

Aayushi Srivastava
Dr. med.

Identification of Cancer Predisposing Germline Variants in Familial Non- Medullary Thyroid Cancer

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

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

Im Laufe der letzten Jahrzehnte ist die Evidenz für eine familiäre Vererbung von nicht-medullärem Schilddrüsenkrebs (NMTC) deutlich gewachsen. Dennoch machen die bisher bekannten familiär gehäuften, nicht-syndromalen Varianten des NMTC einen sehr kleinen Prozentsatz der genetischen Belastung aus. Diese Arbeit gliedert sich in zwei Teile: Teil eins konzentriert sich auf die Identifizierung gemeinsamer Signalwege und Netzwerke, die in NMTC-Familien angereichert sind, um das Verständnis der zugrunde liegenden molekularen Mechanismen des familiären nicht-syndromalen NMTC (FNMTC) zu verbessern. Teil zwei konzentriert sich auf die Identifizierung potenziell pathogener Kandidatenvarianten in den untersuchten Familien.

Die Ganzgenomsequenzierung wurde an 18 betroffenen, 5 möglicherweise betroffenen und 3 nicht betroffenen Familienmitgliedern aus fünf NMTC-gefährdeten Familien durchgeführt. Insgesamt 31 kodierende Varianten und 39 Varianten, die sich in vor-, nachgeschalteten, 5'- oder 3'-untranslatierten Regionen befinden, wurden mit Hilfe der Familial Cancer Variant Prioritization Pipeline priorisiert. Nach drei Schritten der Analyse verblieben noch 210 Gene, die von Varianten betroffen waren, die unsere Einschlussbedingungen erfüllten. Diese wurden zusätzlich mit der Ingenuity Pathway Analysis Software analysiert. Die Ergebnisse dieser Analyse zeigen, dass diese Gene in tumorigenen Signalwegen angereichert sind, die durch Rezeptortyrosinkinasen und G-Protein-gekoppelte Rezeptoren vermittelt werden, was auf eine zentrale Rolle der PI3K/AKT- und MAPK/ERK-Signalübertragung bei FNMTC hindeutet.

In der weiteren Analyse von NMTC-Familie 1 konnten drei potenziell krankheitsverursachende Varianten in den folgenden drei Genen priorisiert werden: *Checkpoint-Kinase 2 (CHEK2)*, *Ewing-Sarkom-Breakpoint-Region 1 (EWSR1)* und *T-Lymphoma Invasion and Metastasis-Inducing Protein 1 (TIAMI)*. Die in *CHEK2* identifizierte Variante (E239K), ein bekanntes Tumorsuppressorgen, wurde zuvor bereits bei Brust- und Prostatakrebs identifiziert. Funktionelle Studien, die von Roeb et al. durchgeführt wurden, zeigen allerdings, dass die E239K-Variante nur eine intermediäre Wirkung auf die Proteinfunktion hat. Sie ist also möglicherweise nicht der alleinige Krankheitstreiber in dieser Familie. Dies führt zu der Hypothese eines polygenen Vererbungsmodus für die NMTC-Familie 1, sodass zwei weitere Varianten in funktionell verwandten Genen (*TIAMI* R1053C and *EWSR1* A327D) als zusätzliche Krankheitsverursacher in Betracht gezogen wurden.

Die weitere Analyse der NMTC-Familie 2 mit Hilfe von *in silico* Anwendungen führte zu einer Liste von vier potenziell krankheitsverursachenden Varianten in funktionell verwandten Genen: (1) *Rearranged during Transfection (RET)*, (2) *Polypeptide N-Acetylgalactosaminyltransferase 10 (GALNT10)*, (3) *Ubinuclein-1 (UBN1)* und (4) *Prostaglandin-I2-Rezeptor (PTGIR)*. Obwohl *RET* als etabliertes Proto-Onkogen im medullären Schilddrüsenkrebs bekannt ist, wurden bisher keine Keimbahnvarianten in *PTGIR*, *GALNT10* oder *UBN1* mit Schilddrüsenkrebs in Verbindung gebracht. Jedoch beeinflussen Veränderungen in diesen Genen Signalwege, die mit Zellproliferation, Apoptose, Wachstum, Differenzierung, posttranslationaler Modifikation und Genregulation zusammenhängen. Eine Literaturrecherche zusammen mit computergestützten Analysen unterstützte die Interpretation dieser vier Varianten als möglicherweise krankheitsverursachend in der NMTC-Familie 2. Somit deutet diese Studie auf die erste Keimbahnvariante in *RET* in einer Familie mit NMTC hin, sowie auf die ersten Keimbahnvarianten in *PTGIR*, *GALNT10* und *UBN1* im Schilddrüsenkrebs.

Durch weitere Analyse der NMTC-Familie 5 konnte eine potenziell krankheitsverursachende Variante im Gen der *Protection of Telomeres 1 (POT1 V29L)* in der hochkonservierten Oligonukleotid/Oligosaccharid-Bindungsdomäne identifiziert und funktionell validiert werden. Die Ergebnisse zeigten eine Verringerung der an den Telomeren gebundenen POT1-Konzentrationen im mutierten Protein im Vergleich zum Wildtyp-Protein. In HEK293T-Zellen transfiziert mit *POT1 V29L*, wurden im Vergleich zu den Wildtyp-Zellen längere Telomere beobachtet, was darauf hindeutet, dass die Variante zu einer Funktionsstörung der Telomere führt und eine Rolle bei der Anfälligkeit für NMTC in dieser Familie spielt. *POT1 V29L* ist die erste Keimbahnvariante in einem Shelterin-Komplex, die in einer ausschließlich von NMTC betroffenen Familie nachgewiesen wurde.

Da FNMTC als aggressiver als sporadischer NMTC angesehen wird, ist es entscheidend, solche Anfälligkeitsgene und ihre damit verbundenen Signalwege für den Krankheitsverlauf zu identifizieren und zu untersuchen. Auf diese Weise kann die Früherkennung bei Familienangehörigen von NMTC-Patienten erleichtert und die personalisierte Medizin bei NMTC-Patienten vorangetrieben werden. Diese Ergebnisse werden weitere Forschungen in diesem Bereich anregen und zu einem besseren Verständnis der Genetik von NMTC führen.