

*Prädisponierende Genveränderungen
und Risikomodulatoren: BRCA1-3
und Zukunft !*

Projektgruppe Mammakarzinon Oktober 2010

Prof. Dr. Alfons Meindl

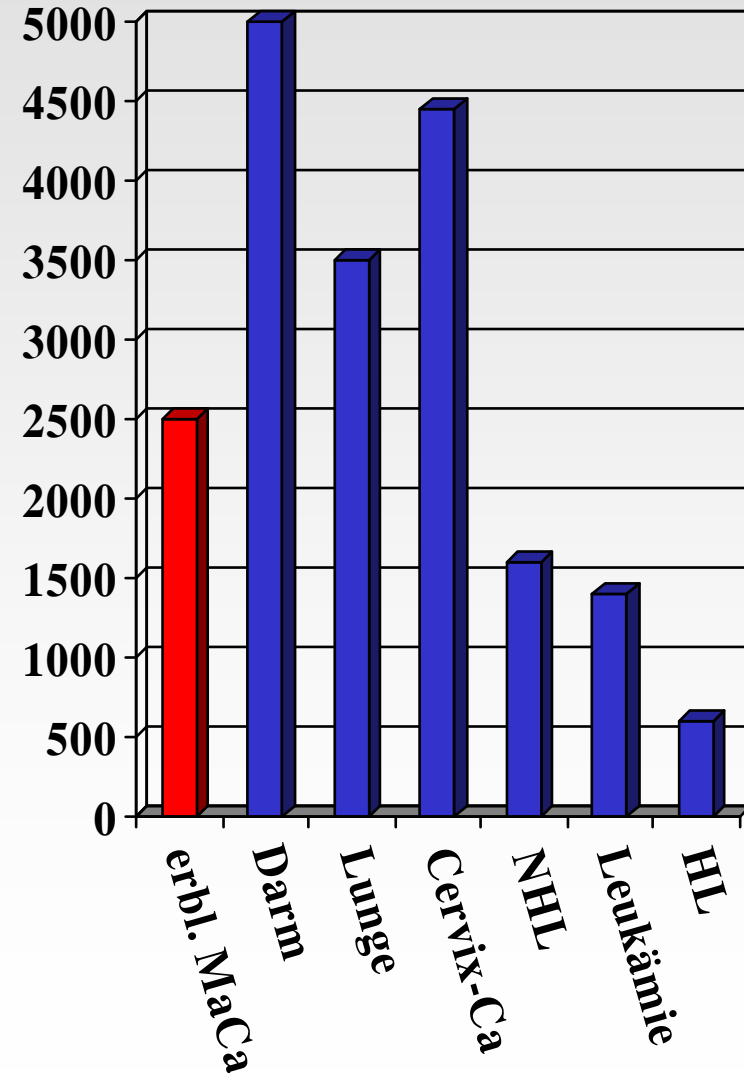
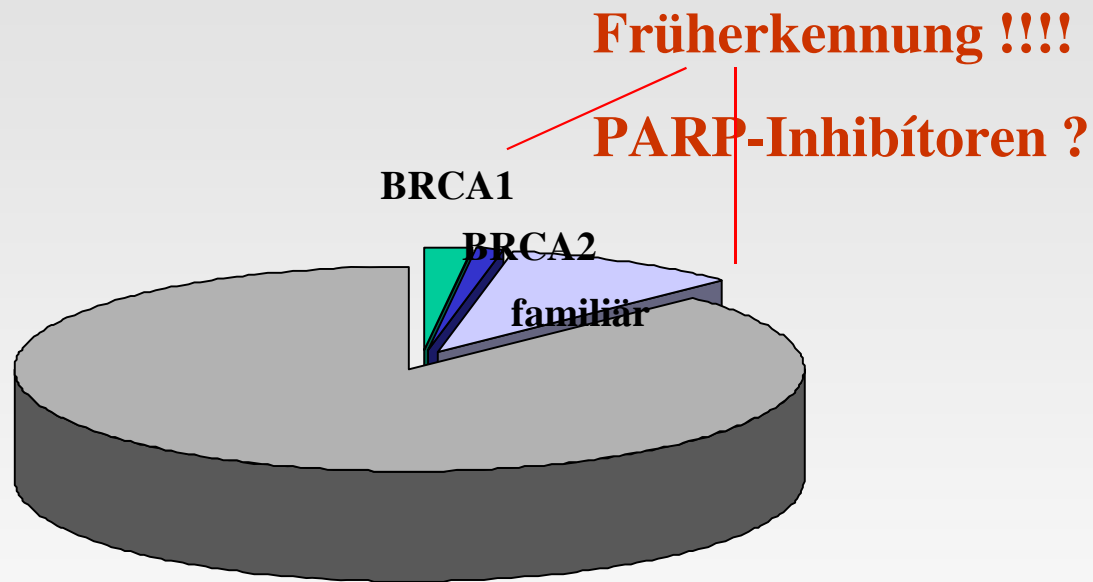
Frauenklinik am Klinikum rechts der Isar

Abt. Gynäkologische Tumorgenetik

E-mail: alfons.meindl@lrz.tum.de

Phone: 0049-89-4140-6750

Häufigkeit des erblichen Brustkrebses

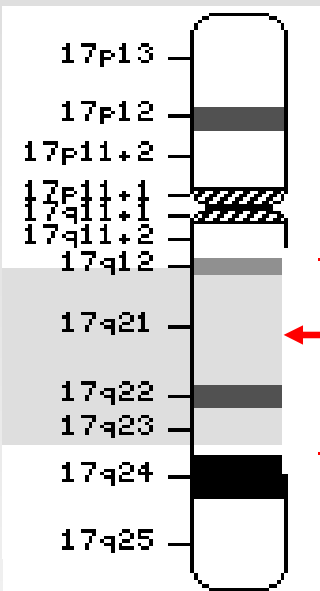


➤ **Fam. Mammakarzinom ist eine der häufigsten Erberkrankungen !!**

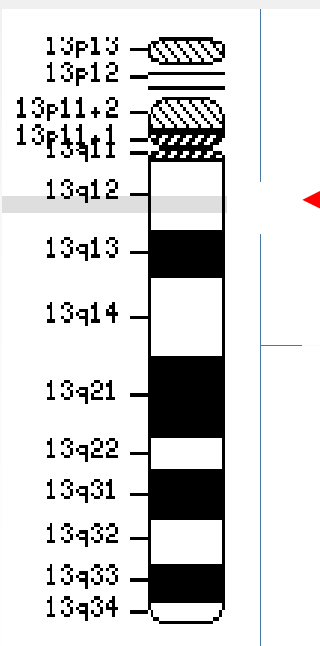
Einschlußkriterien für *BRCA*-Diagnostik:

1. Drei oder mehr Fälle an BC, 2 <51 (A = 35-40%)
2. Drei oder mehr Fälle an BC, 1<51 (B = 6-8%)
3. Genau zwei Fälle an BC, 2<51 (C = 20-25%)
4. Genau zwei Fälle an BC, 1<51 (D = 7-9%)
5. Mind. ein BC, mind. ein OC (E, H = 55-70%)
6. Zwei oder mehr Fälle OC (F = 55%)
7. Ein Fall BC <36 (G = 8-10%)
8. Eine Frau bil. BC, 1x <51 (I = 25-30%)

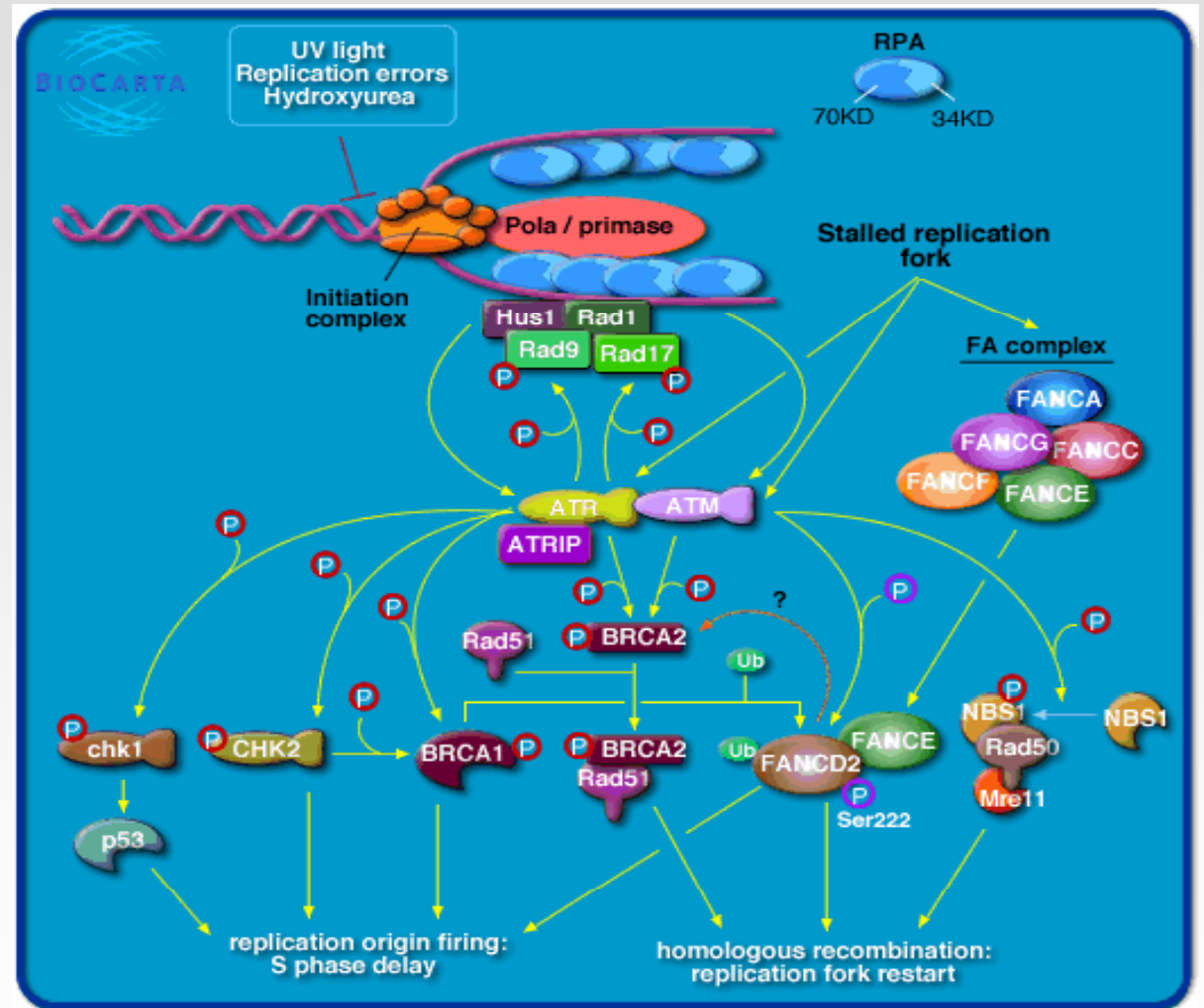
Monogene Brustkrebs-assoziierte Gene



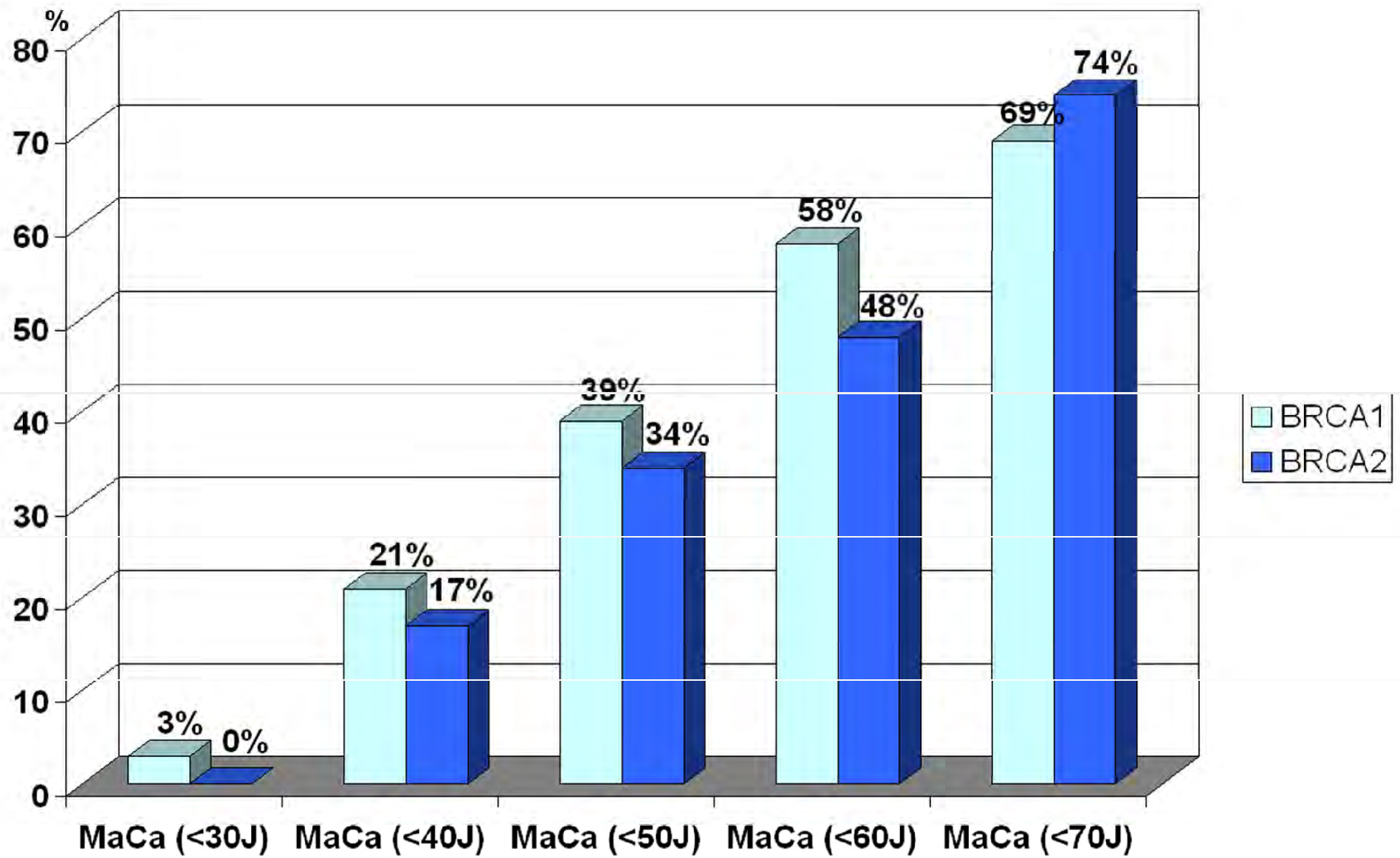
BRCA1
1994
17q21
5589 bp
1863 aa

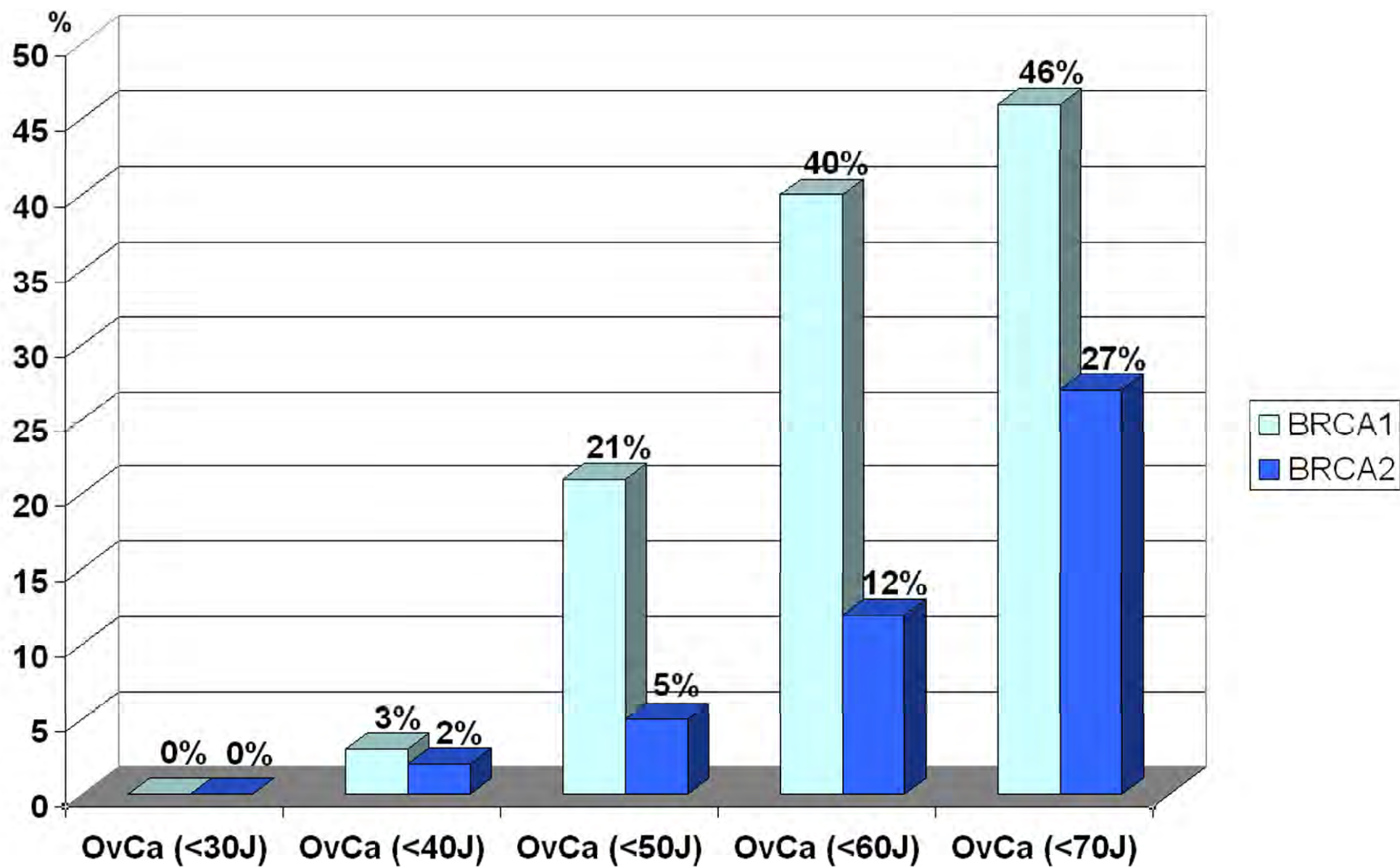


BRCA2
1995
13q12
10254 bp,
3418 aa



Beteiligt an ds-DNS-Reparatur





Jedoch: Familiäre Fälle von Brustkrebs werden nur zum Teil durch Mutationen in *BRCA1/2* erklärt:

1. Mehrere Fälle an Brustkrebs (>3) davon zwei vor dem 51. Lebensjahr: appr. **35-40%**
2. Mehrere Fälle von Brust- und Eierstockskrebs: appr. **55-70%**
3. Familien mit mindestens zwei Fällen von Eierstockskrebs: appr. **50%**
4. „Familien“ mit genau zwei Fällen Brustkrebs (1 vor 51) oder 1 Frau vor 36 erkrankt: ca. **8-10%**

Paradigma der letzten Jahre:

die familiären Fälle ohne *BRCA1/2*-Mutationen können durch die kombinierte Wirkung von sog. **Niedrigrisikovarianten** erklärt werden:

-> **Genom-Weite Assoziations-Studien:**

bis jetzt ca. 15 Varianten, davon aber vermutlich nur vier bis fünf als „Modifier“ in Familien relevant

-> mehrere Nat. Genet. Publikationen, z. T. unter

Beteiligung deutscher Gruppen:

FALSCH !

RICHTIG:

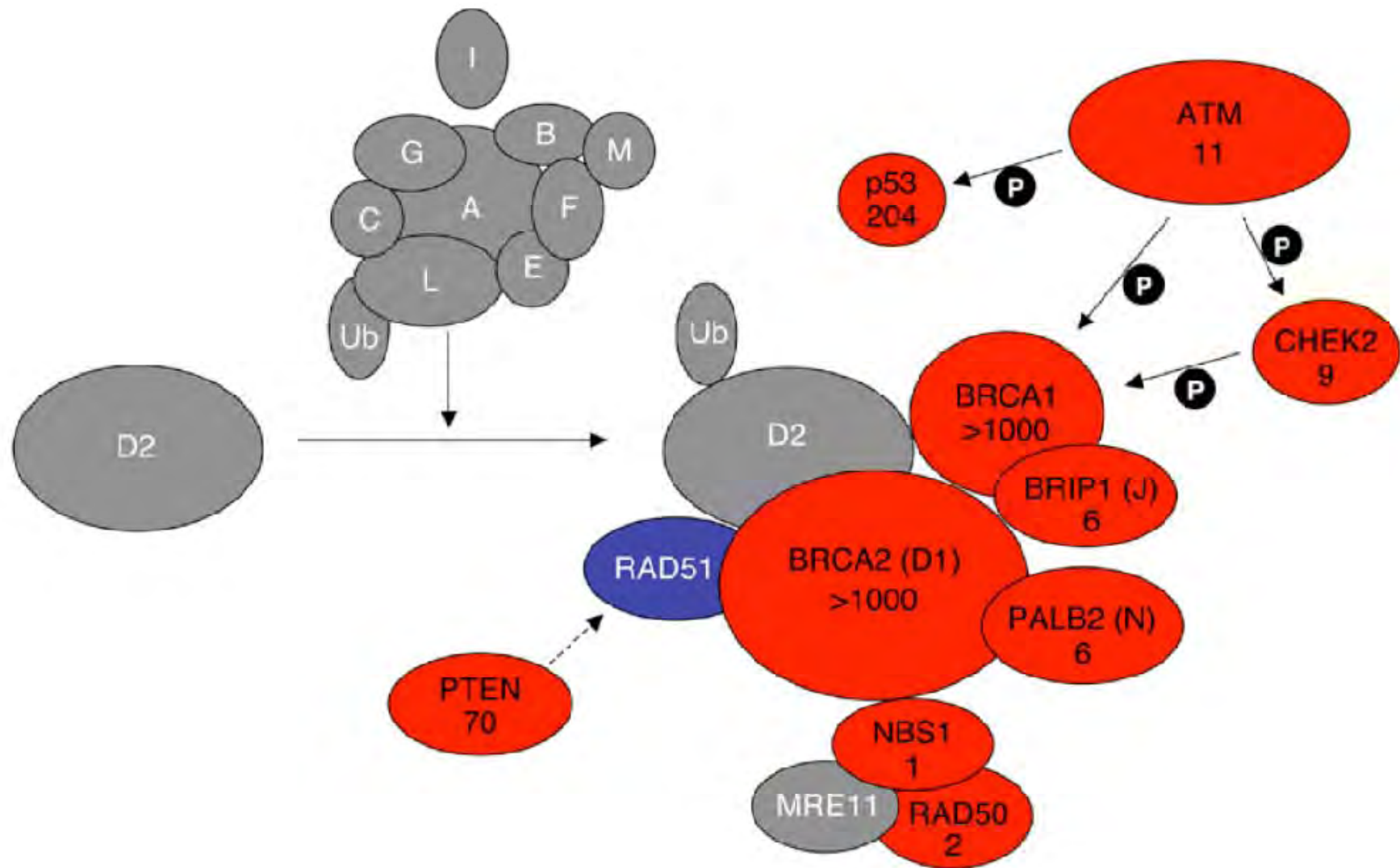
1. Polygene Vererbung:

moderat penetrante Mutationen und viele
Niedrigrisikovarianten)

2. Extreme monogenetische Heterogenität

hochpenetrante Mutationen in noch
unbekannten Genen und wenige
Niedrigrisikovarianten („**Modifier**“)

1a. Moderat penetrante Gene !

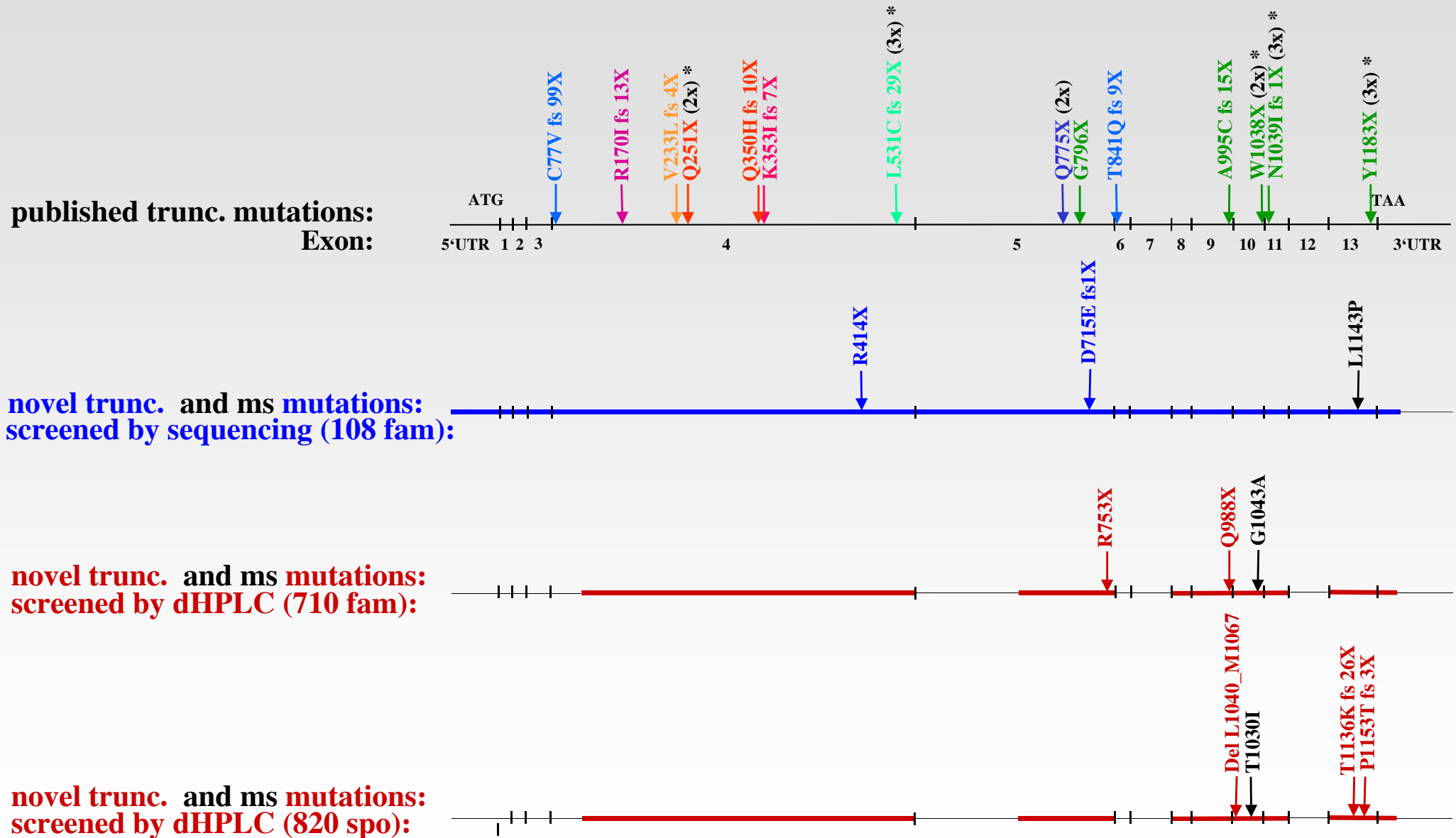


**Neu: Höhere ORs für moderat penetrante Mutationen im familiären Kontext:
(2.34 vs. 4.8)**

Mutationen im *CHEK2*-Gen:

- 1. *1100delC* = exon 10: 9/516**
- 2. *del exon 9-10*: 5/516**
- 3. *IVS2+1g->a*: 2/516**
- 4. mehrere „missense mutations“ (UVs)
in exon 3: 7/516**

Protein-truncating and „missense mutations“ in PALB2



(Hellebrand *et al.*, Manuscript submitted)

1b. Niedrigrisikovarianten

Kollaborationen mit BCAC und
CIMBA:

Bis jetzt, konnten 14 unterschiedliche
Niedrigrisikovarianten gefunden werden, z. B. ein
intronischer SNP im *FGFR2*-Gen:

- a) Higher OR in familial cases
- b) Modifier in *BRCA1/2* mutation carriers

Niedrigrisikovarianten in Familien und Mutationsträgerinnen:

E. g. *FGFR2* (German GWAS):

Heterozygot: P-value: 1.24E-12; OR=1,43 (1,26)

Homozygot: P-value: 2.33E-12; OR=2,05 (1,63)

E. g. *TNRC9* (CGEMS):

Heterozygot: P-value: 1,54E-07; OR=1,33 (1,20)

Homozygot: P-value: 1,00E-04; OR=1,63 (1,39)

**Wichtig: *FGFR2* auch „Modifizier“ in *BRCA2*-
Mutations-trägerinnen (Antoniou et al. and
GCHBOC, AJHG, 2008)**

Weitere „Modifier“:

BRCA1-Modifier:

GWA-Studie: 1193 BRCA1-Mutation carrier vs. 1190 gesunden Kontrollen: 19p13 mit drei Genen (OR = 1,26, P-value = 2.3×10^{-9}): *ABHD8*, *ANKLE1*, *C19orf62* !!!

Aber: Letzteres kodiert für MERIT40 (Mediator of Rap80 Interactions and Targeting 40 kb): Bestandteil des BRCA1-Komplexes und assoziiert mit triple-negativen Tumoren !

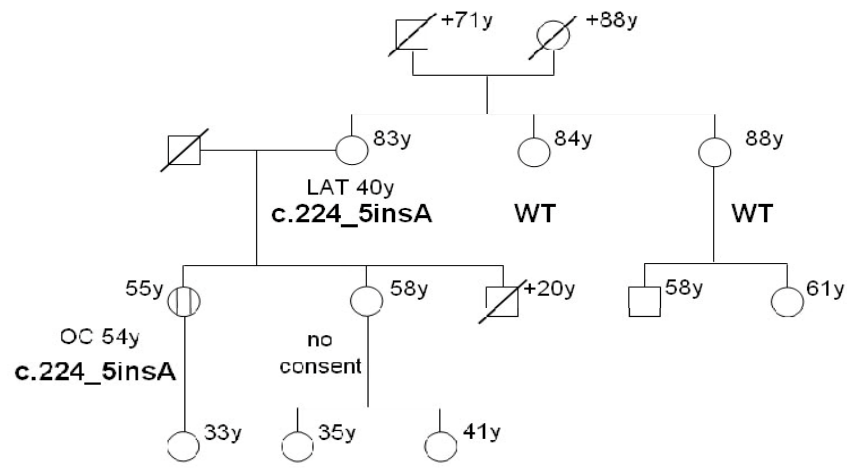
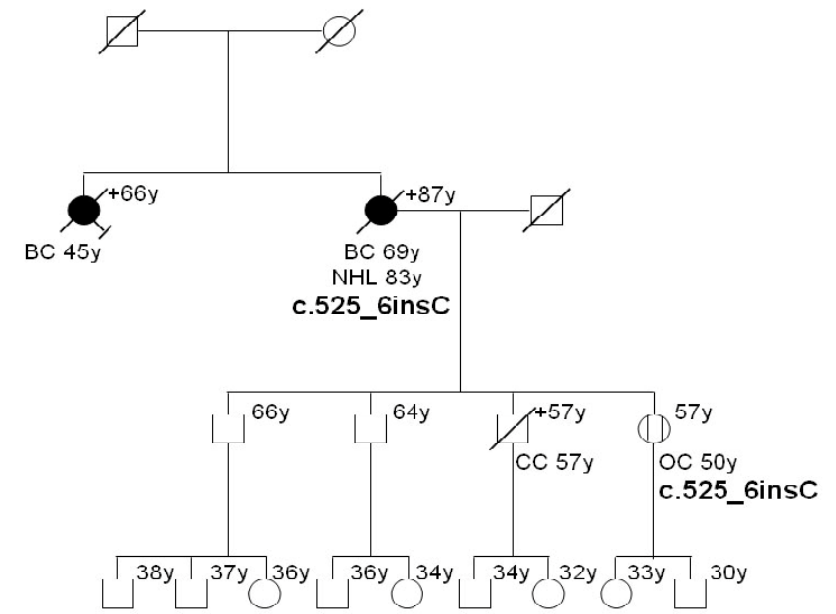
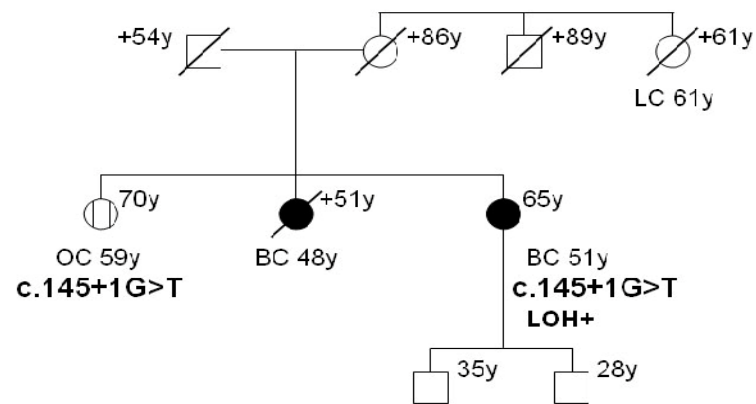
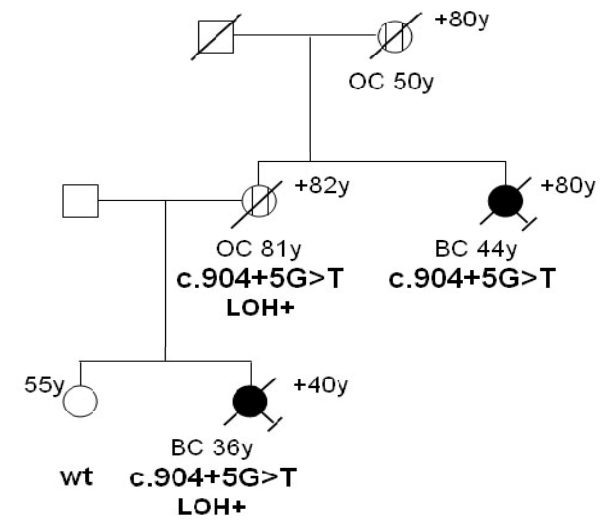
(Antoniou A, several authors, Schmutzler RK, Wappenschmidt B, Engel C, Meindl A, Preisler-Adams S, Arnold N, Niederacher D, Sutter C, several authors, Nat. Genet. October 2010).

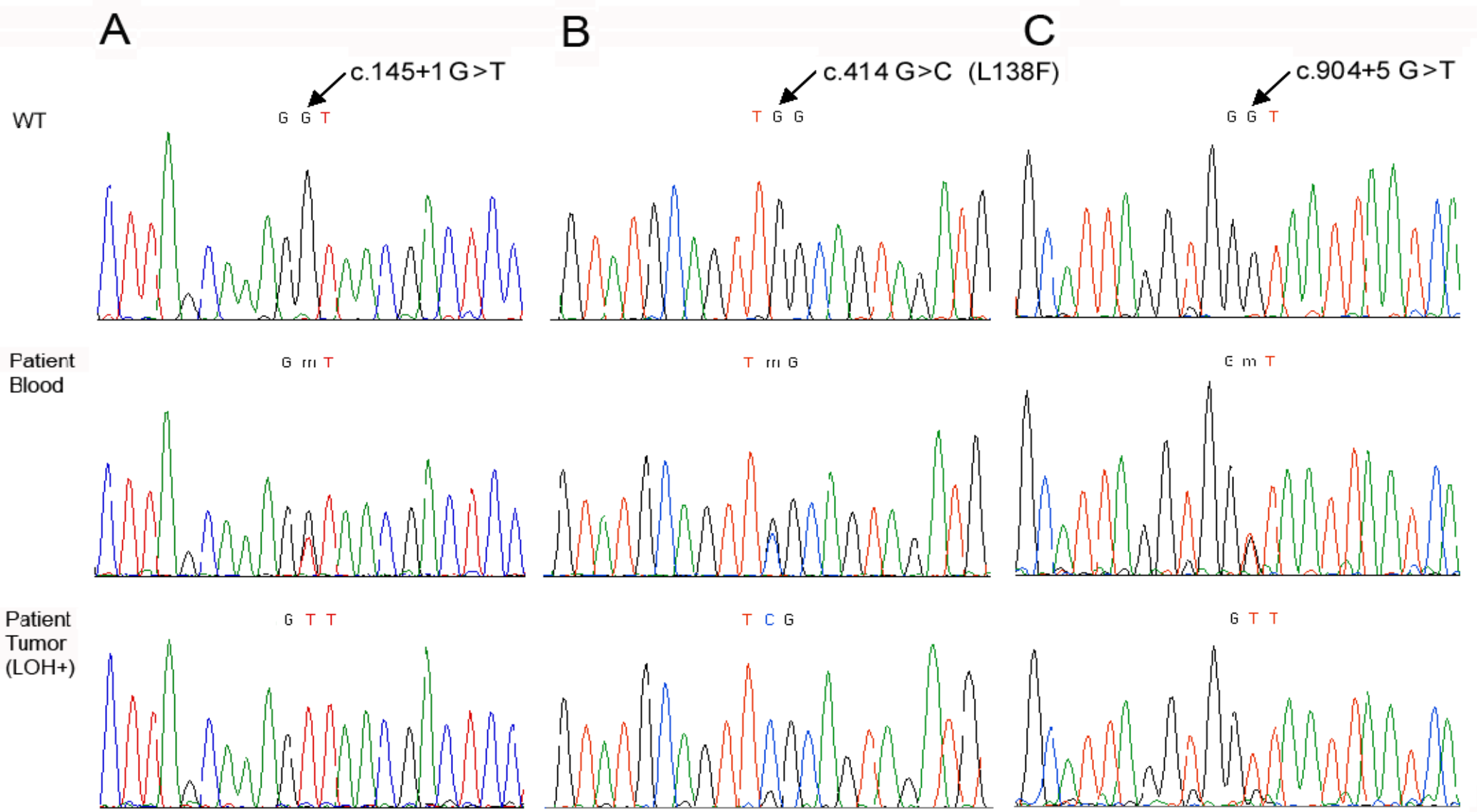
Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish *RAD51C* as a human cancer susceptibility gene

Alfons Meindl¹, Heide Hellebrand^{1,16}, Constanze Wiek^{2,16}, Verena Erven², Barbara Wappenschmidt³, Dieter Niederacher⁴, Marcel Freund², Peter Lichtner⁵, Linda Hartmann⁶, Heiner Schaal⁶, Juliane Ramser¹, Ellen Honisch⁴, Christian Kubisch⁷, Hans E Wichmann⁸, Karin Kast⁹, Helmut Deißler¹⁰, Christoph Engel¹¹, Bertram Müller-Myhsok¹², Kornelia Neveling¹³, Marion Kiechle¹, Christopher G Mathew¹⁴, Detlev Schindler¹³, Rita K Schmutzler^{3,17} & Helmut Hanenberg^{2,15,17}

Novel gene: „BRCA3“

- **Mutiert in BC- und OvCafamilien (6 in 480)**
- **Hoch penetrant, aber evtl. milderer Verlauf**
- **Tumor-Suppressor-Gen mit LOH**
- **Histologie ähnlich zu BRCA2**
- **Moderat penetrante „Missense“-Mut. (16 in 480)**

A**B****C****D**



Supplementary Figure 4A

Multiple Sequence Alignment of RAD51C:

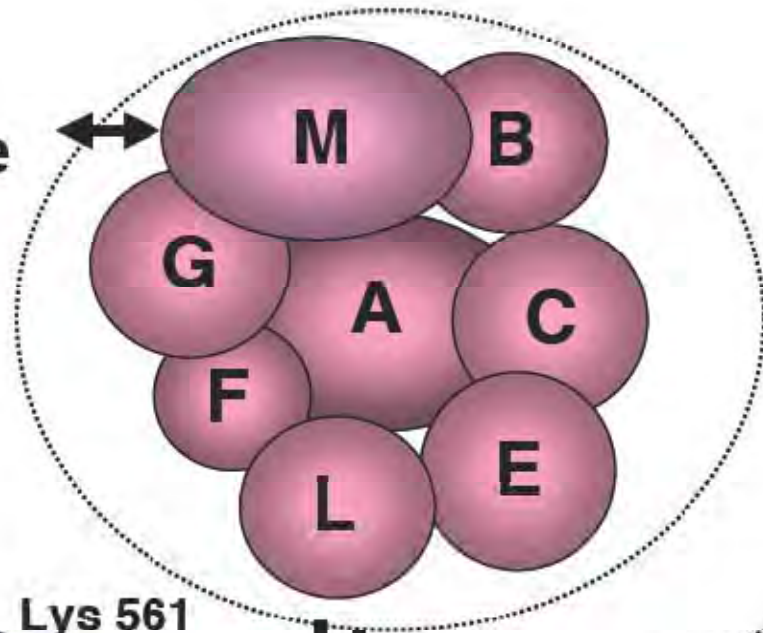
			G125V+A126T	L138F	D159N	V169A	
Homo sapiens	82	HKKCTALELLEQEHTQGFIIITFCSALDDILGGGVPLMKTTEICGAPGVGKTQLCMQLAVDVQIPECFGGVAGEAVFIDTEGSFMVDRVVDLATAACIQHLQ	C	F	N	A	181
Pan troglodytes	127	RKKCTALELLEQEHTQGFIIITFCSALDDILGGGVPLMKTTEICGAPGVGKTQLCMQLAVDVQIPECFGGVAGEAVFIDTEGSFMVDRVVDLATAACIEHLQ	C	F	N	A	226
Canis lupus fam	73	GKKCTALELLEQEHTQSFIIITFCSALDNILGGGIPLTKTTEICGVPGVGKTQLCMQLAVDVQIPECFGGVEGEAVFIDTEGSFMVDRVVDLATAACIQHLH	C	F	N	H	172
Bos taurus	197	GRKCTALELLEQEHTQNFIIITFCSALDNILGGGIPLTKTTEICGAPGVGKTQLCMQLAIDVQIPECFGGVEGEAVFIDTEGSFMVDRVVDLATAACIQHLQ	C	F	N	Q	296
Mus musculus	73	NEKCTALELLEQEHTQGFIIITFCSALDNILGGGIPLMKTTEVCGVPGVGKTQLCMQLAVDVQIPECFGGVAGEAVFIDTEGSFMVDRVVDLATAACIQHLH	C	F	N	H	172
Rattus norvegicus	109	NKKCTALELLEQEHTQGFIIITFCSALDNILGGGIPLMKTTEVCGVPGVGKTQLCMQLAVDVQIPECFGGVAGEAVFIDTEGSFMVDRVVDLATAACIQHLH	C	F	N	H	208
Gallus gallus	73	TRKCTALELLEEEETQGFIIITFCSALDNILGGGVQLTKITEICGAPGVGKTQLCMQLAVDVQIPECFGGVAGEAVFIDTEGSFMVDRAADIATACVRHCQ	C	F	N	Q	172
Danio rerio	71	---VTALDLLHQEQLGSIIVTFCSGLDDAIGGGVPVGKTTEICGAPGVGKTQLCMQLAVDVQIPVFFGGLGGKALYIDTEGSFLVQRVADMAEAAVQHCT	C	F	N	R	167
Arabidopsis thaliana	90	K---NAWDMLEHEESLPRITTSCLDNILGGGISCRDVTEIGGVPGIGKTQIGIQLSVNVQIPRECGGLGGKAIYIDTEGSFMVERALQIAEACVEDME	G	F	N	I	186
Oryza sativa	75	Q---NAWDMLSDEQSRRHINTGSADLNNILGGGIHCKEVTEIGGVPGVGKTQLGIQLAINVQIPVEYGGGLGGKAVYIDTEGSFMVERVYQIAEGCISDIL	G	F	N	Y	171

			G264V+				
		R258H	G264S		Y287A		
Homo sapiens	242	DGIAFPFRHDLDDLSLRTRLLNGLAQQMISLANNHRLAVILTNQMTTKIDRNQALLVPALGESWGHAATIRLIFHWDRKQRLATLYKSPSQKECTVLFQI	S		A		341
Pan troglodytes	327	DGIAFPFRHDLDDLSLRTRLLNGLAQQMISLANNHRLAVILTNQMTTKIDRNQALLVPALGESWGHAATIRLIFHWDRKQRLATLYKSPSQKECTVLFQI	S		A		426
Canis lupus fam	227	-----VLLTNQMTTKIDRNQALLVPALGESWGHAATIRLIFHWQKQRLATLYKSPSQKESTVLFQI			A		288
Bos taurus	357	DGIAFPFRHDLDDLSLRTRLLNGLAQQMISLANNHRLAVILTNQMTTKFDRNQALLVPALGESWGHAATIRLIFHWQKQRLATLYKSPSQKESTVPFQI	S		A		456
Mus musculus	233	DGIAFPFRHDLDDLSLRTRLLNGLAQQMISLANNHRLAVILTNQMTTKIDKNQALLVPALGESWGHAATIRLIFHWEQKQRFATLYKSPSQKESTIPFQI	S		A		332
Rattus norvegicus	269	DGIAFPFRHDLDDFLRTRLLNGLAQQLISLANKHRLAVILTNQMTTKIDKNQASLVPALGESWGHAATIRLIFHWEQKQRFATLYKSPSQKESTVPFQI	S		A		368
Gallus gallus	233	DGIAFPFRHDFEDLSLRTRLLNGLAQQLIIANDHKSAVVLTNQMTRFQGNQSMQSLVPALGESWGHAATVRLIFHWQKQRFATLYKSPSQKESTIPYNI	S		A		332
Danio rerio	225	DSIAFPFRHDFEDLSQRTRLLNGLAQQLIQLATQHRVAVVLTNQMTRVSNQSKLVPALGESWGHAATQRLILHWEGQRRLASLYKSPSQMEATVQYQI	S		A		324
Arabidopsis thaliana	246	DSITFHFRQDYDDLAQRTRVLSSEMALKFMKLAKKFSLAVVLLNQVTTKFSSEGSFQLALALGDSWSHSCCTNRVILYWNGDERAYIDKSPSLPSASASYTV	S		A		345
Oryza sativa	231	DSVTFHFRQDFDDMALRTRVLSGLSLKLMKLSKAYNLAVVLLNQVTTKFTTEGSFQLTLALGDSWSHSCCTNRLLILYWNGNERYGFLDKSPSLPVASAPYAV	S		A		330

			R366Q	
Homo sapiens	342	KPQGFRDT----VVTSACSLQTEGSLSTRKRSRDPEEEL----	Q	376
Pan troglodytes	427	KPQGFRDT----VVTSACSWQTEGSLSTRKRSRDPEEEL----	Q	461
Canis lupus fam	289	TPQGFRDA----VVVTACSLQTEGSLNSRKRSRSESEEEQESKD	Q	327
Bos taurus	457	TPQGFRDA----IVATAYSLQTEGSLNSRKRSRDSEEEQESKD	Q	495
Mus musculus	333	TPQGFRDA----VVTAASS-QTESSLNFRKRSRPEEEEC----	Q	366
Rattus norvegicus	369	TPQGFRDA----VVTAASS-QTESSLNFRKRSRPEEEEC----	Q	402
Gallus gallus	333	TPQGFRDV----QPPVPTQNAEGTEMNPKRPRREEEK-----	Q	366
Danio rerio	325	TVQGFDRDSPDEPRPTFDPEVSSPSANHSKRPRLEDLS-----	Q	362
Arabidopsis thaliana	346	TSRGLRNS-----SSSSKRVKMM-----	Q	363
Oryza sativa	331	TVKGVVRA-----VNSNSKRVRVM-----	Q	349

Legend: Multiple sequence alignments of the RAD51C protein homologues from different species (indicated left). The conservation of identified missense mutations is demonstrated by shading in different colours: red shaded: pathogenic mutations and the UCV D159N, which is also partially conserved in the paralogues (see Suppl. Fig. 4b); green shaded: putative benign variants; yellow shaded: intermediate complementation in DT40 cells, however only G264S and R366Q might confer moderate penetrance; turquoise shaded: pathogenic mutation from Vaz *et al.*⁵. The G3R variant is located in the N-terminal part of RAD51C poorly conserved in the RAD51C protein homologues.

DNA damage

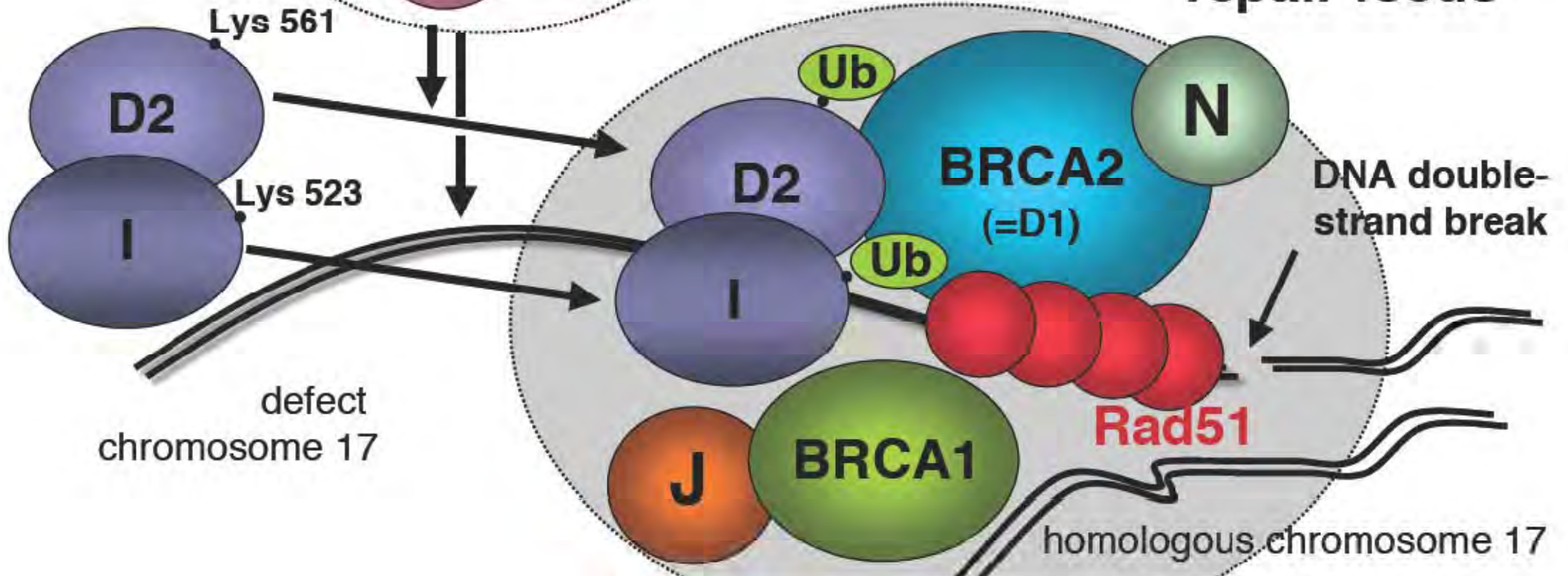


NC A D2

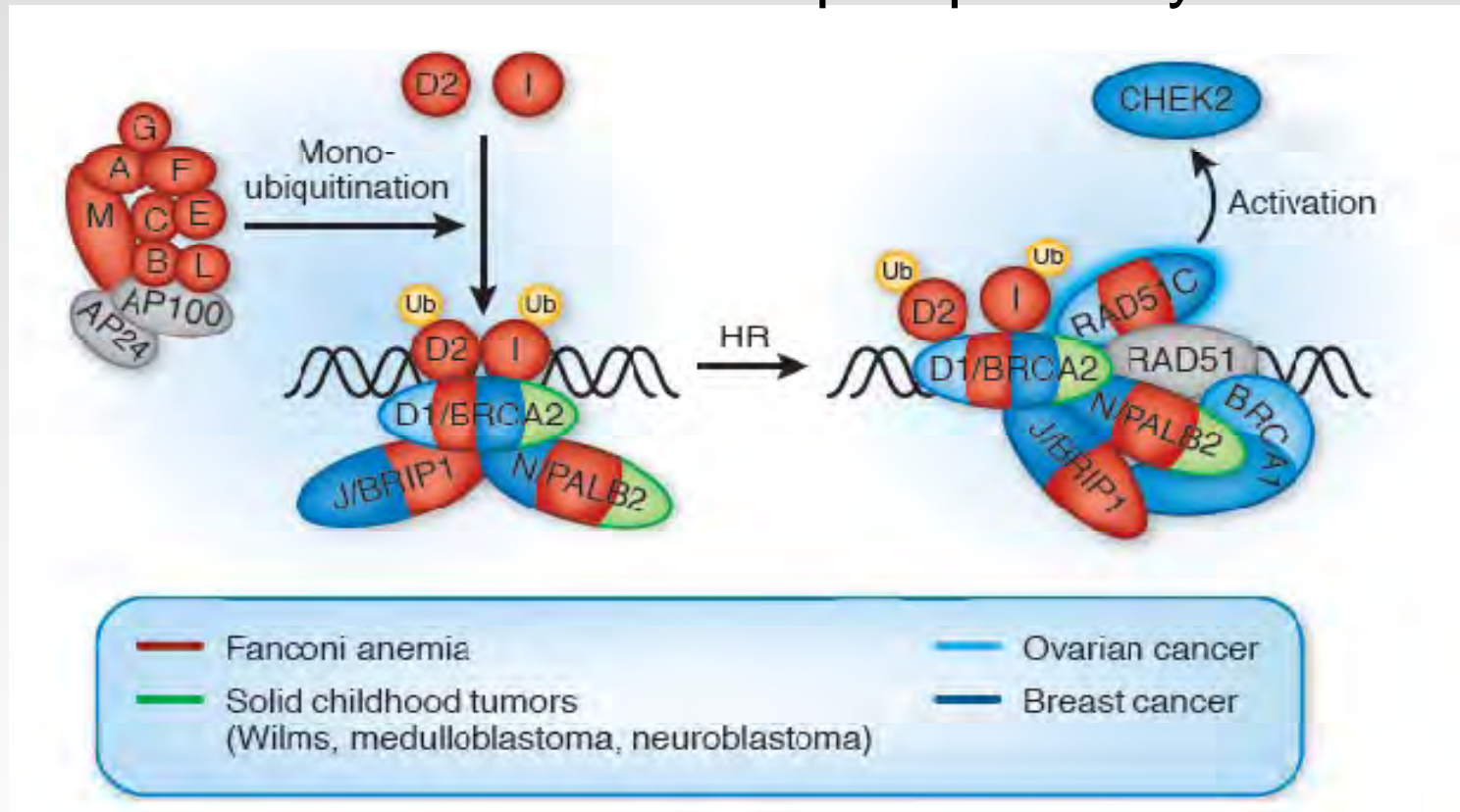
D2-L
D2-S



repair focus



FA-BRCA DNA repair pathway



Levy-Lahad, Nature Genetics, 5: 368f, 2010 Editorial

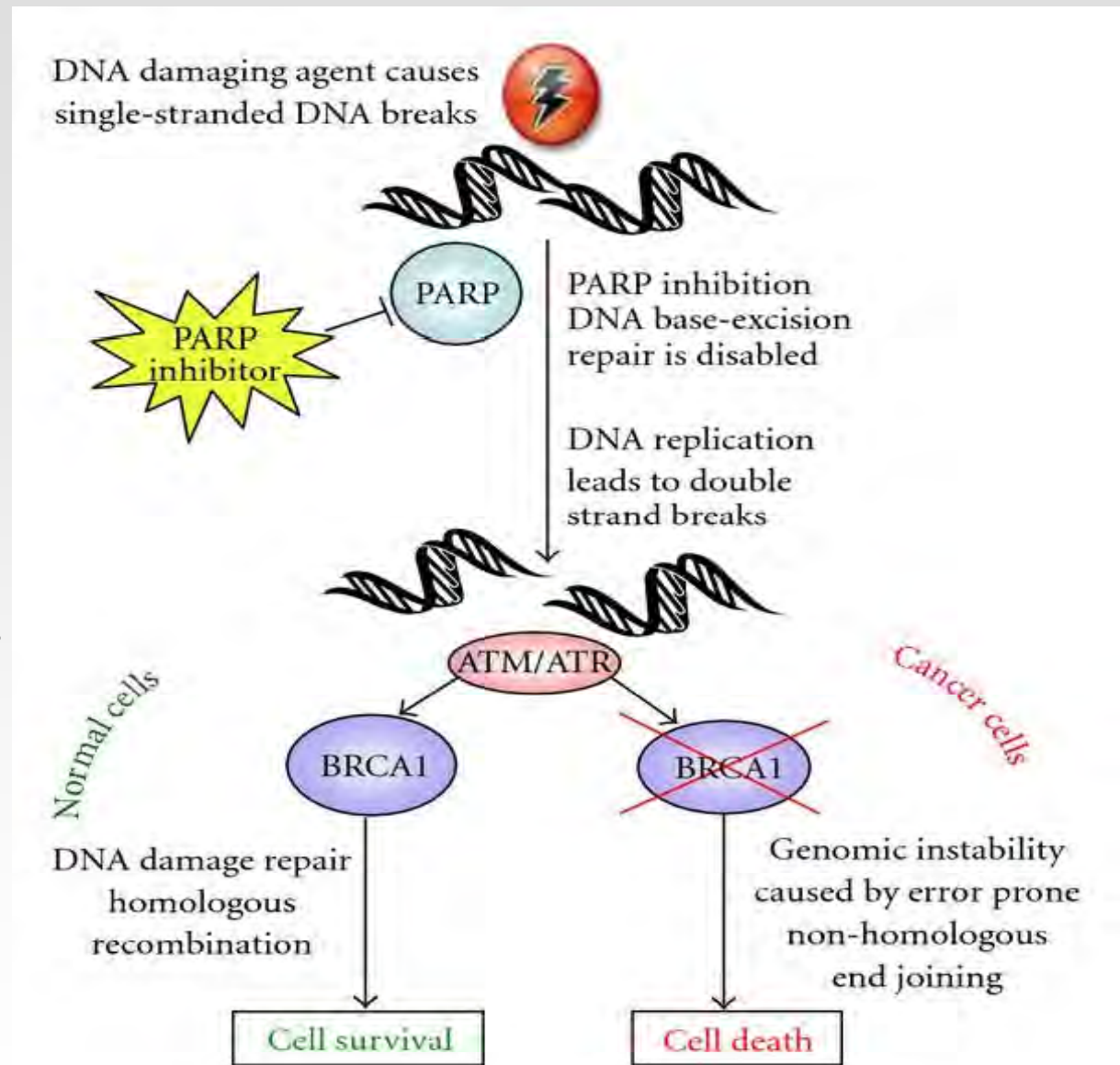
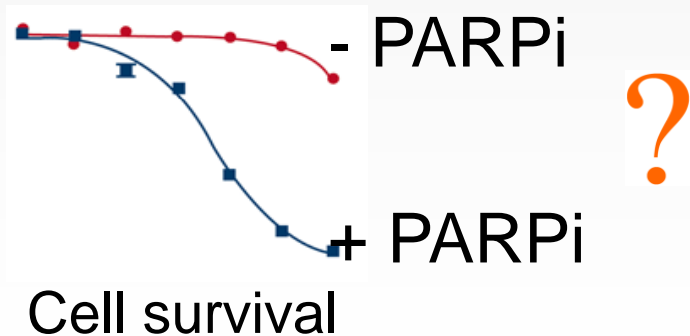
➤ Proof of principle for the existence of further high risk genes

Neues zu RAD51C

- **Interaktion von RAD51C auch mit CHEK1 und CHEK2 -> damit auch an der Initiation der DNS-Reparatur beteiligt**
- **Mutationen nicht in allen Populationen (z. B. Frankokanadier)**
- ***RAD51C*-Mutationen aber in der spanischen und in der australischen Population, dort auch neue Mutationen !**

Mechanism of *PARP* inhibition in *BRCA1* depleted cells

→ *BRCA1* deficient cells plus PARPi accumulate DNA repair defects which lead to apoptosis



Latest studies with PARPis

- **Audeh, MW et al. Lancet 376: 245-251: Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparip in patients with *BRCA1* or *BRCA2* mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial:**
 - **-> Objective tumor response rate in 33% with 400 mg olaparib twice daily.**
 - **-> mild to moderate adverse events.**
- **Tutt A et al. Lancet 376: 235-244: Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparip in patients with *BRCA1* or *BRCA2* mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial:**
 - **-> Objective tumor responses in 41% of the patients**
 - **-> also high tolerability**
- **Now: Clinical phase III studies !!!!**

Zusammenfassung

- **5,0%** aller Brustkrebsfälle sind durch Mutationen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2* verursacht.
- Weitere **5,0%** entstehen durch Mutationen in „mehreren“ *BRCA3*-Genen, wie z. B. *RAD51C* !
- Weitere **10%** an Brustkrebsfällen sind das Resultat der kombinierten Aktion einer moderat penetranten Mutation (*PALB2, ATM, CHEK2, BRIP1*) –und wenigen Niedrigrisikovarianten -> höhere ORs für beide in familiären Fällen !!!
- **Klinischer Nutzen:** a) Intensivierte Früherkennung
- **b) mittelfristig: PARP-Inhibitoren !!!**

Zukunft = 2011-2012

- Weitere prädisponierende Gene für Brust-und/oder Eierstockskrebs können schnell und kostengünstig durch „Exomic Sequencing“ ermittelt werden (**sowohl moderate wie hochpenetrante Mutationen**).
- Favorisierte Hypothese ist, dass sich dabei die meisten Mutationen in weiteren Genen aus dem DNS-Reparatur-Weg finden befinden.
- **Ermöglicht individualisierte Therapien, z.B. PARPis !**
- **Ab 2015 (oder eher) routinemäßiges „Screenen“ aller 30.000 Gene -> Bioinformatik, Validierung: Abrechnen einzelner Gene anachronistisch !**

Acknowledgements

- **Deutsches Konsortium für Erbliches Mamma- und Ovarialkarzinom (Koordinator: Prof. R. K. Schmutzler) Unterstützt durch die Deutsche Krebshilfe**
- **Frauenklinik am Klinikum rechts der Isar, Abt. Gynäkologische Tumorgenetik: H. Hellebrand, S. Engert, Dr. J. Ramser, Dr. Eva Gross, Dr. A. Baumgärtner, Dr. K. Pfeifer, Prof. M. Kiechle**
- **Frauenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität: Dr. Nina Ditsch, Dr. Ina Rühl, Prof. Dr. Klaus Friese**
- **Universitätsklinik Düsseldorf: Prof. Dr. H. Hanenberg, Prof. Dr. Heiner Schaal**
- **Institut für Humangenetik Würzburg: Prof. Dr. Schindler, C. Neveling**
- **Universitätsfrauenklinik Düsseldorf: Dr. D. Niederacher, E. Honisch**
- **Universitätsfrauenklinik Köln: Dr. B. Wappenschmidt, Prof. R. Schmutzler**
- **Universitätsfrauenklinik Kiel: Prof. Dr. N. Arnold**
- **Institut für Humangenetik Heidelberg; Dr. C. Sutter, Prof. C. R. Bartram**