

Received: 2016.06.30
Accepted: 2017.03.17
Published: 2017.07.11

Heterogenność ludzkiego genu *WT1*

Heterogeneity of human *WT1* gene

Ewelina Bielińska, Karolina Matiakowska, Olga Haus

Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Gen *WT1*, charakteryzujący się niezwykle złożoną strukturą, jest umiejscowiony w obrębie chromosomu 11. Bierze udział w regulacji wzrostu i rozwoju komórek, ma także znaczny wpływ na etapy funkcjonowania organizmu. Gen *WT1* może ulegać zarówno mutacjom, jak i zwiększonej ekspresji. U podłoża takich chorób, jak guz Wilmsa, zespoły Denysa-Drasha, WAGR, czy Frasiera leżą wrodzone mutacje genu *WT1*, natomiast nabyte mutacje tego genu występują w ostrej i przewlekłej białaczce szpikowej, w zespole mielodysplastycznym i innych nowotworach układu krwiotwórczego, np. w ostrych białaczkach limfoblastycznych. Zwiększona ekspresja tego genu, bez jego mutacji, jest stwierdzana w białaczkach i guzach litych. Gen ten może funkcjonować zarówno jako gen supresorowy, jak i onkogen. Różnorodność zmian w obrębie genu *WT1* budzi wiele kontrowersji, dlatego wciąż prowadzi się badania w celu określenia jego funkcji, jego interakcji z innymi cząsteczkami oraz znaczenia prognostycznego jego zmian w różnych chorobach.

Słowa kluczowe: gen *WT1* • mutacje • ekspresja genów • białaczki • guz Wilmsa

Summary

The *WT1* gene, characterized by an extremely complex structure, is located on chromosome 11. It is involved in cell growth and differentiation, and has a strong impact on consecutive stages of the functioning of the body. The *WT1* gene may undergo many different mutations, as well as may be overexpressed without a mutation. The molecular basis of diseases such as Wilms tumor, WAGR, Denys-Drash or Frasier syndromes are congenital *WT1* mutations, while somatic mutations of this gene occur in acute and chronic myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome and also in some other blood neoplasms, as acute lymphoblood leukemia. Increased expression of this gene without its mutation is observed in leukemias and solid tumors. The *WT1* may function both as a tumor suppressor gene and as an oncogene. The diversity of *WT1* changes causes many controversies, therefore investigations are still carried out to determine the function of this gene, its interaction with other molecules and its prognostic significance in various diseases.

Keywords: *WT1* gene • mutations • gene expression • leukemias • Wilms' tumor

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1242457>

Word count: 4655
Tables: –
Figures: 1
References: 54

Adres autorki: mgr Ewelina Bielińska, Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9 85-094 Bydgoszcz; e-mail: ew.bielinska@gmail.com

WSTĘP

Gen *WT1* (Wilms tumor 1) już w latach 90 ub.w. budził duże zainteresowanie. Różnego typu zmiany genu *WT1* stwierdzono w wielu chorobach, a poznanie jego struktury i funkcji pozwoliło na lepsze poznanie etiologii wielu chorób. Zaobserwowano, że gen *WT1* jest zaangażowany m.in. w rozwój takich patologii, jak guz Wilmsa, zespół Denysa-Drasha i WAGR, czy różnego typu białaczki. Rozwój badań genetycznych, zwłaszcza z zakresu biologii molekularnej, pozwolił również na określenie dualistycznej natury genu *WT1*, jako genu supresorowego oraz jako onkogenu. Poznanie jego roli w procesie chorobowym, może się stać istotnym elementem procesu diagnostyczno-terapeutycznego.

GEN I JEGO FUNKCJA

Gen *WT1* został odkryty jako jeden z dwóch genów (drugim jest *WT2*), których konstytucyjne mutacje są odpowiedzialne za dziecięcy nowotwór nerek, nerczak zarodkowy (*nephroblastoma*), inaczej guz Wilmsa [43].

Bierze udział w regulacji wzrostu i rozwoju komórek. W rozwijającym się zarodku ekspresję *WT1* obserwuje się głównie w układzie moczowo-płciowym, najwyższe jej poziomy pojawiają się na etapie rozwoju nerek. U ludzi dorosłych ekspresja *WT1* występuje w układzie moczowo-płciowym, ośrodkowym układzie nerwowym i w tkankach związanych z hematopoezą, w tym w szpiku kostnym i węzłach chłonnych [27,43,53]. Warto podkreślić, że w dojrzałym nefronie ekspresja *WT1* jest ograniczona do podocytów, gdzie odgrywa ważną rolę w utrzymaniu ich prawidłowej czynności, czyli bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego. Spadek poziomu ekspresji lub mutacje *WT1* powodują nieprawidłowe funkcjonowanie podocytów i mogą doprowadzić do rozwoju takich chorób, jak zespół nerczycowy, czy stwardnienie kłębuszków nerkowych [10,22].

W prawidłowym szpiku kostnym ekspresja *WT1* utrzymuje się ogólnie na niskim poziomie, większa jest tylko podczas wczesnych etapów różnicowania komórek mieloidalnych, wykazuje ją około 4% progenitorowych komórek mieloidalnych typu common CD34⁺ (common myeloid progenitor, CMP). W późniejszych etapach różnicowania komórek mieloidalnych ekspresja *WT1* obniża się i wykazuje ją tylko <1% w pełni zróżnicowanych komórek [16]. W dojrzałych leukocytach właściwie nie jest wykrywalna. Liczne badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych i ludzkich liniach komórkowych nadal pozostawiają wiele kontrowersyjnych kwestii o roli genu *WT1* w hematopoezie i leukemogenezie. *WT1* uczestniczy w regulacji przeżycia, proliferacji i różnicowaniu komórek i może

działać zarówno jako supresor nowotworów, jak i onkogen [32]. Początkowo wyniki badań dotyczące patogenezy guza Wilmsa, czy zespołu WAGR sugerowały funkcjonowanie genu *WT1* wyłącznie jako genu supresorowego. W późniejszych badaniach, skupiających się m.in. na leukemogenezie, oprócz funkcjonowania genu *WT1* jako supresora, sugerowano również jego onkogeną rolę, ponieważ odkryto, że wykazuje zwiększoną ekspresję w takich białaczkach, jak ostra białaczka szpikowa (AML) lub ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) [53].

STRUKTURA GENU

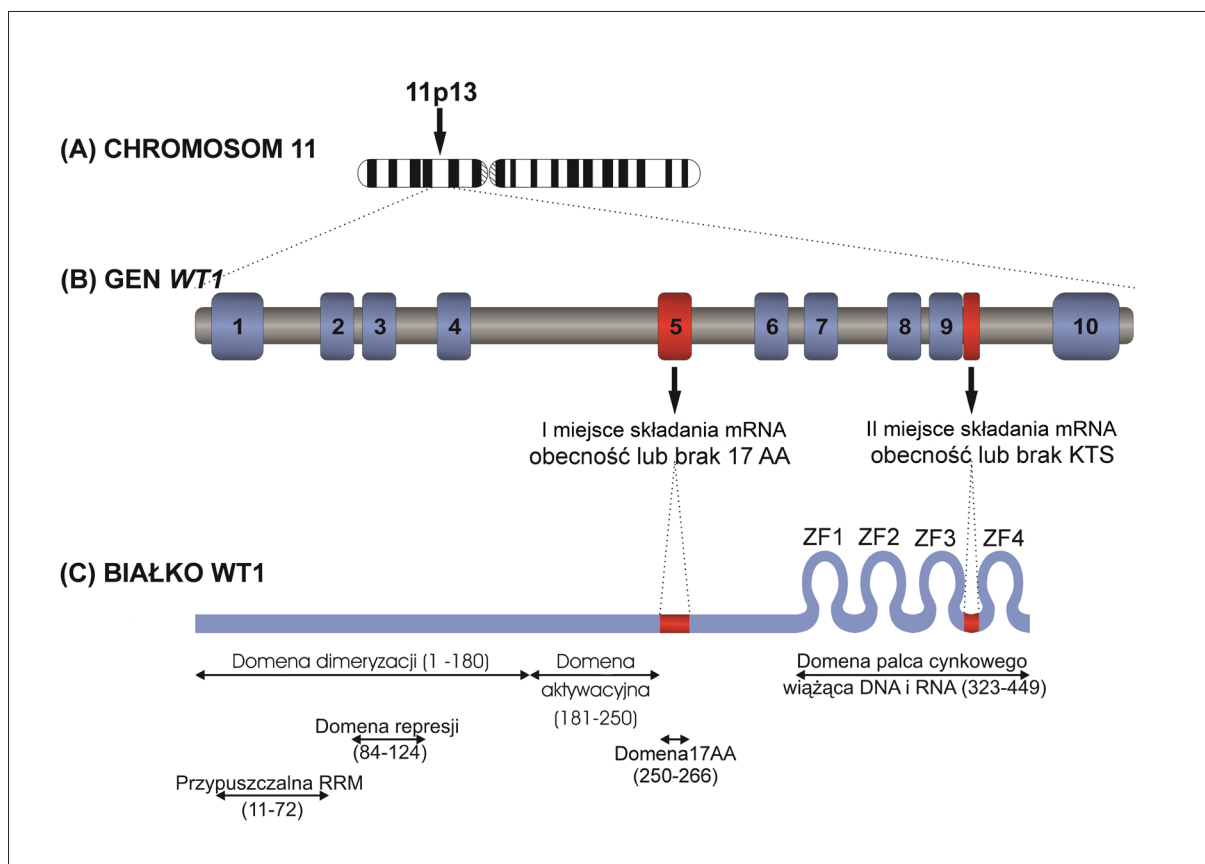
Gen *WT1* jest umiejscowiony w obrębie chromosomu 11 (11p13) i składa się z 10 eksonów. Generuje powstanie mRNA o długości 3 kb (ryc. 1A, B). Dwie dominujące formy alternatywnego składania mRNA (splicing) prowadzą do powstania czterech różnych izoform białka *WT1*. Różne formy mRNA mogą powstawać w wyniku obecności [5(+)] lub braku [5(-)] eksonu 5, który koduje 17 aminokwasów [16,24,43,53]. Insert tych 17 aminokwasów tworzy domenę aktywującą transkrypcję. W guzie Wilmsa oraz ostrej białaczce szpikowej obserwuje się różną liczbę izoform zawierających ekson 5 i bez tego eksonu [27]. W wyniku alternatywnego splicingu mogą również powstawać dwie inne izoformy mRNA, z dwięściami nukleotydami na końcu 3' eksonu 9, między trzecim a czwartym palcem cynkowym, albo bez nich. Pierwsza z nich koduje białko zawierające w końcu 3' aminokwasy: lizynę, treoninę i serynę (KTS). Jest określana jako KTS(+), a izoforma bez tych nukleotydów - jako KTS(-) [16,24,53]. W fizjologicznych warunkach stosunek ilościowy izoform KTS(+)/KTS(-) wynosi około 2:1 [53]. Zmniejszenie ilości izoformy KTS(+) powoduje ciężkie zaburzenia układu moczowo-płciowego, charakterystyczne dla zespołu Frasiera [27].

BIAŁKO WT1

Gen *WT1* koduje białko, którego struktura obejmuje N-końcową transaktywującą domenę składającą się z sekwencji bogatej w prolinę i glutaminę, C-końcową domenę, wiążącą DNA, składającą się z czterech palców cynkowych (Krüppel-like cysteine 2-histidine 2 zinc fingers) oraz domenę 17 aminokwasów (17AA), kodowaną przez ekson 5, która znajduje się między domeną transaktywującą a domeną wiążącą DNA (ryc.1C) [24,27,53].

Liczne badania potwierdzają funkcję białka *WT1*, jako czynnika transkrypcyjnego. Białko *WT1* może tworzyć homodimery oraz oddziaływać z innymi białkami, np. p53, p73, Hsp70. Co więcej, domena palca cynkowego na C-końcu *WT1* może swoiście wiązać się z sekwencjami DNA. Zawiera również informację o lokalizacji





Ryc. 1. Schemat przedstawiający chromosom 11, gen oraz białko WT1; RRM -domena wiążąca RNA, ZF1-4 - palec cynkowy 1-4 (zinc finger 1-4) (wg [27,51], zmodyfikowano)

białka w jądrze komórkowym [40]. Wykazano ponadto wpływ WT1 na transkrypcję genów czynników wzrostu, m.in. łańcucha α płytkopochodnego czynnika wzrostu - *PDGFA* i insulinopodobnego czynnika wzrostu - *IGF2*, genów receptorów czynników wzrostu, m.in. receptora *IGF1* - *IGF1R* i receptora naskórkowego czynnika wzrostu - *EGFR*, genu czynnika stymulującego tworzenie kolonii - *CSF1* oraz innych genów, takich jak *RARA*, *C-MYB*, *C-MYC*, *N-MYC*, *BCL-2*, *U2AF65* [27,43].

Dotąd opisano, powstające w wyniku alternatywnego splicingu, 24 izoformy białka WT1, wskazując tym samym jego ogromne możliwości regulacyjne i funkcjonalne. Najczęściej jednak powstają 4 izoformy, w zależności od obecności lub braku dwóch insertów, 17AA i KTS, oznaczone jako A, B, C i D lub (-/-), (+/-), (-/+) i (+/+). Masa cząsteczkowa WT1 wynosi, w zależności od obecności lub braku insertów, od 52 [WT1(-/-)] do 54 kDa [WT1(+/+)]. Białko mające tylko insert 17AA jest określane jako WT1(+/-), a białko zawierające tylko insert trzech aminokwasów (KTS) jako WT1(-/+) [53].

ZMIANY W GENIE *WT1*

Różnorodne zmiany molekularne w genie *WT1* przyczyniają się do rozwoju wielu chorób. Wrodzone mutacje mogą powodować rozwój: guza Wilmsa, zespołu Denysa-

-Drasha, WAGR, czy Frasiera. Nabyte, somatyczne mutacje genu *WT1* występują w ostrych i przewlekłych białaczkach szpikowych (AML i CML), w zespołach mielodysplastycznych (MDS) oraz w ostrej białaczce limfoblastycznej. Gen *WT1* może wykazywać również nadmierną ekspresję, niezależnie od obecności lub braku zmian strukturalnych, co stwierdza się w różnego typu białaczkach i guzach litych. Zarówno mutacje, jak i nadekspresja genu *WT1* mogą być czynnikami o znaczeniu prognostycznym, a także przydatnym narzędziem monitorowania choroby resztkowej (MRD) w białaczkach.

WRODZONE MUTACJE W GENIE *WT1* I ZWIĄZANE Z NIMI CHOROBY

Guz Wilmsa

Guz Wilmsa, czyli nerczak zarodkowy (*nephroblastoma*), jest nowotworem nerki wieku dziecięcego [24,40]. Rozwijają się głównie w jednej nerce, ale opisano również choroby, u których pierwotne nowotwory uwarunkowane wrodzoną mutacją *WT1* występowały w obu nerkach, jednocześnie lub sekwencyjnie. Rodzinne, uwarunkowane autosomalnie dominująco, występowanie guza Wilmsa stwierdza się u około 2% pacjentów [16]. Wrodzone mutacje genu *WT1* występują u około 10% pacjentów z guzem Wilmsa. Opisano m.in. mutacje w obrębie eksonów 1, 4 i 6 [36,38].

Zespół Denysa–Drasha

Zespół Denysa–Drasha (DDS) obejmuje wiele zaburzeń, w tym występowanie guza Wilmsa, wady układu moczowo-płciowego, ujawniające się jako wczesnie rozwijający się steroidooporny zespół nerczycowy, który przechodzi w jawną klinicznie niewydolność nerek przed ukończeniem 5 roku życia, dysgenezą gonad wraz z nieprawidłowym wykształceniem narządów płciowych. Zespół DD jest wywołany mutacjami germinalnymi genu *WT1*, przeważnie w eksonach 9 i 8. Najczęstszą mutacją jest zamiana argininy (Arg) w tryptofan (Trp) w kodonie 394, w trzecim palcu cynkowym (mutacja ARG394TRP, ekson 9) [29,35].

Zespół WAGR

W zespole WAGR stwierdza się współwystępowanie guza Wilmsa (W) z wrodzoną anirią, czyli brakiem tęczówki (A), wadami rozwojowymi układu moczowo-płciowego (G) oraz opóźnieniem rozwoju umysłowego (R). Zespół jest skorelowany z mikrodelecjami w obrębie regionu 11p13, obejmującymi m.in. *loci* genów *WT1* i *PAX6*. Za anirię jest odpowiedzialny głównie gen *PAX6*, a za pozostałe objawy gen *WT1* [6].

Zespół Frasiera

Charakterystycznymi cechami tego rzadko występującego zespołu są wady układu moczowo-płciowego (niewydolność nerek, której przewlekła postać rozwija się na tle zespołu nerczycowego wynikającego z ogniskowego, segmentowego stwardnienia kłębuszków nerkowych) i zaburzenia rozwoju płciowego (pseudohermafrodytyzm u osób z kariotypem 46,XY, prawidłowy rozwój gonad u osób z kariotypem 46,XX). Brak jest predyspozycji do guza Wilmsa, natomiast występuje zwiększone ryzyko rozwoju innych nowotworów, zwłaszcza zarodkowych [11,50]. Wykazano, że zespół ten jest wywołany mutacjami miejsc donorowych w intronie 9 genu *WT1*, co powoduje utratę izoformy KTS+, a tym samym zaburzenie stosunku ilościowego między dwoma transkryptami *WT1*, KTS+ i KTS- [2,21].

NABYTE MUTACJE W GENIE *WT1* I ZWIĄZANE Z NIMI CHOROBY

Białaczki

Somatyczne mutacje genu *WT1* są obserwowane zarówno u dzieci, jak i dorosłych chorujących na AML [16,20]. Najczęściej występującymi zmianami są insercje lub delecje obejmujące eksony 7 lub 9, a rzadziej - mutacje zmiany sensu w eksonie 9 [15]. Wśród pacjentów z AML o prawidłowym kariotypie, u 4-11% występują mutacje *WT1*, zwykle u młodych osób, z wysoką leukocytozą lub mutacją genu *FLT3* [7,54]. Mutacje obejmujące eksony 7 i 9 prowadzą do wytworzenia skróconej postaci białka, która jest pozbawiona czterech palców cynkowych, odpowiedzialnych m.in. za oddziaływanie z DNA [33,39].

Dane z kilku ostatnich lat wskazują, że mutacje *WT1* są rzadko obserwowane u dorosłych z AML z korzyst-

nie rokującymi zmianami, np. *AML1-ETO/t(8;21)*, czy *CBFB-MYH11/inv(16)*, natomiast częściej towarzyszą zmianom wiążącym się ze złym rokowaniem, np. *NUP98-HOXA9/t(7;11)* [15,32].

Związek mutacji *WT1* z rokowaniem u chorych z AML jest wciąż kontrowersyjny. W badaniach Paschka i wsp. oraz Renneville i wsp. mutacje *WT1* zostały powiązane z niekorzystnym rokowaniem, szczególnie w połączeniu z mutacjami w genach *NPML*, *FLT3* i *CEBPA* oraz nadekspresją genów *ERG* i *BAALC* [33,39]. Paschka i wsp. wykazali, że remisję uzyskało 76% pacjentów z mutacją *WT1*, prawie 90% z nich utraciło ją, a trzyletni czas przeżycia wolny od choroby (DFS) uzyskało zaledwie 13%. Natomiast u pacjentów bez mutacji remisję uzyskało 84%, 51% utraciło ją, a trzyletni DFS uzyskało 50% pacjentów. W badanej grupie trzyletni całkowity czas przeżycia (OS) miało 10% pacjentów z mutacją genu *WT1* i 56% pacjentów bez mutacji [33]. Natomiast w badaniach Gaidzik i wsp. oraz Shena i wsp. nie potwierdzono doniesień o prognostycznym znaczeniu mutacji *WT1*, gdyż nie zauważono ich związku z całkowitym czasem przeżycia (OS), przeżyciem wolnym od choroby (DFS) oraz czasem przeżycia wolnym od zdarzeń (EFS) [8,41]. W opisanych przez Virappane i wsp. badaniach młodych dorosłych z AML mutacja *WT1* była związana ze złym rokowaniem, a większość pacjentów miała przy nawrocie choroby tę samą mutację *WT1*, jaką obserwowano w chwili rozpoznania [49].

W pediatrycznej grupie AML stwierdzono, że mutacje genu *WT1*, podobnie jak w grupie dorosłych chorych, lokalizują się najczęściej w eksonach 7 i 9, rzadziej w eksonie 8. Występują u około 8,3% chorych dzieci i są związane z krótszym OS i EFS, a także z większym ryzykiem nawrotu choroby [13]. U około 10% dzieci z nawrotem AML zaobserwowano mutację *WT1*, choć w okresie rozpoznania choroby nie była obecna [14].

Mutacje genu *WT1* mogą także występować w ostrej białaczkę limfoblastycznej. Jednak nie opisano mutacji genu *WT1* w przypadkach ALL z komórek prekursorowych linii B, natomiast odkryto je w ALL wywodzącej się z komórek prekursorowych linii T [46]. Charakter opisanych mutacji jest podobny do obserwowanych w AML, głównie obejmują przesunięcie ramki odczytu w eksonie 7 [32]. W badaniach przeprowadzonych przez Tosello i wsp. wykazano, że częstość występowania mutacji *WT1* u dorosłych z ALL wynosi 12%, natomiast u dzieci 13%. Nie zaobserwowano znaczenia prognostycznego mutacji tego genu u pacjentów z T-ALL [46]. W badaniach przeprowadzonych przez Heescha i wsp. nie odnotowano różnicy w osiaganiu całkowitej remisji między pacjentami z mutacją genu *WT1*, a pacjentami bez tej mutacji [12].

ZWIĘKSZONA EKSPRESJA GENU *WT1* I ZWIĄZANE Z NIĄ CHOROBY

Białaczki

Jak już wspomniano, niski poziom ekspresji *WT1* jest obserwowany w prawidłowym szpiku kostnym i krwi



obwodowej. Wysoką ekspresję *WT1* stwierdza się w układzie krwiotwórczym w różnych typach białaczek: AML, ALL i CML, jak również w zespołach mielodysplastycznych (MDS) [5,44]. W MDS wzrost ekspresji *WT1* jest związany ze zwiększeniem liczby komórek blastycznych i zwiastuje wczesną progresję do AML [53].

Nadekspresja *WT1* jest wykrywana u 73-100% pacjentów z AML, dlatego *WT1* mógłby być ewentualnie genetycznym markerem tej choroby. Nadekspresja *WT1* stała się bardzo atrakcyjnym celem badań w AML, zwłaszcza u tych chorych, u których brak jest swoistego genu fuzyjnego. Jednak znaczenie prognostyczne nadekspresji *WT1*, jak również użyteczność jej monitorowania w celu przewidzenia nawrotu choroby pozostaje niepewne [7,52].

Jest wiele różnych poglądów na temat znaczenia prognostycznego ekspresji *WT1* ocenianej przy rozpoznaniu AML. Niektórzy stwierdzili, że podwyższona ekspresja *WT1* w tym okresie wiąże się z gorszym rokowaniem [4,18,26,47], podczas gdy inni nie potwierdzili tych wyników [3,17,23,28,30].

Analizując znaczenie ekspresji *WT1* w AML należy uwzględnić współistnienie dodatkowych nieprawidłowości genetycznych. Odnotowano, że wysoka ekspresja *WT1* jest skorelowana z obecnością mutacji *FLT3-ITD* [42]. Ponadto poziom ekspresji *WT1* różni się znacznie między grupami chorych z AML z różnymi transkryptami fuzyjnymi. Østergaard i wsp. stwierdzili korelację między zwiększoną ekspresją *WT1* a obecnością transkryptów *CBFB-MYH11/inv(16)* i *DEK-CAN (DEK-NUP214)/t(6;9)*, natomiast *AML1-ETO (RUNX1/RUNX1T1)/t(8;21)*-dotadni pacjenci wykazywali znacznie niższą ekspresję *WT1*. Nie stwierdzono korelacji między *WT1* i obecnością transkryptów fuzyjnych *MLL-MLL/dup(11)(q23)* i *PML-RARA/t(15;17)* [31]. Lapillonie i wsp. zaprzeczyli tym wynikiom stwierdzając korelację między nadekspresją *WT1* i obecnością transkryptów fuzyjnych *AML1-ETO (RUNX1/RUNX1T1)* i *PML-RARA* [23].

Analizując ALL odkryto, że *WT1* często wykazuje nadekspresję ale jej poziom jest na ogół niższy niż obserwowany w AML. Nie udało się jednoznacznie określić związku nadekspresji *WT1* z rokowaniem w ALL [32]. Jednak w dziecięcej ALL bardzo niskie, jak również bardzo wysokie poziomy ekspresji *WT1* okazały się związane ze złym rokowaniem [19]. Wykazano, że w dziecięcej ALL ekspresja *WT1* była wyższa u dzieci chorujących na ostrą białaczkę limfoblastyczną typu T niż u dzieci chorujących na B-komórkową ALL [5]. Inne badania nie potwierdziły korelacji między ekspresją *WT1* a typem białaczki (T- lub B-ALL) ani u dzieci, ani u dorosłych. W badaniach Ibrahima i wsp. nie wykazano korelacji między ekspresją genu *WT1* a osiągnięciem całkowitej remisji oraz odsetkiem nawrotów choroby [17].

Innymi nowotworami układu krwiotwórczego, w którym badano ekspresję genu *WT1* są zespoły mielodysplastyczne (MDS). Zespoły te charakteryzują się

nieefektywną hematopoezą, bogatokomórkowym szpikiem oraz cytopenią we krwi obwodowej. Szacuje się, że u 30-40% pacjentów zespół mielodysplastyczny może transformować w kierunku ostrej białaczki, dlatego tak istotne jest zbadanie genów mających znaczenie prognostyczne [34]. U osób z MDS wykazano wysoką ekspresję genu *WT1*, choć poziom tej ekspresji był niższy w porównaniu do ekspresji obserwowanej w ostrych białaczkach szpikowych. Odnotowano również, że zwiększona ekspresja *WT1* koreluje z gorszym rokowaniem i większym ryzykiem progresji choroby [9]. W innych badaniach wykazano różnicę w ekspresji genu *WT1* między grupami rokowniczymi MDS według klasyfikacji FAB. Zaobserwowano niski poziom *WT1* w podgrupie pacjentów korzystnie rokujących, natomiast wysoki w podgrupie pacjentów niekorzystnie rokujących [48]. W najnowszych badaniach przeprowadzonych przez Baba i wsp. potwierdzono korelację między odsetkiem blastów w rozmazie szpiku kostnego oraz rokowaniem, a ekspresją *WT1*. U pacjentów z niedokrwistością oporną na leczenie (RA), u których odsetek blastów w szpiku jest mniejszy niż 5%, odnotowano niski poziom *WT1*, natomiast u pacjentów z niedokrwistością oporną na leczenie z nadmiarem blastów ($\geq 5\%$ blastów, RAEB), poziom *WT1* był znacznie wyższy. Stwierdzono, również zależność poziomu ekspresji *WT1* z rokowaniem według klasyfikacji Międzynarodowego Indeksu Rokowniczego (IPSS). U pacjentów z korzystnym rokowaniem poziom ekspresji *WT1* był niski, a u pacjentów z niekorzystnym rokowaniem, wysoki [1].

W badaniach nad przewlekłą białaczką szpikową (CML) odkryto, że w chwili jej rozpoznania *WT1* wykazuje zwiększoną ekspresję. Zauważono statystycznie znaczącą różnicę w proporcji izoform 5(-)/KTS(+) i 5(+)/KTS(-) między CML a AML. W CML częścię obserwowano izoformę 5(-)/KTS(+), natomiast w AML dominowała izoforma 5(+)/KTS(-). Wykazano również dominację izoformy 5(-)/KTS(+) genu *WT1* podczas nawrotu CML. Zaproponowano więc, że różnice w stosunku izoform genu *WT1* mogą posłużyć jako wczesny marker rozpoznania nawrotu CML [25]. W kolejnych badaniach odnotowano znacznie zwiększoną ekspresję genu *WT1* w zaawansowanych stadiach choroby; w fazie akceleracji oraz przełomu blastycznego, natomiast niższe poziomy ekspresji w przewlekłej fazie choroby. Co więcej, wykazano znaczący spadek ekspresji genu *WT1* po zastosowaniu leczenia inhibitorem kinazy tyrozynowej (imatinib) [45].

Guzy lite

Wysoki poziom ekspresji genu *WT1* występuje w prawie wszystkich rodzajach guzów litych i może służyć jako ważny czynnik prognostyczny [44]. Nadekspresję genu *WT1* zaobserwowano w raku jajnika, nerek, piersi, płuc, jelita grubego, macicy oraz w międzybłoniaku opłucnej, glejaku i czerniaku [43]. Zwiększony poziom ekspresji genu *WT1* negatywnie korelował z całkowitym czasem przeżycia pacjentów z guzami litymi (m.in. rakiem jajnika czy macicy). Wykazano również krótsze przeży-

cie wolne od choroby (DFS) oraz przeżycie wolne od nawrotu (RFS) u pacjentów, którzy wykazują wysoką ekspresję tego genu [37].

PODSUMOWANIE

Gen *WT1*, o złożonej strukturze, pełni nie tylko istotną rolę podczas rozwoju organizmu, ale również ma

ogromny wpływ w następnych etapach jego funkcjonowania. Mimo wielu badań pogłębiających wiedzę na temat genu *WT1*, nadal pozostaje wiele niejasności, co do jego roli w poszczególnych chorobach. Niezbędne są dalsze badania w celu określenia funkcji genu *WT1*, jego interakcji z innymi cząsteczkami oraz znaczenia prognostycznego w różnych chorobach, w tym w nowotworach układu krwiotwórczego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Baba M., Hata T., Tsushima H., Mori S., Sasaki D., Turuta K., Hasegawa H., Ando K., Sawayama Y., Imanishi D., Taguchi J., Yanagihara K., Tomonaga M., Kamihira S., Miyazaki Y.: The level of bone marrow WT1 message is a useful marker to differentiate myelodysplastic syndromes with low blast percentage from cytopenia due to other reasons. *Intern. Med.*, 2015; 54: 445-451
- [2] Barbaux S., Niaudet P., Gubler M.C., Grünfeld J.P., Jaubert F., Kuttent F., Fékété C.N., Souleyreau-Therville N., Thibaud E., Fellous M., McElreavey K.: Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat. Genet.*, 1997; 17: 467-470
- [3] Barragán E., Cervera J., Bolufer P., Ballester S., Martín G., Fernández P., Collado R., Sayas M.J., Sanz M.A.: Prognostic implications of Wilms' tumor gene (*WT1*) expression in patients with *de novo* acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 2004; 89: 926-933
- [4] Bergmann L., Miething C., Maurer U., Brieger J., Karakas T., Weidmann E., Hoelzer D.: High levels of Wilms' tumor gene (*wt1*) mRNA in acute myeloid leukemias are associated with a worse long-term outcome. *Blood*, 1997; 90: 1217-1225
- [5] Busse A., Gökbuget N., Siehl J.M., Hoelzer D., Schwartz S., Rietz A., Thiel E., Keilholz U.: Wilms' tumor gene 1 (*WT1*) expression in subtypes of acute lymphoblastic leukemia (ALL) of adults and impact on clinical outcome. *Ann. Hematol.*, 2009; 88: 1199-1205
- [6] Clericuzio C.L.: WAGR syndrome. W: Management of Genetic Syndromes, red.: Cassidy S.B., Allanson J.E., John Wiley & Sons, New York, 2005; 645-653
- [7] Foran J.M.: New prognostic markers in acute myeloid leukemia: perspective from the clinic. *Hematology*, 2010; 2010: 47-55
- [8] Gaidzik V.I., Schlenk R.F., Moschny S., Becker A., Bullinger L., Corbacioglu A., Krauter J., Schlegelberger B., Ganser A., Döhner H., Döhner K.: Prognostic impact of *WT1* mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia a study of the German-Austrian AML Study Group. *Blood*, 2009; 113: 4505-4511
- [9] Galimberti S., Ghio F., Guerrini F., Ciabatti E., Grassi S., Ferreri M.L., Petrini M.: *WT1* expression levels at diagnosis could predict long-term time-to-progression in adult patients affected by acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haematol.*, 2010; 149: 451-464
- [10] Guo J.K., Menke A.L., Gubler M.C., Clarke A.R., Harrison D., Hammes A., Hastie N.D., Schedl A.: *WT1* is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis. *Hum. Mol. Genet.*, 2002; 11: 651-659
- [11] Gwin K., Cajaiba M.M., Caminoa-Lizarralde A., Picazo M.L., Nistal M., Reyes-Múgica M.: Expanding the clinical spectrum of Frasier syndrome. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 2008; 11: 122-127
- [12] Heesch S., Goekbuget N., Stroux A., Tanchez J.O., Schlee C., Burmeister T., Schwartz S., Blau O., Keilholz U., Busse A., Hoelzer D., Thiel E., Hofmann W.K., Baldus C.D.: Prognostic implications of mutations and expression of the Wilms tumor 1 (*WT1*) gene in adult acute T-lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 2010; 95: 942-949
- [13] Ho P.A., Zeng R., Alonzo T.A., Gerbing R.B., Miller K.L., Pollard J.A., Stirewalt D.L., Heerema N.A., Raimondi S.C., Hirsch B., Franklin J.L., Lange B., Meshinchi S.: Prevalence and prognostic implications of *WT1* mutations in pediatric acute myeloid leukemia (AML): a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 2010; 116: 702-710
- [14] Hollink I.H., van den Heuvel-Eibrink M.M., Zimmermann M., Balgobind B.V., Arentsen-Peters S.T., Alders M., Willasch A., Kaspers G.J., Trka J., Baruchel A., de Graaf S.S., Creutzig U., Pieters R., Reinhardt D., Zwaan C.M.: Clinical relevance of Wilms tumor 1 gene mutations in childhood acute myeloid leukemia. *Blood*, 2009; 113: 5951-5960
- [15] Hou H.A., Chou W.C., Tien H.F.: Genetic alterations and their clinical implications in acute myeloid leukemia. W: Myeloid Leukemia - Basic Mechanisms of Leukemogenesis, red.: Koschmieder S., Krug U., InTech, 2011; 163-184
- [16] Huff V.: Wilms' tumours: about tumour suppressor genes, an oncogene and a chameleon gene. *Nat. Rev. Cancer*, 2011; 11: 111-121
- [17] Ibrahim A., Badrawy H., Sayed H.: Prognostic implications of expression of the Wilms tumor 1 (*WT1*) gene in acute leukemia (Experience from South Egypt). *BJMRR*, 2015; 7: 61-71
- [18] Inoue K., Sugiyama H., Ogawa H., Nakagawa M., Yamagami T., Miwa H., Kita K., Hiraoka A., Masaoka T., Nasu K., Kyo T., Dohy H., Nakauchi H., Ishidate T., Akiyama T., Kishimoto T.: *WT1* as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood*, 1994; 84: 3071-3079
- [19] Kerst G., Bergold N., Gieseke F., Coustan-Smith E., Lang P., Kalinova M., Handgretinger R., Trka J., Müller I.: *WT1* protein expression in childhood acute leukemia. *Am. J. Hematol.*, 2008; 83: 382-386
- [20] Kęsy J., Januszkiewicz-Lewandowska D.: Genes and childhood leukemia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2015; 69: 302-308
- [21] Klamt B., Koziell A., Poulat F., Wieacker P., Scambler P., Berta P., Gessler M.: Frasier syndrome is caused by defective alternative splicing of *WT1* leading to an altered ratio of *WT1+/-KTS* splice isoforms. *Hum. Mol. Genet.*, 1998; 7: 709-714
- [22] Kubiak A., Niemir Z.I.: Znaczenie podocytów w prawidłowym funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego oraz w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. Część I. Charakterystyka fenotypowa i czynność podocytów w okresie ich różnicowania się i dojrzałości. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 248-258
- [23] Lapillonne H., Renneville A., Auvrignon A., Flamant C., Blaise A., Perot C., Lai J.L., Ballerini P., Mazingue F., Fasola S., Dehé A., Bellman F., Adam M., Labopin M., Douay L., Leverger G., Preudhomme C., Landman-Parker J.: High *WT1* expression after induction therapy predicts high risk of relapse and death in pediatric acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.*, 2006; 24: 1507-1515
- [24] Lee S.B., Haber D.A.: Wilms tumor and the *WT1* gene. *Exp. Cell Res.*, 2001; 264: 74-99
- [25] Lopotová T., Polák J., Schwarz J., Klamová H., Moravcová J.: Expression of four major *WT1* splicing variants in acute and chronic myeloid leukemia patients analyzed by newly developed four real-time RT-PCRs. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2012; 49: 41-47



- [26] Lyu X., Xin Y., Mi R., Ding J., Wang X., Hu J., Fan R., Wei X., Song Y., Zhao R.Y.: Overexpression of Wilms tumor 1 gene as a negative prognostic indicator in acute myeloid leukemia. *PLoS One*, 2014; 9: e92470
- [27] Morrison A.A., Viney R.L., Ladomery M.R.: The post-transcriptional roles of WT1, a multifunctional zinc-finger protein. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008; 1785: 55-62
- [28] Mossallam G.I., Abdel Hamid T.M., Mahmoud H.K.: Prognostic significance of WT1 expression at diagnosis and end of induction in Egyptian adult acute myeloid leukemia patients. *Hematology*, 2013; 18: 69-73
- [29] Mrowka C., Schedl A.: Wilms' tumor suppressor gene *WT1*: from structure to renal pathophysiological features. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2000; 11, (Suppl. 16): S106-S115
- [30] Noronha S.A., Farrar J.E., Alonzo T.A., Gerbing R.B., Lacayo N.J., Dahl G.V., Ravindranath Y., Arceci R.J., Loeb D.M.: WT1 expression at diagnosis does not predict survival in pediatric AML: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr. Blood Cancer*, 2009; 53: 1136-1139
- [31] Østergaard M., Olesen L.H., Hasle H., Kjeldsen E., Hokland P.: *WT1* gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70% of acute myeloid leukaemia patients - results from a single-centre study. *Br. J. Haematol.*, 2004; 125: 590-600
- [32] Owen C., Fitzgibbon J., Paschka P.: The clinical relevance of Wilms Tumour 1 (*WT1*) gene mutations in acute leukaemia. *Hematol. Oncol.*, 2010; 28: 13-19
- [33] Paschka P., Marcucci G., Ruppert A.S., Whitman S.P., Mrózek K., Maharry K., Langer C., Baldus C.D., Zhao W., Powell B.L., Baer M.R., Carroll A.J., Caligiuri M.A., Kolitz J.E., Larson R.A., Bloomfield C.D.: Wilms' tumor 1 gene mutations independently predict poor outcome in adults with cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.*, 2008; 26: 4595-4602
- [34] Pellagatti A., Benner A., Mills K.I., Cazzola M., Giagounidis A., Perry J., Malcovati L., Della Porta M.G., Jädersten M., Verma A., McDonald E.J., Killick S., Hellström-Lindberg E., Bullinger L., Wainscoat J.S., Boulwood J.: Identification of gene expression-based prognostic markers in the hematopoietic stem cells of patients with myelodysplastic syndromes. *J. Clin. Oncol.*, 2013; 31: 3557-3564
- [35] Pelletier J., Bruening W., Kashtan C.E., Mauer S.M., Manivel J.C., Striegel J.E., Houghton D.C., Junien C., Habib R., Fouser L., Fine R.N., Silverman B.L., Haber D.A., Housman D.: Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Cell*, 1991; 67: 437-447
- [36] Pelletier J., Bruening W., Li F.P., Haber D.A., Glaser T., Housman D.E.: *WT1* mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature*, 1991; 353: 431-434
- [37] Qi X.W., Zhang F., Wu H., Liu J.L., Zong B.G., Xu C., Jiang J.: Wilms' tumor 1 (*WT1*) expression and prognosis in solid cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 8924
- [38] Regev M., Kirk R., Mashevich M., Bistritzer Z., Reish O.: Vertical transmission of a mutation in exon 1 of the *WT1* gene: lessons for genetic counseling. *Am. J. Med. Genet. A*, 2008; 146A: 2332-2336
- [39] Renneville A., Boissel N., Zurawski V., Llopis L., Biggio V., Nibourel O., Philippe N., Thomas X., Dombret H., Preudhomme C.: Wilms tumor 1 gene mutations are associated with a higher risk of recurrence in young adults with acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association. *Cancer*, 2009; 115: 3719-3727
- [40] Scharnhorst V., van der Eb A.J., Jochemsen A.G.: *WT1* proteins: functions in growth and differentiation. *Gene*, 2001; 273: 141-161
- [41] Shen Y., Zhu Y.M., Fan X., Shi J.Y., Wang Q.R., Yan X.J., Gu Z.H., Wang Y.Y., Chen B., Jiang C.L., Yan H., Chen F.F., Chen H.M., Chen Z., Jin J., Chen S.J.: Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia. *Blood*, 2011; 118: 5593-5603
- [42] Spassov B.V., Stoimenov A.S., Balatzenko G.N., Genova M.L., Peichev D.B., Konstantinov S.M.: Wilms' tumor protein and *FLT3*-internal tandem duplication expression in patients with *de novo* acute myeloid leukemia. *Hematology*, 2011; 16: 37-42
- [43] Sugiyama H.: Wilms' tumor gene *WT1*: its oncogenic function and clinical application. *Int. J. Hematol.*, 2001; 73: 177-187
- [44] Sugiyama H.: *WT1* (Wilms' tumor gene 1): biology and cancer immunotherapy. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 2010; 40: 377-387
- [45] Szántó A., Pap Z., Dénes L., Benedek Lázár E., Horváth A., Tunyogi A.B., Baróti B.Á., Pávai Z.: Real-time quantitative PCR detection of *WT1* and *M-BCR-ABL* expressions in chronic myeloid leukemia. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 2015; 56 (Suppl. 1): 703-707
- [46] Tosello V., Mansour M.R., Barnes K., Paganin M., Sulis M.L., Jenkinson S., Allen C.G., Gale R.E., Linch D.C., Palomero T., Real P., Murty V., Yao X., Richards S.M., Goldstone A. i wsp.: *WT1* mutations in T-ALL. *Blood*, 2009; 114: 1038-1045
- [47] Trka J., Kalinová M., Hrusák O., Zuna J., Krejci O., Madzo J., Sedláček P., Vávra V., Michalová K., Jarosová M., Starý J.: Real-time quantitative PCR detection of *WT1* gene expression in children with AML: prognostic significance, correlation with disease status and residual disease detection by flow cytometry. *Leukemia*, 2002; 16: 1381-1389
- [48] Ueda Y., Mizutani C., Nannya Y., Kurokawa M., Kobayashi S., Takeuchi J., Tamura H., Ogata K., Dan K., Shibayama H., Kanakura Y., Niimi K., Sasaki K., Watanabe M., Emi N. i wsp.: Clinical evaluation of *WT1* mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk. Lymphoma*, 2013; 54: 1450-1458
- [49] Virappane P., Gale R., Hills R., Kakkas I., Summers K., Stevens J., Allen C., Green C., Quentmeier H., Drexler H., Burnett A., Linch D., Bonnet D., Lister T.A., Fitzgibbon J.: Mutation of the Wilms' tumor 1 gene is a poor prognostic factor associated with chemotherapy resistance in normal karyotype acute myeloid leukemia: the United Kingdom Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. *J. Clin. Oncol.*, 2008; 26: 5429-5435
- [50] Wasilewska A., Zoch-Zwierz W., Tenderenda E., Rybi-Szumińska A., Kołodziejczyk Z.: Mutacja genu *WT1* jako przyczyna postępującej nefropatii w zespole *Frasiera* - opis przypadku. *Pol. Merk. Lek.*, 2009; 26: 642-644
- [51] *WT1* gene. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/WT1#location> (21.03.2016)
- [52] Yanada M., Terakura S., Yokozawa T., Yamamoto K., Kiyoi H., Emi N., Kitamura K., Kohno A., Tanaka M., Tobita T., Takeo T., Sao H., Kataoka T., Kobayashi M., Takeshita A., Morishita Y., Naoe T., Sugiura I.: Multiplex real-time RT-PCR for prospective evaluation of *WT1* and fusion gene transcripts in newly diagnosed *de novo* acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 2004; 45: 1803-1808
- [53] Yang L., Han Y., Saurez Saiz F., Minden M.D.: A tumor suppressor and oncogene: the *WT1* story. *Leukemia*, 2007; 21: 868-876
- [54] Yohe S.: Molecular genetic markers in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Med.*, 2015; 4: 460-478

Autorci deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.