

PALB2 jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinodem prsu v České republice

PALB2 as Another Candidate Gene for Genetic Testing in Patients with Hereditary Breast Cancer in Czech Republic

Janatová M.¹, Borecká M.¹, Soukupová J.¹, Kleiblová P.¹, Stříbrná J.¹, Vočka M.², Zemánková P.¹, Panczak A.³, Veselá K.³, Souček P.⁴, Foretová L.⁵, Kleibl Z.¹

¹ Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK v Praze

² Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

³ Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

⁴ Oddělení toxikogenomiky, Státní zdravotní ústav, Praha

⁵ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Gen *PALB2* (*FANCN*) kóduje DNA reparační protein, který byl objeven jako součást endogenního multiproteinového komplexu BRCA2. Společně s proteiny BRCA1 a BRCA2 se *PALB2* funkčně podílí na opravách dvouřetězcových zlomů DNA. Dědičné mutace v genu *PALB2* jsou u heterozygotních nositelů spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu a pankreatu. Riziko vzniku karcinomu prsu u nositelek mutací *PALB2* genu se odhaduje na 33–58 % v závislosti na počtu příbuzných s tímto onemocněním. Riziko vzniku karcinomu pankreatu u nositelů mutací je doposud nejasné. **Metody a výsledky:** Z výsledků studie mutací v genu *PALB2* u vysoce rizikových pacientů s karcinodem prsu a/nebo ovaria bez přítomnosti *BRCA1/2* mutací v České republice vyplývá, že frekvence dědičných mutací genu *PALB2* v naší populaci je u těchto pacientů poměrně vysoká. Necelých 20 % patogenních variant představují rozsáhlé intragenové přestavby *PALB2*. Nejvyšší podíl mutací (srovnatelný s četností mutací v genu *BRCA2*) byl zaznamenán v podskupině pacientek s vícečetným výskytem karcinomu prsu (5,5 %). Frekvence patogenních mutací v nezávislém souboru vyšetřených neselektovaných pacientů s karcinodem pankreatu se v naší populaci pohybuje okolo 1,3 %. **Závěr:** Vzhledem k četnosti výskytu mutací *PALB2* v naší populaci, fenotypové podobnosti s *BRCA2* a k stanovenému riziku vzniku karcinomu prsu je vhodné indikovat testování genu *PALB2*, včetně analýz velkých genomových přestaveb, především u pacientek z podskupiny s hereditárním karcinodem prsu. Nositele patogenních mutací lze zařadit do dalšího klinického sledování, obdobného jako u nositelů mutací v *BRCA2*, umožňujícího časnou diagnostiku onemocnění, prevenci a popřípadě cílenou terapii. V případě vysoké rodinné zátěže a současné segregace patogenní mutace s nádorovým fenotypem lze na *PALB2* mutace nahlížet jako na vysoce penetrantní alterace indikující provedení preventivních chirurgických výkonů u jejich nositelů. Další analýzy v různých populacích a zvětšení studovaných souborů budou potom nezbytné pro přesný odhad penetrance genu *PALB2* a k upřesnění rizika vzniku karcinomu pankreatu.

Klíčová slova

hereditární karcinom prsu a ovaria – karcinom pankreatu – gen *PALB2* – nádorová predispozice – genetické testování

Práce byla realizována za podpory grantů: IGA MZ ČR – NT 14006-3/2013 a NT13343-4/2012, a Karlovy Univerzity v Praze – PRVOUK-P27/LF1/1 a SVV-UK 260148/2015.

This study was supported by grants IGA MH CZ NT14006-3/2013 and NT13343-4/2012, and Charles university in Prague – PRVOUK-P27/LF1/1 a SVV-UK 260148/2015.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



RNDr. Markéta Janatová, Ph.D.

Ústav biochemie

a experimentální onkologie

1. LF UK v Praze

U Nemocnice 5

128 53 Praha 2

e-mail: Marketa.Janatova2@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 6. 8. 2015

Přijato/Accepted: 14. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016531>

Summary

Background: The *PALB2* (*FANCN*) gene was identified as a component of endogenous *BRCA2* complex that encodes a DNA repair protein participating along with *BRCA1* and *BRCA2* proteins in DNA double-strand break repair. Hereditary *PALB2* mutations are associated with an increased risk of breast and pancreatic cancers in heterozygotes. Breast cancer risk for *PALB2* mutation carriers has recently been estimated at 33–58% depending on family history of breast cancer; pancreatic cancer risk in carriers of *PALB2* mutations has not been precisely quantified, yet. **Materials and Results:** Results of a study identifying *PALB2* mutations in high-risk, *BRCA1/2*-negative, breast and/or ovarian cancer patients in the Czech Republic indicate that the frequency of hereditary *PALB2* mutations in our population is quite high. Interestingly, almost 20% of all recognized mutations comprised large genomic rearrangements. The highest proportion of *PALB2* mutations (comparable with the number of mutations reported for *BRCA2*) was found in a subgroup of hereditary breast cancer patients (5.5%). Frequency of mutations in an independent group of Czech unselected pancreatic cancer patients was approximately 1.3%. **Conclusion:** Considering the frequency of pathogenic, hereditary *PALB2* mutations in our population, their phenotypic similarity to *BRCA2*, and expected risk of breast cancer associated with *PALB2* mutations, its screening (including large genomic rearrangements) should be encouraged in patients from hereditary breast cancer families. The follow-up of pathogenic *PALB2* mutation carriers should be similar to that in *BRCA2* mutation carriers, enabling early diagnosis, prevention, and possible targeted therapy. Preventive surgical interventions for the carriers could be considered in case of strong family cancer history and evident segregation of a pathogenic mutation with a tumor phenotype. Additional analysis of various cancer patient populations and further meta-analyses will be necessary for accurate assessment of *PALB2* gene penetrance and its significance for the risk of pancreatic and other cancers.

Key words

hereditary breast and ovarian cancer syndrom – pancreatic neoplasms – *PALB2* gene – genetic predisposition – genetic testing

Úvod

Hereditární forma nádorů prsu tvoří 5–10 % případů karcinomu prsu. Vznikají především na podkladě přítomnosti dominantně zděděné mutace v některém z predispozičních genů. Mutace ve dvou hlavních predispozičních genech *BRCA1* a *BRCA2* reprezentují nejdůležitější genetický rizikový faktor u pacientek s hereditárním karcinodem prsu (hereditary breast cancer – HBC). Hereditární mutace v těchto dvou genech ovšem společně vysvětlují pouze asi jednu čtvrtinu dědičných případů karcinomu prsu [1]. Postupně byly charakterizovány další geny zvyšující riziko karcinomu prsu (*ATM*, *CHEK2*, *TP53* a *NBN*), jejichž alterace jsou mnohem méně časté, společně odpovídají zhruba za další 3–4 % hereditárních karcinomů prsu [2–5].

Struktura, funkce a význam *PALB2*

Protein *PALB2* byl objeven v roce 2006 jako součást rozsáhlého endogenního multiproteinového komplexu, který obsahuje *BRCA2* a podílí se na DNA reparačních pochodech [6]. Dále interaguje s proteinem *BRCA1* a zprostředkovává tak fyzické a funkční spojení obou proteinů, z čehož vyplývá jeho zásadní funkce v opravě dvouřetězcových zlomů DNA cestou homologní rekombinace [7]. Poškození této signální dráhy pak vede k akumulaci alterací DNA, po-

škození dalších genů, nestabilitě genomu a k nádorové transformaci [8].

Gen *PALB2* byl lokalizován na krátkém raménku chromozomu 16. Skládá se ze 13 exonů a kóduje protein o 1 186 aminokyselinách. Patří do skupiny genů, jejichž homozygotní vrozené patogenní mutace způsobují vzácné onemocnění – Fanconioho anémii (FA). *PALB2* je označován jako *FANCN*, jehož bílelické mutace jsou příčinou vzniku FA subtypu N, který je fenotypově podobný subtypu FA-D1 způsobenému bílelickými mutacemi genu *BRCA2* [9].

Vrozené mutace *PALB2* predisponují ke vzniku karcinomu prsu a pankreatu

Heterozygotní vrozené mutace jsou spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu a pankreatu, podobně jako mutace v genu *BRCA2* [10]. Frekvence hereditárních patogenních mutací genu *PALB2* se v různých populacích pohybuje mezi 1 a 3,4 % (shrnutí v [11]). Absolutní riziko vzniku karcinomu prsu u nositelek patogenních mutací v genu *PALB2* je významně ovlivněno přítomností dalších karcinomů prsu v rodině. Původně bylo odhadnuto, že *PALB2* mutace jsou spojeny s 2,3krát zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu [12]. V poslední studii zahrnující 175 rodin ale bylo toto riziko u nositelek bez přítomnosti karcinomu prsu v rodině vyčísleno na 33 % (95% CI

25–44), u nositelek mutace se dvěma či více karcinomy prsu v rodině bylo stanoveno na 58 % (95% CI 50–66) [13].

Analýza genu *PALB2* u karcinomu prsu v ČR a ve světě

Mutační analýza provedená v ČR u 409 vysoce rizikových pacientek s karcinodem prsu nebo ovaria negativně testovaných na přítomnost mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* prokázala přítomnost 10 různých patogenních mutací způsobujících zkrácení proteinového produktu genu *PALB2* u 16 nepříbuzných pacientek (16/409; 3,9 %) (tab. 1). Mutační analýza kompletní kódující sekvence byla provedena pomocí Sangerova sekvenování a MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) analýzy pro odhalení velkých genomových přestaveb. Nalezené mutace byly genotypovány u souboru 1 226 kontrolních vzorků DNA pomocí HRM (high resolution melting) analýzy. Pouze jedna mutace byla nalezena v kontrolním souboru (1/1 226; 0,08 %; $p = 2,6 \times 10^{-9}$). Tři z nalezených patogenních alterací představovaly velké genomové přestavby. Body zlomu, které je ohraničují, byly přesně identifikovány. Významným výsledkem je fakt, že 13 mutací bylo nalezeno v podskupině pacientek s hereditárním karcinodem prsu z HBC rodin, kde představují frekvenci 5,5 % (tab. 1). To je dosud nejvyšší frekvence ze všech publikovaných

Tab. 1. Výsledky analýzy genu *PALB2* u vysoce rizikových pacientek s karcinodem prsu a/nebo ovaria v české populaci (podle Janatova et al 2013 [14]).

Skupina	Počet pacientek	Průměrný věk	BRCAPRO	Počet mutací (%)
případy s pozitivní rodinnou anamnézou (n = 330)				
^a HBC rodiny	235	47,2	0,16	13 (5,5)
^b HBOC rodiny	90	47,8	0,35	0
^c HOC rodiny	5	40,2	0,35	0
případy bez rodinné anamnézy (n = 79)				
BC u muže	22	64,7	0,14	1 (4,5)
bilaterální BC, první do 50 let	39	43,7	0,30	1 (2,6)
nádorová duplicita, BC + OC	18	53,7	0,33	1 (5,6)
celkem	409			16 (3,9)
kontroly	1 226			1 (0,08)

^aHBC – hereditární karcinom prsu; ^bHBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria;

^cHOC – hereditární karcinom ovaria, BC – karcinom prsu, OC – karcinom ovaria

studií a blíží se četnosti mutací v genu *BRCA2* v naší populaci [14].

Průměrný věk diagnózy karcinomu prsu u pacientek z HBC podskupiny byl nižší u 13 nositelek mutací (44,3 roku) než u 222 nenositelek (47,4), ale tento rozdíl není statisticky významný ($p = 0,12$). Mírně snížený věk diagnózy u nositelek oproti nositelkám je popisován ve většině dosavadních prací [12]. Mezi nádory spojenými s *PALB2* mutacemi převažoval invazivní ductální karcinom, pouze jeden nádor byl medulárního histologického typu. Histologické nálezy v nádorové tkáni byly dostupné u sedmi nositelek mutace v *PALB2*, ale nevykazovaly asociaci s expresí estrogenních, progesteronových nebo HER2/neu receptorů. Stejně tak z dosavadní literatury nevyplývá spojení mezi *PALB2* asociovanými tumory a konkrétním morfologickým či histologickým nádorovým typem. U pěti *PALB2* pozitivních pacientek byla provedena segreganční analýza patogenní mutace s nádorovým fenotypem v DNA od dalších rodinných příslušníků. Segregace byla prokázána u čtyř z pěti rodin. Doposud bylo zveřejněno více než 50 prací sledujících výskyt mutací *PALB2* u pacientek s karcinodem prsu v různých geografických populacích; další práce referují o mutacích

v *PALB2* u vysoce rizikových osob analyzovaných v rámci panelového sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS) [15]. Přesto doposud nebyla provedena rozsáhlejší metaanalýza, která by umožňovala zpřesnění rizika vzniku karcinomu prsu a odhadu jeho míry u dalších podskupin pacientů. V rodinách nositelek patogenních mutací *PALB2* se vyskytovaly i další nádory, nejčastěji tlustého střeva (pět případů), méně pankreatu (dva případy). Asociace s karcinodem ovaria nebyla v rodinách z našeho souboru potvrzena, pouze jedna nositelka vykazovala nádorovou duplicitu (karcinom prsu a ovaria). V literatuře jsou dědičné patogenní mutace v genu *PALB2* asociovány nejčastěji právě s karcinodem pankreatu, méně často ovaria a prostaty (shrnuje v [11]). Pro odhadnutí rizika těchto nádorových onemocnění u nositelů budou potřeba další práce.

Analýza genu *PALB2* u karcinomu pankreatu v ČR a ve světě

Podobně jako u genu *BRCA2* jsou defekty v *PALB2* spojovány s predispozicí ke vzniku karcinomu pankreatu [16]. V souvislosti s tímto onemocněním bylo zatím provedeno celkem 16 studií, které popisují frekvence *PALB2* mutací u 0–1,3 %

případu karcinomu pankreatu, přitom výskyt mutací u neselektovaných případů karcinomu pankreatu je přibližně poloviční ve srovnání s případy dědičné formy onemocnění. Mutace v *PALB2* jsou, po dědičných mutacích v genu *BRCA2* nacházených až v 7 % případů [17], druhou nejčastější genetickou příčinou vzniku hereditární formy karcinomu pankreatu. V naší populaci jsme dosud provedli mutační analýzu genu *PALB2* u 152 neselektovaných pacientů s karcinodem pankreatu, u kterých jsme překvapivě našli tři patogenní mutace (2,0 %). Pro účely případného genetického testování *PALB2* i u pacientů s karcinodem pankreatu bude nejprve nezbytné provést analýzu *PALB2* na rozšířených souborech pacientů.

Genetické testování *PALB2* v ČR a návrh preventivní péče o nositele mutací

Z výsledků analýz genu *PALB2* v ČR vyplývá, že v naší populaci je v porovnání s ostatními populacemi poměrně vysoká frekvence patogenních mutací v tomto genu u *BRCA1/2* negativních vysoce rizikových pacientek s karcinodem prsu z rodin s familiárním výskytem karcinomu prsu (HBC rodiny; 5,5 %). Analýzu mutací *PALB2* je tedy zvláště vhodné zařadit do genetického testování v takovýchto případech nebo případně při současném výskytu karcinomu prsu a pankreatu u příbuzných. Díky rozvoji technik panelového NGS, které umožňují paralelní analýzu mnoha genů u více pacientů a jsou postupně zařazovány do běžné klinicko-genetické praxe, bude pravděpodobně gen *PALB2* testován postupně u všech rizikových pacientů s karcinodem prsu. Přítomnost velkých genomových přestaveb, která byla identifikována u rizikových pacientek i v naší populaci, by měla být testována, např. pomocí MLPA analýzy.

S ohledem na funkční blízkost *PALB2* s *BRCA2*, podobné spektrum nádorové predispozice u nositelů mutací v těchto genech a pravděpodobně významné zvýšení celoživotního rizika vzniku karcinomu prsu by nositelky patogenních alterací v genu *PALB2* měly být zařazeny do sledovacích programů podobných jako pro nositelky mutací v genu

BRCA2. Ač jsou *PALB2* mutace individuálně vzácné, pro nositelky těchto mutací a jejich příbuzné jako potenciální nositele je znalost jejich přítomnosti vzhledem k navrženému riziku vzniku karcinomu prsu spojeného s těmito mutacemi klinicky významná. Nositelé patogenních mutací *PALB2* by měli být informováni o optimálním klinickém sledování odpovídajícímu spojenému riziku a možné léčbě, podobně jako nositelé mutací v genu *BRCA2*; v případě vysoké rodinné zátěže, kdy patogenní mutace segreguje s nádorovým fenotypem, i včetně preventivních chirurgických zákroků.

Závěr

Třebaže dosavadní výsledky klinických studií ukazují, že charakterizace mutací v genu *PALB2* má klinický význam zejména u nemocných s familiárním výskytem karcinomu prsu, další analýzy v různých populacích a zvětšení studovaných souborů budou nezbytné pro přesný odhad penetrance genu *PALB2* (v současnosti lze na patogenní mutace nahlízet jako na varianty na pomezí středního a vysokého rizika vzniku karcinomu prsu) a dále k upřesnění rizika vzniku karcinomu pankreatu nebo případně dalších nádorů. Tím bude možné zlep-

šit klinickou péči u nositelů těchto mutací a jejich příbuzných. Dále pomohou odhalit, zda genetické testování genu *PALB2* v budoucnu doporučit i u dalších rizikových skupin (např. karcinom prsu u mužů), popřípadě u pacientů s jinými nádorovými onemocněními (pankreatu, ovaria, tlustého střeva). Ve stadiu klinických studií je rovněž použití cílené léčby PARP inhibitory u nositelů mutací genu *PALB2* s karcinomem prsu nebo pankreatu [18].

Literatura

- Pohlreich P, Zikan M, Stribrna J et al. High proportion of recurrent germline mutations in the *BRCA1* gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res* 2005; 7(5): R728–R736.
- Soukupova J, Dunder P, Kleibl Z et al. Contribution of mutations in *ATM* to breast cancer development in the Czech population. *Oncol Rep* 2008; 19(6): 1505–1510.
- Kleibl Z, Novotny J, Bezdickova D et al. The *CHEK2* c.1100delC germline mutation rarely contributes to breast cancer development in the Czech Republic. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90(2): 165–167.
- Ticha I, Stribrna J, Soukupova J et al. Mutations in *CHEK2* and *TP53* genes in high-risk hereditary breast and ovarian cancer patients in the Czech Republic. *Eur J Cancer Suppl* 2011; 47 (Suppl 1): S132–S132.
- Mateju M, Kleiblova P, Kleibl Z et al. Germline mutations 657del5 and 643C>T (R215W) in *NBN* are not likely to be associated with increased risk of breast cancer in Czech women. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 133(2): 809–811. doi: 10.1007/s10549-012-2049-x.
- Xia B, Sheng Q, Nakanishi K et al. Control of *BRCA2* cellular and clinical functions by a nuclear partner, *PALB2*. *Mol Cell* 2006; 22(6): 719–729.
- Zhang F, Ma J, Wu J et al. *PALB2* links *BRCA1* and *BRCA2* in the DNA-damage response. *Curr Biol* 2009; 19(6): 524–529. doi: 10.1016/j.cub.2009.02.018.
- Bartek J, Bartkova J, Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression. *Oncogene* 2007; 26(56): 7773–7779.
- Reid S, Schindler D, Hanenberg H et al. Biallelic mutations in *PALB2* cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Genet* 2007; 39(2): 162–164.
- Tischkowitz M, Xia B. *PALB2/FANCN*: recombining cancer and Fanconi anemia. *Cancer Res* 2010; 70(19): 7353–7359. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1012.
- Southey MC, Teo ZL, Winship I. *PALB2* and breast cancer: ready for clinical translation! *Appl Clin Genet* 2013; 19(6): 43–52. doi: 10.2147/TACG.S34116.
- Rahman N, Seal S, Thompson D et al. *PALB2*, which encodes a *BRCA2*-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2007; 39(2): 165–167.
- Antoniou AC, Casadei S, Heikinen T et al. Breast-cancer risk in families with mutations in *PALB2*. *N Engl J Med* 2014; 371(6): 497–506. doi: 10.1056/NEJMoa1400382.
- Janatova M, Kleibl Z, Stribrna J et al. The *PALB2* gene is a strong candidate for clinical testing in *BRCA1*- and *BRCA2*-negative hereditary breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22(12): 2323–2332. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0745-T.
- Couch FJ, Hart SN, Sharma P et al. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33(4): 304–311. doi: 10.1200/JCO.2014.57.1414.
- Jones S, Hruban RH, Kamiyama M et al. Exomic sequencing identifies *PALB2* as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science* 2009; 324(5924): 217. doi: 10.1126/science.1171202.
- Becker AE, Hernandez YG, Frucht H et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection. *World J Gastroenterol* 2014; 20(32): 11182–11198. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11182.
- Bhalla A, Saif MW. PARP-inhibitors in *BRCA*-associated pancreatic cancer. *JOP* 2014; 15(4): 340–343. doi: 10.6092/1590-8577/2690.