



Universitätsklinikum Düsseldorf
Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Klinik für Kinder - Onkologie, - Hämatologie und - Immunologie
Direktor: Universitätsprofessor Dr. U. Göbel

**Extragonadale Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen –
Untersuchungen zu Histogenese, Genetik und Klinik**

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia Legendi für das Fach Kinderheilkunde
an der Hohen Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Dr. med. Dominik T. Schneider

November 2002

Inhalt:

	Seite
1. Einleitung	3
1.1 Histologie der Keimzelltumoren	5
1.2. Biologie der Keimzelltumoren – aktueller Stand	6
1.3. Diagnostik und Therapie – aktueller Stand	7
2. Vorstellung der eigenen Arbeiten	10
2.1. Epidemiologie der Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen	10
2.2. Imprinting Analyse – Untersuchung zum zellulären Ursprung der Keimzelltumoren	14
2.3. Genetische Analyse mittels Comparativer Genomischer Hybridisierung (CGH) und Loss of Heterocycosity (LOH) Analyse	19
2.3.1. CGH Analyse gonadaler und extragonadaler Keimzelltumoren bei Kleinkindern	19
2.3.2. LOH Analyse von 6q und 1p36 bei Dottersacktumoren von Kleinkindern	20
2.3.3. Mediastinale Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen – Charakterisierung genetisch unterschiedlicher Untergruppen	21
2.4. Mediastinale Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen – Charakterisierung klinisch unterschiedlicher Untergruppen	23
2.5. Diagnostische und therapeutische Ansätze bei extragonadalen Keimzelltumoren im Kindesalter	25
2.5.1. Differenzialdiagnostische Bedeutung von AFP und β -HCG	25
2.5.2. Multimodale Behandlung der malignen Steißbeintumoren	27
2.5.3. Rezidivbehandlung der malignen Steißbeintumoren	28
2.6. Zweitumoren – gemeinsamer klonaler Ursprung oder therapiebedingt?	30
3. Zusammenfassung und Ausblick	32
4. Literatur	35
5. Abkürzungen	48
6. Anlagen	49
Sonderdrucke	I
Lebenslauf	II
Publikationsliste	III
Danksagung	IV

1. Einleitung

Die Pädiatrische Hämatologie und Onkologie befasst sich im Schwerpunkt mit der Diagnostik und Therapie bösartiger Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen. Diese klinische Arbeit wird von einer vielfältigen klinischen Forschung begleitet, die durch die diagnosespezifischen multizentrischen Behandlungsprotokolle wesentlich geprägt wird. Mit der kontinuierlichen Fortentwicklung der Therapieoptimierungsprotokolle sind entscheidende Erfolge erzielt worden, so dass nun die meisten bösartigen Erkrankungen im Kindesalter als prognostisch günstig einzustufen sind. Die begleitende molekularbiologische Forschung hat nicht nur das Wissen um die Tumorbilogie wesentlich vertieft sondern außerdem eine verbesserte Diagnostik und verfeinerte Klassifikation der Tumoren ermöglicht sowie zur Entdeckung prognostisch relevanter genetischer Veränderungen geführt. Diese Erkenntnisse haben zum Teil bereits Eingang in aktuelle Behandlungsstrategien sowohl im Sinne der Therapieintensivierung als auch der Therapiereduktion gefunden.

Viele der im Kindesalter auftretenden Tumoren imitieren unreife histologische Strukturen, wie sie während der Organogenese ausgebildet werden. Daher werden diese Tumoren häufig als Blastome (z.B. Neuroblastom, Nephroblastom) bezeichnet und als embryonale Tumoren zusammengefasst. Molekularbiologisch finden sich bei diesen Tumoren Genexpressionsmuster, die ebenfalls der Embryonalentwicklung ähneln³⁸. Diese Untersuchungen legen den Schluss nahe, dass die Entstehung der embryonalen Tumoren in der Zeit der Organentwicklung während der frühen Schwangerschaft initiiert wird. Dieser Hypothese wird durch den Begriff der „dysontogenetischen Tumoren“ Rechnung getragen. Offensichtlich sind embryonale Tumoren Ausdruck einer tiefgreifenden Störung in der Organanlage und –differenzierung. Diese Annahme wird unterstützt durch die klinische Beobachtung einer Assoziation von embryonalen Tumoren mit Entwicklungsanomalien bzw. Fehlbildungssyndromen^{35,75,94}. Beispielhaft ist die Assoziation von Denys-Drash Syndrom oder WAGR-Syndrom mit Nephroblastomen zu nennen^{16,36}. Die Analyse solcher Assoziationen hat bei einigen Tumoren zur Entdeckung von Tumorsuppressorgenen bzw. Onkogenen geführt, die auch außerhalb des Syndromkomplexes relevant sind¹⁶.

Die verschiedenen embryonalen Tumoren tragen einerseits charakteristische und diagnostisch differenzierende genetische Veränderungen, andererseits sind aber zusätzliche Veränderungen wie z.B. Deletionen am kurzen Arm des Chromosom 1 (1p36) bei verschiedenen Tumorentitäten anzutreffen und entsprechen somit gemeinsamen Evolutionsschritten während

der Tumorprogression¹⁵. Die Tumorzellen tragen in der Regel biologische Eigenschaften einer pluripotenten Organ-Stammzelle und können daher zum Teil in einem Tumor unterschiedliche histologische Differenzierungsmuster ausbilden.

Im Vergleich zu anderen embryonalen Tumoren ist die Situation bei Keimzelltumoren besonders komplex, da sie nicht nur histologisch außerordentlich heterogen sind; sondern sich außerdem an vielen verschiedenen Stellen im Organismus entwickeln können⁴⁴. Aufgrund der Besonderheiten der Keimzellentwicklung wird bei Keimzelltumoren ebenfalls postuliert, dass die Tumorentstehung während der Embryonalzeit initiiert wird. Darüber hinaus ist auch bei Keimzelltumoren eine Assoziation mit definierten angeborenen Syndromen bekannt, die zum Großteil mit Störungen der Geschlechtsentwicklung verbunden sind (testikuläre Feminisierung, Turner Syndrom, Klinefelter Syndrom)^{12,32,85,95}, so dass auch in diesem Punkt Ähnlichkeiten zu anderen embryonalen Tumoren aus dem Fachbereich der Pädiatrischen Onkologie bestehen.

Nach einer Einführung in die Thematik der Biologie und Klinik der Keimzelltumoren werden in dieser Arbeit spezifische genetische und klinische Aspekte von Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen erörtert. Auf der Grundlage einer epidemiologischen Analyse werden Untersuchungen zur Histogenese der extragonadalen Keimzelltumoren vorgestellt. Am Beispiel der mediastinalen Keimzelltumoren werden Unterschiede in Klinik, Histologie und Genetik der Keimzelltumoren zwischen Kindern und Jugendlichen veranschaulicht. Weiterhin wird anhand einer Zusammenfassung der genetischen Profile von Keimzelltumoren mit unterschiedlichen Tumorlokalisationen und Manifestationsalter eine Klassifikation der Keimzelltumoren im Kindes- und Jugendalter entworfen. Als Grundlage für eine rationale und rationelle klinische Diagnostik der extragonadalen Keimzelltumoren wird anschließend die diagnostische Wertigkeit der Tumormarker Alpha₁ Fetoprotein (AFP) und humanes Choriongonadotropin diskutiert. Schließlich werden Ansätze für eine Optimierung der Primär- und Rezidivtherapie der bei Kleinkindern größten Gruppe der malignen Keimzelltumoren der Steißbeinregion evaluiert sowie die biologische und klinische Bedeutung von Zweitumoren nach Keimzelltumoren erörtert.

Ziel dieser Arbeit ist es, gemeinsame Muster innerhalb der heterogenen Gruppe der Keimzelltumoren im Kindesalter erkennbar werden zu lassen, die als Grundlage für weiterführende tumorbiologische Studien sowie als Orientierung für eine optimierte Behandlung dienen.

1.1. Histologie der Keimzelltumoren

Entsprechend dem holistischen Konzept der Histogenese nach Teilum stammen Keimzelltumoren von totipotenten primordiales Keimzellen ab¹²⁶. Sie können die Morphologie des Keimepithels aufweisen und werden dann als **Germinom** (synonym: Seminom, Dysgerminom) bezeichnet.

Andererseits entsprechen **embryonale Karzinome** Tumoren noch nicht determinierter, totipotenter Zellen. Aufgrund der verfeinerten histologischen und immunhistochemischen Diagnostik werden reine embryonale Karzinome bei Kleinkindern selten diagnostiziert und zumeist als Komponenten gemischter Keimzelltumoren beschrieben.

Bei extraembryonaler Differenzierung entwickeln sich **Dottersacktumoren** (synonym Endodermalsinustumoren) bzw. **Choriokarzinome**. Diese Tumorentitäten werden aufgrund ihrer Tumormarkerproduktion auch als sezernierende Keimzelltumoren zusammengefasst (**Tabelle 1**). Dottersacktumoren produzieren Alpha₁ – Fetoprotein (AFP). Choriokarzinome als maligne Korrelate des Syncytiotrophoblasten der Plazenta sezernieren β-HCG. Deutliche β-HCG und AFP-Erhöhungen werden abgesehen von wenigen Ausnahmen (z.B. Hepatoblastom) nur bei Tumoren beobachtet, die einen signifikanten Anteil dieser Histologien aufweisen^{107,111}.

Entsprechend diesem Konzept können sich schließlich bei somatischer Differenzierung **Teratome unterschiedlichen Reifegrades** entwickeln. Der histologische Reifegrad der Teratome bestimmt sich nach dem Anteil immaturer, meist neuroepithelialer Strukturen⁴¹. In einzelnen Fällen werden kleine Herde von Dottersacktumorgewebe meist in Nachbarschaft neuroepithelialer oder hepatoider Strukturen gefunden, die in Rezidivsituationen dann als Dottersacktumor manifest werden können⁴³. Bei Erwachsenen können auch kleine Herde mit sarkomatöser Transformation bzw. PNET Histologie nachgewiesen werden⁸². Eine besondere Situation stellt sich bei mediastinalen Keimzelltumoren dar, bei denen sich – ausgehend von mikroskopisch nachweisbaren Blutbildungsherden innerhalb eines Dottersacktumors – eine myeloische Leukämie entwickeln kann^{86,87}.

1.2. Biologie der Keimzelltumoren – aktueller Stand

Die malignen **testikulären Keimzelltumoren bei jungen Erwachsenen** stellen die bislang am besten zytogenetisch charakterisierte Untergruppe der Keimzelltumoren dar. Sie sind in

der Regel polyploid (Seminome) oder aneuploid (Nicht-Seminome), und über 80% der malignen Tumoren weisen als charakteristische Veränderung ein Isochromosom 12p auf^{101,106,129}. Dieses besteht aus zwei im Zentromer fusionierten kurzen Armen des Chromosom 12. In den sogenannten Isochromosom 12p - negativen Tumoren, findet sich regelmäßig eine Amplifikation von chromosomalem Material von 12p, entweder in Form von homogeneously staining regions, double minutes oder inkorporiert in Markerchromosomen¹⁰⁰. Somit findet sich in fast allen malignen Keimzelltumoren eine Amplifikation von Material von 12p. Diese Befunde sind mittels comparativer genomischer Hybridisierung (CGH) bestätigt worden^{64,79,104}. Die CGH-Analysen haben außerdem weitergeholfen, den regelmäßig amplifizierten Bereich auf 12p11.1-12.1 einzugrenzen^{64,79,80,103,104}. Diese Untersuchungen sind durch positionelle Fluoreszenz in-situ Hybridisierungen (FISH) und nachfolgende semi-quantitative Genexpressionsanalysen fortgeführt worden, so dass jetzt der regelmäßig amplifizierte Bereich von 12p weiter eingengt ist und Kandidatengene identifiziert sind¹³⁶.

Im Vergleich zu den testikulären Keimzelltumoren sind **Keimzelltumoren des Ovar** nur im Rahmen kleinerer Studien zytogenetisch analysiert worden. Dabei nehmen die muren zystischen Teratome insofern eine Sonderstellung ein, als sie oft einen iso-disomen Karyotyp [(23,X)x2] aufweisen können, sich also von Keimzellen nach Meiose I ableiten¹⁸. Untersuchungen mit Mikrosatellitenmarkern haben bestätigt, dass ca. zwei Drittel der Ovarialteratome bereits in die Meiose eingetreten sind⁷⁶. Diese Tumoren weisen bereits ein Imprinting auf, und es ist zu diskutieren, auf welche Weise das spezifische maternale Imprintingmuster von Wachstumsfaktoren wie IGF-2 Differenzierung und Proliferationspotential dieser Tumoren beeinflusst⁹².

Maligne ovariale Keimzelltumoren zeigen ein zytogenetisches Muster, das dem der testikulären Keimzelltumoren im wesentlichen entspricht. Am häufigsten lässt sich ein Isochromosom 12p bzw. eine Amplifikation an 12p nachweisen, die weiteren Aberrationen entsprechen in ihrer Häufigkeit ebenfalls den testikulären Tumoren^{18,99,102}.

Schließlich ist die Assoziation von einer Gonadendysgenese bei männlichem Karyotyp mit Gonadoblastomen und malignen Keimzelltumoren bemerkenswert¹³¹. Dabei ist bislang nicht geklärt, ob Gonadoblastome echte Vorläuferläsionen der malignen Keimzelltumoren oder eher eine im eigentlichen Sinne nicht neoplastische Veränderung darstellen⁵⁷.

In **extragonadalen Keimzelltumoren Erwachsener** lassen sich im Grundsatz ähnliche zytogenetische Veränderungen nachweisen wie in testikulären Tumoren. Die einzige publizierte Serie zu mediastinalen Keimzelltumoren bei Erwachsenen umfasst 25 Patienten²⁶.

Außerdem ist auf mehrere charakteristische Befunde bei mediastinalen Keimzelltumoren hinzuweisen. Die Assoziation mit einem Klinefelter Syndrom (konstitutioneller 47,XXY Karyotyp) ist bislang nur bei mediastinalen Keimzelltumoren bekannt^{49,85}.

Genetische Befunde bei **intrakranialen Keimzelltumoren** sind bislang nur in Einzelfallberichten, im Rahmen einer zytogenetischen Studie (n=3) sowie einer CGH Analyse (n=15) beschrieben^{18,29,65,98}. Dabei zeigen sich chromosomale Veränderungen, die ebenfalls denen von testikulären Keimzelltumoren bei Erwachsenen gleichen⁹⁸. Untersuchungen mit Hilfe der Fluoreszenz *in-situ* Hybridisierung (FISH) haben darüber hinaus gezeigt, dass intrakranielle Keimzelltumoren, einschließlich der Teratome, gehäuft Aberrationen der Geschlechtschromosomen aufweisen¹³⁵. Es sind außerdem einzelne Patienten mit Klinefelter Syndrom und intrakranialem Keimzelltumor beschrieben⁴⁸.

Keimzelltumoren bei Säuglingen und Kleinkindern zeigen heterogene zytogenetische Befunde, zumal bei ihnen im Gegensatz zu den adulten Keimzelltumoren keine in nahezu 100% der Fälle auftretende Aberration bekannt ist. Bei ihnen besteht nur in Einzelfällen ein Isochromosom 12p oder ein Zugewinn an 12p⁸⁹. Mehrere Untersuchungen mittels FISH Technik weisen auf eine hohe Frequenz (bis >80%) von Deletionen an 1p36 hin^{52,90,120}. Diese Studien deuten an, dass Deletionen an 1p36 im Vergleich wesentlich häufiger sind als in Neuroblastomen, bei denen diese auf einen ungünstigen Krankheitsverlauf hinweisen⁷⁴. Allerdings ist kritisch anzumerken, dass bei diesen Untersuchungen zumeist die Zahl der Signale an 1p36 mit den Zentromersignalen des Chromosom 1 verglichen worden sind. Eine geringere Zahl der 1p36 Signale ist daher entweder durch eine Deletion 1p36 oder durch einen Zugewinn von 1q zu erklären. Somit handelt es sich um Imbalancen des Chromosom 1, und die Frage, ob es sich um einen Allelverlust handelt, wird in einer der vorgelegten Arbeiten behandelt.

1.3. Diagnostik und Therapie – aktueller Stand

Die Therapiestrategie bei Kindern und Jugendlichen mit Keimzelltumoren richtet sich wesentlich nach den Parametern Histologie, Tumorlokalisation, Tumorstadium und Alter. Dabei ist zu beachten, dass einige Grundprinzipien für Keimzelltumoren jeglicher Lokalisation allgemein gültig sind. Jedoch sind vor allem die Strategien bezüglich der lokalen Tumorkontrolle in besonderem Maße von der Lokalisation abhängig. Wie in **Tabelle 1** dargestellt, korreliert das Ansprechen auf eine zytostatische Therapie oder eine

Strahlentherapie wesentlich mit der Histologie. Bei reifen oder unreifen Teratomen ist die radikale chirurgische Tumorentfernung ausschlaggebend^{28,43,72}. Auch wenn das Rezidivrisiko nach mikroskopisch inkompletter Resektion von Teratomen bei einzelnen Lokalisationen wie z.B. der Kopf- und Halsregion geringer ist als beispielsweise in der Steißbeinregion, so ist dennoch immer eine radikale Resektion anzustreben. Der Stellenwert der adjuvanten Chemo- oder Strahlentherapie ist bei Teratomen rückblickend unterschiedlich bewertet worden. Die Erfahrungen der letzten Jahre sprechen dafür, dass diese in der Regel schlecht auf eine solche Therapie ansprechen und deshalb mit höheren Strahlendosen zu behandeln sind. Hierbei sind das Alter und die Lokalisation zu berücksichtigen, so dass vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern individuelle Entscheidungen auf der Grundlage des klinischen Keimzelltumorregisters zu treffen sind.

Tabelle 1: Produktion von Tumormarkern und Therapieansprechen in Abhängigkeit von der Histologie (nach Göbel, Schneider et al. 2000⁴⁴).

	Histologisches Grading	Tumormarker		Sensitivität gegenüber		
		AFP	β-HCG	Chemotherapie	Strahlentherapie (Gy)	
Seminom, Germinom	Maligne	-	(+)	+++	+++	(24)
Embryonales Karzinom	Maligne	-	-	+++	+	(45)
Dottersacktumor	Maligne	+++	-	+++	+	(45)
Choriokarzinom	Maligne	-	+++	+++	+	(45)
Teratom: reif	Benigne	-/	-	-	?	(54)
unreif	Potentiell maligne	(+)	-	?	?	(54)

Hingegen sind Germinome außerordentlich sensibel gegenüber einer Bestrahlung und zeigen gleichfalls ein gutes Ansprechen auf eine zytostatischen Therapie⁷. Bei Kindern wird für die Behandlung zunehmend der Chemotherapie der Vorzug gegeben, um das Wachstum bzw. die Fertilität nicht zu beeinträchtigen^{2,14,23,42,70,71}. Gegebenenfalls wird eine systemische Chemotherapie mit einer lokoregionalen Bestrahlung (z.B. intrakranielle Germinome und maligne Non-Germinome) ergänzt und auf die früher bevorzugte kraniospinale Bestrahlung verzichtet¹⁴. Maligne nichtseminomatöse Keimzelltumoren sprechen generell günstiger auf eine zytostatische Therapie als auf eine Bestrahlung an; bei Durchführung einer Strahlentherapie sind deshalb deutlich höhere Dosen zu verabreichen als bei Germinomen¹⁹.

Die Chemotherapie wird als Kombinationstherapie aus zwei bzw. drei Medikamenten verabreicht. Der Goldstandard ist eine Chemotherapie mit mittelhoch dosiertem Cisplatin (100 mg/m^2 pro Zyklus), das zur besseren Verträglichkeit auf Einzeldosen von 20 mg/m^2 an fünf aufeinanderfolgenden Tagen verteilt werden kann⁴⁴. Höhere Cisplatin Dosen von beispielsweise 200 mg/m^2 pro Zyklus zeigen einen nur begrenzten therapeutischen Nutzen, bergen aber das Risiko einer ausgeprägten Schwerhörigkeit bei der Mehrzahl der behandelten Kinder⁹⁶. Alternativ wird auch Carboplatin in einer Dosierung von 600 mg/m^2 als Einzeldosis erfolgreich eingesetzt⁷¹. Der geringeren Oto- und Nephrotoxizität von Carboplatin steht jedoch eine vergleichsweise höhere Myelotoxizität (insbesondere lang anhaltende Thrombozytopenie) entgegen, die das Risiko verlängerter Therapieintervalle beinhaltet^{70,71}. Kombinationen ohne Platinverbindungen gelten heute für die Primärtherapie als obsolet.

In modernen Chemotherapieregimen wird das Platinderivat mit Etoposid kombiniert und in Abhängigkeit vom Rezidivrisiko zusätzlich mit Bleomycin oder Vinblastin bzw. Ifosfamid als Dreierkombination verabreicht. Besonders bei Säuglingen und Kleinkindern werden jedoch Bleomycin und Vinblastin wegen der bekannten Pulmo- bzw. Neurotoxizität nicht oder nur in reduzierter Dosierung eingesetzt. Ifosfamid ist hingegen mit einer höheren Myelo- und akuten Nephrotoxizität belastet und beinhaltet das Risiko eines Fanconi-Syndroms. Da die akuten Nebenwirkungen und chronischen Spätfolgen wesentlich von den kumulativen Zytostatikadosen abhängen, wird bei Kindern zunehmend eine kurze intensive Therapie den länger dauernden, aber weniger effizienten Chemotherapieregimen vorgezogen⁴⁴. In Abhängigkeit von Tumorstadium und Resektionsstatus werden zwei bis vier Chemotherapiezyklen verabreicht, die risikoadaptiert zwei oder drei Zytostatika zeitgleich enthalten. Wesentlich für den Therapieerfolg dieser kurzen Gesamttherapie ist die Einhaltung der vorgegebenen Therapieintervalle.

2. Vorstellung der eigenen Arbeiten

2.1. *Epidemiologie der Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen*

D.T. Schneider, G. Calaminus, S. Koch, C. Teske, P. Schmidt, R. J. Haas, D. Harms, U. Göbel: Epidemiological Analysis of 1442 Children and Adolescents Registered in the German Germ Cell Tumor Protocols.

Medical and Pediatric Oncology (zur Publikation angenommen)

Keimzelltumoren können in allen Altersgruppen, von der Fetalperiode bis in das hohe Alter, auftreten⁴⁴. Bei Kindern bis zum Alter von 15 Jahren sind Keimzelltumoren vergleichsweise selten und machen im epidemiologisch ausgerichteten Kinderkrebsregister etwa 3-4% aller Diagnosen aus⁵⁴. Bei einer Wohnbevölkerung von ungefähr 13 Millionen Kindern unter 15 Jahren in der Bundesrepublik Deutschland (nach 1990 bzw. ca. 10 Millionen vor 1990) und 1157 zwischen 1982 und 2000 erfassten Patienten dieser Altersgruppe kann die jährliche Inzidenz auf 0,5 Neuerkrankungen auf 100.000 Kinder bis 15 Jahre geschätzt werden. Es ist allerdings zu beachten, dass die Erfassung von Teratomen in den Studienregistern mit Sicherheit lückenhaft ist, so dass insgesamt eine höhere Inzidenz angenommen werden kann. Dafür spricht auch die weiterhin ansteigende Zahl der in das Register gemeldeten Patienten. Außerdem ist davon auszugehen, dass ein signifikanter Anteil jugendlicher Patienten mit Hodentumoren entsprechend Therapieprotokollen der urologischen bzw. internistisch-onkologischen Disziplinen behandelt werden.

Die Daten des klinischen Registers der Therapieoptimierungsstudien MAKEI und MAHO für Keimzelltumoren im Kindes- und Jugendalter der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) zeigen hinsichtlich Lokalisation und Histologie in Abhängigkeit vom Alter bei Diagnose ein charakteristisches Verteilungsmuster (**Abbildung 1, 2**)¹⁰⁸. Bei Kleinkindern findet sich ein ausgewogenes Geschlechtsverhältnis und bei Jugendlichen eine geringe Mädchenwendigkeit (m:w = 0.63:1), die womöglich durch eine relative Unterrepräsentation der Hodentumoren in dem Register zu erklären ist.

Allerdings finden sich bei den extragonadalen Keimzelltumoren ausgeprägte altersabhängige Geschlechtsunterschiede bei Vergleich der verschiedenen Lokalisationen und der histologischen Subentitäten (s.u.), was auf allgemeine Einflüsse bei der individuellen Entwicklung der Tumoren hinweist.

Die Gesamtgruppe der Keimzelltumoren zeigt eine zweigipfelige Alterverteilung. Der erste Häufigkeitsgipfel wird bei Neugeborenen und Kleinkindern beobachtet. Bei Neugeborenen

handelt es sich histologisch in der Regel um reife oder unreife Teratome (**Abbildung 1**). Gegen Ende des ersten Lebensjahres und im Kleinkindalter überwiegen hingegen maligne Tumoren, in der Regel Dottersacktumoren. Erst später werden auch Seminome des Hodens, bzw. Dysgerminome des Ovars oder Germinome des ZNS diagnostiziert. Zeitgleich finden sich auch häufiger nichtseminomatöse Tumoren, die sich als Choriokarzinom oder embryonales Karzinom manifestieren.

Insgesamt überwiegen bei Kindern extragonadale Keimzelltumoren (**Tabelle 2**), die mittelliniennah, z.B. in der Steißbeinregion, mediastinal oder im Bereich der Pinealis oder Hypophyse auftreten können. Hodentumoren und mediastinale Tumoren haben eine zweigipfelige Häufigkeitsverteilung, während die Tumoren der Ovarie und des Gehirns bevorzugt erst mit der Pubertät auftreten und andererseits Steißbeintumoren nahezu ausschließlich bei Säuglingen und Kleinkindern beobachtet werden (**Abbildung 2**).

Tabelle 2: Verteilung der Lokalisationen von Keimzelltumoren bei Kindern bis 15 Jahren im MAHO und MAKEI Register

Lokalisation	Häufigkeit (%)
Hoden	17
Ovar	29
ZNS	21
Mediastinum	4
Steißbein	19
Andere	10

Die extragonadalen Keimzelltumoren zeigen in Abhängigkeit vom Erkrankungsalter einen ausgeprägten Wechsel der Geschlechtsprädisposition. So treten Keimzelltumoren bei Säuglingen und Kleinkindern häufiger bei Mädchen auf (2:1), während bei Jugendlichen die Jungen mit 2,6 zu 1 überwiegen.

Schließlich ist auf die charakteristische Verteilung der histologischen Subentitäten in Abhängigkeit von Lokalisation und Alter hinzuweisen. Bei Kleinkindern bis zum Alter von fünf Jahren machen Dottersacktumoren 89% aller malignen Keimzelltumoren aus¹⁰⁸. Zusätzlich zeigen in dieser Altersgruppe 7% der malignen gemischten Keimzelltumoren eine Dottersacktumorkomponente. Dagegen treten Choriokarzinome und embryonale Keimzelltumoren nur in seltenen Fällen im Kleinkindalter auf; bisher ist mit einer Ausnahme kein reines Germinom/Seminom bei einem Kleinkind diagnostiziert worden. Entsprechend finden

sich keine Germinome oder Choriokarzinome in der Steißbeinregion, während Germinome den häufigsten Keimzelltumor im zentralen Nervensystem darstellen.

Abbildung 1: Zahl der erfassten Patienten im Alter bis 15 Jahre in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation (n=1157)

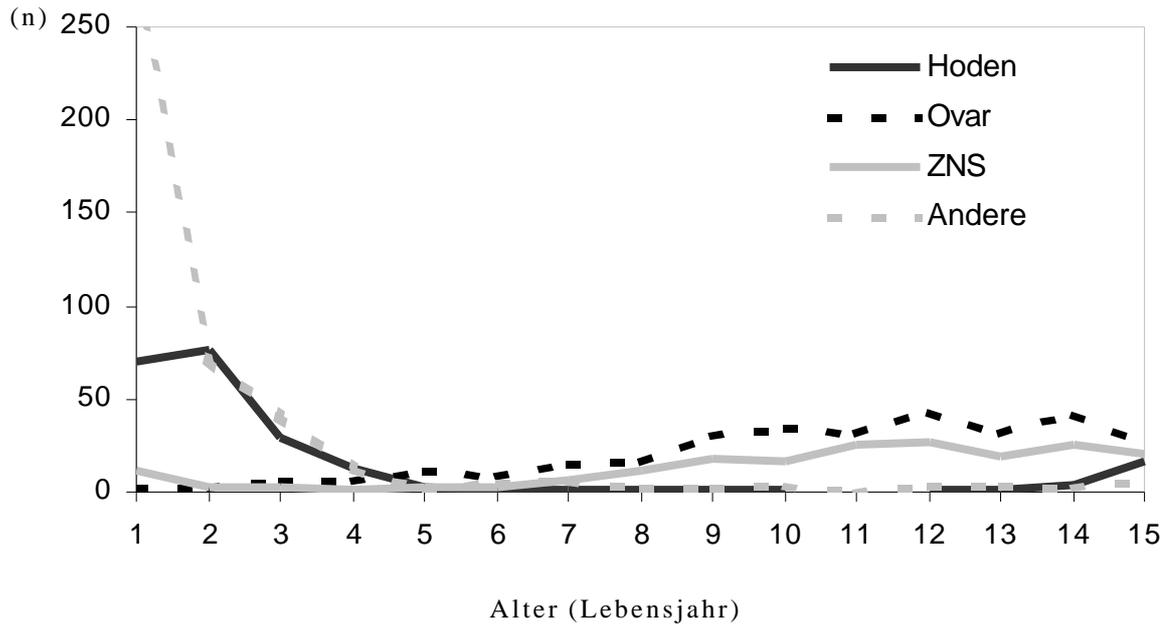
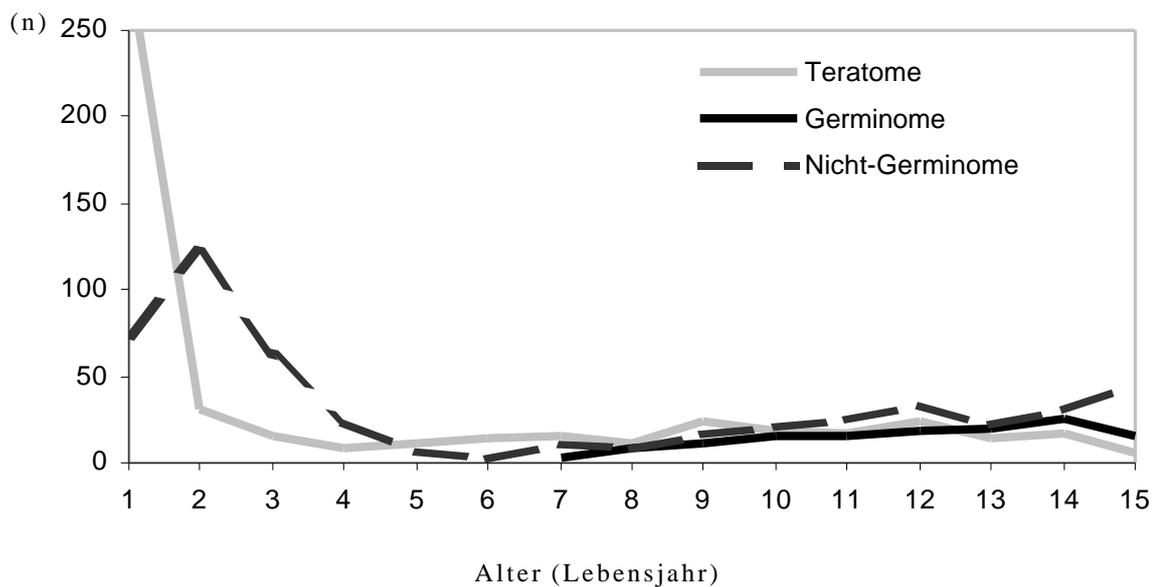


Abbildung 2: Zahl der erfassten Patienten im Alter bis 15 Jahre in Abhängigkeit von der Histologie (n=1157)



Werden zusammenfassend die epidemiologischen Eckdaten Alter, Geschlecht, Lokalisation und Histologie beurteilt, so zeigen sich also charakteristische Verteilungsmuster. Aus den dargestellten epidemiologischen Daten und mit Blick auf den aktuellen Kenntnisstand bei testikulären und extragonadalen Keimzelltumoren Erwachsener lassen sich daher folgende Fragen an die molekularbiologische und klinische Forschung ableiten:

- Teilen gonadale und extragonadale Keimzelltumoren verschiedenen Alters, Lokalisation und Histologie – wie lange postuliert – einen gemeinsamen zellulären Ursprung aus der primordialen Keimzelle, und von welchen Entwicklungsstufen der primordialen Keimzelle leiten sich die verschiedenen klinischen Gruppen ab?
- Besteht eine Korrelation zwischen den genetischen Profilen von extragonadalen Keimzelltumoren und den klinischen Parametern Alter, Geschlecht, Lokalisation und Histologie?
- Bestehen hinsichtlich der Genetik Unterschiede zwischen gonadalen und extragonadalen Keimzelltumoren im Kindesalter?
- Ist bei extragonadalen Keimzelltumoren im Kindesalter eine Assoziation mit angeborenen Störungen der Geschlechtschromosomen (z.B. Klinefelter Syndrom) nachweisbar?
- Sind die Tumormarker AFP und β -HCG bei extragonadalen Keimzelltumoren diagnostisch aussagekräftig, und erlauben sie eine zweifelsfreie klinische Diagnose als Grundlage einer präoperativen Chemotherapie?
- Welche Parameter der lokalen und systemischen Therapie sind für eine erfolgreiche Behandlung von extragonadalen Keimzelltumoren bei Kindern ausschlaggebend?
- Bestehen Unterschiede hinsichtlich der Prognose zwischen extragonadalen Keimzelltumoren bei Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen?
- Ist die bei Erwachsenen zu beobachtende Assoziation zwischen extragonadalen Dottersacktumoren und sekundären Leukämien auch bei Kindern relevant?

In den folgenden Abschnitten werden diese Fragen anhand eigener Veröffentlichungen und mit Blick auf aktuelle weiterführende Untersuchungen erörtert.

2.2. *Imprinting-Analyse – Untersuchungen zum zellulären Ursprung der Keimzelltumoren*

D.T. Schneider, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, J. Hu, U. Göbel, T. Olson, S. Lauer, E.J. Perlman: Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors. *Cancer Research* **61(19)**, 8269-76 (2001)

Die primordialen Keimzellen sind in der frühen Embryonalentwicklung erstmals an der Basis der Allantois bzw. des Dottersacks als eigene Zellpopulation darstellbar und wandern anschließend entlang des dorsalen Mesenteriums des Hinterdarms zu den Gonadenanlagen, die sich zu diesem Zeitpunkt noch weit nach kranial erstrecken^{6,134}. Angesichts dieser Beobachtung ist postuliert worden, dass sich extragonadale Keimzelltumoren von Keimzellen ableiten, die während der Migration falsch lokalisiert sind, die Gonadenanlagen nicht erreicht und extragonadal überdauert haben³¹. Dieser Hypothese stehen jedoch experimentelle Daten entgegen, dass primordiale Keimzellen bei Nicht-Erreichen der Gonaden und dem damit einhergehenden Wachstumsfaktormangel (u.a. stem cell factor, leukemia inhibitory factor) apoptotisch zugrunde gehen^{34,91}. Daher sind alternative Thesen zur Histogenese der extragonadalen Keimzelltumoren entwickelt worden, die besagen, dass sich diese Tumoren entweder von somatischen Stammzellen oder aus den Hoden „revers migrierten“ transformierten testikulären Keimzellen ableiten^{24,26}.

Um die Frage nach dem zellulären Ursprung der Keimzelltumoren zu beleuchten, ist das Imprinting in gonadalen und extragonadalen Keimzelltumoren untersucht worden (siehe beigefügter Sonderdruck¹¹⁵). Der Terminus Imprinting bezeichnet das Phänomen, dass einige hundert Gene des menschlichen Genoms regelhaft nur monoallelisch exprimiert werden, und zwar in Abhängigkeit davon, ob das Allel von der Mutter oder dem Vater stammt¹²⁸. Die allel-spezifische Expression wird wesentlich durch eine differenzielle DNA Methylierung reguliert^{9,47,128}. Während der Keimzellentwicklung wird das Imprintingmuster in definierter Reihenfolge zunächst gelöscht und während der Reifung geschlechtsspezifisch neu etabliert^{58,123}.

1993 ist der Zusammenhang zwischen Verlust des Imprinting des IGF-2 Gens im Sinne einer biallelischen Expression und Nephroblastomen entdeckt worden⁹⁴. Bereits 1994 haben van Gurp et al. gezeigt, dass die überwiegende Mehrzahl der testikulären Keimzelltumoren bei jungen Männern einen Verlust des Imprinting für die Gene IGF-2 und H19 aufweist¹³⁰. Die Daten sind dahingehend interpretiert worden, dass der Verlust des Imprinting in testikulären Keimzelltumoren Ausdruck ihrer Abstammung von der primordialen Keimzelle

sei. Allerdings ist in der Folgezeit bei einer Vielzahl von embryonalen Tumoren und Karzinomen eine biallelische IGF-2 Expression beschrieben worden^{5,37,59,93}. Somit muss die oben erörterte Schlussfolgerung retrospektiv relativiert werden; offensichtlich scheint in Tumoren ein Selektionsdruck in Richtung einer biallelischen Expression des potenten Wachstumsfaktors IGF-2 zu bestehen, und eine biallelische IGF-2 Expression ist nicht als Keimzell-spezifisch anzusehen.

Entsprechende Analysen an pädiatrischen Keimzelltumoren – besonders bei extragonadalen Tumoren – haben kein konsistentes Muster erbracht¹⁰⁵. Daher sind die eigenen Untersuchungen an extragonadalen Keimzelltumoren um die Analyse der Promotermethylierung des Small Nuclear Ribonucleoprotein Polypeptide N (SNRPN) Gens erweitert worden. Bislang sind keine veränderten SNRPN Methylierungsmuster bei somatischen Tumoren nachgewiesen worden. Ebenso haben wir in der Analyse der SNRPN Methylierung bei Klarzellensarkomen der Niere konstant eine monoallelische Methylierung gefunden¹¹⁸.

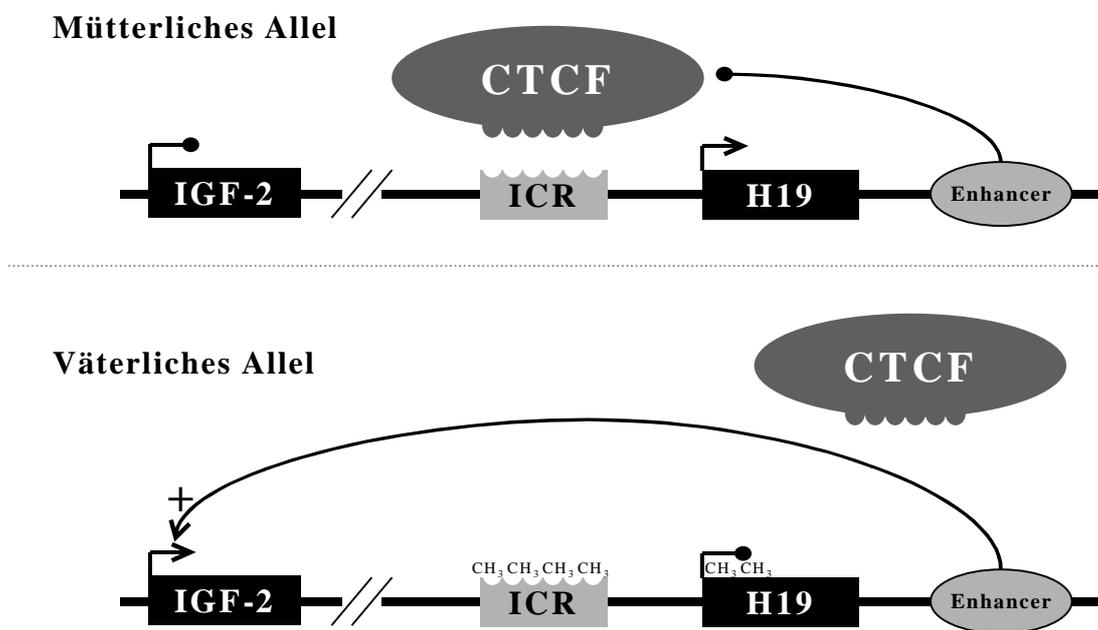
Diese Studie an gonadalen und extragonadalen Keimzelltumoren hat entsprechend der Arbeit von Ross et al.¹⁰⁵ kein konsistentes Muster der IGF-2 und H19 Expression ergeben. In der Analyse der SNRPN Methylierung zeigt sich jedoch in der überwiegenden Zahl der Fälle ein Verlust der DNA Methylierung. Dieser Befund entspricht entweder einem gelöschten Imprinting oder einem männlich-gametischen Muster. Diese Ergebnisse sind inzwischen von einer anderen Arbeitsgruppe mit komplementären Untersuchungsmethoden (methylierungsabhängiger Restriktionsverdau und Southern-Blot Hybridisierung) bestätigt worden¹⁷. In einzelnen Teratomen des Ovars hat eine Hypermethylierung (biallelische Methylierung) des SNRPN Promotors bestanden, vereinbar mit einem weiblichen gametenspezifischen Methylierungsmuster⁷⁶. Ein einziges mediastinales Teratom bei einem Jungen zeigt ebenfalls eine Hypermethylierung; dieser Befund ist als aberrantes Methylierungsmuster zu interpretieren.

Da SNRPN nicht in Prozesse der Tumorinitiation und –progression eingreift und bislang bei somatischen Tumoren keine Veränderungen des SNRPN-Imprinting gefunden worden sind, belegen diese Daten erstmalig, dass sich die extragonadalen Keimzelltumoren von primordialen Keimzellen ableiten. Angesichts der Heterogenität der IGF-2 und H19 Expression kann außerdem postuliert werden, dass gonadale und nongonadale Keimzelltumoren verschiedener Lokalisationen von Keimzellen abstammen, die sich in verschiedenen Entwicklungsstadien befunden haben.

Weiterführende Untersuchungen

Um diese Hypothese weiter zu beleuchten, wird zur Zeit die DNA-Methylierung im Bereich der H19 Imprinting Kontroll-Domäne (H19 ICR) auf 11p15 untersucht. Wie in **Abbildung 3** dargestellt, wird die Expression von IGF-2 durch die Aktivierung des Promoters durch den 3' gelegenen Enhancer und die methylierungsabhängige Interaktion der H19 ICR mit dem vertebrate enhancer blocking protein CTCF reguliert.

Abbildung 3: Regulation der allel-spezifischen IGF-2 Expression



Die Methylierung der CTCF Bindungsdomäne in der H19 ICR wird wesentlich durch die Expression von BORIS (Brother of Regulators of Imprinted Sites) und CTCF reguliert^{60,69}. Dabei korreliert die Expression von BORIS mit einer Phase während der Spermatogenese, während der die CTCF Bindungsdomäne in der H19 ICR biallelisch unmethyliert ist und CTCF nicht exprimiert wird. Ziel der aktuell durchgeführten Untersuchung ist der Vergleich der H19 ICR Methylierung mit Tumorlokalisierung, Geschlecht und histologischer Differenzierung.

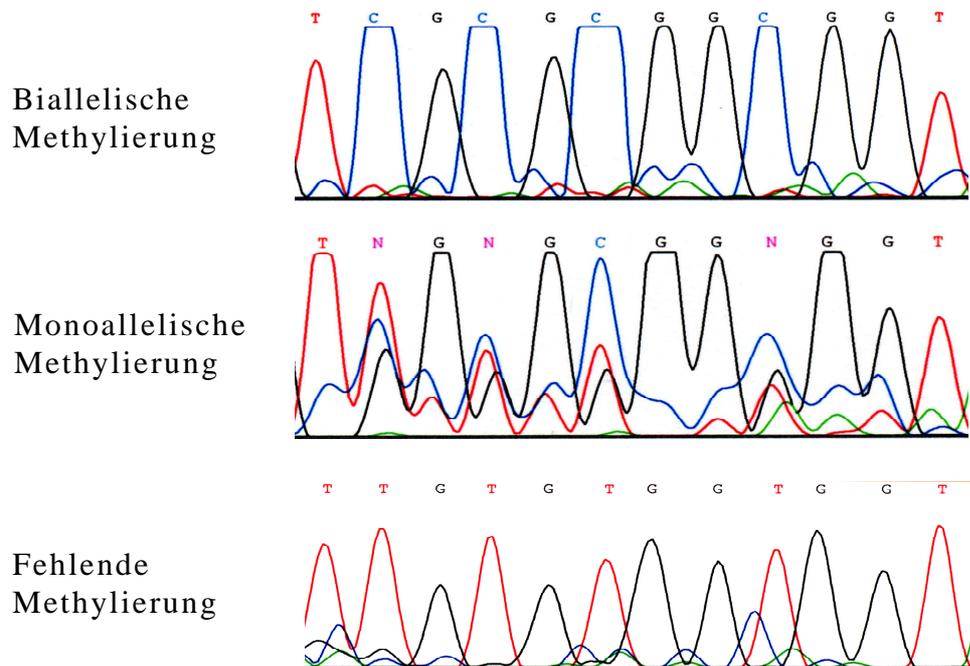
Die Analyse wird mittels Bisulfit-Sequenzierung durchgeführt¹¹⁶. Durch Bisulfit werden unmethylierte Cytosin-Nukleotide der genomischen DNA in Uracil (entsprechend Thymin) überführt, während methylierte Cytosin-Nukleotide erhalten bleiben. In der nachfolgenden

Sequenzierung können somit methylierte von unmethylierten Cytosin-Nukleotiden unterschieden werden.

In den Untersuchungen zeigen spermatozytische Seminome (die in der Regel bei älteren Männern auftreten und sich aus meiotischen Spermatogonien, bzw. -zyten ableiten¹²²) das erwartete hypermethylierte, d.h. spermatozytenspezifische Muster (**Abbildung 4**). In der in dem kooperierenden Labor für Experimentelle Pathologie der Erasmus Universität Rotterdam (Arbeitsgruppe L. Looijenga, W. Oosterhuis) durchgeführten immunhistochemischen Analyse zeigen diese keine BORIS Expression. Hingegen zeigen Seminome eine aberrante Koexpression von BORIS und CTCF. Unsere Beobachtung, dass die Mehrzahl der testikulären Seminome eine Hypermethylierung der CTCF Bindungsdomäne zeigen, spricht dafür, dass Seminome offensichtlich bereits ein gametenspezifisches Muster etabliert haben können. Dieser Befund passt zu früheren Beobachtungen, dass Seminome IGF-2 biallelisch exprimieren¹³⁰. Davon grenzen sich die testikulären malignen Nichtseminome ab, die BORIS nicht exprimieren und überwiegend ein somatisches monoallelisches Methylierungsmuster zeigen. Lediglich in zwei Dottersacktumoren bei Kleinkindern scheint eine Hypomethylierung der H19 ICR zu bestehen. Dieses Muster ist hingegen charakteristisch für die Keimzelltumoren des Ovars. Somit zeigt sich hier ein – wahrscheinlich geschlechtsbedingter – Aspekt der unterschiedlichen Biologie von testikulären und ovarialen Keimzelltumoren.

In unserer Analyse der extragonadalen Keimzelltumoren zeigen diese ein uneinheitliches Methylierungsmuster der H19 ICR, passend zu den heterogenen Daten der allel-spezifischen Expression von IGF-2 und H19^{105,115}. Die Mehrzahl der Tumoren zeigt eine monoallelische Methylierung, entsprechend einem somatischen Muster. Allerdings finden sich Tumoren im Bereich des ZNS und des Steißbeins, die ähnlich den testikulären Seminomen biallelisch methyliert sind. Erstaunlicher Weise kann dieses Muster zum Teil auch bei weiblichen Patienten nachgewiesen werden, so dass die biallelische Methylierung in diesen Fällen als aberrant (da dem Geschlecht nicht entsprechend) beurteilt werden muss. Diese aberranten Muster finden sich vor allem bei extragonadalen Keimzelltumoren und zumeist bei Kleinkindern. In diesem Zusammenhang stellt sich erneut die oben erörterte Frage, inwieweit das Expressionsmuster von IGF-2 ähnlich wie in anderen embryonalen Tumoren durch Selektionsprozesse während der Tumorentwicklung moduliert wird^{5,27,93,94}.

Abbildung 4: Methylierungsanalyse der CTCF Bindungsdomäne in der H19 ICR mittels Bisulfit- Sequenzierung.



Zusammenfassend zeigt sich also bei gonadalen, besonders aber bei extragonadalen Keimzelltumoren ein aberrantes Imprinting, das in einigen Fällen der physiologischen geschlechtsdeterminierten Keimzellreifung widerspricht. Darüber hinaus lassen sich in testikulären Keimzelltumoren aberrante Expressionsmuster der Imprinting regulierenden Gene BORIS und CTCF nachweisen. In Anbetracht der grundlegenden Bedeutung der Regulation des Imprinting für die sexuelle Fortpflanzung bei Säugetieren, ist zu vermuten, dass Störungen des Imprinting einen wesentlichen frühen Schritt in der Entstehung der gonadalen und extragonadalen Keimzelltumoren darstellen. Die aus einer biallelischen Methylierung des H19 ICR resultierende biallelische IGF-2 Expression kann als ein Selektionsvorteil der Tumorzelle aufgefasst werden, und könnte somit den Faktor darstellen, der einer extragonadal verbliebenen Keimzelle das Überleben außerhalb der Gonadenanlage überhaupt erst ermöglicht.

2.3. Genetische Analyse mittels Comparativer Genomischer Hybridisierung (CGH) und Loss of Heterocycosity (LOH) Analyse

2.3.1. CGH Analyse gonadaler und extragonadaler Keimzelltumoren bei Kleinkindern

D.T. Schneider, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, G. Calaminus, D. Harms, U. Göbel, E.J. Perlman: Comparative Genomic Hybridization of Childhood Germ Cell Tumors. *Klinische Pädiatrie* **213**(4), 204-211 (2001)

In dieser Arbeit werden die Daten der CGH-Analyse von 51 Säuglingen und Kleinkindern mit Teratomen und malignen Keimzelltumoren verschiedener Lokalisationen vorgestellt¹¹⁴. Dabei bestätigt sich die Beobachtung, dass die maturen und immaturen Teratome keine in der CGH erkennbaren chromosomalen Imbalanzen aufweisen. Darüber hinaus findet sich nur in einem testikulären und zwei ovarialen malignen Keimzelltumoren ein Zugewinn des Chromosoms 12p, der vereinbar mit einem Isochromosom 12p ist. Der Patient mit dem testikulären Dottersacktumor und Zugewinn 12p ist bei Diagnose zwei Jahre alt gewesen, während die beiden Mädchen mit ovarialem gemischten malignen Keimzelltumor und Zugewinn 12p vier und acht Jahre alt gewesen sind. Bei extragonadalen Keimzelltumoren von Kindern unter 10 Jahren ist kein Zugewinn an 12p gefunden worden.

Abgesehen von diesen drei Ausnahmen sind die CGH-Profile gonadaler und extragonadaler Keimzelltumoren verschiedener Lokalisationen vergleichbar gewesen. Bei allen Lokalisationen ist ein Zugewinn von 20q am häufigsten, gefolgt von Deletionen am langen Arm von Chromosom 6, Imbalanzen von Chromosom 1, Zugewinn an 3 und Verlust von 4. Die Daten entsprechen somit im wesentlichen den Ergebnissen der CGH-Analyse von fünf Dottersacktumoren bei Kleinkindern von Mostert et al.⁷⁸. Sie sind außerdem im Einklang mit konventionellen zytogenetischen Analysen mittels Karyotypisierung nach Kurzzeitkultur^{18,88}, bestätigen und ergänzen vorangegangene Studien mit FISH^{52,53,90,120,121}. Allerdings ist im Vergleich zu konventionellen zytogenetischen Analysen darauf hinzuweisen, dass nach Kurzzeitkultur offensichtlich in einem höheren Prozentsatz der Dottersacktumoren normale Karyotypen gefunden werden¹⁸. Angesichts der Schwierigkeit, Dottersacktumoren erfolgreich in Kultur zu nehmen und zu halten, ist diese Befunddiskordanz wahrscheinlich durch eine Kontamination der Kurzzeitkultur mit Fibroblasten des Tumorstromas zu erklären.

Diese Analyse veranschaulicht, dass die malignen Keimzelltumoren bei Säuglingen und Kleinkindern ungeachtet verschiedener Lokalisation vergleichbare zytogenetische Veränderungen aufweisen. Darüber hinaus zeigen sich in der CGH-Analyse, die eine genomweite zytogenetische Screeningmethode darstellt, charakteristische Muster. Es ist daher

anzunehmen, dass sich Daten aus molekularbiologischen Studien an Dottersacktumoren im Kleinkindalter auf Tumoren verschiedener Lokalisationen übertragen lassen. Diese Beobachtungen sind somit grundlegend für weiterführende Untersuchungen, wie sie in der folgenden Arbeit dargestellt werden.

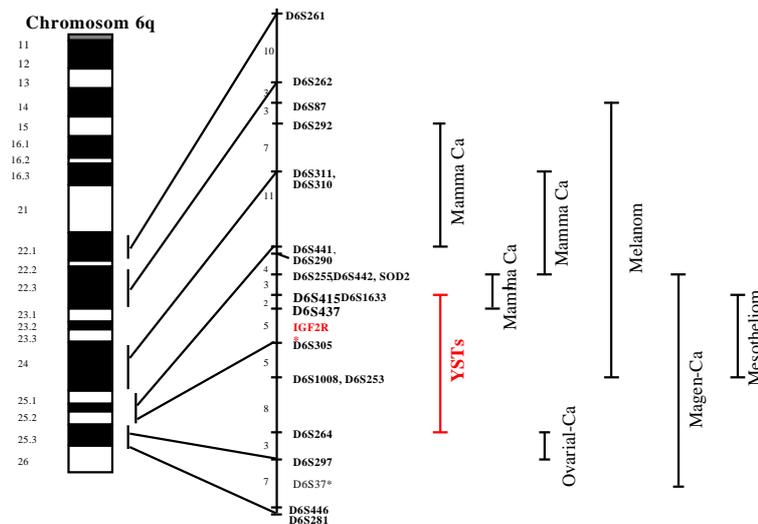
2.3.2. LOH Analyse von 6q und 1p36 bei Dottersacktumoren von Kleinkindern

J. Hu, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, D.T. Schneider, E.J. Perlman: Deletion mapping of 6q21-26 and frequency of 1p36 deletion in childhood endodermal sinus tumors by microsatellite analysis. *Oncogene* **20(55)**: 8042-8044 (2001)

Wie in den beiden vorangegangenen Arbeiten dargelegt, stellt ein Verlust von chromosomalem Material des langen Arms von Chromosom 6 einen häufigen Befund bei Dottersacktumoren bei Kleinkindern dar. In der CGH-Analyse ist vor allem der telomernahe Abschnitt von 6q betroffen. Deletionen an Chromosom 6 q werden bei einer Vielzahl von Tumoren beobachtet; allerdings ist bislang kein Tumorsuppressorgen in diesem Bereich gefunden worden. Zwischen verschiedenen Tumoren besteht keine eindeutige Überschneidung der deletierten Chromosomenabschnitte (**Abbildung 7**). Darüber hinaus sind in FISH-Analysen häufig (in bis zu 80% der Fälle) Verluste von 1p36 beschrieben worden. In der CGH-Analyse ist die Häufigkeit von Chromosomenverlusten an 1p36 geringer und von Zugewinnen an 1q größer, so dass in einem Teil der Fälle eher von einer Imbalanz des Chromosoms 1 zu sprechen ist. Mit Blick auf DNA-Ploidie und konventionelle zytogenetische Analysen, bei denen eine Aneuploidie (oft im hypotetraploiden Bereich) beschrieben worden ist, stellt sich also die Frage, ob bei diesen Tumoren ein echter Verlust der Heterozygotie (loss of heterocosity, LOH) besteht^{18,88,119}.

Es sind 18 Kleinkinder mit Dottersacktumoren (12 testikuläre und 6 extragonadale Tumoren) durch Mikrosatellitenanalyse untersucht worden⁵⁰. In 13 von 18 untersuchten Tumoren, darunter allen extragonadalen Tumoren, hat sich ein LOH von zumindest einem Marker gefunden. Der in allen Tumoren deletierte Bereich liegt an 6q22 bis 6q25, d.h. in einem Chromosomenabschnitt, in dem auch das Gen für den IGF-2 Rezeptor liegt. Der IGF-2 Rezeptor (IGF-2R) vermittelt den Abbau von IGF-2 und nimmt somit die Funktion eines Tumorsuppressors wahr. Entsprechend finden sich Deletionen des IGF-2R in verschiedenen Tumoren wie z.B. Mamma- oder hepatozellulären Karzinomen^{30,46}. Eine verminderte Expression von IGF-2R kann besonders in Zusammenhang mit einer gesteigerten biallelischen Expression von IGF-2 (siehe Kapitel 2.2.) von erheblicher pathophysiologischer Relevanz sein.

Abbildung 5: Ergebnisse von Loss of Heterozygosity-Analysen bei verschiedenen somatischen Tumoren und Dottersacktumoren (YST) von Kleinkindern



In der orientierenden Analyse zweier Mikrosatellitenmarker an 1p36 zeigt sich in fünf von elf informativen Fällen ein LOH von 1p36. Somit werden die Befunde der FISH-Analysen zumindest in einem Teil der Fälle bestätigt. Die Häufigkeit von Deletionen an 1p36 scheint vergleichbar der bei Neuroblastomen zu sein, bei denen sie mit 30 bis 35 % angegeben wird⁷⁴. Derzeit werden in Düsseldorf weiterführende Untersuchungen durchgeführt, die zum Ziel haben, mit einer größeren Zahl von Mikrosatellitenmarkern den gemeinsam deletierten Bereich einzuengen.

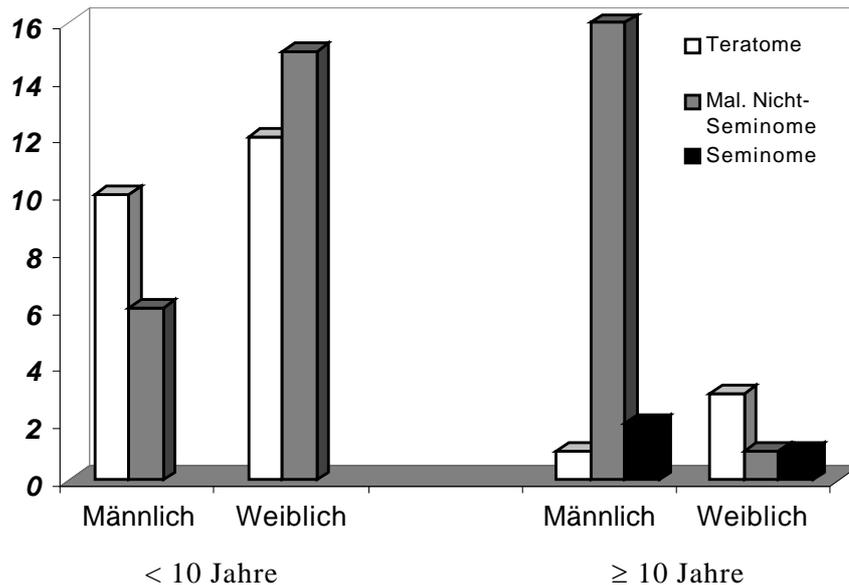
2.3.3. Mediastinale Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen – Charakterisierung genetisch unterschiedlicher Untergruppen

D.T. Schneider, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, G. Calaminus, U. Göbel, D. Harms, S. Lauer, T. Olson, E.J. Perlman: Genetic analysis of mediastinal nonseminomatous germ cell tumors in children and adolescents. *Genes Chromosomes Cancer* 34: 115-125 (2002)

Mediastinale Keimzelltumoren zeigen zwei Häufigkeitsgipfel mit jeweils charakteristischen Mustern (siehe Kapitel 2.1.). Dabei findet sich in Abhängigkeit vom Alter ein statistisch signifikanter Wechsel der Geschlechtsverteilung bei mediastinalen Keimzelltumoren ($p < 0,01$). Dieser Wechsel wird besonders deutlich bei den mediastinalen malignen nicht-seminomatösen Keimzelltumoren. Während bei Kindern unter 10 Jahren Mädchen mit 2,5:1 überwiegen, werden Keimzelltumoren nach Beginn der Pubertät nahezu ausschließlich bei

männlichen Patienten beobachtet (**Abbildung 6**)¹¹². Dies gilt in besonderem Maße für die malignen Keimzelltumoren, da Teratome in dieser Altersgruppe nur noch vereinzelt beobachtet werden.

Abbildung 6: Geschlechtsverteilung bei mediastinalen Keimzelltumoren in Abhängigkeit von Alter und Histologie (68 Patienten des MAKEI Registers).⁷⁷



Angesichts der unterschiedlichen Muster in Abhängigkeit vom Alter stellt sich die Frage, ob die mediastinalen Keimzelltumoren bei Kleinkindern und bei Jugendlichen genetisch unterschiedlich sind. Diese Frage ist besonders interessant mit Blick auf die bekannte Assoziation von mediastinalen Keimzelltumoren bei Erwachsenen und dem Klinefelter Syndrom, zumal sich mediastinale Keimzelltumoren bei Patienten mit Klinefelter Syndrom im Durchschnitt in einem jüngeren Alter manifestieren^{49,85}.

Da keine mediastinalen Keimzelltumoren für eine konventionelle zytogenetische Analyse zu Verfügung gestanden haben, sind mittels der Technik der comparativen genomischen Hybridisierung (CGH) 35 archivierte, in Paraffin eingebettete Gewebeproben hinsichtlich chromosomaler Zugewinne und Verluste analysiert worden (siehe Anlage¹¹³). Bei der CGH wird DNA aus der Gewebeprobe extrahiert und mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Nach einer Ko-Hybridisierung mit differentiell markierter Kontroll-DNA gegen männliche Metaphasenchromosomen erfolgt eine computergestützte Analyse der Fluoreszenzmuster. Somit wird das gesamte Genom gleichzeitig überblickt, so dass ein Zugewinn an genetischem Material (z.B. Trisomie, Duplikation, Amplifikation) bzw. ein Verlust (z.B. Monosomie, Deletion) detektiert werden kann^{51,55,56}. Für die Aussagekraft der Untersuchung ist die

vorhergehende histologische Begutachtung der Tumorprobe wesentlich, da bei einem Tumorzellgehalt unter 75% mit falsch negativen Resultaten zu rechnen ist.

Alle 15 untersuchten Teratomen zeigen balanzierte CGH-Profile. Hingegen finden sich in den malignen nicht-seminomatösen Tumoren charakteristische CGH Profile. Bei Jugendlichen über 10 Jahren ist in den meisten Fällen ein Zugewinn am Chromosom 12p nachweisbar, der z.B. einem Isochromosom 12p entspricht, welches für testikuläre Keimzelltumoren bei Erwachsenen pathognomonisch ist^{24,81,101}. Darüber hinaus zeigt die Hälfte der männlichen Jugendlichen einen Zugewinn des gesamten X Chromosoms, vereinbar mit einem Klinefelter Syndrom, was auch bei zwei Patienten mittels FISH nachgewiesen worden ist.

Bei malignen Tumoren von Kleinkindern finden sich andere chromosomale Veränderungen. In dieser Altersgruppe überwiegen Imbalancen am Chromosom 1 (Deletion 1p, Zugewinn 1q), DNA-Verluste an 6q (bevorzugt telomernah) sowie Zugewinne an 20q. Diese Veränderungen entsprechen CGH-Mustern, wie sie auch bei testikulären und extragonadalen Keimzelltumoren von Kleinkindern zu finden und in konventionellen zytogenetischen Studien beschrieben worden sind (vergleiche Kapitel 2.3.1)^{18,78,88,89}. Bei einem jugendlichen Patienten zeigt sich in der FISH eine Amplifikation der Onkogene *MYCN* und *MYCC*.

Zusammenfassend lassen sich in der CGH-Analyse Teratome mit balanzierendem Genotyp von malignen Keimzelltumoren unterscheiden, die in Abhängigkeit vom Erkrankungsalter charakteristische CGH-Profile zeigen. Die Assoziation mit dem Klinefelter-Syndrom ist bei mediastinalen Keimzelltumoren bei Kleinkindern nicht zu beobachten. Somit korrelieren die epidemiologischen Verteilungsmuster bei mediastinalen Keimzelltumoren mit grundlegend unterschiedlichen genetischen Mustern und somit einer unterschiedlichen Tumorbilogie.

2.4. Mediastinale Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen – Charakterisierung klinisch unterschiedlicher Untergruppen

D.T. Schneider, G. Calaminus, H. Reinhard, P. Gutjahr, B. Kremens, D. Harms, U. Göbel: Primary mediastinal germ cell tumors in children and adolescents: results of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96. *Journal of Clinical Oncology* 18: 832-839 (2000)

Wie im vorangegangenen Kapitel dargestellt, sind bei Kindern und Jugendlichen zwei genetisch verschiedene Gruppen von malignen Keimzelltumoren zu unterscheiden. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Diagnostik und der Behandlung von Keimzelltumoren des Mediastinum bei Kindern und Jugendlichen. Bei Erwachsenen stellt das vordere Mediastinum

gemeinsam mit dem zentralen Nervensystem die häufigste Lokalisation extragonadaler Keimzelltumoren dar. Mediastinale Keimzelltumoren treten bei Erwachsenen nahezu ausschließlich bei Männern auf⁷⁷ und sind bei maligner nicht-seminomatöser Histologie als prognostisch ungünstig zu bewerten¹. Darüber hinaus werden bei Erwachsenen erhöhte AFP-Werte über 1000 µg/l allgemein als zusätzlicher ungünstiger Prognoseparameter angesehen¹. Die Prognose der mediastinalen malignen Nicht-Seminome liegt auch mit modernen Therapieprotokollen bei einem ereignisfreien Überleben von knapp 50% und damit etwa 30% unter dem Niveau von testikulären Keimzelltumoren^{63,39}.

Da bei Kleinkindern die bösartigen Keimzelltumoren histologisch nahezu ausschließlich Dottersacktumoren entsprechen (siehe Kapitel 2.1. zur Epidemiologie), wäre in Analogie zu den Erwachsenen die Prognose von Kindern mit malignen Keimzelltumoren des Mediastinums ungünstig einzustufen. In der Tat gibt es in der Literatur mehrere Berichte, die auch bei Kindern die mediastinale Tumorlokalisation als ungünstigen Prognosefaktor ausweisen^{2,8}. In der Arbeit von Ablin et al. wird dieser Umstand der höheren Rate der inkompletten Resektionen zugeschrieben².

Veranlasst durch diese Überlegungen wurde eine Analyse von 47 Patienten der MAKEI Studien mit mediastinalen Keimzelltumoren durchgeführt (siehe Anlage¹¹⁰). Berücksichtigt wurden Patienten bis zu einem Alter von 17 Jahren. Von 21 Patienten mit Teratomen unterschiedlicher Immaturität sind alle nach Tumorresektion in Remission geblieben, auch wenn die Resektion bei vier Patienten nach onkologischen Kriterien mikroskopisch inkomplett einzustufen ist.

Bei den 26 Patienten mit malignen nicht-seminomatösen Tumoren ist die Prognose insgesamt günstig (ereignisfreies Überleben nach fünf Jahren: $0,87 \pm 0,05$). In der Folgezeit sind vergleichbare Ergebnisse auch von der U.S.-amerikanischen Arbeitsgruppe berichtet worden, die allerdings in dem Therapieprotokoll zum Teil deutlich höhere Cisplatin-Dosen ($200 \text{ mg/m}^2/\text{Zyklus}$) eingesetzt hat¹¹.

Auch wenn die Überlebensraten augenscheinlich deutlich über denen bei erwachsenen Patienten liegen, findet sich in der untersuchten Kohorte der MAKEI Studien kein statistisch fassbarer Unterschied zwischen Kleinkindern und jugendlichen Patienten¹⁰⁹. Erst nach längerer Beobachtungszeit und Einbeziehung der erwachsenen Patienten der MAKEI Studie wird erkennbar, dass die Prognose von Kleinkindern mit malignen Keimzelltumoren in der Tat statistisch signifikant besser ist als bei älteren Patienten^{112,113}. Die Höhe des Tumormarkers AFP ist nicht prognostisch relevant. Somit korrelieren die oben beschriebenen

Unterschiede in der Genetik der mediastinalen Keimzelltumoren verschiedener Altersgruppen auch mit dem klinischen Verlauf der Patienten. Dieses scheint sich ebenfalls in der Analyse der U.S.-amerikanischen Studien zu bestätigen. Marina et al. haben in einem Tagungsbeitrag zu jugendlichen Patienten über 15 Jahren mit extragonadalen Keimzelltumoren über eine ungünstigere Prognose berichtet⁷³.

Darüber hinaus wird in der Auswertung der MAKEI Patienten mit malignen Mediastinaltumoren erstmalig explizit auf den zentralen Stellenwert der lokalen Tumorkontrolle durch eine mikroskopisch komplette Resektion hingewiesen. Der komplette Resektionstatus nach primärer, verzögerter oder second look Operation stellt bei gleicher kumulativer Chemotherapie den wichtigsten prognostischen Parameter dar (ereignisfreies Überleben nach letztendlich kompletter Resektion $0,94 \pm 0,06$ im Vergleich zu $0,42 \pm 0,33$ nach inkompletter Resektion, $p < 0,002$). Daraus können zwei Schlussfolgerungen für die Behandlungsstrategie gezogen werden: Erstens ist eine second-look Resektion durchzuführen, wenn die primäre Resektion bei Diagnose nicht komplett war. Zweitens ist von der Möglichkeit einer präoperativen Chemotherapie und verzögerten Resektion Gebrauch zu machen, wenn die initiale bildgebende Diagnostik nur eine geringe Aussicht auf eine komplette Primäroperation einräumt. Bei verzögerter Tumorsektion nach präoperativer Chemotherapie ergibt sich eine signifikant höhere Rate an kompletten Resektionen als bei primärer Operation. Auf diese Weise kann mit einer entsprechenden Therapiestrategie eine erneute Thorakotomie als zweiter operativer Eingriff vermieden werden.

2.5. Diagnostische und therapeutische Ansätze bei extragonadalen Keimzelltumoren im Kindesalter

2.5.1. Differenzialdiagnostische Bedeutung von AFP und β -HCG

D.T.Schneider, G. Calaminus, U. Göbel: Diagnostic value of alpha₁ fetoprotein and beta human chorionic gonadotropin in infancy and childhood. *Pediatric Hematology and Oncology* **18(1)**: 11-26 (2001)

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, aufgrund welcher diagnostischer Maßnahmen zweifelsfrei eine klinische Diagnose gestellt werden kann, die ohne histologische Bestätigung den unmittelbaren Einsatz einer präoperativen Chemotherapie gerechtfertigt. Wie im Kapitel zur Histologie ausgeführt und in **Tabelle 1** zusammengefasst, zeichnen sich Dottersacktumoren und Choriokarzinome durch die Produktion der Tumormarker AFP und β -HCG aus und werden daher auch als sezernierende Keimzelltumoren bezeichnet. Da Keimzelltumoren

an ganz verschiedenen Lokalisationen auftreten und diese Tumormarker auch in anderen klinischen Situationen erhöht sein können, ist eine sorgfältige Differenzialdiagnostik erforderlich (siehe Anlage¹⁰⁷). Von grundsätzlicher Bedeutung ist dabei die Kenntnis der altersbezogenen Normalwerte für AFP bei Neugeborenen und Säuglingen¹³. Hier ist zu erwarten, dass aktuelle Studien zur Differenzierung verschiedener AFP-Fraktionen bei Patienten mit Keimzelltumoren (geplant im Rahmen der anstehenden U.S. Children's Oncology Group Protokolle) die diagnostische Aussagekraft der AFP Bestimmung in dieser Altersgruppe erhöhen werden. Bei jugendlichen Patienten ist hingegen immer eine Schwangerschaft auszuschließen. Ansonsten sind – wie aus der Arbeit ersichtlich – die meisten in Frage kommenden Differenzialdiagnosen aufgrund der Anamnese und der klinischen und bildgebenden Untersuchungen mit großer Sicherheit auszuschließen.

Problematisch kann allerdings die Beurteilung von AFP produzierenden Tumoren im Bereich der Leber und des oberen Retroperitonealraumes sein. Dort sind neben Keimzelltumoren auch primäre Lebertumoren sowie das Pankreatikoblastom der Bauchspeicheldrüse in Betracht zu ziehen. Somit ist bei dieser Tumorlokalisation eine Biopsie zur Diagnosesicherung unverzichtbar.

Neben der Abgrenzung von Tumoren anderer Histogenese ist die Bestimmung der Tumormarker außerdem für die Abgrenzung verschiedener histologischer Anteile in Keimzelltumoren unverzichtbar. Besonders bei großen Tumoren ist eine Biopsie nicht immer repräsentativ, da in einem Teratom beispielsweise Herde eines Dottersacktumors der histologischen Diagnose entgehen können. Ebenso weist die Erhöhung des β -HCG über 50 μ U/l bei einem Germinom auf einen klinisch relevanten Anteil eines Choriokarzinoms hin. In entsprechenden Fällen rechtfertigt ein eindeutig erhöhter Tumormarker daher auch bei anders lautendem histologischen Befund die Therapie entsprechend der maligneren Tumorkomponente des sezernierenden Keimzelltumors.

Schließlich ist darauf hinzuweisen, dass die engmaschige Verlaufskontrolle der Tumormarker nach einer Tumoresektion frühzeitig auf ein eventuelles Rezidiv hinweisen kann. Dieses ist besonderes bei Patienten, die entsprechend einer watch-and-wait Strategie nachbeobachtet werden, von großer Wichtigkeit. Die serielle Messung während einer präoperativen Chemotherapie dient ferner in Zusammenschau mit der bildgebenden Diagnostik der Beurteilung des Ansprechens auf die zytostatische Therapie. Bei malignen Tumoren mit Teratomanteilen kann gelegentlich eine Größenzunahme des Tumors bei Normalisierung der Tumormarker beobachtet werden. Diese Situation wird als „growing teratoma syndrome“ bezeichnet, und beschreibt den Umstand, dass die maligne Tumorkomponente wunschgemäß

auf die zytostatische Behandlung anspricht, während die therapierefraktäre Teratomkomponente proliferiert³.

2.5.2. Multimodale Behandlung der malignen Steißbeintumoren

U.Göbel, D. T. Schneider, G. Calaminus, H. Jürgens, H.J. Spaar, W. Sternschulte, K. Waag, D. Harms. Multimodal treatment of malignant sacrococcygeal germ cell tumors. Prospective analysis of 66 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86 and 89. *Journal of Clinical Oncology* **20**: 1943-1950 (2001)

Die folgenden beiden Arbeiten befassen sich mit der Behandlung von malignen Keimzelltumoren der Steißbeinregion. Wie in Kapitel 2.1. erläutert, ist die Steißbeinregion der häufigste Manifestationsort von Keimzelltumoren im Säuglings- und Kleinkindalter. Da Keimzelltumoren in dieser Region nach dem fünften Lebensjahr nur noch selten vorkommen, handelt es sich um eine für das Kleinkindalter charakteristische Erkrankung. Histologisch handelt es sich zumeist um Dottersacktumoren, zum Teil in Kombination mit Anteilen eines reifen oder unreifen Teratoms.

In der Literatur wird die Prognose der malignen Keimzelltumoren der Steißbeinregion von einigen Arbeitsgruppen als im Vergleich zu anderen Lokalisationen ungünstiger angegeben. So stellt sich in der Analyse der französischen Arbeitsgruppe die Lokalisation am Steißbein als ein ungünstiger prognostischer Faktor dar⁸. Auch in der frühen U.S. amerikanischen Studie haben die extragonadalen Tumoren, zumeist Tumoren der Steißbeinregion, ungünstiger abgeschnitten². Allerdings scheint dieser Unterschied in der letzten Studie nicht mehr zu bestehen⁹⁶. Ebenso wird in der aktuellen britischen Studie die Prognose der Steißbeintumoren als günstig eingestuft⁷¹.

Für die klinische Praxis sind folgende Ergebnisse der vorgelegten Untersuchung⁴⁵ von besonderer Bedeutung. Zum einen zeigt sich die hohe Effizienz der cisplatinhaltigen Chemotherapie, da ein hoher Prozentsatz der Patienten mit metastatischer Erkrankung ohne Metastasen Chirurgie geheilt worden ist. Zum anderen stellt sich in der Analyse wie bei den Mediastinaltumoren der hohe therapeutische Stellenwert der operativen Therapie des Primärtumors dar. Patienten mit makroskopisch unvollständiger Tumorresektion haben ohne eine second-look Operation ein sehr hohes Rezidivrisiko (fünf von acht Patienten). Hingegen ist die Prognose günstiger, wenn der Tumor komplett (22 von 24 Patienten in anhaltender Erstremission) oder nur mikroskopisch unvollständig (neun von 13 Patienten in Erstremission) entfernt worden ist, oder wenn die Patienten eine second-look Operation erhalten haben (15 von 19 Patienten in Erstremission).

Das Problem der unvollständigen Tumorresektion ist bereits bei der Konzeption der MAKEI Studien bedacht und daher von Anfang an als Alternative zur primären Operation eine präoperative Chemotherapie gefolgt von einer verzögerten Resektion empfohlen worden. Von dieser Möglichkeit ist vor allem bei Patienten mit großen Tumoren (> 5cm) Gebrauch gemacht worden. Die Auswertung zeigt, dass die präoperative Chemotherapie besonders bei Tumoren im Stadium T2b (infiltrierend wachsend und größer als 5 cm im Durchmesser) vorteilhaft ist, da bei einer verzögerten Resektion signifikant häufiger eine komplette Tumorentfernung erzielt werden kann. Dieser Vorteil setzt sich auch in verbesserte Überlebensraten bei Patienten mit lokal fortgeschrittenen und metastasierenden Tumoren (Stadium T2b M1) um, die nach dieser Strategie behandelt werden.

In der aktuellen Auswertung der letzten U.S. amerikanischen Studie ist ebenfalls die Auswirkung des Zeitpunktes der Tumorresektion untersucht worden⁹⁶, ohne dass in der Gesamtgruppe ein signifikanter Unterschied zwischen primärer und verzögerter Resektion erkennbar wird. Dies hat zu der Schlußfolgerung veranlasst, dass eine verzögerte Resektion nicht nachteilig sei. Eine gesonderte Analyse der Patienten mit fortgeschrittenen Tumorstadien hat allerdings nicht stattgefunden. Dagegen ist ein besonderer Schwerpunkt auf die Untersuchung der Effizienz einer gesteigerten Cisplatinosis (200 gegenüber 100 mg/m² und Zylus) gelegt worden. Es zeigt sich ein verbessertes ereignisfreies Überleben der Patientengruppe, die die hohe Cisplatinosis erhalten hat, allerdings bei einer sehr hohen Rate von schwerer Oto- und Nephrotoxizität⁴⁰.

2.5.3. Rezidivbehandlung der malignen Steißbeintumoren

D.T. Schneider, R. Wessalowski, G. Calaminus, H. Pape, M. Bamberg, J. Engert, K. Waag, H. Gadner, U. Göbel: Treatment of recurrent malignant sacrococcygeal germ cell tumors - analysis of 22 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96. *Journal of Clinical Oncology* **20**: 1951-1960 (2001)

Die besondere klinische Relevanz der kompletten operativen Tumorentfernung spiegelt sich auch in der Beobachtung wider, dass die überwiegende Mehrzahl der Rezidive bei malignen Keimzelltumoren der Steißbeinregion lokoregional auftritt. Von 22 ausgewerteten Rezidivpatienten haben 17 ein isoliertes lokoregionales Rezidiv, drei ein kombiniertes und nur zwei ein ausschließliches Fernrezidiv erlitten¹¹⁷. Das Rezidivmuster bei malignen Steißbeintumoren unterscheidet sich somit grundsätzlich von testikulären Keimzelltumoren bei Erwachsenen. Bei letzteren ist die Lokalthherapie in der Regel unproblematisch und mittels einer Orchidektomie über einen hohen inguinalen Zugang als onkologisch komplette Resektion des Primärtumors zu erreichen. Rezidive manifestieren sich daher zumeist in Form

von Metastasen im Bereich der retroperitonealen Lymphknoten oder an entfernten Orten durch hämatogene Ausbreitung. Daher ist bei Manifestation im Sinne einer systemischen Erkrankung vor allem eine Intensivierung der systemischen Behandlung sinnvoll, wie es der Einsatz der hochdosierten Chemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation darstellt^{83,84,97}.

Bei Kindern mit Rezidiven eines malignen Keimzelltumors der Steißbeinregion ist jedoch in der Rezidivbehandlung ähnlich wie auch bei der Primärtherapie die lokale Tumorkontrolle für den Behandlungserfolg ausschlaggebend. Günstig ist die Prognose vor allem dann, wenn der Tumor mikroskopisch komplett entfernt werden kann. So ist eine Patientin nach kompletter Resektion eines umschriebenen Lokalrezidives eines Dottersacktumors sogar ohne adjuvante Chemotherapie in anhaltender Remission geblieben (zur Zeit 45 Monate).

Auch in der Rezidivsituation hat sich eine präoperative Chemotherapie als günstig erwiesen. Als unterstützende Therapiemodalität kann die regionale Tiefenhyperthermie im Sinne einer Thermochemotherapie wesentlich zum Behandlungserfolg beitragen. Wie bereits von Wessalowski et al. dargelegt, kann die Tiefenhyperthermie die lokale Tumorkontrolle wesentlich intensivieren^{132,133} und damit die Chancen einer kompletten Tumorresektion erhöhen. Als weitere Therapiemodalität kann außerdem eine ausreichend hoch dosierte (>45 Gy) und großvolumige Bestrahlung z.B. nach mikroskopisch unvollständiger Tumorentfernung erfolgreich eingesetzt werden. Hierbei sind wegen der Lokalisation und des meist jungen Alters der Kinder die Spätfolgen hinsichtlich Wachstum, Darmschäden und Fertilität zu berücksichtigen. Hingegen haben sich Therapiekonzepte z.B. mit einer Hochdosis-Chemotherapie, wie sie bei erwachsenen Patienten mit rezidivierenden Keimzelltumoren erfolgreich eingesetzt werden^{83,97}, nicht als günstig erwiesen, die lokale Tumorkontrolle zu erleichtern.

Insgesamt ist die Prognose dennoch eingeschränkt. Nur bei 12 der 22 Patienten ist eine komplette Zweitremission erreicht worden, die sich bei sieben als dauerhaft erwiesen hat. Bei zehn Patienten hat die Rezidivbehandlung keinen Effekt gehabt bzw. nur eine partielle Remission bewirkt; von dieser Patientengruppe haben nur drei Patienten eine anhaltende Remission erreicht.

Aus diesem Überblick ergibt sich, dass ein frühzeitiger Einsatz effektiver Behandlungsmodalitäten entscheidend für den Therapieerfolg ist. Daher sind die Ergebnisse dieser ersten systematischen Untersuchung bei Rezidiven von malignen Keimzelltumoren der Steißbeinregion in einen therapeutischen Algorithmus umgesetzt worden. Demnach wird bei einem lokoregionalem Rezidiv eine primäre Chemotherapie empfohlen. Bei gutem

Ansprechen schließt sich eine verzögerte Tumorresektion an; bei einem sehr frühen Rezidiv bzw. unzureichendem Ansprechen auf die Rezidivbehandlung ist vor einer Resektion die Lokalthherapie durch eine lokoregionale Tiefenhyperthermie zu intensivieren. In Fällen, bei denen der Tumor mikroskopisch nicht komplett entfernt worden ist, wird eine postoperative Bestrahlung mit mindestens 45 Gy empfohlen. Es ist zu erwarten, dass Patienten mit rezidivierenden extragonadalen Keimzelltumoren zukünftig von einer standardisierten und risikoadaptierten Rezidivtherapie profitieren werden.

2.6. Zweittumoren – Gemeinsamer klonaler Ursprung oder therapiebedingt ?

D.T. Schneider, E. Hilgenfeld, D. Schwabe, W. Behnisch, A. Zoubeck, R. Wessalowski, U. Göbel: Acute myelogenous leukemia following treatment for malignant germ cell tumors in children. *Journal of Clinical Oncology* **17**: 3226-3233 (1999).

Die Entwicklung von Zweittumoren stellt ein wesentliches Problem der zytostatischen Behandlung von malignen Tumoren dar. Dabei können sich Zweittumoren nach erfolgreicher Behandlung eines Tumors aufgrund verschiedener Ursachen entwickeln. Einerseits können der Primär- und der Sekundärtumor auf einem gemeinsamen, ererbten genetischen Defekt beruhen. Als Beispiele sind hier die konstitutionellen Mutationen des Retinoblastom- und des p53-Gens zu nennen, bei denen ein Patient in einem syndromatischen Zusammenhang synchron oder metachron verschiedene Tumoren entwickeln kann^{33,61,67,68}. Andererseits kann der Zweittumor durch die DNA-schädigende Wirkung der zytostatischen Medikamente und/oder der radioaktiven Bestrahlung verursacht sein. Klassische Beispiele sind hier die akute myeloische Leukämie nach Etoposid-Behandlung mit Nachweis einer Aberration am *mll* Gen auf 11q23^{66,125} oder das Osteosarkom nach Bestrahlung^{10,124}.

Bei Keimzelltumoren ist schließlich eine weitere mögliche Assoziation zwischen Primär- und Sekundärtumor denkbar. Wie oben dargestellt, leiten sich Keimzelltumoren von totipotenten primordialen Keimzellen ab^{115,127}. Dementsprechend ist es möglich, dass sich verschiedene maligne Tumorformen in einem Keimzelltumor entwickeln können. In der Tat werden wiederholt Tumoren gefunden, bei denen es zu einer malignen „Transformation“ einer Tumorkomponente gekommen ist. So finden sich beispielsweise Sarkome in malignen Keimzelltumoren, bzw. in Teratomen können sich karzinomatöse Veränderungen oder primitive neuroektodermale Tumoren finden⁸².

Besondere Beachtung haben Fälle gefunden, bei denen gleichzeitig eine akute myeloische Leukämie und ein extragonadaler Keimzelltumor – zumeist ein mediastinaler Dottersacktumor – diagnostiziert worden ist^{25,82,86}. Da in den leukämischen Blasten das für

Keimzelltumoren des Erwachsenen pathognomonische Isochromosom 12p nachgewiesen worden ist, steht unzweifelhaft fest, dass sich die Leukämie aus dem Keimzelltumor heraus entwickelt hat²⁵. Als Ursprungsort werden Hämatopoiese-Inseln im Dottersacktumor angesehen⁸⁷. Da bei Kleinkindern Dottersacktumoren den häufigsten malignen Tumor darstellen, der zudem in der Mehrzahl der Fälle extragonadal auftritt, wäre somit mit einer Häufung einer Assoziation von Leukämie und Keimzelltumor zu rechnen.

Diese Vermutung wird jedoch durch die vorgestellte Arbeit widerlegt. Unter 1132 erfassten Patienten, darunter 442 chemotherapeutisch und 174 kombiniert chemo- und radiotherapeutisch behandelten Patienten haben sich nach einer medianen Nachbeobachtungszeit von 38 Monaten sechs Patienten mit einer sekundären Leukämie befunden. Das Risiko ist somit vergleichbar dem nach zytostatischer Behandlung von malignen Keimzelltumoren bei Erwachsenen ohne mediastinale Lokalisation⁶².

Gegen die Hypothese eines gemeinsamen klonalen Ursprungs von Leukämie und Keimzelltumor sprechen folgende Argumente:

Bei keinem der Patienten sind die Leukämie und der Keimzelltumor gleichzeitig diagnostiziert worden; die kürzeste Latenzzeit hat 13 Monate betragen. In der zytogenetischen Untersuchung der leukämischen Blasten haben sich keine für einen Keimzelltumor charakteristischen Befunde (vergleiche Kapitel 1.2., 2.3.) gezeigt.

Alle Patienten mit sekundären Leukämien sind wegen ihres Keimzelltumors zytostatisch behandelt und drei zusätzlich bestrahlt worden, während sich keine Leukämie bei den 392 Patienten fand, die ausschließlich operativ behandelt worden sind. Im Gegensatz hat sich eine Korrelation des Leukämierisikos mit den kumulativen Dosen von Ifosfamid und Etoposid gezeigt, und bei fünf Patienten sind in den leukämischen Blasten zytogenetische Veränderungen nachweisbar gewesen, die in vier Fällen charakteristisch für Veränderungen nach zytostatischer Therapie sind.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass im Gegensatz zu extragonadalen Dottersacktumoren bei Erwachsenen bei Kleinkindern keine klonale Assoziation zwischen Keimzelltumor und Leukämie nachweisbar gewesen ist. Somit stellt die zytostatische und radiotherapeutische Behandlung den wesentlichen Risikofaktor für die Entwicklung einer Zweitleukämie dar. Jedoch überwiegt weiterhin das Rezidivrisiko bei weitem das Risiko, an einer therapiebedingten Leukämie zu erkranken, so dass eine generelle Therapiereduktion nicht gerechtfertigt ist. Jedoch erscheinen intensive aber kurze Chemotherapieprotokolle mit vergleichsweise geringeren kumulativen Dosen auch mit Blick auf das Leukämierisiko

vorteilhaft. Schließlich ist der kombinierte Einsatz von Chemo- und Strahlentherapie (entsprechend unserer Erfahrung in Dosen über 40 Gy) ebenfalls mit einem mehr als additiv erhöhten Risiko verbunden. Daher ist der Einsatz der Bestrahlung – soweit es die klinische Situation erlaubt – auf die Rezidivbehandlung zu beschränken; lediglich bei Keimzelltumoren des zentralen Nervensystems gelten aus anderen Überlegungen, die hier nicht Gegenstand der Erörterung sind, andere Entscheidungsgrundlagen^{4,20-22}.

3. Zusammenfassung und Ausblick

Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen – ein Thema mit vielen Variationen

Ziel dieser Arbeit ist es, innerhalb der heterogenen Gruppe der Keimzelltumoren im Kindesalter gemeinsame Muster erkennbar werden zu lassen. Gleichzeitig sollen spezifische Aspekte der Keimzelltumoren bei Kleinkindern von Tumoren bei Jugendlichen und Erwachsenen herausgestellt werden, so dass eine biologisch begründete und klinisch relevante Abgrenzung unterschiedlicher Erkrankungsgruppen möglich wird.

In den vorgestellten Arbeiten wird dargelegt, dass die Keimzelltumoren unabhängig von ihrer Lokalisation und histologischen Differenzierung einen gemeinsamen zellulären Ursprung von der totipotenten primordialis Keimzelle teilen. Gleichzeitig zeigt sich aber in den Imprinting-Untersuchungen, dass sich Keimzelltumoren gonadaler und extragonadaler Lokalisation und verschiedener histologischer Subtypen offensichtlich von Keimzellen während verschiedenen Reifungsstufen ihrer Entwicklung ableiten. Schließlich werden zum Teil auch aberrante, d.h. dem chromosomalen Geschlecht des Patienten entgegen laufende, Imprintingmuster gefunden. Diese aberranten Imprintingmuster bestehen vor allem bei extragonadalen Keimzelltumoren und zumeist bei Kleinkindern.

In diesem Zusammenhang gewinnen die zytogenetischen Untersuchungen besondere Bedeutung. In der konventionellen Zytogenetik und der comparativen genomischen Hybridisierung lassen sich verschiedene Untergruppen von Keimzelltumoren mit jeweils charakteristischen chromosomalen Veränderungen abgrenzen (zusammengefasst in **Tabelle 3**). In malignen Keimzelltumoren bei Kleinkindern finden sich besonders häufig Deletionen am langen Arm des Chromosom 6, die in der LOH Analyse regelmäßig den Bereich des IGF-2 Rezeptor einschließen. Es ist daher denkbar, dass bei malignen Keimzelltumoren von Kleinkindern eine aberrante biallelische Expression von IGF-2 (bei biallelischer Methylierung der CTCF Bindungsdomäne in der H19 ICR) und eine verminderte IGF-2 Inaktivierung durch

den deletierten IGF-2 Rezeptor zusammenwirken. Das Ergebnis wäre eine autokrine Stimulation der Tumorzellen durch IGF-2.

Tabelle 3: Einteilung der Keimzelltumoren nach Alter, Tumorlokalisation und Zytogenetik

Alter	Lokalisation	Histologie	Genetik
Säugling	Hoden, Ovar	TER, YST	TER: normal, diploid
Kleinkind	Extragenadal		YST: -1p, +1q, -6q, +20, diploid, tetraploid
Jugendlicher	Hoden	TER, G, EC, YST, CHC	TER: selten i(12p), diploid Andere: i(12p) bzw. 12p Amplifikation in >90%, aneuploid
Jugendliche	Ovar	TER, G, EC, YST, CHC	TER: (23,X)x2 Andere: i(12p) bzw. 12p Amplifikation in >80%, aneuploid
Jugendliche	Extragenadal	TER, G, EC, YST, CHC	TER: +X, -Y Andere: i(12p) bzw. 12p Amplifikation, +X, -Y, aneuploid

TER: Teratom (matur oder immatur), YST: Dottersacktumor, G: Germinom, Seminom, Dysgerminom, EC: embryonales Karzinom, CHC: Choriokarzinom

Die unterschiedlichen genetischen Veränderungen der Keimzelltumoren bei Kleinkindern, Jugendlichen und Erwachsenen bilden die biologische Grundlage für die klinisch zu beobachtenden Unterschiede zwischen malignen Keimzelltumoren verschiedener Altersgruppen. Bei Kleinkindern besteht keine primäre Assoziation zwischen extragenadalen Keimzelltumoren und myeloischen Leukämien. Das Ansprechen auf eine zytostatische Therapie ist bei extragenadalen Keimzelltumoren im Kleinkindalter generell günstiger als bei entsprechenden Tumoren bei Erwachsenen. Darüber hinaus stellt sich bei Keimzelltumoren im Kindesalter die wesentliche Bedeutung der adäquaten Lokaltherapie für die Primär und Rezidivbehandlung dar.

Aufgrund der biologischen und klinischen Besonderheiten ist es geboten, spezifische Behandlungsstrategien für Keimzelltumoren bei Kindern weiter zu entwickeln und zu erforschen. Ein wesentlicher Erfolg ist bereits durch die Einführung neoadjuvanter Therapiekonzepte auf der Basis einer reflektierten Tumormarker- und modernen Schnittbilddiagnostik erzielt worden. Somit wird durch die Optimierung der Therapiestrategie

eine Reduktion der kumulativen Therapie bei gleichzeitiger Verdichtung und Intensivierung der Chemotherapie ermöglicht. Dieser Umstand ist auch mit Blick auf mögliche Sekundärfolgen wie Zweittumoren sowie die Oto- und Nephrotoxizität der Chemotherapie vorteilhaft und trägt somit wesentlich zu der Heilung und Gesundung der Patienten dar. Außerdem stehen mit der lokoregionalen Tiefenhyperthermie und der Bestrahlung effektive Therapiemodalitäten für eine eventuelle Rezidivbehandlung zur Verfügung.

Ein zukünftiges Ziel wird es sein, zytogenetische Parameter wie z.B. Deletionen an 1p36 auf ihre prognostische Relevanz bei Keimzelltumoren zu überprüfen, um so eine klinische Risikostratifizierung auf der Grundlage der Tumorbiologie zu ermöglichen. Diese Analysen werden in enger Korrelation mit diagnostischen und therapeutischen Daten aus den Therapieoptimierungsstudien erfolgen. Weiterführende Untersuchungen zur Tumorgenetik und –epigenetik und ihrer Verflechtung mit der normalen und gestörten Entwicklung von Keimzellen werden darüber hinaus grundlegende Schritte der Tumorentstehung und –progression offenbaren.

4. Literatur

1. International Germ Cell Consensus Classification: a prognostic factor- based staging system for metastatic germ cell cancers. International Germ Cell Cancer Collaborative Group. *J. Clin. Oncol.* **15**, 594-603 (1997).
2. A. R. Ablin, M. D. Krailo, N. K. Ramsay, M. H. Malogolowkin, H. Isaacs, R. B. Raney, J. Adkins, D. M. Hays, D. R. Benjamin, J. L. Grosfeld, Results of treatment of malignant germ cell tumors in 93 children: a report from the Childrens Cancer Study Group. *J. Clin. Oncol.* **9**, 1782-1792 (1991).
3. H. Y. Afifi, G. J. Bosl, M. E. Burt, Mediastinal growing teratoma syndrome. *Ann. Thorac. Surg.* **64**, 359-362 (1997).
4. C. Alapetite, U. Ricardi, F. Saran, R. D. Kortmann, M. L. Garre, J. C. Nicholson, D. Frappaz, U. Göbel, C. Patte, G. Calaminus. Whole Ventricular Irradiation in Combination with Chemotherapy in Intracranial Germinoma: the Consensus of the SIOP CNS GCT Study Group. *Med.Pediatr.Oncol.* **39**[4], O114. 2002.
5. S. Albrecht, A. Waha, A. Koch, J. A. Kraus, C. G. Goodyer, T. Pietsch, Variable imprinting of H19 and IGF2 in fetal cerebellum and medulloblastoma. *J Neuropathol. Exp. Neurol.* **55**, 1270-1276 (1996).
6. R. Anderson, T. K. Copeland, H. Scholer, J. Heasman, C. Wylie, The onset of germ cell migration in the mouse embryo. *Mech. Dev.* **91**, 61-68 (2000).
7. M. Bamberg, R. D. Kortmann, G. Calaminus, G. Becker, C. Meisner, D. Harms, U. Göbel, Radiation therapy for intracranial germinoma: results of the German cooperative prospective trials MAKEI 83/86/89. *J Clin Oncol* **17**, 2585-2592 (1999).
8. M. C. Baranzelli, A. Kramar, E. Bouffet, E. Quintana, H. Rubie, C. Edan, C. Patte, Prognostic factors in children with localized malignant nonseminomatous germ cell tumors. *J. Clin. Oncol.* **17**, 1212-1219 (1999).
9. A. C. Bell and G. Felsenfeld, Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the Igf2 gene. *Nature* **405**, 482-485 (2000).
10. S. S. Bielack, B. Kempf-Bielack, U. Heise, D. Schwenger, K. Winkler, Combined modality treatment for osteosarcoma occurring as a second malignant disease. Cooperative German-Austrian-Swiss Osteosarcoma Study Group. *J Clin Oncol* **17**, 1164 (1999).
11. D. Billmire, C. Vinocur, F. Rescorla, P. Colombani, B. Cushing, E. Hawkins, W. B. London, R. Giller, S. Lauer, Malignant mediastinal germ cell tumors: An intergroup study. *J Pediatr. Surg.* **36**, 18-24 (2001).

12. L. Bjersing and O. Kjellgren, Dysgerminomas (seminomas) in genetic males with female phenotype. One case of gonadal dysgenesis and gonadoblastoma and one of testicular feminization. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 27-37 (1977).
13. M. E. Blohm, D. Vesterling-Hörner, G. Calaminus, U. Göbel, Alpha 1-fetoprotein (AFP) reference values in infants up to 2 years of age. *Pediatr. Hematol. Oncol.* **15**, 135-142 (1998).
14. E. Bouffet, M. C. Baranzelli, C. Patte, M. Portas, C. Edan, P. Chastagner, F. Mechinaud-Lacroix, C. Kalifa, Combined treatment modality for intracranial germinomas: results of a multicentre SFOP experience. Societe Francaise d'Oncologie Pediatrique. *Br. J. Cancer* **79**, 1199-1204 (1999).
15. G. M. Brodeur, Genetics of embryonal tumours of childhood: retinoblastoma, Wilms' tumour and neuroblastoma. *Cancer Surv.* **25**, 67-99 (1995).
16. A. B. Burgin, K. Parodos, D. J. Lane, N. R. Pace, The excision of intervening sequences from Salmonella 23S ribosomal RNA. *Cell* **60**, 405-414 (1990).
17. K. J. Bussey, H. J. Lawce, E. Himoe, X. O. Shu, N. A. Heerema, E. J. Perlman, S. B. Olson, R. E. Magenis, SNRPN methylation patterns in germ cell tumors as a reflection of primordial germ cell development. *Genes Chromosomes. Cancer* **32**, 342-352 (2001).
18. K. J. Bussey, H. J. Lawce, S. B. Olson, D. C. Arthur, D. K. Kalousek, M. Krailo, R. Giller, S. Heifetz, R. Womer, R. E. Magenis, Chromosome abnormalities of eighty-one pediatric germ cell tumors: sex-, age-, site-, histopathology-related differences--a Children's Cancer Group study. *Genes Chromosomes. Cancer* **25**, 134-146 (1999).
19. G. Calaminus, L. Andreussi, M. L. Garre, R. D. Kortmann, R. Schober, U. Göbel, Secreting germ cell tumors of the central nervous system (CNS). First results of the cooperative German/Italian pilot study (CNS sGCT). *Klin. Pädiatr.* **209**, 222-227 (1997).
20. G. Calaminus, M. Bamberg, M. C. Baranzelli, Y. Benoit, L. C. di Montezemolo, F. Fossati-Bellani, H. Jürgens, H. J. Köhl, H. G. Lenard, M. Lo Curto, U. Göbel, Intracranial germ cell tumors: a comprehensive update of the European data. *Neuropediatrics.* **25**, 26-32 (1994).
21. G. Calaminus, M. L. Garre, R. D. Kortmann, J. R. Mann, U. Göbel, CNS germ cell tumors in children. Results of the German MAKEI89 protocols and SIOP CNS GCT 93P/96 study. In: *Germ Cell Tumours IV*, Herausgeber: D. P. Jones, I. Appleyard, J. K. Joffe, P. Harnden, S. 247-254. Springer, London (1998).
22. G. Calaminus, J. C. Nicholson, C. Alapetite, M. Bamberg, M. C. Baranzelli, D. Frappaz, M. L. Garre, U. Göbel, J. Hale, R. D. Kortmann, J. R. Mann, C. Patte, J. Punt, U. Ricardi, F. Saran, D. Harms. Malignant

CNS Germ Cell Tumors (GCTs): Interim Analysis after 5 Years of SIOP CNS GCT 96. *Med.Pediatr.Oncol.* **39**[4], O030. 2002.

23. G. Calaminus, C. Teske, U. Göbel, Chemotherapy associated toxicity in patients with malignant nontesticular germ cell tumors (MNGCT). Comparison of MAKEI 83/86 and MAKEI 89. *Advances in the Bioscience* **91** 67-68 (1994).
24. R. S. Chaganti and J. Houldsworth, Genetics and biology of adult human male germ cell tumors. *Cancer Res.* **60**, 1475-1482 (2000).
25. R. S. Chaganti, M. Ladanyi, F. Samaniego, K. Offit, V. E. Reuter, S. C. Jhanwar, G. J. Bosl, Leukemic differentiation of a mediastinal germ cell tumor. *Genes Chromosomes. Cancer* **1**, 83-87 (1989).
26. R. S. Chaganti, E. Rodriguez, S. Mathew, Origin of adult male mediastinal germ-cell tumours. *Lancet* **343**, 1130-1132 (1994).
27. H. Cui, E. L. Niemitz, J. D. Ravenel, P. Onyango, S. A. Brandenburg, V. V. Lobanenko, A. P. Feinberg, Loss of Imprinting of Insulin-like Growth Factor-II in Wilms' Tumor Commonly Involves Altered Methylation but not Mutations of CTCF or Its Binding Site. *Cancer Res.* **61**, 4947-4950 (2001).
28. B. Cushing, R. Giller, A. Ablin, L. Cohen, J. Cullen, E. Hawkins, S. A. Heifetz, M. Krailo, S. J. Lauer, N. Marina, P. V. Rao, F. Rescorla, C. D. Vinocur, R. M. Weetman, R. P. Castleberry, Surgical resection alone is effective treatment for ovarian immature teratoma in children and adolescents: a report of the pediatric oncology group and the children's cancer group. *Am. J Obstet. Gynecol.* **181**, 353-358 (1999).
29. P. Dal Cin, A. P. Dei Tos, H. Qi, C. Giannini, A. Furlanetto, P. L. Longatti, P. Marynen, H. Van den Berghe, Immature teratoma of the pineal gland with isochromosome 12p. *Acta Neuropathol. (Berl)* **95**, 107-110 (1998).
30. A. T. De Souza, G. R. Hankins, M. K. Washington, T. C. Orton, R. L. Jirtle, M6P/IGF2R gene is mutated in human hepatocellular carcinomas with loss of heterozygosity. *Nat. Genet.* **11**, 447-449 (1995).
31. L. P. Dehner, Gonadal and extragonadal germ cell neoplasia of childhood. *Hum. Pathol.* **14**, 493-511 (1983).
32. F. H. Dexeus, C. J. Logothetis, C. Chong, A. Sella, S. Ogden, Genetic abnormalities in men with germ cell tumors. *J. Urol.* **140**, 80-84 (1988).
33. D. DiCiommo, B. L. Gallie, R. Bremner, Retinoblastoma: the disease, gene and protein provide critical leads to understand cancer. *Semin. Cancer Biol.* **10**, 255-269 (2000).

34. P. J. Donovan, Growth factor regulation of mouse primordial germ cell development. *Curr. Top. Dev. Biol.* **29:189-225**, 189-225 (1994).
35. A. Drash, F. Sherman, W. H. Hartmann, R. M. Blizzard, A syndrome of pseudohermaphroditism, Wilms' tumor, hypertension, degenerative renal disease. *J Pediatr.* **76**, 585-593 (1970).
36. A. Drash, F. Sherman, W. H. Hartmann, R. M. Blizzard, A syndrome of pseudohermaphroditism, Wilms' tumor, hypertension, degenerative renal disease. *J Pediatr* **76**, 585-593 (1970).
37. A. P. Feinberg, Imprinting of a genomic domain of 11p15 and loss of imprinting in cancer: an introduction. *Cancer Res.* **59**, 1743s-1746s (1999).
38. M. K. Fritsch, D. T. Schneider, A. E. Schuster, E. J. Perlman, Patterns of Gene Expression in Favorable Histology Wilms Tumors. (*submitted for publication*) (2002).
39. K. N. Ganjoo, K. M. Rieger, K. A. Kesler, M. Sharma, D. K. Heilman, L. H. Einhorn, Results of modern therapy for patients with mediastinal nonseminomatous germ cell tumors. *Cancer* **88**, 1051-1056 (2000).
40. R. Giller, B. Cushing, S. Lauer, N. Marina, L. Cohen, A. Ablin, J. Cullen, P. Rogers, R. Weetman, P. Colombani, F. Rescorla, E. Hawkins, S. Heifetz, B. Rao, M. Krailo, R. P. Castleberry, Comparison of high-dose or standard cisplatin with etoposide and bleomycin (HDPEB vs. PEB) in children with stage III and IV malignant germ cell tumors (MGCT) at gonadal primary sites: a pediatric intergroup trial (POG9049/CCG8882). *Proc. Americ. Soc. Clin. Oncol.* **1998**, 2016 (1998).
41. F. Gonzalez-Crussi, R. F. Winkler, D. L. Mirkin, Sacrococcygeal teratomas in infants and children: relationship of histology and prognosis in 40 cases. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **102**, 420-425 (1978).
42. U. Göbel, M. Bamberg, V. Budach, R. J. Haas, G. Janka-Schaub, J. Kühl, H. G. Lenard, M. Rister, H. J. Spaar, Intracranial germ cell tumors: analysis of the therapy study MAKEI 83/86 and changes in protocol for the follow-up study. *Klin. Pädiatr.* **201**, 261-268 (1989).
43. U. Göbel, G. Calaminus, J. Engert, P. Kaatsch, H. Gadner, J. P. Bökkerink, R. J. Hass, K. Waag, M. E. Blohm, S. Dippert, C. Teske, D. Harms, Teratomas in infancy and childhood. *Med. Pediatr. Oncol.* **31**, 8-15 (1998).
44. U. Göbel, D. T. Schneider, G. Calaminus, R. J. Haas, P. Schmidt, D. Harms, Germ-cell tumors in childhood and adolescence. *Ann. Oncol.* **11**, 263-271 (2000).
45. U. Göbel, D. T. Schneider, G. Calaminus, H. Jürgens, H. J. Spaar, W. Sternschulte, K. Waag, D. Harms, Multimodal treatment of malignant sacrococcygeal germ cell tumors: a prospective analysis of 66 patients of the german cooperative protocols makei 83/86 and 89. *J. Clin. Oncol.* **19**, 1943-1950 (2001).

46. G. R. Hankins, A. T. De Souza, R. C. Bentley, M. R. Patel, J. R. Marks, J. D. Iglehart, R. L. Jirtle, M6P/IGF2 receptor: a candidate breast tumor suppressor gene. *Oncogene* **12**, 2003-2009 (1996).
47. A. T. Hark, C. J. Schoenherr, D. J. Katz, R. S. Ingram, J. M. LeVorse, S. M. Tilghman, CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the H19/Igf2 locus. *Nature* **405**, 486-489 (2000).
48. M. Hashimoto, M. Hatasa, S. Shinoda, T. Masuzawa, Medulla oblongata germinoma in association with Klinefelter syndrome. *Surg. Neurol.* **37**, 384-387 (1992).
49. H. Hasle, A. Mellempgaard, J. Nielsen, J. Hansen, Cancer incidence in men with Klinefelter syndrome. *Br. J Cancer* **71**, 416-420 (1995).
50. J. Hu, A. E. Schuster, M. K. Fritsch, D. T. Schneider, E. J. Perlman. Deletion mapping of 6q21-26 and frequency of 1p36 deletion in childhood endodermal sinus tumors by microsatellite analysis. (submitted for publication) . *Oncogene* **20**, 8042-8044 (2000).
51. J. Isola, S. DeVries, L. Chu, S. Ghazvini, F. Waldman, Analysis of changes in DNA sequence copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor samples. *Am. J. Pathol.* **145**, 1301-1308 (1994).
52. J. Jenderny, E. Köster, O. Borchers, A. Meyer, W. Grote, D. Harms, U. Jänig, Interphase cytogenetics on paraffin sections of paediatric extragonadal yolk sac tumours. *Virchows Arch.* **428**, 53-57 (1996).
53. J. Jenderny, E. Köster, A. Meyer, O. Borchers, W. Grote, D. Harms, U. Jänig, Detection of chromosome aberrations in paraffin sections of seven gonadal yolk sac tumors of childhood. *Hum. Genet.* **96**, 644-650 (1995).
54. P. Kaatsch, U. Kaletsch, J. Michaelis. Annual Report of the German Childhood Cancer Registry. 1. 2002. Mainz, Germany, Deutsches Kinderkrebsregister (www.kinderkrebsregister.de).
55. A. Kallioniemi, O. P. Kallioniemi, D. Sudar, D. Rutovitz, J. W. Gray, F. Waldman, D. Pinkel, Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* **258**, 818-821 (1992).
56. O. P. Kallioniemi, A. Kallioniemi, J. Piper, J. Isola, F. M. Waldman, J. W. Gray, D. Pinkel, Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. *Genes Chromosomes. Cancer* **10**, 231-243 (1994).
57. H. Kedzia, Gonadoblastoma: structures and background of development. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **147**, 81-85 (1983).

58. A. Kerjean, J. M. Dupont, C. Vasseur, D. Le Tessier, L. Cuisset, A. Paldi, P. Jouannet, M. Jeanpierre, Establishment of the paternal methylation imprint of the human H19 and MEST/PEG1 genes during spermatogenesis. *Hum. Mol. Genet.* **9**, 2183-2187 (2000).
59. K. S. Kim and Y. I. Lee, Biallelic expression of the H19 and IGF2 genes in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.* **119**, 143-148 (1997).
60. E. Klenova, H. Morse, R. Ohlsson, V. Lobanenkova, The novel BORIS + CTCF gene family is uniquely involved in the epigenetics of normal biology and cancer. *Semin. Cancer Biol.* **12**, 399 (2002).
61. A. G. Knudson, Jr., Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **68**, 820-823 (1971).
62. C. Kollmannsberger, J. T. Hartmann, L. Kanz, C. Bokemeyer, Therapy-related malignancies following treatment of germ cell cancer. *Int. J. Cancer* **83**, 860-863 (1999).
63. C. Kollmannsberger, C. Nichols, C. Meisner, F. Mayer, L. Kanz, C. Bokemeyer, Identification of prognostic subgroups among patients with metastatic 'IGCCCG poor-prognosis' germ-cell cancer: an explorative analysis using cart modeling. *Ann. Oncol.* **11**, 1115-1120 (2000).
64. W. M. Korn, D. E. Oide Weghuis, R. F. Suijkerbuijk, U. Schmidt, T. Otto, S. du Manoir, A. Geurts van Kessel, A. Harstick, S. Seeber, R. Becher, Detection of chromosomal DNA gains and losses in testicular germ cell tumors by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* **17**, 78-87 (1996).
65. J. A. Lemos, J. Barbieri-Neto, C. Casartelli, Primary intracranial germ cell tumors without an isochromosome 12p. *Cancer Genet. Cytogenet.* **100**, 124-128 (1998).
66. G. Leone, M. T. Voso, S. Sica, R. Morosetti, L. Pagano, Therapy related leukemias: susceptibility, prevention and treatment. *Leuk. Lymphoma* **41**, 255-276 (2001).
67. F. P. Li and J. F. Fraumeni, Jr., Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome. *J Natl. Cancer Inst.* **43**, 1365-1373 (1969).
68. F. P. Li and J. F. Fraumeni, Jr., Prospective study of a family cancer syndrome. *JAMA* **247**, 2692-2694 (1982).
69. D. I. Loukinov, E. Pugacheva, S. Vatolin, S. D. Pack, H. Moon, I. Chernukhin, P. Mannan, E. Larsson, C. Kanduri, A. A. Vostrov, H. Cui, E. L. Niemitz, J. E. Rasko, F. M. Docquier, M. Kistler, J. J. Breen, Z. Zhuang, W. W. Quitschke, R. Renkawitz, E. M. Klenova, A. P. Feinberg, R. Ohlsson, H. C. Morse, III, V. V. Lobanenkova, BORIS, a novel male germ-line-specific protein associated with epigenetic

reprogramming events, shares the same 11-zinc-finger domain with CTCF, the insulator protein involved in reading imprinting marks in the soma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **99**, 6806-6811 (2002).

70. J. R. Mann, F. Raafat, K. Robinson, J. Imeson, P. Gornall, M. Phillips, M. Sokal, E. Gray, P. McKeever, A. Oakhill, UKCCSG's germ cell tumour (GCT) studies: improving outcome for children with malignant extracranial non-gonadal tumours-- carboplatin, etoposide, bleomycin are effective and less toxic than previous regimens. United Kingdom Children's Cancer Study Group. *Med. Pediatr. Oncol.* **30**, 217-227 (1998).
71. J. R. Mann, F. Raafat, K. Robinson, J. Imeson, P. Gornall, M. Sokal, E. Gray, P. McKeever, J. Hale, S. Bailey, A. Oakhill, The United Kingdom Children's Cancer Study Group's Second Germ Cell Tumor Study: Carboplatin, Etoposide, Bleomycin Are Effective Treatment for Children With Malignant Extracranial Germ Cell Tumors, With Acceptable Toxicity. *J. Clin. Oncol.* **18**, 3809-3818 (2000).
72. N. M. Marina, B. Cushing, R. Giller, L. Cohen, S. J. Lauer, A. Ablin, R. Weetman, J. Cullen, P. Rogers, C. Vinocur, C. Stolar, F. Rescorla, E. Hawkins, S. Heifetz, P. V. Rao, M. Krailo, R. P. Castleberry, Complete Surgical Excision Is Effective Treatment for Children With Immature Teratomas With or Without Malignant Elements: A Pediatric Oncology Group/Children's Cancer Group Intergroup Study. *J. Clin. Oncol.* **17**, 2137 (1999).
73. N. M. Marina, W. B. London, S. Lauer, R. Giller, F. Rescorla, B. Cushing, C. Vinocur, M. H. Malogolowkin, R. P. Castleberry, R. Womer. Prognostic Factors in Children with Extragonadal Germ Cell Tumors (GCT): A Pediatric Intergroup Study. *Med Pediatr Oncol* 35[3], 197. 2000.
74. J. M. Maris and K. K. Matthay, Molecular biology of neuroblastoma. *J Clin Oncol* **17**, 2264-2279 (1999).
75. R. W. Miller, J. F. Jr. Fraumeni, M. D. Manning, Association of Wilms' tumor with aniridia, hemihypertrophy and other congenital malformations. *N. Engl. J. Med.* 270, 922-927 (1964).
76. K. Miura, M. Obama, K. Yun, H. Masuzaki, Y. Ikeda, S. Yoshimura, T. Akashi, N. Niikawa, T. Ishimaru, Y. Jinno, Methylation imprinting of H19 and SNRPN genes in human benign ovarian teratomas. *Am. J Hum. Genet.* **65**, 1359-1367 (1999).
77. C. A. Moran and S. Suster, Primary germ cell tumors of the mediastinum: I. Analysis of 322 cases with special emphasis on teratomatous lesions and a proposal for histopathologic classification and clinical staging. *Cancer* **80**, 681-690 (1997).
78. M. Mostert, C. Rosenberg, H. Stoop, M. Schuyer, A. Timmer, W. Oosterhuis, L. Looijenga, Comparative genomic and in situ hybridization of germ cell tumors of the infantile testis. *Lab Invest* **80**, 1055-1064 (2000).

79. M. C. Mostert, A. J. Verkerk, M. van de Pol, J. Heighway, P. Marynen, C. Rosenberg, A. G. van Kessel, J. van Echten, B. de Jong, J. W. Oosterhuis, L. H. Looijenga, Identification of the critical region of 12p over-representation in testicular germ cell tumors of adolescents and adults. *Oncogene* **16**, 2617-2627 (1998).
80. M. C. Mostert, A. J. Verkerk, M. van de Pol, J. Heighway, P. Marynen, C. Rosenberg, A. G. van Kessel, J. van Echten, B. de Jong, J. W. Oosterhuis, L. H. Looijenga, Identification of the critical region of 12p over-representation in testicular germ cell tumors of adolescents and adults. *Oncogene* **16**, 2617-2627 (1998).
81. M. M. Mostert, P. M. van de, W. D. Olde, R. F. Suijkerbuijk, v. K. Geurts, J. van Echten, J. W. Oosterhuis, L. H. Looijenga, Comparative genomic hybridization of germ cell tumors of the adult testis: confirmation of karyotypic findings and identification of a 12p-amplicon. *Cancer Genet. Cytogenet.* **89**, 146-152 (1996).
82. R. J. Motzer, A. Amsterdam, V. Prieto, J. Sheinfeld, V. V. Murty, M. Mazumdar, G. J. Bosl, R. S. Chaganti, V. E. Reuter, Teratoma with malignant transformation: diverse malignant histologies arising in men with germ cell tumors. *J. Urol.* **159**, 133-138 (1998).
83. C. Nichols and R. Maziarz, High dose chemotherapy--results of American studies. *Int. J. Cancer* **83**, 841-843 (1999).
84. C. R. Nichols, Treatment of recurrent germ cell tumors. *Semin. Surg. Oncol.* **17**, 268-274 (1999).
85. C. R. Nichols, N. A. Heerema, C. Palmer, P. J. S. Loehrer, S. D. Williams, L. H. Einhorn, Klinefelter's syndrome associated with mediastinal germ cell neoplasms. *J. Clin. Oncol.* **5**, 1290-1294 (1987).
86. C. R. Nichols, B. J. Roth, N. Heerema, J. Griep, G. Tricot, Hematologic neoplasia associated with primary mediastinal germ- cell tumors. *N. Engl. J. Med.* **322**, 1425-1429 (1990).
87. A. Orazi, R. S. Neiman, T. M. Ulbright, N. A. Heerema, K. John, C. R. Nichols, Hematopoietic precursor cells within the yolk sac tumor component are the source of secondary hematopoietic malignancies in patients with mediastinal germ cell tumors. *Cancer* **71**, 3873-3881 (1993).
88. E. J. Perlman, B. Cushing, E. Hawkins, C. A. Griffin, Cytogenetic analysis of childhood endodermal sinus tumors: a Pediatric Oncology Group study. *Pediatr. Pathol.* **14**, 695-708 (1994).
89. E. J. Perlman, J. Hu, D. Ho, B. Cushing, S. Lauer, R. P. Castleberry, Genetic analysis of childhood endodermal sinus tumors by comparative genomic hybridization. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **22**, 100-105 (2000).

90. E. J. Perlman, M. B. Valentine, C. A. Griffin, A. T. Look, Deletion of 1p36 in childhood endodermal sinus tumors by two- color fluorescence in situ hybridization: a pediatric oncology group study. *Genes Chromosomes. Cancer* **16**, 15-20 (1996).
91. M. Pesce, M. G. Farrace, M. Piacentini, S. Dolci, M. De Felici, Stem cell factor and leukemia inhibitory factor promote primordial germ cell survival by suppressing programmed cell death (apoptosis). *Development* **118**, 1089-1094 (1993).
92. S. Porter and C. B. Gilks, Genomic imprinting: a proposed explanation for the different behaviours of testicular and ovarian germ cell tumors. *Med. Hypotheses*. **41**, 37-41 (1993).
93. S. Rainier, C. J. Dobry, A. P. Feinberg, Loss of imprinting in hepatoblastoma. *Cancer Res.* **55**, 1836-1838 (1995).
94. S. Rainier, L. A. Johnson, C. J. Dobry, A. J. Ping, P. E. Grundy, A. P. Feinberg, Relaxation of imprinted genes in human cancer. *Nature* **362**, 747-749 (1993).
95. H. Rehder and T. Melcher, Dysgerminoma in Turner's syndrome. *Beitr. Pathol.* **157**, 251-259 (1976).
96. F. Rescorla, D. Billmire, C. Stolar, C. Vinocur, P. Colombani, J. Cullen, R. Giller, B. Cushing, S. Lauer, M. Davis, E. Hawkins, J. Shuster, M. Krailo, The effect of cisplatin dose and surgical resection in children with malignant germ cell tumors at the sacrococcygeal region: A pediatric intergroup trial (POG 9049/CCG 8882). *J Pediatr. Surg.* **36**, 12-17 (2001).
97. O. Rick, W. Siegert, J. Beyer, High-dose salvage chemotherapy. Germ-cell tumor treatment results in Germany. *Int. J. Cancer* **83**, 839-840 (1999).
98. C. H. Rickert, R. Simon, M. Bergmann, B. Dockhorn-Dworniczak, W. Paulus, Comparative genomic hybridization in pineal germ cell tumors. *J Neuropathol. Exp. Neurol.* **59**, 815-821 (2000).
99. M. A. Riopel, A. Spellerberg, C. A. Griffin, E. J. Perlman, Genetic analysis of ovarian germ cell tumors by comparative genomic hybridization. *Cancer Res.* **58**, 3105-3110 (1998).
100. E. Rodriguez, J. Houldsworth, V. E. Reuter, P. Meltzer, J. Zhang, J. M. Trent, G. J. Bosl, R. S. Chaganti, Molecular cytogenetic analysis of i(12p)-negative human male germ cell tumors. *Genes Chromosomes. Cancer* **8**, 230-236 (1993).
101. E. Rodriguez, S. Mathew, V. Reuter, D. H. Ilson, G. J. Bosl, R. S. Chaganti, Cytogenetic analysis of 124 prospectively ascertained male germ cell tumors. *Cancer Res.* **52**, 2285-2291 (1992).

102. E. Rodriguez, J. Melamed, V. Reuter, R. S. Chaganti, Chromosome 12 abnormalities in malignant ovarian germ cell tumors. *Cancer Genet. Cytogenet.* **82**, 62-66 (1995).
103. H. Roelofs, M. C. Mostert, K. Pompe, G. Zafarana, M. van Oorschot, R. J. van Gorp, A. J. Gillis, H. Stoop, B. Beverloo, J. W. Oosterhuis, C. Bokemeyer, L. H. Looijenga, Restricted 12p amplification and RAS mutation in human germ cell tumors of the adult testis. *Am. J. Pathol.* **157**, 1155-1166 (2000).
104. C. Rosenberg, T. B. Schut, M. Mostert, H. Tanke, A. Raap, J. W. Oosterhuis, L. Looijenga, Chromosomal gains and losses in testicular germ cell tumors of adolescents and adults investigated by a modified comparative genomic hybridization approach. *Lab Invest* **79**, 1447-1451 (1999).
105. J. A. Ross, P. T. Schmidt, J. P. Perentesis, S. M. Davies, Genomic imprinting of H19 and insulin-like growth factor-2 in pediatric germ cell tumors. *Cancer* **85**, 1389-1394 (1999).
106. A. A. Sandberg, A. M. Meloni, R. F. Suijkerbuijk, Reviews of chromosome studies in urological tumors. III. Cytogenetics and genes in testicular tumors. *J. Urol.* **155**, 1531-1556 (1996).
107. D. T. Schneider, G. Calaminus, U. Göbel, Diagnostic value of alpha₁-fetoprotein and human chorionic gonadotropic hormone in infancy and childhood. *Pediatr. Hematol. Oncol.* **18**, 11-26 (2001).
108. D. T. Schneider, G. Calaminus, S. Koch, C. Teske, P. Schmidt, R. J. Haas, D. Harms, U. Göbel, Epidemiological Analysis of 1442 Children and Adolescents Registered in the German Germ Cell Tumor Protocols. *Med Pediatr Oncol* (eingereicht).
109. D. T. Schneider, G. Calaminus, H. Reinhard, P. Gutjahr, B. Kremens, D. Harms, U. Göbel, Primary Mediastinal Germ Cell Tumors in Children and Adolescents: Results of the German Cooperative Protocols MAKEI 83/86, 89, 96. *J Clin Oncol* **18**, 832-839 (2000).
110. D. T. Schneider, G. Calaminus, H. Reinhard, P. Gutjahr, B. Kremens, D. Harms, U. Göbel, Primary Mediastinal Germ Cell Tumors in Children and Adolescents: Results of the German Cooperative Protocols MAKEI 83/86, 89, 96. *J Clin Oncol* **18**, 832-839 (2000).
111. D. T. Schneider and U. Göbel, Differentialdiagnostische Bewertung erhöhter Werte für Alpha₁-Fetoprotein und humanes Choriongonadotropin im Kindesalter. *Tumordiagn Ther* **19**, 101-107 (1998).
112. D. T. Schneider, E. J. Perlman, D. Harms, M. K. Fritsch, G. Calaminus, U. Göbel, Mediastinal Germ Cell Tumors (MGCT) in Children and Adolescents: Age Correlates with Histological Differentiation, Genetic Profiles and Clinical Outcome. In *Germ Cell Tumours V*. Herausgeber: P. Harnden, J. K. Joffe, W. G. Jones, S. 127-128. Springer, London (2002).

113. D. T. Schneider, A. E. Schuster, M. K. Fritsch, G. Calaminus, U. Göbel, D. Harms, S. Lauer, T. Olson, E. J. Perlman, Genetic analysis of mediastinal nonseminomatous germ cell tumors in children and adolescents. *Genes Chromosomes. Cancer* **34**, 115-125 (2002).
114. D. T. Schneider, A. E. Schuster, M. K. Fritsch, G. Calaminus, D. Harms, U. Göbel, E. J. Perlman, Genetic Analysis of Childhood Germ Cell Tumors with Comparative Genomic Hybridization. *Klin. Pädiatr.* **213**, 204-211 (2001).
115. D. T. Schneider, A. E. Schuster, M. K. Fritsch, J. Hu, T. Olson, S. Lauer, U. Göbel, E. J. Perlman, Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors. *Cancer Res.* **61**, 7268-7276 (2001).
116. D. T. Schneider, A. E. Schuster, M. K. Fritsch, J. Hu, T. Olson, S. Lauer, U. Göbel, E. J. Perlman, Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors. *Cancer Res.* (2001).
117. D. T. Schneider, R. Wessalowski, G. Calaminus, H. Pape, M. Bamberg, J. Engert, K. Waag, H. Gadner, U. Göbel, Treatment of recurrent malignant sacrococcygeal germ cell tumors: analysis of 22 patients registered in the german protocols makei 83/86, 89, 96. *J. Clin. Oncol.* **19**, 1951-1960 (2001).
118. A. E. Schuster, D. T. Schneider, M. K. Fritsch, P. Grundy, E. J. Perlman. Expression Analyses of Imprinted Genes in Clear Cell Sarcoma of the Kidney. (eingereicht)
119. S. A. Silver, J. M. Wiley, E. J. Perlman, DNA ploidy analysis of pediatric germ cell tumors. *Mod. Pathol.* **7**, 951-956 (1994).
120. C. Stock, I. M. Ambros, T. Lion, O. A. Haas, A. Zoubek, H. Gadner, P. F. Ambros, Detection of numerical and structural chromosome abnormalities in pediatric germ cell tumors by means of interphase cytogenetics. *Genes Chromosomes Cancer* **11**, 40-50 (1994).
121. C. Stock, I. M. Ambros, S. Strehl, A. Zoubek, F. M. Fink, H. Gadner, P. F. Ambros, Cytogenetic aspects of pediatric germ cell tumors. *Klin. Pädiatr.* **207**, 235-241 (1995).
122. H. Stoop, R. van Gurp, R. de Krijger, v. K. Geurts, B. Koberle, W. Oosterhuis, L. Looijenga, Reactivity of germ cell maturation stage-specific markers in spermatocytic seminoma: diagnostic and etiological implications. *Lab Invest* **81**, 919-928 (2001).
123. P. E. Szabo and J. R. Mann, Biallelic expression of imprinted genes in the mouse germ line: implications for erasure, establishment, mechanisms of genomic imprinting. *Genes Dev.* **9**, 1857-1868 (1995).

124. M. D. Tabone, P. Terrier, H. Pacquement, M. Brunat-Mentigny, C. Schmitt, A. Babin-Boilletot, H. H. Mahmoud, C. Kalifa, Outcome of radiation-related osteosarcoma after treatment of childhood and adolescent cancer: a study of 23 cases. *J Clin Oncol* **17**, 2789-2795 (1999).
125. K. Takeyama, M. Seto, N. Uike, N. Hamajima, T. Ino, C. Mikuni, T. Kobayashi, A. Maruta, Y. Muto, N. Maseki, H. Sakamaki, H. Saitoh, M. Shimoyama, R. Ueda, Therapy-related leukemia and myelodysplastic syndrome: a large-scale Japanese study of clinical and cytogenetic features as well as prognostic factors. *Int. J Hematol.* **71**, 144-152 (2000).
126. G. Teilum, Classification of endodermal sinus tumour (mesoblastoma vitellinum) and so-called "embryonal carcinoma" of the ovary. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **64**, 407-429 (1965).
127. G. Teilum, R. Albrechtsen, B. Norgaard-Pedersen, The histogenetic-embryologic basis for reappearance of alpha-fetoprotein in endodermal sinus tumors (yolk sac tumors) and teratomas. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. [A]* **83**, 80-86 (1975).
128. S. M. Tilghman, The sins of the fathers and mothers: genomic imprinting in mammalian development. *Cell* **96**, 185-193 (1999).
129. J. van Echten, J. W. Oosterhuis, L. H. Looijenga, P. M. van de, J. Wiersema, G. J. te Meerman, K. H. Schaffordt, D. T. Sleijfer, B. de Jong, No recurrent structural abnormalities apart from i(12p) in primary germ cell tumors of the adult testis. *Genes Chromosomes. Cancer* **14**, 133-144 (1995).
130. R. J. van Gurp, J. W. Oosterhuis, V. Kalscheuer, E. C. Mariman, L. H. Looijenga, Biallelic expression of the H19 and IGF2 genes in human testicular germ cell tumors. *J Natl. Cancer Inst.* **86**, 1070-1075 (1994).
131. M. S. Verp and J. L. Simpson, Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet. Cytogenet.* **25**, 191-218 (1987).
132. R. Wessalowski, M. Blohm, G. Calaminus, J. Engert, D. Harms, I. Krause, H. Kruck, H. P. Grüttner, H. Pape, U. Göbel, Treatment results in children and adolescents with loco-regional recurrences of abdominal germ cell tumors (GCTs): a pilot-study with PEI chemotherapy and regional deep hyperthermia (RHT) in comparison to a matched cohort. *Klin. Pädiatr.* **209**, 250-256 (1997).
133. R. Wessalowski, H. Kruck, H. Pape, T. Kahn, R. Willers, U. Göbel, Hyperthermia for the treatment of patients with malignant germ cell tumors: a phase I/II study in ten children and adolescents with recurrent or refractory tumors. *Cancer* **82**, 793-800 (1998).
134. E. Witschi, Migration of the germ cells of human embryos from the yolk sac to the primitive gonadal folds. *Contr Embryol Carnegie Inst* **32**, 67-80 (1948).

135. I. T. Yu, C. A. Griffin, P. C. Phillips, L. C. Strauss, E. J. Perlman, Numerical sex chromosomal abnormalities in pineal teratomas by cytogenetic analysis and fluorescence in situ hybridization. *Lab. Invest.* **72**, 419-423 (1995).

136. G. Zafarana, A. J. Gillis, R. J. van Gurp, P. G. Olsson, F. Elstrodt, H. Stoop, J. L. Millan, J. W. Oosterhuis, L. H. Looijenga, Coamplification of DAD-R, SOX5, EKI1 in Human Testicular Seminomas, with Specific Overexpression of DAD-R, Correlates with Reduced Levels of Apoptosis and Earlier Clinical Manifestation. *Cancer Res.* **62**, 1822-1831 (2002).

5. Abkürzungen:

AFP	Alpha ₁ Fetoprotein
BORIS	Brother of the Regulator of Imprinting Sites
CEST	Childhood Endodermal Sinus Tumor (syn. Dottersacktumor)
CGH	Comparative Genomische Hybridisierung
CHC	Choriokarzinom
CTCF	Vertebrate Enhancer Blocking Protein CTCF
EC	Embryonales Karzinom
FISH	Fluoreszenz in-situ Hybridisierung
G	Germinom, synonym Seminom, Dysgerminom
H19	Synonym: Adult Sceletal Muscle Gene
H19 ICR	H19 Imprinting Control Domain
HCG	Humanes Choriongonadotropin
β-HCG	Humanes Choriongonadotropin, Beta Kette
i(12p)	Isochromosom 12p
IGF-2	Insulin like Growth Factor, 2
IGF-2R	IGF-2 Rezeptor
LOH	Loss of Heterocycosity
MYCC	Zelluläre Variante des viralen Onkogens des Avian Myelocytomatosis Retrovirus
MYCN	Neuroblastom-abgeleitete Variante des viralen Onkogens des Avian Myelocytomatosis Virus
PNET	Primitiver neuroektodermaler Tumor
SNRPN	Small Nuclear Ribonucleoprotein Polypeptide N
TER	Teratom (matur oder immatur)
WAGR	Wilms Tumor, Aniridie, urogenitale Missbildungen, mentale Retardierung
YST	Yolk Sac Tumor (syn. Dottersacktumor)

6. Anlagen

Sonderdrucke

Pdf Dateien der Dokumente können per Email angefordert werden unter:
dominik.schneider@uni-duesseldorf.de

Sonderdruck zu Kapitel 2.2.

Imprinting-Analyse –

Untersuchungen zum zellulären Ursprung der Keimzelltumoren

D.T. Schneider, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, J. Hu, U. Göbel, T. Olson, S. Lauer,
E.J. Perlman:

Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and
Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors.

[*Cancer Research* **61\(19\)**, 8269-76 \(2001\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.3.1.

CGH Analyse gonadaler und extragonadaler Keimzelltumoren

bei Kleinkindern

D.T. Schneider, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, G. Calaminus, D. Harms, U. Göbel,
E.J. Perlman:

Comparative Genomic Hybridization of Childhood Germ Cell Tumors.

[*Klinische Pädiatrie* 213\(4\), 204-211 \(2001\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.3.2.

Loss of Heterozygosity (LOH) Analyse von 6q und 1p36

bei Dottersacktumoren bei Kleinkindern

J. Hu, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, D.T. Schneider, E.J. Perlman:

Deletion mapping of 6q21-26 and frequency of 1p36 deletion in childhood endodermal sinus tumors by microsatellite analysis.

[*Oncogene* 20\(55\): 8042-8044 \(2001\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.3.3.

Mediastinale Keimzelltumoren –

Charakterisierung genetisch unterschiedlicher Untergruppen

D.T. Schneider, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, G. Calaminus, U. Göbel, D. Harms,
S. Lauer, T. Olson, E.J. Perlman:

Genetic analysis of mediastinal nonseminomatous germ cell tumors in children and adolescents.

[Genes Chromosomes Cancer 34: 115-125 \(2002\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.4.

Mediastinale Keimzelltumoren –

Charakterisierung klinisch unterschiedlicher Untergruppen

D.T. Schneider, G. Calaminus, H. Reinhard, P. Gutjahr, B. Kremens, D. Harms, U. Göbel:

Primary mediastinal germ cell tumors in children and adolescents: results of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96.

[*Journal of Clinical Oncology* **18**: 832-839 \(2000\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.5.1.

Differenzialdiagnostische Bedeutung von AFP und β -HCG

D.T.Schneider, G. Calaminus, U. Göbel:

Diagnostic value of alpha₁ fetoprotein and beta human chorionic gonadotropin in infancy and childhood.

[*Pediatric Hematology and Oncology* **18\(1\)**: 11-26 \(2001\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.5.2.

Multimodale Behandlung der malignen Steißbeintumoren

U.Göbel, D. T. Schneider, G. Calaminus, H. Jürgens, H.J. Spaar, W. Sternschulte,
K. Waag, D. Harms.

Multimodal treatment of malignant sacrococcygeal germ cell tumors. A prospective analysis of 66 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86 and 89.

[Journal of Clinical Oncology 20: 1943-1950 \(2001\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.5.3.

Rezidivbehandlung der malignen Steißbeintumoren

D.T. Schneider, R. Wessalowski, G. Calaminus, H. Pape, M. Bamberg, J. Engert, K. Waag, H. Gadner, U. Göbel:

Treatment of recurrent malignant sacrococcygeal germ cell tumors - analysis of 22 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96.

[Journal of Clinical Oncology 20: 1951-1960 \(2001\)](#)

Sonderdruck zu Kapitel 2.6.

Zweittumoren –

Gemeinsamer klonaler Ursprung oder therapiebedingt?

D.T. Schneider, E. Hilgenfeld, D. Schwabe, W. Behnisch, A. Zoubeck, R. Wessalowski,
U. Göbel:

Acute myelogenous leukemia following treatment for malignant germ cell tumors in children.

[*Journal of Clinical Oncology* **17**: 3226-3233 \(1999\).](#)

Lebenslauf

Dr. med. Dominik Thomas Johannes Schneider

geboren am 23. August 1966 in Münster
verheiratet mit Annette Wächter-Schneider, geb. Wächter
zwei Kinder: Leonard und Elena Schneider

Ausbildung

1985	Abitur, Städtisches Apostelgymnasium Köln
1985 – 1987	Zivildienst, Rehabilitationszentrum der Universitätskliniken Köln
1987 – 1989	Vorklinisches Studium, Albertus-Magnus-Universität zu Köln
1989 – 1992	Klinisches Studium, Ludwig-Maximilians-Universität zu Würzburg
1991	Elective Study an der University of Edinburgh
1992 – 1993	Praktisches Jahr, Freie Universität und Humboldt Universität Berlin
1993	Ärztliche Prüfung
1994	United States Medical Licensing Examination, Step 1 and 2
1994	Promotion zum Thema „Myelodysplastische Syndrome – Histologische Kriterien mit prognostischer Relevanz“

Berufliche Ausbildung

1994 – 1995	Arzt im Praktikum, Institut für Pathologie, Med. Universität zu Lübeck
1995 – 2001	Facharztausbildung am Zentrum für Kinderheilkunde, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
1998 – 1999	Studienassistent der Therapieoptimierungsstudien für nicht-testikuläre Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendliche (MAKEI, SIOP CNS GCT)
1999 – 2000	Post-Doc Fellowship, Department of Pediatric Pathology, Institute of Pathology, Johns-Hopkins-University, Baltimore, MD, U.S.A.
2001	Facharzt für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
Seit 2001	Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Kinderonkologie, Hämatologie und Immunologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Förderung

1980 – 1984	Bundespreisträger „Jugend musiziert“
1988 – 1993	Stipendium, Cusanuswerk, Einrichtung der staatlichen Begabtenförderung
1999 – 2000	Mildred-Scheel-Stipendium, Deutsche Krebshilfe e.V.

Seit 2001 Max-Eder-Nachwuchsgruppenförderung, Deutsche Krebshilfe e.V.

Mitgliedschaften

Seit 1995 Deutsche Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin (DGKJ)

Seit 1996 Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH)

Seit 1999 American Society of Clinical Oncology (ASCO)

Seit 2002 Society of Pediatric Oncology (SIOP)

Köln, den 25. November 2002

Publikationen:

Fachartikel - Originalarbeiten

1. G. Calaminus, **D.T. Schneider**, J.P.M. Bökkerink, H. Gadner, D. Harms, R. Willers, U. Göbel: The prognostic value of tumor size, metastases, extension into bone and tumor marker increase in children with malignant sacrococcygeal germ cell tumors. *Journal of Clinical Oncology* (zur Publikation angenommen)
2. **D.T. Schneider**, G. Calaminus, R. Wessalowski, R. Pathmanathan, D. Harms, U. Göbel: Therapy of Advanced Ovarian Juvenile Granulosa Cell Tumors. *Klinische Pädiatrie* 214:173-178 (2002)
3. **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, G. Calaminus, U. Göbel, D. Harms, S. Lauer, T. Olson, E.J. Perlman. Genetic analysis of mediastinal nonseminomatous germ cell tumors in children and adolescents. *Genes Chromosomes Cancer* 34: 115-125 (2002)
4. **D.T. Schneider**, J. Cho, H.J. Laws, D. Dilloo, U. Göbel, W. Nürnberger. Serial Evaluation of the Oncological Pediatric Risk of Mortality (O-PRISM) Score Following Allogeneic Bone Marrow Transplantation in Children. *Bone Marrow Transplantation* 29(5): 383-389 (2002)
5. R. Heying, **D.T. Schneider**, D. Körholz, H. Stannigel, P. Lemburg, U. Göbel. Efficacy and outcome of intensive care in pediatric oncologic patients. *Critical Care Medicine* 29: 2276-2280 (2001)
6. J. Hu, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, **D.T. Schneider**, E.J. Perlman. Deletion mapping of 6q21-26 and frequency of 1p36 deletion in childhood endodermal sinus tumors by microsatellite analysis. *Oncogene* 20(55): 8042-8044 (2001)
7. **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, J. Hu, U. Göbel, T. Olson, S. Lauer, E.J. Perlman. Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors. *Cancer Research* 61(19), 8269-76 (2001)
8. **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, M.K. Fritsch, G. Calaminus, D. Harms, U. Göbel, E.J. Perlman: Comparative Genomic Hybridization of Childhood Germ Cell Tumors. *Klinische Pädiatrie* 213(4), 204-211 (2001)

9. **D.T. Schneider**, R. Wessalowski, G. Calaminus, H. Pape, M. Bamberg, J. Engert, K. Waag, H. Gadner, U. Göbel: Treatment of recurrent malignant sacrococcygeal germ cell tumors - analysis of 22 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96. *Journal of Clinical Oncology* 20: 1951-1960 (2001)
10. U. Göbel, **D. T. Schneider**, G. Calaminus, H. Jürgens, H.J. Spaar, W. Sternschulte, K. Waag, D. Harms. Multimodal treatment of malignant sacrococcygeal germ cell tumors. A prospective analysis of 66 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86 and 89. *Journal of Clinical Oncology* 20: 1943-1950 (2001)
11. **D.T.Schneider**, G. Calaminus, U. Göbel: Diagnostic value of alpha₁ fetoprotein and beta human chorionic gonadotropin in infancy and childhood. *Pediatric Hematology and Oncology* 18(1): 11-26 (2001)
12. **D.T.Schneider**, P. Lemburg, I. Sprock, R. Heying, U. Göbel, W. Nürnberger: Introduction of the oncological pediatric risk of mortality scor (O-PRISM) for ICU support following stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplantation* 25: 1079-1086 (2000)
13. **D.T. Schneider**, G. Calaminus, H. Reinhard, P. Gutjahr, B. Kremens, D. Harms, U. Göbel: Primary mediastinal germ cell tumors in children and adolescents: results of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96. *Journal of Clinical Oncology* 18: 832-839 (2000)
14. **D.T. Schneider**, E. Hilgenfeld, D. Schwabe, W. Behnisch, A. Zoubeck, R. Wessalowski, U. Göbel: Acute myelogenous leukemia following treatment for malignant germ cell tumors in children. *Journal of Clinical Oncology* 17: 3226-3233 (1999).
15. **D.T. Schneider**, U. Göbel: Diagnostic and therapeutic pitfalls in infants with large sacrococcygeal tumors (letter). *Pediatric Hematology and Oncology* 16: 481-482 (1999).
16. **D.T. Schneider**, U. Göbel: Differentialdiagnostische Bewertung erhöhter Werte für Alpha₁-Fetoprotein und humanes Choriongonadotropin im Kindesalter. *Tumordiagnose und Therapie* 19: 101-107 (1998)

Fachartikel – Übersichtsarbeiten

1. G. Calaminus, U. Göbel, Susanne Koch, P. Schmidt, **D.T. Schneider** (für die MAHO und MAKEI Studiengruppen): Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen:

Epidemiologie, Klinik und Prognose. Kinder- und Jugendmedizin (zur Publikation angenommen)

2. U. Göbel, G. Calaminus, **D.T. Schneider**, P. Schmidt, R.J. Haas. Management of Germ Cell Tumors in Children: Approaches to Cure. *Onkologie* 25 (1): 14-22 (2002)
3. U. Göbel, G. Calaminus, M. Bamberg, J. Engert, H.J. Haas, W. Jonat, R.D. Kortmann, **D.T. Schneider**, D. Harms. Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen. *Der Onkologe* 6 (9): 844-853 (2000).
4. U. Göbel, **D.T. Schneider**, G. Calaminus, R.J. Haas, P. Schmidt, D. Harms: Germ cell tumors in childhood and adolescence. *Annals of Oncology* 11: 263-271 (2000)
5. **D.T. Schneider**, U. Göbel: Erhöhte Werte für Alpha₁-Fetoprotein und humanes Choriongonadotropin. Differentialdiagnostische Bewertung (Fortbildungsartikel). *Monatsschrift Kinderheilkunde* 146:1094-1102 (1998)

Fachartikel – Fallberichte

1. M.E.G. Blohm, G. Calaminus, A.K. Gnekow, P. Heidemann, M. Bolkenius, P. Weinel, D. von Schweinitz, P. Ambros, **D.T. Schneider**, D. Harms, U. Göbel. Pure choriocarcinoma in infancy is curable by neoadjuvant chemotherapy and delayed tumor resection. *European Journal of Cancer* 37(1), 72-78 (2001)
2. J. Schwabe, A. Francke, C.D. Gerharz, U. Willnow, **D.T. Schneider**, W. Nürnberger. Immature teratoma arising from an intra-abdominal testis in a 5-month old boy. *Medical and Pediatric Oncology* 35(2): 140-141 (2000)
3. T. Rosenbaum, J. Gaertner, D. Körholz, G. Janssen, **D. Schneider**, V. Engelbrecht, U. Göbel, H.G. Lenard: Paraneoplastic Limbic Encephalitis in Two Teenage Girls. *Neuropediatrics* 29: 159-162 (1998).
4. **D.T. Schneider**, W. Nürnberger, H. Stannigel, H. Bönig, U. Göbel: C1-esterase inhibitor concentrate as adjuvant treatment of severe acute pancreatitis following bone marrow transplantation. *Gut* 45: 733-736 (1999).
5. **D.T. Schneider**, H.C. Schuppe, D. Schwamborn, D. Koerholz, P. Lehmann, U. Goebel: Acute Febrile Neutrophilic Dermatitis (Sweet Syndrome) as Initial Presentation in a Child with Acute Myelogenous Leukemia. *Medical and Pediatric Oncology* 31 (3): 178-181 (1998)

Verhandlungsbeiträge

1. **D.T. Schneider**, E.J. Perlman, D. Harms, M.K. Fritsch, G. Calaminus, U. Göbel. Mediastinal Germ Cell Tumors (MGCT) in Children and Adolescents: Age Correlates with Histologic Differentiation, Genetic Profiles and Clinical Outcome. In: P. Harnden, J.K. Joffe, W.G. Jones: Germ Cell Tumours V. Springer London 2002.
2. H. Bönig, **D.T. Schneider**, I. Sprock, P. Lemburg, U. Göbel, W. Nürnberger: Sepsis and multi organ failure: predictors of poor outcome after hematopoietic stem cell transplantation in children. Bone Marrow Transplantation 25: Suppl. 2, S32-34 (2000)
3. B. Horney, **D. Schneider**, P. Lehmann, T. Ruzicka, H.C. Schuppe: Sweet-Syndrome bei akuter myeloischer Leukämie im Kindesalter. Zeitschrift für Hautkrankheiten 72: 311-312 (1997)

Abstracts

1. S. Fuchs, K. Alemazkour, U. Göbel, **D.T. Schneider**. Analysis of the H19/IGF-2 Imprinting Control Domain in Gonadal and Nongonadal Germ Cell Tumors (GCT). Monatsschrift Kinderheilkunde 150: 1288 (2002).
2. **D.T. Schneider**, G. Calaminus, R. Pathmanathan, D. Harms, U. Göbel. Behandlung der Keimstrang-Stromatumoren des Ovars. Monatsschrift Kinderheilkunde 150: 1308 (2002).
3. **D.T. Schneider**, Genetic Analysis of Central Nervous System Germ Cell Tumors. Medical and Pediatric Oncology 39 (4): P209 (2002).
4. **D.T. Schneider**, G. Calaminus, R. Pathmanathan, D. Harms, U. Göbel: Ovarian Sex Cord – Stromal Tumors in Children and Adolescents. Klinische Pädiatrie 214: 271 (2002)
5. D.T. Schneider, M.K. Fritsch, A.E. Schuster, S. Fuchs, U. Göbel: Expression and Mutation Analysis of beta-catenin (BCAT) in germ cell tumors (GCT). Klinische Pädiatrie 214: 271 (2002)
6. M.K. Fritsch, **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, E.J. Perlman. Human Endogenous Retrovirus – Type K (HERV-K) Expression in Childhood Germ Cell Tumors. Laboratory Investigation 82 (1): 3P-14 (2002)
7. M.K. Fritsch, **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, E.J. Perlman. Beta-Catenin Protein Expression in Childhood and Adult Germ Cell Tumors. Laboratory Investigation 82 (1): 3P-13 (2002)

8. **D.T. Schneider**, J. Cho, S. Eisert, H.J. Laws, U. Göbel, W. Nürnberger. Reduced Antithrombin-III substitution has no Adverse Effect on Coagulation, Bleeding, and Mortality After Allogeneic Stem Cell Transplantation (SCT). *Klinische Pädiatrie* 213: S84 (2001)
9. **D.T. Schneider**, M. K. Fritsch, U. Göbel, E. J. Perlman. Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors. *Klinische Pädiatrie* 213: S84 (2001)
10. **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, M. K. Fritsch, T. Olson, S. Lauer, U. Göbel, E. J. Perlman. Genetic and imprinting analysis of mediastinal germ cell tumors in children and adolescents. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology*: 1720 (2001)
11. U. Göbel, G. Calaminus, J. Engert, **DT. Schneider**, J. Schwabe, D. Harms. Influence of risk group and age on outcome of extracranial malignant non testicular germ cell tumors (MNGCTS). Results of MAKEI 83/86, 89 and 96. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology*: 1514 (2001)
12. J. Cho, **D.T. Schneider**, S. Eisert, H. Irsfeld, U. Göbel, W. Nürnberger. Clinical impact of hemorrhage following allogeneic stem cell transplantation (SCT) *Annals of Hematology* 80(S1), pA10 (2001)
13. **D.T. Schneider**, J. Cho, S. Eisert, H.J. Laws, U. Göbel, W. Nürnberger. Antithrombin-III substitution following allogeneic stem cell transplantation (SCT). *Bone Marrow Transplantation* 27(S1), 310 (2001)
14. **D.T. Schneider**, J. Cho, M. Schmitz, H.J. Laws, D. Dilloo, U. Göbel, W. Nürnberger. Serial Evaluation of the Oncological Pediatric Risk of Mortality Score (O-PRISM) Following Allogeneic Stem Cell Transplantation (SCT) *Bone Marrow Transplantation* 27(S1), 345 (2001)
15. **D.T. Schneider**, A.E. Schuster, M. K. Fritsch, E. J. Perlman. Genetic analysis of mediastinal germ cell tumors in children and adolescents. *Laboratory Investigation* 81 (1): 4P-18 (2001)
16. A.E. Schuster, **D.T. Schneider**, P.Grundy, E.J. Perlman. Expression of imprinted genes in clear cell sarcoma of kidney (CCSK). *Laboratory Investigation* 81 (1): 4P-19 (2001)
17. M. Fritsch, A. E. Schuster, **D.T. Schneider**, E.J. Perlman. Microarray analysis of gene expression patterns in ovarian germ cell tumors. *Laboratory Investigation* 81 (1): 2P-8 (2001)

18. **D.T. Schneider**, U. Göbel, G. Calaminus, D. Harms, H. Müntefering und E.J. Perlman. Genetische Analyse mediastinaler Keimzelltumoren bei Kindern und Jugendlichen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 148 (11/2000)
19. **D.T. Schneider**, G. Calaminus, D. Harms, U. Göbel Multimodal treatment of malignant sacrococcygeal germ cell tumors - A prospective analysis of 95 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89, 96. *Surgery in Children*: 5 (2000)
20. **D.T. Schneider**, A. Schuster, M. Fritsch, S. Lauer, T. Olson, D. Harms, U. Göbel, E.J.Perlman: Genetic Analysis of Primary Mediastinal Germ Cell Tumors in Children and Adolescents. *Medical and Pediatric Oncology* 35 (3): P60 (2000)
21. U. Göbel, **D.T. Schneider**, G. Calaminus, D. Harms: Multimodal treatment of malignant sacrococcygeal germ cell tumors: prospective analysis of 95 patients of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology*: 587a (2000)
22. **D.T. Schneider**, G.Calaminus, D. Harms, U. Göbel: Primary mediastinal germ cell tumors in children and adolescents: results of the German cooperative protocols MAKEI 83/86, 89 and 96. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology*: 588a (2000)
23. **D.T. Schneider**, H. Stannigel, H. Bönig, U. Göbel, W. Nürnberger: Adjuvant treatment of severe acute pancreatitis with C1 esterase inhibitor concentrate. *Shock* 13: S118 (2000)
24. U. Göbel, **D.T. Schneider**, G. Calaminus, D. Harms: Maligne Keimzelltumoren der Steißbeinregion. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 147 (11/1999)
25. **D.T. Schneider**, W. Behnisch, G. Calaminus, E. Hilgenfeld, D. Schwabe, R. Wessalowski, A. Zoubeck, U. Göbel: MDS und AML nach Therapie von kindlichen Keimzelltumoren. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 147 (11/1999)
26. **D.T. Schneider**, W. Behnisch, G. Calaminus, E. Hilgenfeld, D. Schwabe, R. Wessalowski, A. Zoubeck, U. Göbel: Acute myelogeneous leukemia following treatment for malignant germ cell tumors in children. *Medical and Pediatric Oncology Suppl.*33(3): P251 (1999)
27. **D.T. Schneider**, D. Harms, G.Calaminus, U. Göbel: Mediastinale Keimzelltumoren – Ergebnisse der Studien MAKEI 83/86, 89, 96. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 147: 520 (1999)
28. **D.T. Schneider**, W. Nürnberger, P. Lemburg, U. Göbel: Prognostic variables for intensive care following stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplantation* 23: S170 (1999)

29. **D.T. Schneider**, W. Nürnberger, H. Stannigel, U. Göbel: Adjuvante Therapie der schweren akuten Pankreatitis mit C1-Esterase Inhibitor Konzentrat. Monatsschrift Kinderheilkunde 146 (9): S162 (1998)
30. **D.T. Schneider**, W. Nürnberger, U. Göbel, P. Lemburg: Infektionen bei intensivmedizinisch behandelten Kindern nach Knochenmarktransplantation. Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie 202 (Suppl. 1): 12 (1998)
31. **D.T. Schneider**, W. Nürnberger, U. Göbel, P. Lemburg: Prognostische Faktoren für eine intensivmedizinische Behandlung nach Knochenmarktransplantation. Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie 202 (Suppl. 1): 12 (1998)
32. **D. Schneider**, H. Merz, F. Autschbach, K. Orscheschek, A.C. Feller: Nonradioactive In Situ Hybridization to Cytokine-mRNA. Pathology Research and Practice 191 (3): 259 (1995).
33. **D. Schneider**, I. Baumann, H.K. Müller-Hermelink, A.C. Feller: Myelodysplastic Syndromes - Prognostic Value of Bone Marrow Histology. Pathology Research and Practice 190 (3): 295 (1994).

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt meinem akademischen und klinischen Mentor, Herrn Professor Dr. Ulrich Göbel, der meine klinische und wissenschaftliche Arbeit nachhaltig gefördert hat. Ich danke ihm vor allem für die vielen langen, intensiven und lehrreichen Diskussionen über die Biologie und Behandlung der Keimzelltumoren bei Kindern.

Frau Professor Dr. Elizabeth Perlman und Ihren Mitarbeitern Professor Dr. Michael Fritsch und M.Sc. Amy Schuster danke ich für eine intensive und lehrreiche Zeit am Institute für Pediatric Pathology in Baltimore, die den Grundstein für meine molekularbiologischen Arbeiten gelegt hat.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Gabriele Calaminus, die als Studienleiterin der MAKEI und SIOP CNS GCT Studien meine klinischen und molekularbiologischen Arbeiten wesentlich unterstützt hat, und Frau Susanne Koch für Ihre hervorragende Unterstützung als Studiendokumentarin der MAKEI und SIOP CNS GCT Studien und die nette und herzliche Zusammenarbeit während meiner Zeit als Studienassistent.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Dieter Harms vom Institut für Paidopathologie der Universität Kiel danke ich für die langjährige intensive und freundschaftliche Zusammenarbeit und die lehrreichen Stunden am Diskussionsmikroskop.

Während meiner klinischen Ausbildung habe ich zahlreiche hervorragende klinische Lehrer gehabt, von denen ich stellvertretend Frau Dr. Dorothee Schwamborn, Frau Dr. Gisela Janßen und Herrn Privatdozent Dr. Rüdiger Wessalowski besonders danken will.

Ich danke den Mitarbeiterinnen der Max-Eder-Arbeitsgruppe, Frau Dr. Sonja Fuchs und Katayoun Alemzkour für die hervorragende Arbeit und große Hartnäckigkeit.

Bedanken will ich mich außerdem bei der Deutschen Krebshilfe, die mir als Mildred-Scheel Stipendiat den Aufenthalt an der Johns Hopkins University ermöglicht und danach den Aufbau einer Arbeitsgruppe mit einer Max-Eder Nachwuchsgruppenförderung unterstützt hat.

Die Elterninitiative Kinderkrebsklinik e.V. Düsseldorf hat in der Vergangenheit verschiedene Forschungsprojekte (MDS bei Kindern, Intensivmedizin nach Knochenmarktransplantation) gefördert und die Anschaffung einer CGH-Workstation unterstützt, für die mein herzlicher Dank gilt.

Meinen Eltern Gerda und Hans Karl Schneider will ich für ihre langjährige Förderung und Unterstützung danken, besonders auch für die Freiheit in der Wahl von Studium und Beruf.

Meine Frau Annette Wächter-Schneider hat mich während meiner klinischen und wissenschaftlichen Arbeit begleitet, in allen wichtigen Entscheidungen beraten, ermuntert und unterstützt, und hat mich gemeinsam mit unserem Sohn Leonard und unserer dort geborenen Tochter Elena ein Jahr nach Baltimore begleitet. Dafür bin ich meiner Familie sehr dankbar.