

In Deutschland kann bei weniger als einem Drittel der familiären Brustkrebs-(breast cancer, BC) und/oder Eierstockkrebs (ovarian cancer, OC) Indexfälle eine Mutation in bekannten hoch- oder moderat penetranten Risikogenen gefunden werden<sup>1,2</sup>. Somit können 70% der familiären BC- und/oder OC-Fälle nicht durch pathogene Keimbahnvarianten in den bekannten Risikogenen erklärt werden. Dies führt zu der Annahme, dass weitere, genetische und nicht-genetische Faktoren das BC/OC-Risiko modifizieren können. Wird eine Häufung von BC und/oder OC Fällen in einer Familie beobachtet, dann deutet dies auf eine genetische Ursache hin. Die Identifizierung weiterer BC/OC-assoziiierter Risikogene ist in diesen Familien eine Herausforderung, da die Mutationsprävalenzen in der Regel niedrig sind (< 1%) und daher große Fall-Kontroll-Studien erforderlich sind, um statistische Signifikanz zu erreichen<sup>2</sup>. In dieser Arbeit wurden zwei Ansätze verfolgt, um die Vorhersage des Brustkrebsrisikos bei Personen mit einem familiären Hintergrund von BC und/oder OC zu verbessern.

Zunächst wurde die mögliche Assoziation von *BARD1* (MIM\*601593)-Mutationen mit dem BC-Risiko untersucht. *BARD1* interagiert mit dem Genprodukt des etablierten BC/OC Hochrisikogens *BRCA1* und spielt eine wichtige Rolle bei der homologen Rekombination nach Doppelstrangbrüchen<sup>3</sup>. Trotz mehrerer Studien blieb die Rolle von *BARD1* bei der BC-Entstehung unklar<sup>2,4-6</sup>. Daher wurde eine Fall-Kontroll-Studie durchgeführt. Hierfür wurden 4.469 *BRCA1/2*-negative BC Index-Patienten und 451 OC Indexfälle, sowie 37.265 Kontrollpersonen, darunter 2.767 geographisch-gematchten weibliche Kontrollpersonen auf proteintrunkierende Keimbahnvarianten (protein-truncating variants, PTVs) und potentiell pathogenen missense Varianten in *BARD1* untersucht<sup>7</sup>. Es konnte eine signifikante Assoziation zwischen PTVs in *BARD1* und dem frühen BC in familiären Fällen nachgewiesen werden (Odds Ratio (OR): 12,04, 95% Konfidenzintervall (CI): 5,78 - 25,08,  $p < 0,00001$ )<sup>7</sup>. *BARD1*-Mutationsträgerinnen waren bei der BC-Erstdiagnose im Vergleich zur Gesamtstichprobe statistisch signifikant jünger (42,3 vs. 48,6 Jahre,  $p = 0.00347$ ). Darüber hinaus konnten wir bei 451 familiären OC-Index-Patienten keine Hinweise auf eine Assoziation zwischen PTVs in *BARD1* und OC beobachten<sup>7</sup>.

Im Rahmen der Doktorarbeit war ich an Studien beteiligt, die eine mögliche Assoziation von potenziellen Risikogenen, wie *BRIP1*<sup>8</sup> (MIM\*605882) und *GPRC5A*<sup>9</sup> (MIM\*604138), mit dem erblichen BC- und/oder OC-Risiko untersuchten. *BRIP1* wurde als Risikogen für OC bestätigt<sup>8</sup>, während die Bedeutung bei der BC-Entwicklung noch nicht hinlänglich geklärt werden konnte<sup>8</sup>. Nachdem Sokolenko et al.<sup>10</sup> *GPRC5A* eine modifizierende Funktion bei der *BRCA1*-abhängigen BC Entstehung beschrieben haben, haben wir in einer unserer Studie die Interaktion von *BRCA1*- und *GPRC5A* Mutationen untersucht<sup>9</sup>. In der von uns durchgeführten Studie

wurde das BC-Risiko in *BRCA1*-Mutationsträgern nicht durch die Frameshift-Mutation c.183del in *GPRC5A* modifiziert<sup>9</sup>. Zusätzlich konnte in weiteren Fall-Kontroll-Studie von Hauke et al.<sup>11</sup> *NBN* (MIM\*602667) als BC-Risikogen ausgeschlossen werden<sup>11</sup>.

Als zweites wurde die Rolle von Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs oder kleine Insertionen/Deletionen), kombiniert in einem polygenen Risikoscore (polygenic risk score, PRS), mit der BC-Entwicklung untersucht. Diese SNPs sind im Gegensatz zu Mutationen in bekannten Risikogenen mit einer hohen Allelfrequenz (> 1%) und niedrigen Effektgrößen assoziiert<sup>12-15</sup>. Einzel betrachtet können diese SNPs nicht für die Risikoberechnung verwendet werden<sup>16</sup>. Diese SNPs können jedoch gemeinsam zur Berechnung des PRS verwendet werden, welcher dann das relative Erkrankungsrisiko modifiziert<sup>17,18</sup>. Die klassische Hypothese, dass Mutationen in wenigen Genen die alleinige Ursache für die Erkrankung sind, wird erweitert und die Hypothese aufgestellt, dass zusätzlich Kombinationen bestimmter Niedrigrisikofaktoren das Erkrankungsrisiko erheblich modifizieren können. Dies stellt einen Paradigmenwechsel dar. Die patientenspezifische Berechnung des PRS hat zum Ziel, eine personalisierte Risikovorhersage zu ermöglichen. Nachdem der klinische Nutzen des PRS für *BRCA1/2*-Mutationsträgerinnen nachgewiesen wurde, stellte sich die Frage, ob der PRS auch bei Trägerinnen von pathogenen Varianten (PV) in moderat-penetranten Risikogenen die personalisierte Risikostratifizierung verbessern kann. Daher wurde in Deutschland das dritthäufigst mutierte Risikogen, *CHEK2*, für die Analysen gewählt<sup>19</sup>. Eine, von genomweiten Assoziationsstudien unabhängige Stichprobe von 760 Trägerinnen einer PTV im *CHEK2*-Gen wurde untersucht. Für die PRS-Berechnungen wurden zwei SNP-Sets verwendet: SNP-Set 1 (n = 77 SNPs), entwickelt für die BC-Risikostratifizierung bei Frauen, die nicht basierend auf ihren *BRCA1/2*-Keimbahnmutationsstatus selektiert wurden<sup>20</sup> und SNP-Set 2, (n = 88 SNPs), entwickelt für die BC-Risikostratifizierung bei *BRCA1/2*-Mutationsträgerinnen<sup>16,19</sup>. Beide SNP-Sets zeigten übereinstimmende PRS-Ergebnisse auf der individuellen Ebene. Eine statistisch signifikante Assoziation vom PRS und dem BC Ersterkrankungs-Risiko wurde durch eine gewichtete Kohort-Cox-Regressionsanalyse gezeigt (SNP-Set 1: HR: 1,71, 95% CI: 1,36 – 2,15, p = 3,87x10<sup>-6</sup>; SNP-Set 2: HR: 1,71, 95% CI: 1,37 – 2,13, p = 2,25x10<sup>-6</sup>)<sup>19</sup>. Es zeigte sich eine stärkere Assoziation von PRSs in jüngeren Altersgruppen. Wir beobachteten einen mehr als fünffachen Anstieg des kumulativen Risikos von Mutationsträgerinnen im Alter von 50 Jahren zwischen dem niedrigsten und dem höchsten Dezil der PRS-Verteilung (> 11% vs. < 2%), wobei dieser Effekt bis zum Alter von 80 Jahren abgeschwächt wurde (> 33% vs. < 13%)<sup>19</sup>. Basierend auf den PRS-Berechnungen konnten wir *CHEK2*-Mutationsträgerinnen mit einem prognostizierten Lebenszeitrisko für das erste BC identifizieren, die den von

internationalen Richtlinien vorgeschlagenen Schwellenwerte für die Anpassung klinischer Maßnahmen überschritten<sup>19</sup>.

Zusätzlich wurde die Anwendbarkeit von Subtyp-spezifischen PRSs in einer Stichprobe von 297 weiblichen Trägerinnen einer PV in *BRCA1* oder *BRCA2* mit einem sogenannten "extremen Phänotyp" in Bezug auf das Erkrankungsalter (entweder in einem sehr jungen Alter (< 35 Jahre) von BC betroffen oder bis zum Alter von 60 Jahren ohne BC) untersucht. Zusätzlich zu dem etablierten BC-PRS verwendeten wir zwei Östrogenrezeptor (estrogen receptor, ER)-spezifische PRSs (PRS<sub>ERpos</sub> und PRS<sub>ERneg</sub>). Über alle PRSs hinweg beobachteten wir höhere PRSs in der Untergruppe der Patientinnen, die in einem jungem Alter an BC erkrankten im Vergleich zu denen, die im höheren Alter betroffen waren. Für *BRCA1*-Mutationsträgerinnen zeigte der allgemeine BC-PRS insgesamt die stärkste Assoziation mit der Gruppe der Patientinnen mit einer frühen BC-Diagnose (OR: 1,30, 95% CI: 0,93 – 1,82, p = 0,1207). In *BRCA2*-Mutationsträgerinnen wurde die höchste Assoziation durch den PRS<sub>ERneg</sub> und Patientinnen mit einer frühen BC-Diagnose (OR: 1,74, 95% CI: 1,16-2,60, p = 0,00814) nachgewiesen. Insgesamt könnte es sinnvoll sein, einen subtypspezifischen PRS bei *BRCA1/2* Mutationsträgerinnen anzuwenden, um bessere Risikoprädiktion zu gewährleisten. Da Leitlinien für endokrine Therapien spezifisch für Patientinnen mit einem moderaten- bis hohem Risiko und einer ER-positive Erkrankungen vorhanden sind<sup>20,21</sup>, könnte die Einbeziehung eines ER-spezifischen PRS möglicherweise Frauen identifizieren, für die diese Behandlung von Vorteil sein könnte. Diese Arbeit legt nahe, dass PRSs verwendet werden könnten, um Untergruppen von Frauen in den Extremen der PRS-Verteilung zu identifizieren, für die eine Anpassung der klinischen Vorsorge von Vorteil wäre.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit<sup>19</sup> und weiterer Studien hat das Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs in Köln die mit BC assoziierten SNPs in das für die Routinediagnostik eingesetzte TruRisk<sup>®</sup> Genpanel implementiert und die Genauswahl entsprechend unseren neuesten Erkenntnissen angepasst. Die Integration des PRS in die BC-Risikovorhersage wird im Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs Köln bereits für gesunde Personen mit einer familiären Prädisposition für BC umgesetzt.