

medgen 2015 · 27:202–210
 DOI 10.1007/s11825-015-0048-0
 Online publiziert: 11. August 2015
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015



Alfons Meindl¹ · Juliane Ramser¹ · Jan Hauke^{2,3} · Eric Hahnen^{2,3}

¹ Abteilung Gyn. Tumorgenetik, Klinikum rechts der Isar an der TU, Frauenklinik, München, Deutschland

² Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs, Universitätsklinikum Köln, Köln, Deutschland

³ Centrum für Integrierte Onkologie (CIO) Köln Bonn, Bonn, Deutschland

Genetik des familiären Brust- und Eierstockkrebses: Paneldiagnostik – Möglichkeiten und Grenzen

Einführung

Mamma- und Ovarialkarzinome stellen multifaktorielle Erkrankungen mit unterschiedlicher Genese dar. In ca. 10 % aller Fälle liegt der Verdacht auf eine erbliche Veranlagung im engeren Sinne, d. h. monogen, vor. Eine solch vererbte Veranlagung geht sowohl mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko als auch mit einem durchschnittlich früheren Ersterkrankungsbeginn einher. Um Familien mit erhöhtem Erkrankungsrisiko eine bessere klinische Versorgung zu gewährleisten, wurde 1997 das Deutsche Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs (GC-HBOC) mit der Unterstützung der Deutschen Krebshilfe gegründet (<http://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de>). Im Rahmen dieses nationalen Verbundprojektes wurde ein interdisziplinäres Konzept zur Risikoidentifikation, Beratung, genetischen Testung und Prävention etabliert. Seit der Entdeckung der Hochrisikogene *BRCA1* und *BRCA2* in den Jahren 1994 und 1995 wurden mittlerweile zahlreiche weitere Risikogene für den erblichen Brustkrebs identifiziert. Durch die Etablierung von „next generation sequencing“ (NGS) basierten Technologien in der molekulargenetischen Diagnostik wird nun zunehmend auch die Analyse dieser Risikogene im Rahmen von Panelanalysen angeboten (■ **Tab. 1 und 2**, [12]). Hierbei werden jedoch neben wenigen „Konsensusgenen“ (■ **Tab. 2**) auch Gene eingeschlossen, deren Assoziation mit erblichem Brustkrebs zum jetzigen Zeitpunkt zwar vermutet wird, die aber

noch nicht ausreichend validiert wurden. Im Folgenden soll daher die Strategie des GC-HBOC zur Evaluierung und Validierung der neuen Risikogene mittels Paneldiagnostik (TruRisk™-Genpanel) dargestellt werden.

Das TruRisk™-Genpanel des Konsortiums

Das Deutsche Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs („German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer“, GC-HBOC) hat für

die Multigenanalyse das TruRisk™-Genpanel konsentiert, welches neben den 10 sog. „core genes“ (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *TP53*) noch weitere 24 Kandidatengene umfasst. Innerhalb des GC-HBOC wurde festgelegt, dass zunächst nur die Untersuchung und Mitteilung der gefundenen Varianten für die 10 core genes verpflichtend ist. Vier Konsensusgene aus den anderen Panels (■ **Tab. 2**), wie *MUTYH1*, *BRIPI*, *PTEN* und *STK11* sind zwar in TruRisk enthalten, müssen aber erst validiert werden, da bei den ers-

Tab. 1 National und international verwendete Genpanels (Stand März 2015)

Firma/Institution	Test	URL	Anzahl getesteter Gene
Ambry Genetics	Breastnext	http://www.ambrygen.com/tests/breastnext	17 (inklusive der 10 „core genes“)
Centogene	Breast Ovarian Cancer Panel Plus	https://www.centogene.com/	18 (inklusive 6 der 10 „core genes“)
Illumina	TruSight Cancer	http://www.illumina.com/clinical/translational_genomics/panels/kits.html/	94 (inklusive der 10 „core genes“)
Myriad Genetics	Myriad myRisk™	https://www.myriad.com/products/myrisk-hereditary-cancer-panel/	25 (inklusive der 10 „core genes“)
University of Washington	BROCA – Cancer Risk Panel	http://web.labmed.washington.edu/tests/genetics/BROCA	26 (inklusive der 10 „core genes“)
Multiplicom	BRCA Hereditary Cancer MASTR™ Plus	verfügbar ab April 2015	26 (inklusive der 10 „core genes“)
GC-HBOC	TruRisk™	http://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/	34 (inklusive der 10 „core genes“)

Tab. 2 Darstellung der Konsensusgene der gebräuchlichsten ^a Genpanels
Konsensusgene
<i>ATM</i>
<i>BRCA1</i>
<i>BRCA2</i>
<i>BRIP1</i>
<i>CDH1</i>
<i>CHEK2</i>
<i>MUTYH</i>
<i>NBN</i>
<i>PALB2</i>
<i>PTEN</i>
<i>RAD51C</i>
<i>STK11</i>
<i>TP53</i>

^aSiehe **Tab. 1** Zeilen Nr. 1, 3, 4, 5 und 6. *BRIP1*, *MUTYH*, *PTEN* und *STK11* sind auf dem TruRisk-Genpanel enthalten, müssen aber erst hinsichtlich klinischer Konsequenz und Häufigkeit validiert werden. In den Konsensusgenen ist *RAD51D* nicht enthalten, das nach ersten Ergebnissen aus dem Konsortium nur selten verändert ist (<0,1%, p < 0,05)

Tab. 3 Einschlusskriterien des GC-HBOC für genetische Testung der core genes ^a
1. Drei oder mehr an Brustkrebs erkrankte Frauen, altersunabhängig
2. Genau zwei an Brustkrebs erkrankte Frauen, davon 1 < 51. Lj.
3. Mindestens eine an Brustkrebs und eine an Eierstockkrebs erkrankte Frau
4. Eine an Brust- und Eierstockkrebs erkrankte Frau
5. Eine vor dem 36. Lj. erkrankte Frau an Brust-/Eierstockkrebs

^aIm Rahmen wissenschaftlich assoziierter Studien findet eine Testung der *BRCA1/2*-Gene in sporadischen triple-negativen Mamma- und Ovarialkarzinomen zwischen dem 36. und 51. Lebensjahr (Lj.) statt

Tab. 4 Klinische Konsequenzen bei Mutationen in den core genes entsprechend der Vorschläge von GC-HBOC
1. Intensiviertes Früherkennungsprogramm
A. Mutationen in den Hochrisikogenen <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>TP53</i> , <i>CDH1</i>
Jährliches MRT ab 25. Lj. bis ACR1 bzw. max. 69. Lj.
Halbjährlicher Ultraschall bis 69. Lj.
Ab 40.–45. Lj. evtl. alle 2 Jahre Mammografie
B. Mutationen in den Risikogenen <i>PALB2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>ATM</i> , <i>NBN</i> , <i>RAD51C/D*</i>
Jährliches MRT ab 30. Lj. bis ACR1 bzw. max. 69. Lj.
Jährlicher Ultraschall bis 69. Lj.
Ab 40.–45. Lj. evtl. alle 2 Jahre Mammografie
2. Prophylaktische Maßnahmen Brust
A. Mutationen in den Hochrisikogenen <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>TP53</i> , <i>CDH1</i>
Evtl. kontralaterale ME bei junger Ersterkrankung
Evtl. bds. ME bei entsprechender Familienanamnese
B. Mutationen in den Risikogenen <i>PALB2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>ATM</i> , <i>NBN</i> , <i>RAD51C/D</i>
Generell keine Empfehlung, evtl. indiziert bei gehäuftem Auftreten von bilateralem Brustkrebs in Familien mit <i>PALB2</i> -Mutationen
3. Prophylaktische Maßnahmen Eierstock
A. Mutationen in den Hochrisikogenen <i>BRCA1</i> und <i>BRCA2</i>
Salpingo-Oophorektomie zwischen 40. und 45. Lj.
B. Mutationen in den Risikogenen <i>RAD51C</i> und <i>RAD51D</i>
Zeitpunkt der Salpingo-Oophorektomie abhängig von den Erkrankungsalter in der Familie

ten beiden die Assoziation zu Brustkrebs umstritten ist [12] und die beiden letzten vermutlich nur im Zusammenhang mit der Diagnose eines Cowden-, respektive Peutz-Jeghers-Syndroms, mutiert sein werden. Das TruRiskTM-Panel wurde als dynamisches Genpanel konzipiert und es

ist möglich, neue Kandidatengene zeitnah in das Genpanel aufzunehmen und prospektiv im GC-HBOC zu evaluieren sowie in Zusammenarbeit mit internationalen Kooperationspartnern die diagnostischen, präventiven und therapeutischen Optionen der untersuchten Gene zu vali-

dieren. Geplant ist, die Genauswahl jährlich zu überarbeiten und das TruRiskTM-Panel entsprechend anzupassen.

Zurzeit werden nur bei Vorliegen einer Mutation in den Hochrisikogenen *BRCA1* oder *BRCA2* prophylaktische Maßnahmen empfohlen. Veränderungen in anderen DNA-Reparaturgenen (z. B. *CHEK2*, *PALB2*, *RAD51C* und *RAD51D*) können jedoch Konsequenzen für die (Chemo-)Therapie oder intensiviertere Früherkennung haben. Klinische Konsequenzen für Mutationen in allen diesen Genen sind in **Tab. 4** dargestellt.

Da in mehr als 10 % der BC/OC-Familien, welche die Einschlusskriterien des GC-HBOC (**Tab. 4**) erfüllen, mindestens 1 Fall von Darmkrebs auftritt, wurde konsentiert, die Lynch-Syndrom/HNPCC-Gene (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* und *PMS2*), welche im Verdacht stehen, auch das Brustkrebsrisiko zu erhöhen, ebenfalls in das TruRiskTM-Genpanel aufzunehmen. Sofern Mutationen in diesen Genen identifiziert werden, erfolgt die Überweisung an die darauf spezialisierten Zentren. Neben dem TruRiskTM-Genpanel existieren weitere kommerzielle Genpanels, wie z. B. das TruSight Cancer Panel (Illumina), welches 94 Gene inkludiert, das 26 Gene umfassende Hereditary Cancer MASTR Plus Panel (Multiplicom) und das ebenfalls 26 Gene enthaltende myRisk Panel (Myriad Genetics). Im Folgenden sollen die 10 „core genes“, die außer *RAD51D* auch auf allen diesen Panels enthalten sind, sowie die derzeit verfügbaren Penetranz-Daten zu diesen Risikogenen kurz dargestellt werden.

Die Hochrisikogene *BRCA1* und *BRCA2*

Die Hochrisikogene *BRCA1* und *BRCA2* sind in etwa 3–5 % der an Brustkrebs erkrankten Frauen, aber rund 22,5 % der Familien, welche die Einschlusskriterien des GC-HBOC erfüllen (**Tab. 3**), mutiert [13]. Das lebenslange Erkrankungsrisiko ist für Trägerinnen eindeutig pathogener *BRCA1*- oder *BRCA2*-Mutationen deutlich erhöht (**Tab. 5a**). Zahlreiche Studien geben zudem Hinweise darauf, dass Mutationen in den *BRCA*-Genen neben einem erhöhten Brust- und Eierstockkrebsrisiko auch ein allgemein

erhöhtes Krebsrisiko verursachen. Insbesondere *BRCA2*-Mutationen steigern bei Männern das Risiko, an Brust- oder Prostatakrebs zu erkranken, während sowohl *BRCA1*- als auch *BRCA2*-Mutationen das Pankreaskarzinomrisiko erhöhen.

RAD51C und RAD51D: selten mutierte Risikogene, insbesondere für Eierstockkrebs

Im Jahr 2010 gelang über einen Kandidatengenansatz, der innerhalb des deutschen Konsortiums durchgeführt wurde, die Identifikation eines dritten Gens (*RAD51C*), welches in Familien mit Brust- und Eierstockkrebs mutiert ist [26]. In diesem Gen wurden pathogene Mutationen in 1–1,5 % der Risikofamilien mit Brust- und Eierstockkrebs nachgewiesen. Eine Reihe von aktuellen Arbeiten konnte dies in der Folge auch für andere Populationen weltweit belegen, teilweise mit höheren Mutationsfrequenzen, aber auch mit einer Verschiebung des Tumorspektrums in Richtung Ovarialkarzinom [8, 25, 30, 42]. Kurze Zeit später wurde *RAD51D* als weiteres Hochrisikogen identifiziert [25] und nachfolgend bestätigt [43]. Wie *RAD51C* ist dieses Gen mit einer Mutationsfrequenz von etwa 1 % in Risikofamilien mit Brust- und Eierstockkrebs ebenfalls selten mutiert, wobei die Mutationsfrequenzen in reinen Brustkrebsfamilien für beide Gene deutlich niedriger sind. Mutationen in den Genen *RAD51C/D* führen zu einem etwa 6fach erhöhten Risiko für Eierstockkrebs [25, 26], die Erkrankungswahrscheinlichkeit für Brustkrebs ist hingegen in nicht deutschen Populationen nur leicht erhöht (■ Tab. 5b). Anders sieht es aber in unserer Population aus: Hier scheint eine Mutation in beiden Genen mit höheren Brustkrebsrisiken („lifetime risk“ > 20 %) assoziiert zu sein [27]. Das bedeutet, dass Mutationsträgerinnen in diesen beiden Genen zwar eine intensiviertere Früherkennung, aber keine Mastektomie empfohlen wird (■ Tab. 4).

ATM und NBN: Gene, die rezessiv mit Syndromen, dominant mit Brustkrebs assoziiert sind

Bereits in den späten 1980er-Jahren wurde eine erhöhte Brustkrebsrate in Ataxia-te-

medgen 2015 · 27:202–210 DOI 10.1007/s11825-015-0048-0
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

A. Meindl · J. Ramser · J. Hauke · E. Hahnen

Genetik des familiären Brust- und Eierstockkrebses: Paneldiagnostik – Möglichkeiten und Grenzen

Zusammenfassung

Aktuelle Untersuchungen belegen, dass das hereditäre Mamma- und Ovarialkarzinom eine extreme genetische Heterogenität aufweist. Aktuell sind neben *BRCA1* und *BRCA2* bereits mehr als 20 Risikogene bekannt, die etwa ein Drittel aller familiären Fälle erklären können. Zusätzlich werden ständig neue polygene Komponenten identifiziert, die derzeit 16 % der gesamten genetischen Last bedingen. Das bedeutet, diese Varianten befinden sich zusätzlich zu hoch- oder moderat penetranten Mutationen in den Familien und modulieren die Penetranz.

Gegenwärtig wird eine erweiterte *BRCA*-Diagnostik bereits in mehreren Ländern angeboten. Das Deutsche Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs (GC-HBOC) hat z. B. für die Multigenanalyse das TruRisk™-Genpanel konsentiert, welches neben den 10 sog. „core genes“ (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *TP53*) derzeit weitere noch zu validierende 24 Kandidatengene umfasst. Innerhalb des GC-HBOC wurde festgelegt, dass zunächst

nur die Untersuchung der 10 core genes verpflichtend ist. Neben dem TruRisk™-Genpanel existieren zahlreiche kommerzielle Genpanels, wie beispielsweise das TruSight Cancer Panel (Fa. Illumina), welches 94 Gene abdeckt, oder die jeweils 26 Gene umfassenden *BRCA* Hereditary Cancer MASTR™ Plus (Fa. Multiplicom) und Myriad myRisk™ (Myriad Genetics) Panels. Der Einsatz der Paneldiagnostik ermöglicht, im Rahmen der molekulargenetischen Diagnostik bei Tumorprädispositionserkrankungen, die flexible Untersuchung der relevanten erblichen Risikofaktoren. Das heißt aber, dass die Panels ständig neuen Erkenntnissen angepasst werden, die zwangsläufig einerseits aus den laufenden klinischen Validierungsstudien und andererseits aus den initiierten „exom“- oder „whole-genome“-Sequenzierungen resultieren.

Schlüsselwörter

Erblicher Brust- und Eierstockkrebs · Paneldiagnostik · Risikogene · Multigenanalyse

Genetic aspects of hereditary breast and ovarian cancer: options and limits

Abstract

Recent studies have documented the genetic heterogeneity of familial breast and ovarian cancer. In addition to *BRCA1* and *BRCA2*, more than 20 risk genes for hereditary breast and ovarian cancer, explaining about one third of familial cases, have been identified so far. Additionally, polygenic factors have been discovered that may explain about 16 % of the genetic burden of *BRCA1/2*-negative cases. Today, routine diagnostics using gene panels in addition to *BRCA1/2* testing is already offered in many countries, but sufficient information is available for only a few of the genes analyzed. Therefore, the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer (GC-HBOC) compiled the TruRisk™ 34-gene panel, which contains 10 so-called “core genes” (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *TP53*) in addition to 24 candidate genes. For members of the GC-HBOC, the analysis of the 10 core genes is obligatory. In addition to the TruRisk™ pan-

el, several other gene panels are commercially available, e.g., the TruSight Cancer Panel (Illumina), which covers 94 genes, or the *BRCA* Hereditary Cancer MASTR™ Plus (Multiplicom) and Myriad MyRisk™ (Myriad Genetics), which comprise 26 genes each. All these gene panels include the core genes and are also applied in Germany.

The use of panel diagnostics in the setting of molecular genetic testing for tumor predisposition disorders allows a reliable and flexible analysis of relevant risk factors. In contrast, exome or even whole genome sequencing is a powerful method of identifying further candidates quickly and cheaply. However, the determination of clinical consequences for mutations in novel genes requires comprehensive national and international validation studies.

Keywords

Hereditary breast and ovarian cancer · Panel diagnostics · Risk genes · Multigene analysis

Hier steht eine Anzeige.



Springer

Tab. 5 Genetische Risikofaktoren für den familiären Brust- und Eierstockkrebs

A. Hochpenetrante Gene (Risikomodifikation 5- bis 20fach)	
Gen (Mutationshäufigkeiten)	BC/OC Lebenszeitriskien
<i>BRCA1</i> (~17% ^a)	BC (60–85%), BCbil (30–60%), OC (45%)
<i>BRCA2/FANCD1</i> (~8% ^a)	BC (40–85%), BCbil (15–40%), OC (15–20%)
B. Moderat penetrante Gene (Risikomodifikation 1,5- bis 5fach)	
Gen (Mutationshäufigkeiten)	BC/OC Lebenszeitriskien
<i>CHEK2</i> (2–4% ^a)	BC (25–45%)
<i>PALB2/FANCN</i> (~1%)	BC (35–65%) eventuell Hochrisikogen
<i>ATM</i> (< 1%)	BC (25–45%)
<i>NBN</i> (< 1%)	BC (25–50%)
<i>RAD51C/FANCO</i> (1–1,5% ^{a,b})	BC (15–25%), OC (10–20%)
<i>RAD51D</i> (~1% ^{a,b})	BC (15–20%), OC (10–20%)

BC Brustkrebs, BCbil bilaterales Mammakarzinom, OC Ovarialkarzinom.
^aMutationsfrequenzen innerhalb des Deutschen Konsortiums für Familiären Brust- und Eierstockkrebs.
^bMutationsfrequenzen beziehen sich auf Familien mit Brust- und Eierstockkrebs. Nach [19] beträgt das durchschnittliche, kumulative Risiko für eine Erkrankung vor Vollendung des 70. Lebensjahres für *BRCA1*-Mutationsträgerinnen 69% (BC) bzw. 46% (OC) und für *BRCA2*-Mutationsträgerinnen 74% (BC) bzw. 12% (OC). Nach [2] liegen die entsprechenden Erkrankungsrisiken für *BRCA1*-Mutationsträgerinnen bei etwa 60% (BC) bzw. 35% (OC) und für *BRCA2*-Mutationsträgerinnen bei etwa 50% (BC) bzw. 11% (OC)

langiectasia-Familien beschrieben (MIM 208900, *ATM*) (■ Tab. 5b). Bei Ataxia telangiectasia handelt es sich um ein autosomal rezessiv erbliches Chromosomenbruchsyndrom, heterozygote Trägerinnen einer trunkierenden *ATM*-Mutation zeigen ein etwa 2,4fach erhöhtes Brustkrebsrisiko (■ Tab. 5b). Biallelische Mutationen im *NBN*-Gen verursachen hingegen das Nijmegen-Breakage-Syndrom (MIM 251260) (■ Tab. 5b), eine klinisch abgrenzbare Unterform der Ataxia telangiectasia. Für Trägerinnen einer heterozygoten *NBN*-Mutation besteht ein 2,4fach erhöhtes Brustkrebsrisiko [16] (■ Tab. 5b).

Unbekannt ist gegenwärtig noch, wie häufig *NBN* in der deutschen Population verändert ist. In den slawischen Populationen wurden viele Mutationen in *NBN* identifiziert, dort bedeuten Veränderungen eine 2,4fache Erhöhung des Brustkrebsrisikos [16]. Eine Aufnahme in die Routinediagnostik ermöglicht die baldige Ermittlung von Risikoziffern in der deutschen Bevölkerung. Insbesondere in *ATM* werden jedoch in den meisten Fällen „Missense“-Varianten gefunden. Die meisten dieser Veränderungen werden als „variant of unknown significance“ (VUS) eingestuft und somit können aktuell für solche noch keine klinischen Handlungsempfehlungen ausgesprochen werden [11]. Der Artikel von Hauke et al. in dieser Ausgabe beschäftigt sich einge-

hend mit der Problematik der VUS-Klassifizierung [17].

PALB2 und CHEK2: Risikogene für familiären Brustkrebs und das Pankreaskarzinom

Neben *RAD51C* wurde auch *PALB2/FANCN* (partner and localizer of *BRCA2*) über einen Kandidatengenansatz als zunächst moderat penetrantes Risikogen für den erblichen Brustkrebs identifiziert, welches bei etwa 1% der untersuchten familiären Brustkrebspatientinnen Mutationen aufweist. Lange Zeit wurde angenommen, dass Mutationen in *PALB2/FANCN* das Brustkrebsrisiko minimal etwa 2,3fach, maximal bis zu 5fach, erhöhen. Eine neue Untersuchung zeigte jedoch, dass *PALB2*-Mutationen das Risiko für Brustkrebs jahrgangabhängig bis zu 8fach erhöhen [1]. Die Assoziation von *PALB2*-Mutationen mit Pankreaskarzinom wurde bereits durch mehrere Studien belegt [20, 35, 39].

Initiale Untersuchungen zeigten, dass Mutationen im *CHEK2*-Gen (■ Tab. 5b) (MIM 609.265) zu einer 2- bis 3fachen Erhöhung des Brustkrebsrisikos führen. Die Penetranz ist jedoch stark abhängig von der familiären Risikokonstellation [9]. Wie bereits für *BRCA1*, aber vor allem *BRCA2* belegt, untermauert diese Beobachtung die Hypothese, dass die Penetranz von *CHEK2*-Mutationen in Risikofa-

Tab. 6 Tumordispositionserkrankungen mit einem erhöhten Risiko für Brust- und/oder Eierstockkrebs

Erkrankung (Gen)	BC/OC-Risiken
Peutz-Jeghers-Syndrom (<i>STK11/LKB1</i>)	BC (50%), OC
Li-Fraumeni-Syndrom (<i>TP53</i>)	BC (80–90%)
Cowden-Syndrom (<i>PTEN</i>)	BC (25–50%)
Hereditäres diffuses Magenkarzinom (<i>CDH1</i>)	BC (40–60%)
Lynch-Syndrom/HNPCC (<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2</i>)	Moderat erhöhte BC/OC-Risiken (15–25%)

milien durch weitere genetische Alterationen modifiziert wird. Ein Nachweis von *CHEK2*-Mutationen ist aber auch deshalb wichtig, da die Tumoren der betroffenen Patientinnen evtl. in der Primärtherapie anders behandelt werden müssen, da sie schlechter auf Anthrazykline ansprechen [22]. Der Nachweis von Mutationen im *CHEK2*-Gen kann allerdings nicht alleine durch eine Paneldiagnostik erfolgen, sondern erfordert aufgrund existierender homologer Pseudogene (wie auch bei *PMS2*) zusätzliche Experimente (z. B. Präamplifikation durch „long-range“ PCR).

CDH1 und TP53 sind Risikogene in seltenen Tumordispositionserkrankungen

Seltene, autosomal dominant erbliche Tumordispositionserkrankungen sind meistens mit einem erhöhten Risiko für Brust- und Eierstockkrebs assoziiert (■ Tab. 6). Die für das Li-Fraumeni-Syndrom Typ 1 (MIM 151623) und das hereditäre diffuse Magenkarzinom (MIM 137215) (■ Tab. 6) ursächlichen Gene *TP53* und *CDH1* wurden daher von uns in die Routinediagnostik aufgenommen. Grund dafür ist einerseits die Tatsache, dass *TP53* De-novo-Mutationen in singulären Brustkrebsfällen [14, 18, 33, 36] sowie in sehr jungen Patientinnen mit Brustkrebs-Keimbahnmutationen in *TP53* gefunden wurden [15] und andererseits *CDH1*-Mu-

tationen in Familien mit gehäuftem Auftreten von v. a. lobulärem Brustkrebs beschrieben wurden [29]. Zu berücksichtigen ist aber, dass der Nachweis von Mutationen in diesen Genen zu Konfliktsituationen führen kann. So zeichnen sich z. B. Mutationen im *TP53*-Gen durch eine extreme phänotypische Heterogenität aus: So gibt es Familien mit und ohne das Auftreten von Sarkomen, mit und ohne Gehirntumoren und manchmal mit, aber meistens ohne Brustkrebs. Aus diesem Grund ist hier bei der Empfehlung operativer Maßnahmen sehr stark die spezifisch familiäre Situation zu berücksichtigen. Unstrittig ist, dass Mutationen im *CDHI*-Gen mit hohen Risiken für Magen- und hohen Risiken für (lobulären) Brustkrebs assoziiert sind [29, 34]. Es ist aber extrem schwierig, Risiken für Brustkrebs zu ermitteln, wenn in der Familie hauptsächlich Magenkrebs aufgetreten ist, oder umgekehrt für Magenkrebs, wenn in der Familie hauptsächlich Brustkrebs aufgetreten ist. Andererseits wurden aber bis jetzt in Paneldiagnosen nur wenige *CDHI*-Mutationen in Brustkrebsfamilien gefunden.

Einschub: niedrig penetrante Risikoallele in Risikofamilien

Auch unter Berücksichtigung aller heute bekannten Hochrisiko- und Risikogene finden sich in fast zwei Dritteln der belasteten Familien *keine* pathogenen Veränderungen in diesen Genen. Dies gab auch zu der Hypothese Anlass, dass das übrige familiäre Risiko sämtlich durch ein Zusammenspiel verschiedener Genvarianten im Sinne eines polygenen oder multifaktoriellen Erbgangs bedingt sein könnte. Durch umfangreiche Assoziationsstudien, insbesondere in Zusammenarbeit mit dem BCAC-Konsortium¹, wurden kürzlich über 90 häufige SNP-Varianten identifiziert, die das Brustkrebserkrankungsrisiko bei *BRCA1/2*-negativen Patientinnen jeweils geringfügig modifizieren (< 1,5faches Risiko). Gegenwärtig

wird davon ausgegangen, dass das kombinatorische Zusammenspiel solcher Niedrigrisikovarianten etwa weitere 16% des genetischen Risikos in den familiären Fällen erklärt [28]. Auch bei *BRCA1/2*-Mutationsträgerinnen hat das deutsche Konsortium in Kooperation mit dem internationalen CIMBA-Konsortium² genomweit 10 (*BRCA1*) bzw. 15 (*BRCA2*) Niedrigrisikovarianten identifiziert, die das Erkrankungsrisiko für Brustkrebs modifizieren können. Eine aktuelle Studie des CIMBA-Konsortiums konnte 6 weitere Loci identifizieren, die das Erkrankungsrisiko für Eierstockkrebs bei *BRCA1/2*-Mutationsträgerinnen modifizieren [23]. Eine prospektive Validierung dieser Ergebnisse vorausgesetzt, könnte durch die Analyse dieser SNP-Niedrigrisikovarianten das Erkrankungsrisiko bei *BRCA1/2*-negativen und *BRCA1/2*-positiven Ratsuchenden zukünftig präziser eingegrenzt werden.

Identifizierung weiterer Risikogene durch NGS-Untersuchungen

Dass selbst in Hochrisikofamilien mit vielen jung an Brust- und/oder Eierstockkrebs erkrankten Frauen vielfach keine pathogenen Mutationen in den bekannten hoch- oder moderat penetranten Risikogenen nachgewiesen werden können, gilt als Beleg für die Existenz weiterer, unbekannter hoch- oder moderat penetranter Genmutationen. Weitere Kandidatengene sind unter anderem die an der DNA-Reparatur beteiligten Fanconi-Anämie-Gene. Die bisherigen Studien indizieren insgesamt eine ausgeprägte monogene/oligogene Komponente des familiären Brust- und Eierstockkrebses mit einer hohen Heterogenität. Durch die zunehmende Etablierung von NGS-Strategien wurden kürzlich weitere Risikogene (*FANCC*, *FANCM*, *BLM* und *PPMD1*) für den hereditären Brust- oder/und Eierstockkrebs identifiziert [32, 38], die wiederum jeweils nur sehr selten mutiert vorliegen und de-

ren klinische Validierung noch weitgehend aussteht [12]. Die Validierung dieser selten mutierten Gene benötigt jedoch große Probenzahlen; für GC-HBOC erfolgt diese Analyse im Rahmen der PERSPECTIVE-Studie. Diese Strategie hat sich bewährt: So konnte beispielsweise das *XRCC2* als Gen, welches als moderat penetrantes Risikogen publiziert wurde, durch die Untersuchung von ca. 850 Brustkrebsfamilien des GC-HBOC sowie eine internationale Studie an einem größeren Patientenkollektiv nicht als Risikogen bestätigt werden [19]. Damit ist eine Aufnahme dieses Gens in die Routinediagnostik definitiv nicht gegeben.

Erste Ergebnisse aus Panelanalysen beim Brust- und Ovarialkarzinom

Weltweit haben verschiedene Arbeitsgruppen nun erste Studien mittels unterschiedlicher Genpanel-Untersuchungen bei Brust- und/oder Eierstockkrebspatienten durchgeführt. Im Folgenden sollen die wichtigsten bereits publizierten Studien kurz zusammengefasst werden und mit den ersten eigenen Daten des GC-HBOC verglichen werden.

Tom Walsh und Kollegen publizierten bereits im September 2011 die Ergebnisse einer Studie, bei der 360 nicht nach Familienanamnese selektierte Patientinnen, vorwiegend mit Ovarialkarzinom, auf Keimbahnmutationen in den 21 Genen des verwendeten Panels untersucht wurden [42]. Dabei konnten Keimbahnmutationen in *BRCA1* und *BRCA2* bei 18% der untersuchten Patientinnen gefunden werden. Bei weiteren 6% der Fälle konnten pathogene Veränderungen u. a. in *BARD1*, *BRIPI*, *CHEK2*, *MRE11A*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *RAD50*, *RAD51C* und *TP53* nachgewiesen werden. In einer Nachfolgearbeit aus dem gleichen Institut konnten diese Ergebnisse im Wesentlichen bestätigt werden [31]. Durch zusätzliche Analysen des vorhandenen Tumormaterials konnte hier gezeigt werden, dass zusätzlich zu den Keimbahnmutationen (24%) in den DNA-Reparaturgenen auf somatischer Ebene weitere 9% der Patientinnen Mutationen aufweisen. Interessanterweise waren prognostisch und prädiktiv beide Mutationsformen für das Ansprechen

¹ Das Breast Cancer Association Consortium (BCAC) vereint 65 nationale Studiengruppen und überschaut mehr als 100.000 (meist sporadische) Mammakarzinomfälle und mehr als 100.000 Kontrollprobanden.

² Das Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1 and BRCA2 (CIMBA) vereint 30 internationale Studiengruppen und überschaut derzeit über 36.000 Mutationsträgerinnen, davon sind mehr als 23.000 *BRCA1*- und mehr als 13.000 *BRCA2*-positiv.

auf die Standardtherapie Cisplatin/Taxol relevant [31].

In einer französischen Studie von Laurent Castéra und Kollegen wurden 708 Familien mit erblichem Brust- und/oder Eierstockkrebs auf Mutationen in 27 Genen untersucht [5]. In 74 von 708 Familien (10,5 %) wurden *BRCA1/2*-Mutationen gefunden und in 36 Familien (5,1 %) Mutationen in 13 weiteren Genen, inklusive *CHEK2*, *PALB2*, *ATM*, *RAD51C*, *CDHI* und *TP53*.

Deutlich mehr Mutationen in den Hochrisikogenen *BRCA1/2* wurden in einem anderen Kollektiv gefunden [24]. 57 von 198 Frauen aus Hochrisikofamilien zeigten Mutationen in *BRCA1/2* (29 %); nur weitere 8 Familien zeigten Mutationen in sechs weiteren Risikogenen (bei *MUTYH* und *SLX4* handelt es sich eher um Niedrigrisikovarianten). Das heißt der Nutzen der Testung 42 weiterer Gene blieb bescheiden.

Die Firma Ambry Genetics, die als erste eine Paneldiagnostik in den USA anbot, fand als einzige überhaupt Mutationen in einem relevanten Umfang (> 1 %) in den syndromassozierten Genen *CDHI*, *PTEN*, aber vor allem *TP53* [6]. Da v. a. der Anteil von *TP53*-Mutationen hier relativ hoch ist, kann von einem „Rekrutierungsbias“ ausgegangen werden. Tatsächlich ist der geringe Anteil von *BRCA1/2*-Mutationen (160 von 3000 = 5,3 %) die Grundlage für den relativ hohen Anteil an *TP53*-Mutationen, der absolut aber dann deutlich weniger als 1 % beträgt; Mutationen in *CDHI* und *PTEN* bewegen sich sogar im Promillebereich.

Myriad Genetics, die bis vor Kurzem in den USA das Monopol auf die Sequenzierung der Gene *BRCA1* und *BRCA2* hatten, publizierten kürzlich ebenfalls ihre Daten zur Paneldiagnostik [40]. Das benutzte NGS-Panel für die amerikanischen Familien bestand aus 25 Genen (■ Tab. 1). Im Gegensatz zum Deutschen Konsortium für Erbliehen Brust- und Eierstockkrebs, wo bei 22,5 % der Patientinnen Mutationen in den Hochrisikogenen *BRCA1/2* gefunden werden [13], sind hier nur 9,3 % der Familien oder Patientinnen, die kommerziell getestet werden, *BRCA1/2*-positiv. Weitere ca. 3 % (nicht 3,9 % wie bei Tung et al. berichtet, da *BRIP1* und *BARD* eher Niedrigrisikovarianten sind) werden

v. a. in den Genen *CHEK2*, *PALB2*, *ATM* und *NBN* gefunden, was ihre Nominierung als core genes für die deutsche Bevölkerung untermauert. Mutationen in den anderen Genen (z. B. *TP53*) finden sich im Promillebereich.

Patientinnen mit einem triple-negativen Mammakarzinom und Mutationen in *BRCA1* oder *BRCA2* profitieren sehr wahrscheinlich von einer platinbasierten Chemotherapie [4] und dem Einsatz von PARP-Inhibitoren [41]. Deswegen war es interessant zu erfahren, wie viele Patientinnen aus einer unselektierten Kohorte Mutationen in den Hochrisikogenen *BRCA1/2* und in anderen DNA-Reparaturgenen zeigten.

Couch et al. [7] fanden nach Untersuchung von 17 Genen in 1824 Patientinnen mit einem triple-negativen Mammakarzinom in 11,2 % der Fälle Mutationen in den Hochrisikogenen *BRCA1* und *BRCA2* und zusätzliche 2,4 % in 12 weiteren Genen, darunter *ATM*, *PALB2*, *RAD51C* und *RAD51D*. Da in dieser Studie 38 % der Patienten mindestens einen weiteren Fall von Brust- oder Eierstockkrebs bei erst- oder zweitgradig Verwandten aufwiesen, konnten in den Hochrisikogenen *BRCA1/2* mehr als 10 % Mutationen gefunden werden.

Die ersten Ergebnisse der Panelanalyse des GC-HBOC in 594 *BRCA1/2*-negativen Indexfällen (familiäre BC/OC-Fälle und unselektierte TNBC-Fälle) unter Verwendung des TruRisk™-Genpanels liegen ebenfalls vor. Die Analyse der 302 Patientinnen aus Hochrisikofamilien mit Brust- und/oder Eierstockkrebs (Hahnen et al., Manuskript in Vorbereitung) zeigte pathogene Veränderungen bei insgesamt 12 % der untersuchten Proben in den Nicht-*BRCA1/2*-Genen. Interessanterweise wurden die meisten pathogenen Varianten (3,5 %) im *ATM*-Gen sowie in *CHEK2* und *PALB2* gefunden, was die Auswahl dieser Gene zur Untersuchung im Rahmen der Routinediagnostik unterstreicht (*RAD50*, ebenfalls häufiger als 1 % mutiert, muss noch validiert werden). Bei der Untersuchung der nicht auf familiären Hintergrund selektierten Kohorte mit triple-negativem Brustkrebs (Hauke et al., Manuskript in Vorbereitung) wurden hingegen nur bei etwa 3,5 % der Patientin-

nen pathogene Mutationen in den Nicht-*BRCA1/2*-Genen gefunden.

Ob wegen Therapierelevanz in Zukunft alle triple-negativen Patientinnen (altersunabhängig) nach Mutationen in *BRCA1/2* oder allen bekannten Genen aus der DNA-Reparatur (Panel-Diagnostik) getestet werden sollen, muss diskutiert werden. Erste Publikationen [31] und erste Ergebnisse aus dem Konsortium zeigen deutlich, dass erbliche Veränderungen im Wesentlichen dort gefunden werden, wo eine Segregation über die väterliche und großväterliche Linie wahrscheinlich ist (limited family structure). Über diese Beobachtung kann ein evidenzbasiertes Einschlusskriterium für das triple-negative Mammakarzinom definiert werden.

Fazit für die Praxis

Next Generation Sequencing (NGS) wird immer kostengünstiger und durch die zunehmende Etablierung der Panelanalyse können verschiedene erkrankungsassoziierte Gene zeitnah parallel analysiert werden. Routinediagnostisch sollten jedoch nur Gene berücksichtigt werden, für die auch klinisch relevante Aussagen getroffen werden können. Diese Anzahl kann durch prospektiv angelegte Studien des Deutschen Konsortiums ständig erweitert werden. Das heißt die Panels, welche im Rahmen der Routinediagnostik eingesetzt werden, müssen dynamisch sein und werden zunächst häufig erweitert und modifiziert. Die zunächst wissenschaftliche Evaluierung (auch retrospektiv) neuer Risikogene, wie z. B. das aktuell identifizierte Risikogen *RECQL* [10, 34] ist definitiv notwendig, um klinisch relevante Genmutationen außerhalb der Hochrisikogene *BRCA1/2* und bekannten Risikogene umfassend zu identifizieren, deren populationsspezifische Häufigkeiten zu bestimmen und eine solide Grundlage für die Berechnung der assoziierten Erkrankungsrisiken zu schaffen.

Ausblick

Da die ersten eigenen Erfahrungen mit dem TruRisk™ (GC-HBOC, Manuskript in Vorbereitung) und anderen Genpanels zeigten, dass nur 12–16 % der unter-

suchten Patienten des GC-HBOC pathogene Mutationen in weiteren, nur zum Teil validierten Risikogenen aufweisen, kann nur bei etwa 36–40 % der untersuchten Familien die genetische Ursache für das Auftreten einer Brust- oder Eierstockkrebskrankung durch solche Analysen erklärt werden. Zur Identifikation weiterer Kandidatengene ist das deutsche Konsortium derzeit an einem Forschungsprojekt beteiligt, in dem mehr als 1000 Exome aus nicht verwandten Hochrisiko- und Risikofamilien untersucht werden. Dabei identifizierte Kandidatengene sollen in weiteren 7000 Familien aus dem Deutschen Konsortium evaluiert werden. Für die unmittelbare Zukunft stehen außerdem 10.000 Familien aus Europa und Kanada zur Validierung zur Verfügung (PERSPECTIVE, BRIDGES). Nur so können auch diese neuen Mutationen klinisch validiert und praktische Schlussfolgerungen für die Familien gezogen werden.

Dass in naher Zukunft exom- bzw. genomweite Sequenzierungen im Rahmen der Routinediagnostik durchgeführt werden, ist aufgrund der technischen Herausforderungen (geringe „coverage“, niedriger Durchsatz) und Kosten dieser Analysen, bei mittlerem bis hohem Probandendurchsatz, derzeit eher unwahrscheinlich. Aber GC-HBOC verfolgt die Strategie, die Erkenntnisse aus solchen Forschungsprojekten schnellstens in die Pannediagnostik zu überführen und zu evaluieren, was durch die Flexibilität des TruRisk™-Genpanels leicht möglich ist.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. A. Meindl

Abteilung Gyn. Tumorgenetik
Klinikum rechts der Isar an der TU, Frauenklinik,
Ismaningerstr. 22, 81675 München
alfons.meindl@lrz.tu-muenchen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A. Meindl, E. Hahnen weisen auf folgende Beziehungen hin: A. Meindl hat als Sachverständiger an Lynparza-Therapiestudien der Firma AstraZeneca teilgenommen und als Mitglied von Advisory Boards von AstraZeneca Honorare erhalten. E. Hahnen fungierte ebenfalls im Advisory Board von AstraZeneca. J. Ramser und J. Hauke geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Von allen Patienten liegt eine Einverständniserklärung vor.

Literatur

1. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T et al (2014) Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med* 371:497–506
2. Antoniou AC, Cunningham AP, Peto J et al (2008) The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extensions. *Br J Cancer* 98:1457–1466
3. Bogdanova N, Feshchenko S, Schurmann P et al (2008) The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extensions. *Int J Cancer* 122:802–806
4. Byrski T, Huzarski T, Dent R et al (2014) Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 147:401–405
5. Castera L, Krieger S, Rousselin A et al (2014) Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *Eur J Human Genet* 22:1305–1313
6. Chong HK, Wang T, Lu HM et al (2014) The validation and clinical implementation of BRCAplus: a comprehensive high-risk breast cancer diagnostic assay. *PLoS One* 9:e97408
7. Couch FJ, Hart SN, Sharma P et al (2015) Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol* 33:304–311
8. Coulet F, Fajac A, Colas C et al (2013) Germline RAD51C mutations in ovarian cancer susceptibility. *Clin Genet* 83:332–336
9. Cybulski C, Lubinski J, Wokolorczyk D et al (2014) Mutations predisposing to breast cancer in 12 candidate genes in breast cancer patients from Poland. *Clin Genet*, doi:10.1111/cge.12524. [Epub ahead of print]
10. Cybulski C, Carrot-Zhang J, Kluzniak W et al (2015) Germline RECQL mutations are associated with breast cancer susceptibility. *Nat Genet* 47:643–646
11. Damiola F, Pertesi M, Oliver J et al (2014) Rare key functional domain missense substitutions in MRE11A, RAD50, and NBN contribute to breast cancer susceptibility: results from a Breast Cancer Family Registry case-control mutation-screening study. *Breast Cancer Res* 16:R58
12. Easton DE, Pharoah P, Antoniou A et al (2015) Gene panel sequencing and breast-cancer risk. *N Engl J Med* 372:2243–2257
13. Engel C et al (2015) Familiärer Brustkrebs – empirische Erkrankungsrisiken und Risikoberechnungsmodelle. *medgen (in press)* doi:10.1007/s1182501500426
14. Ferrarini A, Auteri-Kaczmarek A, Pica A et al (2011) Early occurrence of lung adenocarcinoma and breast cancer after radiotherapy of a chest wall sarcoma in a patient with a de novo germline mutation in TP53. *Fam Cancer* 10:187–192
15. Fostira F, Konstantopoulou I, Mavroudis D et al (2015) Genetic evaluation based on family history and Her2 status correctly identifies TP53 mutations in very early onset breast cancer cases. *Clin Genet* 87:383–387
16. Gao P, Ma N, Li M et al (2013) Functional variants in NBS1 and cancer risk: evidence from a meta-analysis of 60 publications with 111 individual studies. *Mutagenesis* 28:683–697
17. Hauke J (2015) Klassifizierung von „variants of unknown significance“ (VUS) beim familiären Brust- und Eierstockkrebs. *medgen (in press)* doi:10.1007/s118250150049z
18. Henry E, Villalobos V, Million L et al (2012) Chest wall leiomyosarcoma after breast-conservative therapy for early-stage breast cancer in a young woman with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Compr Canc Netw* 10:939–942
19. Hilbers FS, Wijnen JT, Hoogerbrugge N et al (2012) Rare variants in XRCC2 as breast cancer susceptibility alleles. *J Med Genet* 49:618–620
20. Jones S, Hruban RH, Kamiyama M et al (2009) Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science* 324:217
21. King MC, Marks JH, Mandell JB et al (2003) Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 302:643–646
22. Knappskog S, Chrisanthar R, Lokkevik E et al (2012) Low expression levels of ATM may substitute for CHEK2/TP53 mutations predicting resistance towards anthracycline and mitomycin chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res* 14:R47
23. Kuchenbaecker KB, Ramus SJ, Tyrer J et al (2015) Identification of six new susceptibility loci for invasive epithelial ovarian cancer. *Nat Genet* 47:164–171
24. Kurian AW, Hare EE, Mills MA et al (2014) Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment. *J Clin Oncol* 32:2001–2009
25. Loveday C, Turnbull C, Ramsay E et al (2011) Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet* 43:879–882
26. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C et al (2010) Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 42:410–414
27. Meindl A et al (2015) Genetik des familiären Brust- und Eierstockkrebses: Pannediagnostik – Möglichkeiten und Grenzen. *medgen (in press)* doi:10.1007/s1182501500480
28. Michailidou K, Beesley J, Lindstrom S et al (2015) Genome-wide association analysis of more than 120,000 individuals identifies 15 new susceptibility loci for breast cancer. *Nat Genet* 14:373–380
29. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J et al (2013) E-cadherin alterations in hereditary disorders with emphasis on hereditary diffuse gastric cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci* 116:337–359
30. Osorio A, Endt D, Fernandez F et al (2012) Predominance of pathogenic missense variants in the RAD51C gene occurring in breast and ovarian cancer families. *Hum Mol Genet* 21:2889–2898
31. Pennington KP, Walsh T, Harrell MI et al (2014) Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clin Cancer Res* 20:764–775
32. Ruark E, Snape K, Humberg P et al (2013) Mosaic PPM1D mutations are associated with predisposition to breast and ovarian cancer. *Nature* 493:406–410
33. Salmon A, Amikam D, Sodha N et al (2007) Rapid development of post-radiotherapy sarcoma and breast cancer in a patient with a novel germline „de-novo“ TP53 mutation. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 19:490–493

34. Schrader KA, Masciari S, Boyd N et al (2011) Germline mutations in CDH1 are infrequent in women with early-onset or familial lobular breast cancers. *J Med Genet* 48:64–68
35. Slater EP, Langer P, Niemczyk E et al (2010) PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families. *Clin Genet* 78:490–494
36. Speiser P, Ghahrebaghi-Schnell E, Eder S et al (1996) A constitutional de novo mutation in exon 8 of the p53 gene in a patient with multiple primary malignancies. *Br J Cancer* 74:269–273
37. Sun J, Wang Y, Xia Y et al (2015) Mutations in *RECQL* gene are associated with predisposition to breast cancer. *PLoS Genet* 11(5):e1005228
38. Thompson ER, Doyle MA, Ryland GL et al (2012) Exome sequencing identifies rare deleterious mutations in DNA repair genes FANCC and BLM as potential breast cancer susceptibility alleles. *PLoS Genet* 8:e1002894
39. Tischkowitz MD, Sabbaghian N, Hamel N et al (2009) Analysis of the gene coding for the BRCA2-interacting protein PALB2 in familial and sporadic pancreatic cancer. *Gastroenterology* 137:1183–1186
40. Tung N, Battelli C, Allen B et al (2015) Frequency of mutations in individuals with breast cancer referred for BRCA1 and BRCA2 testing using next-generation sequencing with a 25-gene panel. *Cancer* 121:25–33
41. Tutt A, Robson M, Garber JE et al (2010) Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet* 376:235–244
42. Walsh T, Casadei S, Lee MK et al (2011) Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:18032–18037
43. Wickramanayake A, Bernier G, Pennil C et al (2012) Loss of function germline mutations in RAD51D in women with ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 127:552–555