

SECTION PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE (MPA)

Chef
Dr Hiroko Ohgaki

LA SECTION PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE ÉTUDIE LES BASES MOLÉCULAIRES DES NÉOPLASMES CHEZ L'HOMME, EN PARTICULIER DES TUMEURS DU CERVEAU, EN UTILISANT DES ÉCHANTILLONS DE TUMEUR PRÉLEVÉS CHEZ DES PATIENTS POUR LESQUELS ON DISPOSE DE DONNÉES CLINIQUES ET D'UN SUIVI EXCELLENTS. NOUS CORRÉLONS DES PHÉNOTYPES HISTOLOGIQUEMENT RECONNUS AVEC DES GÉNOTYPES ET DES PROFILS D'EXPRESSION DANS LE BUT D'ÉLUCIDER LES BASES MOLÉCULAIRES ET LES VOIES GÉNÉTIQUES QUI INTERVIENNENT DANS LA FORMATION DE TUMEURS CHEZ L'HOMME ; D'IDENTIFIER DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES AFIN D'AMÉLIORER LE DIAGNOSTIC ET LA CLASSIFICATION DES TUMEURS ; D'IDENTIFIER DES FACTEURS GÉNÉTIQUES PRÉDICTIFS DE LA SENSIBILITÉ AU TRAITEMENT, DE LA PROGRESSION TUMORALE ET DE L'ISSUE DE LA MALADIE ; ET D'IDENTIFIER L'ÉTIOLOGIE DES CANCERS HUMAINS À L'AIDE DES DONNÉES GÉNÉTIQUES. DEPUIS 2006, LA SECTION PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE ASSURE LA PRÉPARATION DE LA 4ÈME ÉDITION DE LA CLASSIFICATION OMS DES TUMEURS LES «BLUE BOOKS». LE SECOND VOLUME DE CETTE SÉRIE (CLASSIFICATION OMS DES TUMEURS DES TISSUS HÉMATOPOÏÉTIQUES ET LYMPHOÏDES) A ÉTÉ PUBLIÉ EN 2008, ET LE TROISIÈME VOLUME (CLASSIFICATION OMS DES TUMEURS DE L'APPAREIL DIGESTIF) EST EN COURS D'ÉDITION.

Dans sa configuration actuelle, la Section est constituée d'un seul Groupe, le Groupe Pathologie moléculaire (MPA), dont les objectifs ont été précédemment cités. Quelques-uns de ses projets les plus importants de cette période biennale sont détaillés ci-dessous.



World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of Soft Tissue and Bone

Edited by Christopher D.M. Fletcher, K. Krishnan Unni, Fredrik Mertens

World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of the Female Genital Tract

Edited by Ferruccio Lamberti, John W. Brennan, Peter H. Watson

World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of the Digestive System

Edited by Stanley H. J. Lee

World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of the Skin

Edited by Philip E. LeBoit

World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of the Soft Tissue and Bone

Edited by Christopher D.M. Fletcher

World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of the Lymphatic System

Edited by Elaine S. Jaffe

World Health Organization Classification of Tumours

Pathology & Genetics

Tumours of the Lymphatic System

Edited by Elaine S. Jaffe

GROUPE PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE (PAT)

Chef

Dr Hiroko Ohgaki

Chercheur

Dr Heidi Mattock
(depuis octobre 2009)

Assistance technique

Anne-Marie Camus-Randon
Christine Carreira
(laboratoire d'histologie)

Secrétariat

Pascale Collard

Base de données

Sébastien Antoni
Alberto Machado
(depuis octobre 2009)

Chercheurs en visite et boursiers post-doctoraux

Dr Shengqing Lu
(novembre 2007 à novembre 2009)
Dr Young Ho Kim (depuis mai 2009)
Dr Takuya Watanabe
(mars 2007 à juin 2009)
Dr Izabela Zawlik
(juillet 2006 à juillet 2008)
Dr Jian Huang
(juin 2006 à décembre 2008)
Dr Sumihito Nobusawa
(depuis avril 2008)
Dr Robert Stawski
(depuis novembre 2009)

LES MUTATIONS *IDH1* COMME SIGNATURE MOLÉCULAIRE ET FACTEUR PRÉDICTIF DES GLIOBLASTOMES SECONDAIRES ET COMME ÉVÉNEMENTS PRÉCOCES DU DÉVELOPPEMENT D'ASTROCYTOMES ET D'OLIGODENDROGLIOMES

Le gène *IDH1* code pour l'isocitrate dés-hydrogénase 1, une enzyme participant au cycle de l'acide citrique. Sa mutation a été observée pour la première fois lors d'une étude de séquençage de plus de 20 000 gènes codant pour des protéines (Parsons et coll. Science. 321:1807-1812 2008). Nous avons étudié les mutations *IDH1* dans 321 gliomes de types histologiques et de comportement biologique différents. Au total, 130 mutations *IDH1* ont été détectées, toutes situées au codon 132, dont 91% correspondaient à des mutations G->A (R132H). Les mutations *IDH1* étaient fréquentes dans les astrocytomes diffus de bas grade (88%) et dans les glioblastomes secondaires se développant à partir de la progression d'un astrocytome anaplastique ou d'un astrocytome diffus de bas grade (82%). Des fréquences similaires élevées de mutations *IDH1* ont été détectées dans des oligodendrogliomes (79%) et des oligoastrocytomes (94%). L'analyse de multiples biopsies provenant d'un même patient (51 cas) a montré qu'il n'existait aucun cas dans lequel une mutation *IDH1* apparaissait après l'acquisition d'une mutation *TP53* ou perte d'hétérozygotie 1p/19q, qui laisse penser que les mutations *IDH1* correspondent à des événements très précoces de la gliomagenèse, susceptibles d'affecter une population cellulaire gliale précurseur commune. Les mutations *IDH1* co-existaient avec des mutations *TP53* dans 63% des astrocytomes diffus de bas grade, et avec perte d'hétérozygotie 1p/19q dans 64% des oligodendrogliomes. Elles étaient rares dans les astrocytomes pilocytiques (10%) et les glioblastomes primitifs (5%), et totalement absentes dans les épendymomes.

A l'occasion d'une étude au sein de la population (407 cas), l'analyse des mutations *IDH1* dans les glioblastomes a révélé leur présence dans environ 9% de tous les glioblastomes. Elle a montré que les patients porteurs de ces mutations étaient nettement plus jeunes (moyenne : 47,9 ans) et bénéficiaient d'une survie plus longue que ceux qui n'en étaient pas porteurs. Les mutations *IDH1* étaient fréquentes dans les glioblastomes secondaires (22/30 ; 73%), mais rares dans les glioblastomes primitifs (14/377 ; 3,7% : $P < 0,0001$). Si l'on se fie aux mutations *IDH1* comme marqueur génétique des glioblastomes secondaires, elles correspondent au diagnostic clinique dans 95% des cas. Les mutations *IDH1* représentent donc le marqueur moléculaire disponible le plus fiable des glioblastomes secondaires. Elles doivent être utilisées en complément des critères cliniques pour les distinguer des glioblastomes primitifs. La présence fréquente des mutations *IDH1* dans les glioblastomes secondaires et leur absence quasi-totale dans les glioblastomes primitifs renforce le concept selon lequel, en dépit de leur similarité histologique, ces sous-types sont des entités cliniquement et génétiquement distinctes.

Nous avons analysé les mutations *IDH1* dans des tumeurs cérébrales diagnostiquées chez des patients issus de 3 familles présentant un syndrome de Li-Fraumeni. Nous avons identifié des mutations *IDH1* dans 5 astrocytomes qui s'étaient développés chez des porteurs d'une mutation germinale *TP53*. Il s'agissait chez tous, sans exception, d'une mutation R132C, qui représente pourtant moins de 5% des mutations *IDH1*

dans les astrocytomes sporadiques. La survenue extrêmement ponctuelle de mutations R132C pourrait refléter des différences dans la séquence des événements génétiques, avec une préférence pour les mutations R132C dans les astrocytes ou les cellules précurseurs qui portent déjà une mutation germinale *TP53*.

RÔLE DES MUTATIONS DU GÈNE DU SYNDROME DE NIMÈGUE (*NBS1*) DANS LES TUMEURS DU CERVEAU

Le «syndrome des cassures de Nijmegen» ou syndrome de Nimègue, provoqué par des mutations germinales *NBS1*, est une maladie autosomique récessive rare, caractérisée au plan clinique par une microcéphalie, une radiosensibilité accrue et une prédisposition au cancer. Le gène *NBS1* joue un rôle clé dans la réparation des cassures double-brin d'ADN et le maintien de la stabilité génomique. Des interactions fonctionnelles pourraient exister entre les voies *NBS1* et *TP53*.

Nous avons voulu savoir si les mutations *NBS1* jouaient un rôle dans la pathogenèse des médulloblastomes sporadiques. Le dépistage des mutations dans les gènes *NBS1* (les 16 exons) et *TP53* (exons 5 à 8) a révélé que 7 des 42 médulloblastomes (17%) portaient un total de 15 mutations *NBS1* (10 mutations ponctuelles faux-sens et 5 mutations introniques dans un site d'épissage). Sur cinq médulloblastomes portant des mutations *TP53* mutations, 4 (80%) contenaient également des mutations *NBS1*, et il existait une nette corrélation entre les mutations *TP53* et *NBS1* ($P=0,001$), suggérant que les médulloblastomes caractérisés par des mutations *NBS1* présentaient également une inactivation mutationnelle du gène *TP53*.

Nous avons aussi recherché les mutations *NBS1* dans 87 glioblastomes. Nous en avons détecté 12 (8 mutations faux-sens et 4 mutations introniques) dans 9 des 28 glioblastomes primitifs (*de novo*) (32%) portant au moins deux mutations *TP53*. En revanche, nous n'avons pas détecté de mutations *NBS1* dans les 19 glioblastomes primitifs porteurs d'une seule mutation *TP53*, ni dans les 21 glioblastomes primitifs ne portant aucune mutation *TP53*. Ces résultats laissent penser que les mutations multiples dans

TP53, observées dans certains glioblastomes, sont le résultat d'une réparation déficiente des cassures double-brin d'ADN provoquée par une inactivation mutationnelle du gène *NBS1*.

MÉTHYLATION DU PROMOTEUR ET POLYMORPHISMES DU GÈNE *MGMT* DANS LES GLIOBLASTOMES : ÉTUDE AU SEIN DE LA POPULATION

La O⁶-Méthylguanine-ADN méthyltransférase (*MGMT*) est une enzyme de réparation qui élimine les adduits promutagènes O⁶-méthylguanine de l'ADN pour protéger les cellules contre l'acquisition de mutations G:C->A:T. Les polymorphismes du gène *MGMT* et la méthylation de son promoteur peuvent affecter l'expression et l'activité de la *MGMT*. Nous avons donc étudié les polymorphismes de *MGMT* (Leu84Phe, Ile143Val, c.-56C>T) et la méthylation de son promoteur dans 371 glioblastomes diagnostiqués au sein de la population. La méthylation du promoteur a été observée dans 165 glioblastomes (44%), avec une fréquence plus élevée chez les femmes que chez les hommes (53% contre 39%; $P=0,0106$), et une fréquence également plus élevée dans les glioblastomes secondaires que dans les glioblastomes primitifs (73% contre 43%, $P=0,0074$). Dans les glioblastomes présentant une méthylation de *MGMT*, la fréquence des mutations G:C->A:T dans *TP53* atteignait 25%, ce qui était nettement plus élevée que dans les glioblastomes ne présentant pas de méthylation de *MGMT* (16%; $P=0,0385$). L'allèle 143 Val de *MGMT* était nettement moins fréquent dans les glioblastomes que dans la population de type européen en bonne santé, et il était associé à une meilleure survie que celle des individus porteurs de l'allèle 143 Ile de *MGMT* (risque relatif : 0,70 ; IC à 95% compris entre 0,48 et 1,01). Ces résultats suggèrent que la méthylation de *MGMT* pourrait être associée avec une susceptibilité à acquérir des mutations *TP53* G:C->A:T, et que les polymorphismes de *MGMT* pourraient affecter le risque et le pronostic des glioblastomes.

POLYMORPHISMES COURANTS DES GÈNES *MDM2* ET *TP53* ET RELATION ENTRE MUTATIONS *TP53* ET ISSUE DE LA MALADIE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'UN GLIOBLASTOME

Le polymorphisme *MDM2* SNP309 est associé à l'apparition à un plus jeune âge des tumeurs chez les patients ayant un syndrome de Li-Fraumeni, et le polymorphisme au codon 72 de *TP53* diminue son potentiel apoptotique. Les glioblastomes présentent fréquemment des altérations génétiques de la voie *TP53*. Nous avons donc étudié le polymorphisme *MDM2* SNP309 dans 360 glioblastomes et nous l'avons corrélé avec l'âge des patients et leur survie, ainsi qu'avec des altérations de la voie *TP53*. Les fréquences des génotypes *MDM2* SNP309 T/T, T/G et G/G étaient respectivement de 40%, 46% et 14%. L'analyse multivariable a montré que l'allèle *MDM2* SNP309 G/G était très nettement associée à une issue favorable chez les femmes atteintes de glioblastome (risque relatif : 0,54 ; IC à 95% compris entre 0,32 et 0,92). Par ailleurs, nous avons observé une nette association entre les allèles *MDM2* SNP309 et le polymorphisme Pro/Pro codon 72 de *TP53* dans les glioblastomes. Signalons ici que les patients atteints d'un glioblastome, porteurs du génotype Pro/Pro codon 72 de *TP53*, étaient nettement plus jeunes que les porteurs du génotype Arg/Arg (en moyenne 50,2 ans contre 56,1 ans ; $P=0,018$). L'analyse multivariable a montré que la survie était considérablement plus courte chez les porteurs de l'allèle Arg/Pro codon 72 de *TP53* comparés aux porteurs de l'allèle Arg/Arg (risque relatif : 1,35 ; IC à 95% compris entre 1,07 et 1,71). Des analyses plus précises ont révélé que l'allèle Pro codon 72 de *TP53* était associé à une survie plus courte chez les patients atteints de glioblastome, porteurs d'une mutation *TP53*, et parmi ceux traités par chirurgie plus radiothérapie.

AMPLIFICATION DU GÉNOME ENTIER POUR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE DE L'ADN EXTRAIT DE COUPES HISTOLOGIQUES FIXÉES DANS LE FORMOL ET INCLUSES DANS LA PARAFFINE

L'hybridation génomique comparative (HGC) permet d'étudier les déséquilibres chromosomiques dans le génome entier, mais nécessite d'assez grosses quanti-

tés d'ADN, ce qui peut constituer un frein à son utilisation, en particulier pour les échantillons extraits de petites régions tumorales sur des coupes paraffinées. Il est possible d'amplifier tout le génome afin d'obtenir suffisamment d'ADN pour réaliser l'hybridation génomique comparative, mais le risque d'artéfacts pendant le procédé d'amplification ne peut être exclu. Nous avons donc optimisé cette étape d'amplification du génome entier (AGE) pour produire suffisamment d'ADN avec un minimum d'artéfacts. En utilisant des coupes de tissus tumoraux fixés dans le formol et inclus dans la paraffine, portant des mutations connues de *TP53*, des pertes d'hétérozygotie 1p, 10q, 19q, et une amplification de *EGFR*, nous avons d'abord optimisé le procédé de façon à ce que ces altérations génétiques soient détectées après AGE. Nous avons observé qu'une étape de ligation avant AGE était importante, car elle permet un court temps de réaction avec l'ADN polymérase Phi29 pour générer de l'ADN-AGE avec une forte réduction des artéfacts d'amplification. L'utilisation d'une matrice d'ADN >150 ng, d'une étape de ligation avant amplification et d'un court temps de réaction avec Phi29 (<1H30), nous a ainsi permis d'obtenir un ADN-AGE (>4 µg) présentant un minimum d'artéfacts d'amplification (<3-fois). Grâce à ce procédé, nous avons réalisé une HGC (Agilent 105K) avant et après AGE. L'analyse de corrélation de Pearson montre une corrélation nettement positive des résultats de HGC de l'ADN avant et après AGE ($P < 0,0001$). Ces résultats suggèrent qu'il est possible d'effectuer des analyses génétiques en utilisant de l'ADN-AGE extrait de coupes paraffinées, à condition que ces analyses soient réalisées selon un protocole soigneusement optimisé et contrôlé.

CLASSIFICATION OMS DES TUMEURS (WHO BLUE BOOKS)

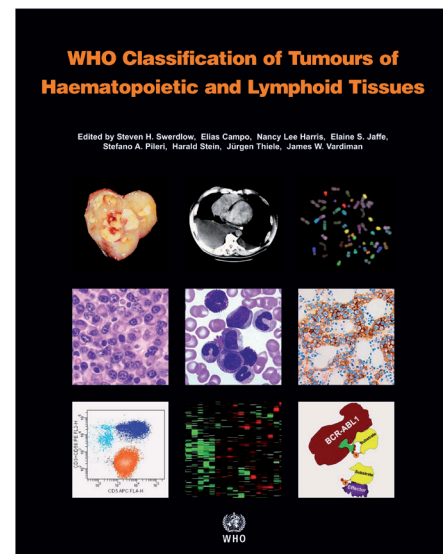
L'objectif de ce projet consiste à établir un système de classification pathologique, génétique et de stadification des tumeurs chez l'homme, qui soit accepté et utilisé partout dans le monde. Il est difficile de mener des études épidémiologiques et des essais cliniques en l'absence de critères diagnostiques histopathologiques et cliniques clairement définis, et plus récemment en l'absence de profils d'expression et de profils gé-

nétiques. Par conséquent, ce projet de classification des tumeurs présente un intérêt considérable non seulement pour la communauté des pathologistes, mais aussi pour les registres du cancer, les études épidémiologiques, les essais cliniques et la recherche sur le cancer en général.

Le CIRC est chargé du projet depuis la 3^{ème} édition de cette série (2000–2005). Celle-ci couvrait toutes les localisations en 10 volumes et décrivait de façon strictement orientée sur la maladie les critères diagnostiques, les caractéristiques pathologiques et les altérations génétiques associées. Chaque volume a été imprimé entre 10 000 et 35 000 exemplaires, distribués dans le monde entier.

La préparation de l'édition en cours (la 4^{ème}) a débuté en 2006, avec quatre nouveaux éditeurs pour la série (Dr Fred Bosman, Université de Lausanne, Suisse ; Dr Elaine Jaffe, *National Institutes of Health*, Bethesda, Etats-Unis ; Dr Sunil Lakhani, Université du Queensland, Brisbane, Australie ; et Dr Hiroko Ohgaki, CIRC). Le premier volume de cette 4^{ème} édition, *Tumours of the Nervous System*, a été publié en juin 2007. Le second volume, *Tumours of the Hae-*

matopoietic and Lymphoid Tissues, a été publié en septembre 2008, et plus de 45 000 exemplaires ont déjà été imprimés et distribués dans le monde. Nous préparons actuellement le 3^{ème} volume, *Tumours of the Digestive System*, avec 4 éditeurs (Dr F. Bosman, Lausanne, Suisse ; Dr F. Carneiro, Porto, Portugal ; Dr R.H. Hruban, Baltimore, Etats-Unis ; et Dr N.D. Theise, New York, Etats-Unis) et plus de 110 collaborateurs. Une réunion éditoriale et de consensus est programmée en décembre 2009, et l'ouvrage devrait être publié en 2010.



La Section Pathologie moléculaire exprime sa reconnaissance aux chercheurs suivants pour leur collaboration :

Dr F. Berger, Grenoble, France
 Dr F. Bosman, Genève, Suisse
 Dr E. Campo, Barcelone, Espagne
 Dr F. Carneiro, Porto, Portugal
 Dr W.K. Cavenee, La Jolla, Etats-Unis
 Dr I. Ciernik, Zurich, Suisse
 Dr M.A. Grotzer MA, Zurich, Suisse
 Dr N.L. Harris, Boston, Etats-Unis
 Dr R.H. Hruban, Baltimore, Etats-Unis
 Dr J.P. Issartel, Grenoble, France
 Dr E.S. Jaffe, Bethesda, Etats-Unis
 Dr P. Kleihues, Zurich, Suisse
 Dr H. Klocker, Innsbruck, Autriche
 Dr S.R. Lakhani, Herston, Australie
 Dr UM Lutolf, Zurich, Suisse
 Dr M. Mittelbronn, Francfort, Allemagne
 Dr Y. Nakazato, Gunma, Japon
 Dr H.-K. Ng, Hong Kong, Chine
 Dr J. Pang, Hong Kong, Chine
 Dr W. Paulus, Münster, Allemagne
 Dr T. Pietsch, Bonn, Allemagne

Dr S. Pileri, Bologne, Italie
 Dr S. Rutkowski, Würzburg, Allemagne
 Dr G. Schafer, Innsbruck, Autriche
 Dr H. Stein, Berlin, Allemagne
 Dr U. Sure, Essen, Allemagne
 Dr S.H. Swerdlow, Pittsburgh, Etats-Unis
 Dr N.D. Theise, New York, Etats-Unis
 Dr J. Thiele, Cologne, Allemagne
 Dr J.W. Vardiman, Chicago, Etats-Unis
 Dr A. Vital, Bordeaux, France
 Dr W.A. Weiss, San Francisco, Etats-Unis
 Dr S. Wellek, Mannheim, Allemagne
 Dr M. Weller, Zurich, Suisse
 Dr H. Yokoo, Gunma, Japon

La Section exprime sa gratitude aux organismes suivants pour leur contribution financière :

Foundation for Promotion of Cancer Research, Japon
MEDIC Foundation

PUBLICATIONS

ARTICLES ORIGINAUX

Huang J, Pang J, Watanabe T, Ng H-K, Ohgaki H (2009). Whole genome amplification for array comparative genomic hybridization using DNA extracted from formalin-fixed paraffin-embedded histological sections. *J Molecular Diagn* 11: 109-116.

Huang J, Grotzer MA, Watanabe T, Hewer E, Pietsch T, Rutkowski S, Ohgaki H (2008). Mutations in the Nijmegen breakage syndrome gene in medulloblastomas. *Clin Cancer Res* 14: 4053-4058.

Kita D, Ciernik I, Vaccarella S, Franceschi S, Kleihues P, Lutolf UM, Ohgaki H (2009). Age as predictive factor in glioblastomas: population-based study. *Neuroepidemiology* 33: 17-22.

Liu J, Lu H, Ohgaki H, Merlo A, Shen Z (2009). Alterations of BCCIP, a BRCA2-interacting protein, in astrocytomas. *BMC Cancer* 9: 268.

Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H (2009). IDH1 mutations as molecular signature and predictive factor of secondary glioblastomas. *Clinical Cancer Res* 15: 6002-6007.

Sun X, Huang J, Homma T, Kita D, Klocker H, Schaffer G, Boyle P, Ohgaki H (2009). Genetic alterations in the PI3K pathway in prostate cancer. *Anticancer Res* 29: 1739-1743.

Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H (2009). IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathology* 174: 1149-1153.

Watanabe T, Nobusawa S, Lu S, Huang J, Mittelbronn M, Ohgaki H (2009). Mutational inactivation of the Nijmegen Breakage Syndrome gene (NBS1) in glioblastomas is associated with multiple TP53 mutations. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 68: 210-215.

Watanabe T, Vital A, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H (2009). Selective acquisition of IDH1 R132C mutations in astrocytomas associated with Li-Fraumeni syndrome. *Acta Neuropathol* 117: 653-656.

Yokoo H, Tanaka Y, Nobusawa S, Nakazato Y, Ohgaki H (2008). Immunohistochemical and ultrastructural characterization of brain tumors in S100beta-v-erbB transgenic rats. *Neuropathology* 28: 591-598.

Yokoo H, Tanaka Y, Nobusawa S, Nakazato Y, Ohgaki H (2009). Analysis of S100beta-v-erbB transgenic rats prone to brain tumors. *Brain Nerve* 61:765-772.

Zawlik I, Kita D, Vaccarella S, Mittelbronn M, Franceschi S, Ohgaki H (2009). Common polymorphisms in the MDM2 and TP53 genes and the relationship between TP53 mutations and patient outcomes in glioblastomas. *Brain Pathology* 19: 188-194.

Zawlik I, Vaccarella S, Kita D, Mittelbronn M, Franceschi S, Ohgaki H (2009). Promoter methylation and polymorphisms of the MGMT gene in glioblastomas: a population-based study. *Neuroepidemiology* 32: 21-29.

CHAPITRES D'OUVRAGE ET REVUES

Ohgaki H (2008). Brain Cancer. In: Prognosis in Advanced Cancer. Glare P, Christakis NA (eds.) *Oxford University Press* pp. 201-213.

Ohgaki H (2009). Epidemiology of brain tumors. *Methods Mol. Biol.* 472: 323-342.

Ohgaki H and Kleihues P (2009). Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. *Cancer Science*, 100: 2235-2241.