

Embryonálne tumory s mnohovrstvovými rozetami – vzácne tumory centrálného nervového systému v detskom veku

Embryonal Tumors with Multilayer Rosettes – Rare Central Nervous System Tumors in Infants

Pleško M.¹, Husáková K.¹, Kaiserová E.¹, Tichý M.², Zámečník J.³

¹ Klinika detskej hematológie a onkológie LF UK a DFNSP Bratislava, Slovenská republika

² Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN v Motole, Praha

³ Laborať neuropatologie, Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN v Motole, Praha

Súhrn

Úvod: Najnovšie poznatky dokázali histopatologickú, genetickú, aj klinickú uniformitu v prípade tumorov označovaných ako embryonálne tumory s mnohovrstvovými rozetami, kam patrí meduloepitelióm, ependymblastóm a embryonálny tumor s abundatným neuropilom a pravými rozetami. Spoločným znakom je pozitivita LIN28A a amplifikácia lokusu 19q13.42, ktorý zahŕňa C19MC klaster obsahujúci gény pre mikroRNA. V patogenéze ochorenia hrá významnú úlohu dysregulácia epigenetických modifikátorov. Tieto tumory sú pozorované u najmenších detí (medián veku pod 3 roky), miera celkového prežívania je menej ako 5–10 %.

Kazuistika: Temer trojročný chlapec s histologicky dokázaným tumorom mozgového kmeňa: meduloepitelióm WHO grade IV. Prišiel s príznakmi dyzartrie, bulbárneho syndrómu, centrálnej lézie n.V a kvadruparézy s pravostrannou prevahou. Od marca do konca mája 2014 dostal tri cykly indukčnej chemoterapie (protokol COG ACNS0334). Dosiahol sa iba prechodné zlepšenie klinického stavu. V prestávke liečby sa objavili príznaky intrakraniálnej hypertenzie s potrebou zavedenia ventrikulo-peritoneálnej drenáže, vznikla porucha vedomia v zmysle soporu. Z vitálnej indikácie dostal rádioterapiu. Po podaní dvoch frakcií – boost na ložisko tumoru – pacient upadol do kómy, na MRI sa demarkovala metastáza v mieche v úrovni C3. CT vyšetrením sa zistilo obojstranné ložiskové postihnutie v pľúcnom parenchýme, podľa popisu rádiológa mali charakter metastáz (histologizácia ložísk nerealizovaná). Pacient zomrel v auguste 2014, šesť mesiacov od prvých príznakov ochorenia. **Záver:** Referovaním tejto kazuistiky sme dokumentovali prvý na Slovensku zaznamenaný prípad tumoru zo skupiny embryonálnych tumorov s mnohovrstvovými rozetami. V súčasnosti neexistuje účinná liečba týchto tumorov. Prísľubom do budúcnosti je výskum molekúl zacielených na epigenetické modifikátory.

Kľúčové slová

meduloepitelióm – ependymblastóm – embryonálne tumory s mnohovrstvovými rozetami – mikroRNA – 19q13.42 – C19MC – LIN28

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



MUDr. Marek Pleško
Klinika detskej hematológie
a onkológie
LF UK a DFNSP Bratislava
Limbová 1
833 40 Bratislava
Slovenská republika
e-mail: marekplesko@gmail.com

Obdržané/Submitted: 26. 5. 2015

Prijaté/Accepted: 24. 6. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2015288>

Summary

Introduction: The most recent findings show a histopathological, genetic and clinical uniformity in cases of tumors called embryonal tumors with multilayer rosettes. This group is composed of medulloepithelioma, ependymoblastoma and embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes. Amplification of locus 19q13.42, which includes *C19MC* cluster containing genes for microRNA, and also *LIN28A* positivity are present in all three entities. Dysregulation of epigenetic modifiers is very important in pathogenesis of the disease. These tumors manifest in little children (median less than 3 years of age); overall survival is 5–10%. **Case report:** Almost three year-old boy diagnosed with brainstem tumor: medulloepithelioma, WHO grade IV confirmed by histological investigation. He presented with dysarthria, bulbar syndrome, central lesion of the facial nerve, quadriplegia with right-side dominance. He received three induction cycles of chemotherapy from March to May 2014 (according to protocol COG ACNS0334). Only partial improvement of his clinical state was reached. Signs of an intracranial hypertension appeared resulting in VP shunt insertion; impairment of consciousness developed after the induction cycles and before any other treatment could be initiated. He underwent radiotherapy due to vital indication. After application of two fractions (boost in the center of the tumor), the patient became quickly comatose. Spinal cord metastasis was demarked by MRI scan (in the level of 3rd cervical vertebra). A bilateral infiltration in pulmonary parenchyma, according to a radiologist metastasis-wise, was detected by CT scan (histologisation of infiltration was not implemented). The patient died in August 2014 – six months after manifestation of first symptoms. **Conclusion:** We reported our first documented case of a patient with tumor from embryonal tumors with multilayer rosettes group in Slovakia. Nowadays, there is no effective treatment of these tumors. Research of molecules targeting to epigenetic modifiers would be one of the possible promises for future therapy.

Key words

medulloepithelioma – ependymoblastoma – embryonal tumors with multilayer rosettes – microRNA – 19q13.42 – *C19MC* – *LIN28*

Úvod

Embryonálne nádory sú najčastejšie malignity centrálneho nervového systému (CNS) u detí [1]. Podľa WHO klasifikácie z roku 2007 sa rozdeľujú do troch skupín – meduloblastóm, atypický teratoidný/rabdoidný tumor (AT/RT) a primitívny neuroektodermálny tumor (PNET). Skupina PNET sa ďalej člení do týchto piatich podskupín – PNET CNS, neuroblastóm CNS, ganglioneuroblastóm CNS, medulloepitelióm (MEPL), ependymoblastóm (EBL). V skupine PNET CNS je zaradený aj veľmi vzácny a agresívny typ tumoru – embryonálny tumor s abundantným neuropilom a pravými rozetami (embryonal tumour with abundant neuropil and true rosettes – ETANTR) [2]. Prvých deväť prípadov ETANTR popisali v roku 2000 Eberhart et al, pričom poukázali na unikátny imunohistochemický nález, ako aj histologickú a ultraštruktúrálnu skladbu tumoru [3]. Ďalší výskum ukázal, že ETANTR spolu s MEPL a EBL vykazujú zhodu v základných histopatologických črtách (predovšetkým prítomnosť mnohovrstvových roziet), ako aj v mimoriadne nepriaznivom klinickom priebehu ochorenia [4]. Všetky tri entity sa vyskytujú u detí v najnižšej vekovej kategórii (medián pod 3 roky), s mierou prevahou dievčat nad chlapcami [5]. Odpoveď na chemoterapiu a rádioterapiu je zlá, celkové prežívanie (overall sur-

vival – OS) je menej ako 5–10 %, medián prežívania je 6–9 mesiacov [6–8].

V roku 2009 Pfister et al a o niečo neskôr aj Li et al prvýkrát popisali zjednocujúci genetický marker – amplifikáciu *C19MC* klastra na lokuse 19q13.42, ktorý kóduje gény pre mikroRNA (miRNA) [9,10]. V roku 2012 Korshunov et al identifikovali ďalší vysoko špecifický imunohistochemický marker – *LIN28A* [11]. Na základe rozširujúcich sa poznatkov ešte v roku 2010 navrhli Paulus a Kleihues zlúčenie troch popisovaných tumorov do samostatnej skupiny, ktorú nazvali embryonálne tumory s mnohovrstvovými rozetami (ETMR) [12]. Presná incidencia ETMR nie je známa. Khatua et al vo svojej epidemiologickej štúdii z roku 2012 uviedli menej ako 75 hlásených prípadov [13]. V rámci práce publikovanej v roku 2014 Korshunov et al urobili molekulárnu analýzu 97 dostupných vzoriek tumorov zo skupiny ETMR [14].

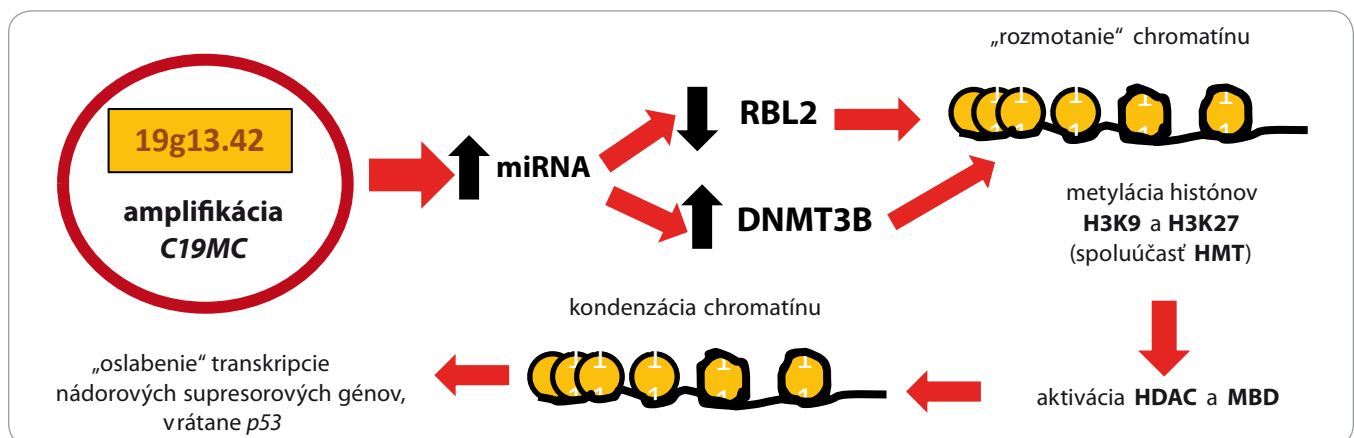
Biológia malignej transformácie ETMR

Maligná transformácia pri ETMR je determinovaná predovšetkým epigenetickými mechanizmami, a to metylovaním a deacetyláciou vybraných úsekov jadrového chromatinu, čo vedie k dysregulácii expresie kľúčových génov bunkového cyklu. Metylácia DNA je kritický moment vo vývoji ochorenia. Reakcia je

katalyzovaná tromi enzymaticky aktívnymi DNA-metyltransferázami (DNMT) – DNMT1, DNMT3A a DNMT3B [15]. Za normálnych okolností je najviac exprimovaná DNMT1. Následkom amplifikácie *C19MC* dochádza k epigenetickej remodelácii jadrového chromatinu, čo vedie k oslabeniu transkripcie niektorých nádorových supresorových génov, vrátane *p53* [16,17]. Podrobnosti tohto procesu zobrazuje obr. 1.

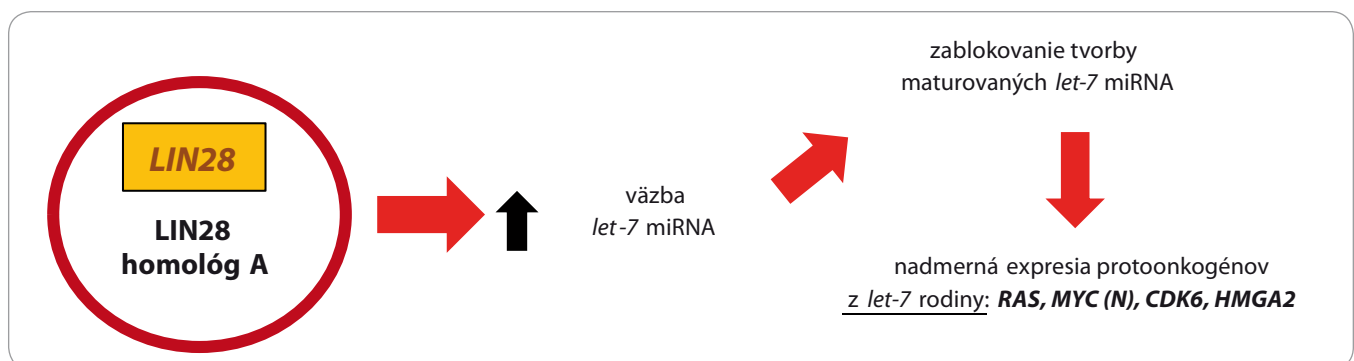
Gén *LIN28* kóduje proteín – *LIN28A*, ktorý podnecuje delenie buniek zvýšením transkripcie produktov protoonkogénov. Normálne tkanivá CNS, ako aj iné tkanivá organizmu, neexprimujú *LIN28A* [11]. Molekula je však prepisovaná počas včasnej embryogenézy a jej tvorba je utlmená po diferenciácii tkanív plodu. Okrem ETMR je nadexpresia *LIN28A* pozorovaná v klinicky nepriaznivo sa vyvíjajúcich prípadoch rakoviny ovárií, ezofágu, kolorekta, ale aj pri neuroblastómoch [18,19]. Strata regulačného systému spôsobená nadexpresiou *LIN28A* má za následok nadmernú expresiu protoonkogénov (podrobnejší popis na obr. 2), čo spoločne s vyblokováním nádorových supresorových génov amplifikáciou *C19MC* vedie k malignej transformácii buniek CNS v prípadoch ETMR.

Ďalšou skúmanou cestou malignizácie v prípadoch ETMR je dysregulácia sig-



Obr. 1. Malígna transformácia pri ETMR amplifikáciou C19MC.

Následkom amplifikácie C19MC dochádza k zvýšenej expresii miRNA, čo vedie k zníženiu prepisu génu *RBL2* (retinoblastoma like) a k nadexpresii génu pre DNMT3B. To má za následok metyláciu histónov H3K9 a H3K27, v spolupráci s histón-metyltransferázou (HMT). Následne sa odhaľuje MBD (methyl-CpG-binding domen) a aktivuje sa histón-deacetyláza (HDAC). Epigenetickou remodeláciou chromatinu dochádza k oslabeniu génovej expresie niektorých nádorových supresorových génov, vrátane *p53* [24].



Obr. 2. Malígna transformácia pri ETMR nadexpresiou LIN28.

Génový produkt *LIN28* v cytoplazme vyvážuje malé molekuly RNA z tzv. *let-7* miRNA rodiny (lethal), ktoré sa podieľajú na tumorovej supresii. Taktiež sa importuje do jadra, kde blokuje tvorbu maturovaných *let-7* miRNA, ktorých úlohou je regulácia prepisu protoonkogénov z *let-7* rodiny: *RAS*, *MYC (N)*, *CDK6* a *HMGA2*. Dysregulácia tejto dráhy má za následok nadmernú expresiu menovaných protoonkogénov [10,18].

nálnej cesty PI3K-mTOR, overuje sa tiež úloha WNT signálnej dráhy [9,20].

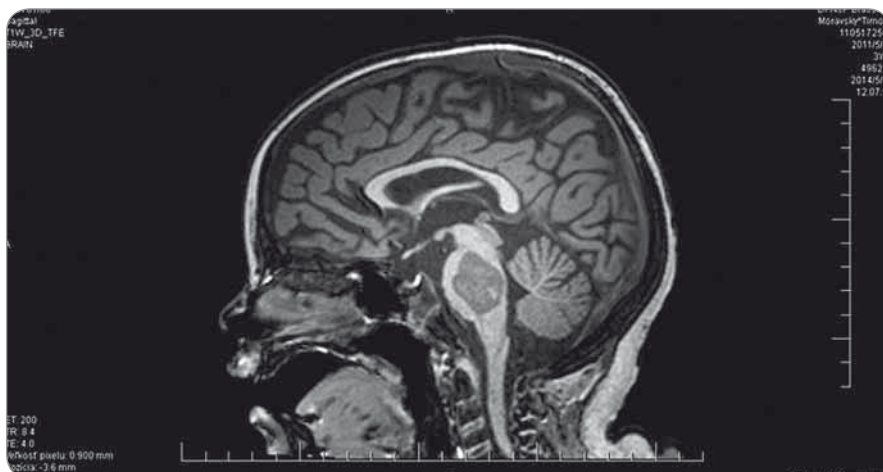
Kazuistika

Predstavujeme kazuistiku chlapca, ktorému bolo v čase diagnózy 2 a 3/4 roka. Dieťa bolo narodené z prvej fyziologickej gravidity, pôrod bol vedený sekciou pre panvovú polohu. Apgarovej skóre bolo 9/10/10, pôrodná hmotnosť 2 400 g, pôrodná dĺžka 52 cm. Popôrodná adaptácia, psychomotorický vývoj aj chorobnosť boli v norme. V rodinnej anamnéze je zaujímavý údaj o otcovom bratovi, ktorý ako trojročný exitoval pre tumor CNS (liečený iba rádioterapiou). Jednoznačný hereditárny súvis nie je doká-

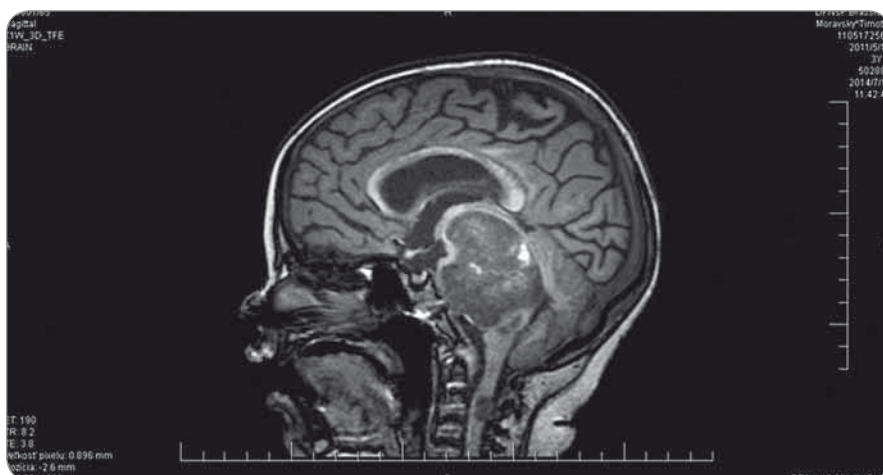
zateľný, nakoľko histológia tohto tumoru nie je k dispozícii.

Ťažkosti pacienta vznikli začiatkom februára 2014. Prejavili sa ako vertigo, poruchy rovnováhy, ataxia, únava, zmeny správania. Objektívne sa postupne rozvinula dyzartria, bulbárny syndróm, centrálna lézia n. V, kvadruparéza až plégia vpravo. Na iniciálnom MRI mozgu bol nález intrakraniálnej tumoróznej expanzie v ponse a mezencefale vľavo, bez hydrocefalu, veľkosť ložiska bola 3,2 × 2,6 × 3,6 cm. Na predoperačnom MRI bola popisovaná mierna progresia veľkosti na 3,7 × 2,9 × 3,6 cm. Parciálna extirpácia v zmysle rozšírenej biopsie bola vykonaná na Neurochirurgickej kli-

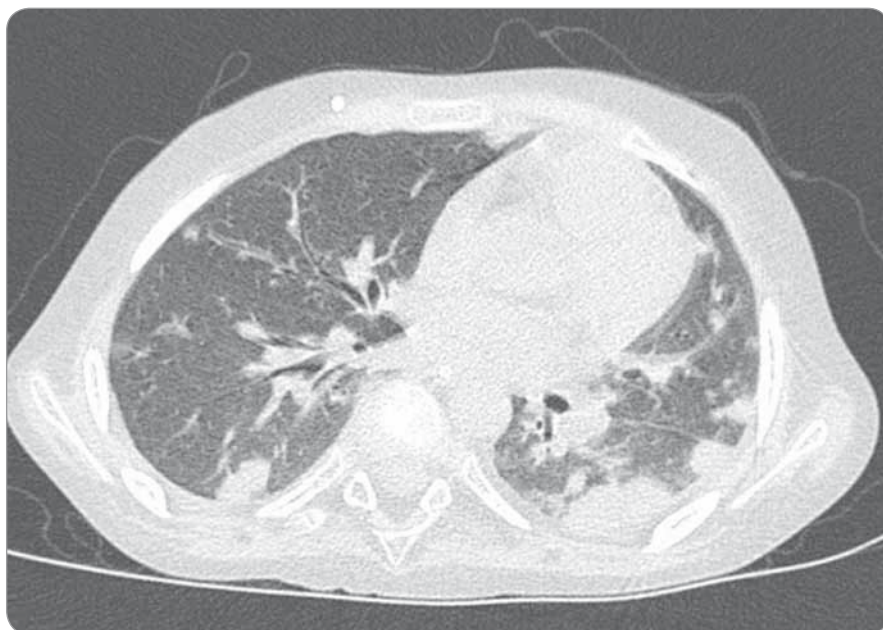
nike detí a dospelých vo FN v Motole, Praha. Bolo ponechané významné reziduum o veľkosti 3,3 × 2,8 × 3,2 cm. Histologicky sa zistil nezrelý embryonálny tumor zo skupiny PNET, mozgová varianta – meduloepitelióm WHO grade IV (diagnostika vykonaná v Neuropatologickom laboratóriu Ústavu patológie a molekulárnej medicíny, 2. LF UK v Prahe). V marci 2014 bol pacient prijatý na Kliniku detskej hematológie a onkológie v Detskej fakultnej nemocnici s poliklinikou v Bratislave. MRI spinálneho kanála vylúčilo metastatickú infiltráciu, vyšetrením likvoru a kostnej drene sa nenašli malígne bunky. Dostal chemoterapiu podľa protokolu



Obr. 3. Kontrolné MRI mozgu po ukončení indukčnej chemoterapie (30. 5. 2014).



Obr. 4. MRI realizované po podaní dvoch frakcií rádioterapie na ložisko nádoru (11. 7. 2014).



Obr. 5. Natívny CT snímok hrudníka (30. 7. 2014).

COG ACNS0334 (jedná sa o protokol kooperatívnej skupiny Children's Oncology Group (COG) pre liečbu supratentoriálneho PNET a vysokorizikového meduloblastómu u detí mladších ako 36 mesiacov). Podali sme tri indukčné cykly (úvodná 24-hodinová infúzia vysoko dávkovaného metotrexátu, potom pokračovanie radov cytostatík – etopozid, cyklofosamid, cisplatina, vinkristín). Postupne sa zlepšil subjektívny aj objektívny klinický stav, reč bola artikulovanejšia, vymizli známky bulbárneho syndrómu, pacient postupne začínal opäť chodiť, intenzívne rehabilitoval. Po skončení indukčnej chemoterapie bolo dňa 30. 5. 2014 urobené kontrolné MRI mozgu (obr. 3). Nález bol v porovnaní s pooperačným MRI popísaný ako stacionárny (rozmery tumoru: $3,3 \times 2,8 \times 3,2$ cm). V prestávke liečby, pred plánovanými konsolidačnými cyklami formou myeloablatívnej megachemoterapie s autológnym prevodom periférnych krvotvorných kmeňových buniek, nastalo promptné zhoršenie klinického stavu. Objavila sa nauzea, zvracanie, točenie hlavy, opätovne bola akcetovaná porucha reči, prehátnia, chôdze aj rovnováhy, pridala sa porucha vedomia manifestovaná somnolenciou až soporom. Na kontrolných CT snímkach mozgu sa zaznamenalo postupné rozširovanie komorového systému. Pacientovi bol zavedený VP-shunt, dostával antiedémovú liečbu, vrátane kortikoidov, s minimálnym efektom. Pre zhoršenie klinického stavu sme sa rozhodli z vitálnej indikácie predsunúť rádioterapiu pred konsolidačnú chemoterapiu. Naplánovalo sa ožiarenie 30,6 Gy boost na rezíduum tumoru a 23,4 Gy na kraniospinálnu os do celkovej dávky 54,0 Gy s konkomitantným podávaním temozolomidu. Po podaní dvoch frakcií na tumorózne ložisko pacient upadol do kómy. Na MRI z 11. 7. 2014 (obr. 4) sa popisovalo temer deväťnásobné zväčšenie objemu nádoru, s obrazom počínajúcej descendentnej herniácie a demarkovalo sa nové ložisko – metastáza v oblasti C3 miechy. Nález v mozgovom kmeni sme hodnotili ako quo ad vitam infaustný. Pacient ďalej dostával symptomatickú liečbu. Pre zvyšujúcu sa potrebu oxygenoterapie a úsilné dýchanie

sa 30. 7. 2014 urobilo CT vyšetrenie hrudníka s nálezom početného obojstranného ložiskového postihnutia pľúcneho parenchýmu, podľa popisu rádiológa charakteru metastáz (obr. 5). Histológiu pľúcnych ložísk sme nerealizovali. Preterminálne vznikli u pacienta centrálné horúčky, decerebračné kŕče, poruchy dýchania a srdcovej akcie. Zomrel 2. 8. 2014, šesť mesiacov od iniciálnych príznakov ochorenia.

Diskusia a záver

Referovaním tejto kazuistiky chceme prispieť k zvýšeniu povedomia o extrémne vzácnom type nádorového ochorenia u detí, upozorniť na jeho mimoriadne nepriaznivú prognózu a neexistenciu účinnej liečby. V deviatich prípadoch opísaných Eberhartom et al prežil iba jeden detský pacient, u ktorého bol tumor resekovaný úplne. Jeden pacient zomrel na recidívu tumoru po subtotalnej resekcii, iba sedem mesiacov od prvých príznakov. Ostatní zomreli v rozmedzí 5–14 mesiacov od objavenia sa iniciálnych ťažkostí [3]. Aj ďalšie literárne údaje zo zahraničia dokumentujú rovnako nepriaznivo sa vyvíjajúce prípady nádorov zo skupiny ETMR [5]. V súčasnosti sa skúma niekoľko cieľov novej terapie:

- **DNMT3B** – štúdie na bunkových líniách malígnych gliómov dokázali zníženie DNA metylácie a reaktiváciu *p53* pri použití cytidínových analógov: 5-azacytidín (5-AzaC) a 5-aza-2'-deoxycytidín [21].
- **HDAC** – zvažuje sa použitie inhibítora histón deacetylázy (HDAC) – vorinostat. Jeho synergický účinok s inhibítormi DNMT je známy [22].
- **Kyselina valproová (valproát)** – pôsobí ako inhibítora histón deacetylázy (HDAC), v kombinácii s 5-azacytidínom má synergický antikancerózný účinok *in vitro* aj *in vivo* [24].
- **mTOR a WNT** – ďalšie štúdie budú zamerané aj na použitie mTOR inhibíto-

rov (everolimus, temsirolimus, sirolimus) a inhibítorov WNT signálnej dráhy, ktorá reguluje kľúčové oblasti bunkovej diferenciácie a migrácie počas embryogenézy [9,23].

Doterajšie výsledky výskumov na bunkových líniách dávajú prísľub, že zacelenie terapie na epigenetické modifikátory môže priniesť požadovaný nový terapeutický prístup v liečbe tohto obzvlášť rezistentného nádorového ochorenia. Najväčšou výzvou do budúcnosti je realizácia predklinických štúdií zameraných na vyhodnotenie účinnosti a toxicity potencionálnych liečiv. Potreba týchto štúdií a ďalšieho bádania, je vzhľadom na charakter ochorenia, viac než urgentná [24,25].

Literatúra

1. Kaiserová E. Nádory centrálného nervového systému. In: Ondruš D et al (eds). Všeobecná a špeciálna onkológia. 1. vyd. Bratislava: Polygrafické stredisko UK 2006: 278–280.
2. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007; 114(2): 97–109.
3. Eberhart CG, Brat DJ, Cohen KJ et al. Pediatric neuroblastoma containing abundant neuropil and true rosettes. *Pediatr Dev Pathol* 2000; 3(4): 346–352.
4. Ryzhova MV, Kushel YV, Zheludkova OG et al. Medulloepithelioma, ependymoblastoma and embryonal tumor with multilayered rosettes: Are the Same Disease Entity? *N N Burdenko J Neurosurgery* 2013; 77(6): 45–48.
5. Ferrí Niguez B, Martínez-Lage JF, Almagro MJ et al. Embryonal tumor with neuropil and true rosettes (ETANTR): a new distinctive of pediatric PNET: a case-based update. *Childs Nerv Syst* 2010; 26(8): 1003–1008. doi: 10.1007/s00381-010-1179-x.
6. Adamek D, Sofowora KD, Cwiklinska M et al. Embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes: an autopsy case-based update and review of the literature. *Childs Nerv Syst* 2013; 29(5): 849–854. doi: 10.1007/s00381-013-2037-4.
7. Gessi M, Giangaspero F, Lauriola L et al. Embryonal tumors with abundant neuropil and true rosettes: a distinctive CNS primitive neuroectodermal tumor. *Am J Surg Pathol* 2009; 33(2): 211–217. doi: 10.1097/PAS.0b013e318186235b.
8. Woehrer A, Slavc J, Peyrl A et al. Embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes (ETANTR) with loss of morphological but retained genetic key features during progression. *Acta Neuropathol* 2011; 122(6): 787–790. doi: 10.1007/s00401-011-0903-2.
9. Li M, Lee KF, Lu Y et al. Frequent amplification of a chr19q13.41 microRNA polycistron in aggressive primitive neuroectodermal brain tumors. *Cancer Cell* 2009; 16(6): 533–546. doi: 10.1016/j.ccr.2009.10.025.
10. Pfister S, Remke M, Castoldi M et al. Novel genomic amplification targeting the microRNA cluster at 19q13.42 in a pediatric embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes. *Acta Neuropathol* 2009; 117(4): 457–464. doi: 10.1007/s00401-008-0467-y.
11. Korshunov A, Ryzhova M, Jones TW et al. LIN28A immunoreactivity is a potent diagnostic marker of embryonal tumor with multilayered rosettes (ETMR). *Acta Neuropathol* 2012; 124(6): 875–881. doi: 10.1007/s00401-012-1068-3.
12. Paulus W, Kleihues P. Genetic profiling of CNS tumors extends histological classification. *Acta Neuropathol* 2010; 120(2): 269–270. doi: 10.1007/s00401-010-0710-1.
13. Khatua S, Brown R, Pearlman M et al. ETANTR – tumor with undefined biology. *Neuro-Oncology* 2012; 14: 143–148.
14. Korshunov A, Sturm D, Ryzhova M et al. Embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes (ETANTR), ependymoblastoma, and medulloepithelioma share molecular similarity and comprise a single clinicopathological entity. *Acta Neuropathol* 2014; 128(2): 279–289. doi: 10.1007/s00401-013-1228-0.
15. Robertson KD. DNA methylation, methyltransferases, and cancer. *Oncogene* 2001; 20(24): 3139–3155.
16. Ioshikhes IP, Zhang MQ. Large-scale human promoter mapping using CpG islands. *Nat Genet* 2000; 26(1): 61–63.
17. Sukanuma T, Workman JL. Crosstalk among histone modifications. *Cell* 2008; 135(4): 604–607. doi: 10.1016/j.cell.2008.10.036.
18. Hamano R, Miyata H, Yamaki M et al. High expression of Lin28 is associated with tumour aggressiveness and poor prognosis of patients in oesophagus cancer. *Br J Cancer* 2012; 106(8): 1415–1423. doi: 10.1038/bjc.2012.90.
19. Molenaar JJ, Domingo-Fernandez R, Ebus ME et al. LIN28B induces neuroblastoma and enhances MYCN levels via let-7 suppression. *Nat Genet* 2012; 44(11): 1199–1206. doi: 10.1038/ng.2436.
20. Spence T, Perotti C, Sin-Chan P et al. A novel C19MC amplified cell line links LIN28/let7 to mTOR signaling in embryonal tumor with multilayered rosettes. *Neuro Oncol* 2014; 16(1): 62–71. doi: 10.1093/neuonc/not162.
21. Huang J, Chen K, Huang J et al. Regulation of the leucocyte chemoattractant receptor FPR in glioblastoma cells by cell differentiation. *Carcinogenesis* 2009; 30(2): 348–355. doi: 10.1093/carcin/bgn266.
22. Spence T, Sin-Chan P, Picard D et al. CNS-PNETS with C19MC amplification and/or LIN28 expression comprise a distinct histogenetic diagnostic and therapeutic entity. *Acta Neuropathol* 2014; 128(2): 291–303. doi: 10.1007/s00401-014-1291-1.
23. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathway. *Organogenesis* 2008; 4(2): 68–75.
24. Braithe F, Soriano AO, Garcia-Manero G et al. Phase I study of epigenetic modulation with 5-azacytidine and valproic acid in patients with advanced cancers. *Clin Cancer Res* 2008; 14(19): 6296–6301. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1247.
25. Sin-Cahn P, Huang A. DNMTs as potential therapeutic targets in high-risk pediatric embryonal brain tumors. *Expert Opin Ther Targets* 2014; 18(10): 1103–1107. doi: 10.1517/14728222.2014.938052.