

**Univerzita Karlova**  
**1. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**UNIVERZITA KARLOVA**  
**1. lékařská fakulta**

**Srovnání morfologie, exprese, epigenetických změn a mutací  
HNF1B v solidních nádorech a nenádorových lézích.**

Michaela Bártů

2021

**Doktorské studijní programy v biomedicině**

*Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky*

Obor: Zobrazovací metody v lékařství

Předseda oborové rady: doc. MUDr. Andrea Burgetová, Ph.D., MBA

Školící pracoviště: Ústav patologie 1. LF UK a VFN, Studničkova 2, Praha 2, 128 00

Školitel: prof. MUDr. Pavel Dunder, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

## OBSAH

---

1. ÚVOD .....	5
1.1. HNF1B sestříhové varianty .....	5
1.2. Germinální a somatické mutace <i>HNF1B</i> .....	6
1.3. Role HNF1B v tumorigenezi solidních nádorů .....	6
1.4. Imunohistochemická exprese HNF1B u vybraných solidních nádorů .....	6
1.4.1. Expres v karcinomech tlustého střeva .....	6
1.4.2. Expres v karcinomech ovária .....	6
1.4.3. Expres v nádorech ledvin .....	7
1.4.4. Expres v karcinomech prostaty .....	7
2. Vymezení cílů práce .....	8
3. Materiál a metody .....	9
3.1. Tkáně .....	9
3.1.1. Nádorová tkáň .....	9
3.1.1.1. Nádory tlustého střeva .....	9
3.1.1.2. Karcinomy ovária .....	9
3.1.1.3. Nádory ledvin .....	9
3.1.1.4. Karcinomy prostaty .....	9
3.1.2. Nenádorová tkáň .....	9
3.2. Imunohistochemické vyšetření .....	10
3.3 Biostatistické analýzy .....	10
3.4. Molekulárně biologické analýzy .....	10
3.4.1. Izolace nukleových kyselin a kontrola kvality .....	10
3.4.2. Příprava amplikonového NGS a sekvenace .....	10
3.4.3. Příprava panelové NGS a sekvenace .....	11
3.4.4. Biostatistická analýza získaných NGS dat .....	11
3.4.5. Analýza metylace <i>HNF1B</i> promotoru .....	11
3.4.6. Analýza mikrosatelitové instability .....	11
3.4.7. Shromáždění a analýza dat z The Cancer Genome Atlas databáze .....	11
4. Výsledky .....	12
4.1. Nádory tlustého střeva .....	12
4.1.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy .....	12
4.1.2. Mutační analýza .....	12
4.1.3. Metylační analýza .....	12

4.1.4. Analýza mikrosatelitové instability.....	12
4.2. Karcinomy ovária.....	12
4.2.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy .....	12
4.2.2. Mutační analýza .....	12
4.2.3. Metylační analýza .....	13
4.3. Nádory ledvin.....	13
4.3.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy .....	13
4.3.2. Mutační analýza .....	13
4.3.3. Metylační analýza .....	13
4.4. Nádorové a nenádorové léze prostaty .....	13
4.4.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy .....	13
4.4.2. Mutační analýza .....	13
4.4.3. Metylační analýza .....	14
5. Diskuze.....	15
6. ZÁVĚR.....	21
7. LITERATURA.....	22

## ABSTRAKT

### Úvod

HNF1B je tkáňově specifický transkripční faktor, který hraje zásadní roli v embryonálním vývoji celé řady orgánů, zejména ledvin, gastrointestinálního systému, pankreatu a žlučových cest. Zatímco význam HNF1B pro vznik vývojových malformací ledvin a dalších orgánů již byl poměrně dobře popsán, jeho uplatnění v patogenezi solidních nádorů dosud nebylo objasněno. Dle dostupných dat se ukazuje, že HNF1B se v závislosti na různých typech nádorů pravděpodobně může na procesu karcinogeneze podílet buď jako onkogen, nebo jako tumorsupresor. Přesný mechanismus, jakým tuto svoji roli uplatňuje, ovšem není jasný.

### Cíle:

Práce je zaměřená na prohloubení znalostí o významu změn HNF1B u vybraných solidních nádorů i nenádorových lézí. Jednotlivé cíle zahrnují: 1) objasnění role, kterou HNF1B hraje v patogenezi těchto lézí, 2) zhodnocení možného významu HNF1B pro diferenciální diagnostiku jednotlivých lézí, 3) analýzu možného prognostického a prediktivního významu HNF1B, 4) mutační analýzu genu *HNF1B* u všech nádorových i nenádorových tkání s cílem identifikovat dosud nepopsané somatické patogenní mutace, 5) metylační analýzu promotoru genu *HNF1B*.

### Materiál a metody:

Imunohistochemické vyšetření s protilátkou proti HNF1B bylo provedeno u celkem 516 vzorků nádorové a nenádorové tkáně. Mutační analýzy zahrnovaly amplikonové sekvenování nové generace či panelové sekvenování a byly úspěšně provedeny u 400 vzorků. Analýza metylačního stavu promotoru genu HNF1B byla provedena u 321 vzorků. Naše data byla také porovnána s daty dostupnými z The Cancer Genome Atlas.

### Výsledky:

1) U adenomů tlustého střeva je exprese HNF1B signifikantně vyšší než u karcinomů. 2) Nízká exprese HNF1B u karcinomů tlustého střeva korelovala s rekurencí a se zkráceným DFS. 3) Mezi všemi 4 analyzovanými typy nádorů ledvin byly výrazné rozdíly v rozsahu exprese HNF1B a její intenzity. 4) U světlobuněčného karcinomu ledviny (ccRCC) byla nejvyšší exprese u nádorů s grade 1 a klesala s rostoucím gradem. 5) U high grade serózního karcinomu ovária (HGSC) je exprese HNF1B obecně nízká a vyšší exprese byla asociovaná s lymfovaskulární invazí. 6) Metylace promotoru byla u karcinomu prostaty spojená s karcinomy vyššího T stádia a s vyšším dosaženým Gleasonovým skóre. 7) Celkem jsme našli 5 variant genu *HNF1B* třídy 3-5: 3 u kolorektálního karcinomu, 1 u HGSC, 1 u karcinomu prostaty.

### Závěr:

V rámci diferenciální diagnostiky je na IHC úrovni hlavní význam hodnocení exprese HNF1B u nádorů ledvin, zejména v oblasti odlišení chRCC od renálního onkocytomu. Další využití je u nádorů ženského genitálu, nicméně poměrně vysoké procento exprese u HGSC v našem souboru význam HNF1B v této indikaci limituje. Z prognostického hlediska měla IHC exprese HNF1B význam zejména u kolorektálního karcinomu, kde snížená exprese korelovala s recidivou a byla spojená s horší prognózou. S ohledem na význam HNF1B v patogenezi nádorů naše výsledky ukázaly, že u kolorektálního karcinomu, HGSC ovária, karcinomu prostaty, ccRCC a chRCC ledviny by se HNF1B mohl chovat jako tumorsupresor, zatímco u papilárního karcinomu ledviny spíše jako protoonkogen. Část práce věnovaná epigenetickým alteracím má význam zejména u HGSC, kde byla potvrzená poměrně vysoká úroveň metylace, což v souladu s literaturou naznačuje, že by metylace mohla představovat slibný marker pro časnou detekci HGSC.

## SUMMARY

### Introduction

HNF1B is a tissue-specific transcription factor, which plays a crucial role in the embryological development of a number of organs, especially kidneys, gastrointestinal system, pancreas and biliary system. While the significance of HNF1B in the development of urinary tract malformations has already been well described, its role in the pathogenesis of solid tumors has not yet been elucidated. Based on the current data it seems that depending on the type of individual tumor HNF1B can either act as an oncogene or a tumor suppressor. However, the precise mechanism of how it exerts its influence is still unclear.

### Aims:

The thesis focuses on expanding the knowledge of the significance of HNF1B changes in selected solid tumors and non-neoplastic lesions. The individual goals include: 1) determining the role which HNF1B plays in the pathogenesis of these lesions, 2) evaluating the significance of HNF1B for differential diagnosis, 3) analysis of the prognostic and predictive meaning of HNF1B, 4) mutation analysis of the *HNF1B* gene in all the tumor and non-tumor tissues with the aim to identify novel pathogenic mutations, 5) methylation analysis of the *HNF1B* promoter.

### Material and methods:

Immunohistochemical examination with the antibody against HNF1B was performed on 516 samples of tumor and non-tumor tissues. The mutation analyses included new generation amplicon sequencing or capture-based sequencing and were successfully performed on 400 samples. The mutation analysis was performed on 321 samples. Our data was also compared to the data available from The Cancer Genome Atlas.

### Results:

1) The expression of HNF1B is significantly higher in colon adenomas than in carcinomas. 2) Low expression of HNF1B in colorectal carcinomas correlated with recurrence and shorter DFS. 3) There were significant differences in HNF1B expression across all 4 groups of renal tumors. 4) The highest expression of HNF1B in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) was observed in grade 1 tumors and was decreased with increasing grade. 5) In high grade serous carcinoma (HGSC) of the ovary the expression of HNF1B is generally low and higher expression was associated with lymphovascular invasion. 6) In prostate carcinoma, promoter methylation was associated with tumors of higher T stage and higher Gleason score. 7) 5 variants of *HNF1B* gene class 3-5 were found: 3 in colorectal carcinoma, 1 in HGSC and 1 in prostate carcinoma.

### Conclusion:

Concerning differential diagnosis, the main significance of IHC expression of HNF1B could be in the tumors of the kidney, especially when differentiating between chRCC and renal oncocytoma. Another use could be in the tumors of the female genital system, however, the rather high percentage of expression found in our group of HGSCs may limit its use in this area. From the prognostic point of view the expression of HNF1B was significant especially in colorectal carcinoma, where decreased expression correlated with recurrence and worse prognosis. When considering the involvement of HNF1B in the pathogenesis of tumors, our data showed that in colorectal carcinoma, HGSC of the ovary, prostate carcinoma, ccRCC and chRCC HNF1B may act as a tumor suppressor, while in papRCC it could work as a protooncogene. The part of our work dealing with epigenetic alterations is significant especially for HGSC, where the confirmed high levels of methylation (in accordance with literature) suggest that methylation could represent a promising marker for early detection of HGSC.

## 1. ÚVOD

---

Hepatocytární jaderný faktor 1 beta (HNF1B) je transkripční faktor, který hraje klíčovou roli během ontogenetického vývoje, kdy se podílí na regulaci diferenciaci viscerálního endodermu z primitivního endodermu (Cereghini 1996; Barbacci *et al.* 2004). *HNF1B* patří do genové superrodiny kódující transkripční faktory obsahující homeodoménu a kóduje transkripční faktor Pit-1/Oct-1/Unc-86 (POU), který je zásadní pro regulaci signálních drah účastnících se řízení endodermálního vývoje (Alvelos *et al.* 2015). Ačkoliv byl tento faktor popsán poprvé v hepatocytech (což vedlo k pojmenování celé této rodiny), jeho nejvýznamnější působení spočívá ve vývoji a diferenciaci zejména ledvin, pankreatu a biliárního traktu. U dospělých jedinců je proto exprese HNF1B pozorována především v epiteliálních tkáních vytvářejících tubulární formace, jako jsou například právě kanálky ledvin, pankreatické vývody, tenké a tlusté střevo, žaludek a játra, ale i plíce, prostata a varlata (Yu *et al.* 2015a). Kromě buněčné diferenciaci se HNF1B účastní také regulace exprese řady genů podílejících se na modulaci buněčného cyklu, citlivosti k apoptóze, odpovědi na oxidační stres a na řízení glukózového metabolismu (Pontoglio 2000; Tsuchiya *et al.* 2003; Suzuki *et al.* 2015).

Vzhledem k tomu, že exprese HNF1B souvisí zejména s embryonálním vývojem ledvin, pankreatu, biliárního traktu, jater a reprodukčního systému, germinální mutace v tomto genu jsou spojované s celou řadou vrozených vývojových onemocnění těchto orgánů.

V posledních letech se také objevuje narůstající počet důkazů o tom, že by HNF1B mohl být součástí patogeneze některých solidních nádorů. Jeho role je diskutována zejména v souvislosti se vznikem a progresí světlobuněčných karcinomů ovária a ledvin, ale i v souvislosti s nádory jater, gastrointestinálního traktu, pankreatu a prostaty. Navzdory narůstajícímu zájmu o tento aspekt jeho působení jsou ale informace o možných somatických mutacích genu *HNF1B* přítomných v jednotlivých typech nádorů stále vzácné. Oblastí, které je v literatuře věnován větší prostor, je problematika jednonukleotidových polymorfismů (SNP) v nekódujících intronických sekvencích tohoto genu. Pro *HNF1B* tak již bylo popsáno několik SNPs, které jsou spojovány se zvýšeným rizikem vývoje karcinomu ledvin (Rebouissou *et al.* 2005), karcinomu endometria (Setiawan *et al.* 2012; Painter *et al.* 2015), karcinomu prostaty (Berndt *et al.* 2011; Hindorff *et al.* 2011) a karcinomu pankreatu (Janky *et al.* 2016). Pro jiné maligní nádory, jako je například karcinom tlustého střeva, tento vztah zatím potvrzen nebyl (Elliott *et al.* 2010). U některých nádorů je také vyzdvihován vliv epigenetických alterací genu *HNF1B*, a to zejména epigenetické inaktivace tohoto genu.

Přesný mechanismus, jakým se *HNF1B* účastní procesu karcinogeneze, nebyl ještě objasněn a je pravděpodobné, že se liší v závislosti na konkrétním nádorovém onemocnění. Velmi zajímavé jsou dosavadní poznatky, které naznačují, že v závislosti na typu tkáně a nádoru by *HNF1B* mohl působit buď jako tumorsupresorový gen nebo jako protoonkogen. Jak přesně je ale konkrétní vliv uplatňován nicméně ještě nebylo objasněno.

### 1.1. HNF1B sestřihové varianty

Aktuálně dostupná literární data neposkytují zcela jasné informace o celkovém počtu a charakteristice jednotlivých izoform genu *HNF1B*. Data publikovaná v databázích NCBI a Ensemble uvádí, že *HNF1B* má celkem tři plně charakterizované izoformy: divokou (wild type) variantu 1 a další dvě alternativní sestřihové varianty; variantu 2 a 3. Přesná charakteristika existujících izoform proteinu HNF1B v různých lézích není v literatuře popsána, a výsledky dostupných publikovaných studií i data publikovaná v molekulárně genetických databázích neposkytují jednoznačné informace.

## 1.2. Germinální a somatické mutace *HNF1B*

Bezchybná funkce *HNF1B* je nezbytná pro aktivaci segment-specifického genového programu, který je klíčový pro správný vývoj a funkci nefronů (Banyai *et al.* 2018). Heterozygotní germinální mutace genu *HNF1B* jsou nejčastější monogenní příčinou vývojových onemocnění ledvin a jako takové jsou spojovány s celou škálou renálních malformací, které u postižených jedinců vedou k chronické poruše renálních funkcí, jež ústí v chronické renální selhání (Clissold *et al.* 2015; Clissold *et al.* 2018; Okorn *et al.* 2019; Omura *et al.* 2019).

Zatímco v odborné literatuře bylo do současnosti popsáno více než 100 jednotlivých germinálních mutací, problematika somatických mutací a jejich asociace se vznikem nádorových onemocnění je mnohem méně prozkoumaná. Jediné dostupné poznatky v této oblasti reprezentuje několik publikovaných kazuistik popisujících případy chromofobního renálního karcinomu spojeného s kombinovanou monoalelickou germinální a somatickou mutací v genu *HNF1B* (Lebrun *et al.* 2005; Rebouissou *et al.* 2005; Clissold *et al.* 2015; Bockenbauer & Jaureguiberry 2016; Verhave *et al.* 2016).

S výjimkou těchto několika vzácných případů zatím v literatuře prakticky neexistují žádná data, která by se zabývala somatickými variantami v kódující sekvenci genu *HNF1B* u různých typů solidních nádorů (včetně karcinomu prostaty, ledvin a tlustého střeva). Naprostá většina publikovaných studií v této oblasti se zaměřuje na analýzu intronických sekvencí a potenciálně významné SNPs.

## 1.3. Role *HNF1B* v tumorigenezi solidních nádorů

Na základě rešerše dostupných literárních poznatků je zřejmé, že genetické a epigenetické změny *HNF1B* hrají v tumorigenezi solidních nádorů velmi pleiotropní roli, která se liší v závislosti na histogenezi daného nádoru. Jak již zde bylo uvedeno, *HNF1B* je v literatuře spojován u různých solidních nádorů jak s protoonkogenním, tak s tumorsupresorovým efektem. U hepatocelulárního karcinomu (Shim *et al.* 2013; Yu *et al.* 2015b), karcinomu prostaty (Noto *et al.* 2010), karcinomu ze žloutkového váčku (Rougemont & Tille 2018), maligního gliomu (Zheng *et al.* 2017) a světlobuněčného karcinomu ovária (Li *et al.* 2014) byla v několika studiích pozitivní exprese *HNF1B* asociována s horší prognózou onemocnění a *HNF1B* je tak u těchto onemocnění přisuzována role protoonkogenu. Naopak, v případě ductálního adenokarcinomu pankreatu (Janky *et al.* 2016), Wilmsova tumoru ledvin a chromofobního renálního karcinomu (Lebrun *et al.* 2005; Liu *et al.* 2019) výsledky poukazují spíše na tumorsupresorový efekt *HNF1B*.

## 1.4. Imunohistochemická exprese *HNF1B* u vybraných solidních nádorů

### 1.4.1. Exprese v karcinomech tlustého střeva

Imunohistochemická exprese *HNF1B* u karcinomů tlustého střeva dosud nebyla v literatuře popsána, takže charakteristika expresního profilu těchto lézí není dostupná. Možný význam využití IHC exprese *HNF1B*, zejména s ohledem na možnou prognostickou stratifikaci pacientů, tak zatím není jasný. Stejně tak dosud nebylo popsáno, jakým způsobem by se *HNF1B* mohl podílet na patogenezi kolorektálního karcinomu, ačkoliv jeho význam z hlediska embryonálního vývoje v této oblasti je nesporný.

### 1.4.2. Exprese v karcinomech ovária

Vzhledem k popisované asociaci exprese *HNF1B* se světlobuněčným fenotypem nádorů byla jeho exprese u karcinomů ovária již studována v řadě prací, které se soustředily především na charakteristiku exprese u světlobuněčného karcinomu. Silně intenzivní exprese je zde udávána do té míry, že *HNF1B* byl již v roce 2003 označený jako první relativně specifický diagnostický IHC marker OCCC (Tsuchiya *et al.* 2003).



Expresse HNF1B byla ale také popsána i u určitého procenta endometroidních karcinomů a mucinózních karcinomů (Huang *et al.* 2016). Expresse u ostatních typů nádorů je ovšem popisovaná jen jako fokální a slabě (či nejvýše středně) intenzivní, zatímco pro OCCC je typická silná difúzní expresse.

#### **1.4.3. Expresse v nádorech ledvin**

HNF1B se zásadním způsobem podílí na správném vývoji renálního tubulárního systému a charakteristika jeho exprese u různých typů nádorů tak má velký význam. Imunohistochemickou analýzou na jedné z nejšířších skupin nádorů ledvin se zabývali Szponar *et al.*, jejichž výsledky popisují silnou difúzní jadernou expresi u 38/67 (56 %) papRCC, 5/5 (100 %) MA, 5/5 (100 %) MTSCC, a u prekurzorových lézí (nefrogenních hnízd) (Szponar *et al.* 2011). Naopak nízká expresse HNF1B byla pozorována u renálních onkocytomů (které vykazovaly jen izolovanou pozitivitu v 1/18 případů), chRCC (které byly zcela negativní) a překvapivě také u ccRCC, který vykazoval jen ojedinělou jadernou pozitivitu u 7/98 (7 %) případů. V případě světlobuněčného karcinomu ledvin je tento výsledek ovšem ojedinělý, neboť většina jiných autorů naopak udává, že pro ccRCC je naprosto typická silná, difúzní expresse HNF1B (Buchner *et al.* 2010; Wang *et al.* 2013).

#### **1.4.4. Expresse v karcinomech prostaty**

Imunohistochemická expresse HNF1B u karcinomu prostaty je prozatím v literatuře popisována velmi sporadicky – na základě extenzivní analýzy byla identifikována pouze jedna studie, která byla na expresi HNF1B u karcinomu prostaty cíleně zaměřená (Debiais-Delpech *et al.* 2014). Jejich výsledky ukázaly, že expresse HNF1B byla významně spojená s proliferací nádorových buněk.

## 2. VYMEZENÍ CÍLŮ PRÁCE

---

Hlavním cílem této práce je komplexní analýza změn *HNF1B* a jejich vlivu u vybraných solidních nádorů na imunohistochemické i molekulárně biologické úrovni. Imunohistochemická analýza exprese *HNF1B* je zaměřena především na charakteristiku přítomnosti a typu exprese v jednotlivých studovaných lézích, a dále na možné využití této exprese s ohledem na diferenciální diagnostiku či ovlivnění prognózy některých histologických typů nádorů. Pro všechny výsledky IHC analýz byla také provedena biostatistická analýza s cílem stanovit, zda je mezi expresí *HNF1B* (a jejími změnami) a vybranými klinicko-patologickými charakteristikami nádorů významný vztah. V rámci biostatistických analýz byly provedeny i analýzy přežití a stanovení prognostického významu *HNF1B*. Dalším studovaným aspektem je i možné využití exprese *HNF1B* jako prediktivního markeru s ohledem na možné budoucí terapeutické využití. Analýza genetických a epigenetických změn má význam zejména z hlediska přispění k porozumění, jakou roli hraje *HNF1B* v patogenezi vybraných solidních nádorů. Posouzení těchto změn má význam zejména jako důležitá informace pro možnou budoucí cílenou terapii.

Jednotlivé hlavní cíle práce tedy byly následující:

1. Analýza exprese *HNF1B* na imunohistochemické úrovni u benigních a maligních nádorů tlustého střeva, nádorů ledvin, nádorů ovária, a nádorových a nenádorových lézí prostaty. Charakteristika rozsahu a intenzity exprese a její korelace s klinicko-patologickými charakteristikami nádorů. Zhodnocení možného využití *HNF1B* v rutinní praxi v rámci diferenciální diagnostiky a jako prognostického markeru.
2. Mutační analýza genu *HNF1B* u všech vybraných nádorových i nenádorových tkání s cílem identifikovat dosud nepopsané somatické patogenní mutace. Posouzení vlivu vybraných jednonukleotidových polymorfismů *HNF1B* na prognózu studovaných maligních nádorů.
3. Metylační analýza genu *HNF1B* za účelem zhodnocení, jakou roli hraje metylace ve změnách exprese *HNF1B* ve studovaných lézích. Stanovení korelace metylace genu *HNF1B* s proteinovou expresí *HNF1B* (stanovenou imunohistochemicky).
4. Využití získaných výsledků k posouzení, jakou roli hraje *HNF1B* v patogenezi vybraných solidních nádorů.

### **3. MATERIÁL A METODY**

---

#### **3.1. Tkáň**

Všechny analýzy byly provedeny na vzorcích tkáně vyšetřovaných na Ústavu patologie 1. LF UK a VFN. IHC analýzy byly provedeny na archivních tkáňových bločcích po předchozí fixaci tkáně v 10% roztoku formolu a následném zalití tkáně do parafinu (FFPE). U všech případů, kde bylo k dispozici dostatečné množství reprezentativní tkáně byla pro IHC analýzy použita metoda tkáňových mikročipů (TMA). Pro potřeby molekulárních analýz byly preferenčně využity zmražené tkáňové vzorky deponované v Bance biologického materiálu (BBM) 1. lékařské fakulty Karlovy univerzity v Praze na našem pracovišti.

Imunohistochemicky bylo celkem analyzováno 516 vzorků nádorové a nenádorové tkáně. Mutační analýzy byly úspěšně provedeny u celkem 400 vzorků a analýza metylačního stavu promotoru genu HNF1B u 321 vzorků.

##### **3.1.1. Nádorová tkáň**

Vyšetřeno bylo celkem 498 vzorků nádorové tkáně. Mutační analýzy byly úspěšně provedeny u 284 vzorků, metylační analýzy u 266 vzorků. Nádorová tkáň zahrnovala nádory tlustého střeva, nádory ledvin, karcinomy prostaty a karcinomy ovárií.

###### **3.1.1.1. Nádory tlustého střeva**

Celkem bylo analyzováno 145 nádorů tlustého střeva (105 kolorektálních karcinomů a 40 adenomů). Skupinu adenomů tvořilo celkem 20 adenomů s low grade (LG) dysplastickými změnami epitelu a 20 adenomů s high grade (HG) dysplastickými změnami.

###### **3.1.1.2. Karcinomy ovária**

Celkem jsme vyšetřili 122 high grade serózních karcinomů (HGSC) ovária. Ve vyšetřovaném souboru byly zastoupené karcinomy všech čtyř FIGO stádií.

###### **3.1.1.3. Nádory ledvin**

Celkem jsme vyšetřili 130 nádorů ledvin, mezi které patřilo 121 různých typů karcinomů a 9 benigních nádorů. Spektrum vyšetřených nádorů zahrnovalo:

- 1) světlobuněčný renální karcinom - ccRCC (celkem 93 případů)
- 2) papilární renální karcinom – papRCC (celkem 17 případů)
- 3) chromofobní renální karcinom – chRCC (celkem 11 případů)
- 4) renální onkocytom - RO (celkem 9 případů)

###### **3.1.1.4. Karcinomy prostaty**

Celkem bylo vyšetřeno 101 případů acinárního adenokarcinomu prostaty.

#### **3.1.2. Nenádorová tkáň**

Pro potřeby imunohistochemických či molekulárně genetických vyšetření jsme dále vyšetřili celkem 257 vzorků zahrnujících normální tkáň a nenádorové léze. Tyto vzorky zahrnovaly:

- 1) 87 vzorků nenádorové tkáně tlustého střeva (pro molekulárně genetické analýzy)
- 2) 42 vzorků nenádorové tkáně ledviny (pro molekulárně genetické analýzy)
- 3) 18 vzorků benigní hyperplázie prostaty (pro imunohistochemické vyšetření a molekulárně genetické analýzy)
- 4) 61 vzorků nenádorové tkáně ovária (pro molekulárně genetické analýzy)
- 5) 49 vzorků nenádorové tkáně prostaty (pro molekulárně genetické analýzy)

### 3.2. Imunohistochemické vyšetření

IHC analýzy byly provedeny na celotkáňových řezech či TMA s využitím standardních řezů z FFPE bloků o tloušťce 4  $\mu\text{m}$ , které byly nabarveny králičí polyklonální protilátkou proti HNF1B (ředění 1:500, produktové číslo HPA002083, Sigma-Aldrich, Prestige Antibodies, St. Louis, Spojené státy americké) pomocí automatizovaného barvicího přístroje Ventana BenchMark ULTRA (Roche, Basilej, Švýcarsko). Detekce primární protilátky byla vizualizována prostřednictvím IHC detekčního kitu OptiView DAB (Ventana, Roche). Pouze jaderné zbarvení bylo hodnoceno jako pozitivní. Výsledky imunohistochemické analýzy byly hodnoceny na úrovni celkového procenta pozitivních buněk (v rozmezí 0 – 100 %) a zároveň také semikvantitativně, s využitím hodnocení prostřednictvím H-skóre (Specht *et al.* 2015).

### 3.3 Biostatistické analýzy

Všechny statistické analýzy byly provedeny s využitím softwaru Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, Spojené státy americké). Ověření normality dat bylo provedeno pomocí Shapiro-Wilkova testu. Vzhledem k nenormální distribuci dat byly pro další analýzy zvoleny neparametrické metody testování. Jednotlivé provedené testy zahrnují neparametrický ANOVA test, Mann-Whitney U-test, Kruskal-Wallis H-test, Pearsonův chí-kvadrát test, Fisherův exaktní test a Pearsonův korelační koeficient. Pro výpočet analýzy přežití byly použity neparametrické metody odhadu funkce přežití, konkrétně Kaplan-Meierův model s implementovaným log-rank testem. Všechny testy byly oboustranné a za signifikantní byly považovány hodnoty  $p < 0.05$ .

### 3.4. Molekulárně biologické analýzy

Provedené molekulárně biologické analýzy zahrnovaly:

1. mutační analýzu všech kódujících oblastí *HNF1B* (exony 1 – 9, RefSeq NM\_000458.2) s přilehlými intronovými sekvencemi ( $\pm 15$  párů bází, bp) a hlubokými intronovými sekvencemi obsahujícími vybrané jednonukleotidové polymorfismy (rs7527210 a rs4430796 v případě nádorů tlustého střeva, ledvin a prostaty, které byly v případě karcinomů ovária doplněny ještě o rs7405776)
2. epigenetickou analýzu metylace CpG ostrůvků v oblasti *HNF1B* promotoru

Za účelem provedení *HNF1B* mutační analýzy byla využita buď námi navržená dvou kroková polymerázová řetězová reakce (PCR) a amplikonové sekvenování nové generace (NGS), nebo panelová NGS (v závislosti na dostupném materiálu, na kterém byly analýzy provedeny).

#### 3.4.1. Izolace nukleových kyselin a kontrola kvality

V případě použití FT vzorků byly analyzované tkáně nejprve rozmrazeny. Následně bylo 10 – 30 mg dané tkáně homogenizováno a využito k izolaci DNA. V případě využití tkáňových řezů z archivních FFPE bloků byla DNA získána z 5 – 10 tkáňových řezů (o tloušťce 4 – 5  $\mu\text{m}$ ) a izolována s využitím automatického izolátoru MagCore® nucleic Acid Extractor, pomocí MagCore Genomic DNA FFPE One-step kitu, Ref MGF-03 (RBC Bioscience). Výsledná izolovaná DNA byla poté kvantifikována, podrobena kontrole kvality amplifikační účinnosti a pouze ty vzorky, které dosáhly požadovaných kritérií kvality ( $C_p < 35$  na 180 bp produktu amplifikace) byly využity pro další analýzy.

#### 3.4.2. Příprava amplikonového NGS a sekvenace

Za účelem provedení námi navržené dvou krokové amplikonové PCR bylo sestaveno 15 párů primerů s univerzálními adaptorovými sekvencemi. Po dokončení obou PCR kroků byla stanovena koncentrace výsledných PCR produktů s využitím Qubit fluorimetru (Thermo Fisher) a tyto produkty byly ekvimolárně smíchány do jedné sekvenační knihovny. Výsledná

amplikonová knihovna byla poté sekvenována pomocí MiSeq 300 cycles v2 kitu nebo NextSeq 300 cycles mid output kitu v2.5 společně s dalšími (panelovými) knihovnami za účelem zvýšení sekvenační heterogenity.

### 3.4.3. Příprava panelové NGS a sekvenace

Tato metoda byla využita pro DNA získanou z FFPE tkáňových bloků o nižší kvalitě a je založená na principu obohacení prostřednictvím vychytávání cílových oblastí pomocí hybridizačních sond. Cílové genové sekvence byly obohaceny s využitím panelu na zakázku zhotovených SeqCap hybridizačních sond proti vícečetným cílům (257kbp panel cílových genů, NimbleGen, Roche). Samotná sekvenace byla provedena dle postupu detailně popsáno v jedné z našich dřívějších prací (Ticha *et al.* 2019).

### 3.4.4. Biostatistická analýza získaných NGS dat

Základní nezpracovaná data získaná z amplikonového a panelového sekvenování byla demultiplexována, převedena do .fastq formátu a dále analyzována za pomoci NextGEN (Softgenetics) softwaru s využitím stejného základního postupu, který jsme popsali dříve (Ticha *et al.* 2019). Pro potřeby mapování čtení byl použit genom GRCh37 a referenční transkript NM\_000458.2. Identifikované varianty byly manuálně prozkoumány pomocí IGV prohlížeče (Broad Institute) za účelem eliminace falešně pozitivních variant, a následně prioritizovány v závislosti na vlivu identifikované mutace. Pouze varianty třídy 3 (varianta neznámého významu), 4 (varianta pravděpodobně patogenní) a 5 (varianta patogenní) jsou uvedeny ve výsledcích níže.

### 3.4.5. Analýza metylace *HNF1B* promotoru

Prvním krokem v rámci analýzy metylace byla bisulfitová konverze DNA. Metylované i nemetylované alely podstoupily PCR amplifikaci s využitím primerů, jež byly navrženy prostřednictvím Methprimer softwaru. Následovala PCR amplifikace promotorové oblasti *HNF1B*, která obsahuje také CpG ostrůvek chr17:36105517–36105518, GRCh37, jehož metylace je v literatuře spojena se sníženou expresí *HNF1B* (Shen *et al.* 2013). Po dokončení amplifikace byla provedena analýza křivek tání (melting curve analysis) s použitím nástroje LightCycler 480 II (Roche). Jednotlivé křivky tání analyzovaných vzorků byly analyzovány pomocí LightCycler 480 II Softwaru a poté porovnány s křivkami tání kontrolních směsí (Wojdacz *et al.* 2008).

### 3.4.6. Analýza mikrosatelitové instability

Fragmentační analýza mikrosatelitové instability byla doplněna u skupiny kolorektálních karcinomů v případech, kde bylo k dispozici dostatečné množství nádorové tkáně. Analýza byla provedena pomocí analyzáru ABI 3500 (ThermoFisher) s využitím následujícího souboru pěti kvasimonomorfních mononukleotidových mikrosatelitových markerů: BAT-26, BAT-25, NR-21, NR-22, a NR-24 (Suraweera *et al.* 2002).

### 3.4.7. Shromáždění a analýza dat z The Cancer Genome Atlas databáze

V rámci víceúrovňové komplexní analýzy *HNF1B* jsme v relevantních případech provedli také srovnání našich výsledků s daty získanými z TCGA databáze. TCGA data byla stažena prostřednictvím cBioPortal ([www.cbioportal.org](http://www.cbioportal.org); TCGA) a zahrnovala především údaje o metylačním stavu CpG ostrůvků, ale také o expresi *HNF1B* na úrovni mRNA, a také vybraná klinicko-patologická data jednotlivých nádorů (rasa, T/N/M stádium, klinické stádium onemocnění, histologický typ tumoru, grade tumoru, lokalita tumoru).

## 4. VÝSLEDKY

---

### 4.1. Nádory tlustého střeva

#### 4.1.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy

Všechny ( $n = 40$ ) adenomy byly difúzně převážně silně HNF1B pozitivní. Skupina adenomů dosahovala ve srovnání s karcinomy významně vyššího rozsahu pozitivní exprese a vyšších hodnot intenzity barvení. Hodnoty H-skóre se statisticky významně nelišily mezi skupinou adenomů s HG a LG dysplastickými změnami. Žádné z vyšetřených klinicko-patologických charakteristik nevykazovaly u adenomů statisticky významnou souvislost s expresí HNF1B.

U karcinomů tlustého střeva byla snížená exprese statisticky významně asociována s recidivou. Snížená exprese HNF1B byla také spojená s horší prognózou a kratším DFS. Žádné z ostatních charakteristik s expresí HNF1B významně nekorelovaly.

Obdobné analýzy byly provedeny i na souboru dat kolorektálních karcinomů získaných z TCGA. Statistického významu dosáhl pouze vztah mezi expresí HNF1B a histologickým typem karcinomů, kdy mucinózní karcinomy vykazovaly výrazně nižší expresi HNF1B na mRNA úrovni než non-mucinózní karcinomy ( $p = 0.022$ ).

#### 4.1.2. Mutační analýza

V žádném z vyšetřovaných adenomů nebyly identifikovány varianty třídy 3-5. U kolorektálních karcinomů byly identifikovány celkem 3 somatické mutace *HNF1B* - dvě frameshift a jedna nonsense: c.149delC, p.P50LfsTer75 (VAF 38.45 %); c.1006delC, p.H336TfsTer40 (VAF 34.88 %) a c.554C > T, p.Q182X (VAF 26.79 %).

Hodnocení vlivu SNP rs4430796 a rs7527210 ukázalo, že v případě SNP rs4430796 bylo pozorováno významně delší DFS u pacientů s genotypem AA, než u pacientů s genotypem GA a GG. Pro SNP rs7527210 nebyl prokázán statisticky významný vliv na přežití.

#### 4.1.3. Metylační analýza

U adenomů byla metylace promotoru zaznamenána u 1/21 (4.7 %) případů. V souboru karcinomů bylo metylovaných 3/72 (4.2 %) případů. Ve dvou případech se jednalo o nízký stupeň metylace, zatímco v posledním případě dosáhla metylace střední úrovně.

Analýza dat z TCGA ukázala, že statisticky signifikantní vztah s expresí HNF1B (na úrovni mRNA) byl pozorován ve skupině mucinózních karcinomů, kde byla exprese HNF1B významně nižší.

#### 4.1.4. Analýza mikrosatelitové instability

Výsledky této analýzy ukázaly, že 83/103 karcinomů spadalo do skupiny MSS a 20/103 karcinomů do skupiny MSI-high. Biostatistická analýza neprokázala žádnou statisticky významnou asociaci mezi expresí HNF1B a těmito dvěma (MSS versus MSI-high) skupinami.

### 4.2. Karcinomy ovária

#### 4.2.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy

Jaderná IHC exprese HNF1B byla obecně velmi nízká - pozitivita HNF1B byla pozorována pouze u 28 případů (H-skóre průměr: 21.8; H-skóre medián: 0). Vyšší exprese HNF1B byla pozitivně asociována s lymfovaskulární invazí. Analýzy přežití v závislosti na expresi HNF1B nenalezly žádný statisticky významný vztah.

#### 4.2.2. Mutační analýza

U jednoho z analyzovaných případů [1/61 (1.6 %)] byla identifikována somatická nonsense mutace NM\_000458.2: c.1063C>T, p.(Q355X). Tento případ byl zcela negativní v imunohistochemickém průkazu HNF1B (H-skóre: 0).

Žádný z analyzovaných SNP (rs4430796, rs7527210, rs7405776) nebyl signifikantně asociovaný s IHC expresí *HNF1B* či s metylací promotoru *HNF1B*.

#### 4.2.3. Metylační analýza

Metylace promotoru *HNF1B* byla detekována u 26/67 (38.8 %) případů. Metylační status nebyl významně asociovaný se žádným ze sledovaných klinicko-patologických parametrů. U souboru karcinomů z TCGA byla metylace promotoru *HNF1B* zaznamenána u 315/569 (55 %) případů.

### 4.3. Nádory ledvin

#### 4.3.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy

Mezi všemi čtyřmi skupinami studovaných nádorů byly významné rozdíly v rozsahu a intenzitě IHC exprese *HNF1B*. Ve skupině ccRCC, papRCC a RO vykazovaly prakticky všechny případy určitou úroveň homogenní, jaderné pozitivitu *HNF1B*, zatímco téměř všechny nádory ze skupiny chRCC byly zcela negativní. Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány mezi skupinou chRCC a ccRCC a také mezi skupinou chRCC a papRCC.

U skupiny ccRCC nižší exprese *HNF1B* korelovala s vyšším gradem nádoru.

#### 4.3.2. Mutační analýza

V žádném z analyzovaných případů nebyly identifikovány varianty třídy 3 – 5. Mezi expresí *HNF1B* a SNP rs4430796 a rs7527210 nebyl pozorován významný vztah.

#### 4.3.3. Metylační analýza

Metylace promotoru byla identifikována u 2/39 ccRCC (5.1 %) a 1/9 (11.1 %) RO. U souboru nádorů z TCGA byla metylace zaznamenána u 2/480 ccRCC, 1/321 papRCC a 0/66 chRCC.

### 4.4. Nádorové a nenádorové léze prostaty

#### 4.4.1. Imunohistochemické vyšetření a biostatistické analýzy

U karcinomu prostaty (PC) se hodnoty H-skóre pohybovaly v rozmezí 0 – 160, přičemž průměrné H-skóre bylo 19.5. Obdobně nízká exprese *HNF1B* byla zaznamenána i u adenomyomatózní hyperplázie (AH). Mezi expresí u PC a AH nebyl statisticky významný rozdíl. Exprese *HNF1B* nebyla asociovaná se žádným ze sledovaných parametrů.

Biochemická recidiva byla zaznamenána u 15/90 (16.6 %) pacientů s dostupným klinickým follow-up. V univariátním modelu byla biochemická recidiva statisticky významně spojená s předoperačními hodnotami PSA, pozitivními resekcními okraji, Gleasonovým skóre a s přítomností lymfovaskulární invaze. V multivariátním modelu si významnost zachovaly předoperační hodnoty PSA a pozitivita resekcčních okrajů. Pro expresi *HNF1B* se žádný vztah s biochemickou recidivou nepotvrdil.

#### 4.4.2. Mutační analýza

V jednom z analyzovaných PC (1/77, 1.3 %) byla identifikována dosud nepopsaná somatická mutace genu *HNF1B* nejistého významu NM\_000458.2: c.232G > C, p.E78Q, frekvence mutantní alely = 6.4 %. V datech z TCGA byla identifikovaná pouze jedna missense mutace v genu *HNF1B* (NM\_00458.4: c.853G > A, p.G285S), která je v databázi ClinVar popisovaná jako pravděpodobně patogenní.

Frekvence homozygotů rs4430796 GG (15.1 % PC; 14.3 % AH), AA (24.5 % PC; 21.4 % AH) a heterozygotů AG (60.4 % PC; 64.3 % AH) byly u obou skupin lézí obdobné, stejně jako celková frekvence alel G/A (A: 53.2 %; G: 46.8 %), což je v souladu s obecnými populačními daty získanými z databáze 1000Genomes (A: 55.4 %, G: 44.6 %).

#### 4.2.3. Metylační analýza

Metylace promotoru byla zaznamenána u 29/53 (55 %) PC a 1/16 (6 %) AH, a byla tak mnohem častější u PC než u AH ( $p < 0.001$ ). Mezi metylací promotoru a expresí HNF1B nebyl potvrzen žádný statisticky významný vztah. Methylace promotoru *HNF1B* byla významně asociovaná s karcinomy vyššího T stádia (T3 + T4) v porovnání s karcinomy nižšího stádia (T1 + T2). Vyšší exprese HNF1B byla spojena s vyšším Gleasonovým skóre (intermediární a high grade).

U souboru PC získaného z TCGA byla metylace promotoru zaznamenána u 47 % případů. Metylované případy ( $n = 231$ ) vykazovaly výrazně nižší expresi mRNA HNF1B než ty nemetylované ( $n = 260$ ,  $p < 0.001$ ). Exprese HNF1B na mRNA úrovni byla také významně asociovaná s Gleasonovým skóre, kdy byly snížené hladiny exprese spojené s vyšším skóre.



## 5. DISKUZE

V souvislosti s ontogenetickým významem HNF1B je v poslední době diskutován i jeho možný význam z hlediska vzniku, progresu a potenciálně také chemorezistence určitých nádorových onemocnění. Mezi nádory, které jsou nejvíce spojovány s účastí HNF1B, patří zejména karcinomy se světlobuněčným fenotypem (ccRCC, OCCC), vzhledem k tomu, že více než 90 % z těchto nádorů vykazuje silnou IHC HNF1B pozitivitu (Senkel *et al.* 2005; Kobel *et al.* 2009; Buchner *et al.* 2010; Cuff *et al.* 2013; Amano *et al.* 2015; Nemejcova *et al.* 2016).

V této práci jsme provedli komplexní retrospektivní analýzu vlivu a role, kterou HNF1B hraje u vybraných nádorových a nenádorových lézí, zejména s ohledem na expresi HNF1B, jeho genetických a epigenetických změn a možného využití HNF1B jako markeru v diferenciální diagnostice či jako prognostického a prediktivního markeru.

Imunohistochemická analýza HNF1B ve skupině lézí tlustého střeva potvrdila silnou, difúzní pozitivitu HNF1B v normální nenádorové sliznici tlustého střeva. Tento nálezní není překvapivý, vzhledem k tomu, že HNF1B se významným způsobem podílí na embryologické diferenciaci viscerálního endodermu, a tím pádem hraje roli i ve vývoji epitelů tlustého střeva (zejména v rámci jejich terminální diferenciaci) (Suaud *et al.* 1997). Silná difúzní pozitivita HNF1B byla na našem souboru pozorována také u adenomů tlustého střeva (s low i high grade dysplastickými změnami). Při porovnání exprese HNF1B u adenomů a karcinomů byla IHC pozitivita HNF1B pozitivně asociovaná s diagnózou benigního nádoru, což naznačuje, že v případě lézí tlustého střeva by HNF1B mohl hrát roli tumorsupresoru a mít tak protektivní vliv.

Snížená exprese HNF1B u kolorektálních karcinomů byla statisticky významně asociovaná s rekurencí, nepříznivou prognózou a s kratším DFS. Tento vliv HNF1B v kontextu kolorektálního karcinomu by mohl souviset s některými základními biologickými funkcemi HNF1B, který se významně podílí na regulaci procesu chemotaxe a cadherinem zprostředkované adheze ke složkám extracelulární matrix. To vedlo k závěru, že HNF1B by mohl pracovat jako kontrolní spínač, který u normálních nenádorových tkání za správných okolností brání procesu epitelo-mezenchymální tranzice (Ross-Adams *et al.* 2016). Snížená exprese HNF1B pozorovaná u lokálně pokročilejších kolorektálních karcinomů a u rekurentního onemocnění by tedy mohla být způsobena invazivnějším fenotypem těchto maligních nádorů, který je spojený s poklesem či ztrátou funkčního vlivu HNF1B.

Co se týče části práce věnované nádorům ledvin, výsledky naší IHC analýzy exprese HNF1B ukázaly, že se exprese mezi jednotlivými typy nádorů významně liší.

Nejnižší exprese HNF1B byla pozorována u skupiny chRCC, kde se jednalo buď o výrazně slabou expresi, nebo častěji o zcela chybějící expresi. Naše výsledky jsou v souladu s nálezy publikovanými Szponarem *et al.*, kteří u jejich souboru 21 chRCC nepozorovali vůbec žádnou jadernou pozitivitu HNF1B (Szponar *et al.* 2011). Obdobné výsledky byly popsány i v jiné studii, kde u skupiny 18 chRCC autoři uvádí významně sníženou expresi HNF1B u 16/18 (89 %) případů (Wang *et al.* 2013). V kontextu chRCC by tak HNF1B mohl mít tumorsupresorový vliv.

Nejvyšší hodnoty exprese HNF1B jsme zaznamenali u skupiny papilárních renálních karcinomů, které byly těsně následovány skupinou světlobuněčných renálních karcinomů. Papilární renální karcinomy jsou na molekulárně genetické úrovni charakterizované specifickými trisomiemi a tetrasomiemi týkajícími se zejména chromozomů 7 a 17, kdy jsou s patogenezi papRCC spojované především alterace zde lokalizovaných genů *MET* (7q31) a *HNF1B*. Ty jsou spojené s konstitutivní overexpresí HNF1B, jež dále podporuje proliferaci buněk s opožděnou či zcela pozastavenou diferenciací, což by mohlo představovat jeden ze základních kroků v postupné progresi vzniku papRCC (Szponar *et al.* 2011; Banyai *et al.* 2018).

Naše výsledky ukázaly, že všech 17 případů papRCC vykazovalo určitou úroveň HNF1B exprese, přičemž ve většině případů byla exprese silná. Variabilní úroveň HNF1B pozitivitu byla také popsána Szponarem *et al.*, kteří pozorovali silnou jadernou pozitivitu HNF1B u 38/67 (57 %) papRCC a také Banyiaem *et al.*, kteří detekovali středně silnou pozitivitu HNF1B u 47/76 (62 %) papRCC (Szponar *et al.* 2011; Banyai *et al.* 2018). Vzhledem k literárním údajům, které popisují konzistentní silnou IHC expresi HNF1B u adultních nádorů embryonálního původu (papRCC, ale také mucinózní tubulární vřetenobuněčný karcinom a metanefrický adenom) by tato overexprese HNF1B mohla představovat jeden z hnacích mechanismů vzniku papRCC. HNF1B by tak u papRCC mohl mít roli protoonkogenu.

Na rozdíl od papRCC je v případě ccRCC původ nádoru připisován epiteliálním buňkám, jež vystylají proximální tubuly nefronu. V naší skupině ccRCC jsme pozorovali rozdílnou úroveň jaderné exprese HNF1B u téměř všech analyzovaných případů, což je v souladu s hypotézou, že v porovnání s nenádorovým renálním parenchymem je exprese HNF1B u tohoto nádoru sice zachovalá, ale variabilně oslabená (Yu *et al.* 2015a). Zachovalá exprese je také popisována Wangem *et al.*, kteří ji v jejich studii pozorovali u 23/24 (96 %) ccRCC (Wang *et al.* 2013). V rozporu s těmito nálezy je práce Szponara *et al.*, kteří u jejich skupiny 98 ccRCC pozorovali jen ojedinělou jadernou pozitivitu HNF1B u několika případů [7/98 (7 %)] (Szponar *et al.* 2011). V naší práci exprese HNF1B u ccRCC významně korelovala s gradem nádoru (nižší hodnoty exprese byly spojené s vyšším gradem).

Asociací mezi sníženou expresí HNF1B a maligním potenciálem ccRCC se zabývali také Buchner *et al.*, kteří zkoumali expresi HNF1B na úrovni mRNA u metastáz ccRCC (Buchner *et al.* 2010). Výsledkem práce bylo zjištění, že downregulace HNF1B byla významně spojená s progresí nádoru a se špatnou prognózou, což značí, že HNF1B by mohl být užitečným prognostickým faktorem při stratifikaci pacientů s ccRCC. V tomto kontextu by tedy role HNF1B u ccRCC mohla spočívat ve funkci tumorsupresoru. V případě ccRCC je v poslední době diskutován nejen význam HNF1B jako potenciálního prognostického faktoru, ale také jeho možné využití na poli terapie. Zdá se totiž, že HNF1B se na patogenezi ccRCC podílí zejména prostřednictvím své inaktivace. Je tedy možné, že reaktivace HNF1B a jeho signální funkce by tím pádem mohla vést k obnovení dysfunkční transkripční sítě (Buchner *et al.* 2010).

Z hlediska možného využití HNF1B v rutinní diagnostické praxi má důležitý význam zejména rozdíl mezi expresí HNF1B u skupiny chRCC a RO, neboť RO se může nápadně podobat eosinofilnímu podtypu chRCC a rozlišení mezi těmito dvěma nádory může být v některých případech obtížné (von Brandenstein *et al.* 2018). Vzhledem k tomu, že biologická povaha těchto dvou nádorů je zásadně odlišná, je správná diagnóza nezbytně nutná pro správný pooperační postup a pro prognózu pacienta. Naše výsledky IHC exprese HNF1B u těchto dvou skupin nádorů po provedení *post-hoc* testů nicméně nedosáhly statistické významnosti. V současné době tedy stále nebyl indentifikován jednoznačný a spolehlivý IHC marker vhodný pro odlišení chRCC a RO.

Další skupinou nádorů, u které jsme analyzovali expresi HNF1B, byl high grade serózní karcinom ovária. V oblasti ženského genitálu se většina publikovaných studií zaměřených na problematiku HNF1B soustředí především na OCCC, ačkoliv exprese HNF1B byla popsána i u dalších typů karcinomů ovária, včetně HGSC (Tomassetti *et al.* 2008; Kalloger *et al.* 2011). Ačkoliv je HGSC poměrně dobře morfologicky definovanou jednotkou s typickými diagnostickými znaky, část těchto karcinomů v některých případech vykazuje světlobuněčnou přeměnu buněk a napodobuje tak OCCC. Vzhledem k této podobnosti záměna těchto dvou nádorů patří mezi možná diagnostická pochybení. Správné rozlišení mezi těmito nádory je přitom pro pacientky naprosto zásadní, protože OCCC na rozdíl od HGSC obvykle špatně odpovídá na standartní chemoterapeutický režim založený na platinových derivátech a obecně není indikován pro léčbu PARP inhibitory.

S ohledem na diferenciální diagnostiku tedy již existuje celá řada studií, která se zabývala odlišnou expresí HNF1B u OCCC a HGSC (Kato *et al.* 2006; Yamamoto *et al.* 2007; Kobel *et al.* 2009; Li *et al.* 2014; Huang *et al.* 2016). Jejich výsledky ukázaly, že zatímco pro OCCC je typická silná, difúzní pozitivita HNF1B, u HGSC je exprese HNF1B buď zcela negativní, nebo jen fokální a slabá. Overexprese HNF1B se tak začala využívat v rutinní diagnostické praxi jako vysoce specifický marker OCCC, který dosahuje až 96.2% senzitivity a 95% specifity (Kao *et al.* 2012).

Analýza IHC exprese HNF1B u našeho souboru 122 HGSC prokázala obecně velmi nízkou expresi. Ačkoliv jsou tyto výsledky v souladu s dosud publikovanými daty, která udávají, že exprese HNF1B je u HGSC typicky potlačena, ostatní autoři udávají nižší úroveň zaznamenané positivity. Huang *et al.* našli pozitivitu HNF1B u 1/35 (2.9 %) případů, Kao *et al.* u 3/60 (5 %) případů, Kobel *et al.* u 4.8 % případů a Li *et al.* popisují expresi HNF1B u 4/30 (13.3 %) případů (Kobel *et al.* 2009; Kao *et al.* 2012; Li *et al.* 2014; Huang *et al.* 2016). Vysvětlením pro tuto poměrně nižší udávanou pozitivitu v porovnání s našimi výsledky by mohly být například rozdíly v metodice či použití jiného postupu pro hodnocení exprese.

Ve skupině HGSC byla pozorována významná asociace mezi vyššími hodnotami exprese (H-skóre) a lymfovaskulární invazí. Tento výsledek podporuje závěr jiných autorů, kteří uvádí, že HNF1B by se mohl podílet na indukci epitel-mezenchymální tranzice a získání invazivních vlastností, které jsou klíčové pro invazivní chování nádoru a proces metastazování (Chaffer *et al.* 2016; Matsui *et al.* 2016).

Velmi důležitým aspektem potenciálního významu HNF1B exprese by mohla být možnost jeho terapeutického využití. Rolí HNF1B v nádorovém metabolismu se extenzivně zabývali Okamoto *et al.*, kteří uvádí, že HNF1B funguje jako silný supresivní regulátor buněčné proliferace (Okamoto *et al.* 2015). Supresivní vliv HNF1B na proliferaci nádorových buněk je zároveň doprovázený posunem jejich metabolismu k preferenčnímu využití anaerobní glykolýzy, což je mechanismus, který velmi dobře splňuje metabolické nároky nádorových buněk na rychlou proliferaci (Tsuchiya *et al.* 2003; Amano *et al.* 2015; Okamoto *et al.* 2015). Tyto výsledky by mohly naznačovat, že overexprese HNF1B u OCCC není zodpovědná za zajištění zvýšené proliferace (jak je patrné u HGSC, jež roste rapidně, ale overexpresi HNF1B vykazuje jen vzácně), ale pravděpodobně k ní dochází za účelem ochrany nádorových buněk a umožnění jejich přežití. OCCC totiž na rozdíl od jiných karcinomů ovária (s výjimkou endometrioidního karcinomu) často vzniká v extrémně metabolicky stresujícím prostředí endometriózy a endometrioidních cyst, které je bohaté na volné kyslíkové radikály, jež představují významný stresový faktor (Komiyama *et al.* 2006; Cuff & Longacre 2012; Kondi-Pafiti *et al.* 2012; Ishibashi *et al.* 2017; Ayhan *et al.* 2019; Bas-Esteve *et al.* 2019). Role HNF1B by tak mohla spočívat v potlačení stresových stimulů, které působí na nádorové buňky, čímž jim napomáhá k dlouhodobému přežívání.

Snížená exprese HNF1B by tak mohla souviset s chybějícím protektivním vlivem HNF1B nutným pro ochranu nádorových buněk proti stresorům zevního prostředí. HNF1B by se tedy mohl přímo v rámci terapie prostřednictvím znovunastolení jeho exprese, což by mu umožnilo uplatnit jeho inhibiční funkci na proliferaci buněk. Vynucená exprese HNF1B u buněčné linie serózního karcinomu ovária totiž vedla ve studii Okamoty *et al.* ke zpomalení růstu buněk a potlačení glykolytické aktivity (Okamoto *et al.* 2015).

V našem souboru lézí prostaty byla exprese HNF1B velmi nízká jak u adenomyomatózní hyperplázie, tak u karcinomu prostaty. V literatuře se zatím objevuje pouze jedna studie zaměřená na IHC hodnocení exprese HNF1B u PC (Debiais-Delpech *et al.* 2014). Její autoři analyzovali expresi HNF1B v souvislosti s progresí nádoru a agresivitou onemocnění. Výsledky jejich práce ukázaly, že pozitivní exprese HNF1B byla výrazně zvýšená u karcinomu

prostaty rezistentního ke kastraci a metastáz PC, v porovnání s nízkými hodnotami exprese zaznamenanými u klinicky lokalizovaného karcinomu.

Expresi HNF1B hodnocenou imunohistochemicky se také zabývali autoři Dan *et al.*, kteří ji hodnotili u myšího modelu acinárního adenokarcinomu prostaty (Dan *et al.* 2019). Myši s karcinomem prostaty v pokročilém stádiu vykazovaly v jejich studii sníženou expresi HNF1B. Jejich výsledky tak potvrzují, že během vzniku a progresu PC dochází ke ztrátě původní tumorsupresorové funkce HNF1B. Obdobný závěr je popisovaný i v další práci, která se zabývala vlivem HNF1B na proliferaci nádorových buněk (Lu *et al.* 2020). Jejich práce tak předkládá nové důkazy o tom, že HNF1B se u karcinomu prostaty pravděpodobně uplatňuje jako tumorsupresorový gen. Tato hypotéza je také potvrzena našimi výsledky IHC analýz, které ukázaly, že exprese HNF1B je u PC výrazně snižena.

Kromě charakteristiky exprese HNF1B na imunohistochemické úrovni a jejího významu jsme se zabývali také identifikací možných genetických alterací genu *HNF1B*. Problematika somatických či germinálních mutací *HNF1B* u maligních nádorů je v literatuře (na rozdíl od mutací spojovaných s vrozenými malformacemi urogenitálního a pankreatobiliárního systému) popisována extrémně vzácně.

Zatímco v naší skupině adenomů tlustého střeva nebyly identifikovány žádné mutace, ve skupině kolorektálních karcinomů odhalila mutační analýza 3 inaktivační somatické mutace. Přítomnost a vliv mutací *HNF1B* na malignity kolorektální oblasti nebyla dosud zkoumána. V současné době tedy stále není zcela jasné, jaký vliv by mohly mít mutace genu *HNF1B* na kolorektální karcinogenezi, ačkoliv jsou práce, které naznačují, že *HNF1A* by se mohl podílet na vzniku MSI-high kolorektálního karcinomu (Laurent-Puig *et al.* 2003).

V naší skupině nádorů ledvin mutační analýza neodhalila přítomnost žádných somatických či germinálních variant třídy 3-5 v genu *HNF1B*. Tento výsledek je v souladu s literárními daty, která ukazují, že o somatických mutacích *HNF1B* a jejich významu v karcinogenezi je prozatím známo velmi málo. Výjimku představují nečetné kazuistiky (Lebrun *et al.* 2005; Rebouissou *et al.* 2005) které zmiňují, že vývojové malformace ledvin spojené s mutacemi v *HNF1B* jsou také asociované s predispozicí pro vznik chRCC (Wang *et al.* 2013).

V části věnované HGSC ovária jsme identifikovali jednu dosud nepopsanou somatickou nonsense variantu. Z těchto výsledků vyplývá, že exprese HNF1B u HGSC je pravděpodobně regulovaná buď prostřednictvím hypermetylace promotoru, nebo vlivem jiných regulačních mechanismů ovlivňujících aktivaci transkripce, spíše než prostřednictvím mutací v kódujících sekvencích *HNF1B* či posttranslačních modifikací genové exprese.

Mutace genu *HNF1B* byly velmi sporadickým nálezem také u skupiny karcinomů prostaty, kde jsme zaznamenali pouze jednu somatickou aberaci (klasifikovanou jako variantu nejistého významu). U karcinomu prostaty tedy pravděpodobně není inaktivace funkce HNF1B zprostředkována genovými mutacemi.

Mnohem více prostoru, než v případě mutací, je v literatuře věnováno změnám v nekódujících intronových sekvencích *HNF1B*. Specifické jednonukleotidové polymorfismy *HNF1B* již byly asociovány se zvýšeným rizikem vzniku několika různých nádorů, zejména karcinomů endometria, prostaty a ovária (Sun *et al.* 2008; Shen *et al.* 2013; Painter *et al.* 2015; Ross-Adams *et al.* 2016), ale i karcinomu plic (Sun *et al.* 2011).

Na základě celogenomových asociačních studií (genome-wide association studies, GWAS) bylo identifikováno několik konkrétních SNP *HNF1B*, pro které se popisuje asociace s rizikem vzniku různých karcinomů. Jedná se zejména o rs447096, rs7527210 a několik dalších SNP, studovaných zejména v souvislosti s karcinomem prostaty (rs1016990, rs7501939, rs11649743, rs7405696, rs4794758 a rs3094509) (Harries *et al.* 2010; Berndt *et al.* 2011; Kim

*et al.* 2011). V naší práci jsme se věnovali analýze dvou vybraných nejčastěji popisovaných SNP (rs4430796 a rs7527210) s ohledem na stanovení vztahu mezi těmito specifickými intronovými sekvencemi a prognózou studovaných maligních nádorů.

U skupiny kolorektálních karcinomů v našem souboru nebyl v případě SNP rs7527210 zaznamenán žádný významný vztah mezi tímto SNP a monitorovanými parametry přežití. V literatuře je rs7527210 diskutován zejména v souvislosti s karcinomem ovária a prostaty (Ross-Adams *et al.* 2016), pro kolorektální karcinom zde nejsou dostupná srovnatelná data. V případě rs447096 jsme pozorovali významné rozdíly v odhadovaném DFS v závislosti na třech různých genotypech rs447096, přičemž genotyp GG byl asociovaný s nejhorší prognózou. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky studií provedených na jiných typech nádorů, kdy zejména v případě karcinomu endometria je GG genotyp spojovaný s nejhorším OS (Mandato *et al.* 2015).

V části práce zaměřené na nádory ledvin také nebyl zaznamenán žádný významný vztah mezi SNP rs4430796 a rs7527210 a expresí HNF1B. Na základě těchto výsledků lze tedy očekávat, že u studovaných případů jsou klíčové události v alteraci *HNF1B* pravděpodobně zprostředkovány jinými mechanismy, nebo prostřednictvím vzácnějších SNP, které nebyly v našich analýzách zahrnuty. U skupiny HGSC ovárií také nebyl žádný z analyzovaných SNP (rs4430796, rs7527210, rs7405776) signifikantně asociovaný s IHC expresí HNF1B, ani s metylací promotoru *HNF1B*.

Význam jednonukleotidových polymorfismů je zvláště zdůrazňovaný zejména u karcinomu prostaty, neboť PC patří mezi malignity nejvíce ovlivněné dědičností. Role a klinický význam vybraných SNP ovšem stále není zcela jasná a stejné SNP jsou v různých studiích někdy označovány buď za rizikové, či naopak za varianty protektivní.

Nejčastěji je v souvislosti s karcinomem prostaty zmiňovaný SNP rs4430796. Recentně byla publikována robustní metaanalýza, která hodnotila asociaci mezi nejčastěji popisovanými variantami *HNF1B* a rizikem vzniku PC (Tong *et al.* 2018). Její autoři pracovali se souborem téměř 35 tisíc pacientů a 56 tisíc kontrol a našli silnou pozitivní asociaci s genotypem rs4430796 A, AA a AG, a dále také s genotypy rs7501939 G, rs11649743 G, GG, a AG, a s genotypem rs3760511 C. V naší práci jsme se zabývali variantou rs4430796 (G > A), přičemž celková frekvence detekovaných alel byla prakticky stejná, jakou udávají data uvedená pro obecnou populaci v databázi 1000G. U naší početně limitované skupiny se tak asociace polymorfismu rs4430796 s karcinomem prostaty nepotvrdila.

Epigenetické změny jsou jedním ze základních regulačních mechanismů genové exprese, které se často účastní na vývoji maligních nádorů (Cuff *et al.* 2013). Jednou z nejčastějších epigenetických alterací je v tomto kontextu DNA metylace, což je reverzibilní proces a jako takový tedy představuje jeden z potenciálních terapeutických cílů využitelných při cílené protinádorové terapii (Bubancova *et al.* 2017). Aberantní metylace promotorových oblastí určitých tumorsupresorových genů vede k útlumu exprese (tzv. silencing) těchto tumorsupresorů, což představuje jednu z klíčových událostí iniciace nádorového růstu a jeho progresu. Epigenetické alterace jsou v procesu kancerogeneze relativně časnou událostí, a proto by se mohly úspěšně uplatnit nejen jako neinvazivní biomarker přítomnosti nádorového onemocnění během screeningu, ale také by mohly sloužit jako biomarkery v monitorování odpovědi na terapii (Graham *et al.* 2009).

S ohledem na nádory tlustého střeva byla zaznamenána pouze slabá parciální metylace u několika případů, kdy všechny vykazovaly zachovalou proteinovou expresi HNF1B. Methylace promotoru tak v tomto souboru nekorelovala s expresí HNF1B na proteinové úrovni, což by mohlo být následkem inkompletní inaktivace genu *HNF1B*. Methylace promotoru *HNF1B* tedy nebyla v našem souboru kolorektálních lézí častým nálezem, což je v ostrém kontrastu s výsledky jedné z několika málo prací, které se touto problematikou zabývaly. Dle

těchto autorů je *HNF1B* společně s *RUNX3*, *PCDH10*, *SFRP5* a *IGF2* jedním z pěti genů, které v jejich studii vykazovaly nejvyšší průměrná procenta hypermetylace promotoru (Silva *et al.* 2013). Na základě tohoto nálezu autoři dokonce navrhuji, že by hypermetylace promotoru *HNF1B* mohla sloužit jako jeden z neinvazivních epigenetických markerů kolorektálního karcinomu. Možná vysvětlení pro takto odlišné výsledky zahrnují odlišný metodický přístup (autoři pracovali s Methyl-Profiler™ DNA Methylation PCR Array systémem) a fakt, že v rámci jejich práce pracovali se souborem pouze 10 nádorů (Silva *et al.* 2013).

Ve skupině nádorů ledvin byla metylace promotoru *HNF1B* nalezena pouze vzácně, což je v souladu s daty získanými z TCGA. Oba výsledky tak naznačují, že se na regulaci exprese *HNF1B* v tomto případě pravděpodobně podílí jiné mechanismy než promotorová metylace. Nicméně je důležité zmínit, že jsme se v naší práci zabývali pouze oblastí CpG ostrůvku, který je dle literárních dat a TCGA nejvíce spojován s *HNF1B* expresí (Shen *et al.* 2013) a před tím, než bude role metylace v tomto kontextu zcela vyloučena, by bylo nutné provést extenzivnější analýzu.

U skupiny HGSC byla metylace promotoru *HNF1B* detekována u 26/67 (38.8 %) případů, přičemž metylační status nebyl významně asociovaný se žádným ze sledovaných klinicko-patologických parametrů. Obdobné výsledky metylační analýzy byly publikovány i dalšími autory, dle kterých se metylace pohybovala v rozmezí 41.3 % (Terasawa *et al.* 2006) až 50.8 % (Baranova *et al.* 2020). Bubancová *et al.* se zabývali metylací promotoru *HNF1B* u různých typů karcinomů ovária a identifikovali metylaci u 18/40 (45 %) HGSC (Bubancova *et al.* 2017). Možným praktickým využitím metylace se u HGSC zabývali autoři jedné recentní studie, která byla zaměřená na identifikaci potenciálního metylačního panelu biomarkerů za účelem časně detekce HGSC (Baranova *et al.* 2020). Methylace promotoru *HNF1B* byla detekovaná u 31/61 (50.8 %) HGSC, přičemž častější byla u nádorů pokročilého stádia [27/47 (57.5 %)] než u nádorů časného stádia [4/14 (28.6 %)]. U našeho souboru HGSC jsme pozorovali obdobný trend, který ale nedosáhl statistického významu. Přítomnost metylace promotoru *HNF1B* už u nádorů v časném stádiu nicméně naznačuje, že by metylace mohla představovat slibný marker pro časnou detekci HGSC. Vzhledem k tomu, že HGSC představuje nádor s velmi nenápadnými a nespecifickými klinickými symptomy a onemocnění je tak často diagnostikováno až v pokročilém stádiu, je identifikace biomarkerů pro časnou diagnostiku velmi žádoucí.

Role epigenetické inaktivace u regulace exprese *HNF1B* jsme se zabývali i u naší skupiny karcinomů prostaty. Methylace promotoru *HNF1B* byla identifikována u 55 % PC, což je obdobný výsledek, jaký uvádí data získaná z TCGA. Methylací promotoru *HNF1B* se zabývali i autoři Ross-Adams *et al.*, kteří u dvou samostatných kohort pacientů s karcinomem prostaty ( $n = 65$ ,  $n = 36$ ) pozorovali, že tkáň PC byly ve srovnání se zdravými, nenádorovými tkáněmi hypermetylované (Ross-Adams *et al.* 2016). Jejich experimentální data tak ukazují, že u karcinomu prostaty a high grade serózního karcinomu ovária by se na vzniku a progresi nádoru mohly podílet obdobné mechanismy.

## 6. ZÁVĚR

---

HNF1B je tkáňově specifický transkripční faktor, jehož význam pro vznik vývojových malformací ledvin a dalších orgánů již byl poměrně dobře a extenzivně popsán, zatímco jeho uplatnění v patogenezi solidních nádorů dosud nebylo objasněno. Hlavním cílem této práce je prohloubení znalostí o významu změn HNF1B u vybraných solidních nádorů. Zahrnuté typy nádorů byly selektovány na základě provedené rešerše literatury, s ohledem na dosavadní popisovaný význam HNF1B u karcinogeneze nádorových onemocnění a jeho využití v rutinní diagnostické praxi.

Naše data ukazují, že v rámci diferenciální diagnostiky je na IHC úrovni hlavní význam hodnocení exprese HNF1B u nádorů ledvin, zejména v oblasti odlišení chRCC od renálního onkocytomu. Další využití je u nádorů ženského genitálu, nicméně poměrně vysoké procento exprese u HGSC v našem souboru (v souladu s recentními literárními daty) význam HNF1B v této indikaci limituje. Z našich výsledků zároveň ale vyplývá, že se jeho význam zvyšuje, pokud zohledníme intenzitu exprese (neboť silná exprese byla nalezena převážně jen u OCCC). Potenciální impakt těchto výsledků v klinické praxi by tak mohl spočívat nejen v lepší stratifikaci nádorových podtypů a potenciálních nových terapeutických přístupů, ale také v lepším porozumění etiologie těchto onemocnění. Z hlediska prognostického významu měla IHC exprese HNF1B význam zejména u kolorektálního karcinomu, kde snížená exprese korelovala s recidivou a byla spojená s horší prognózou a kratším DFS.

S ohledem na význam HNF1B v patogenezi nádorů naše výsledky ukázaly, že u kolorektálního karcinomu, high grade serózního karcinomu ovária, karcinomu prostaty, světllobuněčného a chromofóbního karcinomu ledviny by se HNF1B mohl chovat jako tumorsupresor, zatímco u papilárního karcinomu ledviny spíše jako protoonkogen. Vzhledem k odlišné hypotetické roli, kterou HNF1B hraje u různých typů nádorů ledvin, by tak HNF1B mohl představovat důležitý prognostický faktor umožňující lepší stratifikaci pacientů s ohledem na narůstající využití cílené terapie u nádorových onemocnění. Analýzy SNP potvrdily u kolorektálního karcinomu asociaci GG fenotypu rs447096 s horší prognózou onemocnění, zatímco u ostatních typů nádorů se asociace studovaných polymorfismů s prognózou či rizikem vzniku nádoru nepotvrdila. Klíčové události v alteraci HNF1B jsou tak pravděpodobně zprostředkovány jinými mechanismy (nebo prostřednictvím vzácnějších SNP, které nebyly v našich analýzách zahrnuty). Část práce věnovaná epigenetickým alteracím má význam zejména u HGSC, kde byla potvrzená poměrně vysoká úroveň metylace, což v souladu s literaturou naznačuje, že by metylace mohla představovat slibný marker pro časnou detekci HGSC.

Závěrem je ovšem důležité zdůraznit, že za účelem přesného stanovení toho, jakou roli hraje HNF1B v biologii vybraných nádorů a objasnění jeho potenciálního prognostického a terapeutického využití je zapotřebí provést další studie na větším množství případů.

## 7. LITERATURA

---

- Adalat S., Woolf A.S., Johnstone K.A., Wirsing A., Harries L.W., Long D.A., Hennekam R.C., Ledermann S.E., Rees L., van't Hoff W., Marks S.D., Trompeter R.S., Tullus K., Winyard P.J., Cansick J., Mushtaq I., Dhillon H.K., Bingham C., Edghill E.L., Shroff R., Stanescu H., Ryffel G.U., Ellard S. & Bockenhauer D. (2009) HNF1B mutations associate with hypomagnesemia and renal magnesium wasting. *J Am Soc Nephrol* **20**, 1123-31.
- Akin I.B., Altay C., Guler E., Camlidag I., Harman M., Danaci M., Tuna B., Yorukoglu K. & Secil M. (2019) Discrimination of oncocytoma and chromophobe renal cell carcinoma using MRI. *Diagn Interv Radiol* **25**, 5-13.
- Alvelos M.I., Rodrigues M., Lobo L., Medeira A., Sousa A.B., Simao C. & Lemos M.C. (2015) A novel mutation of the HNF1B gene associated with hypoplastic glomerulocystic kidney disease and neonatal renal failure: a case report and mutation update. *Medicine (Baltimore)* **94**, e469.
- Amano Y., Mandai M., Yamaguchi K., Matsumura N., Kharma B., Baba T., Abiko K., Hamanishi J., Yoshioka Y. & Konishi I. (2015) Metabolic alterations caused by HNF1beta expression in ovarian clear cell carcinoma contribute to cell survival. *Oncotarget* **6**, 26002-17.
- Anik A., Catli G., Abaci A. & Bober E. (2015) Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update. *J Pediatr Endocrinol Metab* **28**, 251-63.
- Ayhan A., Akilli H. & Haberal N. (2019) The prognostic significance of stage I ovarian clear cell and endometrioid carcinomas arising from endometriotic cysts: is it a myth? *Arch Gynecol Obstet* **299**, 217-22.
- Banyai D., Sarlos D.P., Nagy A. & Kovacs G. (2018) Recalling Cohnheim's Theory: Papillary Renal Cell Tumor as a Model of Tumorigenesis from Impaired Embryonal Differentiation to Malignant Tumors in Adults. *Int J Biol Sci* **14**, 784-90.
- Baranova I., Kovarikova H., Laco J., Sedlakova I., Vrbacky F., Kovarik D., Hejna P., Palicka V. & Chmelarova M. (2020) Identification of a four-gene methylation biomarker panel in high-grade serous ovarian carcinoma. *Clin Chem Lab Med* **58**, 1332-40.
- Barbacci E., Chalkiadaki A., Masdeu C., Haumaitre C., Lokmane L., Loirat C., Cloarec S., Talianidis I., Bellanne-Chantelot C. & Cereghini S. (2004) HNF1beta/TCF2 mutations impair transactivation potential through altered co-regulator recruitment. *Hum Mol Genet* **13**, 3139-49.
- Bartu M., Dundr P., Nemejcova K., Ticha I., Hojny H. & Hajkova N. (2018) The Role of HNF1B in Tumorigenesis of Solid Tumours: a Review of Current Knowledge. *Folia Biol (Praha)* **64**, 71-83.
- Bas-Esteve E., Perez-Arguedas M., Guarda-Muratori G.A., Acien M. & Acien P. (2019) Endometriosis and ovarian cancer: Their association and relationship. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **X3**, 100053.
- Bellanne-Chantelot C., Chauveau D., Gautier J.F., Dubois-Laforgue D., Clauin S., Beaufile S., Wilhelm J.M., Boitard C., Noel L.H., Velho G. & Timsit J. (2004) Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations. *Ann Intern Med* **140**, 510-7.
- Berndt S.I., Sampson J., Yeager M., Jacobs K.B., Wang Z., Hutchinson A., Chung C., Orr N., Wacholder S., Chatterjee N., Yu K., Kraft P., Feigelson H.S., Thun M.J., Diver W.R., Albanes D., Virtamo J., Weinstein S., Schumacher F.R., Cancel-Tassin G., Cussenot O., Valeri A., Andriole G.L., Crawford E.D., Haiman C., Henderson B., Kolonel L., Le Marchand L., Siddiq A., Riboli E., Travis R.C., Kaaks R., Isaacs W., Isaacs S., Wiley



- K.E., Gronberg H., Wiklund F., Stattin P., Xu J., Zheng S.L., Sun J., Vatten L.J., Hveem K., Njolstad I., Gerhard D.S., Tucker M., Hayes R.B., Hoover R.N., Fraumeni J.F., Jr., Hunter D.J., Thomas G. & Chanock S.J. (2011) Large-scale fine mapping of the HNF1B locus and prostate cancer risk. *Hum Mol Genet* **20**, 3322-9.
- Bockenbauer D. & Jaureguierry G. (2016) HNF1B-associated clinical phenotypes: the kidney and beyond. *Pediatr Nephrol* **31**, 707-14.
- Bubancova I., Kovarikova H., Laco J., Ruzsova E., Dvorak O., Palicka V. & Chmelarova M. (2017) Next-Generation Sequencing Approach in Methylation Analysis of HNF1B and GATA4 Genes: Searching for Biomarkers in Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci* **18**.
- Buchner A., Castro M., Hennig A., Popp T., Assmann G., Stief C.G. & Zimmermann W. (2010) Downregulation of HNF-1B in renal cell carcinoma is associated with tumor progression and poor prognosis. *Urology* **76**, 507 e6-11.
- Cancer Genome Atlas Research N. (2015) The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. *Cell* **163**, 1011-25.
- Carithers L.J., Ardlie K., Barcus M., Branton P.A., Britton A., Buia S.A., Compton C.C., DeLuca D.S., Peter-Demchok J., Gelfand E.T., Guan P., Korzeniewski G.E., Lockhart N.C., Rabiner C.A., Rao A.K., Robinson K.L., Roche N.V., Sawyer S.J., Segre A.V., Shive C.E., Smith A.M., Sobin L.H., Undale A.H., Valentino K.M., Vaught J., Young T.R., Moore H.M. & Consortium G.T. (2015) A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. *Biopreserv Biobank* **13**, 311-9.
- Cereghini S. (1996) Liver-enriched transcription factors and hepatocyte differentiation. *FASEB J* **10**, 267-82.
- Clissold R.L., Fulford J., Hudson M., Shields B.M., McDonald T.J., Ellard S., Hattersley A.T. & Bingham C. (2018) Exocrine pancreatic dysfunction is common in hepatocyte nuclear factor 1beta-associated renal disease and can be symptomatic. *Clin Kidney J* **11**, 453-8.
- Clissold R.L., Hamilton A.J., Hattersley A.T., Ellard S. & Bingham C. (2015) HNF1B-associated renal and extra-renal disease-an expanding clinical spectrum. *Nat Rev Nephrol* **11**, 102-12.
- Conner J.R., Hirsch M.S. & Jo V.Y. (2015) HNF1beta and S100A1 are useful biomarkers for distinguishing renal oncocytoma and chromophobe renal cell carcinoma in FNA and core needle biopsies. *Cancer Cytopathol* **123**, 298-305.
- Cuff J. & Longacre T.A. (2012) Endometriosis does not confer improved prognosis in ovarian carcinoma of uniform cell type. *Am J Surg Pathol* **36**, 688-95.
- Cuff J., Salari K., Clarke N., Esheba G.E., Forster A.D., Huang S., West R.B., Higgins J.P., Longacre T.A. & Pollack J.R. (2013) Integrative bioinformatics links HNF1B with clear cell carcinoma and tumor-associated thrombosis. *PLoS One* **8**, e74562.
- D'Angelo A., Bluteau O., Garcia-Gonzalez M.A., Gresh L., Doyen A., Garbay S., Robine S. & Pontoglio M. (2010) Hepatocyte nuclear factor 1alpha and beta control terminal differentiation and cell fate commitment in the gut epithelium. *Development* **137**, 1573-82.
- Dan C., Zhang H., Zeng W., Huang L., Gong X., Li H., Yang E., Wang L. & Yao Q. (2019) HNF1B expression regulates ECI2 gene expression, potentially serving a role in prostate cancer progression. *Oncol Lett* **17**, 1094-100.
- De Simone V. & Cortese R. (1991) Transcriptional regulation of liver-specific gene expression. *Curr Opin Cell Biol* **3**, 960-5.
- Debiais-Delpech C., Godet J., Pedretti N., Bernard F.X., Irani J., Cathelineau X., Cussenot O. & Fromont G. (2014) Expression patterns of candidate susceptibility genes HNF1beta and CtBP2 in prostate cancer: association with tumor progression. *Urol Oncol* **32**, 426-32.

- Desgrange A., Heliot C., Skovorodkin I., Akram S.U., Heikkila J., Ronkainen V.P., Miinalainen I., Vainio S.J. & Cereghini S. (2017) HNF1B controls epithelial organization and cell polarity during ureteric bud branching and collecting duct morphogenesis. *Development* **144**, 4704-19.
- Dubois-Laforgue D., Cornu E., Saint-Martin C., Coste J., Bellanne-Chantelot C., Timsit J. & Monogenic Diabetes Study Group of the Societe Francophone du D. (2017) Diabetes, Associated Clinical Spectrum, Long-term Prognosis, and Genotype/Phenotype Correlations in 201 Adult Patients With Hepatocyte Nuclear Factor 1B (HNF1B) Molecular Defects. *Diabetes Care* **40**, 1436-43.
- Edghill E.L., Bingham C., Ellard S. & Hattersley A.T. (2006) Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet* **43**, 84-90.
- El-Khairi R. & Vallier L. (2016) The role of hepatocyte nuclear factor 1beta in disease and development. *Diabetes Obes Metab* **18 Suppl 1**, 23-32.
- Elliott K.S., Zeggini E., McCarthy M.I., Gudmundsson J., Sulem P., Stacey S.N., Thorlacius S., Amundadottir L., Gronberg H., Xu J., Gaborieau V., Eeles R.A., Neal D.E., Donovan J.L., Hamdy F.C., Muir K., Hwang S.J., Spitz M.R., Zanke B., Carvajal-Carmona L., Brown K.M., Australian Melanoma Family Study I, Hayward N.K., Macgregor S., Tomlinson I.P., Lemire M., Amos C.I., Murabito J.M., Isaacs W.B., Easton D.F., Brennan P., PanScan C., Barkardottir R.B., Gudbjartsson D.F., Rafnar T., Hunter D.J., Chanock S.J., Stefansson K. & Ioannidis J.P. (2010) Evaluation of association of HNF1B variants with diverse cancers: collaborative analysis of data from 19 genome-wide association studies. *PLoS One* **5**, e10858.
- Ferre S. & Igarashi P. (2019) New insights into the role of HNF-1beta in kidney (patho)physiology. *Pediatr Nephrol* **34**, 1325-35.
- Forbes S.A., Beare D., Gunasekaran P., Leung K., Bindal N., Boutselakis H., Ding M., Bamford S., Cole C., Ward S., Kok C.Y., Jia M., De T., Teague J.W., Stratton M.R., McDermott U. & Campbell P.J. (2015) COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res* **43**, D805-11.
- Graham J.S., Kaye S.B. & Brown R. (2009) The promises and pitfalls of epigenetic therapies in solid tumours. *Eur J Cancer* **45**, 1129-36.
- Grisanzio C., Werner L., Takeda D., Awoyemi B.C., Pomerantz M.M., Yamada H., Sooriakumaran P., Robinson B.D., Leung R., Schinzel A.C., Mills I., Ross-Adams H., Neal D.E., Kido M., Yamamoto T., Petrozziello G., Stack E.C., Lis R., Kantoff P.W., Loda M., Sartor O., Egawa S., Tewari A.K., Hahn W.C. & Freedman M.L. (2012) Genetic and functional analyses implicate the NUDT11, HNF1B, and SLC22A3 genes in prostate cancer pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 11252-7.
- Gudmundsson J., Sulem P., Steinthorsdottir V., Bergthorsson J.T., Thorleifsson G., Manolescu A., Rafnar T., Gudbjartsson D., Agnarsson B.A., Baker A., Sigurdsson A., Benediktsdottir K.R., Jakobsdottir M., Blondal T., Stacey S.N., Helgason A., Gunnarsdottir S., Olafsdottir A., Kristinsson K.T., Birgisdottir B., Ghosh S., Thorlacius S., Magnusdottir D., Stefansdottir G., Kristjansson K., Bagger Y., Wilensky R.L., Reilly M.P., Morris A.D., Kimber C.H., Adeyemo A., Chen Y., Zhou J., So W.Y., Tong P.C., Ng M.C., Hansen T., Andersen G., Borch-Johnsen K., Jorgensen T., Tres A., Fuertes F., Ruiz-Echarri M., Asin L., Saez B., van Boven E., Klaver S., Swinkels D.W., Aben K.K., Graif T., Cashy J., Suarez B.K., van Vierssen Trip O., Frigge M.L., Ober C., Hofker M.H., Wijmenga C., Christiansen C., Rader D.J., Palmer C.N., Rotimi C., Chan J.C., Pedersen O., Sigurdsson G., Benediktsdottir R., Jonsson E., Einarsson G.V., Mayordomo J.I., Catalona W.J., Kiemeny L.A., Barkardottir R.B., Gulcher J.R., Thorsteinsdottir U., Kong A. & Stefansson K. (2007) Two variants on chromosome 17 confer prostate cancer risk, and the one in TCF2 protects against type 2 diabetes. *Nat Genet* **39**, 977-83.

- Harries L.W., Perry J.R., McCullagh P. & Crundwell M. (2010) Alterations in LMTK2, MSMB and HNF1B gene expression are associated with the development of prostate cancer. *BMC Cancer* **10**, 315.
- Heidet L., Decramer S., Pawtowski A., Moriniere V., Bandin F., Knebelmann B., Lebre A.S., Faguer S., Guigonis V., Antignac C. & Salomon R. (2010) Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* **5**, 1079-90.
- Hindorff L.A., Gillanders E.M. & Manolio T.A. (2011) Genetic architecture of cancer and other complex diseases: lessons learned and future directions. *Carcinogenesis* **32**, 945-54.
- Hu Y.L., Zhong D., Pang F., Ning Q.Y., Zhang Y.Y., Li G., Wu J.Z. & Mo Z.N. (2013) HNF1b is involved in prostate cancer risk via modulating androgenic hormone effects and coordination with other genes. *Genet Mol Res* **12**, 1327-35.
- Huang W., Cheng X., Ji J., Zhang J. & Li Q. (2016) The Application Value of HNF-1beta Transcription Factor in the Diagnosis of Ovarian Clear Cell Carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* **35**, 66-71.
- Chaffer C.L., San Juan B.P., Lim E. & Weinberg R.A. (2016) EMT, cell plasticity and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* **35**, 645-54.
- Chan S.C., Zhang Y., Shao A., Avdulov S., Herrera J., Aboudehen K., Pontoglio M. & Igarashi P. (2018) Mechanism of Fibrosis in HNF1B-Related Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* **29**, 2493-509.
- Chornokur G., Amankwah E.K., Davis S.N., Phelan C.M., Park J.Y., Pow-Sang J. & Kumar N.B. (2013) Variation in HNF1B and Obesity May Influence Prostate Cancer Risk in African American Men: A Pilot Study. *Prostate Cancer* **2013**, 384594.
- Ishibashi H., Takano M., Miyamoto M., Soyama H., Matsuura H., Aoyama T., Yoshikawa T., Kato K., Tsuda H. & Furuya K. (2017) Role of endometriosis as a prognostic factor for post-progression survival in ovarian clear cell carcinoma. *Mol Clin Oncol* **7**, 1027-31.
- Itamochi H., Kigawa J. & Terakawa N. (2008) Mechanisms of chemoresistance and poor prognosis in ovarian clear cell carcinoma. *Cancer Sci* **99**, 653-8.
- James D. Brierley M.K.G., Christian Wittekind (2018) *TNM klasifikace zhoubných novotvarů*, Praha.
- Janky R., Binda M.M., Allemeersch J., Van den Broeck A., Govaere O., Swinnen J.V., Roskams T., Aerts S. & Topal B. (2016) Prognostic relevance of molecular subtypes and master regulators in pancreatic ductal adenocarcinoma. *BMC Cancer* **16**, 632.
- Kalloger S.E., Kobel M., Leung S., Mehl E., Gao D., Marcon K.M., Chow C., Clarke B.A., Huntsman D.G. & Gilks C.B. (2011) Calculator for ovarian carcinoma subtype prediction. *Mod Pathol* **24**, 512-21.
- Kao Y.C., Lin M.C., Lin W.C., Jeng Y.M. & Mao T.L. (2012) Utility of hepatocyte nuclear factor-1beta as a diagnostic marker in ovarian carcinomas with clear cells. *Histopathology* **61**, 760-8.
- Kato N., Sasou S. & Motoyama T. (2006) Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) in clear cell tumors and endometriosis of the ovary. *Mod Pathol* **19**, 83-9.
- Ke-Sheng Wang D.O., Yue Pan, Chun Xu (2014) Common Genetic Variants in the HNF1B Gene Contribute to Diabetes and Multiple Cancers. *Austin Biomarkers & Diagnosis* **1**, 1-5.
- Kim H.J., Bae J.S., Lee J., Chang I.H., Kim K.D., Shin H.D., Han J.H., Lee S.Y., Kim W. & Myung S.C. (2011) HNF1B polymorphism associated with development of prostate cancer in Korean patients. *Urology* **78**, 969 e1-6.
- Kobel M., Kalloger S.E., Carrick J., Huntsman D., Asad H., Oliva E., Ewanowich C.A., Soslow R.A. & Gilks C.B. (2009) A limited panel of immunomarkers can reliably distinguish

- between clear cell and high-grade serous carcinoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* **33**, 14-21.
- Kobel M., Kalloger S.E., Huntsman D.G., Santos J.L., Swenerton K.D., Seidman J.D., Gilks C.B. & Cheryl Brown Ovarian Cancer Outcomes Unit of the British Columbia Cancer Agency V.B.C. (2010) Differences in tumor type in low-stage versus high-stage ovarian carcinomas. *Int J Gynecol Pathol* **29**, 203-11.
- Komiyama S., Aoki D., Katsuki Y. & Nozawa S. (2006) Proliferative activity of early ovarian clear cell adenocarcinoma depends on association with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **127**, 130-6.
- Kompatscher A., de Baaij J.H.F., Aboudehen K., Farahani S., van Son L.H.J., Milatz S., Himmerkus N., Veenstra G.C., Bindels R.J.M. & Hoenderop J.G.J. (2018) Transcription factor HNF1beta regulates expression of the calcium-sensing receptor in the thick ascending limb of the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* **315**, F27-F35.
- Kondi-Pafiti A., Papakonstantinou E., Iavazzo C., Grigoriadis C., Salakos N. & Gregoriou O. (2012) Clinicopathological characteristics of ovarian carcinomas associated with endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* **285**, 479-83.
- Kountourakis P., Souglakos J., Gouvas N., Androulakis N., Athanasiadis A., Boukovinas I., Christodoulou C., Chrysou E., Dervenis C., Emmanouilidis C., Georgiou P., Karachaliou N., Katopodi O., Makatsoris T., Papakostas P., Pentheroudakis G., Pilpilidis I., Sgouros J., Tekkis P., Triantopoulou C., Tzardi M., Vassiliou V., Vini L., Xynogalos S., Xynos E., Ziras N. & Papamichael D. (2016) Adjuvant chemotherapy for colon cancer: a consensus statement of the Hellenic and Cypriot Colorectal Cancer Study Group by the HeSMO. *Ann Gastroenterol* **29**, 18-23.
- Lau H.H., Ng N.H.J., Loo L.S.W., Jasmen J.B. & Teo A.K.K. (2018) The molecular functions of hepatocyte nuclear factors - In and beyond the liver. *J Hepatol* **68**, 1033-48.
- Laurent-Puig P., Plomteux O., Bluteau O., Zinzindohoue F., Jeannot E., Dahan K., Kartheuser A., Chapusot C., Cugnenc P.H. & Zucman-Rossi J. (2003) Frequent mutations of hepatocyte nuclear factor 1 in colorectal cancer with microsatellite instability. *Gastroenterology* **124**, 1311-4.
- Lebrun G., Vasiliu V., Bellanne-Chantelot C., Bensman A., Ulinski T., Chretien Y. & Grunfeld J.P. (2005) Cystic kidney disease, chromophobe renal cell carcinoma and TCF2 (HNF1 beta) mutations. *Nat Clin Pract Nephrol* **1**, 115-9.
- Li J., Zhang Y., Gao Y., Cui Y., Liu H., Li M. & Tian Y. (2014) Downregulation of HNF1 homeobox B is associated with drug resistance in ovarian cancer. *Oncol Rep* **32**, 979-88.
- Liu Y., Kanyomse Q. & Xie Y. (2019) Tumor-suppressive activity of Hnf1beta in Wilms' tumor. *Biosci Biotechnol Biochem* **83**, 2008-15.
- Lokmane L., Haumaitre C., Garcia-Villalba P., Anselme I., Schneider-Maunoury S. & Cereghini S. (2008) Crucial role of vHNF1 in vertebrate hepatic specification. *Development* **135**, 2777-86.
- Lu W., Sun J., Zhou H., Wang F., Zhao C., Li K., Fan C., Ding G. & Wang J. (2020) HNF1B inhibits cell proliferation via repression of SMAD6 expression in prostate cancer. *J Cell Mol Med*.
- Madariaga L., Garcia-Castano A., Ariceta G., Martinez-Salazar R., Aguayo A., Castano L. & Spanish group for the study of H.N.F.B.m. (2019) Variable phenotype in HNF1B mutations: extrarenal manifestations distinguish affected individuals from the population with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Clin Kidney J* **12**, 373-9.
- Mandato V.D., Farnetti E., Torricelli F., Abrate M., Casali B., Ciarlini G., Pirillo D., Gelli M.C., Nicoli D., Grassi M., GB L.A.S. & Palomba S. (2015) HNF1B polymorphism

- influences the prognosis of endometrial cancer patients: a cohort study. *BMC Cancer* **15**, 229.
- Matsui A., Fujimoto J., Ishikawa K., Ito E., Goshima N., Watanabe S. & Semba K. (2016) Hepatocyte nuclear factor 1 beta induces transformation and epithelial-to-mesenchymal transition. *FEBS Lett* **590**, 1211-21.
- Nemejcova K., Cibula D. & Dunder P. (2015) Expression of HNF-1beta in cervical carcinomas: an immunohistochemical study of 155 cases. *Diagn Pathol* **10**, 8.
- Nemejcova K., Ticha I., Kleiblova P., Bartu M., Cibula D., Jirsova K. & Dunder P. (2016) Expression, Epigenetic and Genetic Changes of HNF1B in Endometrial Lesions. *Pathol Oncol Res* **22**, 523-30.
- Noto H., Osame K., Sasazuki T. & Noda M. (2010) Substantially increased risk of cancer in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of epidemiologic evidence in Japan. *J Diabetes Complications* **24**, 345-53.
- Okamoto T., Mandai M., Matsumura N., Yamaguchi K., Kondoh H., Amano Y., Baba T., Hamanishi J., Abiko K., Kosaka K., Murphy S.K., Mori S. & Konishi I. (2015) Hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) promotes glucose uptake and glycolytic activity in ovarian clear cell carcinoma. *Mol Carcinog* **54**, 35-49.
- Okorn C., Goertz A., Vester U., Beck B.B., Bergmann C., Habbig S., Konig J., Konrad M., Muller D., Oh J., Ortiz-Bruchle N., Patzer L., Schild R., Seeman T., Staude H., Thumfart J., Tonshoff B., Walden U., Weber L., Zaniew M., Zappel H., Hoyer P.F. & Weber S. (2019) HNF1B nephropathy has a slow-progressive phenotype in childhood-with the exception of very early onset cases: results of the German Multicenter HNF1B Childhood Registry. *Pediatr Nephrol* **34**, 1065-75.
- Omura Y., Yagi K., Honoki H., Iwata M., Enkaku A., Takikawa A., Kuwano T., Watanabe Y., Nishimura A., Liu J., Chujo D., Fujisaka S., Enya M., Horikawa Y. & Tobe K. (2019) Clinical manifestations of a sporadic maturity-onset diabetes of the young (MODY) 5 with a whole deletion of HNF1B based on 17q12 microdeletion. *Endocr J* **66**, 1113-6.
- Painter J.N., O'Mara T.A., Batra J., Cheng T., Lose F.A., Dennis J., Michailidou K., Tyrer J.P., Ahmed S., Ferguson K., Healey C.S., Kaufmann S., Hillman K.M., Walpole C., Moya L., Pollock P., Jones A., Howarth K., Martin L., Gorman M., Hodgson S., National Study of Endometrial Cancer Genetics G., Consortium C., De Polanco M.M., Sans M., Carracedo A., Castellvi-Bel S., Rojas-Martinez A., Santos E., Teixeira M.R., Carvajal-Carmona L., Shu X.O., Long J., Zheng W., Xiang Y.B., Australian National Endometrial Cancer Study G., Montgomery G.W., Webb P.M., Scott R.J., McEvoy M., Attia J., Holliday E., Martin N.G., Nyholt D.R., Henders A.K., Fasching P.A., Hein A., Beckmann M.W., Renner S.P., Dork T., Hillemanns P., Durst M., Runnebaum I., Lambrechts D., Coenegrachts L., Schrauwen S., Amant F., Winterhoff B., Dowdy S.C., Goode E.L., Teoman A., Salvesen H.B., Trovik J., Njolstad T.S., Werner H.M., Ashton K., Proietto T., Otton G., Tzortzatos G., Mints M., Tham E., Rendocas, Hall P., Czene K., Liu J., Li J., Hopper J.L., Southey M.C., Australian Ovarian Cancer S., Ekici A.B., Ruebner M., Johnson N., Peto J., Burwinkel B., Marme F., Brenner H., Dieffenbach A.K., Meindl A., Brauch H., Network G., Lindblom A., Depreeuw J., Moisse M., Chang-Claude J., Rudolph A., Couch F.J., Olson J.E., Giles G.G., Bruinsma F., Cunningham J.M., Fridley B.L., Borresen-Dale A.L., Kristensen V.N., Cox A., Swerdlow A.J., Orr N., Bolla M.K., Wang Q., Weber R.P., Chen Z., Shah M., French J.D., Pharoah P.D., Dunning A.M., Tomlinson I., Easton D.F., Edwards S.L., Thompson D.J. & Spurdle A.B. (2015) Fine-mapping of the HNF1B multicancer locus identifies candidate variants that mediate endometrial cancer risk. *Hum Mol Genet* **24**, 1478-92.
- Pontoglio M. (2000) Hepatocyte nuclear factor 1, a transcription factor at the crossroads of glucose homeostasis. *J Am Soc Nephrol* **11 Suppl 16**, S140-3.

- Rebouissou S., Vasiliu V., Thomas C., Bellanne-Chantelot C., Bui H., Chretien Y., Timsit J., Rosty C., Laurent-Puig P., Chauveau D. & Zucman-Rossi J. (2005) Germline hepatocyte nuclear factor 1alpha and 1beta mutations in renal cell carcinomas. *Hum Mol Genet* **14**, 603-14.
- Rezanejad H., Ouziel-Yahalom L., Keyzer C.A., Sullivan B.A., Hollister-Lock J., Li W.C., Guo L., Deng S., Lei J., Markmann J. & Bonner-Weir S. (2018) Heterogeneity of SOX9 and HNF1beta in Pancreatic Ducts Is Dynamic. *Stem Cell Reports* **10**, 725-38.
- Rios-Tamayo R., Lupianez C.B., Campa D., Hielscher T., Weinhold N., Martinez-Lopez J., Jerez A., Landi S., Jamroziak K., Dumontet C., Watek M., Lesueur F., Reis R.M., Marques H., Jurczynski A., Vogel U., Buda G., Garcia-Sanz R., Orciuolo E., Petrini M., Vangsted A.J., Gemignani F., Forsti A., Goldschmidt H., Hemminki K., Canzian F., Jurado M. & Sainz J. (2016) A common variant within the HNF1B gene is associated with overall survival of multiple myeloma patients: results from the IMMENSE consortium and meta-analysis. *Oncotarget* **7**, 59029-48.
- Ross-Adams H., Ball S., Lawrenson K., Halim S., Russell R., Wells C., Strand S.H., Orntoft T.F., Larson M., Armasu S., Massie C.E., Asim M., Mortensen M.M., Borre M., Woodfine K., Warren A.Y., Lamb A.D., Kay J., Whitaker H., Ramos-Montoya A., Murrell A., Sorensen K.D., Fridley B.L., Goode E.L., Gayther S.A., Masters J., Neal D.E. & Mills I.G. (2016) HNF1B variants associate with promoter methylation and regulate gene networks activated in prostate and ovarian cancer. *Oncotarget* **7**, 74734-46.
- Rougemont A.L. & Tille J.C. (2018) Role of HNF1beta in the differential diagnosis of yolk sac tumor from other germ cell tumors. *Hum Pathol* **81**, 26-36.
- Senkel S., Lucas B., Klein-Hitpass L. & Ryffel G.U. (2005) Identification of target genes of the transcription factor HNF1beta and HNF1alpha in a human embryonic kidney cell line. *Biochim Biophys Acta* **1731**, 179-90.
- Setiawan V.W., Haessler J., Schumacher F., Cote M.L., Deelman E., Fesinmeyer M.D., Henderson B.E., Jackson R.D., Vockler J.S., Wilkens L.R., Yasmeen S., Haiman C.A., Peters U., Le Marchand L. & Kooperberg C. (2012) HNF1B and endometrial cancer risk: results from the PAGE study. *PLoS One* **7**, e30390.
- Shen H., Fridley B.L., Song H., Lawrenson K., Cunningham J.M., Ramus S.J., Cicek M.S., Tyrer J., Stram D., Larson M.C., Kobel M., Consortium P., Ziogas A., Zheng W., Yang H.P., Wu A.H., Wozniak E.L., Woo Y.L., Winterhoff B., Wik E., Whittemore A.S., Wentzensen N., Weber R.P., Vitonis A.F., Vincent D., Vierkant R.A., Vergote I., Van Den Berg D., Van Altena A.M., Tworoger S.S., Thompson P.J., Tessier D.C., Terry K.L., Teo S.H., Templeman C., Stram D.O., Southey M.C., Sieh W., Siddiqui N., Shvetsov Y.B., Shu X.O., Shridhar V., Wang-Gohrke S., Severi G., Schwaab I., Salvesen H.B., Rzepecka I.K., Runnebaum I.B., Rossing M.A., Rodriguez-Rodriguez L., Risch H.A., Renner S.P., Poole E.M., Pike M.C., Phelan C.M., Peltari L.M., Pejovic T., Paul J., Orlov I., Omar S.Z., Olson S.H., Odunsi K., Nickels S., Nevanlinna H., Ness R.B., Narod S.A., Nakanishi T., Moysich K.B., Monteiro A.N., Moes-Sosnowska J., Modugno F., Menon U., McLaughlin J.R., McGuire V., Matsuo K., Adenan N.A., Massuger L.F., Lurie G., Lundvall L., Lubinski J., Lissowska J., Levine D.A., Leminen A., Lee A.W., Le N.D., Lambrechts S., Lambrechts D., Kupryjanczyk J., Krakstad C., Konecny G.E., Kjaer S.K., Kiemeny L.A., Kelemen L.E., Keeney G.L., Karlan B.Y., Karevan R., Kalli K.R., Kajiyama H., Ji B.T., Jensen A., Jakubowska A., Iversen E., Hosono S., Hogdall C.K., Hogdall E., Hoatlin M., Hillemanns P., Heitz F., Hein R., Harter P., Halle M.K., Hall P., Gronwald J., Gore M., Goodman M.T., Giles G.G., Gentry-Maharaj A., Garcia-Closas M., Flanagan J.M., Fasching P.A., Ekici A.B., Edwards R., Eccles D., Easton D.F., Durst M., du Bois A., Dork T., Doherty J.A.,

- Despierre E., Dansonka-Mieszkowska A., Cybulski C., Cramer D.W., Cook L.S., Chen X., Charbonneau B., Chang-Claude J., Campbell I., Butzow R., Bunker C.H., Brueggmann D., Brown R., Brooks-Wilson A., Brinton L.A., Bogdanova N., Block M.S., Benjamin E., Beesley J., Beckmann M.W., Bandera E.V., Baglietto L., Bacot F., Armasu S.M., Antonenkova N., Anton-Culver H., Aben K.K., Liang D., Wu X., Lu K., Hildebrandt M.A., Australian Ovarian Cancer Study G., Australian Cancer S., Schildkraut J.M., Sellers T.A., Huntsman D., Berchuck A., Chenevix-Trench G., Gayther S.A., Pharoah P.D., Laird P.W., Goode E.L. & Pearce C.L. (2013) Epigenetic analysis leads to identification of HNF1B as a subtype-specific susceptibility gene for ovarian cancer. *Nat Commun* **4**, 1628.
- Shigetomi H., Sudo T., Shimada K., Uekuri C., Tsuji Y., Kanayama S., Naruse K., Yamada Y., Konishi N. & Kobayashi H. (2014) Inhibition of cell death and induction of G2 arrest accumulation in human ovarian clear cells by HNF-1beta transcription factor: chemosensitivity is regulated by checkpoint kinase CHK1. *Int J Gynecol Cancer* **24**, 838-43.
- Shim J.H., Lee H.C., Han S., Kang H.J., Yu E. & Lee S.G. (2013) Hepatocyte nuclear factor 1beta is a novel prognostic marker independent of the Milan criteria in transplantable hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis based on tissue microarrays. *Liver Transpl* **19**, 336-45.
- Silva T.D., Vidigal V.M., Felipe A.V., JM D.E.L., Neto R.A., Saad S.S. & Forones N.M. (2013) DNA methylation as an epigenetic biomarker in colorectal cancer. *Oncol Lett* **6**, 1687-92.
- Singh M.P., Rai S., Pandey A., Singh N.K. & Srivastava S. (2019) Molecular subtypes of colorectal cancer: An emerging therapeutic opportunity for personalized medicine. *Genes & Diseases*.
- Specht E., Kaemmerer D., Sanger J., Wirtz R.M., Schulz S. & Lupp A. (2015) Comparison of immunoreactive score, HER2/neu score and H score for the immunohistochemical evaluation of somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms. *Histopathology* **67**, 368-77.
- Spurdle A.B., Thompson D.J., Ahmed S., Ferguson K., Healey C.S., O'Mara T., Walker L.C., Montgomery S.B., Dermitzakis E.T., Australian National Endometrial Cancer Study G., Fahey P., Montgomery G.W., Webb P.M., Fasching P.A., Beckmann M.W., Ekici A.B., Hein A., Lambrechts D., Coenegrachts L., Vergote I., Amant F., Salvesen H.B., Trovik J., Njolstad T.S., Helland H., Scott R.J., Ashton K., Proietto T., Otton G., National Study of Endometrial Cancer Genetics G., Tomlinson I., Gorman M., Howarth K., Hodgson S., Garcia-Closas M., Wentzensen N., Yang H., Chanock S., Hall P., Czene K., Liu J., Li J., Shu X.O., Zheng W., Long J., Xiang Y.B., Shah M., Morrison J., Michailidou K., Pharoah P.D., Dunning A.M. & Easton D.F. (2011) Genome-wide association study identifies a common variant associated with risk of endometrial cancer. *Nat Genet* **43**, 451-4.
- Stevens V.L., Ahn J., Sun J., Jacobs E.J., Moore S.C., Patel A.V., Berndt S.I., Albanes D. & Hayes R.B. (2010) HNF1B and JAZF1 genes, diabetes, and prostate cancer risk. *Prostate* **70**, 601-7.
- Stiles C.E., Thuraisingham R., Bockenbauer D., Platts L., Kumar A.V. & Korbonits M. (2018) De novo HNF1 homeobox B mutation as a cause for chronic, treatment-resistant hypomagnesaemia. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* **2018**.
- Suaud L., Joseph B., Formstecher P. & Laine B. (1997) mRNA expression of HNF-4 isoforms and of HNF-1alpha/HNF-1beta variants and differentiation of human cell lines that mimic highly specialized phenotypes of intestinal epithelium. *Biochem Biophys Res Commun* **235**, 820-5.

- Sugiyama T., Kamura T., Kigawa J., Terakawa N., Kikuchi Y., Kita T., Suzuki M., Sato I. & Taguchi K. (2000) Clinical characteristics of clear cell carcinoma of the ovary: a distinct histologic type with poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy. *Cancer* **88**, 2584-9.
- Sun J., Zheng S.L., Wiklund F., Isaacs S.D., Purcell L.D., Gao Z., Hsu F.C., Kim S.T., Liu W., Zhu Y., Stattin P., Adami H.O., Wiley K.E., Dimitrov L., Sun J., Li T., Turner A.R., Adams T.S., Adolfsson J., Johansson J.E., Lowey J., Trock B.J., Partin A.W., Walsh P.C., Trent J.M., Duggan D., Carpten J., Chang B.L., Gronberg H., Isaacs W.B. & Xu J. (2008) Evidence for two independent prostate cancer risk-associated loci in the HNF1B gene at 17q12. *Nat Genet* **40**, 1153-5.
- Sun J.Z., Yang X.X., Hu N.Y., Li X., Li F.X. & Li M. (2011) Genetic Variants in MMP9 and TCF2 Contribute to Susceptibility to Lung Cancer. *Chin J Cancer Res* **23**, 183-7.
- Sun M., Tong P., Kong W., Dong B., Huang Y., Park I.Y., Zhou L., Liu X.D., Ding Z., Zhang X., Bai S., German P., Powell R., Wang Q., Tong X., Tannir N.M., Matin S.F., Rathmell W.K., Fuller G.N., McCutcheon I.E., Walker C.L., Wang J. & Jonasch E. (2017) HNF1B Loss Exacerbates the Development of Chromophobe Renal Cell Carcinomas. *Cancer Res* **77**, 5313-26.
- Suraweera N., Duval A., Reperant M., Vaury C., Furlan D., Leroy K., Seruca R., Iacopetta B. & Hamelin R. (2002) Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology* **123**, 1804-11.
- Suzuki E., Kajita S., Takahashi H., Matsumoto T., Tsuruta T. & Saegusa M. (2015) Transcriptional upregulation of HNF-1beta by NF-kappaB in ovarian clear cell carcinoma modulates susceptibility to apoptosis through alteration in bcl-2 expression. *Lab Invest* **95**, 962-72.
- Szponar A., Yusenko M.V., Kuiper R., van Kessel A.G. & Kovacs G. (2011) Genomic profiling of papillary renal cell tumours identifies small regions of DNA alterations: a possible role of HNF1B in tumour development. *Histopathology* **58**, 934-43.
- Takenaka M., Kobel M., Garsed D.W., Fereday S., Pandey A., Etemadmoghadam D., Hendley J., Kawabata A., Noguchi D., Yanaihara N., Takahashi H., Kiyokawa T., Ikegami M., Takano H., Isonishi S., Ochiai K., Traficante N., Gadipally S., Semple T., Vassiliadis D., Amarasinghe K., Li J., Mir Arnau G., Okamoto A., Friedlander M., Bowtell D.D.L. & Australian Ovarian Cancer Study G. (2019) Survival Following Chemotherapy in Ovarian Clear Cell Carcinoma Is Not Associated with Pathological Misclassification of Tumor Histotype. *Clin Cancer Res* **25**, 3962-73.
- Terasawa K., Toyota M., Sagae S., Ogi K., Suzuki H., Sonoda T., Akino K., Maruyama R., Nishikawa N., Imai K., Shinomura Y., Saito T. & Tokino T. (2006) Epigenetic inactivation of TCF2 in ovarian cancer and various cancer cell lines. *Br J Cancer* **94**, 914-21.
- Thomas G., Jacobs K.B., Yeager M., Kraft P., Wacholder S., Orr N., Yu K., Chatterjee N., Welch R., Hutchinson A., Crenshaw A., Cancel-Tassin G., Staats B.J., Wang Z., Gonzalez-Bosquet J., Fang J., Deng X., Berndt S.I., Calle E.E., Feigelson H.S., Thun M.J., Rodriguez C., Albanes D., Virtamo J., Weinstein S., Schumacher F.R., Giovannucci E., Willett W.C., Cussenot O., Valeri A., Andriole G.L., Crawford E.D., Tucker M., Gerhard D.S., Fraumeni J.F., Jr., Hoover R., Hayes R.B., Hunter D.J. & Chanock S.J. (2008) Multiple loci identified in a genome-wide association study of prostate cancer. *Nat Genet* **40**, 310-5.
- Ticha I., Hojny J., Michalkova R., Kodet O., Krkavcova E., Hajkova N., Nemejcova K., Bartu M., Jakska R., Dura M., Kanwal M., Martinikova A.S., Macurek L., Zemankova P., Kleibl Z. & Dunder P. (2019) A comprehensive evaluation of pathogenic mutations in



- primary cutaneous melanomas, including the identification of novel loss-of-function variants. *Sci Rep* **9**, 17050.
- Tomassetti A., De Santis G., Castellano G., Miotti S., Mazzi M., Tomasoni D., Van Roy F., Carcangiu M.L. & Canevari S. (2008) Variant HNF1 modulates epithelial plasticity of normal and transformed ovary cells. *Neoplasia* **10**, 1481-92, 3p following 92.
- Tong Y., Qu Y., Li S., Zhao F., Wang Y. & Mu D. (2018) Cumulative evidence for relationships between multiple variants of HNF1B and the risk of prostate and endometrial cancers. *BMC Med Genet* **19**, 128.
- Tsuchiya A., Sakamoto M., Yasuda J., Chuma M., Ohta T., Ohki M., Yasugi T., Taketani Y. & Hirohashi S. (2003) Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: identification of hepatocyte nuclear factor-1 beta as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma. *Am J Pathol* **163**, 2503-12.
- Verhave J.C., Bech A.P., Wetzels J.F. & Nijenhuis T. (2016) Hepatocyte Nuclear Factor 1beta-Associated Kidney Disease: More than Renal Cysts and Diabetes. *J Am Soc Nephrol* **27**, 345-53.
- von Brandenstein M., Schlosser M., Herden J., Heidenreich A., Storkel S. & Fries J.W.U. (2018) MicroRNAs as Urinary Biomarker for Oncocytoma. *Dis Markers* **2018**, 6979073.
- Wang C.C., Mao T.L., Yang W.C. & Jeng Y.M. (2013) Underexpression of hepatocyte nuclear factor-1beta in chromophobe renal cell carcinoma. *Histopathology* **62**, 589-94.
- Wang J., He C., Gao P., Wang S., Lv R., Zhou H., Zhou Q., Zhang K., Sun J., Fan C., Ding G. & Lan F. (2020) HNF1B-mediated repression of SLUG is suppressed by EZH2 in aggressive prostate cancer. *Oncogene* **39**, 1335-46.
- Wojdacz T.K., Dobrovic A. & Hansen L.L. (2008) Methylation-sensitive high-resolution melting. *Nat Protoc* **3**, 1903-8.
- Yamamoto S., Tsuda H., Aida S., Shimazaki H., Tamai S. & Matsubara O. (2007) Immunohistochemical detection of hepatocyte nuclear factor 1beta in ovarian and endometrial clear-cell adenocarcinomas and nonneoplastic endometrium. *Hum Pathol* **38**, 1074-80.
- Yang R., Kerschner J.L. & Harris A. (2016) Hepatocyte nuclear factor 1 coordinates multiple processes in a model of intestinal epithelial cell function. *Biochim Biophys Acta* **1859**, 591-8.
- Yu D.D., Guo S.W., Jing Y.Y., Dong Y.L. & Wei L.X. (2015a) A review on hepatocyte nuclear factor-1beta and tumor. *Cell Biosci* **5**, 58.
- Yu D.D., Jing Y.Y., Guo S.W., Ye F., Lu W., Li Q., Dong Y.L., Gao L., Yang Y.T., Yang Y., Wu M.C. & Wei L.X. (2015b) Overexpression Of Hepatocyte Nuclear Factor-1beta Predicting Poor Prognosis Is Associated With Biliary Phenotype In Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Sci Rep* **5**, 13319.
- Zhao Y., Liang J., Qi J.G., Yang N., Wu G., Lin Y.L., Cao J.Y., Wang Q. & Wang Q.C. (2015) Meta-analysis of the association between the HNF1B rs4430796 (A>G) polymorphism and risk of prostate cancer based on case-control studies. *Genet Mol Res* **14**, 7426-35.
- Zheng J., Liu X., Xue Y., Gong W., Ma J., Xi Z., Que Z. & Liu Y. (2017) TTBK2 circular RNA promotes glioma malignancy by regulating miR-217/HNF1beta/Derlin-1 pathway. *J Hematol Oncol* **10**, 52.

## Seznam publikací doktoranda

### 1. Publikace, které jsou podkladem disertace:

#### a) s IF

1. Bártů, M., Dundr, P., Němejcová, K., Tichá, I., Hojný, H., & Hájková, N. (2018). The Role of HNF1B in Tumorigenesis of Solid Tumours: a Review of Current Knowledge. *Folia biologica*, 64(3), 71–83. (IF = 0.691)
2. Bártů, M., Hojný, J., Hájková, N., Michálková, R., Krkavcová, E., Hadravský, L., Kleissnerová, L., Bui, Q. H., Stružinská, I., Němejcová, K., Čapoun, O., Šlemendová, M., & Dundr, P. (2020). Analysis of expression, epigenetic, and genetic changes of HNF1B in 130 kidney tumours. *Scientific reports*, 10(1), 17151. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74059-z>. (IF = 3.998)
3. Bártů, M., Hojný, J., Hájková, N., Michálková, R., Krkavcová, E., Simon, K., Frýba, V., Stružinská, I., Němejcová, K., & Dundr, P. (2020). Expression, Epigenetic, and Genetic Changes of HNF1B in Colorectal Lesions: an Analysis of 145 Cases. *Pathology oncology research*, 26(4), 2337–2350. <https://doi.org/10.1007/s12253-020-00830-2>. (IF = 2.826)
4. Dundr, P., Bártů, M., Hojný, J., Michálková, R., Hájková, N., Stružinská, I., Krkavcová, E., Hadravský, L., Kleissnerová, L., Kopejsková, J., Hiep, B. Q., Němejcová, K., Jakša, R., Čapoun, O., Řezáč, J., Jirsová, K., & Franková, V. (2020). HNF1B, EZH2 and ECI2 in prostate carcinoma. Molecular, immunohistochemical and clinico-pathological study. *Scientific reports*, 10(1), 14365. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71427-7>. (IF = 3.998)
5. Hojny, J., Bartu, M., Krkavcova, E., Nemejcova, K., Sevcik, J., Cibula, D., Fryba, V., Plincelnerova, L., Dundr, P., & Struzinska, I. (2020). Identification of novel HNF1B mRNA splicing variants and their qualitative and semi-quantitative profile in selected healthy and tumour tissues. *Scientific reports*, 10(1), 6958. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63733-x>. (IF = 3.998)
6. Němejcová, K., Bártů, M., Hojný, J., Hájková, N., Michálková, R., Krkavcová, E., Stružinská, I., Bui, H.Q., Dundr, P., Cibula, D., Jirsová, K. A comprehensive analysis of the expression, epigenetic and genetic changes of HNF1B and ECI2 in 122 cases of high-grade serous ovarian carcinoma. *Oncol Lett.* 2021 Mar;21(3):185. doi: 10.3892/ol.2021.12446. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33574924; PMCID: PMC7816296. (IF = 2.311)

### 2. Publikace bez vztahu k tématu disertace:

#### a) s IF

1. Němejcová, K., Tichá, I., Kleiblová, P., Bártů, M., Cibula, D., Dundr, P. 3. Expression, epigenetic and genetic changes of HNF1B in endometrial lesions. *Pathol Oncol Res.* 2016 Jul; 22(3): 523-30. (IF = 2.826)

2. Nemejcova, K., Rosmusová, J., Bártů, M., Dura, M., Tichá, I., Dundr, P. Expression of Glut-1 in Normal Endometrium and Endometrial Lesions: Analysis of 336 Cases. *Int J Surg Pathol.* 2017; 25(5): 389-396 (IF = 1.188)
3. Důra, M., Němejcová, K., Jakša, R., Bártů, M., Kodet, O., Tichá, I., Michálková, R., Dundr, P. Expression of Glut-1 in Malignant Melanoma and Melanocytic Nevi: an Immunohistochemical Study of 400 Cases. *Pathol Oncol Res*, 2017. (IF = 2.826)
4. Dundr, P., Simon, K., Němejcová, K., Bártů, M., Tichá, I., Michálková, R., Jakša, R., Věcková, Z., Kodet, O. Stathmin is a potential therapeutic target but not a prognostic marker in melanoma: an immunohistochemical study of 323 melanocytic lesions. *Melanoma Res.* 2019; 29(2): 157-162 (IF = 2.750)
5. Němejcová, K., Tichá, I., Bártů, M., Kodet, O., Důra, M., Jakša, R., Michálková, R., Dundr, P. Comparison of five different scoring methods in the evaluation of inflammatory infiltration (tumor-infiltrating lymphocytes) in superficial spreading and nodular melanoma. *Pigment Cell & Melanoma Research.* 2019 May;32(3):412-423.(IF = 3.683)
6. Němejcová, K., Hájková, N., Tichá, I., Bártů, M., Dolínská, D., Kalist, V., Dundr, P. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the endometrium: Case report of a rare tumour with comprehensive immunohistochemical and molecular analysis. *Pol J Pathol.* 2018; 69(1): 87-92. (IF = 0.903)
7. Hájková, N., Tichá, I., Hojný, J., Němejcová, K., Bártů, M., Michálková, R., Zikán, M., Cibula, D., Laco, J., Geryk, T., Méhes, G., Dundr, P. Synchronous endometrioid endometrial and ovarian carcinomas are biologically related: A clinico-pathological and molecular (next generation sequencing) study of 22 cases. *Oncol Lett.* 2019 Feb; 17(2): 2207-2214. (IF = 2.311)
8. Gregová, M., Hojný, J., Němejcová, K., Bártů, M., Mára, M., Boudová, B., Laco, J., Krbal, L., Tichá, I., Dundr, P. Leiomyoma with Bizarre Nuclei: a Study of 108 Cases Focusing on Clinicopathological Features, Morphology, and Fumarate Hydratase Alterations. *Pathology and Oncology Research.* 2019 Aug 31; (IF = 2.826)
9. Ticha, I., Hojny, J., Michalkova, R., Kodet, O., Krkavcova, E., Hajkova, N., Nemejcova, K., Bartu, M., Jaks, R., Dura, M., Kanwal, M., Martinikova, A.S., Macurek, L., Zemankova, P., Kleibl, Z., Dundr, P. A comprehensive evaluation of pathogenic mutations in primary cutaneous melanomas, including the identification of novel loss-of-function variants. *Scientific Reports.* 2019 Nov 19;9(1):17050. (IF = 3.998)
10. Skálová, H., Hájková, N., Majerová, B., Bártů, M., Povýšil, C., Tichá, I. Impact of chemotherapy on the expression of claudins and cadherins in invasive breast cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 2019 Oct;18(4):3014-3024. (IF = 1.785)
11. Němejcová, K., Dundr, P., Jakša, R., Bártů, M., Stružinská, I., Hojný, J., Hájková, N., Kodet, O. Comprehensive Analysis of PTEN in Primary Cutaneous Melanoma. *Folia Biol (Praha).* 2020;66(1):7-16. (IF = 0.691)

12. Dundr, P., Věcková, Z., Tichá, I., Hojný, J., Němejcová, K., Bártů, M. Microscopic extraovarian sex cord proliferation: report of a case with bilateral Fallopian tube involvement and a comprehensive molecular analysis. *Pol J Pathol.* 2020;71(2):175-180. doi: 10.5114/pjp.2020.97023. PMID: 32729308. (IF = 0.903)
13. Dundr, P., Gregová, M., Němejcová, K., Bártů, M., Hájková, N., Hojný, J., Stružinská, I., Fischerová, D. Ovarian mesonephric-like adenocarcinoma arising in serous borderline tumor: a case report with complex morphological and molecular analysis. *Diagn Pathol.* 2020 Jul 21;15(1):91. doi: 10.1186/s13000-020-01012-z. PMID: 32693840; PMCID: PMC7372838. (IF = 2.335)
14. Dundr, P., Singh, N., Nožičková, B., Němejcová, K., Bártů, M., Stružinská, I. Primary mucinous ovarian tumors vs. ovarian metastases from gastrointestinal tract, pancreas and biliary tree: a review of current problematics. *Diagn Pathol.* 2021 Mar 11;16(1):20. doi: 10.1186/s13000-021-01079-2. PMID: 33706757; PMCID: PMC7953678. (IF = 2.192)
15. Dundr, P., Cibula, D., Němejcová, K., Tichá, I., Bártů, M., Jakša, R. Pathologic Protocols for Sentinel Lymph Nodes Ultrastaging in Cervical Cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2019 Dec 23. doi: 10.5858/arpa.2019-0249-RA. Epub ahead of print. PMID: 31869245. (IF = 4.094)

#### **b) bez IF**

1. Bártů, M., Dundr, P., Němejcová, K., Prokopová, P., Zambo, I., Černý, Š. Intravascular fasciitis leading to an aortic dissection. A case report. *Cesk Patol.* 2018; 63(4): 196-199.
2. Dundr, P., Němejcová, K., Bártů, M., Matej, R., Rohan, Z., Tichá, I. Evaluation of inflammatory cells (tumor infiltrating lymphocytes) in solid tumors, Hodnocení zánětlivé celulózy (tumor infiltrujících lymfocytů) u solidních nádorů. *Klin Onkol* 2017; 30(S3): 10-21.
3. Němejcová, K., Rosmusová, J., Bártů, M., Matěj, R., Dundr, P. Dedifferentiated carcinoma of the ovary. A case report. *Cesk Patol* 2018; 54(1): 33-36.

#### **c) kapitoly v monografiích**

1. Dundr P., Němejcová K., Bártů M.: Benign Lesions of the Vagina. W. Zheng, Fadare O., Quick C.M., Shen D., Guo D. *Gynecologic and Obstetric Pathology, Volume 1.* 1. Singapore: Springer Singapore, s. 227-257. ISBN 978-981-13-3015-5.
2. Dundr P., Němejcová K., Bártů M.: Gynekopatologie. Zámečník J., Daum O., Dundr P., Hermanová M., Honsová E., Kodet R., Matěj R., Ryška A. *Patologie. 1. Praha 5 – Zbraslav, s. 609-637, ISBN 978-80-270-6457-1*