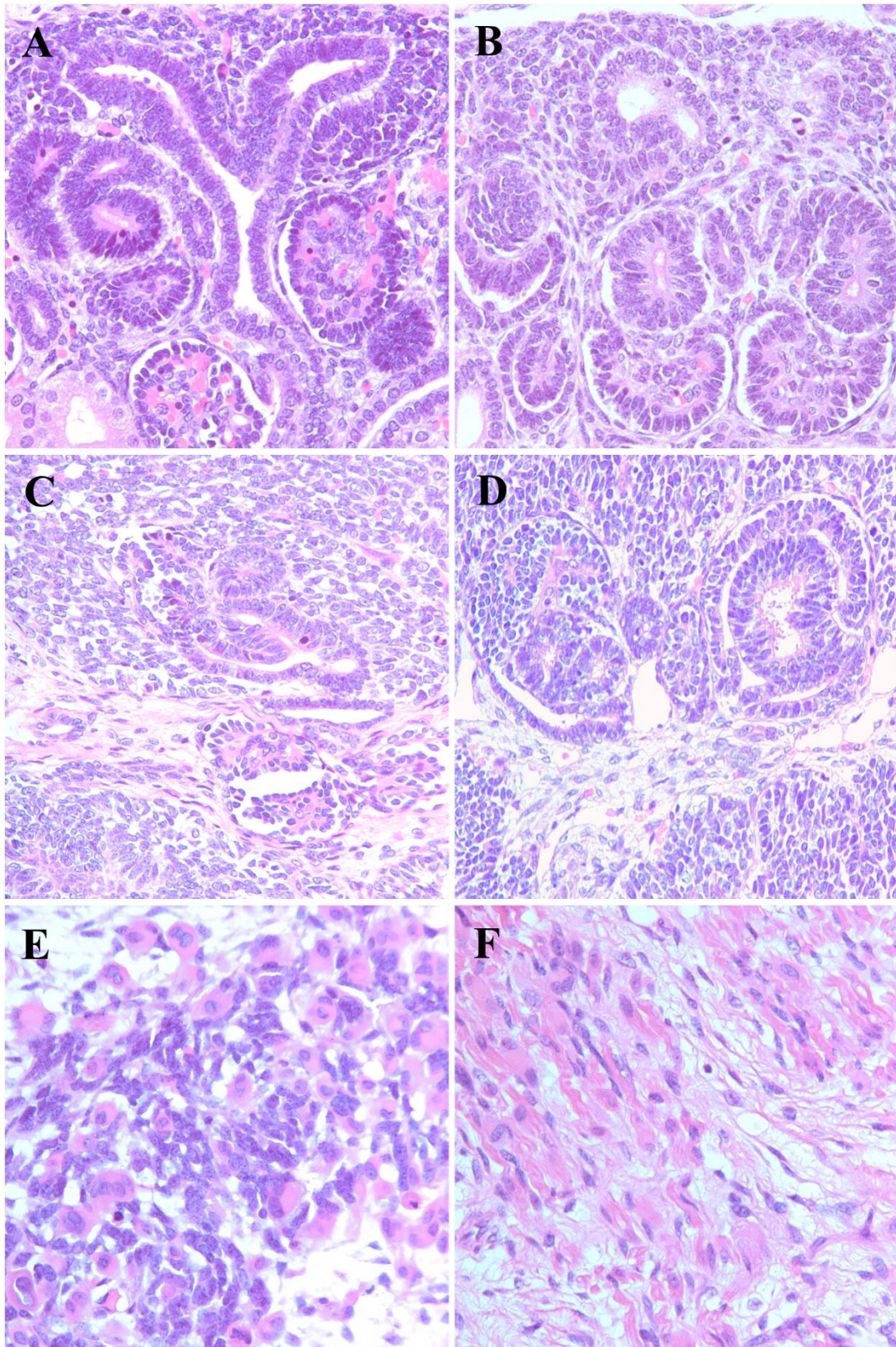
4. Eredmények

4.1. Wilms' tumor

4.1.1. A Wilms' tumor és nefrogén rest szövettani képe

A vizsgálatokba 15 WT-t, közöttük trifázisos, bifázisos, blastemás és tiszta epitheliális formát vontunk be. A tumorok jelentős részében, különösen a trifázisú, blastemális-epitheliális-stromális megjelenésű tumorokban megfigyelhetők voltak azok a szövettani formák, amelyek az embryonális-főtális vesefejlődés során megfigyelhetők (4. Ábra A és B). A WT gyakorlatilag megismétli a vese embryonális fejlődésének minden szakaszát, a blasztémális sejtek proliferációjától a különböző típusú vese tubulusok éretlen formáján keresztül az abortív glomerulusok megjelenéséig, valamint a vese stróma kialakulásáig (4. Ábra C és D). Több WT-ban szolid formában megjelenő kis, szűk tubulusokból felépülő szövettani elemeket is megfigyeltünk, amelyek hasonlítotak az MA „atípusos” megjelenésű szövettani formájára. Más területeken olyan kis sejtekből, vagy közepes magasságú epitheliális sejtekből felépült, szolid-tubuláris-papilláris szövettani megjelenésű területek fordultak elő, amelyek erősen emlékeztetnek a papilláris vesetumorok szolid papilláris növekedési formájára.

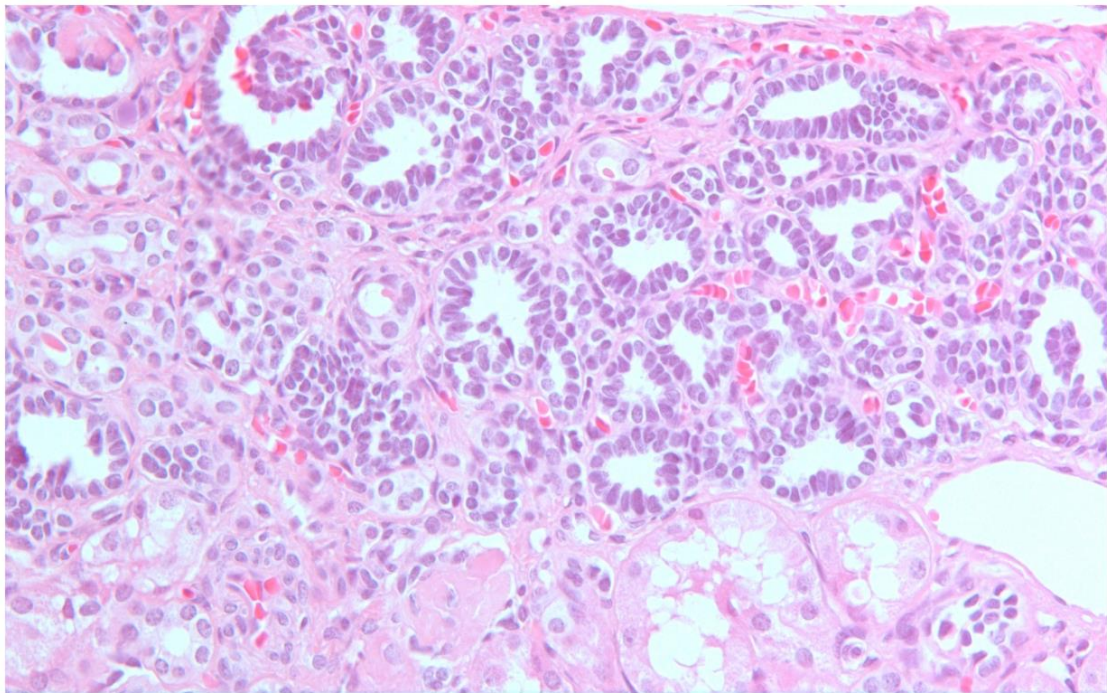
A WT, különösen a trifázisos forma, ugyanazokból a pluripotenciális mesenchymális sejtekből indul ki, mint a vese, és így a blasztémális és epitheliális forma mellett a stromális sejtek különböző érettségi formáját is mutatja. Ezek a sejtek többnyire kötőszövetes, de néha simaizomsejtes differenciálódást mutatnak. Egy esetben a tumor nagy részét heterológ stromális szövet, harántcsíkolt izom és myoblasztok tették ki (4. Ábra E és F). Két esetben találtunk fokálisan anaplasztikus területeket jelentős sejtmag polimorfíával. Összegezve: a vizsgált 15 WT magába foglalta a leggyakrabban előforduló WT variációkat.



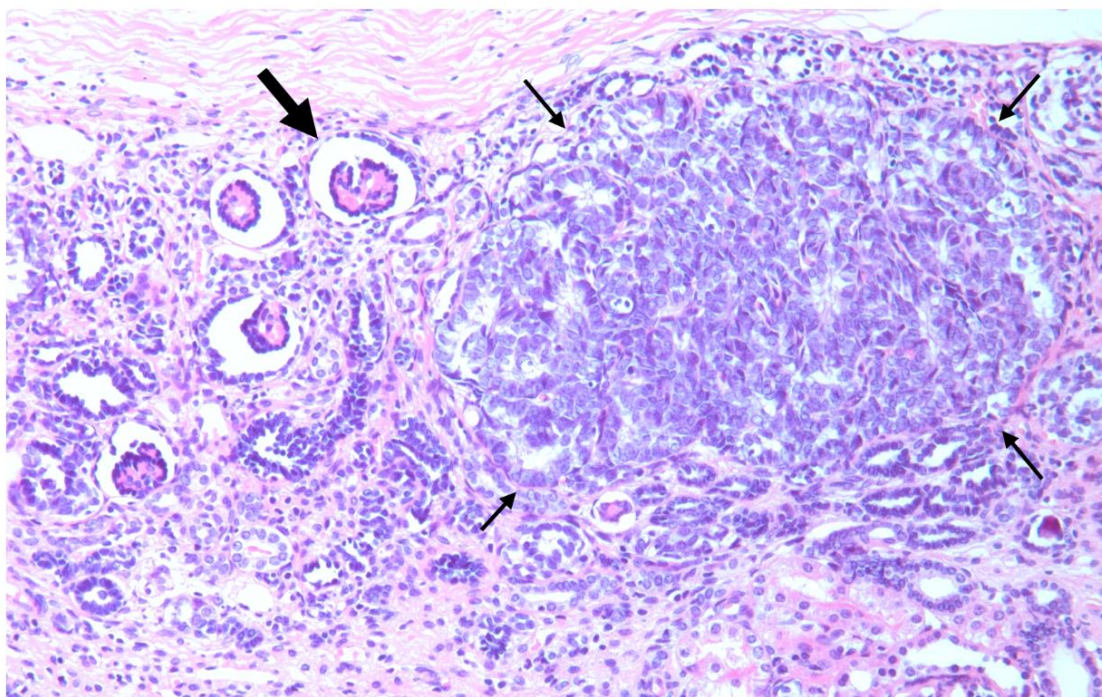
4. Ábra. A, B. Az elágazódó UB köré csoportosult blasztéma sejtjei, kezdődő tubuláris és glomeruláris formációk főtális vesében. **C, D.** Blasztémális sejt proliferáció, epithéliális és glomeruloid differenziálódással és fibroblast-szerű stromális sejtekkel WT-ban. **E, F.** Myoblastok és simaizomsejtek a WT strómájában. H&E.

A Wilms' tumorok rutinszerű szövettani feldolgozása során 9 PL-NR-t találtunk, amelyek közül négy esetben MA-ra emlékeztető szerkezet volt megfigyelhető (5. Ábra). Regresszív elváltozások három PL-NR-ben fordultak elő. Ezek közül kettőben a stroma kifejezett fibrotikus átalakulása, és az epitheliális elemek visszaszorítása volt látható. Egy PL-NR pedig kollagén rostokkal körülhatárolt, "összeesett" lapos háromszög alakban jelent meg a vese tokja alatt. Három PL-NR-ben körülírt hiperpláziás elváltozást figyeltünk meg (6. Ábra). A hiperplastikus léziók sejtjei jóval nagyobbak, mint az eredeti PL-NR sejtjei és kifejezett sejtmag polimorfíát mutatnak.

Az általunk észlelt NR-ek, különösen az intralobuláris nefrogén restek száma nyilván jóval alacsonyabb, mint amennyit a tumorok száma alapján elvárnánk, de valós eredményt csak akkor kaptunk volna, ha az egész vesét feldolgozzuk. Mivel az esetek a mindennapi szövettani rutin anyagból származnak, ez nem történt meg.



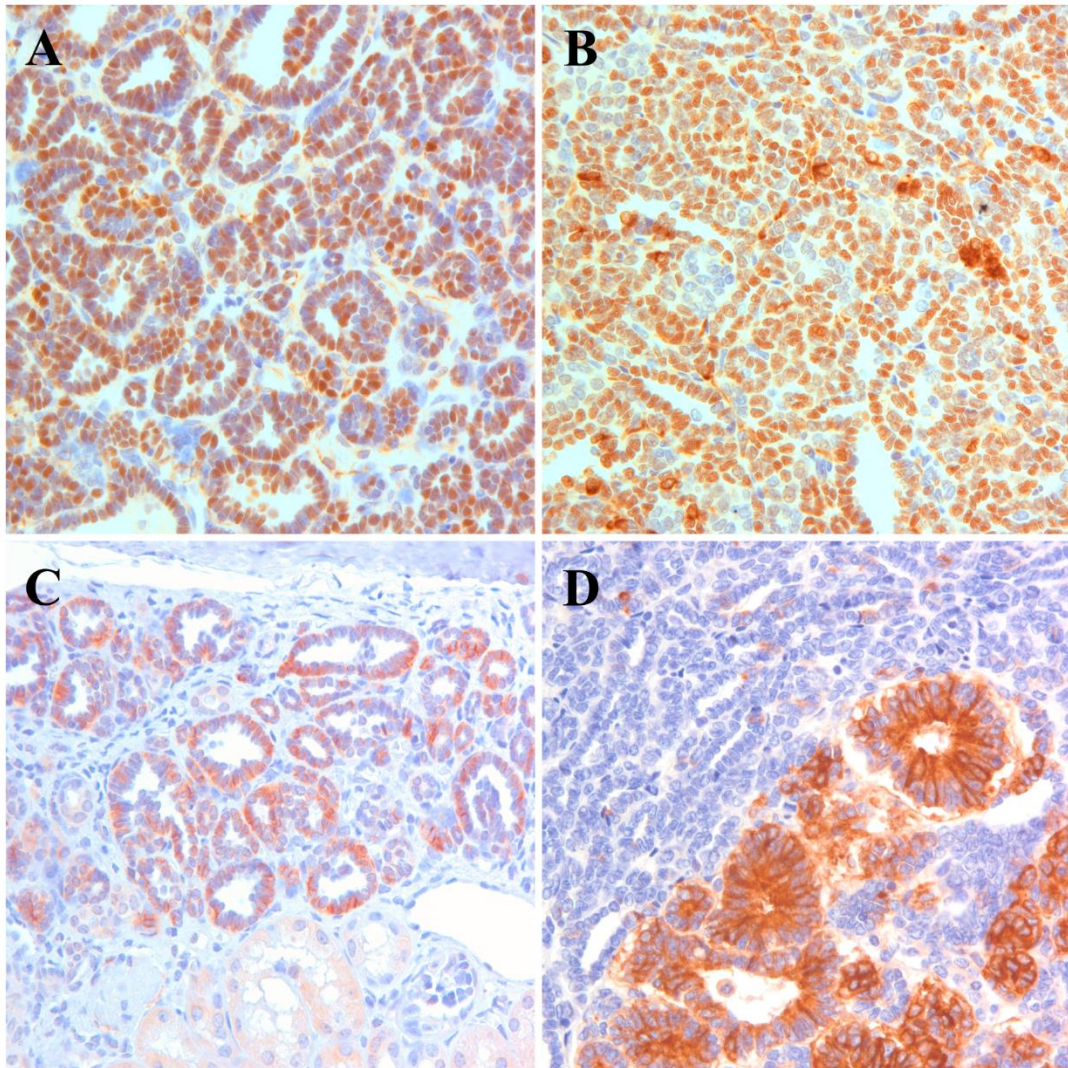
5. ábra. A. Epitheliálisan differenciálódott perilobuláris nefrogén maradvány típusos szövettani képe. A vese tokja alatt epitheliális, részben differenciálódott tubuláris szöveti formák, helyenként abortív glomerulusra emlékeztető képletekkel. Kerek vagy megnyúlt sejtmagok, gyakorlatilag alig észrevehetően kevés cytoplasmával, amely hasonlít a MA szövettani képére. H&E.



6. ábra. Hyperplastikus perilobuláris nefrogén maradvány. Az ábra jobb oldalán felismerhető egy nagyobb, differenciálatlan sejtekből álló hyperpláziás lézió, körülötte valamint kép bal oldalán viszont egy részben „regresszív” elváltozáson átment PL-NR fibrózissal és abortív glomerulus szerű képletekkel. H&E.

4.1.2. A Wilms' tumor és nefrogén maradvány immunhisztológiája

Az anti-*WT1* antitesttel az embrionális vese immunhisztológiai vizsgálata során gyenge nukleáris pozitivitást találtunk a nefrogén vezikelben, és ennél jóval erősebb reakciót az S-forma középső és disztális részében. Erős sejtmag pozitívitas volt megfigyelhető az S-forma proximális kompartmentjének azon sejtjeiben, amelyek a Bowman-kapszula sejtek és a glomerulus képzésére vannak elkötelezve. Az újszülöttek, fiatalok és felnőttek veséjében kizárólag a glomeruláris sejtek egy részében volt pozitív festődés. Mind a 9 PL-NR pozitív festődést mutatott a *WT1* antitesttel (7. ábra A). WT-ben *WT1* immunreakció a blasztémális, valamint az epitheliális sejtekben fordult elő. A 15 WT közül 12 mutatott diffúz- vagy fokális pozitivitást a *WT1* antitesttel (7. ábra B), míg 3 WT teljesen negatív volt.



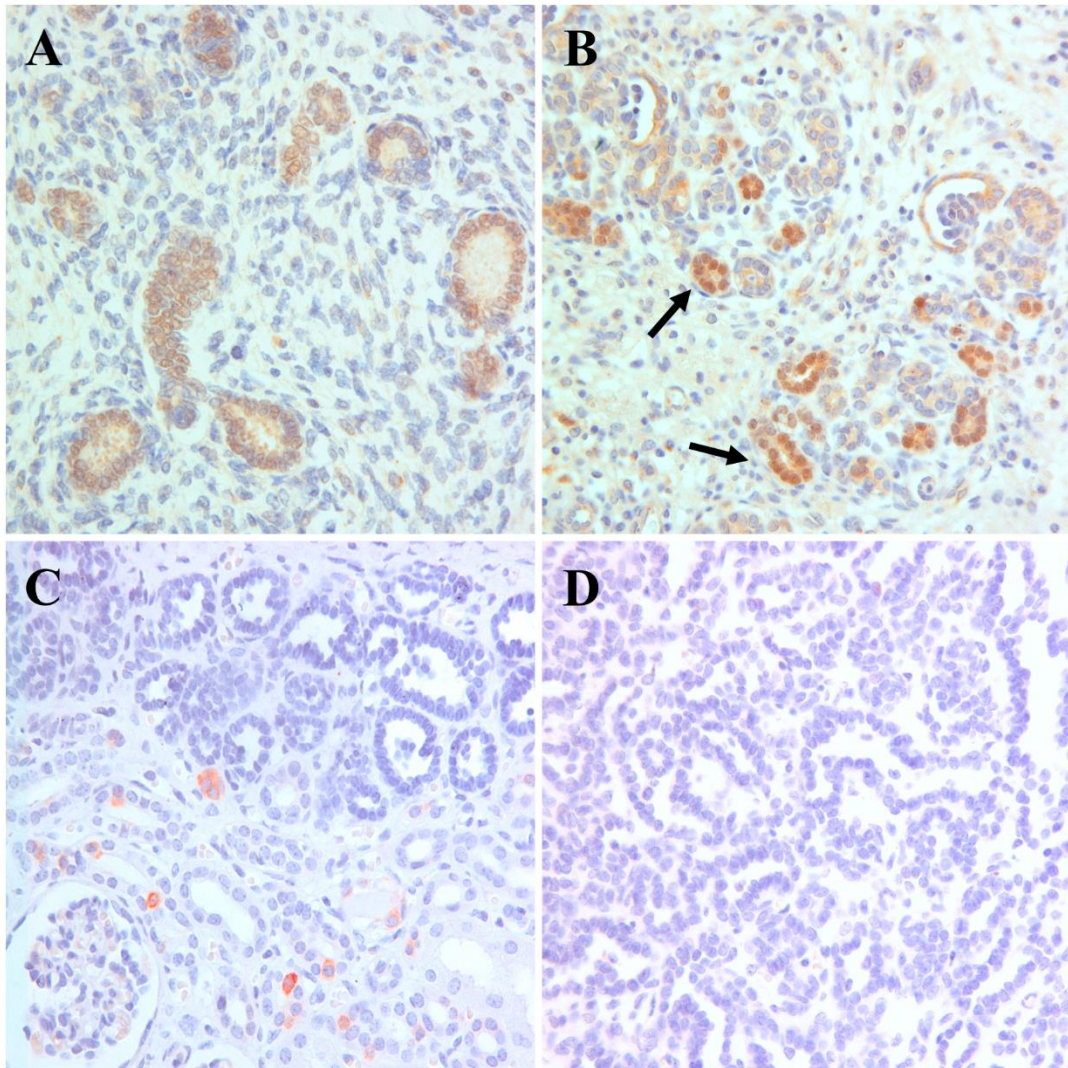
7. Ábra. **A.** PL-NR csaknem minden sejtjében kifejezett magfestés látható a *WT1* antitesttel. **B.** Egy MA-szerű, tubuláris elrendezésű, kis epithéliális sejtekből álló WT szintén erős magfestést mutat a *WT1* antitesttel. **C.** Egy PL-NR sejtjeinek mintegy 80-90%-ában citoplazmatikus és membrán pozitív CD57 reakció figyelhető meg. **D.** WT-ban az MA-szerű kis epithéliális sejtek nem, de a magasabb epithéliális differenciálódású sejtek erőteljes immunreakciót adtak a CD57 antitesttel.

Mivel a CDH17 protein az irodalmi adatok szerint a vese tumorai közül csak az MA-ban fejeződik ki, ezt az antitestet is bevontuk az immunhisztológiai vizsgálatokba. Valóban, egy kivételével az összes MA pozitív festődést mutatott, míg az összes WT, MTSCC és PRCT negatív volt. Meglepetésre mind a 9 WT-hoz társuló PL-NR is CH17 pozitivitást mutatott (7. ábra C). Mások a CD57 gént tartják specifikusnak az MA egyértelmű azonosítására, és kizárták a CD57 pozitivitást WT-ben, MTSCC-ben és

PRCT-ban. Vizsgálataink során a CD57 minden tumorban, beleszámítva a WT-t és PL-NR-t is, pozitívnak bizonyult (7. ábra D).

A WT és társuló PL-NR és IL-NR, valamint az MA nem mutatott pozitív reakciót az *AMACR* és *SCEL* antitesttel. *POU3F3* (*BRN1*) és az *IRX1* gének a kísérletes modellek szerint az S-forma középső részében fejeződnek ki, és a Henle kacs kifejlődését szabályozzák. A *POU3F3* transzkripciós faktor az embrionális-fötális vesében az elvárásoknak megfelelően az SSB középső doménjében ad pozitív immunreakciót, valamint a kezdődő, leszálló primitív Henle-kacsokban. Sem a WT-hoz társuló, sem az MTSCC-t és PRCT-t kísérő preneoplasztikus léziók nem adtak pozitív immunreakciót a BRN1 antitesttel. Hasonlóan a WT, MA, MTSCC és PRCT is negatív volt. Az *IRX1* gén az embrionális fötális vesében, az SSB középső részében, és egy-egy kezdődő Henle-kacsban mutatott sejtmag pozitivitást. A tumorok közül csak néhány WT-ben találtunk fokálisan *IRX1* pozitív festődést (8. Ábra A és B).

Megvizsgáltuk a KRT7 kifejeződését WT-ben és PL-NR-ben. Gyakorlatilag a WT negatív volt, csupán három esetben találtunk egy-egy magas hámmal bélelt tubuláris képlet egy-egy sejtjében pozitív reakciót, míg a többi 12 WT nem mutatott festődést a KRT7 antitesttel (8. Ábra C és D). KRT7 immunhisztokémiai vizsgálatának eredménye mind a 9 PL-NR esetében negatív volt. A vizsgált tumorok közül a KRT7 pozitivitás csak az MTSCC-ben és PRCT-ben, valamint a hozzájuk társuló PNL-ben volt megfigyelhető (lásd még Nagy és mtsai, 2015).



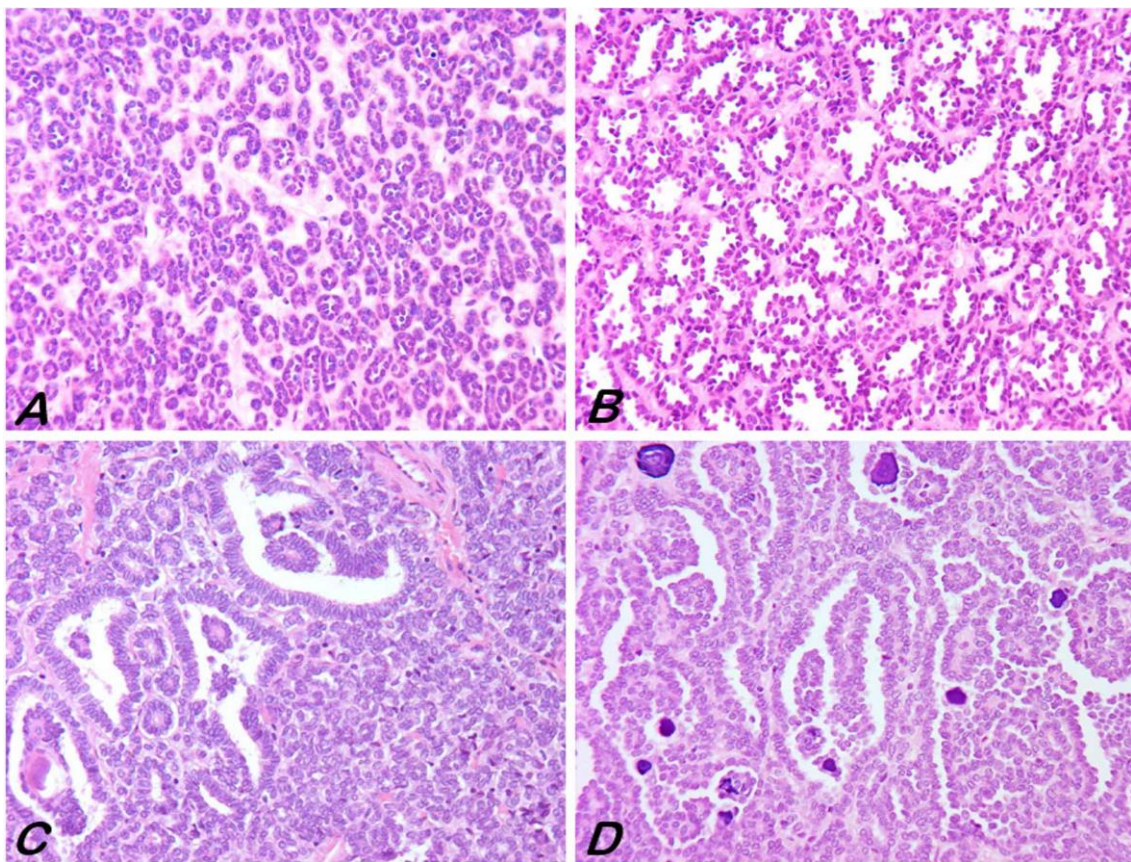
8. Ábra. AZ IRX1 transzkripciós faktor és KRT7 vizsgálata WT-ban. A. Gyenge magfestés egy bifázisos WT epiteliális sejtjeiben. B. Intenzív magfestés látható a WT-ben megfigyelt kis tubulusokban. Ezek a tubulusok a főtális életben kialakuló, kezdeti Henle kacs sejtjeire emlékeztetnek. C. KRT7 immun-reakció disztális és összekötő tubulusok egy-egy sejtjében, de a NR minden sejtje negatív. D. Negatív KRT7 reakció egy antigénelubulárisan-papillárisan növő WT-ban.

4.2. Metanefrogén adenóma

4.2.1. Az MA típusos szövettani képe és változatai

A típusos MA kis szűk tubulusokból épül fel, amelyeket kis, sötét, embryonális jellegű sejtek bélelnek (9. Ábra. A). Anyagunkban azonban előfordult olyan MA, amely

különböző méretű tubuláris elemeket mutatott, amelyeket rendkívül kis, csaknem citoplazma nélküli sejtek béleltek (9 Ábra B). Helyenként papilláris növekedés is megfigyelhető volt. Differenciális diagnosztikai szempontból a legfontosabb, hogy egyes tumorok részben, vagy teljesen mértékben közepes nagyságú, sőt helyenként magas hámmal bélelt/borított tubuláris-papilláris szerkezetet mutathatnak (9 Ábra, C, D). Időnként pszammoma testecskék is megfigyelhetők, amelyek többnyire a papilláris vese tumorokra jellemzőek (9 Ábra D). A 9. Ábrán bemutatott esetek diagnózisát korábbi DNS- array vizsgálat egyértelműen megerősítette.

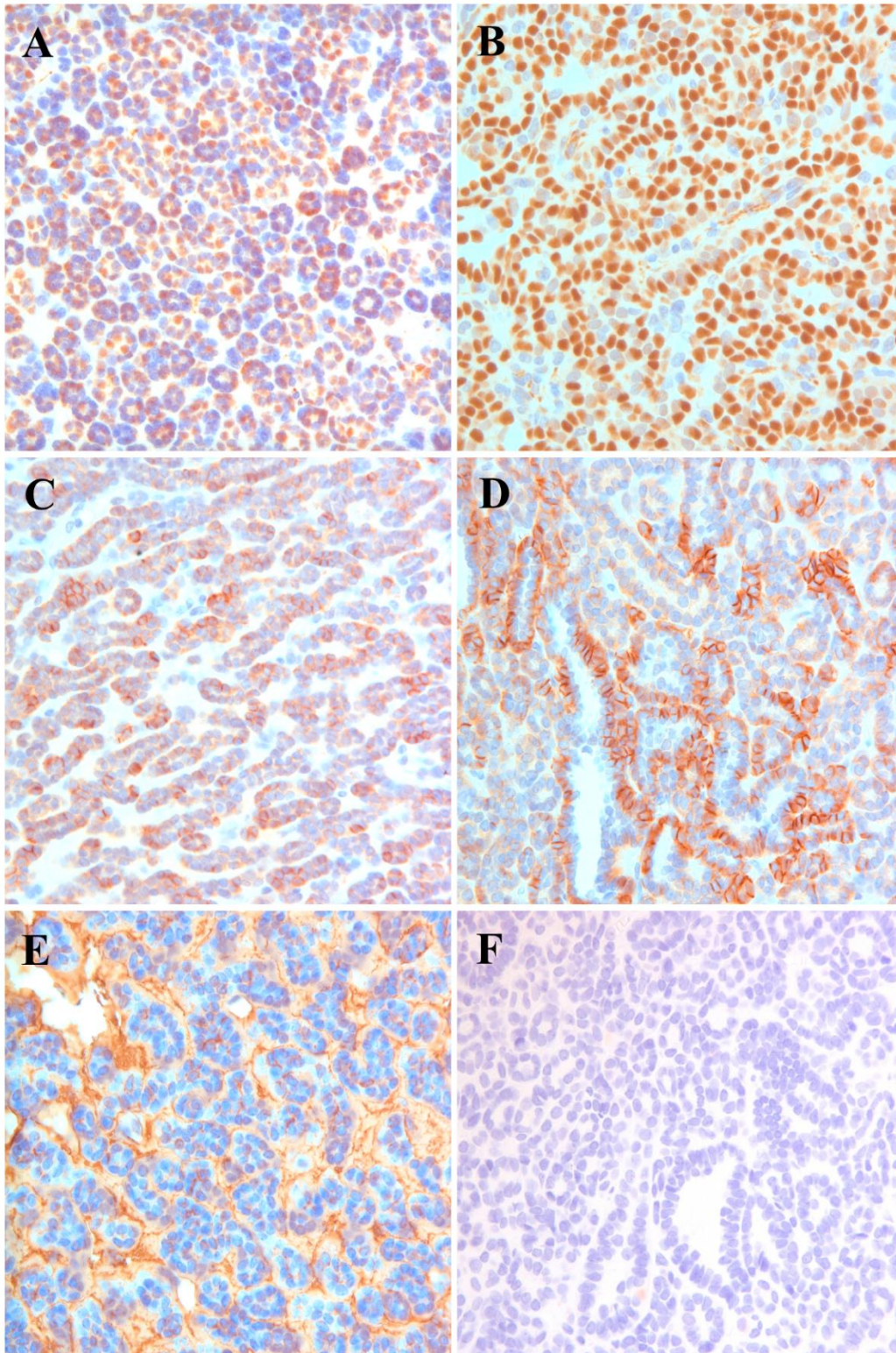


9. Ábra. MA változatos szövettani képe, H&E (magyarázatot lásd fent)

4.2.2. Az MA immunhisztológiai vizsgálata

Amint az irodalomból jól ismert, hogy minden MA pozitív reakciót mutat a *WT1* antitesttel. Munkánk során a legtöbb esetben csak közepes erősségű immunreakció volt megfigyelhető a sejtek kb. 60-70%-ában (10 ábra A). Összehasonlításként, a MA-szerű

szerkezetet mutató WT-ban erőteljes sejtmag pozitívítást láttunk a tumorsejtek 95-100%-ában (10 ábra B).



10. Ábra **A**. Típusos, kis szűk tubulusokból álló MA sejteinek kb. 60%-a pozitív magfestést mutat a *WT1* antitesttel. **B**, MA-szerű szöveti képet mutató WT minden sejtje erős magfestést adott a *WT1* antitesttel. **C**. Típusos, kis sejtekkel bélelt szűk tubulusok hosszmeteszete egy MA-ból, a sejtek mintegy 70% pozitív reakciót adott a *CDH17*

antitesttel. **D.** Részben papilláris szerkezetet mutató MA sejteinek mintegy 40%-ában erős sejtmembránhoz lokalizált *CDH17* pozitívitas látható. **E.** Stromális és sejtmembránhoz kötött *CD57* pozitívitas egy típusos MA-ban. **F.** Negatív *KRT7* reakció egy részben papilláris felépítést mutató MA-ban.

A *CDH17* immunreakciót az MA differenciális diagnózisára írták le. Vizsgálatainkban mind a típusos szűk tubuláris felépítésű MA és a tágabb tubulusokból álló és részben papilláris szerkezetet mutató MA is pozitív volt (10. Ábra C és D). Egyetlen esetben kaptunk negatív immun-reakciót. Megvizsgáltuk a *CD57* valamint a *KRT7* kifejeződését is MA-ban: A *CD57* antitest pozitív reakciót, míg a *KRT7* negatív reakciót adott. (10. Ábra E és F).

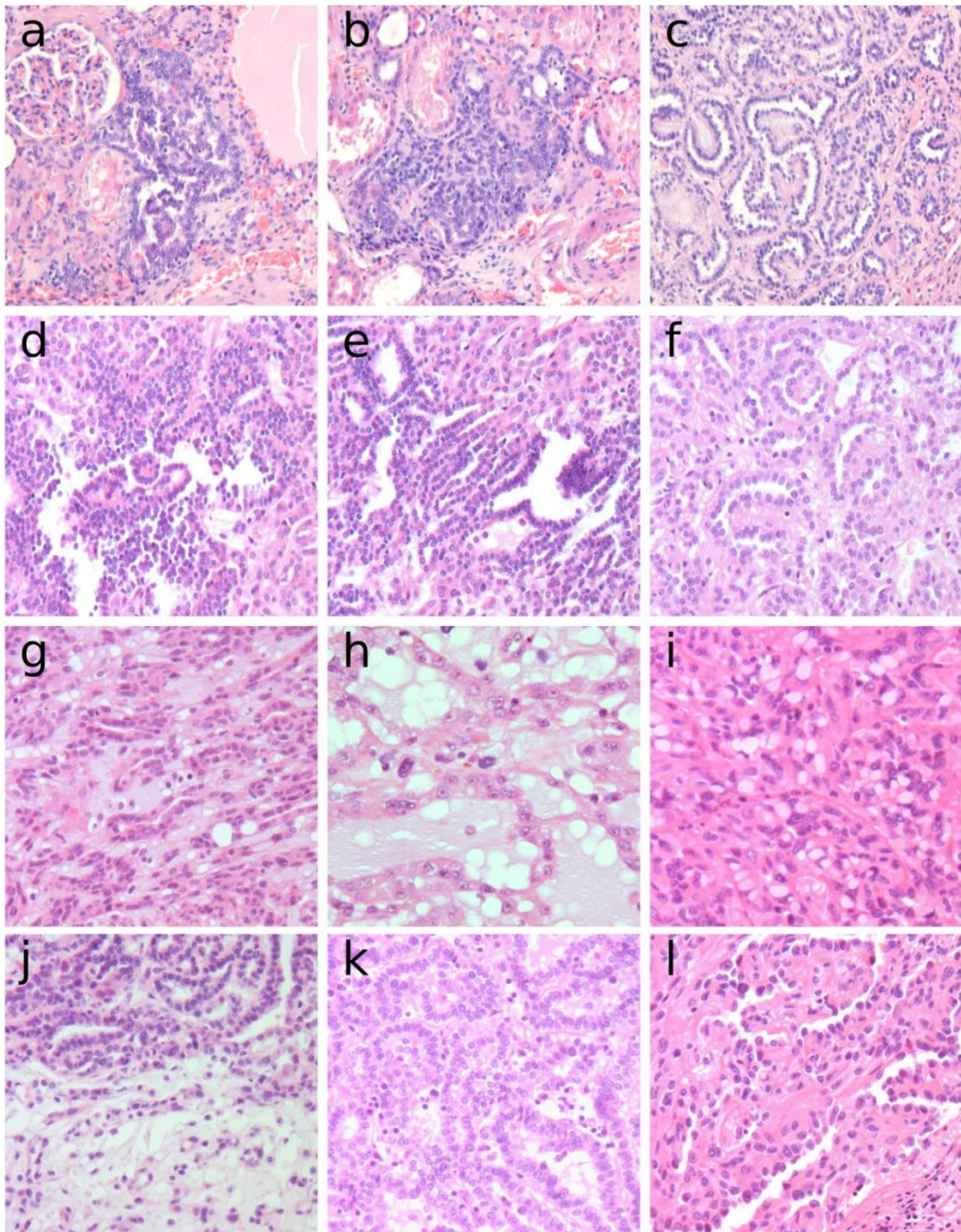
4.3. Mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma (MTSCC)

4.3.1. A tumorok és pre-neoplasztikus léziók szövettani változatossága

Az egyik MTSCC esetben lehetőségünk volt mindkét oldali vese 114 paraffin blokkban történő teljes szövettani feldolgozására. A részletes szövettani vizsgálat során 13 mikroszkópos méretű léziót azonosítottunk. Ezek közül csak egy volt perilobáris elhelyezkedésű, a többi intralobuláris pre-neoplasztikus lézióknak (PNL) felelt meg (10. Ábra a-c). A PNL-ek többnyire kis sejtekből álló tubulopapilláris szerkezetet mutattak, amely hasonlít a papilláris vesetumorokhoz társuló PNL-hez (10. Ábra a, b.). Két PNL strómája myxoid elváltozást mutatott, amelybe glomerulus szerű képletek voltak beágyazva (10. Ábra, c). Az MTSCC különböző szövettani változatai és a hozzájuk társuló PNL-ek több esetben hasonló citológiai és növekedési formát mutattak (10. Ábra d,e,f versus a,b,c).

A tumorok szövettani változatossága széles skálán mozgott. A "típusos" orsósejtes, megnyúlt tubuláris szerkezetet mutat tumort mucinózus strómával 4 esetben figyeltünk meg (10. Ábra g). Két tumor strómája nagy mennyiségű mucinózus elváltozást mutatott, amelybe vékony sejtkötegek vagy egy-egy sejt volt beágyazva (10. Ábra, h). Az egyik MTSCC-ben nem a strómában, hanem a tumorsejtek cytoplasmájában figyeltük meg mucin felhalmozódását (10. Ábra i). Psammoma testecskék és makrofágok (amelyek papilláris vese tumorokra jellemzőek) három esetben fordultak elő. Fokális, kis "kék" sejtekből álló papilláris növekedést két esetben találtunk (10. Ábra d, e). Egy tumorban a PNL-hez hasonló mucinózus, glomeruloid-szerű növekedés fordult elő (10. Ábra f). A

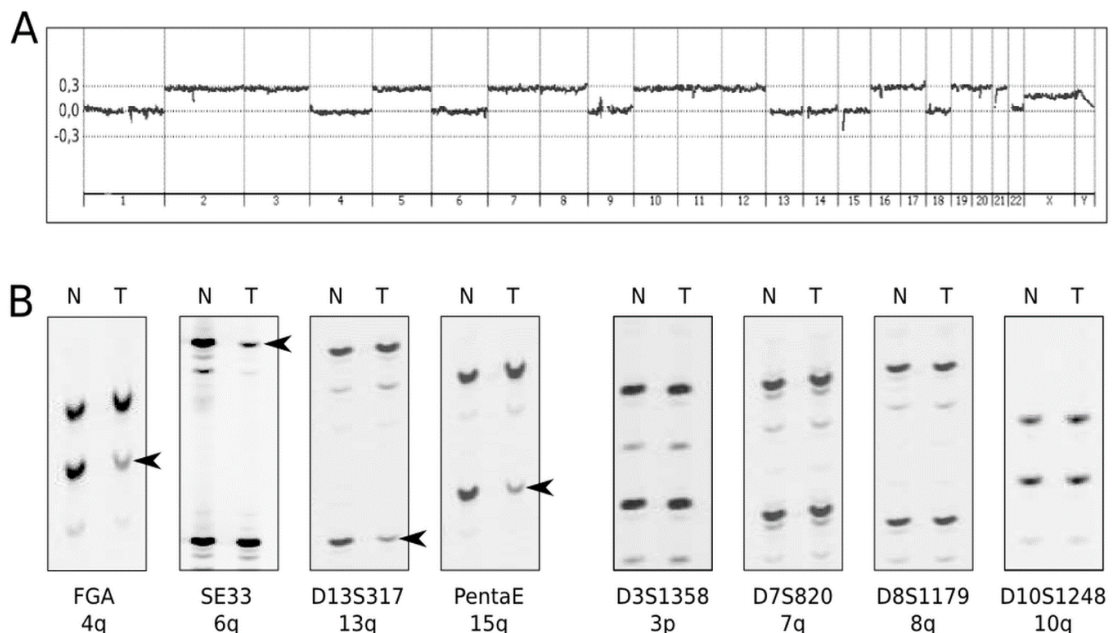
papilláris vesetumorokhoz hasonló papilláris növekedés 3 tumorban volt megfigyelhető (10 Ábra k, l)



11. Ábra. Az MTSCC és PNL szöveti heterogenitása. Tubulo-papilláris növekedést mutató PNL (a és b) és MTSCC (d és e). Glomerulus szerű elemek PNL-ben (c) és MTSCC-ben (f). Megnyúlt tubulusok (g), nukleáris polimorfiát mutató sejtcsoportok (h) vagy disszociált sejtek (j) mucinózus stromába ágyazva. Szolid növekedésű MTSCC mucin cseppekkel a sejtek citoplazmájában (i). Tubulárisan (k) vagy papillárisan (l) növekedő MTSCC. (Bányai és mtsai, 2017)

4.3.2. Mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma diagnosztikus értékű DNS elváltozásai

Az MTSCC-re jellemző genetikai jellemzők kimutatására array-bázisú összehasonlító genom hibridizációt (Array-CGH) alkalmaztunk. Ez a módszer a normál szövetben található DNA mennyiségéhez méri a tumorban előforduló DNS mennyiségét, egyes kromoszómákra kivetítve. Mind a hét esetben gyakorlatilag azonos eredményt kaptunk, a kromoszóma 1, 4, 6, 9, 13, 14, 15, 18 és 22 mennyiségi elváltozását a többi kromoszómához képest (11. Ábra A). Allélspecifikus DNS és kromoszóma vizsgálatokból tudjuk, hogy az említett kromoszómák monoszómiája jellemző az MTSCC-re. A kilenc kromoszóma következetes vesztese egy közel haploid kromoszóma készlethez, és így a rajtuk lévő gének csökkent kifejeződéséhez vezet. Ennek kiegyenlítésére a daganatsejtek megduplázzák a kromoszóma számot, ami így a triploid régióba kerül. Mikroszatellita vizsgálatok megerősítették a jellemző kromoszómák allél-elváltozását és a többi kromoszóma megtartott allél-egyensúlyát (11. Ábra B)

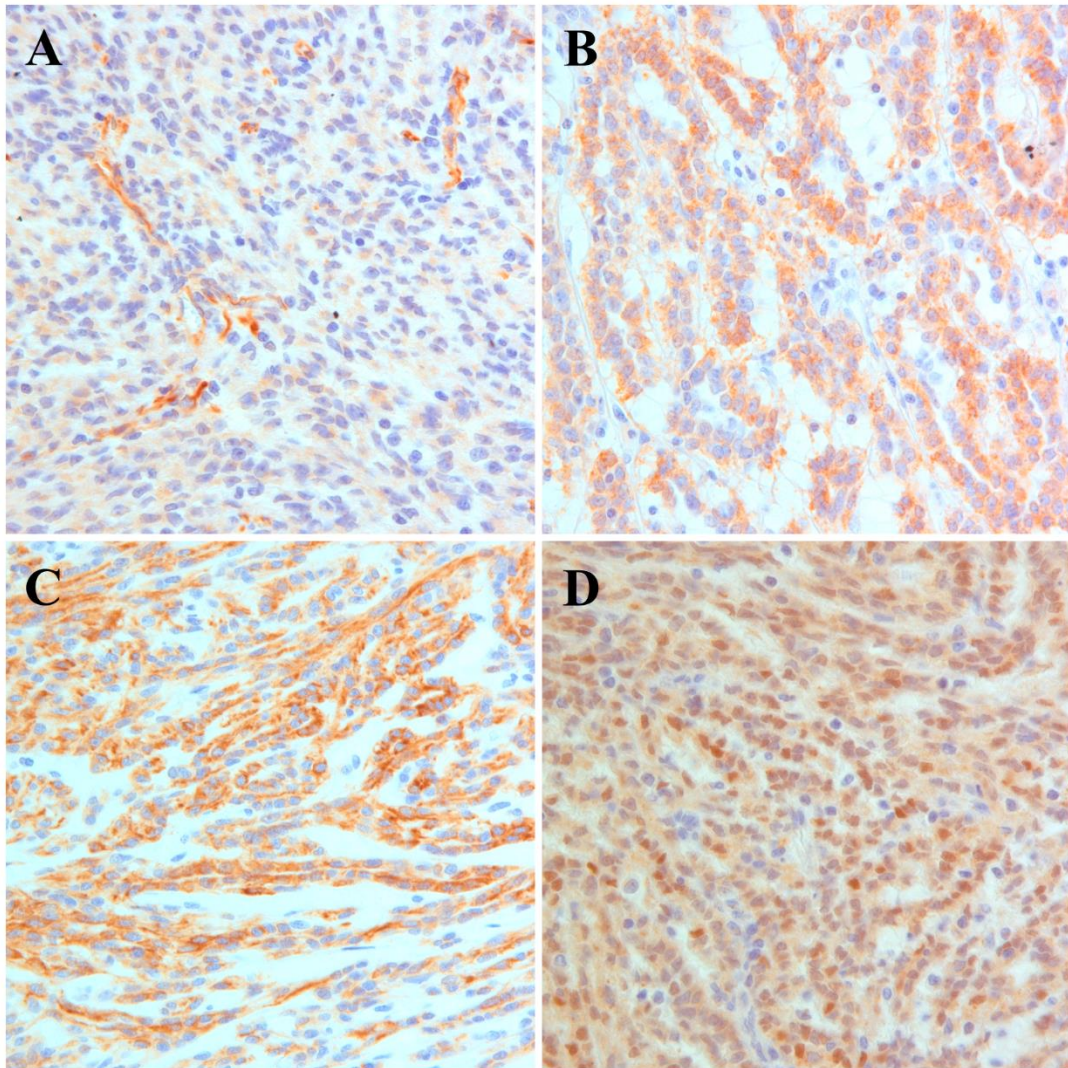


12. Ábra. Az array-CGH és mikroszatellita allél-változások eredménye. A. reprezentatív array-CGH profil, amely a kromoszóma 1, 4, 6, 9, 13, 14, 15, 18 és 22 DNS megváltozott kópia számát mutatja. B. A multiplex mikroszatellita vizsgálat egyértelműen mutatja a kromoszóma 4, 6, 13 és 15 allél változását, míg a kromoszóma 3, 7, 8 és 10 megtartotta az allélok egyensúlyát. (Bányai és mtsai, 2017)

4.3.3. Az MTSCC immunhisztológiai vizsgálata

Mivel a szövettani vizsgálatok szerint az MTSCC-hez is embrionális rest-szerű PNL társul, ezekben is megvizsgáltuk a WT-re és NR-re jellemző *WT1* gén előfordulását. Mind a 4 PNL és 9 MTSCC negatív immunreakciót mutatott (13. Ábra A). Így kizártuk a WT-hez társuló PL-NR és IL-NR, valamint az MTSCC-hez társuló PNL közös eredetét. Az MTSCC-hez valamint a papilláris vesetumorhoz társuló PNL hasonló szövettani képe miatt megvizsgáltuk a papilláris vesetumorkban gyakran pozitív AMACR kifejeződését. Az AMACR immunreakció pozitív volt PRCT-ban és a társuló PNL-ben, valamint az MTSCC esetek 88%-ában (13. Ábra B) és a társuló PNL-ek 50%-ában. Hasonlóan, a papilláris vesetumorra és társuló PNL-re jellemző KRT7 pozitivitást mind az MTSCC-ben, mind a PNL-ben megfigyeltük (13. Ábra C). Az AMACR és a KRT7 egyértelműen elkülönítette a WT-hez társuló PL-NR-t és IL-NR-t az MTSCC-vel és PRCT-vel együtt megjelenő PNL-től. A SCEL immunhisztológia megkülönböztette az MTSCC és PNL csoportját a PRCT és PNL csoporttól. A CD57 antitest gyakorlatilag az összes, ebbe a tanulmányba bevont tumorban és prekursor lézióban pozitív volt. A CDH17 minden MTSCC-ben és társuló PNL-ben negatív eredményt mutatott.

Mivel az MTSCC sejtjei az esetek egy részében a Henle kacs sejtjeire hasonlítanak, feltételezték, hogy az MTSCC ebből a nefron szegmentből indul ki. Ezért megvizsgáltuk két olyan gén kifejeződését, amelyeknek szerepe van a vese fejlődés során az S-forma középső domainjének kialakulásában, és ezeknek a sejteknek az elkötelezettségében, hogy belőlük a Henle-kacs fejlődjön ki. Az állatkísérleti adatoknak megfelelően mind a *BRN1*, mind az *IRX1* az embrionális és főtális vesében a megfelelő SSB kompartment sejtjeiben fejeződött ki. Azonban a *BRN1* negatív volt az összes prekursor lézióban és MTSCC-ben. Az *IRX1* antitest két MTSCC kivételével minden tumorban és prekursor lézióban negatív volt. Két MTSCC-ben kifejezett sejtmag pozitívítás volt megfigyelhető (13. ábra D).



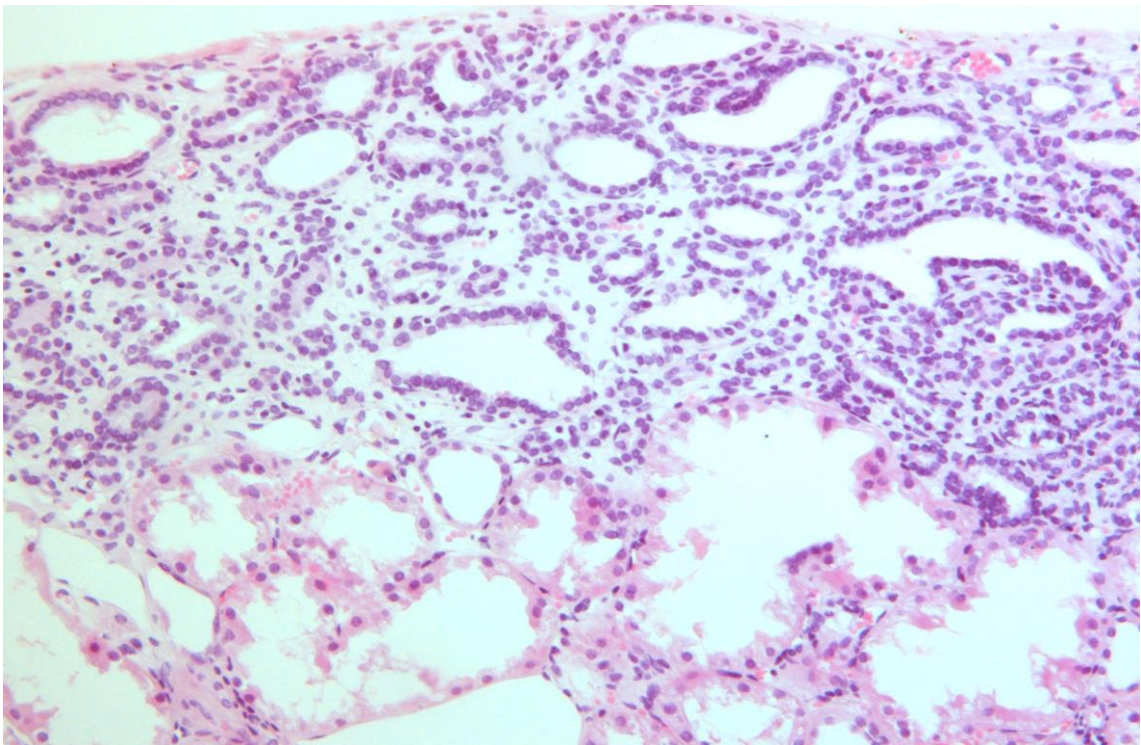
13. Ábra. MTSCC immunhisztológia. **A.** Nincs immun-reakció *WT1* antitesttel az MTSCC sejtmagjaiban. **B.** Közepes intenzitású pozitivitás az *AMACR* antitesttel. **C.** Intenzív citoplazmatikus reakció a *KRT7* antitesttel. **D.** Diffúz sejtmag pozitivitás az *IRX1* antitesttel.

4.4. Papilláris vesetumor

4.4.1. Pre-neoplasztikus léziók és papilláris vesetumor társulása

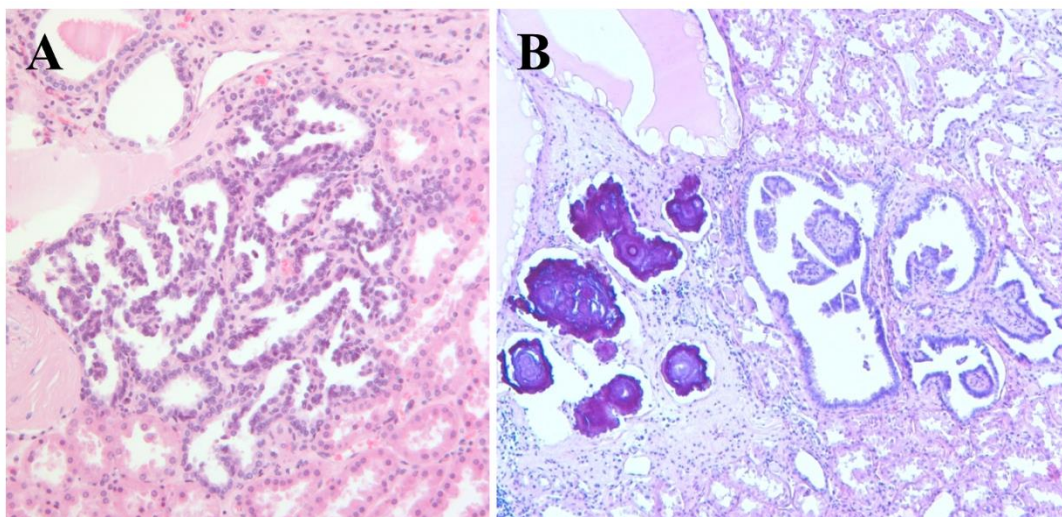
A PRCT miatt eltávolított vesék teljes szövettani feldolgozásánál veséenként átlagban 42 „nephrogenic rest-like” léziót találtunk, amelyet a NR-től való elkülönítésre pre-neoplasztikus lézióknak (PNL) neveztünk. A konvencionális vesetumor miatt operált 15 vesében átlagosan csak 0.4 PNL-t figyeltünk meg. Ez az összefüggés azt sugallja, hogy

a PNL megjelenése és a PRCT kialakulása közt oki összefüggés van. A vese tokja alatt elhelyezkedő léziók részben hasonlítottak a WT-hez kapcsolódó PL-NR-hez (14. Ábra). A legtöbb lézió alig volt nagyobb három-négy glomerulusnál és kis bazofil sejtekből álló tubuláris-papilláris növekedést mutatott (15. Ábra A). A perilobuláris PNL-ek egy részében regresszív elváltozást, fibrózist és psammoma-testeket figyeltünk meg (15. Ábra B). A legtöbb PNL perilobuláris megjelenésű volt, azonban elvétve intralobuláris PNL-t is megfigyeltünk.



14. Ábra. Papilláris vesetumorhoz társuló szubkapszuláris PNL szövettani képe. Kis köbsejtekkel bélelt, különböző átmérőjű tubuláris, részben papilláris növekedésű sejtek laza kötőszövetbe vannak ágyazva. H&E.

Érdekes összefüggést találtunk a papilláris vesetumor és az ugyanabban a vesében előforduló PNL szövettani formája közt. Amennyiben a PRCT a kis embrionális típusú sejtek tubuláris-papilláris növekedését mutatta, akkor az ugyanabban a vesében felfedezett PNL-ek túlnyomó többségének is hasonló szövettani képe volt. Amennyiben a PRCT magasabb, eosinophil hámsejtekből épült fel, akkor a hozzá társuló PNL-ek többsége is a normál vese tubulusok magas hámját utánozta.



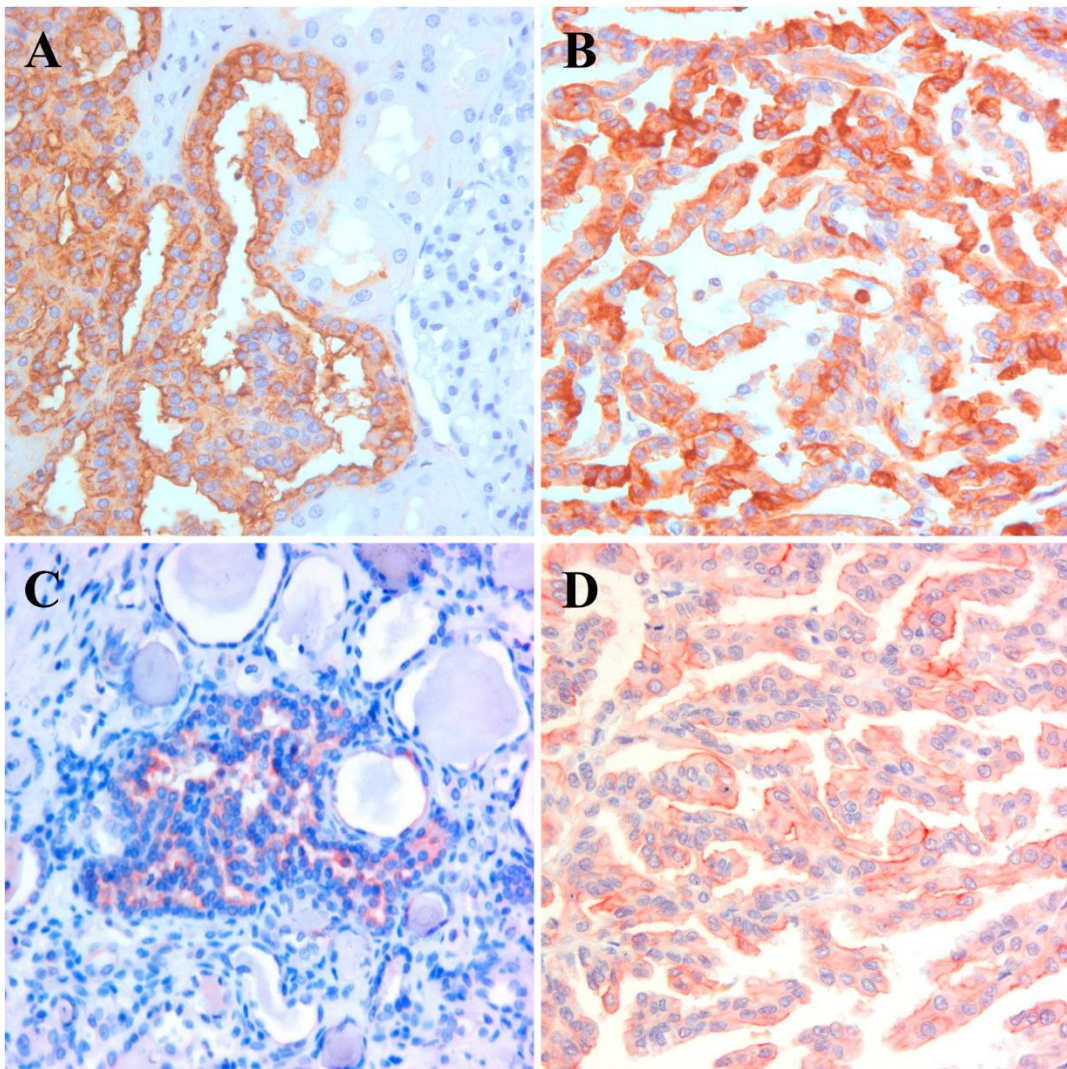
15. Ábra. PRCT-hez társuló PNL szövettani képe. **A.** A vese tokja alatt található PNL a vese tubulusok méretét utánzó tubuláris-papilláris szerkezetet mutat. **B.** Erősen regresszív elváltozást mutató szubkapszuláris PNL. A WT-ben megfigyelhető, sokszor ék alakú PL-NR-hez hasonló képet mutat. A fibrotikus strómában nagy pszammoma testek láthatók, alatta néhány tubuláris-papilláris növekedésű sejtcsoport. H&E.

4.4.2. Szövettani heterogenitás

A papilláris vesetumorerok túlnyomó többsége kis „bazofil“ sejtekből (gyakorlatilag alig látható az eosinofil cytoplasma, csak a basofil sejtmag) vagy közepes nagyságú eosinofil citoplazmájú sejtekből épül fel, amelyek egy sejtrétegben egy vékony kötőszövetes papilláris strómát borítanak. A kis sejtmagok egyformák, nincs sejtmag polimorfia. A papilláris strómában gyakran megfigyelhetők gyulladásosejtek, habos plazmájú makrofágok. Gyakori a pszammoma testek előfordulása is. Ez a tankönyvi leírásnak megfelelő szövettani kép. Azonban szolid formában növekedő sejtcsoportok is megfigyelhetők, amelyek helyenként MA vagy MTSCC szövettani képét utánozhatják. Az átfedő szöveti megjelenés miatt ezek az esetek jelenthetnek diagnosztikus nehézséget. A magasabb epitheliális sejtekből álló PRCC is előfordul, amelyekben sokszor kifejezett sejtmag polimorfia figyelhető meg. Ez a szövettani forma nem jelent kórismézési nehézséget, mert nem mutat átfedő szövettani képet a többi embrionális eredetű epitheliális tumorról, mint a WT, az MA vagy az MTSCC.

4.4.3. A papilláris vesetumor immunhisztokémiája

A CD57 erőteljes, a sejtek túlnyomó többségére kiterjedő pozitivitása mind a 10 PNL-ben megfigyelhető volt (16. ábra A), míg a papilláris vesetumoroknak 74%-a mutatott erős, vagy közepes festődést a CD57 antitesttel (16. Ábra B). Az anti KRT7 antitesttel, valamint az anti AMACR antitesttel a PNL-ek 70%-ában kaptunk pozitív reakciót. A papilláris vesetumrok 75%-ában tállt fenn KRT7 pozitivitás, míg az AMACR a papilláris vesetumrok 98%-ában bizonyult pozitívnek. A SCEL antitesttel 19 PNL közül 13-ban találtunk sejtmembránhoz kötött pozitivitást, míg a 114 PRCT közül 87 mutatott közepes vagy erős immunreakciót (16. Ábra C és D) (Nagy és mtsai, 2015).



16. Ábra. **A.** Erőteljes CD57 festődés egy familiáris csírasejtes *MET*- mutációhoz társuló PNL-ben. **B.** A PRCT sejtjeinek kb. 80%-a pozitív reakciót adott az anti CD57

antitesttel. **C.** Pozitív festődés a SCEL-antitesttel egy mikroszkópos méretű papilláris prekursor lézióban. **D.** Sejtmembránon megjelenő pozitív immunreakció a SCEL antitesttel egy papilláris vesetumorban.

5. Megbeszélés

5.1. Wilms tumor

A WT az UB és a nefrogén blasztéma kölcsönhatásának zavarából fejlődik ki, és valószínűleg mindkét sejttípus részt vesz a tumorok egy részének felépítésében (Stupar és mtsai, 2007). Újabb vizsgálatok feltételezik, hogy a WT az UB és CCM találkozásánál található pluripotens sejtekből származik, és így magyarázható, hogy a WT az UB-re jellemző géneket is kifejez. A szövettani megjelenés mellett a WT és az NR gén expressziós vizsgálata is arra utal, hogy a WT-ben kifejeződő gének egy csoportja átfedést mutat a normál embrionális vesében megfigyelt génekkel (Vuononvirta és mtsai, 2009; Li és mtsai, 2002).

Az MM-ből egy időben, valamint térben szervezett génexpresszió révén alakul ki a működő nefron. Amennyiben ebben az összetett biológiai folyamatban hiba történik, nem differenciált, vagy csak részben differenciált sejtcsoportok maradhatnak vissza, az úgynevezett NR-ek (Beckwith és mtsai, 1990). Molekuláris genetikai vizsgálatok megerősítettek az embrionális vesefejlődés és az NR, ill. a WT közötti összefüggést (Rivera és Haber, 2005; Vuononvirta és mtsai, 2009; Li és mtsai, 2002; Fukuzawa és mtsai, 2003). Mind a szövettani megfigyelések (Bove és McAdams, 1976; Beckwith és mtsai 1990), mind a génexpressziós vizsgálatok elkülönítenek PL-NR-t és IL-NR-t, amelyek szöveti formája meghatározza a belőlük kiinduló WT szöveti jellegzetességét (Fukuzawa 2008).

A részletes szövettani, genetikai és gén expressziós vizsgálatok eredményeként manapság a WT és az NR egyértelmű kapcsolatát bizonyított tényként fogadják el. A különböző vesefejlődéssel kapcsolatos szindrómák és a WT gyakori együttes megjelenése is széles körben dokumentált. A WT kialakulásának, génexpressziós profiljának, az embrionális veséhez fűződő kapcsolatának rendkívül bő irodalma van, amelynek megbeszélése nincs közvetlen összefüggésben a tézis témájával, azaz a felnőttkori vesetumorkok molekuláris patológiájával, és meghaladná a tézis keretét.

5.2. Metanefrogén adenóma

Az MA egy ritka, jóindulatú daganat, amelynek multiplex formája is előfordul. Bár a WHO meghatározás a legtöbb tumorra jellemző, egy-egy esetben tágabb tubuláris formák, és kifejezett papilláris növekedés is megfigyelhető. A szolid-tubulárisan nöövő WT-hez való hasonlósága miatt azt feltételezték, hogy az MA a WT jóindulatú formájának felel meg. Mások úgy vélték, hogy a rosszindulatú WT bizonyos esetekben differenciálódik és így az inaktív, jóindulatú MA keletkezéséhez vezethet (Argani, 2005).

Vizsgálatunk során megfigyeltük, hogy az MA és a PL-NR fenotípusa közt szoros összefüggés van. Az a megfigyelés, hogy az összes, WT-hez társuló PL-NR, és egy kivétellel az összes MA pozitív reakciót adott a CDH17 antitesttel, míg az összes WT negatív volt, arra utal, hogy nemcsak fenotipikus hasonlóság van a két lézió közt, hanem feltételezésünk szerint az MA a perzisztáló PL-NR-ből indul ki. Tehát nem arról van szó, hogy a tri-, bi-fázisú vagy tisztán epitheliális megjelenésű, rosszindulatú WT a progresszió során egy jelentős differenciálódási programon megy keresztül, és így a jellemző hisztológiai megjelenésű, jóindulatú MA-hoz vezet. Mi bizonyítottan tartjuk, hogy azok a tubuláris szövettani felépítésű PL-NR-ek, amelyek nem mennek át regresszív folyamaton, hosszú évekig történő perzisztálás során, megtartott lassú proliferációs képesség mellett, miatt még ismeretlen okok miatt növekedni kezdenek. Említésre érdemes megfigyelésnek tartjuk, hogy mindkét elváltozás megjelenésében gyakori a normál veseszövettől való éles elhatárolódás, és így mindkét elváltozás kötőszöveti tok kialakulása nélkül jelenik meg.

5.3. MTSCC

Bár a legtöbb MTSCC megfelel a tankönyvi leírásnak, számos hisztológiai változata van, amint azt a 10. ábrán bemutattuk. Ennek megfelelően 2004-ig változatos terminológiával említették, többen a gyűjtőcsatorna eredetű veserák- az úgynevezett Bellini duktus daganat - differenciálódott változatának tartották. Az MTSCC

metszetekben megfigyelhető összenyomott párhuzamos tubuláris sávok utánozhatnak leiomyomát, vagy leiomyosarcomát is (Rakozy et al. 2002). Két korábbi közleményben leírták az MTSCC-re jellemző kromoszóma elváltozásokat olyan tumorban, amelyet a szerzők „collecting duct carcinomának” kórisméztek (Füzesi és mtsai, 1992; Antonelli és mtsai 2003; 1. táblázat). Bár az MTSCC-t a legtöbben jóindulatú tumornak tartják, leírtak egy úgynevezett “non-classical” formát, sőt differenciálatlan szarkomatoid “MTSCC”-t is (Shen et al. 2007, Dhillon et al. 2008, Kuroda et al. 2008, Pillay et al. 2008), valamint metasztatikus tumort is (Pillay és mtsai, 2008; Thway és mtsai, 2012; Peckova és mtsai, 2015; Shen és mtsai, 2007; Kuroda és mtsai 2011). A leírt esetekben azonban nem történt kromoszóma vizsgálat, így az MTSCC diagnózisa nem kellően alátámasztott.

Korábban kromoszomális CGH és mikroszatellita vizsgálat segítségével a kromoszóma 1, 4, 6, 8, 13, 14, 15, 18 és 22 vesztését, azaz monoszómiáját írták le (Rakozy és mtsai 2002). Ezen eltérések specificitását további vizsgálatokkal megerősítették (Kovacs és mtsai, 1991; Ferlicot és mtsai 2005; Peckova és mtsai, 2015). Azonban más CGH és FISH vizsgálatok eltérő eredményt adtak. Pl. a kromoszóma 9, 13 és 15 monoszómiája a 11 esetből csak 1, 3, illetve 2, tumorban fordult elő. Figyelembe véve az MTSCC szövettani heterogenitását az egyik legutóbbi közlemény is megerősíti a kromoszóma vizsgálatok jelentőségét a téves kórismézés kizárásában. Különböző nemzetiségű patológusok által összegyűjtött és szövettanilag *egyértelműen* MTSCC-nek diagnosztizált 45 tumorból 11 esetben sikerült array CGH vizsgálatot elvégezni. Számunkra nem meglepetésként, a szövettanilag *egyértelműen* MTSCC-nek kórismézett 11 eset közül 2 esetben a papilláris vesetumorra jellemző kromoszóma elváltozást találtak (Peckova és mtsai,2015).

Az MTSCC megjelenése *egyértelmű* női túlsúlyt mutat, a nő- férfi arány 4:1, ami ellentétes a papilláris vesetumor 6-8:1 férfi-nő arányával. Bár többen a Henle-kacs sejtekhez való hasonlósága miatt az MTSCC-t a Henle kacsból származtatják, vizsgálataink szerint ez a tumor is több mint valószínű embrionális maradványokból indul ki. Ez is magyarázhatja a változatos szövettani képet.

1 Táblázat. Specifikus kromoszóma elváltozások MTSCC-ben: irodalmi összefoglalás

Tumor szám	Kromoszóma elváltozások	Diagnózis	Módszer	Ref.
7	-1,-4,-6,-8,-9,-13,-14,-15,-22	MTSCC	aCGH	Bányai, 2017
5	-1,-4,-6,-8,-9,-13,-14,-15,-22	MTSCC	kCGH, MS	Rakozy, 2002
1	-1,-4,-6,-8,-9,-13,-14,-15,-22	MTSCC	KRO	Ferlicot, 2005
9	-1,-3,-6,-8,-9,-13,-14,-15,-22	MTSCC	aCGH	Peckova, 2015
3	-1, -4, -6, -9, -13, -14, -15, -18, -22 -1, -4, -6, -9, -13, -14, -15, -18, -22 -1, -6, -8, -11, -14, -15, -22	CDC	KRO	Fuzesi, 1992
1	-1,-3,-4,-6,-9,-11,-13,-14,-15,-17,-21,-22	CDC	KRO	Antonelli, 2003

Rövidítések: KRO - Kromoszóma analízis, MS - PCR-alapú mikroszatellita analízis, kCGH - chromosomális CGH, aCGH - array CGH, CDC – collecting duct carcinoma

Figyelembe véve az MTSCC változatos szövettani képét, a differenciális diagnosztikai nehézségeket, a kromoszóma vizsgálatokkal egyértelműen kórismézett eseteket, az MTSCC-t jóindulatú tumornak kell tekinteni. Amíg nem alkalmazzák a molekuláris genetikai módszereket az ún. hibrid, atípusos, malignus MTSCC pontos diagnózisára,

addig nem lehet az ilyen jellegű közleményeket komolyan venni. Ezért javasoltuk, hogy amíg a közölt rosszindulatú MTSCC diagnózisa nincs kromoszóma vizsgálattal megerősítve, helyesebb lenne mucinózus tubuláris és orsósejtes tumornak (MTSCT) nevezni, és a karcinóma kifejezést csak a valóban rosszindulatú tumorokra használni.

5.4. Papilláris vesetumor

Több mint 25 évvel ezelőtt került először közlésre, hogy a sporadikus papilláris vesetumort hordozó vesében átlagosan 42 papilláris PNL fordul elő, míg a konvencionális veserákot tartalmazó vesékben ezek száma átlagosan csak 0.4 (Kovacs és Kovacs, 1991). Ennek a megfigyelésnek az alapján született meg a feltételezés a papilláris vesetumорок embrionális maradványokból történő kiindulására (Kovacs 1993). A feltételezést megerősítette egy későbbi közlemény, amelyben a csírasejtes *MET* mutációhoz társuló familiáris papilláris veserákhoz több ezer mikroszkópos méretű papilláris prekursor lézió társulását írták le (Orstein és mtsai 2000). Familiáris és sporadikus esetek feldolgozásával megerősítettük a PRCT embryonális eredetéről alkotott hipotézisünket (Bányai és mtsai 2018).

A korábban leírt úgynevezett kortikális adenomák tulajdonképpen a PNL már makroszkóposan is észlelhető formájának felelnek meg. Keyes (1890) több mint 100 éve utalt ezeknek a lézióknak a gyakoriságára: “we do not regard it as extremely rare, since, owing the small size and inoffensive character of the growths, they are liable to be passed over without notice”. Cristol és mtsai (1946) 22 veserák miatt eltávolított vese részletes vizsgálatával 37 papilláris szerkezetű “adenomát” figyeltek meg. Apitz (1944) több mint 400 boncolásból 725 makroszkóposan észlelhető “adenomát” írt le. Mivel a papilláris veserák előfordulása férfiakban 5-10-szer gyakrabban fordul elő, mint nőkben, és a férfiak és nők aránya Cristol és Apitz vizsgálatában 10:1, illetve 4.2:1 volt, feltételezhetjük, hogy mindkét szériában a “ papilláris adenomák” PRCT-hez társultak.

A papilláris vese tumor embrionális eredete, azaz a normál vesefejlődés során kialakult differenciálódási zavar, a PNL perzisztálása és az egyes PNL-ekben elindult jóindulatú, és később rosszindulatú tumor kialakulásához vezető proliferációja alapján javasoltuk a differenciálódási zavar -PNL - adenoma-karcinóma szekvenciát a papilláris

vesetumrok kialakulásának leírására (Kovacs 1993; Bányai és mtsai 2017). Ezeket a szövettani/biológiai megjelenési formákat a papilláris léziókban kialakuló kromozómális- és gén elváltozásokkal tudjuk alátámasztani (Szponar és mtsai, 2009; Banyai és mtsai, 2017). Az úgynevezett klonális tumorfejlődés szerint nagyobb proliferációs képességgel rendelkező klónok túlnövik a többi sejtet, és a későbbiekben meghatározzák az egész tumor genom karakterét és biológiai viselkedését.

Annak ellenére, hogy manapság a legtöbb patológus molekuláris pathológiáról, sőt tévesen molekuláris biológiáról beszél, a jóindulatú papilláris adenomát és a rosszindulatú papilláris karcinómát centiméterben mérik. A WHO 2016-os klasszifikációja szerint a papilláris vesetumor 1,5 cm átmérő alatt adenoma, míg a 1,5 cm-nél nagyobb tumorok karcinómának tekintendők (WHO, 2016). Mi következetesen használtuk a papilláris vesetumor kifejezést, amely mind az adenomát, mind a karcinómát magába foglalja.

5.5. Az embrionális eredetű vesetumrok differenciáldiagnózisa

A WT megismétli a vesefejlődés során kialakuló szöveti elemek differenciálatlan formáit. Esetenként egy egész tumor, vagy annak egy részlete kis-közepes nagyságú epitheliális sejtekből épülhet fel, amelyek szolid, tubuláris vagy papilláris szerkezetet mutatnak, így hasonlíthatnak az MA nem típusos formájához. A típusos "tankönyvi" MTSCC párhuzamosan elhelyezkedő, összenyomott tubuláris szerkezetet mutat, a sejtek a Henle kacs sejteire emlékeztetnek, de időnként tágult tubuláris és papilláris megjelenés is látható (Rakozy és mtsai, 2002; Banyai és mtsai 2017). A papilláris növekedés adta az okot arra, hogy az MTSCC-t a papilláris vesetumor szubtypusának tartassák (Shen és mtsai, 2007). A papilláris vesetumor az élet során perzisztáló különböző differenciáltságú PNL-ből indul ki, és a kis "kék" sejtektől a nagy, differenciálódott eozinofil epitheliális sejtekig minden sejtforma megjelenhet, amelyek szolid, tubuláris, és papilláris növekedést mutathatnak (Balint és mtsai, 2009). Amint a fentiekből látható, időnként a kevés citoplazmával rendelkező kis sejtek szolid, tubuláris, esetleg papilláris növekedése, amely az MA-ra jellemző, előfordulhat WT-ben, MTSCC-ben és papilláris vesetumorban is. Az átfedő szövettani kép egyes esetekben differenciális diagnosztikus nehézséget okozhat.

A PhD munkában megvizsgáltuk a fentebb tárgyalt embrionális eredetű epitheliális vesetumороkban 5 olyan gén expresszióját, amelyeket az ISUP Consensus Conference (Reuter és mtsai, 2014) ajánlott ezeknek a tumoroknak a differenciális diagnózisára. Az immunhisztológia kiértékeléséhez hozzáadtuk az egy korábban elvégzett munka során a SCEL immunhisztokémiával kapott adatokat is (Nagy és mtsai, 2015). Az immunhisztokémiai vizsgálatok eredményét a 2. Táblázatban foglaltuk össze.

2. Táblázat. A WT, MA, MTSCC és PRCT és társuló prekursor léziók immunhisztológiája.

Antitest	WT		MA	MTSCC		PRCT	
	PL-NR	T		PNL	T	PNL	T
CD57	9/9	12/15	10/10	4/4	7/9	10/10	56/76
KRT7	0/9	0/15	0/10	3/4	6/9	7/10	57/76
AMACR	0/9	0/15	0/10	2/4	8/9	7/10	74/76
SCEL*	0/9	0/15	0/10	0/4	0/9	13/19	87/114
WT-1	9/9	12/15	10/10	0/4	0/9	0/10	0/76
CDH17	9/9	0/15	9/10	0/4	0/9	0/10	2/76

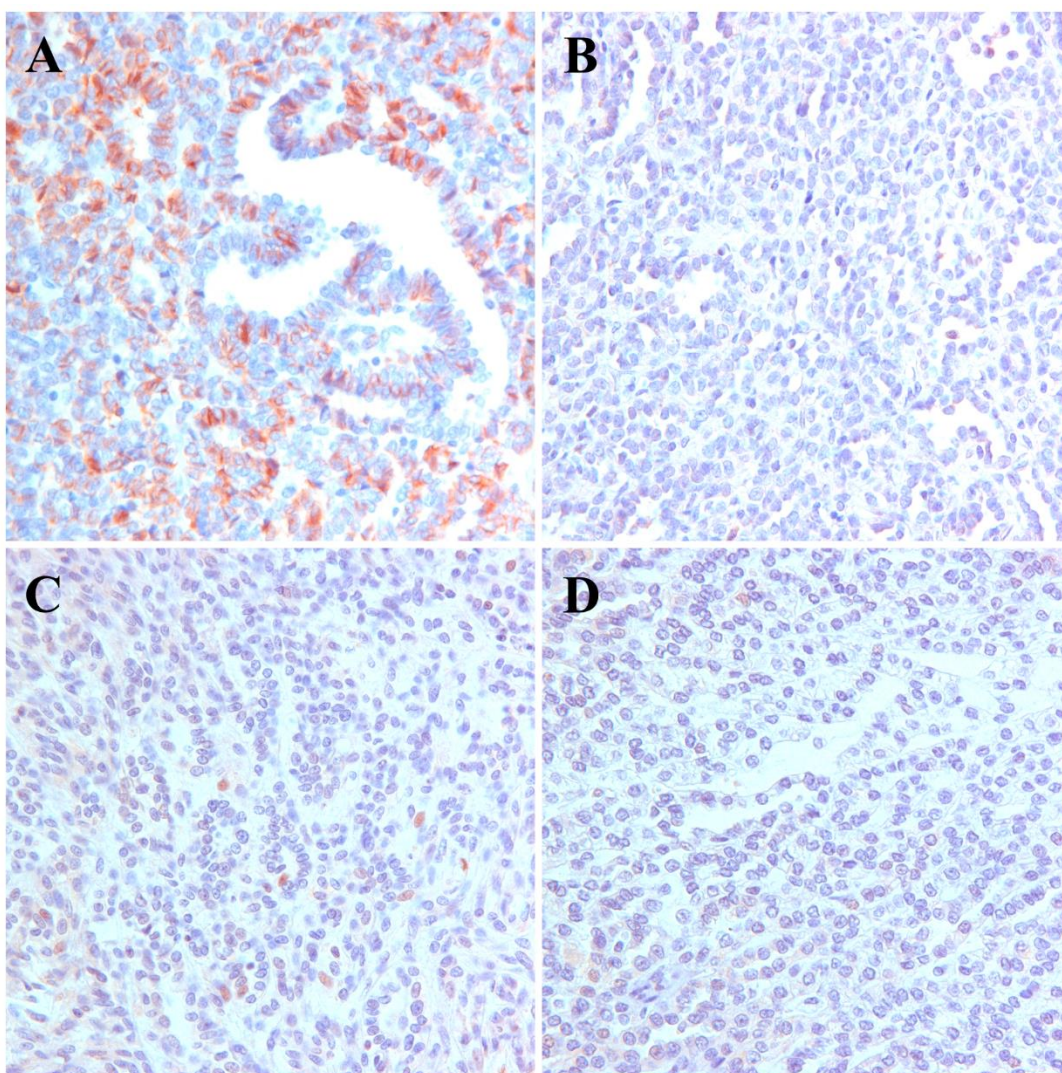
WT, Wilms tumor; PL-NR, perilobar nephrogenic rest; T, tumour; MA, metanephric adenoma; MTSCC, mucinous tubular and spindle cell carcinoma; PNL, pre-neoplastic lesion; PRCT, papillary renal cell tumour. * (Nagy és mtsai, 2015)

A *B3GAT1* gént, amely a CD57 fehérjét kódolja, több szerző MA specifikus markernek írta le (Reuter és mtsai, 2014; Kinney és mtsai 2015). Valóban, a CD57 minden MA-ban kifejeződik, de a 15 WT-ből 12-ben, különösen az MA szerű szövettani képet mutató tumorokban pozitív reakciót kaptunk. Az MTSCC 78%-a és a papilláris vesetumороk 74%-a adott pozitív reakciót a CD57 antitesttel. Eredményünk ellentétben áll az ISUP ajánlással és azzal az adattal, amely szerint 15 papilláris vesetumorból csak egy volt pozitív a CD57 antitestre (Reuter és mtsai, 2014; Kinney és mtsai 2015). Eredményünket, hogy a *CD57* WT-ben és papilláris vesetumorban is kifejeződik, már mások is leírták, mi ezeket az adatokat fogadjuk el (Muir és mtsai, 2001; Mantoan és mtsai, 2013).

A KRT7 valamint AMACR immunhisztokémia egyértelműen elkülönített két tumor csoportot. Az egyik csoportba a WT és az MA tartozik, amelyek a vese korai differenciálódási zavarának felelnek meg. Mind a WT, mind az MA negatív eredményt adott az AMACR és a KRT7 antitestekkel. A WT-t és az MA-t a WT1 gén kifejeződése is megkülönbözteti az MTSCC-tól és papilláris vesetumortól, mert míg az előzőek pozitívan festődnek, az utóbbiak mindegyike negatív reakciót adott. A második csoport az MTSCC és a papilláris vesetumor, amelyek a vesefejlődés későbbi szakaszának megfelelően epitheliális differenciálódásra elkötelezett sejtekből indulnak ki. Mind az MTSCC, mind a papilláris vesetumor pozitív immunreakciót mutatott az AMACR és a KRT7 antitesttel.

Az első csoportban - bár mind a WT, mind az MA pozitívan festődik a WT1 antitesttel - a CDH17 antitest kizárólag az MA-ban ad pozitív reakciót és sem a WT, sem az MTSCC vagy a PRCT nem festődik (19. ábra). Így az átfedő szövettani megjelenésű WT és az MA egyértelműen elkülöníthető a WT1 és CDH17 immunhisztológiával.

A második csoporton belül az SCEL immunhisztológiának van megkülönböztető diagnosztikus jelentősége. Az MTSCC és a papilláris vesetumor pozitív mind AMACR, mind KRT7 antitesttel, de az SCEL kizárólag a papilláris veserákban fejeződik ki (Nagy és mtsai. 2015) A fent említett tumor markerek segítségével az úgynevezett szolid-tubuláris szövettani megjelenésű WT, MA, MTSCC és papilláris vesetumor egyértelműen elkülöníthető.



17. ábra. Hasonló szövettani szerkezetű, embryonális eredetű vesetumорок CDH17 immunhisztológiája. **A.** Membránhoz kötött, erős immunreakció egy MA sejtjeiben, a papilláris struktúrát is beleértve. Nem kaptunk pozitivitást a CDH17 antitesttel szolid-tubuláris formában nöвő WT-ben (B), MTSCC-ben (C) és PRCT-ben (D).

Ezzel kapcsolatban nem szabad említés nélkül hagyni, hogy a DNS-alapú tumordiagnosztika továbbra is a legmegbízhatóbb módszer ezeknek a tumoroknak az elkülönítésére. A WT-re a kromoszóma 1q, 7q és 12 duplikációja, továbbá a kromoszóma 11 és 16 vesztése jellemző. Az MTSCC-ben a kromoszóma 1, 4, 6, 9, 13, 14, 15 és 22 monoszómiájának van diagnosztikus értéke, míg a papilláris vesetumorra a kromoszóma 7, 17, 8, 12, 16 és 20 duplikációja jellemző (Rakozy és mtsai, 2002; Banyai és mtsai, 2017; Natarjan és mtsai, 2006; Szponar és mtsai, 2009). A BRAF V600E mutációja kizárólag, ha nem is minden egyes MA-ban fordul elő, ami szintén felhasználható a MA diagnózisának megerősítésére (Choueiri és mtsai, 2012).

5.6. A WT, MA, MTSCC és PRCT prekursor léziói

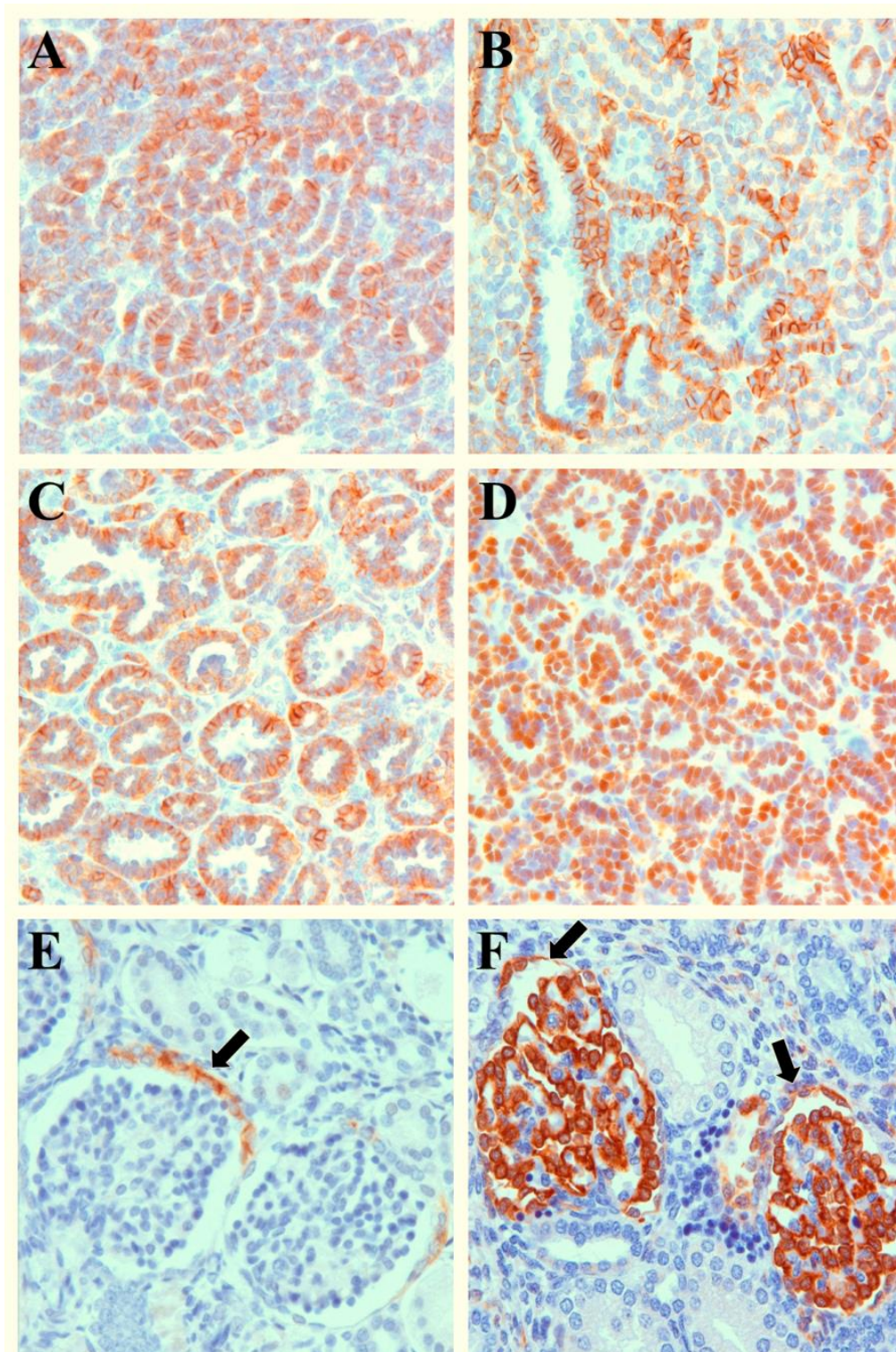
A tumorok kialakulásának megértéséhez fontos megfigyelés volt, hogy a tumorokhoz társuló prekursor léziók a tumorról azonos immunreakciót mutattak. A WT1 immunhisztológia mind a WT-ben, mind a hozzá kapcsolódó PL-NR-ben pozitív volt. Hasonlóan, a KRT7 és az AMACR gének nemcsak az MTSCC-ben és a papilláris vesetumorban, hanem az ezekhez társuló PNL-ben is kifejeződtek. Ezek az adatok megerősítik a prekursor léziók és a tumorok közti kapcsolatot, azaz azt a feltevést, hogy a WT, az MTSCC és a papilláris vesetumor embryonális eredetű prekursor léziókból indul ki.

Sajnos, nem állt módunkban MA-t tartalmazó egész vese feldolgozása, hogy az MA-hoz esetlegesen társuló prekursor léziókat megtaláljuk. Ehelyett egy nem várt eredmény segített. Amint fentebb már ismertettük, az MA - a szöveti szerkezettől függetlenül - pozitív reakciót adott a CDH17 antitesttel (20. Ábra A és B). Meglepetésünkre mind a 9 WT-hez társuló PL-NR, hyperplastikus területek kivételével, pozitív immunreakciót adott a CDH17 antitesttel (20. Ábra C). Hasonló szöveti szerkezetű PL-NR, ahogy ez várható volt, erős sejtmagfestést adott a WT1 antitesttel (20. Ábra D). Ugyanakkor egyetlen WT sem volt pozitív a CDH17 antitesttel. A szöveti hasonlóság valamint a PL-NR és MA közös CDH17 antigén profilja arra utal, hogy az MA a perzisztáló PL-NR-ből indul ki.

Ez a nem várt eredmény készítetett bennünket arra, hogy megvizsgáljuk a CDH17 és a WT1 kifejeződését főtális vesében. A 11. gesztációs hétből származó vesékben a Bowman-tok parietális epitheliuma pozitív festődést mutatott a CDH17 antitesttel, de a proximális tubulus sejtszelei már nem fejezték ki a CDH17 fehérjét (20. Ábra E). A 3-6 hónapos újszülöttek és a felnőttek veséje teljesen negatív volt. A szintén a 11. gesztációs hétből származó vesében a WT1 antitesttel pozitív immunreakció volt megfigyelhető a glomerulus podocitákban és a Bowman-tok parietális sejtszeleiben (20. Ábra F). Felnőttkori vesében erős nukleáris pozitivitás állt fenn a podociták 50-70%-ában.

Az immunhisztológiai vizsgálatok talán legérdekesebb eredménye a PL-NR és az MA közötti szoros összefüggés. Az összes PL-NR, valamint egy kivételével az összes MA pozitív reakciót mutatott a CDH17 antitesttel. PL-NR többnyire részben differenciált tubulárisan növekedő epitheliális sejtekből épül fel, míg a legtöbb WT a különböző magasságú epitheliális sejtek mellett blastémális, stromális, valamint glomeruloid léziókat tartalmaz (Beckwith és mtsai, 1990). Az a lehetőség, hogy a rosszindulatú WT a sejtek differenciálódása révén egy jóindulatú tumor, azaz MA kialakulásához vezet, nem valószínű (Argani, 2005; Muir és mtsai, 2001). Vizsgálatainkban a WT-ben talált MA-szerű szövettani részletek nem adtak pozitív reakciót a CDH17 antitesttel, ami kizárja annak a lehetőségét, hogy az “aktív” (rosszindulatú) WT differenciálódik egy “inaktív” azaz jóindulatú tumorrá.

Az embryonális fejlődés során a WT1 többek közt az S-forma proximális doménjében fejeződik ki, ahol a sejtek már elkötelezték a podocyták, valamint a Bowman-tok parietális sejtjeinek formálására (Takemoto és mtsai, 2006). Ezeknek sejteknek a differenciálódási zavara vezethet a PL-NR kifejlődésére a WT spektrumon belül. Megfigyelésünk, hogy a CDH17 specifikusan az MA-ban, a PL-NR-ben és a főtális vese Bowman-tok parietális sejtjeiben fejeződik ki, alátámasztja feltételezésünket. Egy csírasejtes WT génmutációt hordozó, és progresszív vesebetegségben szenvedő fiataloknál “embryonal hyperplasia of the Bowman capsular epithelium” (EHBCE) elnevezésű elváltozást írtak le (Fukuzawa és mtsai, 2003). EHBCE és MA közös előfordulását is közölték (Keshani és mtsai, 2000). Idült veseelégtelenségben a vese átépülésével kapcsolatban is megfigyeltek EHBCE-szerű sejtproliferációt (Hughson és mtsai, 1978). Itt érdemes megjegyezni, hogy a Bowman-kapszula összejtire jellemző CD24 és CD133 pozitív sejtjei képesek felnőttkorban



20. Ábra. A CDH17 és WT1 kifejeződése PL-NR-ben és főtális veseszövetben. **A és B,** Pozitív festődés a DCH17 antitesttel mind a tubuláris, mind a papilláris szerkezetű MA-ban. **C,** PL-NR-ben a CDH17 antitesttel membránhoz kötött pozitív immunreakciót kaptunk. **D,** Egy másik PL-NR sejtjeiben *WT1* antitesttel erős sejtmag pozitivitást kaptunk. **E,** Bowman kapszula parietális sejtjei pozitív immunreakciót mutatnak a CDH17 antitesttel (nyíl). **F,** Erős sejtmag és cytoplasma festődés a podocitákban és Bowman-kapszula parietális sejtjeiben a *WT1* antitesttel (nyíl).

is podocalyxin-pozitív podocitává differenciálódni, és a glomerulusba vándorolni (Appel et al. 2009; Ronconi et al. 2009). Ez arra utal, hogy ezek a CMM eredetű sejtek felnőttkorban is megőrzik a plaszticitásukat, és képesek a podociták regenerációjára. Az átépült vesében felnőtt korban kialakult EHBCE valószínűleg ezekből a sejtekből indul ki.

5.7. Hypotézis az embryonális eredetű vesetumorok kialakulására

Cohnheim (Cohnheim, 1882) feltételezését, hogy az embryonális szervfejlődés során *nem differenciálódott sejtcsoportokból* vagy a *pluripotens sejtek „túltermeléséből”* a későbbi években tumor alakulhat ki a WT széleskörű szövettani és molekuláris vizsgálatával igazolták (Beckwith és mtsai, 1990; Vounonvirta és mtsai, 2009). Elfogadott, hogy a WT a proliferációs képességgel rendelkező, nem, vagy csak részben differenciálódott sejtcsoportokból, PL-NR- vagy IL-NR-ből indul ki.

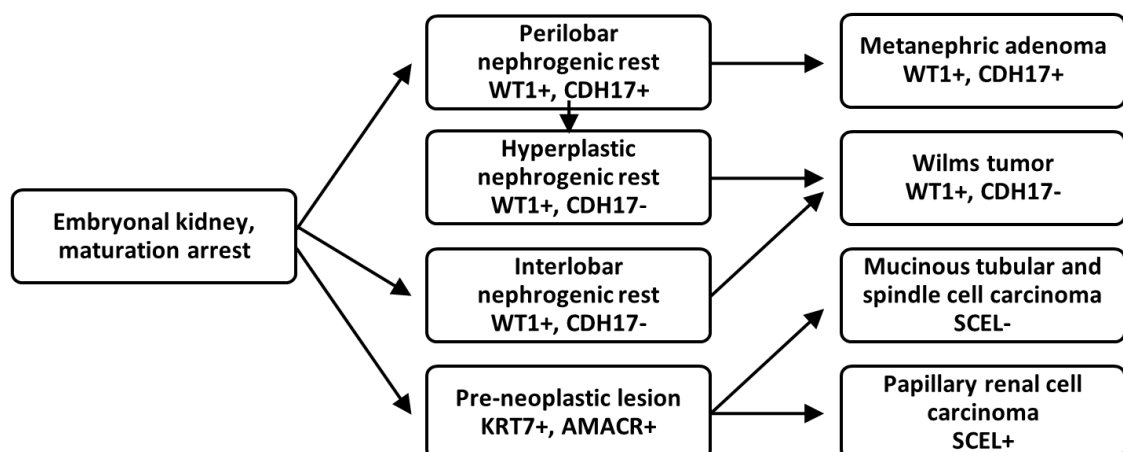
A PL-NR többnyire epitheliálisan differenciálódott sejtekből épül fel. Ezekben a léziókban a néha előforduló hyperplasztikus, anaplasztikus növekedés az úgynevezetthyperplasztikus NR kialakulásához vezet, amely további proliferáció révén WT-t eredményezhet. Vizsgálatunk arra utal, hogy a tisztán epitheliálisan differenciálódó, időnként glomerulus-szerű képleteket mutató PL-NR lassú proliferációjával MA alakulhat ki (Sarlos és mtsai, 2018). Ezt nemcsak az immunhisztológiai vizsgálatok eredménye, de a hasonló szövettani megjelenés is támogatja. A PL-NR és az MA többnyire éles határral különül el a normál vese parenchymától.

Az IL-NR nem éles határú, a normál veseszövettel összefüggően proliferál, és a legtöbb esetben stromális sejteket is tartalmaz. Ez arra utal, hogy a legtöbb trifázisos, jelentős fibroblasztos, vagy időnként heterológ szöveteket - mint simaizmot, myoblastot - tartalmazó WT valószínűleg az IL-NR-ből indul ki. Az NR szöveti differenciálódása nagy fokban meghatározza a belőle kialakuló WT szöveti szerkezetét is (Fukuzawa és mtsai, 2008).

A papilláris vesetumorhoz, valamint az MTSCC-hez társuló PNL ritkán tartalmaz éretlen, blastéma szerű sejteket, többnyire szolid, tubuláris felépítésű, de néha cystikus-papilláris növekedést mutat. Ezek a PNL-k immunhisztológiai vizsgálattal megkülönböztethetők a WT-hez társuló PL-NR-től és IL-NR-től (Szponar és Kovacs, 2012). Amíg a PL-NR és az IL-NR az anti-WT1 antitesttel pozitívan festődik, a papilláris vesetumorhoz és az MTSCC-hez társuló PNL-ek kivétel nélkül negatív immunreakciót mutatnak a WT1-gyel. A KRT7 immunhisztológia ennek az ellenkezőjét mutatja. Mind a papilláris vesetumorhoz, mind az MTSCC-hez társuló PNL pozitív festődést ad az anti-KRT7 antitesttel, míg a PL-NR és az IL-NR minden esetben negatív.

A jelen munka eredményeinek és az előzetes irodalmi adatok figyelembe vételével arra a következtetésre jutottunk, hogy a vese embryonális fejlődésének egy korai szakaszában bekövetkezett differenciálódási zavara miatt PL-NR és IL-NR alakul ki, amely epitheliális, illetve epitheliális, blastémális, és strómális sejtekből épülhet fel. Amennyiben a differenciálódási zavar a nefron kialakulásának későbbi fázisában, azaz a sejtek epitheliális elkötelezettsége után jön létre, akkor ez az MTSCC-t és a PRCT-t megelőző PNL kialakulásához vezethet. A PRCT-hez társuló PNL-ek egy részéből felnőttkorban papilláris adenóma és karcinóma fejlődhet ki (Szponar és mtsai, 2009; Bányai és mtsai, 2017).

Hypotézisünket a 21. ábrán foglaltuk össze.



21. Ábra. Az embryonális eredetű vesetumороk kialakulásának feltételezett folyamata.

6. Következtetések

1993-ban, majd 1997-ben egy paradigma változás következett be a vese tumorainak osztályozásában, amennyiben a korábbi szövettani osztályozást egy kromoszómális, DNS elváltozásokon nyugvó, teljesen új szemléletű vesetumor osztályozás, a Heidelbergi Klasszifikáció váltotta fel. Ehhez később számos ritkán, vagy rendkívül ritkán előforduló vesetumort csatlakoztattak (Moch és mtsau, WHO, 2016). Ezeknek a ritkán előforduló tumoroknak, mint a metanefrogén adenoma (MA) és a mucinózus tubuláris és orsósejtes karcinóma (MTSCC) nem volt tisztázott a pontos eredete, természete. A PRCT korábban javasolt embryonális eredetét sem fogadta el a WHO és az ISUP (International Society of Urological Pathologist) körébe tartozó patológusok csoportja.

Munkámban a nemzetközi szinten széles körben vizsgált Wilms tumort vettem alapnak, és ennek a felhasználásával megpróbáltam az MA, az MTSCC és a papilláris vesetumor eredetét tisztázni. Kidolgoztam a korábban kromoszóma- és DNS-array segítségével egyértelműen azonosított, de átfedő szövettani képet mutató tumorok felhasználásával egy immunhisztokémián alapuló megkülönböztető kórismézést, amely egyúttal a tumorok embryonális eredetét is figyelembe veszi. A következtetések röviden:

A. A nemzetközi standardnak megfelelően megerősítettük a WT és a nefrogén maradványok (NR) közötti összefüggést.

B. Elsőként felismertük az MTSCC kialakulása és a pre-neoplasztikus lésiók (PNL) közötti összefüggést.

C. Először mutattunk rá a perilobuláris NR és az MA közötti immunhisztológiai hasonlóságra, és ennek alapján arra, hogy az MA a perzisztáló PL-NR-ből indul ki.

D. Szövettani vizsgálattal igazoltuk a PRCT-hez társuló PNL-ek jelenlétét, amely minden kétséget kizárva arra utal, hogy a WT-hez hasonlóan a PRCT eredete is embryonális differenciálódási zavarra vezethető vissza.

E. Kidolgoztunk egy immunhisztológiai panelt, amelynek alkalmazásával az átfedő morfológiájú WT, MA, MTSCC és PRCT egyértelműen elkülöníthető.

F. Figyelembe véve irodalmi, de főképpen saját adatainkat, javasoltunk egy modellt a WT, az MA, az MTSCC és a PRCT embryonális differenciálatlan maradványokból (NR és PNL) való kiindulásának leírására.

7. Irodalom jegyzék

Alami J, Williams BRG, Yeger H. Expression and localisation of HGF and met in Wilms' tumours. *J Pathol* 196:76-84, 2002.

Alexiev BA, Burke AP, Drachenberg CB, et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney with prominent papillary component, a non-classic morphologic variant. A histologic, immunohistochemical, electron microscopic and fluorescence in situ hybridization study. *Pathol Res Practice* 210: 454-458, 2014.

Antonelli A, Portesi E, Cozzoli A, és mtsai. The collecting duct carcinoma of the kidney: A cytogenetical study. *Eur Urol* 43: 680-685, 2003.

Apitz K. Die Geschwülste und Gewebsmissbildungen der Nierenrinde. Die Adenoma. *Virchows Arch* 311:328-359, 1944.

Appel D, Kershaw DB, Smeets B et al. Recruitment of podocytes from glomerular parietal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 20:333-343, 2009

Argani P Metanephric neoplasms: the hyperdifferentiated, benign end of the Wilms tumor spectrum? *Clin Lab Med* 25:379-392, 2005

Argani P, Netto GJ, Parwani AV. Papillary renal cell carcinoma with low-grade spindle cell foci: a mimic of mucinous tubular and spindle cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 32: 1353-1359, 2008

Balint I, Szponar A, Jauch A, et al. Trisomy 7 and 17 marks papillary renal cell tumours irrespectively of variation of the phenotype. *J Clin Pathol* 62:892-895, 2009

Banyai D, Vastag F, Yusenko M, et al. Embryonal origin of MTSCC of kidney may explain its morphological heterogeneity: Diagnostic impact of genetic analysis. *Anticancer Res* 37:1185-1189, 2017

Banyai D, Sarlos P, Nagy A, Kovacs G. Recalling Cohnheim's theory: Papillary renal cell tumor as a model of tumorigenesis from impaired embryonal development to malignant tumors in adults. *Int J Biol Sci* 14(7):784-790.,2018

Barker N, Rookmaaker MB, Kujala P, et al. Lgr5(×ve) stem=progenitor cells contribute to nephron formation during kidney development. *Cell Rep* 2:540-552, 2012

- Beckwith JB, Kiviat NB, Bonadio JF: Nephrogenic rests, nephroblastomatosis, and the pathogenesis of Wilms' tumor. *Pediatric Pathology* 10: 1-36, 1990
- Blomquist SR, Vidarsson H, Fitzgerald S et al. Distal renal tubular acidosis in mice that lack of forkhead transcription factor Foxi1. *J Clin Invest* 113:1560-1570, 2004
- Bove KE, McAdams AJ. The nephroblastomatosis complex and its relationship to Wilms' tumor: a clinicopathologic treatise. *Perspect Pediatr Pathol* 3: 185-223, 1976
- Brisigotti M, Cozzutto C, Fabbretti G, et al. Metanephric adenoma. *Histol. Histopathol.* 7:689-692, 1992
- Bruder E, Passarge O, Harms D et al. Morphologic and molecular characterisation of renal cell carcinoma in children and young adults. *Am J Surg Pathol* 28:1117-1132, 2004.
- Brown JA, Anderl KL, Borell TJ, et al: Simultaneous chromosome 7 and 17 gain and sex chromosome loss provide evidence that renal metanephric adenoma is related to papillary renal cell carcinoma. *J Urol* 158:370-374, 1997.
- Cheng HT, Kim M, Valerius MT, et al. Notch 2, but not Notch1, is required for proximal fate acquisition in the mammalian nephron. *Development* 134:801-811, 2007
- Chi X, Michos O, Shakya R et al. Ret-dependent cell rearrangements in the Wolffian duct epithelium initiate ureteric bud morphogenesis. *Dev Cell* 17:199-209, 2009.
- Choueiri TK, Cheville J, Palescandolo E, et al. BRAF mutations in metanephric adenoma of the kidney. *Eur Urol* 62:917-922, 2012.
- Clark J, Lu Y-J, Sidhar SK, et al. Fusion of splicing factor genes *PSF* and *NonO* (p54nrb) to the *TFE3* gene in papillary renal cell carcinoma. *Oncogene*. 15:2233-2239, 1997.
- Cohnheim J. Vorlesungen über allgemeine Pathologie. Berlin August Hirschwald p.737, 1882.
- Constantini F, Kopan R. Patterning a complex organ: Branching morphogenesis and nephron segmentation in kidney development. *Dev Cell* 18:698-712, 2010.
- Cristol DS, McDonald FR, Immel FL. Renal adenomas in hypernephromatous kidneys: a study of their incidence, nature and relationship. *J Urol*. 55: 328-359, 1946.
- Davidoff AM. Wilms tumor. *Adv Pediatr* 59:247-267, 2012.
- Davis CJ, Barton JH, Sesterhenn IA, et al: Metanephric adenoma. Clinicopathological study of fifty patients. *Am J Surg Pathol* 19:1101-1114, 1995.
- Davis J. Intracellular and extracellular regulation of ureteric bud morphogenesis. *J Anat* 198:257-264. 2001.

Dhillon J, Amin MB, Selbs E et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney with sarcomatoid change. *Am J Surg Pathol* 33: 44-49, 2009

Dressler GR. The cellular basis of kidney development. *Ann Rev Cell Dev Biol* 22:509-529, 2006

Drut R, Drut RM, Ortolani C. Metastatic metanephric adenoma with foci of papillary carcinoma in a child. *Int. J. Surg. Pathol.* 9:241-247, 2001

Farghaly H: Mucin poor mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney, with nonclassic morphologic variant of spindle cell predominance and psammomatous calcification. *Ann Diag Pathol* 16: 59-62, 2012.

Ferlicot S, Lupo A, Lazure T, et al.: A novel entity: low grade mucinous tubular renal carcinoma. *Histopathology* 47: 218-219, 2005.

Fukuzawa R, Anaka MR, Heathcott EW et al. Wilms tumour histology is determined by distinct types of precursor lesions and not epigenetic changes. *J Pathol* 215:377-387, 2008.

Fukuzawa R, Eccles MR, Ikeda M, et al. Embryonal hyperplasia of Bowman s capsular epithelium in patients with WT1 mutations. *Pediatr Nephrol* 18:9-13, 2003.

Fuzesi L, Cober M, Mittermayer C. Collecting duct carcinoma: cytogenetic characterization. *Histopathol* 21: 155-160. 1992.

Gatalica Z, Grujic S, Kovatich A, et al: Metanephric adenoma: histology, immunophenotype, cytogenetics, ultrastructure. *Mod Pathol* 9:329-333, 1996.

Georgas K, Rumballe B, Valerius MT et al. Analysis of early nephron patterning reveals a role for distal RV proliferation in fusion to the ureteric tip via a cap mesenchyma-derived connecting segment. *Dev Biol* 332:273-286, 2009.

Grignon DJ, Eble JN: Papillary and metanephric adenomas of the kidney. *Semin Diagn Pathol* 15:41-53, 1998.

Guertl B, Leuschner I, Harms D, et al. Genetic clonality is a feature unifying nephroblastomas regardless of the variety of morphological subtypes. *Virchows Arch* 449:171-174,2006.

Hatini V, Huh SO, Herzlinger D et al. Essential role of stromal mesenchyme in kidney morphogenesis revealed by targeted disruption of Winged Helix transcription factor BF-2. *Genes Dev* 10:1467-1478, 1996.

Heliot C, Desgrange A, Buisson I, et al. HNF1B controls proximal-intermediate nephron segment identity in vertebrates by regulating Notch signaling components and Irx1/2. *Development*. 140: 873-885, 2013.

Hennigar RA, Beckwith JB: Nephrogenic adenofibroma. A novel kidney tumor of young people. *Am J Surg Pathol* 16:325-334, 1992.

Hughson MD, McManus JFA, Hennigar GR. Studies on "end-stage" kidneys. II. Embryonal hyperplasia of Bowman's capsular epithelium. *Am J Pathol* 91:71-80, 1978.

Jones EC, Pins M, Dickersin R, et al: Metanephric adenoma of the kidney. A clinicopathological, immunohistochemical, flow cytometric, cytogenetic, and electron microscopic study of seven cases. *Am J Surg Pathol* 19:615-626, 1995.

Keshani de Silva V, Tobias V, Kainer G, et al. Metanephric adenoma with embryonal hyperplasia of Bowman's capsular epithelium: previously unreported association. *Pediatr Dev Pathol* 3:472-478, 2000

Keyes EL. Adenoma of the kidney. Successful nephrectomy. *Am J Med Sci*. 100: 549-558, 1890

Kinney SN, Eble JN, Hes O, et al. Metanephric adenoma: the utility of immunohistochemical and cytogenetic analysis in differential diagnosis, including solid variant papillary renal cell carcinoma and epithelial-predominant nephroblastoma. *Mod Pathol* 28:1236-1248, 2015

Kobayashi A, Kwan KM, Carroll TJ, et al. Distinct and sequential tissue-specific activities of the LIM-class homeobox gene *Lim1* for tubular morphogenesis during kidney development. *Development* 132:2809-2823, 2005

Kobayashi A, Valerius MT, Mugford JW, et al. *Six2* defines and regulates the multipotent self-renewing nephron progenitor population throughout mammalian kidney development. *Cell Stem Cell* 3:169-181, 2008

Kovacs G, Akhtar M, Beckwith B, et al: The Heidelberg classification of renal cell tumours. *J Pathol* 183:131-133, 1997.

Kovacs G, Fuzesi L, Emanuel A, et al. Cytogenetics of papillary renal cell tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 3: 249-255, 1991

Kovacs G. Molecular cytogenetics of renal cell tumors. *Adv Cancer Res*. 62: 89-124, 1993

Kuroda N, Hes O, Michal M, et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma with Fuhrman nuclear grade 3: a histological, immunohistochemical, ultrastructural and FISH study. *Histol Histopathol.* 12:1517-1523, 2008

Kuroda N, Naroda T, Tamura M, et al.: High-grade mucinous tubular and spindle cell carcinoma: comparative genomic hybridization study. *Ann Diag Pathol* 15: 472-47, 2011.

Little MH, McMahon P. Mammalian kidney development: principles, progress, and projections. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4, 2015

Little MH. Improving our resolution of kidney morphogenesis across time and space. *Current Opinion in Genetics and Development* 32:135-143, 2015

Looyenga BD, Furge KA, Dykema KJ, et al. Chromosomal amplification of leucine-rich repeat kinase-2 (LRRK2) is required for oncogenic MET signaling in papillary renal and thyroid carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA.* 108: 1439-1444, 2011

Mantoan Padilha M, Billis A, Alende D, et al. Metanephric adenoma and solid variant of papillary renal cell carcinoma: common and distinctive features. *Histopathology* 62:941-953, 2013

Massa F, Garbay S, Bouvier R, et al. Hepatocyte nuclear factor 1 beta controls nephron tubular development. *Development.* 140: 886-896, 2013

Meloni M, Dobbs RM, Pontes JE, et al. Translocation (X;1) in papillary renal cell carcinoma A new cytogenetic subtype. *Cancer Genet Cytogenet* 65:1-6,1993

Mendelson C, Batourina E, Fung S, et al. Stromal cells mediate retinoid-dependent functions essential for renal development. *Development* 126:1139-1148, 1999

Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE (Eds): WHO Classification of tumours of the urinary system and male genital organs (4th edition). IARC: Lyon 2016.

Mugford JW, Yu J, Kobayashi A et al. High-resolution gene expression analysis of the developing mouse kidney defines novel cellular compartments within the nephron progenitor population. *Dev Biol* 333:312-323, 2009

Muir TE, Cheville JC, Lager DJ. Metanephric adenoma, nephrogenic rests, and Wilms tumour: a histologic and immunophenotypic comparison. *Am J Surg Pathol* 25:1290-1296, 2001

Nagy A, Banyai D, Semjen D, et al. *Sciellin* is a marker for papillary renal cell tumours. *Virchows Arch* 467:695-700, 2015

- Nakai S, Sugitani Y, Sato H, et al. Crucial role of Brn1 in distal tubule formation and function of mouse kidney. *Development* 130:4751-4759, 2003
- Ornstein DK, Lubensky IA, Venzon D, et al. Prevalence of microscopic tumors in normal appearing renal parenchyma of patients with hereditary papillary renal cancer. *J Urol.* 163: 431-433, 2000
- Peckova K, Martinek P, Sperga M, et al.: Mucinous spindle and tubular renal cell carcinoma: analysis of chromosomal aberration pattern of low-grade, high-grade, and overlapping morphologica variant with papillary renal cell carcinoma. *Ann Diagn Pathol* 19: 226-231, 2015.
- Pillay N, Ramdial PK, Cooper K, et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma with aggressive histomorphology - a sarcomatoid variant. *Hum Pathol* 39: 966-969, 2008.
- Puelles VG, Hoy WE, Hughson M, al. Glomerular number and size variability and risk for kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 20:7-15, 2011
- Rakozy C, Schmahl GE, Bogner S, et al.: Low-grade tubular-mucinous renal neoplasms: morphologic, immunohistochemical, and genetic features. *Mod Pathol* 15: 1162-1171, 2002.
- Reggiani L, Raciti D, Airik R, et al. The prepattern transcription factor Irx3 directs nephron segment identity. *Genes Dev* 20:2358-2370., 2007
- Renshaw AA, Freyer DR, Hammers YA. Metastatic metanephric adenoma in a child. *Am. J. Surg. Pathol.* 24:570-574, 2000
- Reuter V, Argani P, Zhou M, et al. ISUP: Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the kidney tumors. *Am J Pathol* 38: 35-49, 2014.
- Rivera MN, Haber DA. Wilms tumor: connecting tumorigenesis and organ development in the kidney. *Nat Rev Cancer* 5: 699-712, 2005
- Ronconi E, Sagrinati C, Angelotti ML et al. Regeneration of glomerular podocytes by human renal progenitors. *J Am Soc Nephrol*; 20:322-332, 2009
- Schmidt L, Duh FM, Chen F, et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nature Genet.* 16: 68-73. 1997
- Self M, Lagutin OV, Bowling B, et al. Six2 is required for suppression of nephrogenesis and progenitor renewal in the developing kidney. *EMBO J* 25:5214-5228, 2006

- Shen SS, Ro JY, Tamboli P. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of kidney is probably a variant of papillary renal cell carcinoma with spindle cell features. *Ann Diagn Pathol* 11:13-21, 2007
- Sidhar SK, Clark J, Gill S, et al. The t(X;1)(p11.2;q21.2) translocation in papillary renal cell carcinoma fuses a novel gene PRCC to the TFE3 transcription factor gene. *Hum Mol Genet* 9:1333-1338, 1996
- Srigley J, Kapusta L, Reuter V, et al. Phenotypic, molecular and ultrastructural studies of a novel low grade renal epithelial neoplasm possibly related to the loop of Henle. *Mod Pathol* 15. 33, 2002
- Stumm M, Tönnies H, Phillip C, et al. Partial monosomy 2p as the single chromosomal anomaly in a case of renal metanephric adenoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 115:82-85, 1999
- Stupar Z, Chi S, Veszpremi B, et al. Wilms' tumour may develop from impaired differentiation of the ureteric bud as well. *Histopathology* 51:265-268, 2007
- Szponar A, Kovacs G: Expression of KRT7 and WT1 differentiate precursor lesions of Wilms' tumours, papillary renal cell tumours and mucinous tubular and spindle cell carcinomas. *Virchows Arch* 460: 423-427, 2012.
- Szponar A, Yussenko MV, Kovacs G High-resolution array CGH of metanephric adenomas: lack of DNA copy number changes. *Histopathology* 56:212-216, 2010
- Szponar A, Yussenko MV, Kuiper R, et al. Genomic profiling of papillary renal cell tumours identifies small regions of DNA alterations: a possible role of HNF1B in tumour development. *Histopathology* 58:934-943, 2011
- Szponar A, Zubakov D, Pawlak J, et al. Three genetic developmental stages of papillary renal cell tumors: Duplication of chromosome 1q marks fatal progression *Int J Cancer* 124:2071–2076, 2009
- Takemoto M, He L, Norlin J, et al. Large-scale identification of genes implicated in kidney glomerulus development and function. *EMBO J* 25:1160-1174, 2006
- Thway K, du Parc J, Larkin JMG, et al. Metastatic renal mucinous tubular and spindle cell carcinoma. Atypical behavior of a rare, morphologically bland tumor. *Ann Diagn Pathol* 16: 407-410, 2012.
- Tsuji M, Murakami Y, Kanayama H, et al: A case of renal metanephric adenoma: histologic, immunohistochemical and cytogenetic analysis. *Int J Urol* 6:203-207, 1999.
- Vivante A, Kohl S, Hwang DY et al. Single-gene causes of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) in humans. *Pediatr Nephrol* 29:695-704, 2014
- Vounonvirta R, Sebire NJ, Messahl B, *et al.* Expression of hepatocyte growth factor and its receptor Met in Wilms tumors and nephrogenic rests reflects their roles in kidney development. *Clin Cancer Res*; **15**: 2723-2730, 2009

Wild W, Strandmann PE, Nastos A, et al. Mutated human gene encoding hepatocyte nuclear factor 1beta inhibits kidney formation in developing Xenopus embryos. Proc Natl Acad Sci USA 97:4695-4700, 2000

Willimas JA, Dow LW, Douglass EC et al. Evidence for clonal development of Wilms' tumor. J Am J Pediatr Hematol Oncol. 13:26-8, 1991

Woolf AS, Winyard PJD. Molecular mechanisms of human embryogenesis: developmental pathogenesis of renal tract malformations. Ped Dev Pathol 5:108-129, 2002

Yakirevich E, Magi-Galluzzi C, Grada Z, et al. Cadherin 17 is a sensitive and specific marker for metanephric adenoma. Am J Surg Pathol 39:479-486, 2015

Zhao M, He X, Teng X: Mucinous tubular and spindle cell renal cell carcinoma: a review of clinicopathologic aspects. Diagn Pathol 10:168, 2015.

Zhuang Z, Park WS, Pack S, et al. Trisomy 7-harboring non-random duplication of the mutant MET allele in hereditary papillary renal carcinomas. Nat Genet. 20: 66-69, 199

8. Közlemények

8.1. A értekezés témájában megjelent közlemények

1. Nagy A, **Banyai D**, Semjen D, Beothe T, Kovacs G. Scellin is a marker for papillary renal cell tumours. Virchows Arch 467:695-700, 2015 **IF: 2.8**
2. Nina Kaerger Billfeldt*, **Daniel Banyai***, Gyula Kovacs. Absence of canonical WNT signaling in adult renal cell tumors of embryonal origin. Anticancer Res 36:2169-2173. 2016. **IF: 1.8**
3. **Daniel Banyai**, Fanni Vastag, Maria Yusenko, Peter Bugert, Gyula Kovacs. Embryonal origin of MTSCC of kidney explains its morphological heterogeneity: diagnostic impact of genetic analysis. Anticancer Res 37:1185-1189, 2017. **IF:1.9**
4. **Daniel Banyai**, Peter Sarlos, Anetta Nagy, Gyula Kovacs. Recalling Cohnheim's theory: Papillary renal cell tumor as a model of tumorigenesis from impaired embryonal development to malignant tumors in adults. Int J Biol Sci 14:784-790, 2018 **IF:3.8.**
5. Donat Peter Sarlos, **Daniel Banyai**, Lehel Peterfi, Arpad Szanto, Gyula Kovacs. Embryonal origin of metanephric adenoma and its differential diagnosis. Anticancer Res 38:6663-6667, 2018 **IF: 1.9**

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények impakt faktora: **12.2**

Kumulatív impakt faktor (idézhető absztraktok nélkül): **24.3**

8.2. Az értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények

Zemplenyi AT, Kalo Z, Kovacs G, Farkas R, Beothe T, **Banyai D**, Sebestyen Z , Endrei D , Boncz I , Mangel L. Cost-effectiveness analysis of intensity-modulated radiation therapy with normal and hypofractionated schemes for the treatment of localised prostate cancer.

Eur J Cancer Care, e12430. 2018 **IF: 2.1**

Gyula Kovacs, Nina Kaerger Billfeldt, Timea Dergez, Nelli Farkas, Andras Javorhazy, **Daniel Banyai**, Csaba Pusztai, Arpad Szanto. Cytoplasmic expression of the β -catenin is an independent prognostic factor of conventional renal cell carcinoma: a simple immunostaining score.

Histopathol. 70:273-280 2017 **IF: 3.1**

Tamas A , Javorhazy A , Reglodi D , Sarlos DP , **Banyai D** , SemjenD, Nemeth J , Lelesz B , Fulop DB , Szanto Z. Examination of PACAP-Like Immunoreactivity in Urogenital Tumor Samples.

J Mol Neurosci. 59:177-183, 2016 **IF:2.229**

Fariborz Bagheri, Csaba Pusztai, Árpád Szántó, Endre Holman, Zsolt Juhász, Tamás Beöthe, **Dániel Bányai**, and László Farkas. Laparoscopic Repair of Circumcaval Ureter: One-year Follow-up of Three Patients and Literature Review.

Urology. 74: 148–153, 2009. **IF: 2.242**

Bagi E, Fekete E, **Banyai D**, Lenard L. Effects of angiotensin II and III microinjections into the zona incerta after intra - and extracellular fluid loss.

Brain Res. 1002:110-119, 2004 **IF: 2.398**

Független idéző: 1

Pusztai Cs, Bányai D, Jávornházy A, Kenyeres B, Sarlós P, Szántó Á Laparoszko­pos parciális nephrectomia a technikailag komplex vesetumorok sebészi ellátásában Magyar Urológia | 2008 | 20. ÉVFOLYAM 2. SZÁM 27 : 4 pp. 148-153. (2015)

Bányai D, Pusztai Cs, Jávornházy A, Szántó Á, Vecsei A.,²Bagheri F Vesemedence plasztika – Az urológiai laparosz­kópia tanulásának és oktatásának (egy lehetséges) modellje Magyar Urológia | 2015 | 27. évfolyam 2. szám

Pusztai Cs, Bányai D, Sarlós D, Farkas L, Szántó Á, Semjén D Laparosz­kópia szerepe a vese angiomyolipomák sebészi kezelésében Magyar Urológia 27 : 1 pp. 2-6. , 5 p. (2015)

Pusztai Cs, Bagheri F, Bányai D, Benkő T, Farkas L, Laparosz­kópia parciális nephrectomia – A pécsi módszer Magyar Urológia | 2013 | 25. évfolyam 1. szám

Pusztai Cs, Bagheri F, Jávornázy A, Bányai D, Farkas L Korai hilus ellátás bal oldali laparoszkópos radikális nephrectomia során Magyar Urológia | 2008 | 20. évfolyam 2. szám

Könyv fejezetek:

A medencefenék sebészete. In: Bódis J (szerk.). Endoscopos és minimálisan invazív nőgyógyászati sebészet. MNET, Kecskemét, Bányai D, Koppán M 2009:167–173.

9. Köszönetnyilvánítás

A doktori értekezésem alapjául szolgáló kutatómunkát a PTE KK Urológiai Klinikán végeztem. Mindenekelőtt köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Kovács Gyula professzor úrnak, hogy a lehetővé tette a téma kutatásába történő bekapcsolódásomat, tevékenységemet mindvégig figyelemmel kísérte, kutató munkámat irányította. Hálával tartozom az Urológiai Klinika igazgatójának, Dr. Szántó Árpád tanár úrnak, mert megteremtette a kutatás háttérét, mindvégig biztatott és lehetővé tette, hogy betegellátási és oktatási feladataim mellett a kutatómunkára is tudjak időt szakítani. Köszönettel tartozom a Heidelbergi Egyetem Molekuláris Onkológiai Labor munkatársainak, Dr. Nagy Anettának és Prof Peter Bugertnek az előzetes vizsgálatok elvégzéséért és az eredmények átengedéséért. Köszönet illeti a Pathológiai Intézet munkatársait, Halas Zsuzsannát és Szilágyi Imréné Juditot a metszetek elkészítéséért. Ezúton is szeretném megköszönni a Magyar Urológus Társaságnak a munkám elvégzéséhez nyújtott anyagi támogatását.

Végezetül köszönöm családom megértő türelmét és támogatását, hogy szeretetükkel biztosították számomra a nyugodt háttérét.