

Diamanto Skopelitou

Dr. med.

## **Identification and functional validation of cancer predisposing germline variants in familial colorectal cancer**

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Obul Reddy Bandapalli

Mehr als ein Drittel des Darmkrebsrisikos ist bedingt durch erbliche Faktoren, jedoch können nur 5 bis 10 % aller kolorektalen Karzinome auf bekannte Hochrisikomutationen in etablierten Suszeptibilitätsgenen wie *APC*, *MUTYH* und Mismatch-Reparaturgene zurückgeführt werden. Um den verbleibenden Anteil des genetisch unerforschten familiären Darmkrebses zu adressieren, wurde ein monogenes Vererbungsmodell angenommen und bei drei Familien mit starker Häufung an kolorektalen Karzinomen eine Hochdurchsatz-Sequenzierung des Genoms oder Exoms (Next Generation Sequencing) durchgeführt. Die resultierenden Daten wurden stammbaumbasierten, integrativen In-silico-Analysen unterzogen, entsprechend der hausinternen Familial Cancer Variant Prioritization Pipeline Version 2. Auf diese Weise wurden drei Keimbahnvarianten als potentiell krebsprädisponierend priorisiert: Die Missense-Mutation *SRC*<sup>V177M</sup> in Familie 1, die Missense-Mutation *PTK7*<sup>V354M</sup> in Familie 2 und die nicht-kodierende Mutation 17-42200942-T-G in der 5'-untranslatierten Region des *HDAC5*-Gens in Familie 3. Funktionelle Validierungsexperimente in menschlichen Darmkrebszellen ergaben eine proliferative Wirkung der Missense-Varianten im *SRC*- und *PTK7*-Gen sowie die folgenden In-vitro-Effekte auf molekulare Signalwege der Krebsentstehung: Die *SRC*<sup>V177M</sup>-Mutation führte zur Aktivierung der PXN-, Wnt-, MAPK/ERK- und STAT3-Signalwege, wohingegen die *PTK7*<sup>V354M</sup>-Variante den AKT-Signalweg hoch- und die MAPK/ERK- und p53-Signalwege herunterregulierte. Luciferase-basierte Reporter-Assays zeigten weiterhin, dass die nicht-kodierende Variante die Promotoraktivität des *HDAC5*-Gens erhöhte. Dieser beobachtete Effekt war teilweise auf den Transkriptionsfaktor TCF4 zurückzuführen.

Die Gesamtheit der In-silico- und In-vitro-Ergebnisse dieser Dissertationsarbeit deuten auf eine onkogene Funktion der drei identifizierten Keimbahnvarianten hin, welche somit potentiell zur kolorektalen Karzinogenese in der jeweiligen Familie beitragen. In Zusammenschau der Resultate trägt die vorliegende Dissertationsarbeit zu einem besseren Verständnis der

genetischen und biomolekularen Grundlagen der Vererbung von familiärem kolorektalen Krebs bei und betont weiterhin die Relevanz von Next Generation Sequencing für die Identifizierung von krebsprädisponierenden Genmutationen hoher Penetranz. Auch wenn die Entdeckung der seltenen Keimbahnvarianten im *SRC*-, *PTK7*- und *HDAC5*-Gen aufgrund von sehr niedrigen Allelfrequenzen in der Allgemeinbevölkerung für die Verbesserung der generellen Darmkrebs-Früherkennung und -Prävention von untergeordneter Bedeutung sein mag, so regt diese Arbeit hoffentlich zur weiteren Forschung auf dem Gebiet der personalisierten Krebstherapie in der kolorektalen Onkologie an.