

Molekulargenetische Diagnostik bei Brustkrebs: Erste Ergebnisse einer großen multizentrischen Studie in Deutschland

Alfons Meindl, Dorothee Schmidt

im Namen des Deutschen
Konsortiums für erbliches Mamma-
und Ovarialkarzinom
Deutsche Krebshilfe

Tab 1 Risikogruppen für eine BRCA1- und BRCA2-Mutationsanalyse

| Gruppe | Familienanamnese |
|--------|--|
| A* | Zwei oder mehr Frauen in der Familie, die an Brustkrebs erkrankt sind, davon mindestens zwei prämenopausal |
| B* | Mindestens zwei Frauen in einer Familie mit Auftreten von Brust- und Eierstockkrebs |
| C* | Zwei oder mehr betroffene Frauen in einer Familie, wobei eine Frau vor dem 50. Lebensjahr erkrankt ist |
| D | Zwei oder mehr Frauen in einer Familie, die an Brustkrebs erkrankt ist, keine davon vor dem 50. Lebensjahr |
| E* | Eine Frau mit einem Brustkrebs vor dem 30. Lebensjahr, oder einem Ovarialkarzinom vor dem 40. Lebensjahr |

*) obligates Studieneinschlusskriterium

Die Deutsche Krebshilfe fördert seit vier Jahren mehrere Zentren in Deutschland, die Patientinnen mit Mamma- und/oder Ovarialkarzinom hinsichtlich einer familiären Brustkrebsbelastung multidisziplinär –genetisch, klinisch sowie psychoonkologisch– beraten. Erfüllt eine Familie die Einschlusskriterien der Studie (Tabelle 1) und wünscht nach erfolgter Aufklärung eine molekulargenetische Testung, wird in der DNA einer erkrankten Patientin nach einer Mutation in den beiden bekannten BRCA-Genen gesucht. Insgesamt sind etwa 5-10% aller Brustkrebsfälle auf prädisponierende autosomal dominante Gene zurückzuführen. Die Gene BRCA1 auf Chromosom 17 und BRCA2 auf Chromosom 13 sind seit 1994, bzw. 1995 bekannt und sind zusammengenommen für etwa die Hälfte der erblich bedingten Brustkrebserkrankungen verantwortlich. Diese Gene können bei Frauen mit familiärem Brustkrebs molekulargenetisch untersucht werden, eine Mutation in einem dieser beiden Gene bedeutet ein gegenüber der Normalbevölkerung (10%) stark erhöhtes Risiko (50-80%) im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs zu erkranken.

Das BRCA1-Gen besteht aus 22 Exons, die eine RNA mit einer Länge von 7800 Nukleotiden, und ein Protein von 1863 Aminosäuren kodieren (Miki et al., 1994), das BRCA2-Gen besteht aus 27 Exons, die eine RNA mit einer Länge von 11300 Nukleotiden und ein Protein von 3418 Aminosäuren kodieren (Wooster et al., 1995). Nach bisherigen Erfahrungen werden Mutationen in unterschiedlicher Dichte über

die gesamte Länge der BRCA-Gene verteilt gefunden. Trotzdem kann es aufgrund von Gründer-Mutationen („founder“) zu Konzentrationen bestimmter krankheitsassoziiierter Mutationen in bestimmten Abschnitten dieser Gene kommen. Bisher sind weltweit jeweils über 1000 verschiedene Mutationen in beiden BRCA-Genen gemeldet worden (Breast Cancer Information Core site: http://www.nhgri.nih.gov/Intramural_research/Lab_transfer/BIC). Bei beiden Genen, die in besonders gendichten Regionen der Chromosomen liegen, handelt es sich um Tumor-Suppressorgene, welche an DNA-Reparaturfunktionen und an der Regulation der Transkription (Sharan et al., 1997, Scully et al., 1997, Zhang et al., 1998) beteiligt sind.

Die Wahrscheinlichkeit, eine Veränderung im BRCA1-Gen oder BRCA2-Gen zu finden, hängt stark davon ab, wie viele Erkrankte in der Familie vorgekommen sind und ob neben Brustkrebs noch Eierstockkrebs aufgetreten ist (Easton et al., 1993, Ford et al., 1998). Nach ersten Daten des internationalen Breast Cancer Linkage Konsortiums waren in Familien mit mehreren Frauen bei frühem Erkrankungsalter und mit Auftreten von Eierstockkrebs häufiger (bis zu 75%) Mutationen im BRCA1-Gen zu erwarten, in Familien, in denen auch Männer an Brustkrebs erkrankt sind, ist eine Mutation im BRCA2-Gen wahrscheinlicher. Allerdings wurden bis jetzt nur für wenige Populationen durch systematisches Mutationsscreening Familientypen mit einem hohen Anteil an Mutationen in den BRCA-Genen bestimmt.

Um ein Mutationsprofil für die deutsche Population sowie Mutationsfrequenzen für unterschiedliche Familientypen bestimmen zu können, arbeiten die zwölf Zentren, die das deutsche Konsortium für hereditäres Mamma- und Ovarialkarzinom bilden, eng zusammen. Innerhalb der letzten vier Jahre wurden in diesen Zentren mehr als 3000 Familien beraten, dokumentiert und klassifiziert. Bei mehr als 1000 dieser Familien wurde eine komplette Mutationsanalyse in den beiden BRCA-Genen durchgeführt. Etwa die Hälfte der Familien gehört den Gruppen A oder B an (mehr als zwei betroffene Frauen mit isoliertem Mammakarzinom oder Familien, in denen Mammakarzinom assoziiert mit Ovarialkarzinom auftritt), die andere Hälfte den Gruppe C, D, und E (siehe Tabelle 1). Abgesehen von Familien, in denen auch Männer an Brustkrebs erkrankt sind, wurden BRCA2-Mutationen insgesamt seltener als BRCA1-Mutationen nachgewiesen (Phelan et al., 1996). Eine sehr geringe Mutationshäufigkeit wurde schließlich bei Frauen die vor dem 35. Lebensjahr erkrankt sind, gefunden (ca. 15%). Ähnliche Daten wurden auch für andere Populationen berichtet (Langston et al., 1996). In Übereinstimmung mit Daten aus anderen internationalen Studien (z. B. Frank et al. 1998, Peelen et al., 1997, 2000), wurden die meisten Mutationen in den Gruppen A (ca. 40%) und B (ca. 55%) gefunden. Interessanterweise wurden in Familien mit 2 oder 3 erkrankten Frauen, in denen nur eine oder gar keine vor dem 50. Lebensjahr erkrankt ist, nur selten eindeutige Veränderungen in den

BRCA-Genen (unter 10%) nachgewiesen. In solchen Familien handelt es sich wahrscheinlich um die zufällige Segregation sporadischer Erkrankungen. Solche Häufungen werden schließlich für jede hundertste (2 Fälle) oder jede tausendste (3 Fälle) Familie aufgrund der allgemeinen Inzidenz von Brustkrebs in unserer Bevölkerung erwartet. Andererseits kann aber gegenwärtig die Existenz noch unbekannter niedrig penetranter Brustkrebsgene nicht ausgeschlossen werden. Dazu ist allerdings die Durchführung aufwendiger Assoziationsstudien erforderlich.

In einigen Populationen (z.B. Ashkenazi-Juden, Island) sind bestimmte, immer wieder gefundene, sogenannte Gründer-Mutationen („founder mutations“) (Szabo und King, 1997) beschrieben worden. In den deutschen Familien wurde am häufigsten die Mutation insC5382 im Exon 20 des BRCA1-Gens nachgewiesen (47 von 210). Insgesamt wurden 18 häufige Mutationen in 2/3 aller Familien mit klaren BRCA1-Mutationen gefunden. Im BRCA2-Gen wurden 13 häufigere Veränderungen gefunden, die in ca. 45% aller Familien mit BRCA2-Mutationen nachgewiesen werden konnten. In Zukunft sollen alle Familien zuerst auf das Vorliegen einer dieser häufigen Mutationen untersucht werden um dadurch die prädisponierenden Mutationen in kürzerer Zeit herauszufiltern.

Ein weiterhin ungeklärtes Problem der molekulargenetischen BRCA-Diagnostik stellt der Nachweis von sogenannten unklassifizierbaren Varianten (UV) in beiden Genen dar. Hier handelt es sich meistens um Missense-Mutationen, die zum Austausch einzelner Aminosäuren führen. Während einige Proteinpolymorphismen als prädisponierende Varianten ausgeschlossen werden konnten, bleiben ca. 50 (Frequenz <1%) Aminosäureaustausche, deren Auswirkung noch nicht in funktionellen Tests geklärt werden konnte. In diesen Fällen muss in den Tumoren von UV-Trägerinnen überprüft werden, ob ein LOH („loss of heterozygosity“) in den BRCA1- oder BRCA2-Regionen vorliegt und ob das verbliebene Allel

den UV trägt und damit potentiell krankheitsassoziiert ist.

In der genannten Studie wurden auch in Familien, in denen die statistische Wahrscheinlichkeit, dass es sich um eine erbliche Brustkrebsform handelt sehr hoch ist, weniger Mutationen in den BRCA-Genen nachgewiesen, als man anfänglich vermutet hatte. Ein Grund dafür könnte sein, dass vorhandene Mutationen mit den verwendeten Mutationsscreening-Methoden nicht erfasst werden. Die beiden verwendeten Methoden, DHPLC (denaturierung high performance liquid chromatography) und komplette Sequenzierung, sind darauf ausgerichtet, Mutationen auf Basenpaarniveau, d.h. Punktmutationen oder kleinere Deletionen, zu erfassen (Sensitivität jeweils >95%). Größere Deletionen entgehen aber dem Nachweis. Mittels entsprechender komplementärer Methoden (Southern-Blot Analyse) wurden allerdings in der deutschen Population bisher nur wenige größere Deletionen gefunden (BRCA1 exon 13 duplication screening group, 2000). Deshalb ist es sehr wahrscheinlich, dass es für die deutsche Population noch weitere prädisponierende BRCA-Gene gibt (z. B. Seitz et al., 1997).

Die Untersuchung der BRCA1- und BRCA2-Gene ist als „Gentest“ für die allgemeine Bevölkerung ungeeignet, da einerseits nur 5-10% aller Brustkrebsfälle einem Vererbungsmuster zugeordnet werden können und andererseits Mutationen in den BRCA-Genen nur in 50-60% der Erkrankungsfälle nachgewiesen werden können. Mit Hilfe einer sinnvollen Vorauswahl ist die Untersuchung dieser Gene für Frauen aus belasteten Familien jedoch eine geeignete Methode, das Erkrankungsrisiko zu bestimmen (Parmigiani et al. 1998) und Entscheidungen hinsichtlich präventiver Maßnahmen zu treffen.

Literatur

BRCA1 Exon 13 Duplication Screening Group (2000) The exon 13 duplication in the BRCA1 gene is a founder mutation present in geographically diverse populations. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 207-212

Easton et al. and the Breast Cancer Linkage Consortium (1993) Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. *Am. J. Hum. Genet.* 52: 678-701

Frank et al. (1998) Sequence analysis of BRCA1 and BRCA2: Correlation of mutations with family history and ovarian cancer risk. *J Clin Oncol.* 16: 2417-2425

Ford et al. (1998) Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 676-689

Langston et al. (1996) BRCA1 mutations in a population based sample of young women with breast cancer. *New Engl. J. Med.* 334: 137-142

Miki et al. (1994) A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility: gene BRCA1. *Science* 266: 66-71

Parmigiani et al. (1998) Determining carrier probabilities for breast cancer -susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 145-158

Peelen et al. (1997) A high proportion of novel mutations in BRCA1 with strong founder effects among Dutch and Belgian hereditary breast and ovarian cancer families. *Am. J. Hum. Genet.* 60: 1041-1049

Peelen et al. (2000) screening for BRCA2 mutations in 81 Dutch breast-ovarian cancer families. *Br. J. Cancer* 82: 151-156

Phelan et al. (1996): Mutation analysis of the BRCA2 gene in 49 site-specific breast cancer families. *Nat. Genet.* 13:120-122

Scully et al. (1997) Association of BRCA1 with Rad51 in mitotic and meiotic cells. *Cell* 88: 265-275

Seitz et al. (1997) Deletion mapping and linkage analysis provide strong indication for the involvement of the human chromosome region 8p12-p22 in breast carcinogenesis. *Br. J. Cancer* 76: 983-991

Sharan et al. (1997) Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking lacking BRCA2. *Nature* 386: 804-810

Szabo und King (1997) Population genetics of BRCA1 and BRCA2. *Am. J. Hum. Genet.* 60: 1013-1020

Wooster et al. (1995) Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 378: 789-792

Zhang, Tomblin und Weber (1998) BRCA1, BRCA2, and DNA damage response: collision or collusion? *Cell* 92: 433-436

Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Alfons Meindl
Dr. med. Dorothee Schmidt
Medizinische Genetik der Universität München,
Klinikum Innenstadt
Goethestr. 29
80336 München
Tel 089-5160-4466
Fax 089-5160-4780
dorothee@pedgen.med.uni-muenchen.de

(im Namen des Deutschen Konsortiums für erbliches Mamma- und Ovarialkarzinom Deutsche Krebshilfe, Thomas Mann Str. 40 53111 Bonn)