

肾母细胞瘤发病机制的研究进展

曾蕊, 常会波, 吴建新

(首都儿科研究所生物化学研究室, 北京 100020)

摘要:肾母细胞瘤是最常见的儿童原发性泌尿系统恶性肿瘤, 具有早期诊断难、预后欠佳、易复发等特点。研究表明具有肾母细胞瘤倾向的综合征、肾母细胞瘤发病机制相关的基因通路(WT1、WTX、TP53、MYCN 及基因拷贝数变异等)、表观遗传机制(印记基因、甲基化)、MicroRNAs、DNA 错配修复系统等多种因素均参与肾母细胞瘤的发生发展, 但一些结论仍然需要大量基础和临床研究来支持。肾母细胞瘤发病机制纷繁复杂, 应充分利用现有研究进展, 开展遗传咨询及个体化治疗。全文就近年来国内外对于肾母细胞瘤发病机制研究的最新进展作一系统综述。

关键词:肾母细胞瘤; 发病机制

中图分类号: R737.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2017)06-0452-08

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.06.A008

Research Progress on Pathogenesis of Wilms Tumor

ZENG Rui¹, CHANG Hui-bo¹, WU Jian-xin¹

(Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China)

Abstract: Wilms tumor is the most common malignant tumor of urinary tract in children. It is difficult for early diagnosis, likely to relapse and the prognosis is poor. Studies show that various factors are involved in the occurrence and development of Wilms tumor, including the gene pathways (WT1, WTX, TP53, MYCN and gene copy number alterations), the epigenetic mechanism (imprinting genes and methylation), MicroRNAs, DNA mismatch repair system and so on. However, it still needs further studies to support these findings. The pathogenesis of Wilms tumor is complicated, so it is necessary to carry out genetic counseling and individualized treatment based on the current research progress. This article reviews the latest research progress on the pathogenesis of Wilms tumor.

Key words: Wilms tumor; pathogenesis

肾母细胞瘤(Wilms tumor, WT)是最常见的儿童原发性泌尿系统恶性肿瘤, 占15岁以下儿童恶性肿瘤的6%~7%, 其中约75%散发于5岁以下儿童, 伴先天畸形患者发病年龄常在1岁以前^[1], 平均发病年龄约为3.5岁^[2], 发病率为万分之一, 且肾母细胞瘤在成人少见。这种婴幼儿最常见的肾脏肿瘤是于1899年以马克思·威尔姆斯的名字命名的^[3], 并沿用至今。它是以前腹部包块为主要临床表现的胚胎源性实体瘤, 早期诊断极为困难。近年来, 随着基于手术、化疗及放疗三者相互结合的综合治疗方案的开

展, 几乎85%肾母细胞瘤的患儿可能被治愈^[4], 但少数患儿由于复发、转移及对化疗药物的不敏感等多种因素而导致死亡, 且肾母细胞瘤个体特异的长期治疗方案也带来了较高的预后风险^[5]。研究表明肾母细胞瘤复发率接近15%, 复发患者的长期生存率仅50%^[6]。而肾母细胞瘤的间变型及化疗药物不敏感性均与预后不良相关^[7], 并且随着患者生存期的延长, 也有继发二次肿瘤的风险^[8]。可见继发于肾母细胞瘤的cusing综合征^[9]及男性肾母细胞瘤的长期生存者日常体力活动减少的报道^[10]。随着研究的深入, 尽管人们对于肾母细胞瘤的发病机制有了进一步的了解, 但仍然有很多值得探讨的问题。本文就近年来国内外对于肾母细胞瘤发病机制的研究进展进行综述。

收稿日期: 2016-10-17; 修回日期: 2016-11-18

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81301773)

通讯作者: 吴建新, E-mail: jianxinwu_2000@sina.com

1 具有肾母细胞瘤倾向的综合征

肾母细胞瘤是一种源于早期后肾细胞异常增殖的肾脏胚胎肿瘤,尽管绝大部分病例为散发,但其中家族性肾母细胞瘤家系约占1%~3%,并带有更早发病和双侧肿瘤的特点^[11]。据报道全球先天畸形的发病率比例为17.6%^[12],而与肾母细胞瘤相关先天畸形的比例占总数的8%~17%^[13],并且许多知名的综合征(Bekwin-Wiedemann综合征、Denys-Dras综合征、Fanconi贫血等)都有进展成肾母细胞瘤的倾向,比例从3.8%~4.7%^[14]。如Perlman综合征是一种常染色体遗传的先天过度生长综合征,和肾母细胞瘤的易感性相关^[15],18-三体综合征也能增加患肾母细胞瘤的风险^[16]。故先天发育畸形与肾母细胞瘤有极高的相关性,提示遗传发育因素是发病机制之一。

2 肾母细胞瘤基因及通路研究

肾母细胞瘤同其他类型的肿瘤一样,都源自于正常细胞生长、分化和增殖过程中基因的异常,故很多突变在肾母细胞瘤中都能被检测到,包括WT1、WTX、TP53、基因拷贝数改变及MYCN等^[17]。下面我们逐一分析。

2.1 WT1

肾母细胞瘤抑制基因-1(WT1)是肾母细胞瘤的抑制基因,也是许多恶性肿瘤的原癌基因^[18]。它是一个C端包含4个锌指结构模体的转录因子,其在泌尿系统,尤其是肾脏的早期发生和分化中起着重要作用。文献报道WT1在将近15%的肾母细胞瘤中有突变或者缺失^[19]。WT1移码突变、延伸突变及终止突变均能作为获得性功能突变,能够激活细胞循环基因并且促进肾母细胞瘤增殖^[20]。而WT1转录活性的改变也在肾母细胞瘤的发生中起关键作用,CC-CTC-结合因子(CTCF)结合在WT1基因的下游,而CTCF结合位点的甲基化可能对于WT1基因座的转录激活有部分作用,并且这个位点的高度甲基化可能是肾母细胞瘤一个重要的致癌机制^[21]。另外,Uspl8上调在肾母细胞瘤的小鼠模型中可见,其表达增加是在WT1敲低之后才导致肾母细胞瘤的发生^[22],表明Uspl8可能是WT1的转录靶点。并有证据表明WT1基因的杂合微缺失也与肾母细胞瘤相

关^[23]。WT1突变及11p15的LOH也与未接受化疗的低风险肾母细胞瘤的复发率相关^[24]。WT1的失活突变及杂合性缺失或11p15的印迹缺失,均能导致IGF2的双等位基因表达上调,进而上调了ERK1/2的磷酸化水平,提示ERK信号通路可能导致肾母细胞瘤发展^[25]。WT1的突变还能通过抑制VEGF(165)b,进而导致生殖腺畸形、肾衰及肾母细胞瘤^[26]。

2.2 WTX

X连锁肿瘤抑制基因WTX是常见的肿瘤抑制基因,能在胚胎发育的过程中表达,并涉及了很多细胞通路,包括Wnt信号通路、WT1转录、NRF2降解以及p53的功能^[27]。WTX上的体细胞突变或灭活在6%~30%的散发型肾母细胞瘤中可见,WTX可以同时导致早期及晚期肾母细胞瘤的发展,但WTX突变有导致肾源性残基的发生的倾向而不是肾母细胞瘤本身^[28]。研究表明Stat3/miR-370/WTX调控轴是肾母细胞瘤中的关键机制^[29]。在WTX已知的功能中,WTX能与包含泛素连接酶受体的 β 转导蛋白重复元件相作用,并促进 β -catenin的泛素化及降解,在WNT/ β -catenin转导通路中起着关键的控制作用。相反WTX还能抑制NRF2的泛素化,WTX及NRF2竞争性结合KEAP1,故WTX的缺失会导致快速泛素化、NRF2的降解以及对细胞毒性损伤的反应降低^[30]。但具有WTX突变患者的临床数据与突变并不直接相关,表明WTX在肿瘤进展上的作用有限。而WTX和WT1突变的发生是相互独立的,提示其基因产物可能有联系^[2]。

2.3 TP53

TP53基因位于17p13.17,是著名的抑癌基因。Okur等^[31]首次报道了一个患有家族性畸胎瘤样肾母细胞瘤的罕见病例,其血清中甲胎蛋白水平升高,显示间变型肾母的外观与TP53突变具有强烈相关性。在肾母细胞瘤中,编码TP53的突变基因,与细胞间变相关,但是TP53突变体与组织学良好型肾母细胞瘤的关系尚未被研究。肾母细胞瘤中的间变,是以异常的有丝分裂为特征性组织学类型。而带有弥漫性间变组织的肾母细胞瘤往往预后不良,通常大于70%与TP53基因相关,并与药物抵抗相关,但目前其分子生物学机制不明,不能用于肿瘤危险因素分层^[32]。

2.4 Wnt 及其他通路

Wnt 及相关信号转导通路的精确调控在肾脏的正确分化中具有极其关键的作用。CRABP2、IGF2、GRK7、TESK1、HDGF、WNT5B、FZD2 及 TIMP3 等在人类胎儿肾脏的分化中起显著作用的蛋白在肾母细胞瘤中往往是特征性表达的^[33]。近来肾母细胞瘤的遗传研究均指向了 β -catenin 依赖的 Wnt 途径的激活,但其发生的分子机制仍不明确。Clark 等^[34]建立了一种新型的小鼠模型,包含激活的 K-RAS 与 Wnt/ β -catenin 信号通路形成的转移性肾上皮肿瘤来模仿人类肾母细胞瘤的上皮成份来进行研究^[34]。研究表明上皮模式与肿瘤的缓慢生长有关,而活体肿瘤成份的重组(胚芽、上皮及间叶)似乎也与 Wnt 和 EMT 信号通路有关^[35]。另有数据显示在高风险肾母细胞瘤中存在视黄酸(RA)信号转导通路反常,但它的作用方式仍不明确。原发肿瘤细胞培养的体外实验明确表明视黄酸在基于基因表达、增殖、分化及凋亡分析的肾母细胞瘤中具有潜在的作用^[36]。而与 IRX3 在肾小管分化中的作用相一致,链接到 Notch 信号通路、Rho 信号通路及离子通道活性的基因组在 IRX3 高表达的肾母细胞瘤中是富含的,但在 IRX3 低表达的肿瘤中却富含与细胞周期进程相关的基因组。IRX3 基因的低 mRNA 表达水平与弥漫性细胞间变、高肿瘤分期疾病及死亡相关肾小管分化和间变型胚基成份自我更新的不平衡可能是联系 16q 缺失与肾母细胞瘤不良预后的可能机制之一^[37]。

2.5 基因拷贝数变异

肾母细胞瘤中被首次发现的变异是大规模的等位基因缺失或者拷贝数改变。特征性的新的基因拷贝数变异(CNAs)在复发性病例中常见,提示其与肾母细胞瘤增殖相关。染色体异常常发生在 17p(属于拷贝数缺失,影响 TP53)、2p(属于拷贝数增加,影响 MYCN)及 11p15 和 11p13(杂合性缺失),一些拷贝数变异发生频率甚至大于 15%,包括 7q、20q 获取及 7p 缺失。对同时是原发且复发的肾母细胞瘤患者的拷贝数分析表明获得性突变常包括 5p、8p12、15q(包含 IGF1R)、16p 和 20q 的增加及 17p 的缺失(包括 TP53)。其他研究表明在 1q21.1-q31.3 上的拷贝数增加也与复发相关。通过基因表达谱检测,复发肿瘤中的基因表达印记被识别,包括参与自噬、Wnt 通路、IGF 信号通路及表观遗传机制的基因。高水平的

CNAs 往往在更具侵袭性的肾母细胞瘤类型中出现,伴有更多的染色体变异和获取^[38]。

2.6 MYCN

MYCN 基因编码原癌基因 MYC 家族转录因子——MYCN,MYCN 在 4% WTs 中存在突变。研究发现 MYCN 的种系复制可能参与了肾母细胞瘤的发生^[37]。先前一些肾母细胞瘤的研究发现在 2p24.3 的一个复发病灶的拷贝数获取中包含 MYCN 位点。MYCN 在肾母细胞瘤中的作用可能是通过几种机制完成:拷贝数获取、特异位点的低甲基化及 FBXW7、MAX 基因的缺失或调节异常^[39]。在更大规模的研究中^[40]证实 MYCN 获取是很常见的,但是未发现有组织联系。Pugh 等^[41]发现一个特定的体细胞突变 P44L,这个突变被认为是一个激活的功能突变,如同增加的 MYCN 的剂量导致了拷贝数获取,它能导致 MYCN 依赖的下游致癌途径的表达上调。MYCN 是调节异常的初始靶标,MYCN 获取导致了临近 DDX1 基因的获取,且它与间变型组织学类型和更差的预后相关。

3 肾母细胞瘤的表观遗传学研究

除了遗传改变以外,表观遗传学机制也在肾母细胞瘤的发生中起着重要作用,与遗传学机制截然不同的是它是基于非基因序列改变所导致的基因表达水平的变化,尤其是通过印迹基因的表达和异常甲基化状态进而影响基因的表达、激活。

3.1 印迹基因

肿瘤根据发生在基因座上的不同分为三个分子亚型:印迹丢失(LOI)、杂合性丢失(LOH)及印迹保留(ROI)。据报道 11p13 的 LOH 在 27.27% 的肾母细胞瘤中可见,11p15 的 LOH 在 4.54% 的肾母细胞瘤中可见^[42]。11p13 区域的中间缺失还能够导致 WAGR 综合征(肾母细胞瘤、无虹膜畸形、泌尿生殖器畸形以及精神发育迟滞)^[43]。另外研究表明 β -catenin 的核激活是肾母细胞瘤发生的晚期事件,与伴有 APC 基因的 LOH 的某些肿瘤相一致^[44]。16q 的 LOH 约在 20%~30% 肾母细胞瘤中可见。7p 缺失在将近 25% 的成人及 10% 的儿童肾脏肿瘤中可见。染色体 1p LOH 是非间变型肾母细胞瘤的一个危险因素,与其他临床因素无关^[45]。Perotti 等^[46]研究发现在

1q21.1-q31.3 染色体区域的 CN 获取与肿瘤复发密切相关。其他遗传事件,包括 1p、1q、3p、3q 和 14q 等染色体臂的等位基因不平衡在复发性肿瘤中发生频率较高,并且 1p 和 14q 的等位基因不平衡展现出与高肿瘤分期相关的边界现象。*IGF2* 及 *neuronatin (NNAT)* 基因等印迹基因的异常表达,是包含肾母细胞瘤在内的许多胚胎性肿瘤的特征之一。数据显示 *NNAT* 基因座中尚未被描述的调控元件 (包含 4 个 CTCF 结合位点) 的甲基化状态,决定着 *NNAT* 的表达水平及临近 *BLCAP_v2a* 基因座的转录,从而提示 *NNAT* 的异常上调在肾母细胞瘤发生中具有一定功能^[47]。*H19* 基因,位于在肾母细胞瘤中通常有缺失的人类染色体 11p15 的染色体区域,研究表明人 *H19* 基因座包含一个编码在 *WT2* 基因座的肿瘤抑制蛋白的印迹基因^[48]。*IGF2/H19* 基因座表观遗传缺陷在肾母细胞瘤的发病机制中起着关键的作用。而 *WWOX* 抑癌基因坐落在被称为常见脆性位点的 *FRA16D* 区域,*WWOX* 基因表达水平的异常可在多种类型的肿瘤中可见并与不良预后相关。在肾母细胞瘤中 *WWOX* 表达水平与细胞自噬过程、通过 *ErbB4* 途径和 *EGFR* 的信号转导途径呈正相关,而与细胞周期调控(通过细胞周期素 E1 和 D1)呈负相关,其中 *WWOX* 基因的表达可以以表观遗传机制——其启动子的甲基化来调节^[49]。并可见 11p15.5-11p15.4 区域的 4.8Mb 的组成性复制,这种副本包含父源染色体,并在 11 号染色体环上一前一后地出现,揭示这种异常可能是导致其易患肾母细胞瘤的原因^[50]。另外有研究强烈表明带有组成性 9q22.3 微缺失的患者患肾母细胞瘤的风险增加^[51]。

3.2 甲基化

异常甲基化与肾母细胞瘤密切相关。如 *SIX2* 基因在甲基化的肾母细胞瘤中可起致癌基因的作用,转录水平的过表达与其甲基化水平呈负相关。外周血中的 *p73* 基因启动子的异常甲基化是儿童肾母细胞瘤中基因表达调控之一,*p73* 基因可能在有 *p73* 基因启动子甲基化的肾母细胞瘤患者中起原癌基因的作用,mRNA 的过表达也与 *p73* 基因启动子甲基化状态相关^[52]。*RASSF1A* 是由 cMSP 所识别的最常见的甲基化基因,并伴不良预后,故 Ohshima 等^[53]提出 *RASSF1A* 的甲基化状态可作为预测肾母细胞瘤预后的新型生物标志物。文献表明长末端重复序列

LINE-1 与肿瘤的发生及生物学特性密切相关,Chang 等^[54]研究证实 *LINE-1* 的低甲基化在肾母细胞瘤中是普遍存在的,并且与肿瘤中端粒的缩短相关。肿瘤通过端粒维持机制来获取无限的增殖潜能。大多数的肿瘤激活端粒酶,除少数间叶细胞来源的肿瘤,利用重组机制或端粒的延长机制(ALT)。有研究表明 ALT 是支持肾母细胞瘤发生的唯一端粒维持机制(TMMs)机制^[55]。

4 肾母细胞瘤的 MicroRNA 研究

MicroRNAs(miRNAs)是约 20~25 个核苷酸的小非编码 RNA,在后转录水平负性调控基因表达。它在肾脏发育过程中起重要作用,并在肾脏中有丰富的组织特异性,常见有 miR-192、miR-215、miR-194、miR-141 及 miR-200c 等。在王家祥等^[56]人的研究中,71 个 miRNAs 在实验组中被发现是上调的,其中 11 个较对照组高 8 倍,59 个 miRNAs 被发现下调,其中 11 个仅为对照组的 12.5%。在 CCC-HEK-1 细胞系中可以看到 miRNA 表达的重要差异,提示其与肾母细胞瘤的发生率及转移有关。miRNA 的改变包括在高风险病例中 miR-193a.5p、miR-27a 的下调以及 miR-483.5p、miR-628.5p、miR-590.5p、miR-302a 和 miR-367 的上调^[57]。在 Schmitt 等^[58]的研究中,与健康对照相比肾母细胞瘤患者化疗前后也展示了 miRNA 标记的不同。肾母细胞瘤中由 miRNAs 所诱导的 *ACVR2B* 的差异调控目前看来是肾母细胞瘤发生中关键的一步,并在此途径中首次表明 TGF- β 途径的参与^[59]。Koller 等^[60]通过与成熟肾脏比较,发现肾母细胞瘤 miR-23a 呈低水平,并且绝大多数比成熟肾脏有更加强烈的蛋白表达。*DICER1* 是主要产生 microRNAs(miRNAs)和小干扰 RNAs(siRNAs)的一类核糖核酸内切酶,*DICER1* 的胚系突变与多项肿瘤易感综合征相关,肾母细胞瘤则是这类综合征中的罕见表现。研究表明肾母细胞瘤中存在 *DICER1* 的两次打击,揭示这些突变可能是肿瘤发生中的关键因素^[61]。频发突变包括在肿瘤的 *SIX1* 及 *SIX2* 的相同结构域一个热点突变(Q177R)(在 18% 的胚系病例中可见);以及在 *DROSHA/DGCR8* 微处理器基因的突变 (在 18.2% 的胚系病例中可见);*DICER1* 和 *DIS3L2* 的突变;以及在 *IGF2*、*MYCN* 和

TP53 上的改变,后者与不良预后强烈相关。DROSHA 和 DGCR8 的突变强烈改变了 miRNAs 在肿瘤表达中的模式,这一点在表达 DROSHA 突变体的细胞系功能上已经证实了。Wegert 等^[62]报道了在不良组织学类型的肾母细胞瘤(FHWTs)中常见的单核苷酸置换或者缺失突变,分别发生在 SIX1/2 (占 7%)及 microRNA 加工基因(miRNAPGs) DGCR8 和 DROSHA(占 15%)。观察表明 DIS3L2 在 RNA 代谢中有关键作用,且为细胞周期及分化调控必不可少。

5 肾母细胞瘤与 DNA 错配修复系统

尽管微卫星不稳定性(MSI)和错配修复基因(MMR)的重要性在 Lynch 综合征中的结肠癌中已经被证实,但其在肾母细胞瘤发病机制尚不明确。研究表明一小部分比例的肾母细胞瘤与微卫星不稳定性相关,即肾母细胞瘤发病机制中包含 MMR 缺陷,但 MMR 蛋白和 MSI 组织表达的频率并没有一致性。这些发现表明 MMR 基因可能通过不同的途径在肾母细胞瘤发生中发挥重要作用^[63]。而 Segers 等^[64]却认为 DNA 错配修复系统的缺陷在肾母细胞瘤的发展中未起到重要的作用。故仍需要进一步研究来证实 DNA 错配修复系统在肾母细胞瘤发病机制中所起的作用。

6 其他候选基因研究

肾母细胞瘤发病机制纷繁复杂,近年来不断涌现出新的研究靶点。Lin28 的表达撤退能够逆转肾母细胞瘤的发生,并通过增强 Let-7 microRNA 的表达进而抑制肿瘤形成^[65]。S100A4 mRNA 也参与肾母细胞瘤的发生并能用于评估肾母细胞瘤患者的预后^[66]。转录调节因子 CITED1 在几乎所有主要的肾母细胞瘤患者中都稳定表达^[67]。E2F3 与高侵袭性肾母细胞瘤密切相关^[68]。MSX1 可能与肾母细胞瘤的侵袭能力有关^[69]。Guo 等^[70]研究发现 AEG-1 的表达与不良组织类型肾母细胞瘤有关。不良组织学类型肾母细胞瘤中强烈的 GLUT1 免疫表达揭示其是 2-氟-2-脱氧-D-葡萄糖高摄取的,故 GLUT1 可成为这些对传统治疗方式耐药的肾母细胞瘤的治疗靶点的潜在的评价手段^[71]。Zhang 等^[72]提出肾母细胞瘤中

IL-6 和 STAT3 的表达可能与疾病进展及预测不良预后相关,可为侵袭性或者转移性肾母细胞瘤提供新的治疗靶点。CAIX、HIF-1 α 蛋白在部分肾母细胞瘤中过表达,在未经治疗的肾母细胞瘤中的细胞定位研究表明其由缺氧及非缺氧机制调控^[73]。Blish 等^[74]的研究表明作为肿瘤抑制基因 *SOSTDC* 的表观沉默机制可能是肾母细胞瘤中降低 *SOSTDC1* mRNA 和蛋白水平的关键因素。Turnbull 等^[75]研究发现在 2p24 及 11q14 相应区域包含的基因都与肾母细胞瘤发生相关,并同时发现一些候补联系信号在 5q14、22q12 及 Xp22 位点。Grill 等^[76]研究表明 PTEN 的失活在肾母细胞瘤的发病机理是罕见的晚期事件。双侧肾母细胞瘤发生在 8 号外显子上的无意突变的频率较高,表明沉默的 SNPs 可能参与了肾母细胞瘤的发展^[77]。裴航等^[78]从蛋白质组学角度出发对肾母细胞瘤血清相关炎症因子进行了筛选与鉴定,寻找差异蛋白为硫氧还原蛋白 1。

7 结 语

肾母细胞瘤一直是研究肾脏胚胎及肿瘤发生的模型,尽管我们一直致力于分析肾母细胞瘤的遗传改变及表观遗传机制,但参与肾母细胞瘤肿瘤发生机制的因素过于纷繁复杂,并相互影响制约,目前所知的仅仅是冰山一角。但只有对肾母细胞瘤发病机制的进一步研究,才能从根本上解决肾母细胞瘤在诊断、治疗及预后上所面临的难题。亟待对肾母细胞瘤发病机制进行更加深入的研究,有助于决定其危险因素分层、治疗策略以及新药的研发方向,最终服务于临床。

参考文献:

- [1] Breslow NE, Beckwith JB, Perlman EJ, et al. Age distributions, birth weights, nephrogenic rests, and heterogeneity in the pathogenesis of Wilms tumor[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2006, 47(3):260-267.
- [2] Wang H, Shen Y, Sun N, et al. Identification and analysis of mutations in WTX and WT1 genes in peripheral blood and tumor tissue of children with Wilms' tumor[J]. *Chin Med (Engl)*, 2012, 125:1733-1739.
- [3] Raffensperger J. Max Wilms and his tumor [J]. *J Pediatr Surg*, 2015, 50(2):356-359.

- [4] Green DM. The evolution of treatment for Wilms tumor [J]. *J Pediatr Surg*, 2013, 48(1): 14–19.
- [5] Kaste SC, Dome JS, Babyn PS, et al. Wilms tumour: prognostic factors, staging, therapy and late effects [J]. *Pediatr Radiol*, 2008, 38(1): 2–17.
- [6] Maschietto M, Piccoli FS, Costa CM, et al. Gene expression analysis of blastemal component reveals genes associated with relapse mechanism in Wilms tumour [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(18): 2715–2722.
- [7] Dome JS, Cotton CA, Perlman EJ, et al. Treatment of anaplastic histology Wilms' tumor: results from the fifth National Wilms' Tumor Study [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(15): 2352–2358.
- [8] Ermuhlen A, Tersak J, Liu Q, et al. Twenty-five year follow-up of childhood Wilms tumor: a report from the Childhood Cancer Survivor Study [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2011, 57(2): 1210–1216.
- [9] Lee MH, Cho U, Lee JW, et al. Cushing syndrome secondary to CRH-producing Wilms tumor in a 6 year old [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2014, 27(11–12): 1033–1036.
- [10] Van Waas M, Wijnen M, Hartman A, et al. Daily life physical activity in long-term survivors of nephroblastoma and neuroblastoma [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2013, 35(5): 361–365.
- [11] Abbaszadeh F, Barker KT, Mc Conville C, et al. A new familial cancer syndrome including predisposition to Wilms tumor and neuroblastoma [J]. *Fam Cancer*, 2010, 9(3): 425–430.
- [12] Rankin J, Silf KA, Pearce MS, et al. Congenital anomaly and childhood cancer: a population-based, record linkage study [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2008, 51(5): 608–612.
- [13] Dumoucel S, Gauthier-Villars M, Stoppa-Lyonnet M, et al. Malformations, genetic abnormalities, and Wilms tumor [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2014, 61(1): 140–144.
- [14] Ng A, Griffiths A, Cole T, et al. Congenital abnormalities and clinical features associated with Wilms' tumour: a comprehensive study from a centre serving a large population [J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(9): 1422–1429.
- [15] Astuti D, Morris MR, Cooper WN, et al. Germline mutations in *DIS3L2* cause the Perlman syndrome of overgrowth and Wilms tumor susceptibility [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(3): 277–284.
- [16] Starr LJ, Sanmann JN, Olney AH, et al. Occurrence of nephroblastomatosis with dup (18)(q11.2-q23) implicates trisomy 18 tumor screening protocol in select patients with 18q duplication [J]. *Am J Med Genet A*, 2014, 164A(4): 1079–1082.
- [17] Liu Y, Liu S. Berberine inhibits Wilms' tumor cell progression through upregulation of Wilms' tumor gene on the X chromosome [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(5): 1537–1541.
- [18] Busch M, Schwindt H, Brandt A, et al. Classification of a frameshift/extended and a stop mutation in WT1 as gain-of-function mutations that activate cell cycle genes and promote Wilms tumour cell proliferation [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(15): 3958–3974.
- [19] Florio F, Cesaro E, Montano G, et al. Biochemical and functional interaction between ZNF224 and ZNF255, two members of the Kruppel-like zinc-finger protein family and WT1 protein isoforms [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(18): 3544–3556.
- [20] Pasupuleti SK, Katari V, Lokanathan S, et al. Novel frame shift mutations ('A' deletion) observed in exon 9 of Wilms' tumor (WT1) gene in a patient reported with glomerulosclerosis [J]. *Gene*, 2014, 546(1): 63–67.
- [21] Zitzmann F, Mayr D, Berger M, et al. Frequent hypermethylation of a CTCF binding site influences Wilms tumor 1 expression in Wilms tumors [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(4): 1871–1876.
- [22] Shahidul Makki M, Cristy Ruteshouser E, Huff V. Ubiquitin specific protease 18 (Usp18) is a WT1 transcriptional target [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(5): 612–622.
- [23] Buglyó G, Méhes G, Vargha G, et al. WT1 microdeletion and slowly progressing focal glomerulosclerosis in a patient with male pseudohermaphroditism, childhood leukemia, Wilms tumor and cerebellar angioblastoma [J]. *Clin Nephrol*, 2013, 79(5): 414–418.
- [24] Perlman EJ, Grundy PE, Anderson JR, et al. WT1 mutation and 11P15 loss of heterozygosity predict relapse in very low-risk Wilms tumors treated with surgery alone: a children's oncology group study [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(6): 698–703.
- [25] Hu Q, Gao F, Tian W, et al. Wt1 ablation and Igf2 upregulation in mice result in Wilms tumors with elevated ERK1/2 phosphorylation [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(1): 174–183.
- [26] Amin EM, Oltean S, Hua J, et al. WT1 mutants reveal SRPK1 to be a downstream angiogenesis target by altering VEGF splicing [J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(6): 768–780.
- [27] Akhavanfard S, Vargas SO, Han M, et al. Inactivation of the tumor suppressor WTX in a subset of pediatric tumors [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2014, 53(1): 67–77.
- [28] Fukuzawa R, Holman SK, Chow CW, et al. WTX mutations can occur both early and late in the pathogenesis of Wilms tumour [J]. *J Med Genet*, 2010, 47(11): 791–794.
- [29] Cao X, Liu D, Yan X, et al. Stat3 inhibits WTX expression through up-regulation of microRNA-370 in Wilms tumor [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(6): 639–644.
- [30] Camp ND, James RG, Dawson DW, et al. Wilms tumor

- gene on X chromosome (WTX) inhibits degradation of NRF2 protein through competitive binding to KEAP1 protein[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(9):6539–6550.
- [31] Okur A, Pinarli FG, Karadeniz C, et al. Familial synchronous bilateral teratoid Wilms tumor with elevated alpha-fetoprotein level[J]. *Tumori*, 2012, 98(6):179e–182e.
- [32] Cost NG, Mitui M, Khokhar S, et al. TP53 codon 72 polymorphisms in favorable histology Wilms tumors[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2012, 59(2):326–328.
- [33] Maschietto M, Trapé AP, Piccoli FS, et al. Temporal blastemal cell gene expression analysis in the kidney reveals new Wnt and related signaling pathway genes to be essential for Wilms' tumor onset[J]. *Cell Death Dis*, 2011, 2:e224.
- [34] Clark PE, Polosukhina D, Love H, et al. β -Catenin and K-RAS synergize to form primitive renal epithelial tumors with features of epithelial Wilms' tumors[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(6):3045–3055.
- [35] Giner F, Machado I, Noguera R, et al. The epithelial mesenchymal transition process in Wilms tumor: a study based on a xenograft model[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011, 19(4):369–375.
- [36] Wegert J, Bausenwein S, Kneitz S, et al. Retinoic acid pathway activity in Wilms tumors and characterization of biological responses in vitro[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10:136.
- [37] Mengelbier LH, Karlsson J, Lindgren D, et al. Deletions of 16q in Wilms tumors localize to blastemal-anaplastic cells and are associated with reduced expression of the IRXB renal tubulogenesis gene cluster[J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(5):2609–2621.
- [38] Krepischi AC, Maschietto M, Ferreira EN, et al. Genomic imbalances pinpoint potential oncogenes and tumor suppressors in Wilms tumors[J]. *Mol Cytogenet*, 2016, 9:20.
- [39] Williams RD, Al-Saadi R, Chagtai T, et al. Subtype-specific FBXW7 mutation and MYCN copy number gain in Wilms' tumor[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(7):2036–2045.
- [40] Williams RD, Al-Saadi R, Natrajan R, et al. Molecular profiling reveals frequent gain of MYCN and anaplasia-specific loss of 4q and 14q in Wilms tumor [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2011, 50(12):982–995.
- [41] Pugh TJ, Morozova O, Attiyeh EF, et al. The genetic landscape of high-risk neuroblastoma [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(3):279–284.
- [42] Sigamani E, Wari MN, Iyer VK, et al. Loss of heterozygosity at 11p13 and 11p15 in Wilms tumor: a study of 22 cases from India[J]. *Pediatr Surg Int*, 2013, 29(3):223–227.
- [43] Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, et al. Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4[J]. *Am J Med Genet A*, 2014, 164A(3):634–638.
- [44] Grill C, Sunitsch S, Hatz M, et al. Activation of beta-catenin is a late event in the pathogenesis of nephroblastomas and rarely correlated with genetic changes of the APC gene[J]. *Pathology*, 2011, 43(7):702–706.
- [45] Spreafico F, Gamba B, Mariani L, et al. Loss of heterozygosity analysis at different chromosome regions in Wilms tumor confirms 1p allelic loss as a marker of worse prognosis: a study from the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology[J]. *J Urol*, 2013, 189(1):260–266.
- [46] Perotti D, Spreafico F, Torri F, et al. Genomic profiling by whole-genome single nucleotide polymorphism arrays in Wilms tumor and association with relapse[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2012, 51(7):644–653.
- [47] Hubertus J, Zitzmann F, Trippel F, et al. Selective methylation of CpGs at regulatory binding sites controls NNAT expression in Wilms tumors[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e67605.
- [48] Onyango P, Feinberg AP. A nucleolar protein, H19 opposite tumor suppressor (HOTS), is a tumor growth inhibitor encoded by a human imprinted H19 antisense transcript [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(40):16759–16764.
- [49] Pluciennik E, Nowakowska M, Wujcicka WI, et al. Genetic alterations of WWOX in Wilms' tumor are involved in its carcinogenesis[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(4):1417–1422.
- [50] Carella M, Spreafico F, Palumbo O, et al. Constitutional ring chromosome 11 mosaicism in a Wilms tumor patient: Cytogenetic, molecular and clinico-pathological studies[J]. *Am J Med Genet A*, 2010, 152A(7):1756–1763.
- [51] Isidor B, Bourdeaut F, Lafon D, et al. Wilms' tumor in patients with 9q22.3 microdeletion syndrome suggests a role for PTCH1 in nephroblastomas[J]. *Eur J Hum Genet*, 2013, 21(7):784–787.
- [52] Song DJ, Yue LF, Yang HY, et al. Expression and promoter methylation of SIX2 gene in peripheral blood of pediatric patients with nephroblastoma[J]. *Chinese Medical Journal*, 2013, 93(24):1876–1880. [宋东建, 岳立芳, 杨合英, 等. SIX2 基因在肾母细胞瘤患儿血液中的表达及其甲基化[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(24):1876–1880.]
- [53] Ohshima J, Haruta M, Fujiwara Y, et al. Methylation of the RASSF1A promoter is predictive of poor outcome among patients with Wilms tumor[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2012, 59(3):499–505.
- [54] Chang HB, Zou JZ, He C, et al. Association between Long Interspersed Nuclear Element-1 Methylation and Relative Telomere Length in Wilms Tumor [J]. *Chin Med J (Engl)*,

- 2015,128(22):3055–3061.
- [55] Venturini L,Daidone MG,Motta R,et al. Telomere maintenance in Wilms tumors:first evidence for the presence of alternative lengthening of telomeres mechanism [J]. *Genes Chromosomes Cancer*,2011,50(10):823–829.
 - [56] Wang JX,Hu Q,Liu QL,et al. MicroRNA differential expression profile in nephroblastoma cell line versus normal embryonic kidney cell line[J]. *Chinese Medical Journal*,2010,90(26):1845–1848.[王家祥,胡倩,刘秋亮,等. 肾母细胞瘤细胞株与正常胚肾细胞株微小RNA表达谱的差异分析[J]. *中华医学杂志*,2010,90(26):1845–1848.]
 - [57] Watson JA,Bryan K,Williams R,et al. miRNA profiles as a predictor of chemoresponsiveness in Wilms' tumor blastema[J]. *PLoS One*,2013,8(1):e53417.
 - [58] Schmitt J,Backes C,Nourkami-Tutdibi N,et al. Treatment-independent miRNA signature in blood of Wilms tumor patients[J]. *BMC Genomics*,2012,13:379.
 - [59] Senanayake U,Das S,Vesely P,et al. MiR-192,miR-194,miR-215,miR-200c and miR-141 are downregulated and their common target ACVR2B is strongly expressed in renal childhood neoplasms[J]. *Carcinogenesis*,2012,33(5):1014–1021.
 - [60] Koller K,Das S,Leuschner I,et al. Identification of the transcription factor HOXB4 as a novel target of miR-23a [J]. *Genes Chromosomes Cancer*,2013,52(8):709–715.
 - [61] Wu MK,Sabbaghian N,Xu B,et al. Biallelic DICER1 mutations occur in Wilms tumours[J]. *J Pathol*,2013,230(2):154–164.
 - [62] Wegert J,Ishaque N,Vardapour R,et al. Mutations in the SIX1/2 pathway and the DROSHA/DGCR8 miRNA microprocessor complex underlie high-risk blastemal type Wilms tumors[J]. *Cancer Cell*,2015,27(2):298–311.
 - [63] Diniz G,Aktas S,Cubuk C,et al. Tissue expression of MLH1,PMS2,MSH2,and MSH6 proteins and prognostic value of microsatellite instability in Wilms tumor:experience of 45 cases[J]. *Pediatr Hematol Oncol*,2013,30(4):273–284.
 - [64] Segers H,van den Heuvel-Eibrink MM,de Krijger RR,et al. Defects in the DNA mismatch repair system do not contribute to the development of childhood wilms tumors [J]. *Pediatr Dev Pathol*,2013,16(1):14–19.
 - [65] Urbach A,Yermalovich A,Zhang J,et al. Lin28 sustains early renal progenitors and induces Wilms tumor[J]. *Genes Dev*,2014,28(9):971–982.
 - [66] Li HJ,Chen YX,Wang Q,et al. S100A4 mRNA as a prognostic marker and therapeutic target in Wilms tumor(WT) [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2014,18(6):817–827.
 - [67] Murphy AJ,Pierce J,de Caestecker C,et al. CITED1 confers stemness to Wilms tumor and enhances tumorigenic responses when enriched in the nucleus[J]. *Oncotarget*,2014,5(2):386–402.
 - [68] An Q,Wang Y,An R,et al.Association of E2F3 expression with clinicopathological features of Wilms' tumors[J]. *J Pediatr Surg*,2013,48(11):2187–2193.
 - [69] Chetcuti A,Aktas S,Mackie N,et al.Expression profiling reveals MSX1 and EphB2 expression correlates with the invasion capacity of Wilms tumors [J]. *Pediatr Blood Cancer*,2011,57(6):950–957.
 - [70] Guo F,Zhang LJ,Liu W,et al. Astrocyte elevated gene-1 over expression in histologically favorable Wilms tumor is related to poor prognosis[J]. *J Pediatr Urol*,2014,10(2):317–323.
 - [71] Rakheja D,Khokhar S,Mitui M,et al. Immunohistochemical expression of GLUT1 and its correlation with unfavorable histology and TP53 codon 72 polymorphism in Wilms tumors[J]. *Pediatr Dev Pathol*,2012,15(4):286–292.
 - [72] Zhang LJ,Liu W,Gao YM,et al. The expression of IL-6 and STAT3 might predict progression and unfavorable prognosis in Wilms' tumor[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2013,435(3):408–413.
 - [73] Dungwa JV,Hunt LP,Ramani P. Overexpression of carbonic anhydrase and HIF-1 α in Wilms tumours[J]. *BMC Cancer*,2011,11:390.
 - [74] Blish KR,Clausen KA,Hawkins GA,et al. Loss of heterozygosity and SOSTDC1 in adult and pediatric renal tumors[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2010,29:147.
 - [75] Turnbull C,Perdeaux ER,Pernet D,et al. A genome-wide association study identifies susceptibility loci for Wilms tumor[J]. *Nat Genet*,2012,44(6):681–684.
 - [76] Grill C,Guelly C,Ebner B,et al. Loss of PTEN/MMAC1 activity is a rare and late event in the pathogenesis of nephroblastomas[J]. *Hum Pathol*,2010,41(8):1172–1177.
 - [77] Hu M,Fletcher J,McCahon E,et al. Bilateral Wilms tumor and early presentation in pediatric patients is associated with the truncation of the Wilms tumor 1 protein[J]. *J Pediatr*,2013,163(1):224–229.
 - [78] Pei H,Wang JX,Zhang JJ,et al. Screening and identification of proteins associated with traumatic stress in pediatric nephroblastoma[J]. *Chinese Journal of Pediatric Surgery*,2014,35(5):343–347.[裴航,王家祥,张俊杰,等.肾母细胞瘤血清创伤应激相关因子的筛选与鉴定[J]. *中华小儿外科杂志*,2014,35(5):343–347.]