

Janhavi Raghav Raut
Dr. sc. hum.

Risk stratification for colorectal cancer screening by epigenetic signatures

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Dr. med. Hermann Brenner

Darmkrebs ist die dritthäufigste Krebsart und die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache weltweit. Es wurde gezeigt, dass die Krankheitslast durch ein populationsbasiertes Screening, das die Früherkennung und Entfernung von Präkanzerosen ermöglicht, verringert wird. Trotz starker Empfehlungen für ein Screening bleibt die Teilnehmerate in der Bevölkerung niedrig. Um die Beteiligung am Screening zu verbessern, den Nutzen des Screenings zu maximieren und Schäden und Kosten zu minimieren, sind dringend alternative minimalinvasive Tests erforderlich, mit denen Populationen mit niedrigem und hohem Risiko genauer definiert werden können. Risikomodelle, die auf genetischen Suszeptibilitätsloci und Umweltrisikofaktoren basieren, wurden zunehmend für die Risikostratifizierung bei der Darmkrebsvorsorge propagiert. Die bisher verwendeten Modelle haben jedoch im Allgemeinen eine begrenzte Fähigkeit zwischen Personen mit und ohne Darmkrebs zu unterscheiden. Fortschritte in unserem Verständnis epigenetischer Veränderungen bei Darmkrebs haben das Potenzial von aberranter DNA-Methylierung und microRNA-Veränderungen als Biomarker für das Darmkrebsrisiko gezeigt. Ziel dieser Dissertation war, epigenetische Signaturen für die Risikostratifizierung beim Darmkrebs-Screening zu identifizieren, zu bewerten und zu validieren.

Zuerst wurde eine systematische Literaturrecherche durchgeführt, um Vollblut-DNA-Methylierungsmarker für die Risikostratifizierung beim Darmkrebs-Screening zu identifizieren. Insgesamt wurden 19 Studien identifiziert, die sich mit der Assoziation von 102 Vollblut-DNA-Methylierungsmarkern und dem Risiko der Entwicklung von Darmkrebs oder seinen Vorläufern befassten. Die Studien verwendeten hauptsächlich eine methylierungsspezifische PCR zur Beurteilung des Methylierungsstatus eines definierten Satzes von Genen. Nur zwei Studien verwendeten Array-basierte genomweite Assays, um die Methylierungsgrad zu bestimmen. Fünf Studien umfassten Panels, die aus 2–10 einzelnen Methylierungsmarkern bestanden, um deren Potenzial zur Stratifizierung des Risikos für die Entwicklung kolorektaler Neoplasien zu bewerten. Keine dieser Assoziationen wurde jedoch in einer unabhängigen Kohorte bestätigt.

Als nächstes wurde eine weiterer systematischer Literaturreview durchgeführt, um die Evidenz für DNA-Methylierungsmarker im Stuhl für die Risikostratifizierung oder den Nachweis spezifischer Darmkrebsstadien sowie für Darmkrebs-Vorstufen zusammenzufassen. 27 Studien, die

stadienspezifische Assoziationen oder Ergebnisse von 25 fäkalen DNA-Methylierungsmarkern zum Nachweis kolorektaler Neoplasien berichteten, wurden identifiziert. Alle Studien verwendeten eine Methylierungs-spezifische PCR-Reaktion zur Bestimmung des Methylierungsgrades in den Promotor- oder Exon 1-Regionen von Zielgenen. Die meisten Studien hatten jedoch unzureichende statistische Aussagekraft und waren aufgrund ihres Fall-Kontroll-Designs in ihrer Aussagekraft begrenzt. Darüber hinaus wurden die stadienspezifischen Assoziationen oder Sensitivitäten nur für zwei Marker (Hypermethylierung von GATA4 und VIM) validiert.

Die Ergebnisse dieser systematischen Reviews zeigten, dass Vollblut- und fäkale DNA-Methylierungsmarker als Biomarker für die Risikostratifizierung beim Darmkrebs-Screening nützlich sein können, aber reproduzierbare Algorithmen zur Vorhersage des Risikos noch durch groß angelegte epigenomweite Studien mit gründlicher Validierung der Ergebnisse in zukünftigen Kohorten etabliert werden müssen. Neben der aberranten DNA-Methylierung, einer wurden microRNAs, eine weitere Klasse epigenetischer Veränderungen, als Prädiktoren für das Darmkrebsrisiko vorgeschlagen. Die meisten früheren Studien untersuchten jedoch zirkulierende microRNAs bei Patienten mit einer etablierten Darmkrebsdiagnose, sodass nicht festgestellt werden konnte, ob sie für die Risikostratifizierung nützlich oder auf das Fortschreiten des Krebses zurückzuführen sind. Es ist auch unklar, ob und inwieweit blutbasierte microRNA-Signaturen die Vorhersage des Darmkrebsrisikos Jahre vor der Diagnose ermöglichen könnten. Daher wurde eine Studie durchgeführt, um eine blutbasierte microRNA-Signatur abzuleiten und zu validieren, die das Auftreten von Darmkrebs über einen Zeitraum von bis zu 14 Jahren in einer großen bevölkerungsbasierten Kohortenstudie an älteren Erwachsenen vorhersagt.

In einer Marker-Identifizierungsphase wurden, unter Verwendung von Next-Generation-Sequencing, 20 im Plasma von je 20 Darmkrebspatienten und Kontrollen sowie 21 in der Literatur beschriebene, differentiell exprimierte microRNAs als Kandidatenmarker ausgewählt. In der nächsten Phase wurden ausgewählte Kandidaten durch quantitative real-time PCR in Serum gemessen, das zu Studienbeginn von Teilnehmern einer unabhängigen prospektiven Kohorte gesammelt wurde, die 14 Jahre lang in Bezug auf die Inzidenz von Darmkrebs nachbeobachtet wurde. In einem prospektiven Set mit 198 Fällen von Darmkrebs und 178 Teilnehmern, die keinen Darmkrebs entwickelten, wurden sieben microRNAs in 99% aller Proben exprimiert. Ein 7-microRNA score wurde abgeleitet, indem ein logistisches Regressionsmodell für das Darmkrebsrisiko, basierend auf dem prospektiven Satz, angepasst wurde. Seine Vorhersagefähigkeit, quantifiziert durch die mittels 0.632+ Bootstrap "Optimismus-korrigierte" Fläche unter der „Receiver-Operating-Characteristic Curve“ („area under the curve“, AUC) war 0,794. Die Vorhersagefähigkeit wurde verglichen mit der eines Risikofaktorscores, der auf

bekanntem Risikofaktoren basiert, und der eines polygenetischen Risikoscores, der auf 140 zuvor identifizierten Einzelnukleotidpolymorphismen basiert. Bei Teilnehmern mit allen verfügbaren Scores war die Optimismus-korrigierte AUC für den 7-microRNA Score 0,802, während die AUC (und deren 95% Konfidenzintervall) für den Risikofaktorscore 0,557 (0,498-0,616) und für den polygenetischen Risikoscore 0,622 (0,564-0,681) betrug.

Zusammenfassend zeigt die Dissertation, dass der Beitrag bekannter Risikofaktoren einschließlicher genetischer Risikovarianten zur Risikostratifizierung für Darmkrebs bislang noch sehr begrenzt ist. Die Ergebnisse legen nahe, dass microRNA Signaturen im Serum Jahre vor einer Diagnose als Frühindikatoren für das Darmkrebsrisiko dienen könnten. Für einen auf 7 microRNAs basierenden Score wurde eine hohe Vorhersagekraft für das Auftreten von Darmkrebs gezeigt. Er könnte daher sehr hilfreich sein, Hochrisikopopulationen für das Darmkrebs-Screening zu identifizieren. Die Ergebnisse zeigen die Möglichkeit einer Vorhersage des Darmkrebsrisikos durch microRNA-Signaturen im Serum auf und legen nahe, dass diese bereits viele Jahre vor der Diagnose von Darmkrebs möglich ist. Diese Ergebnisse könnten für das Darmkrebs-Screening hoch relevant sein. Eine Validierung in weiteren prospektiven Kohorten mit großen Stichproben und langen Follow-up-Daten ist erforderlich, um das Potenzial von microRNA Signaturen im Serum für die Risikostratifizierung für Darmkrebs zu bestätigen.