

Aus dem Institut für Humangenetik
der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. Thomas Haaf

**Funktionsstörungen von DNA-Reparaturgenen als Risikofaktor für
die Entwicklung von hereditären kolorektalen Karzinomen**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Andrea Münch
aus Würzburg

Würzburg, Juli 2010

Referent: Prof. Dr. med. Holger Höhn
Korreferent: Prof. Dr. med. Tiemo Grimm
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 05. August 2010

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Kolorektales Karzinom.....	1
1.2 Kolorektale Tumorgenese.....	3
1.2.1 Chromosomale Instabilität (CIN)	3
1.2.2 Mikrosatelliteninstabilität (MSI)	3
1.2.3 Epigenetische Instabilität (CIMP)	4
1.3 DNA-Reparatursysteme.....	5
1.3.1 Mismatch-Reparatur (MMR).....	6
1.3.2 Basen-Exzisions-Reparatur (BER)	7
1.4 Intention der Arbeit	7
2 Ergebnisse	8
2.1 Mismatch-Reparaturgene.....	8
2.1.1 HNPCC	8
2.1.1.1 Beschreibung und klinische Charakteristika	8
2.1.1.2 Molekulargenetik.....	11
2.1.2 Muir-Torre-Syndrom	20
2.1.2.1 Beschreibung und klinische Charakteristika	20
2.1.2.2 Molekulargenetik.....	21
2.1.3 Turcot-Syndrom.....	24
2.1.3.1 Beschreibung und klinische Charakteristika	24
2.1.3.2 Molekulargenetik.....	25
2.1.4 MMR-D-Syndrom	27
2.1.4.1 Beschreibung und klinische Charakteristika	27
2.1.4.2 Molekulargenetik.....	29
2.2 Epigenetische Mechanismen in DNA-Reparaturgenen.....	32
2.2.1 hMLH1	34
2.2.2 hMSH2.....	38
2.2.3 MGMT	40

2.3 Basen-Exzisions-Reparaturgene	42
2.3.1 MAP-Syndrom.....	42
2.3.1.1 Beschreibung und klinische Charakteristika	42
2.3.1.2 Molekulargenetik.....	44
2.3.2 MBD4	49
3 Diskussion.....	52
3.1 MMR-Reparaturgene	52
3.2 Epigenetische Mechanismen	56
3.3 Basen-Exzisions-Reparaturgene	58
4 Zusammenfassung	60
5 Literaturverzeichnis	61

Abkürzungsverzeichnis

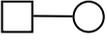
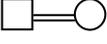
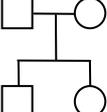
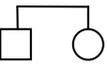
Abb.	Abbildung
AFAP	Attenuierte Familiäre Adenomatöse Polyposis
AP	A-Purine / A-Pyrimidine
APC	Adenomatöse Polyposis Coli
AS	Aminosäure
ATM	Ataxia telangiectasia mutated
BAX	BCL-2-associated X
BER	Basen-Exzisions-Reparatur
BRAF	V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
BTP	Brain tumor polyposis
bzw.	Beziehungsweise
Ca	Karzinom
CALS	Café-au-lait-spots (Café-au-Lait-Flecken)
CCS	Childhood cancer syndrome
CFS	Cancer family syndrome
CHRPE	Kongenitale Hypertrophien des retinalen Pigmentepithels
CIMP	CpG-island methylator phenotype
CIN	Chromosomale Instabilität
DCC	Deleted in colon cancer
DNA	Deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
engl.	Englisch
EXO1	Exonuklease-1 Gen
FAP	Familiäre Adenomatöse Polyposis
FHIT	Fragile histidine triad
FMR1	Fragile X mental retardation syndrome (Fragiles X Syndrom)
hMLH	Humanes MutL Homolog
hMSH	Humanes MutS Homolog
HNPCC	Hereditary non-polyposis colorectal cancer (Hereditäres Nichtpolypöses Kolorektales Karzinom)

HPS	Hyperplastic polyposis syndrome
HR	Homologe Rekombination
IGFIIR	Insulin like growth factor II Rezeptor
kDa	Kilodalton
K-ras	Kirsten rat sarcoma
KRK	Kolorektales Karzinom
LOH	Loss of heterocygosity
MAP	MUTHY-assozierte Polyposis
Max	Maximum
MBD4	Methyl-CpG binding domain-protein 4
MeCP2	Methyl-CpG-binding domain-protein 2
MED1	Methyl-CpG binding endonuclease 1
MGMT	O ⁶ -Methylguanin Methyltransferase
Min	Minimum
MLH	MutL Homolog
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe amplification
mm	Millimeter
MMR	Mismatch-Reparatur
MMR-D	Mismatch-repair-deficiency
MSH	MutS Homolog
MSI	Mikrosatelliteninstabilität
MTH1	MutT Homolog 1
MTS	Muir-Torre-Syndrom
MUTYH	MutY Homolog
NBS1	Nijmegen breakage syndrome 1
NER	Nukleotid-Exzisions-Reparatur
NF1	Neurofibromatose Typ 1
NHEJ	Nicht-homologe-End-zu-End-Verknüpfung
OGG1	8-Oxoguanin-DNA-Glykosylase 1
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PCR	Polymerasekettenreaktion
PMS	Postmeiotic segregation increased

Abkürzungsverzeichnis

PTEN	Phosphatase and tensin homolog
REP	Replication error phenomenon
RER	Reversions-Reparatur
RPA	Replikations-Protein A
ROS	Reactive oxygen species
RR	Rekombinations-Reparatur
SAM	S-Adenosylmethionin
SMAD	Small mother against decapentaplegic
STK	Serin-Threonin-Kinase
Tab.	Tabelle
TCF4	Transkriptionsfaktor 4
TGF β 1RII	Transforming growth factor β 1-Rezeptor II
TP53	Tumorsuppressorgen 53
TS	Turcot-Syndrom
u.a.	Unter anderem
XPA-XPG	Xeroderma pigmentosum Gen A-G
z.B.	Zum Beispiel

Symbole der Stammbaum-Analysen

	männlich (Mann, Sohn)		weiblich (Frau, Tochter)
	Geschlecht unbekannt (bzw. ohne Bedeutung)		
	verstorben		
	erkrankt		
	Elternpaar		
	Verwandtenehe		
	Paar mit zwei Kindern, das erste Kind ist ein Sohn		
	Zweieiige Zwillinge		
	Geschwister		
	geschiedenes Paar		

Abkürzungsverzeichnis

Aminosäuresymbole

C	Cys	Cystein
D	Asp	Aspartat
E	Glu	Glutamat
F	Phe	Phenylalanin
G	Gly	Glycin
H	His	Histidin
I	Ile	Isoleucin
K	Lys	Lysin
L	Leu	Leucin
M	Met	Methionin
N	Asn	Aspartat
P	Pro	Prolin
Q	Gln	Glutamin
R	Arg	Arginin
S	Ser	Serin
T	Thr	Threonin
V	Val	Valin
W	Trp	Tryptophan
Y	Tyr	Tyrosin
X		bedeutet Stoppcodon

Nukleotidsymbole

A	Adenin
C	Cytidin
G	Guanin
T	Thymin
U	Uracil

1 Einleitung

1.1 Kolorektales Karzinom

Jedes Jahr erkranken weltweit mehr als eine Million Menschen an einem kolorektalen Karzinom (KRK) und über die Hälfte versterben daran (Garcia et al. 2007).

In Deutschland wird jährlich bei etwa 71.000 Menschen diese Diagnose gestellt, und circa 30.000 Patienten sterben an den Folgen der Erkrankung. Damit ist das kolorektale Karzinom in Deutschland sowohl bei Männern als auch bei Frauen die zweithäufigste maligne Tumorerkrankung (weltweit die dritthäufigste) und auch die zweithäufigste Krebstodesursache (weltweit die vierthäufigste). Während vor dem 40. Lebensjahr das KRK noch sehr selten ist, findet man zwischen dem 40. und 85. Lebensjahr einen exponentiellen Anstieg der Erkrankung (Krebs in Deutschland 2008).

Die Inzidenz des KRK hat sich von 1960 bis 1980 nahezu verdoppelt und war danach über einige Jahre auf hohem Niveau stabil. In den letzten Jahren wird wieder eine leicht steigende Tendenz festgestellt. Das Lebenszeitrisiko für ein KRK beträgt ungefähr 5-6 %.

Die Inzidenz weist erhebliche geographische Unterschiede auf. Die höchsten Inzidenzraten finden sich in westlichen Industrienationen wie Nordamerika, Australien und Westeuropa (20-40/100.000/Jahr), die niedrigsten in Afrika, Asien und Lateinamerika (1-3/100.000/Jahr) (Muir et al. 1987, Parkin und Bray 2006). Migrationsstudien zeigen, dass sich die Inzidenz bereits nach einer Generation der des Gastlandes angepasst hat, was den großen Einfluss von exogenen Faktoren widerspiegelt.

Hier scheinen vor allem Ernährungsfaktoren und Lebensstil eine große Rolle zu spielen. Ein hoher Konsum von fett- und fleischreicher, ballaststoffarmer Ernährung, regelmäßiger Alkoholkonsum und Zigarettenrauchen sowie Übergewicht und Bewegungsmangel erhöhen das Darmkrebsrisiko. Währenddessen zeigen eine körperliche Aktivität, ein hoher Anteil von Gemüse und Pflanzenfasern in der Nahrung, Vitamin C, Folsäure und Kalzium einen protektiven Effekt. Menschen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, beispielsweise Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn, weisen auch ein erhöhtes Krebsrisiko auf (Herold 2007).

Kolorektale Karzinome treten zu 15-20 % familiär gehäuft auf, ob auf Grund von Genveränderungen oder einem gemeinsamen Lebensstil, ist bisher nicht abschließend geklärt (multifaktorieller, polygener Modus). Verwandte ersten Grades von Patienten mit KRK zeigen ein 2- bis 3-fach erhöhtes Risiko. Das Risiko steigt auf das 3- bis 4-fache, wenn bei diesem Verwandten das KRK vor dem 45. Lebensjahr aufgetreten ist und / oder mehr als ein Verwandter ersten Grades von einem KRK betroffen ist.

5 bis 10 % aller kolorektalen Karzinome entstehen auf der Grundlage einer erblichen Disposition, die einen klaren monogenen Vererbungsmodus erkennen lässt, wobei die meisten dieser Erkrankungen dem autosomal-dominanten Erbgang folgen. Hierfür sind im Wesentlichen zwei Krebs syndrome verantwortlich: Das Hereditäre Nichtpolypöse Kolorektale Karzinom (HNPCC) und die Familiäre Adenomatöse Polyposis (FAP). Seltener Krebs syndrome sind z.B. das Peutz-Jeghers-Syndrom, das Muir-Torre-Syndrom (MTS), die Familiäre Juvenile Polyposis oder das MMR-D (Mismatch-Repair-Deficiency)-Syndrom.

Etwa 75 % der kolorektalen Karzinome treten sporadisch auf, d.h. ohne Nachweis einer familiären Häufung und sie sind nicht erblich.

Abbildung 1 zeigt die Häufigkeitsverteilung der kolorektalen Tumore.

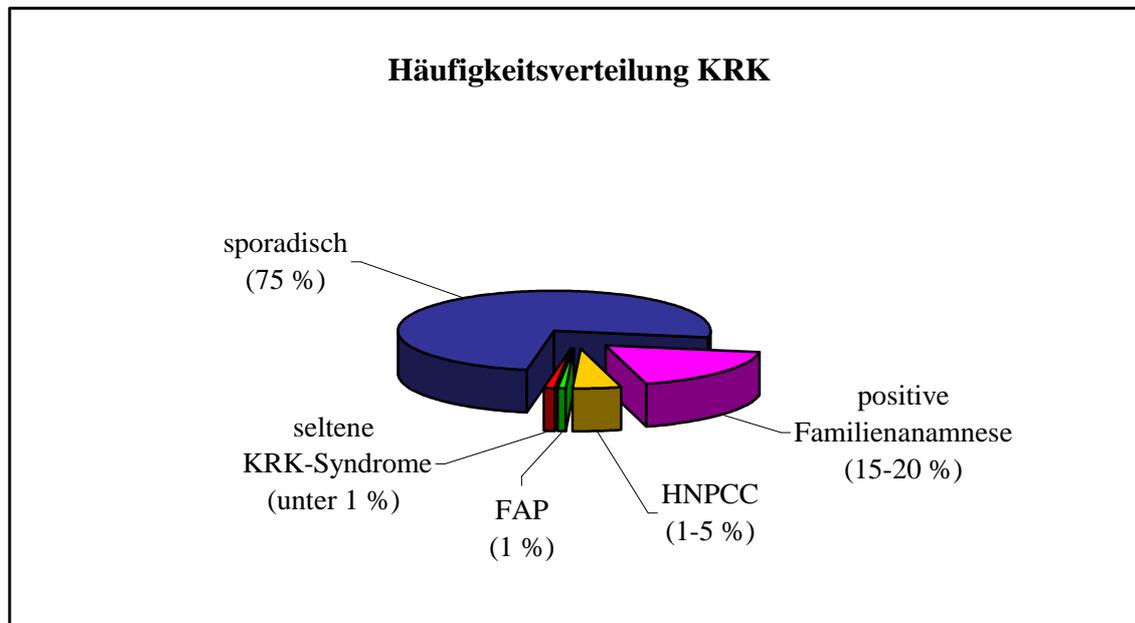


Abb. 1: Häufigkeitsverteilung der kolorektalen Karzinome (modifiziert nach Siegenthaler und Blum 2006).

1.2 Kolorektale Tumorgenese

Die maligne Transformation und Progression des kolorektalen Karzinoms beruht wie bei den meisten soliden Tumoren auf einem Mehrstufenprozess, bei dem es zur Akkumulation von genetischen und epigenetischen Veränderungen kommt.

Auf molekularer Ebene kann die Pathogenese der kolorektalen Karzinome in drei verschiedenen Gruppen eingeteilt werden: 1. Chromosomale Instabilität (CIN), 2. Mikrosatelliteninstabilität (MSI) und 3. Epigenetische Instabilität (CIMP).

1.2.1 Chromosomale Instabilität (CIN)

Im Rahmen der chromosomalen Instabilität bei KRK kommt es zu molekularpathologischen Veränderungen, die von Fearon und Vogelstein (1990) in einem Mehrschrittmodell beschrieben worden sind. Hierbei führt eine schrittweise Progression von Adenomen, die sich aus dysplastischem Epithel entwickeln, in mehreren Etappen zu einem invasiven Tumor (sogenannte Adenom-Karzinom-Sequenz). Dieser Prozess wird durch die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen wie APC, DCC und TP53 sowie durch die Aktivierung von Onkogenen wie K-ras unterhalten (siehe Abbildung 2). Dabei sind für die Karzinomentwicklung Veränderungen in circa 4-6 Genen nötig. Die Folgen der Akkumulation genetischer und chromosomaler Veränderungen spiegeln sich in einer Aneuploidie und chromosomaler Instabilität wider, weshalb die Adenom-Karzinom-Sequenz auch als „Chromosomeninstabilitäts-Pathway“ bezeichnet wird.

1.2.2 Mikrosatelliteninstabilität (MSI)

Beim „MSI-Pathway“ wird durch Inaktivierung der Mismatch-Reparaturgene, beispielsweise durch klassische Keimbahnmutationen oder durch andere Mechanismen wie Methylierungen, eine fehlerhafte DNA-Replikation im Bereich der Mikrosatellitenloci verursacht. Als Folge können Mutationen in anderen Genen begünstigt werden (z.B. APC oder K-ras). Ebenso wird die Entstehung von KRK durch einen mutationsbedingten Funktionsverlust in mikrosatellitenkodierenden Genen wie z.B. BAX, TFC4, IGFIIR sowie hMSH6, hMSH3 und hMSH2 beeinflusst (siehe Abbildung 2). Die Mikrosatelliteninstabilität zeigt sich bei 10-15 % der sporadischen KRK und bei circa 90 % der Patienten mit HNPCC.

1.2.3 Epigenetische Instabilität (CIMP)

In den letzten Jahren häufen sich die Hinweise, dass ein Teil der MSI-Karzinome möglicherweise aus bestimmten hyperplastischen Polypen über sogenannte „serrated adenoma“ entsteht (siehe Abbildung 2). Für diesen „Serrated-Pathway“ gibt es noch keine einheitliche Definition und eine klare Abgrenzung zum „MSI-Pathway“ ist schwierig. Entscheidend für diesen Weg ist eine epigenetische Veränderung, nämlich eine Methylierung von CpG-reichen Stellen (CpG-Inseln) im Promotorbereich von Genen (z.B. hMLH1, MGMT, p16) oder Mutationen in BRAF- und K-ras-Onkogenen, die als CIMP (CpG-island methylator phenotyp) bezeichnet wird (Jass 2007).

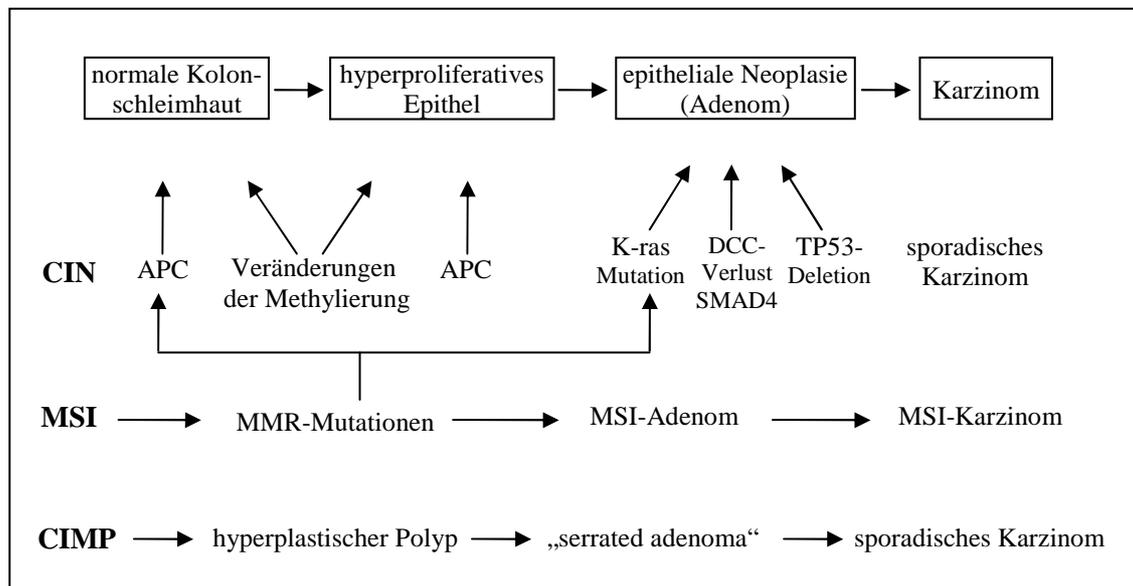


Abb. 2: Multistep-Karzinogenese des KKR (modifiziert nach Fearon und Vogelstein 1990, Siegenthaler und Blum 2006).

Nach der Art der primären genetischen Störung können drei Gruppen von tumorrelevanten Genen unterschieden werden: Tumorsuppressorgene, Onkogene und DNA-Reparaturgene (Mutatorgene). Während Tumorsuppressorgene und Onkogene normalerweise das Zellwachstum (Proliferation) und die Zellreifung (Differenzierung) der Zellen regulieren, kontrollieren DNA-Reparaturgene die korrekte Vervielfältigung der genetischen Information bei der DNA-Replikation. Mutationen in DNA-Reparaturgenen, die zu einem Ausfall der Reparaturmechanismen führen, können eine erhöhte Mutationsrate zur Folge haben („Mutator-Phänotyp“ bei KKR).

1.3 DNA-Reparatursysteme

Die DNA, das Erbgut einer Zelle, ist besonders empfindlich für chemische Veränderungen oder den Austausch eines DNA-Nukleotids. Solche DNA-Schäden können spontan im Verlauf der DNA-Replikation oder durch die Einwirkung mutagener Substanzen (z.B. alkylierende Verbindungen, polycyclische Kohlenwasserstoffe, Radikalbildner und Basenanaloga), UV-Licht oder ionisierender Strahlung verursacht werden.

Es existieren unterschiedliche DNA-Reparatursysteme, die Schäden in der DNA erkennen und beheben können: Die Reversions-Reparatur (RR, „direkte“ DNA-Reparatur), die Basen-Exzisions-Reparatur (BER), die Mismatch-Reparatur (MMR), die Nukleotid-Exzisions-Reparatur (NER) und die Rekombinations-Reparatur (RR) mit der Homologen Rekombination (HR) und der Nicht-Homologen-End-zu-End-Verknüpfung (NHEJ). Dadurch wird verhindert, dass DNA-Schäden akkumulieren, die Transkription von Genen blockieren, die DNA-Replikation stören und sich als Mutationen manifestieren.

Mehreren hereditären Tumordispositionserkrankungen liegen Defekte in DNA-Reparatursystemen zu Grunde (siehe Tabelle 1).

Tab. 1: Defekte in DNA-Reparatursystemen und daraus resultierende hereditäre Krebs syndrome mit den beteiligten Genen und der Art der Vererbung. Grau unterlegte Krebs syndrome führen zu KRK (AD = autosomal-dominant, AR = autosomal-rezessiv).

Art der DNA-Reparaturdefekte	Krebs syndrom	Betroffene Gene	Erbgang
MMR-Defekte	Hereditäres Nichtpolypöses Kolorektales Karzinom (HNPCC)	hMLH1, hMSH2, hMSH6, hPMS1, hPMS2, hMLH3	AD
	Mismatch-Repair-Deficiency (MMR-D)-Syndrom	hMSH2, hMLH1, hMSH6, hPMS2	AD
	Muir-Torre-Syndrom (MTS)	hMSH2, hMLH1, hMSH6	AD
	Turcot-Syndrom (TS oder BPS)	hMLH1, hMSH2, hPMS2, hMSH6	AD/AR
BER-Defekte	MUTYH-assoziierte Polyposis (MAP)	MUTYH	AR
NER-Defekte	Xeroderma pigmentosum	XPA-XPG	AR
RR-Defekte	Ataxia-telangiectasia	ATM	AR
	Fanconi-Anämie	FANCA-FANCN	AR
	Nijmegen-Breakage-Syndrom	NBS1	AR

1.3.1 Mismatch-Reparatur (MMR)

Die MMR korrigiert Einzelbasenfehlpaarungen sowie Insertions-Deletionsschleifen (Indel-Schleifen) von bis zu acht Nukleotiden. Der erste Schritt der MMR, die Erkennung und Bindung der Fehlpaarung, erfolgt bei Eukaryoten durch den MutS α -Komplex, welcher aus den beiden Untereinheiten MSH2 und MSH6 besteht. Dieses Heterodimer erfasst vor allem Fehlpaarungen und kleine Indel-Schleifen, während ein zweiter Komplex, MutS β aus MSH2 und MSH3, auch längere Schleifen erkennt. Anschließend lagert sich an das Heterodimer ein weiterer Komplex, MutL α (besteht aus den Untereinheiten MLH1 und PMS2), an. Die genaue Rolle dieses Heterodimers ist bei Eukaryoten noch nicht ausreichend geklärt. Wahrscheinlich liegt die Aufgabe in der Vermittlung des Fehlererkennungssignals des hMutS-Heterodimers an die Exzisionsmaschinerie. Eine Reihe verschiedener Proteine ist an der Exzision und der folgenden Neusynthese beteiligt (z.B. Endonuklease, Exonuklease 1, RPA, PCNA, DNA-Polymerase δ , Helikase, Ligase) (Peltomäki 2001).

Der schematische Ablauf der MMR ist in Abbildung 3 zusammengefasst.

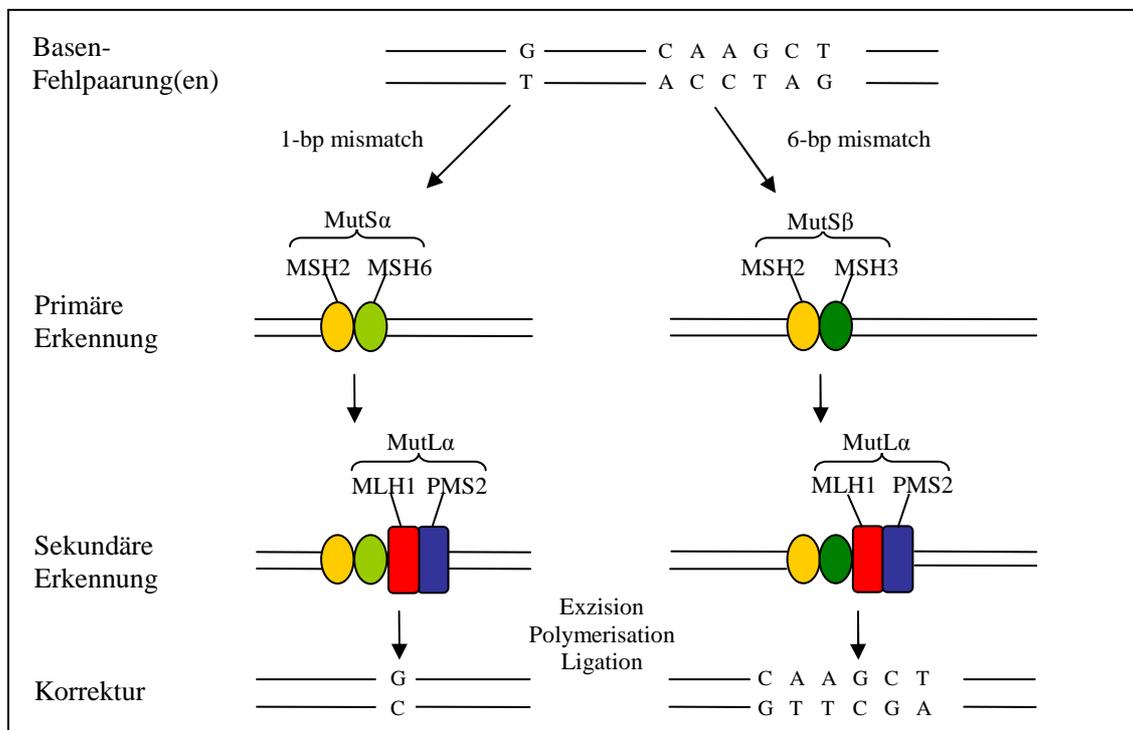


Abb. 3: MMR-System beim Menschen. Die beiden Heteromere MutS α und MutS β binden die fehlgepaarte(n) Base(n). Nach Anlagerung des Heterodimers MutL α wird der Strang exzidiert und in der Folge neu polymerisiert und ligiert (modifiziert nach Lindahl et al. 1997).

1.3.2 Basen-Exzisions-Reparatur (BER)

Die BER ist eine der häufigsten Reparaturarten und entfernt hauptsächlich veränderte DNA-Basen (vor allem oxidierte und alkylierte DNA-Basen) und AP-Stellen (A-Purine / A-Pyrimidine) aus der DNA.

Geschädigte DNA-Basen werden durch schadenspezifische DNA-Glykosylasen entfernt. Danach wird durch eine AP-Endonuklease die nun nicht mehr besetzte Desoxyribose ausgeschnitten. Anschließend synthetisiert eine DNA-Polymerase, abhängig von der komplementären Base, auf dem fehlerfreien Strang die korrekte Base. Der verbleibende Einzelstrangbruch wird durch ein Ligase geschlossen und der Fehler ist somit korrigiert.

1.4 Intention der Arbeit

Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen haben eine erhöhte Mutationsrate zu Folge und beschleunigen die Krebsentstehung.

Ziel dieser Arbeit ist es, anhand neuester Literatur darzustellen, wie Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen als Risikofaktor für die Entstehung von erblichen kolorektalen Karzinomen von Bedeutung sind.

Im folgenden Ergebnisteil werden zum einen hereditäre Krebs syndrome beschrieben, die KKK verursachen, und ihre Verbindung zu DNA-Reparaturgenen aufgezeigt und zum anderen dargestellt, wie genetische und epigenetische Keimbahnmutationen in einzelnen DNA-Reparaturgenen mit KKK verknüpft sind .

2 Ergebnisse

2.1 Mismatch-Reparaturgene

Die Hauptaufgabe der Mismatch-Reparaturgene liegt in der Erkennung und Reparatur von Basenfehlpaarungen und kleinen Insertions- und Deletionsfehlern, die während der DNA-Replikation auftreten. Ein funktionsfähiges MMR-System kann die DNA-Mutationsrate um das 1000-fache reduzieren. Bei einem Defekt in den Mismatch-Reparaturgenen kommt es zur Ansammlung von multiplen Replikationsfehlern.

In der Literatur wird eine Mutation, die eine erhöhte Mutationsneigung auslöst, als „Mutator-Mutation“ bezeichnen. Der daraus resultierende „Mutator-Phänotyp“ erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass die Zelle durch Mutationen in bestimmten (z.B. wachstumsregulierenden) Genen Schritt für Schritt zur Krebszelle entartet.

Im folgenden Abschnitt werden vier hereditäre Tumordispositionssyndrome beschrieben, die mit kolorektalen Karzinomen verknüpft sind, sowie ihre Verbindung zu Keimbahnmutationen in MMR-Genen dargestellt.

2.1.1 HNPCC

2.1.1.1 Beschreibung und klinische Charakteristika

Das HNPCC (Hereditäres Nichtpolypöses Kolorektales Karzinom), auch Lynch-Syndrom genannt, stellt mit circa 5 % aller kolorektalen Karzinome die häufigste Form der autosomal-dominant vererbten Dickdarmkarzinome dar (Vasen 2007).

Charakteristisch für das Syndrom ist das Auftreten von Karzinomen proximal der linken Kolonflexur sowie die Assoziation mit Karzinomen in anderen Organlokalisationen u.a. im Endometrium, im Magen, im Dünndarm, im hepatobiliären System und in den ableitenden Harnwegen (Vasen 2007).

Eine frühere Unterteilung des HNPCC-Syndroms in Lynch-I (ausschließliches Vorliegen von kolorektalen Karzinomen) und Lynch-II (zusätzlich extrakolonische Karzinome) wird seit der molekularbiologischen Charakterisierung des Syndroms nicht mehr angewandt.

Nachdem kein charakteristischer Phänotyp für das HNPCC-Syndrom existiert, wurden 1990 durch die International Collaborative Group on HNPCC (ICG-HNPCC) als

Grundlage für die klinische Diagnose die Amsterdam-Kriterien I eingeführt (Vasen et al. 1991). Um auch extraintestinale Karzinome mit zu erfassen, wurden die Amsterdam-Kriterien I 1999 auf die Amsterdam-Kriterien II (siehe Tabelle 2) erweitert (Vasen et al. 1999).

Tab. 2: Amsterdam-Kriterien II zur Diagnose des HNPCC.

Amsterdam-Kriterien II
<i>Alle Kriterien müssen erfüllt sein:</i>
<ul style="list-style-type: none">- Mindestens drei Familienangehörige mit HNPCC-assoziiertem Karzinom (Kolon, Rektum, Endometrium, Dünndarm, Urothel, hepatobiliär)- Einer davon Verwandter ersten Grades der beiden anderen- Erkrankungen in mindestens zwei aufeinander folgenden Generationen- Mindestens ein Patient mit der Diagnose eines Karzinoms vor dem 50. Lebensjahr- Ausschluss einer Familiären Adenomatösen Polyposis (FAP)- Die Tumore sind histopathologisch gesichert

Da nicht alle Patienten, beziehungsweise Familien, die sehr strengen Amsterdam-Kriterien erfüllen, wurden 1996 die Bethesda-Kriterien definiert (Rodriguez-Bigas et al. 1997) und 2002 eine revidierte Fassung (Revised Bethesda Guidelines, siehe Tabelle 3) erstellt (Umar et al. 2004). Werden die Bethesda-Kriterien erfüllt, besteht die Indikation für eine molekulargenetische Analyse.

Tab. 3: Revidierte Fassung der Bethesda-Kriterien.

Revised Bethesda Guidelines
<ul style="list-style-type: none">- Diagnose eines kolorektalen Karzinoms vor dem 50. Lebensjahr- Vorliegen von synchronen, metachronen kolorektalen oder HNPCC-assoziierten Tumoren, unabhängig vom Alter- Diagnose eines kolorektalen Karzinoms mit MSI-H Histologie bei einem Patienten unter 60 Jahre- Patient mit kolorektalem Karzinom und einem Verwandten ersten Grades mit einem HNPCC-assoziierten Tumor, davon einer vor dem 50. Lebensjahr diagnostiziert- Patient mit kolorektalem Karzinom und zwei oder mehreren erst- oder zweitgradigen Verwandten mit der Diagnose eines HNPCC-assoziierten Tumors, unabhängig vom Alter

Die Erstmanifestation von kolorektalen Karzinomen liegt bei Individuen mit HNPCC bei durchschnittlich 46 Jahren und somit circa zwei Jahrzehnte früher als das Manifestationsalter bei sporadischen kolorektalen Karzinomen. Auch die extrakolonischen Neoplasien treten deutlich früher auf als die entsprechenden sporadischen Formen (Mecklin et al. 1994, Vasen 2007). Verschiedene Studien haben gezeigt, dass HNPCC-Patienten mit Keimbahnmutationen auf hMSH2 ein signifikant höheres Risiko tragen, an extrakolonischen Karzinomen zu erkranken, als hMLH1-Träger (Vasen et al. 1996, Lin et al. 1998).

Die Penetranz des Krankheitsbildes ist mit über 80 % sehr hoch und abhängig vom Geschlecht (höheres Risiko für Männer) und der Art der betroffenen MMR-Gene (höheres Risiko bei hMSH2-Mutationen, niedrigere Penetranz bei hPMS2-Mutationen) (Dunlop et al. 1997, Vasen et al. 2001, Truninger et al. 2005). Ein weiteres typisches Merkmal des HNPCCs ist das Auftreten von multiplen Tumoren. Laut Vasen (2007) beträgt die Rate metachroner und synchroner kolorektaler Karzinome 18 %.

Das HNPCC-Syndrom zeigt keine auffällige Polypenhäufung wie das FAP (die Anzahl der Adenome variiert beim Lynch-Syndrom nur von einem bis einige wenige) und erschwert hierdurch die Abgrenzung zum sporadischen KRK. Der Name „nichtpolypöses Kolonkarzinom“ ist im Hinblick auf die Tumorentstehung irreführend, da auch für dessen Entstehung in der Regel die Adenom-Karzinom-Sequenz zuzutreffen scheint. Die Progression vom Adenom zum Karzinom verläuft bei HNPCC-Patienten deutlich schneller (unter 3 Jahren) als bei sporadischen KRK (10-15 Jahre). Dazu sind die Adenome größer, weisen einen höheren Dysplasiegrad auf und zeigen einen erhöhten Anteil mit villösem Wachstumsmuster im Vergleich zu Kontrollpersonen (Vasen et al. 1995, Vasen 2007).

Histopathologisch zeigt sich beim HNPCC-assoziierten kolorektalen Karzinom überwiegend ein schlecht differenzierter, muzinöser Tumor mit starker Lymphozyteninfiltration und lymphoiden Aggregaten am Tumorrand (Jass 1998, Jass et al. 2002).

Die HNPCC-assoziierten Karzinome zeigen ein verdrängendes Wachstumsverhalten und streuen seltener lymphogene und hämatogene Metastasen. Patienten mit HNPCC-assoziierten Karzinomen und sporadischen MSI-positiven kolorektalen Karzinomen

scheinen eine bessere Prognose zu haben als Patienten, die an einem sporadischen MSI-negativen kolorektalen Karzinom erkrankt sind (Chen et al. 1997, Gryfe et al. 2000).

2.1.1.2 Molekulargenetik

Zum ersten Mal wurde 1913 von Dr. Warthin, bekannt als „Vater der Krebsgenetik“, eine Familie beschrieben, die eine scheinbare Prädisposition für kolorektale Karzinome und Karzinome der weiblichen Genitalorgane zeigte (Warthin 1913). Im Jahr 1966 identifizierte Lynch dann zwei große Familien, die den gleichen Phänotyp im Krankheitsbild aufwiesen wie vorher von Warthin beschrieben und demonstrierte, dass die Veranlagung für kolorektale Karzinome und bestimmten anderen Tumoren einem autosomal-dominanten Vererbungsmuster folgt (Lynch et al. 1966).

Ein typischer HNPCC-Stammbaum ist in Abbildung 4 dargestellt.

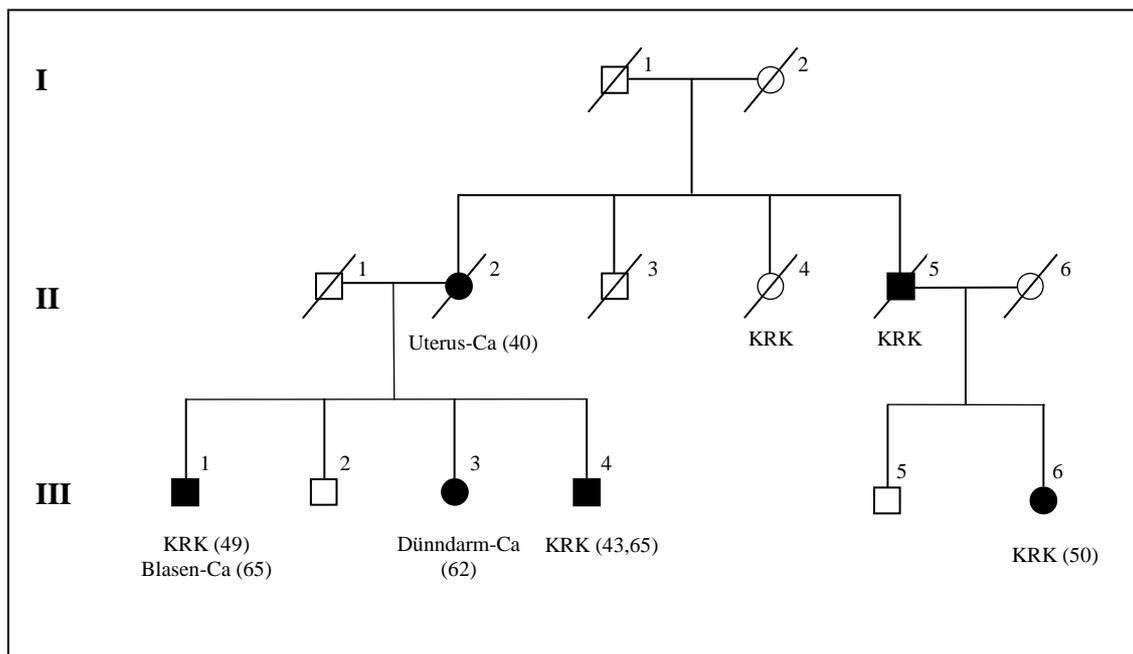


Abb. 4: Stammbaum einer klassischen HNPCC-Familie (modifiziert nach Heinemann 2000). Die Art des aufgetretenen Tumors ist unterhalb des Symbols aufgeführt, das Diagnosealter wurde in Klammern gesetzt.

Erst Anfang der 90er Jahre konnte der molekulare Mechanismus für das HNPCC-Syndrom aufgeklärt werden. Man fand heraus, dass HNPCC-Patienten im Tumorgewebe eine Instabilität der Mikrosatelliten aufweisen, die auf Mutationen in

den Mismatch-Reparaturgenen zurückzuführen ist (Fishel et al. 1993, Leach et al. 1993, Bronner et al. 1994, Nicolaidis et al. 1994).

Mikrosatelliteninstabilität (MSI)

Mikrosatelliten sind repetitive, meist nicht kodierende Mono-, Di-, Tri- oder Tetranukleotidsequenzen, die über das gesamte Genom verteilt vorkommen und sich zwischen 10- und 60-mal wiederholen können. Die Anzahl der Motivwiederholungen kann individuell variieren (Polymorphismus), ist aber in allen Zellen eines Organismus gleich. Innerhalb Mikrosatellitensequenzen treten häufig DNA-Replikationsfehler auf, die durch das intakte Mismatch-Reparatursystem erkannt und korrigiert werden können.

Da bei HNPCC-Patienten meistens eine Mutation in den MMR-Genen vorliegt, kommt es zu einer Mikrosatelliteninstabilität (MSI), auch als „replication error phenomenon“ (REP) bezeichnet, die sich in einer Mikrosatelliten-Längendifferenz zwischen Tumor- und Normalgewebe ausdrückt (Aaltonen et al. 1993, Thibodeau et al. 1993). Nach Boland et al. (1998) werden Tumore als hoch instabil eingestuft (MSI⁺, MSI-High, MSI-H), wenn mehr als 30 % der getesteten Loci instabil sind.

Während in mehr als 90 % der hereditären HNPCC-Tumore hochfrequente Mikrosatelliteninstabilitäten gefunden werden, liegen bei sporadischen kolorektalen Tumorerkrankungen in nur 15 % der Fälle MSI vor (Liu et al. 1995, Boland et al. 1998). So beschrieben beispielsweise Aaltonen et al. 1994 eine MSI bei 86 % der KRK und in 57 % der Adenome von HNPCC-Patienten, während es bei sporadisch aufgetretenen KRK nur bei 16 % und in den Adenomen lediglich bei 3 % zu einer MSI kam. Bei HNPCC-assoziierten Endometriumkarzinomen entdeckte Risinger et al. (1993) in 75 % eine MSI (im Vergleich zu 17 % bei sporadisch auftretenden Endometriumkarzinomen).

Die Instabilität der Mikrosatelliten dient somit als exzellenter Marker für die Auffindung von MMR-Defekten und es wird als unnötig erachtet, bei Patienten mit mikrosatellitenstabilen Tumoren nach Keimbahnmutationen in MMR-Genen zu suchen (eine Ausnahme bilden Familien mit hMSH6-Mutationen, siehe unten) (Lynch und de La Chapelle 2003).

Meistens liegen Mikrosatelliten in nicht kodierenden DNA-Abschnitten. Insertions- oder Deletionsfehler führen deshalb zu keiner veränderten Proteinfunktion. In einigen Genen jedoch befinden sich die Mikrosatelliten, meistens Mononukleotidsequenzen, in kodierenden Regionen und eine MSI kann hier zu Frameshift-Mutationen und so zu veränderten Proteinen führen. Bei kolorektalen Karzinomen mit MSI-H konnten im Tumorgewebe Alterationen in verschiedenen Gengruppen nachgewiesen werden. Deren Gene kodieren für Proteine der Signaltransduktion (TGF β 1RII, IGFIIR) (Markowitz et al. 1995, Parsons et al. 1995), für Apoptose und Inflammation (z.B. BAX) (Rampino et al. 1997), für Transkriptionsregulatoren (z.B. TCF-4) (Duval et al. 2000) und für Proteine der DNA-Reparatur (z.B. RAD50, hMSH6, hMSH3, hMLH3) (Duval et al. 2001, Ohmiya et al. 2001).

Bisher konnten über 500 krankheitsauslösende Keimbahnmutationen in sechs MMR-Genen bei HNPCC-Patienten nachgewiesen werden. Einen Überblick vermittelt Tabelle 4.

Tab. 4: Häufigkeit von MMR-Keimbahnmutationen bei HNPCC-Patienten (InSIGHT-Datenbank), Stand Oktober 2007.

MMR-Gene	Chromosomenlokalisierung	Häufigkeit der Mutationen (%)
hMLH1	3p21-23	254 (49 %)
hMSH2	2p21	191 (37 %)
hMSH6	2p21	47 (9 %)
hPMS1	2q31-q33	1 (0,3 %)
hPMS2	7p22	12 (2 %)
hMLH3	14q24.3	16 (3 %)

Bei HNPCC-Patienten, die die Amsterdamkriterien I erfüllen, lassen sich zu 40-80 % Mutationen in den MMR-Genen nachweisen, bei Vorliegen der Amsterdamkriterien II sind es 5-50 % (Nyström-Lahti et al. 1996, Lynch 1997). Insgesamt können bei etwa zwei Drittel der HNPCC-Patienten, die die Amsterdamkriterien erfüllen und eine MSI in den Tumoren aufweisen, Mutationen in den MMR-Genen nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu konnten einige Familien identifiziert werden, die klinisch den Amsterdamkriterien entsprechen, aber keine MMR-Gen-Mutationen oder MSI

aufweisen. Es wird vermutet, dass hier eine andere molekulare Grundlage als ein defektes MMR-System zu Grunde liegt (Mueller-Koch et al. 2005).

Die Karzinogenese kolorektaler Tumore scheint beim HNPCC-Syndrom ähnlich dem postulierten Modell von Fearon und Vogelstein (1990) für Dickdarmkrebs zu sein, da in beiden Fällen die Inaktivierung des APC-Gens, die Aktivierungen von Onkogenen (K-ras) und Funktionsverluste von Tumorsuppressorgenen (DCC und TP53) dazu führen, dass aus einem Adenom ein metastasierendes Karzinom entsteht (Aaltonen et al. 1993).

Abbildung 5 veranschaulicht, welche Rolle Mutationen in den MMR-Genen bei der Karzinogenese kolorektaler Tumore spielen können.

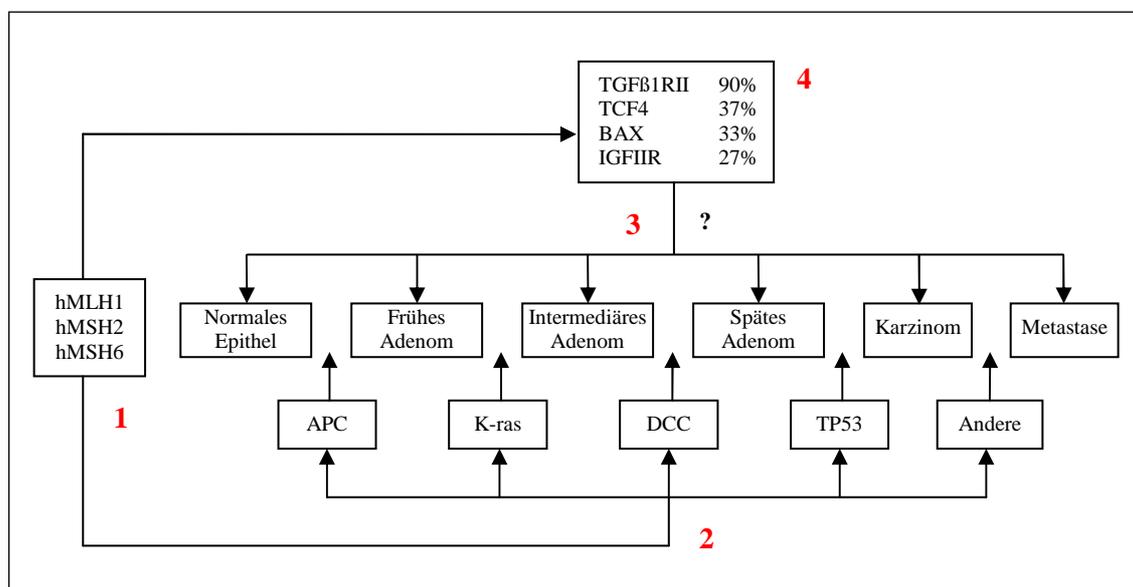


Abb. 5: Auswirkungen von Mutationen in MMR-Genen bei der Karzinogenese von KKR (modifiziert nach Lynch 2003).

Mutationen in MMR-Genen führen zu einem Mangel an MMR-Proteinen (1) und fördern so das Mutationsrisiko in „traditionellen Krebsgenen“, wie APC und K-ras (2). Gene mit Mikrosatelliten in kodierenden Regionen zeigen vermehrt Frameshift-Mutationen, werden inaktiviert und beschleunigen so vielleicht die Entstehung von Karzinomen (3). Das Schaubild (4) stellt die prozentuale Häufigkeit aller kolorektalen Tumoren dar, die MMR-Defekte mit Frameshift-Mutationen in diesen Genen aufweisen (APC = Adenomatöse Polyposis Coli, TGFβ1RII = Transforming growth factor β1 Rezeptor II, TCF4 = Transkriptionsfaktor 4, BAX = BCL-2-associated X, IGFIIR = Insulin like growth factor II Rezeptor).

HNPCC-Patienten sind meistens heterozygot in einem MMR-Gen, das heißt sie besitzen ein normales und ein defektes Allel. Der Funktionsverlust von MMR-Genen erfolgt im Wesentlichen entsprechend der Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen (Knudson-Theorie). Das heißt bei Vorliegen einer Keimbahnmutation (first hit) wird das verbleibende unveränderte Allel durch somatische Mutationen, Verlust der Heterozygotie (loss of heterozygosity, LOH) oder durch Hypermethylierung inaktiviert (second hit). Die Inaktivierung des zweiten Allels führt zu einem Anstieg des Krebsrisikos, man spricht dann von einer „Mutator-Mutation“.

In HNPCC-Tumoren mit hMSH2-Mutationen sind zu 90 % somatische Mutationen und nur 10 % LOH für die Inaktivierung des Wildtyp-Allels verantwortlich. Bei hMLH1 sind es vor allem Hypermethylierungen (50 %) und zu 30 % LOH. Somatische Mutationen treten hingegen eher selten auf (Hemminki et al. 1994).

Die meisten identifizierten Mutationen in MMR-Genen sind Deletionen oder Insertionen von einem oder mehreren Nukleotiden, die zu Leserasterverschiebungen (engl. frameshift mutation) führen sowie Punktmutationen, die Fehlsinn-Mutationen (engl. missense mutation) oder Unsinn-Mutationen (engl. nonsense mutation) zur Folge haben. Seltener kommen stille Mutationen (engl. silent mutation) oder Splicing-mutationen vor. In den letzten Jahren konnte demonstriert werden, dass auch „Genomic Rearrangements“ im Sinne großer Deletionen und Duplikationen eine wesentliche Rolle bei Keimbahnmutationen von MMR-Genen spielen (Nakagawa et al. 2003).

Keimbahnmutationen in hMSH2

Als erstes Gen wurde das hMSH2-Gen mit HNPCC in Verbindung gebracht (Leach et al. 1993). Das hMSH2-Gen ist 73 Kilobasen groß und besteht aus 16 Exons. Es ist auf Chromosom 2p22-p21 lokalisiert und kodiert für ein 934 Aminosäuren großes MSH2-Protein. MSH2 bildet mit MSH6 sowie mit MSH3 jeweils Heterodimere (MSH2/MSH6 und MSH2/MSH3). Diese entsprechen den Homologen für MutS α (MSH2/MSH6) und MutS β (MSH2/MSH3) in Bakterien und sind für den Start des MMR-System entscheidend. Während MutS α vor allem für die Reparatur von Basenfehlpaarungen und kleinen extrahelikalen Schleifen verantwortlich ist, repariert MutS β größere extrahelikale Schleifen. Da MSH2 Teil beider Heterodimeren ist, äußert sich ein

Mangel dieses Proteins in einem viel stärkeren Mutator-Phänotyp als ein Mangel an MSH6 oder MSH3.

Die Mutationen in hMSH2 stellen mit einem Anteil von ungefähr 37 % die zweithäufigsten Keimbahnmutationen bei HNPCC-Patienten dar (InSIGHT, Stand Oktober 2007). Das Mutationsspektrum beinhaltet vor allem Genomic Rearrangements, Frameshift- und Missense-Mutationen. Die meisten der bisher beschriebenen 191 genetischen Alterationen führen zu einem trunkierten Protein. Bei hMSH2 sind diese genetischen Veränderungen über die gesamte kodierende Region verteilt und zeigen nur andeutungsweise eine gewisse Häufung in einzelnen Exons (Woods et al. 2007).

Während trunkierende und Frameshift-Mutationen in der Regel als krankheitsverursachend anzusehen sind, handelt es sich bei den Missense-Mutationen um genetische Veränderungen, deren Krankheitswert primär nicht eindeutig zu interpretieren ist. Es sind weitere Studien nötig, um herauszufinden, ob es sich bei den Missense-Mutationen um neutrale Polymorphismen ohne Krankheitsbedeutung oder um klinisch relevante Veränderungen handelt.

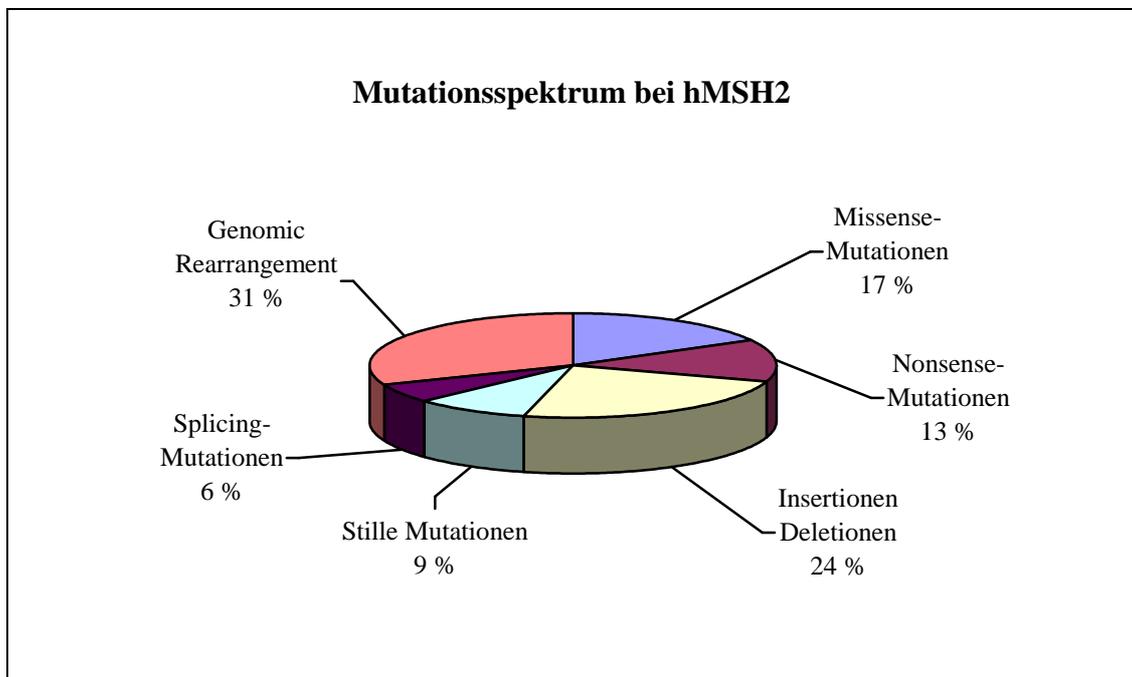


Abb. 6: Graphische Darstellung der prozentualen Verteilung der Mutationsarten bei hMSH2 (modifiziert nach Woods et al. 2007).

Keimbahnmutationen in hMLH1

Im Jahr 1994 wurde mit hMLH1 das zweite HNPCC verursachende Gen identifiziert. Das Gen ist auf Chromosom 3p21.3 lokalisiert, 58 Kilobasen groß und besteht aus 19 Exons, die für ein aus 756 Aminosäuren aufgebautes Protein kodieren. Das Protein MLH1 bildet mit PMS2 ein Heterodimer. MLH1/PMS2 stellt das humane Homolog zum prokaryoten MutL α dar. Eine Inaktivierung von hMLH1 führt zur Instabilität beider Proteine (Chang et al. 2000). Da MLH1 in Proteinen wie MLH3 und PMS1 noch andere Partner für eine Heterodimerisation findet, führt der Verlust von PMS2 im Heterodimerenkomplex nicht unbedingt auch zu einer Instabilität des MLH1-Proteins. Die bis Oktober 2007 durch InSIGHT beschriebenen 254 hMLH1-Mutationen stellen mit 49 % den größten Anteil der MMR-Keimbahnmutationen. Auch bei hMLH1 sind die gefundenen Mutationen, mit Ausnahme der Region um Exon 16 (54 genetische Alterationen), relativ gleichmäßig über das Gen verteilt.

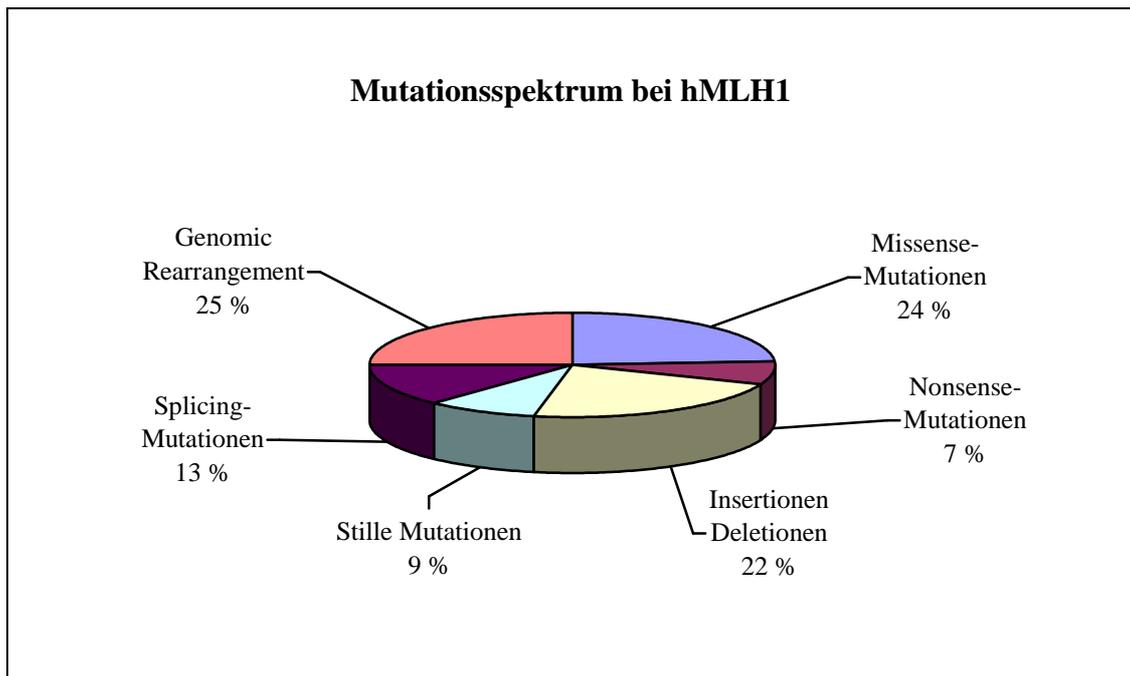


Abb. 7: Graphische Darstellung der prozentualen Verteilung der Mutationsrate bei hMLH1 (modifiziert nach Woods et al. 2007).

Keimbahnmutationen in hMSH6

Das hMSH6-Gen mit einer Größe von 27 Kilobasen auf Chromosom 2p16 besteht aus 11 Exons und kodiert für ein 1360 Aminosäuren grosses Protein.

Keimbahnmutationen in hMSH6 wurden zum ersten Mal im Jahr 1997 von Miyaki et al. und Akiyama et al. bei zwei japanischen atypischen HNPCC-Familien beschrieben, die beide keine Mutationen in hMSH2- und hMLH1-Genen aufwiesen. In den letzten Jahren ist die Zahl der identifizierten krankheitsauslösenden Mutationen im hMSH6-Gen ständig gestiegen und es sind aktuell 46 Mutationen bekannt (InSIGHT, Stand 2007).

Familien mit Keimbahnmutationen im hMSH6-Gen zeigen oft einen atypischen HNPCC-Phänotyp charakterisiert durch ein späteres Manifestationsalter, häufigere extrakolonischen Neoplasien, vermehrte Endometriumkarzinome und niedriggrade Mikrosatelliteninstabilitäten im Tumorgewebe (Akiyama et al. 1997, Miyaki et al. 1997).

Keimbahnmutationen in hPMS2

Das Gen hPMS2 umfasst 33 Kilobasen auf Chromosom 7p22, besteht aus 15 Exons und kodiert für ein 862 Aminosäuren großes Protein. PMS2 ist neben MLH1 der zweite Bindungspartner im Heterodimer MLH1/PMS2.

Die InSIGHT-Datenbank für Mutationen listet 12 verschiedene Mutationen für hPMS2 auf (Stand 2007). Neben drei Nonsense-Mutationen, zwei Genomic Rearrangements und einer Missense-Mutation besteht der größte Teil davon aus Frameshift-Mutationen (sechs Mutationen). Fast alle Mutationen führen somit zu trunkierten Proteinen. Fünf dieser Mutationen wurden bei Patienten mit dem Turcot-Syndrom beschrieben.

Die Suche nach weiteren hPMS2-Keimbahnmutationen wird durch eine große Zahl von hPMS2-Pseudogenen im menschlichen Genom erschwert. Mittlerweile wurden 15 verschiedene Pseudogen-Loci nahe dem hPMS2 auf Chromosom 7 identifiziert (Nicolaidis et al. 1994, De Vos et al. 2004, Nakagawa et al. 2004).

Keimbahnmutationen in hPMS1

Das hPMS1-Gen umspannt 13 Exons mit einer Größe von 161 Kilobasen auf Chromosom 2q31-q33 und kodiert für ein 932 Aminosäuren großes Protein.

Die einzige bis jetzt publizierte Keimbahnmutation von hPMS1 in einem kolorektalen Tumor ist eine Nonsense-Mutation. Obwohl PMS1 mit MLH1 ein Heterodimer bildet, ist es nicht an der Mismatch-Reparatur beteiligt (Raschle et al. 1999). Im selben Tumorgewebe konnte später auch eine hMSH2-Mutation aufgedeckt werden. Ein Verwandter dieses Patienten entwickelte ein KRK mit ebenfalls einer hMSH2-Mutation, jedoch ohne hPMS1-Mutation. Die Prädisposition für KRK scheint so in diesem Fall nicht mit hPMS1 sondern mit hMSH2 verknüpft zu sein.

Liu et al. (2001) untersuchten HNPCC-Familien, bei denen keine Mutationen in den hMLH1-, hMSH2- und hMSH6-Genen vorlagen. In allen Fällen konnte ebenfalls keine hPMS1-Keimbahnmutation identifiziert werden.

Keimbahnmutationen in hMLH3

Auf der Suche nach neuen, mit hMLH1 interagierenden Genen, neben den bereits bekannten hPMS1 und hPMS2, konnte hMLH3 identifiziert werden. Das Gen hMLH3 ist mit 13 Exons auf Chromosom 14q24.3 lokalisiert und kodiert für ein 1429 Aminosäure großes und 160 Kilodalton schweres Protein, welches mit MLH1 ein Heterodimer bildet (MutL γ).

Nach Angaben der InSIGHT-Datenbank für Mutationen waren bis Oktober 2007 16 krankheitsverursachende hMLH3-Mutationen bekannt. Das entspricht 3 % aller publizierten Gesamtmutationen bei MMR-Genen.

Die Rolle von hMLH3-Mutationen bei der Entwicklung von kolorektalem Krebs wird kontrovers diskutiert (Liu et al. 2003). Populationsstudien von Wu et al. (2001) und Liu et al. (2003) an HNPCC-Kollektiven unterstützen die Rolle von hMLH3-Mutationen bei der Entwicklung des Lynch-Syndroms. Man fand 16 Keimbahnmutationen in hMLH3, zwei Frameshift-Mutationen und ansonsten nur Missense-Mutationen mit unklarem Krankheitswert. Einige der hMLH3-Mutationen traten zusammen mit hMSH2-Mutationen auf. Der MSI-Status der Tumore mit hMLH3-Mutationen variierte von hochgradiger Mikrosatelliteninstabilität bis hin zu mikrosatellitenstabilen Tumoren (Wu et al. 2001, Liu et al. 2003). Drei andere Studien jedoch konnten die Rolle von hMLH3 bei kolorektalen Karzinomen nicht bestätigen (Loukola et al. 2000, Lipkin et al. 2001, Hienonen et al. 2003).

2.1.2 Muir-Torre-Syndrom

2.1.2.1 Beschreibung und klinische Charakteristika

Das 1967 (Muir et al. 1967) und 1968 (Torre 1968) erstmals beschriebene Muir-Torre-Syndrom (MTS) ist eine seltene Genodermatose, von der in der Literatur bis 1999 von Akhtar et al. (1999) nur 205 Fälle berichtet werden.

Gekennzeichnet ist diese Erkrankung durch das gemeinsame Auftreten eines Talgdrüsentumors, in 23 % der Fälle mit einem Keratoakanthom (Akhtar et al. 1999) und mindestens einem viszeralem Malignom ohne prädisponierende Faktoren. Die Talgdrüsentumore treten meist in multipler Zahl auf. Neben Epitheliomen und Karzinomen sind Adenome am Häufigsten. Unter den viszeralem Neoplasien sind gastrointestinale Neubildungen mit 61 % am Häufigsten vertreten. Davon sind circa 50 % KRK (Horenstein et al. 2007) und 22 % Urogenitaltumore (Akhtar et al. 1999). Ungefähr 15 % der weiblichen Patienten mit Muir-Torre-Syndrom entwickeln ein Endometriumkarzinom (Cohen et al. 1991). Weitere berichtete Manifestationen sind unter anderem intestinale Polypen (25 % der Fälle), Brustkrebs, Lymphome, Leukämie, Bronchialkarzinome, Chondrosarkome, Speicheldrüsentumore (Horenstein et al. 2007) und Morbus Bowen der Vulva (Stewart et al. 1977).

Die Hauttumore können einem internen Malignom vorausgehen (22 %), gleichzeitig auftreten (6 %) oder folgen (56 %) (Akhtar et al. 1999).

Der Manifestationsgipfel der Malignome liegt im Schnitt bei 53 Jahren (von mindestens 23 Jahren bis maximal 89 Jahren). Es sind beide Geschlechter davon betroffen mit einem Verhältnis Männer zu Frauen von 3:2 (Horenstein et al. 2007).

Die im Rahmen des MTS auftretenden Malignome haben einen geringeren Grad von Malignität und metastasieren seltener als vergleichbare Tumore außerhalb des MTS (Schwartz und Torre 1995, Ponti und Ponz de Leon 2005).

Die Charakteristika der kolorektalen Karzinome beim Muir-Torre-Syndrom entsprechen denen des HNPCC-Syndroms. Die Prädilektionsstelle des KRK bei MTS ist ebenfalls proximal der linken Kolonflexur und die Erstmanifestation der KRK erfolgt im Durchschnitt früher als bei sporadischen KRK (Cohen et al. 1991).

Lynch et al. stellte 1981 die Hypothese auf, dass das MTS eine phänotypische Variante des HNPCCs ist.

2.1.2.2 Molekulargenetik

Das Muir-Torre-Syndrom ist eine autosomal-dominante Erkrankung mit variabler Penetranz und unterschiedlichem Phänotyp (Ponti et al. 2005a).

Der Stammbaum einer italienischen Muir-Torre-Familie ist in Abbildung 8 dargestellt (Ponti et al. 2005c).

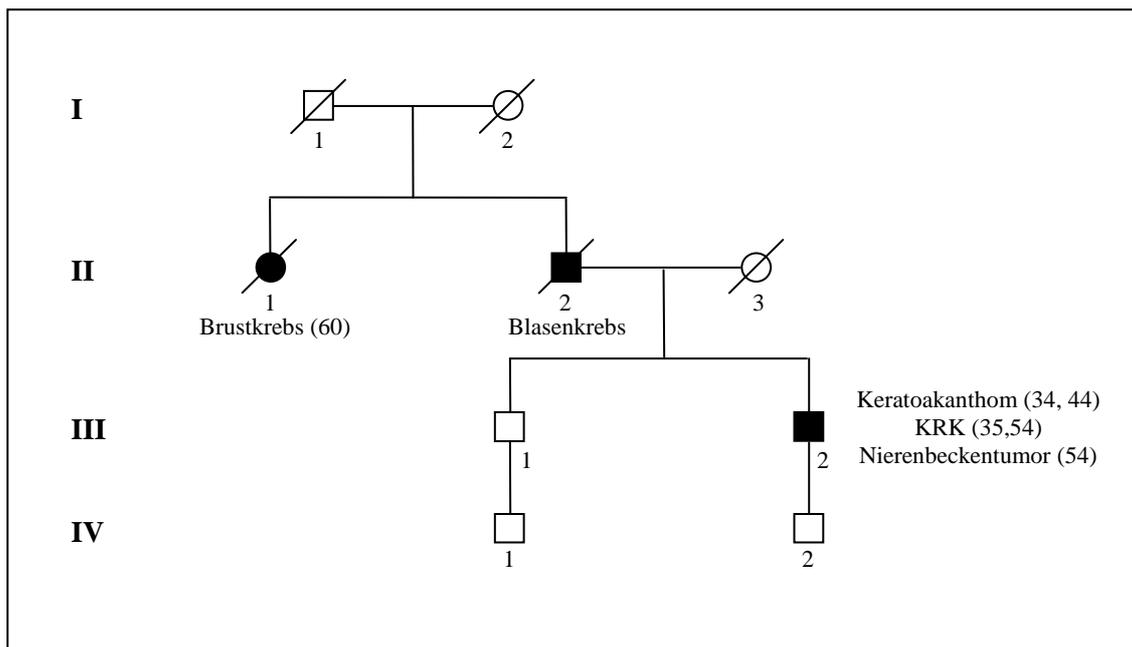


Abb. 8: Stammbaum einer Muir-Torre-Familie über vier Generationen (modifiziert nach Ponti et al. 2005c) mit Keratoakanthomen und viszeralen Karzinomen. Ausgefüllte Symbole zeigen Individuen mit MTS-assoziierten Tumoren. Die Zahl in Klammern gibt das Diagnosealter an. Molekulargenetisch konnte bei dem untersuchten Probanden III-2 in allen Tumorgeweben eine hMSH2-Mutation (Exon 13, Nukleotid 2131, Substitution C→T) dargestellt werden, die zu einem Stoppcodon führt und einen vorzeitigen Kettenabbruch zur Folge hat.

1994 wurde erstmals in einem KRK und einem Hauttumor eines MTS-Patienten eine für HNPCC typische Mikrosatelliteninstabilität gefunden (Honchel et al. 1994). Kruse et al. (1998) konnten bei 16 MTS-Patienten in den assoziierten Tumoren zu 100 % eine hohe genomische Instabilität (MSI-High) nachweisen. In anderen Studien (Honchel et al. 1994, Mark et al. 2000) wurde in MTS-assoziierten Neoplasien zu 46 % und 69 % eine MSI entdeckt.

Die Tatsache, dass einige MTS-Tumore mikrosatellitenstabil sind, lässt den Schluss zu, dass verschiedene molekulare Mechanismen an der Entstehung eines MTS beteiligt sind. Holbach et al. (2002) und Goldberg et al. (2006) konnten zeigen, dass an der Entstehung von periokulären Talgdrüsentumoren bei Muir-Torre-Syndrom neben der Inaktivierung des MMR-Systems mit verbundener Mikrosatelliteninstabilität (MSI) auch eine Inaktivierung des FHIT-Tumorsuppressorgens (Fragile Histidine Triad) bei Mikrosatellitenstabilität (MSS) eine Rolle spielt. Fong et al. (2000) berichteten von einem MTS-ähnlichen Tumorverteilungsmuster bei Ausfall des FHIT-Gens an kanzerogenexponierten Mäusen.

Aufgrund klinischer und biomolekularer Charakteristika äußerten Ponti und Ponz de Leon (2005) den Verdacht, dass das MTS in zwei verschiedenen Varianten auftreten kann:

- Typ 1 (Mikrosatelliteninstabil): Frühes Manifestationsalter, meist KRK, in der Familienanamnese gehäuft Malignome.
- Typ 2 (Mikrosatellitenstabil): Spätes Manifestationsalter, in der Familienanamnese Malignome seltener.

Im Jahr 1994 konnte zum ersten Mal eine Keimbahnmutation im MMR-Gen hMSH2 bei MTS-Erkrankten nachgewiesen werden (Hall et al. 1994). Kruse et al. (1996) deckten weitere hMSH2-Keimbahnmutationen bei MTS-Patienten auf und 1996 beschrieben Bapat et al. die erste Keimbahnmutation auf einem hMLH1 Locus bei MTS. Bis 2001 waren 22 Keimbahnmutationen in hMSH2- und hMLH1-Genen bei MTS dokumentiert (Kruse et al. 2001). 2007 wurden, in zwei Studien gleichzeitig, auch Keimbahnmutationen im MMR-Gen hMSH6 bei MTS dargestellt (Arnold et al. 2007, Mangold et al. 2007) und 2008 noch eine dritte hMSH6-Mutation entdeckt (Murphy et al. 2008). Alle drei dokumentierten hMSH6-Mutationen (zwei Nonsense-Mutationen und eine Frameshift-Mutation) führen zu einem vorzeitigen Kettenabbruch. Eine der Mutationen wurde zuvor schon bei HNPCC beschrieben (Verma et al. 1999).

Nach Angaben in der Literatur sind bei MTS zwischen 59 und 66 % Keimbahnmutationen in MMR-Genen nachweisbar (Mangold et al. 2004, Chhibber et al. 2008). Der größte Teil der identifizierten Keimbahnmutationen bei MTS liegt im

hMSH2-Gen. Die Angaben in der Literatur variieren dabei zwischen 86 und 93 %. Circa 11 % sind auf Keimbahnmutationen im hMLH1-Gen zurückzuführen und nur ein sehr geringer Teil auf Alterationen im hMSH6-Gen (Kruse et al. 1998, Mangold et al. 2004, Mangold et al. 2007). Einer kürzlich von Chhibber et al. (2008) durchgeführten Studie zufolge ist der Anteil an hMSH6-Mutationen bei MTS wesentlich höher als zuvor beschrieben.

Nach Kruse et al. (2001) handelt es sich bei den Mutationen bei MTS meistens um Frameshift- oder um Nonsense-Mutationen, die zu einem vorzeitigen Kettenabbruch führen, aber auch Genomisches Rearrangement durch große Deletionen wurden beschrieben (Barana et al. 2004).

Auch MTS-Patienten sind, wie HNPCC-Erkrankte, meist heterozygot in einem MMR-Gen. Die Inaktivierung des zweiten Allels erfolgt nach Kruse et al. (2001) nur selten durch Verlust der Heterozygotie (LOH).

Verschiedene Studien haben untersucht, mit welcher Häufigkeit das MTS unter HNPCC-Familien zu finden ist. Nach einer Studie von South et al. (2008) konnten in 14 von 50 Familien mit HNPCC-Syndrom auch MTS nachgewiesen werden. Ponti et al. (2006) fanden unter 57 HNPCC-Familien 5 Familien mit MTS (9 %). Diese Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass es sich bei MTS nicht um ein eigenständiges Syndrom, sondern um eine phänotypische Variante des HNPCC-Syndroms handelt.

2.1.3 Turcot-Syndrom

2.1.3.1 Beschreibung und klinische Charakteristika

Das Turcot-Syndrom (TS oder BTP für engl. brain tumor polyposis) ist eine 1959 erstmals beschriebene und nach dem kanadischen Chirurgen Jacques Turcot benannte seltene genetische Erkrankung, bei der es zum gehäuften Auftreten von kolorektalen Adenomen und Hirntumoren kommt (Hamilton et al. 1995).

Bis heute sind circa 150 Fälle eines Turcot-Syndroms in der Literatur beschrieben.

Eine Studie mit 25 Turcot-Patienten ergab, dass die Erkrankten im Durchschnitt mit 20,3 Jahren versterben. Die Haupttodesursache bei Turcot-Erkrankten ist zu 76 % ein Hirntumor und zu 16 % kolorektale Karzinome (Matsui et al. 1998).

Die Turcot-assoziierten zerebralen Tumore sind zu 61 % Gliome jeglicher Dignität und zu 25 % Medulloblastome. Es wurden auch Lymphome, Meningiome, Hypophysenadenome und Kraniopharyngeome beschrieben (Paraf et al. 1997). Die Hirntumore manifestieren sich meist in der zweiten Lebensdekade der Patienten (Durchschnittsalter 15 Jahre) und sind mit einer hohen Mortalität behaftet. Daher versterben viele Hirntumorpatienten, bevor andere Symptome des TS, wie die Entwicklung eines kolorektalen Karzinoms, klinisch relevant werden können.

Itho und Ohsato (1985) teilen die kolorektalen Adenome des TS in 3 Typen ein:

- Typ 1: Charakterisiert durch die Entwicklung multipler kolorektaler Adenome (20-100), einige über 3 cm im Durchmesser.
- Typ 2: Das Vorhandensein von weniger als 10 kolorektalen Adenomen.
- Typ 3: Die Ausbildung von zahlreichen kleinen kolorektalen Adenomen, ähnlich der klassischen FAP.

Nach Itho und Ohsato (1985) entarten die kolorektalen Adenome häufig in der zweiten oder dritten Lebensdekade zu kolorektalen Karzinomen.

2.1.3.2 Molekulargenetik

Das Vererbungsmuster beim Turcot-Syndrom ist sehr komplex. Es werden sowohl autosomal-dominante (Hamilton et al. 1995) wie auch autosomal-rezessive (De Rosa et al. 2000, De Voss et al. 2004) Fälle in der Literatur beschrieben.

Molekulargenetisch lässt sich das Turcot-Syndrom in 2 Gruppen unterteilen (Paraf et al. 1997):

- Gruppe 1: Es sind Mutationen im Tumorsuppressorgen APC nachweisbar (analog der Familiären Adenomatösen Polyposis, FAP).
- Gruppe 2: Es sind Mutationen in Mismatch-Reparaturgenen nachweisbar (analog dem Hereditären Nichtpolypösen Kolorektalen Karzinom, HNPCC).

Mutationen im APC-Gen sind zu 75 % bei Turcot-Erkrankten nachweisbar und führen vor allem zu Medulloblastomen bei Kindern. In den restlichen Fällen zeigen sich Mutationen in MMR-Genen verantwortlich, die vorwiegend mit Gliomen assoziiert sind (Hedge et al. 2005).

Während Turcot-Erkrankte mit APC-Mutationen heterozygot sind, weisen Turcot-Patienten mit MMR-Defekten vor allem homozygote oder gemischt (engl. compound) heterozygote Defekte auf.

Miyaki et al. (1997) konnten zeigen, dass Turcot-Tumore auch eine Mikrosatelliteninstabilität aufweisen, wie sie bei HNPCC-Tumoren beschrieben sind. Allerdings lässt sich, im Gegensatz zu HNPCC-Patienten, auch im gesunden Gewebe von Turcot-Patienten eine sehr hohe genomische Instabilität nachweisen.

Hamilton et al. (1995) untersuchten in einer ersten großen Studie zum Turcot-Syndrom 14 betroffene Familien. Sie konnten bei 10 Familien Keimbahnmutationen im APC-Gen nachweisen, während 2 Familien Keimbahnmutationen in hMLH1- und hPMS2-Genen zeigten. Die Stammbäume dieser beiden Familien sind in Abbildung 9 dargestellt.

Der erste Fall einer homozygoten Keimbahnmutation im hMSH2-Gen beim TS wurde 2002 von Whiteside et al. bei einem 2-jährigen Patienten mit Leukämie und multiplen Café-au-lait-Flecken beschrieben. Auch Bougeard et al. (2003) berichteten in 2 Fällen von gemischt-heterozygoten Mutationen bei hMSH2-Genen im Zusammenhang mit dem Turcot-Syndrom. Inzwischen sind auch homozygote und gemischt-heterozygote

Keimbahnmutationen im hMSH6-Gen bei Turcot-Patienten entdeckt worden (Menko et al. 2004, Hedge et al. 2005, Ostergaard et al. 2005).

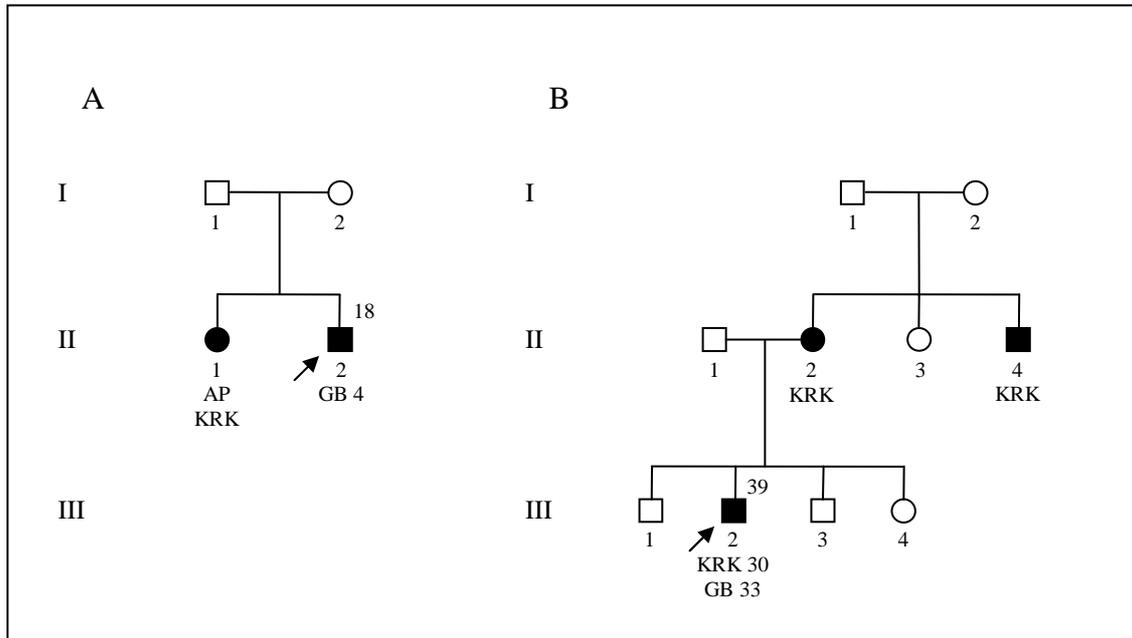


Abb. 9: Stammbäume zweier Turcot-Syndrom-Familien mit Keimbahnmutationen in den MMR-Genen hPMS2 und hMLH1 (modifiziert nach Hamilton et al. 1995).

Stammbaum A zeigt den Patienten II-2 mit einer hPMS2-Keimbahnmutation, deren Grundlage eine Nonsense-Mutation in Codon 134 ist. Stammbaum B zeigt den Patienten III-2 mit einer hMLH1-Keimbahnmutation durch Deletion in Codon 618. Unterhalb des Symbols sind die Primärtumore mit Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung aufgeführt (falls bekannt). Die Zahlen rechts oberhalb geben das momentane Alter an (AP = adenomatöse Polyposis, CRK = kolorektales Karzinom, GB = Glioblastom).

2.1.4 MMR-D-Syndrom

2.1.4.1 Beschreibung und klinische Charakteristika

In den letzten Jahren wird in der Literatur vermehrt über eine neue hereditäre Krebsprädispositionserkrankung bei Kindern berichtet, welche auf eine biallelische Keimbahnmutation in MMR-Genen zurückzuführen ist.

Dieses neue Syndrom wurde 2004 von De Vos erstmals unter dem Namen „Childhood Cancer Syndrom“ (CCS) beschrieben. Später kam der Ausdruck „CoLoN“ (für Colon Tumor und/oder Leukämie/Lymphom und/oder Neurofibromatose-Merkmale) (Bandipalliam 2005) und der Begriff des „Mismatch-Repair-Deficiency-Syndroms“ (MMR-D) (Scott et al. 2007) hinzu. Felton et al. schließlich schlugen 2007 als neuen Terminus für dieses Syndrom, in Anlehnung an das HNPCC-Syndrom, den Begriff „Lynch III“ vor.

In dieser Arbeit wird für dieses Krankheitssyndrom einheitlich der Terminus „Mismatch-Repair-Deficiency-Syndrom“ (MMR-D) verwendet.

Das MMR-D-Syndrom ist gekennzeichnet durch das frühe Auftreten von Hirntumoren und hämatologischen Neoplasien, sowie von gastrointestinalen Tumoren (vor allem das kolorektale Karzinom), die oft assoziiert sind mit Neurofibromatose Typ 1-Merkmalen (Felton et al. 2007).

Das Tumorspektrum sowie das Manifestationsalter der Neoplasien scheinen abhängig von der Schwere der MMR-Mutation zu sein (Krüger et al. 2008):

- Biallelische Keimbahnmutationen in MMR-Genen, die einen vollständigen Ausfall der Proteinproduktion zur Folge haben, führen vor allem zu Hirntumoren und hämatologischen Neoplasien in der ersten Lebensdekade.
- Biallelische Keimbahnmutationen in MMR-Genen, die eine Restfunktion der Proteine zulassen, zeigen ein breiteres Tumorspektrum mit zusätzlichen gastrointestinalen Tumoren in der zweiten bis vierten Lebensdekade sowie Hautveränderungen (vor allem Café-au-lait Flecken).

Bisher wurden in der Literatur bei etwa 50 Individuen aus circa 30 Familien ein MMR-D-Syndrom beschrieben (Felton et al. 2007, Krüger et al. 2008). Das durchschnittliche

Manifestationsalter der Erkrankung liegt bei 9 Jahren mit einer Spanne von 1-24 Jahren (Krüger et al. 2008). Krüger et al. (2008) stellten in einer Studie 64 Neoplasien von 49 Erkrankten aus 25 Familien mit einer biallelischen MMR-Keimbahnmutation gegenüber (siehe Tabelle 5).

Tab. 5: Tumorspektrum mit Angaben zur Häufigkeit der Neoplasien und mittleres Manifestationsalter beim MMR-D-Syndrom in 25 betroffenen Familien (modifiziert nach Krüger et al. 2008).

Tumorspektrum	betroffene Familien (Häufigkeit in %)	mittleres Manifestationsalter (Altersspanne min-max)
Hirntumore	17 (68 %)	7 (2-24)
Hämatologische Neoplasien	15 (60 %)	5 (1-17)
Gastrointestinale Tumore	12 (48 %)	13 (8-22)
Extrakolonische HNPCC-assoziierte Tumore	2 (8 %)	23 (15-23)

Am Häufigsten treten Hirntumore (vor allem Gliome) auf, gefolgt von hämatologischen Neoplasien wie Leukämien oder Lymphome. Unter den gastrointestinalen Tumoren führen die kolorektalen Karzinome mit einem Anteil von 50 %. Diese entwickeln sich vor allem als Zweittumore bei Individuen, die die zweite Lebensdekade erreichen. Sie sind oft von zahlreichen Polypen begleitet und entstehen im Durchschnitt zwei Jahrzehnte früher als bei monoallelischen HNPCC-Trägern (Scott et al. 2007, Krüger et al. 2008). Kolorektale Karzinome manifestieren sich selten in der Kindheit. Treten sie dennoch dort auf, sollte immer an die Möglichkeit einer biallelischen Mutation in MMR-Genen gedacht werden.

Extraintestinale HNPCC-assoziierte Neoplasien (wie Endometriumkarzinome oder Ovarialkarzinome) sind sehr selten und manifestieren sich vorwiegend im dritten Lebensjahrzehnt. Typisch sind auch Hautveränderungen ähnlich einer Neurofibromatose Typ 1 (NF1), insbesondere Café-au-lait Flecken, die nicht bei HNPCC zu finden sind.

In Abhängigkeit der betroffenen MMR-Gene haben monoallelische HNPCC-Erkrankte ein unterschiedliches Risiko in Bezug auf die Schwere der Erkrankung und auf das Tumorspektrum. Demgegenüber sind die MMR-D-Patienten mit ihren unterschiedlichen biallelischen MMR-Mutationen alle gleich gefährdet (Rahman und Scott 2007).

Eine Ausnahme bilden hier supratentoriale neuroektodermale Tumore, die nur bei Kindern mit einer biallelischen hPMS2-Mutation auftraten (De Vos et al. 2006).

Die Diagnose eines MMR-D Syndroms gestaltet sich als sehr schwierig. Sie wird oft falsch zu Gunsten einer Neurofibromatose Typ 1 oder überhaupt nicht gestellt, da die Patienten meistens erkranken, bevor bei ihren Eltern ein HNPCC diagnostiziert wird (Rahman und Scott 2007).

2.1.4.2 Molekulargenetik

Das MMR-D-Syndrom wird autosomal-rezessiv vererbt und die Erkrankten zeigen eine biallelische (homozygote oder compound heterozygote) Keimbahnmutation in den MMR-Genen hMLH1, hMSH2, hMSH6 oder hPMS2.

Seit Mitte der 90er Jahre ist bekannt, dass heterozygote Keimbahnmutationen in MMR-Genen zum HNPCC-Syndrom führen. Aber erst im Jahr 2004 wurden auch biallelische Mutationen in den MMR-Genen entdeckt (De Vos et al. 2004, Menko et al. 2004).

Während bei HNPCC-Trägern vor allem die Gene hMLH1 und hMSH2 betroffen sind, zeigt sich beim MMR-D-Syndrom ein anderes Verteilungsmuster der verursachenden MMR-Gene (siehe Tabelle 6). Bis jetzt liegen zwei große Studien vor, die die in der Literatur dargestellten biallelischen Keimbahnmutationen in den MMR-Genen zusammenfassen (Felton et al. 2007, Krüger et al. 2008). Felton et al. (2007) beschreiben 50 Individuen aus 30 Familien, während Krüger et al. (2008) 49 Individuen aus 25 Familien mit biallelischen Mutationen beleuchten (siehe Tabelle 6).

Tab. 6: Anzahl der betroffenen Familien und Individuen, mittleres Manifestationsalter (mMA) mit Altersspanne (AIS) und Anzahl der Neoplasien bei biallelischen MMR-Keimbahnmutationen (Felton et al. 2007, Krüger et al. 2008).

MMR-Gene	betroffene Familien (Individuen)		Krüger et al. 2008	
	Felton et al. 2007	Krüger et al. 2008	mMA (AIS min-max)	Anzahl der Neoplasien
hMLH1	10 (16)	7 (12)	4 (1-22)	11
hMSH2	3 (5)	2 (3)	2 (1-3)	3
hMSH6	6 (8)	4 (6)	9 (3-13)	12
hPMS2	11 (21)	12 (28)	12 (2-24)	38

Insgesamt weisen 42 % der Familien biallelische hPMS2-Mutationen auf. Ein Grund für diesen hohen Anteil ist eine identifizierte Founder-Mutation, eine genetische Veränderung, die über viele Generationen weitergeben wurde. Diese Mutation (Arg802Stop, homozygot) konnte bei fünf Familien dargestellt werden und führt zu einem vorzeitigen Kettenabbruch, der ein nicht funktionsfähiges PMS2-Protein zur Folge hat (Felton et al. 2007, Krüger et al. 2008).

Das jüngste durchschnittliche Erkrankungsalter findet sich bei biallelischen hMLH1- und hMSH2-Mutationen, gefolgt von Mutationen in hMSH6 und hPMS2. Dies spiegelt die Altersverteilung von heterozygoten HNPCC-Patienten wider, nur 35 Jahre früher (siehe Tabelle 6).

Homozygote Keimbahnmutationen lagen bei etwa 66 % der Familien vor. Innerhalb derer war ein hoher Anteil an Blutsverwandtschaften oder Verbindungen mit gleichem ethnischen/religiösen Hintergrund festzustellen. Die übrigen Familien (34 %) waren compound heterozygote Mutationsträger mit zwei verschiedenen MMR-Keimbahnmutationen (Felton et al. 2007, Krüger et al. 2008).

Bis jetzt liegt kein Beweis vor, dass sich das Mutationsspektrum von monoallelischen und biallelischen Mutationsträgern unterscheidet.

Bei biallelischen MMR-Keimbahnmutationen lässt sich in der Tumor-DNA zu circa 75 % eine Mikrosatelliteninstabilität nachweisen (Felton et al. 2007). Während im angrenzenden nicht-neoplastischen Gewebe biallelischer Träger noch teilweise eine MSI und eine fehlende Proteinexpression gefunden wird, ist in gesundem Gewebe monoallelischer HNPCC-Erkrankter keine MSI-H nachweisbar (Felton et al. 2007, Krüger et al. 2008).

Ein typischer Stammbaum einer MMR-D-Syndrom-Familie ist in Abbildung 10 dargestellt. In der siebten Generation einer türkischstämmigen Familie waren alle vier Kinder (VII-2 bis VII-5) homozygot für die p.I590sX594-Mutation im Gen hPMS2. Die Sequenzierung von hPMS2 deckte eine Deletion eines Adenins in Exon 11 auf (c.1768delA), die zu einem vorzeitigen Stoppcodon vier Triplets stromabwärts führt und ein verkürztes Protein zur Folge hat. Beide blutsverwandte, gesunde Elternteile (VI-6 und VI-7) waren heterozygot für die Mutation (siehe Abbildung 10) (Krüger et al. 2008).

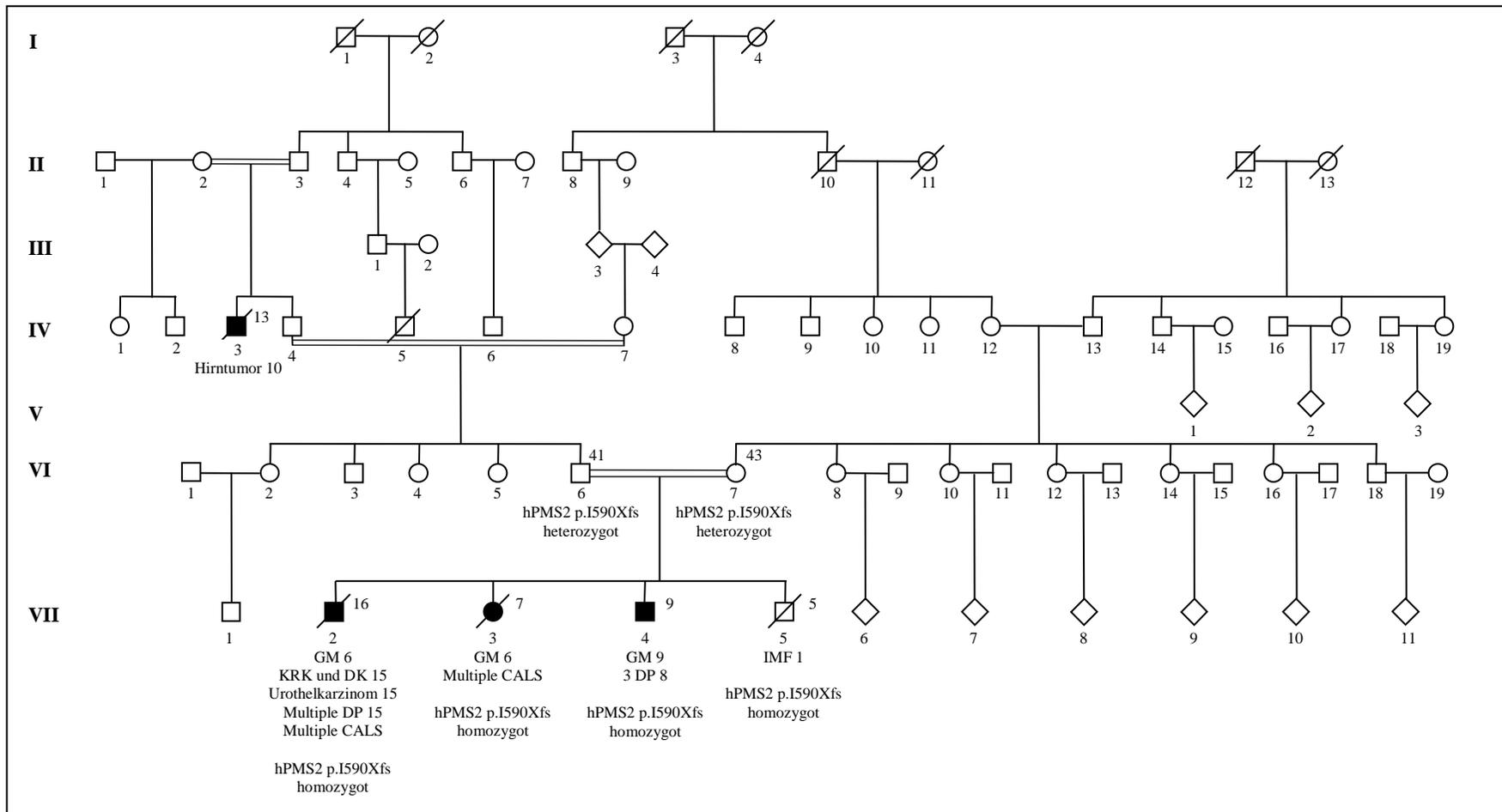


Abb. 10: Stammbaum einer MMR-D-Syndrom-Familie türkischer Herkunft über 7 Generationen (modifiziert nach Krüger et al. 2008). Ausgefüllte Symbole zeigen Individuen mit MMR-D-assoziierten Tumoren (GM = Glioblastom multiforme, KRK = kolorektales Karzinom, DK = Dünndarmkarzinom). Die Zahlen rechts oberhalb geben das momentane Alter bzw. das Sterbealter an (DP = Darmpolypen, CALS = Café-au-lait-Spots, IMF 1= Infantile Myofibromatose Typ 1).

2.2 Epigenetische Mechanismen in DNA-Reparaturgenen

Der Begriff der Epigenetik wurde 1940 von Waddington eingeführt (Waddington 1940). Unter Epigenetik versteht man die Regulation der Aktivität von Genen über den Organisationszustand der DNA. Epigenetische Veränderungen sind, anders als genetische Mechanismen, nicht auf Abweichungen in der DNA-Sequenz zurückzuführen, sondern sind Folge einer vererbaren Änderung der Genregulation und Genexpression (Strachan und Read 2005). Die bekanntesten epigenetischen Prozesse sind DNA-Methylierung, Histonmodifikation und Genomisches Imprinting.

Die Methylierung von DNA erfolgt vorwiegend an Cytosin-Guanin-Dinukleotiden (CpG), die gehäuft in CpG-reichen DNA-Sequenzabschnitten (CpG-Inseln) auftreten. Diese CpG-Inseln sind meist in regulatorischen Bereichen (z.B. Promotoren) von Genen lokalisiert. Durch Methyltransferasen wird kovalent eine Methylgruppe auf die Base Cytosin übertragen, was zur Bildung von 5-Methyl-Cytosin führt.

Fehler in epigenetischen Mechanismen, sogenannte Epimutationen (Holliday 1987), können durch Hypomethylierung zur irrtümlichen Aktivierung eines stummen Gens oder durch Hypermethylierung zur fälschlichen Inaktivierung eines aktiven Gens führen. Epimutationen werden bei einer ganzen Reihe verschiedener Erkrankungen, so auch bei Tumorerkrankungen, beobachtet (Jones und Baylin 2002). Feinberg und Vogelstein konnten 1983 zum ersten Mal eine veränderte DNA-Methylierung in Tumorzellen nachweisen. Seitdem wurde vielfach demonstriert, wie epigenetische Mechanismen Krebsgene aktivieren (Protoonkogene) oder inaktivieren (Tumorsuppressorgene und DNA-Reparaturgene) können (Baylin et al. 1986, Greger et al. 1989, Suter et al. 2004). Die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen durch Hypermethylierung von CpG-reichen Promotoren ist in der Karzinogenese ein häufiges Ereignis (siehe Abbildung 11).

Während genetische Veränderungen von einer Generation auf die nächste vererbt werden, sind epigenetische Modifikationen relativ instabil. Ursache hierfür ist eine epigenetische Umprogrammierung während der Entwicklung der Keimzellen, die zu einer „Ausradierung“ des Epigenotyps führt. Es gibt aber auch Fälle einer transgenerationalen Vererbung des epigenetischen Status (Morgan et al. 1999, Rakyan et al. 2003). Treten Epimutationen in der Keimbahn auf, sind sämtliche Zellen des

Individuums betroffen. Treten sie hingegen erst nach der Fertilisation auf, kann ein somatisches Mosaik entstehen.

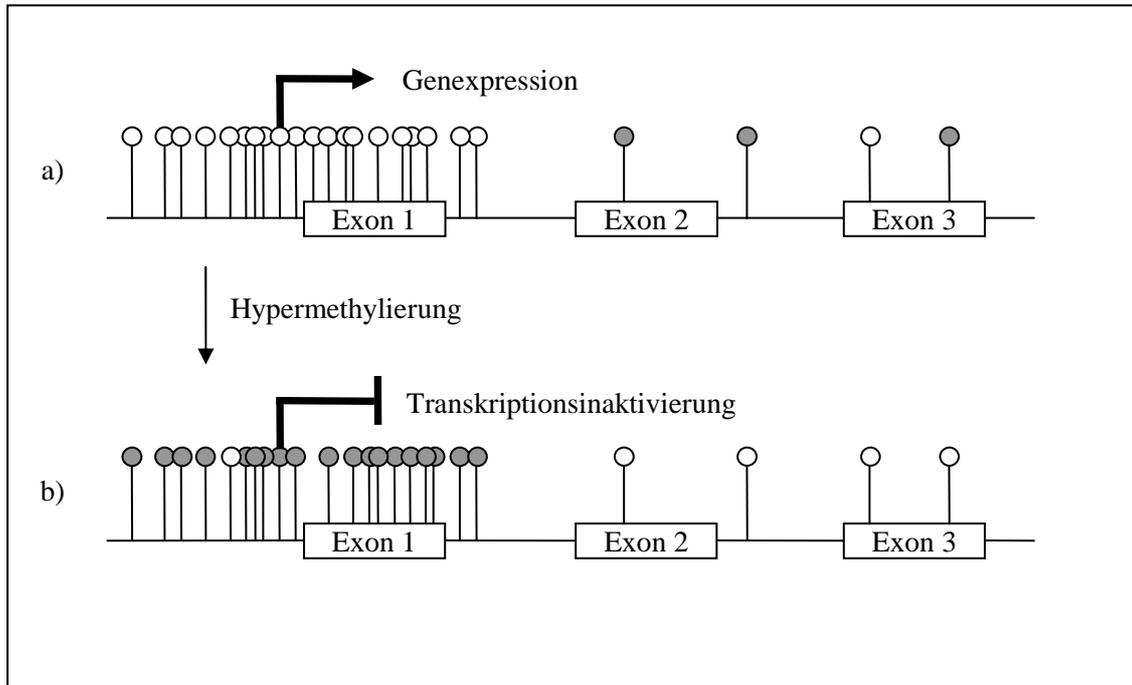


Abb. 11: Graphische Darstellung eines typischen Gens mit CpG-Insel.

In a) ist eine Genexpression möglich, da die CpG-Inseln in der Promotorregion nicht methyliert sind (weiße Kreise). In b), einer Krebszelle, sind die CpG-Sequenzen am Promotor hypermethyliert (graue Kreise) und somit ist die Genexpression inaktiviert (modifiziert nach Jacinto und Esteller 2007).

Bei hereditären kolorektalen Tumoren wird in einigen Fällen eine Inaktivierung von den DNA-Reparaturgenen hMLH1, hMSH2 und MGMT durch verstärkte Hypermethylierung von CpG-reichen Sequenzen am Promotor beobachtet.

2.2.1 hMLH1

MMR-defekte Tumore, wie das kolorektale Karzinom, können aufgrund von Keimbahnmutationen in MMR-Genen entstehen oder durch somatische Mutationen in diesen Genen hervorgerufen werden. Circa 15 % der sporadischen kolorektalen Karzinome mit mikrosatelliteninstabilen Tumoren sind in den meisten Fällen auf eine Epimutation zurückzuführen, nämlich einer Inaktivierung des hMLH1-Gens durch Promotorhypermethylierung.

Seit ein paar Jahren gibt es vermehrt Hinweise, dass eine hMLH1-Promotor-methylierung auch bei hereditären kolorektalen Karzinomen im Sinne einer Keimbahnmutation in allen Körperzellen vorkommt, und somit eine Vererbung des pathologischen Methylierungsmusters auf die Nachkommenschaft denkbar wäre.

In Abbildung 12 ist die Promotorregion des hMLH1-Gens graphisch dargestellt.

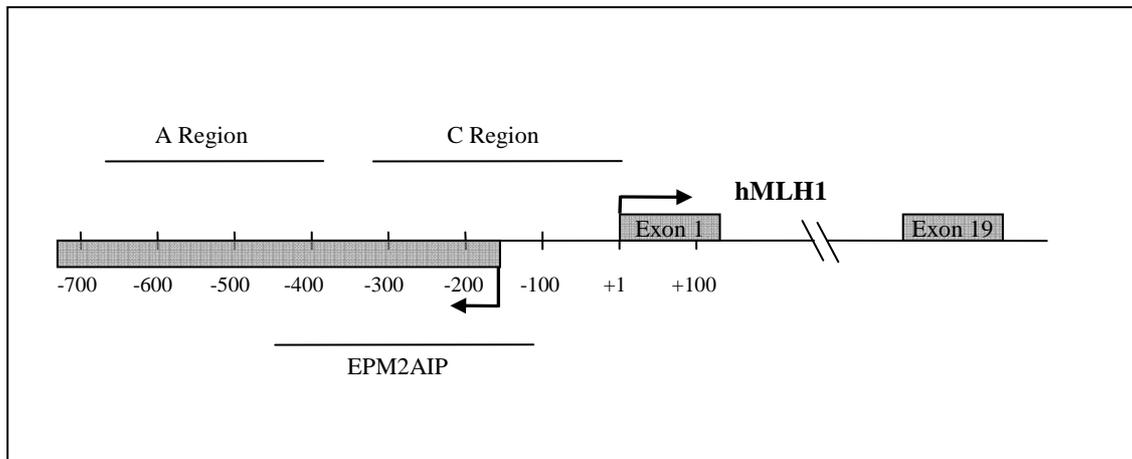


Abb. 12: Graphische Darstellung der hMLH1- und antisense EPM2AIP-Promotorregionen des hMLH1-Gens. Der Transkriptionsstartpunkt ist mit +1 bezeichnet (modifiziert nach Hitchins et al. 2007).

Gazzoli et al. (2002) berichteten zum ersten Mal über Keimbahnmethylierungen CpG-reicher Sequenzen in Promotorregionen des hMLH1-Gens bei einem HNPCC-Patienten mit MSI-Tumor und MLH1-Expressionsausfall, jedoch ohne einer nachweisbaren Keimbahnmutation in MMR-Genen.

Bis jetzt sind in der Literatur 14 Fälle einer Keimbahnmethylierung des hMLH1-Promotors beschrieben worden. Tabelle 7 gibt einen Überblick über die publizierten Studien.

Tab. 7: Veröffentlichungen zum Thema „Keimbahnmethylierungen in hMLH1-Promotorregionen bei Karzinomen“, mit Anzahl der beschriebenen Individuen, der Tumorart und mit Angaben zur Vererbung der Epimutation ("-" bedeutet Epimutation in den Keimzellen bzw. Vererbung nicht nachweisbar, "+" nachweisbar).

Autoren (Jahr der Veröffentlichung)	Anzahl der Individuen	Art der Tumore	Keimzellen/ vererbte Epimutation
Gazzoli et al. (2002)	1	HNPCC-assoziiert	-
Suter et al. (2004)	2	KRK, Endometrium-Ca	+
Miyakura et al. (2004)	4	KRK, Endometrium-Ca	-
Hitchins et al. (2005)	1	KRK	-
Hitchins et al. (2007)	2	Endometrium-Ca, KRK	+
Valle et al. (2007)	1	Lippen-Ca, KRK	-
Görgens et al. (2007)	2	HNPCC-assoziiert	-
Morak et al. (2008)	1	HNPCC-assoziiert	-

Bisher wurden nur in zwei Studien eine Epimutation in den Keimzellen bzw. eine vererbte Epimutation beschrieben (Suter et al. 2004, Hitchins et al. 2007).

Suter et al. (2004) berichteten über zwei Individuen, die eine allelspezifische Hypermethylierung des hMLH1-Gens in allen Körperzellen aufwiesen. Bei einem Individuum (siehe Abbildung 13, Stammbaum A, II-2) konnte die Epimutation zusätzlich in 1 % seiner Spermatozoen nachgewiesen werden. In diesem Fall wäre eine Vererbung der Epimutation auf die nächste Generation möglich.

Hitchins et al. (2007) beschrieben zum ersten Mal eine transgenerationelle Vererbung einer Keimbahnmethylierung des hMLH1-Promotors. Diese Epimutation wurde von einer Frau mit multiplen Primärtumoren (u.a. auch zwei KRK) auf einen ihrer vier Söhne vererbt (siehe Abbildung 13, Stammbaum B, I-3). Die Epimutation konnte im Gewebe aller drei Keimblätter (Mundschleimhaut = Endoderm, Blut = Mesoderm, Haarfollikel = Ektoderm) des Sohnes (Individuum II-2) nachgewiesen werden. In

dessen Spermatozoen konnte die Epimutation jedoch nicht mehr dargestellt werden. Es ist anzunehmen, dass das Methylierungsmuster während der Spermatogenese ausgelöscht und anschließend neu angelegt worden ist.

Die Stammbäume beider Individuen sind in Abbildung 13 dargestellt.

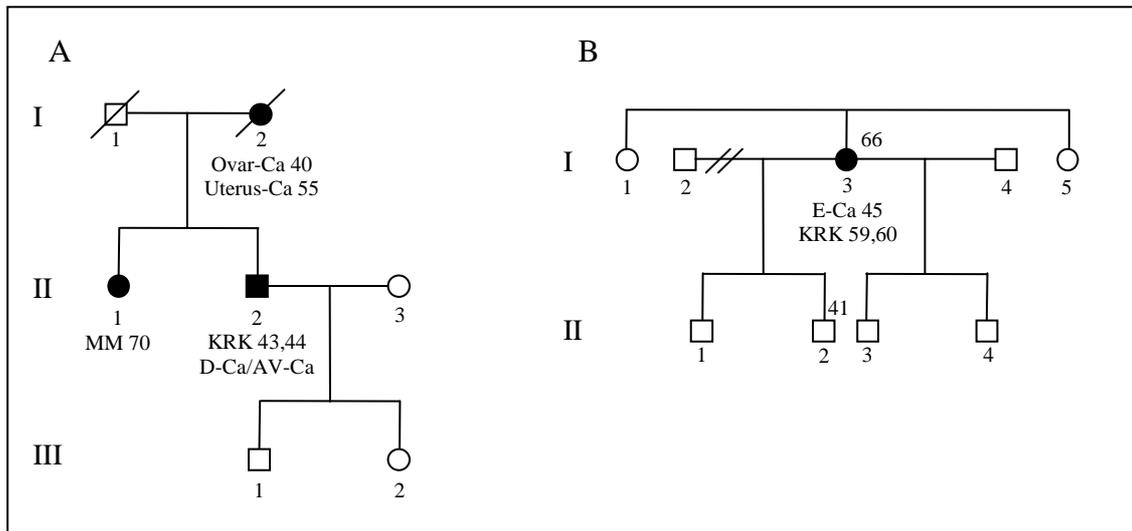


Abb. 13: Stammbäume zweier Individuen mit einer nachgewiesenen Epimutation in den Spermatozoen (A) bzw. einer vererbten Epimutation (B) (modifiziert nach Suter et al. 2004 und Hitchins et al. 2007). Stammbaum A zeigt den Tumorpatienten II-2 mit einer Keimbahnmethylierung des hMLH1-Gens und Nachweis der Epimutation in einem Teil seiner Spermatozoen (MM = Multiple Myelome, KRK = kolorektales Karzinom, D-Ca = Dünndarmkarzinom, AV-Ca = Ampulla Vateri-Karzinom). Stammbaum B zeigt die Tumorpatientin I-3 mit einer Keimbahnmethylierung der hMLH1-Promotorregion und die maternale Transmission dieser Epimutation auf Sohn II-2 (E-Ca = Endometriumkarzinom).

Der Funktionsverlust des hMLH1-Gens bei einer Keimbahnmethylierung folgt im Wesentlichen der Knudson-Theorie, das heißt nach der Abschaltung des ersten Allels durch eine epigenetische Modifikation wird das zweite Allel in den meisten beschriebenen Fällen durch einen Verlust der Heterozygotie (LOH) inaktiviert (Suter et al. 2004, Valle et al. 2007).

In den meisten der in Tabelle 7 aufgeführten Fälle ist die Familienanamnese der betroffenen Personen mit einer Keimbahnmethylierung des hMLH1-Gens bezüglich einer Krebserkrankung unauffällig.

Abbildung 14 zeigt den Stammbaum eines Patienten (III-1) mit einem Methylierungsmuster in der Promotorregion des hMLH1-Gens, der in einer Studie von Valle et al.

(2007) beschrieben worden ist. Weder bei seinen Eltern noch bei drei seiner untersuchten Geschwister konnte die Epimutation dargestellt werden. Doch auch hier konnte die epigenetische Veränderung im Gewebe aller drei Keimblätter nachgewiesen werden, was auf einen frühen Ursprung der Epimutation in der Keimbahn schließen lässt.

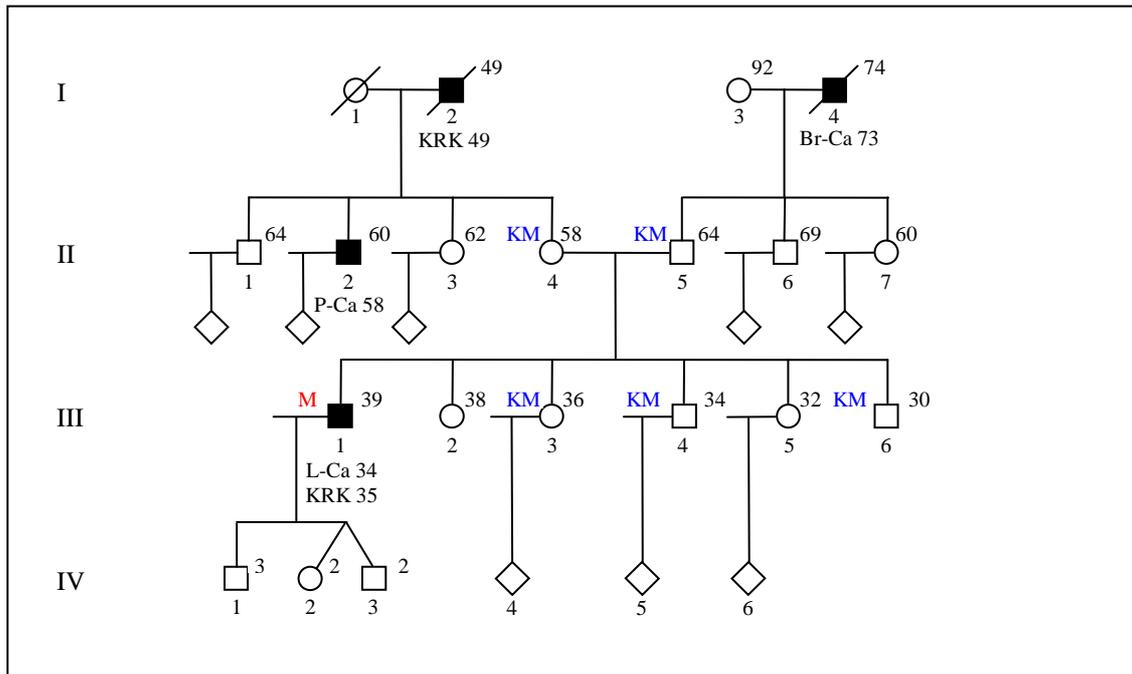


Abb. 14: Stammbaum eines Individuums (III-1) mit Hypermethylierung des hMLH1-Promotors in der Keimbahn (modifiziert nach Valle et al. 2007). Unterhalb des Symbols ist der Primärtumor mit dem Alter zum Zeitpunkt der Diagnose aufgeführt. Die Zahlen rechts oberhalb des Symbols geben das momentane Alter bzw. das Sterbealter an. Buchstabe **M** links oberhalb des Symbols bedeutet nachweisbare hMLH1-Promotormethylierung in der Keimbahn, **KM** keine hMLH1-Promotormethylierung nachweisbar, getestet in Blutzellen und Mundschleimhaut (KRK = Kolorektales Karzinom, Br-Ca = Bronchialkarzinom, P-Ca = Prostatakarzinom, L-Ca = Lippenkarzinom).

Obwohl hMLH1-Keimbahnmethylierungen sehr selten auftreten und noch nicht oft beschrieben worden sind (siehe Tabelle 7), wird eine Analyse bei einem bestimmten Patientengut in vielen Studien als sinnvoll erachtet (Suter et al. 2004, Görgens et al. 2007, Hitchins et al. 2007, Valle et al. 2007). Folgende Kriterien sollten erfüllt sein: Frühes Manifestationsalter eines KRK, MSI-Tumor, MLH1-Expressionsausfall und keine Keimbahnmutation im hMLH1-Gen nachweisbar.

2.2.2 hMSH2

Während die Promotormethylierung von hMLH1 bei sporadischen kolorektalen Karzinomen ein oft beobachtetes Phänomen ist und inzwischen auch einige Fälle von Keimbahnmethylierungen in hMLH1-Promotorregionen dargestellt worden sind (siehe 2.2.1), wurde bis jetzt in der Literatur nur ein einziger Fall einer vererbten Keimbahnmethylierung des hMSH2-Promotors beschrieben (Chan et al. 2006).

Chan et al. (2006) berichten über eine Familie mit HNPCC, die eine vererbare Keimbahnmethylierung im hMSH2-Gen aufweist, welche über drei Generationen nachweisbar ist. Ein Stammbaum dieser Familie ist in Abbildung 15 dargestellt.

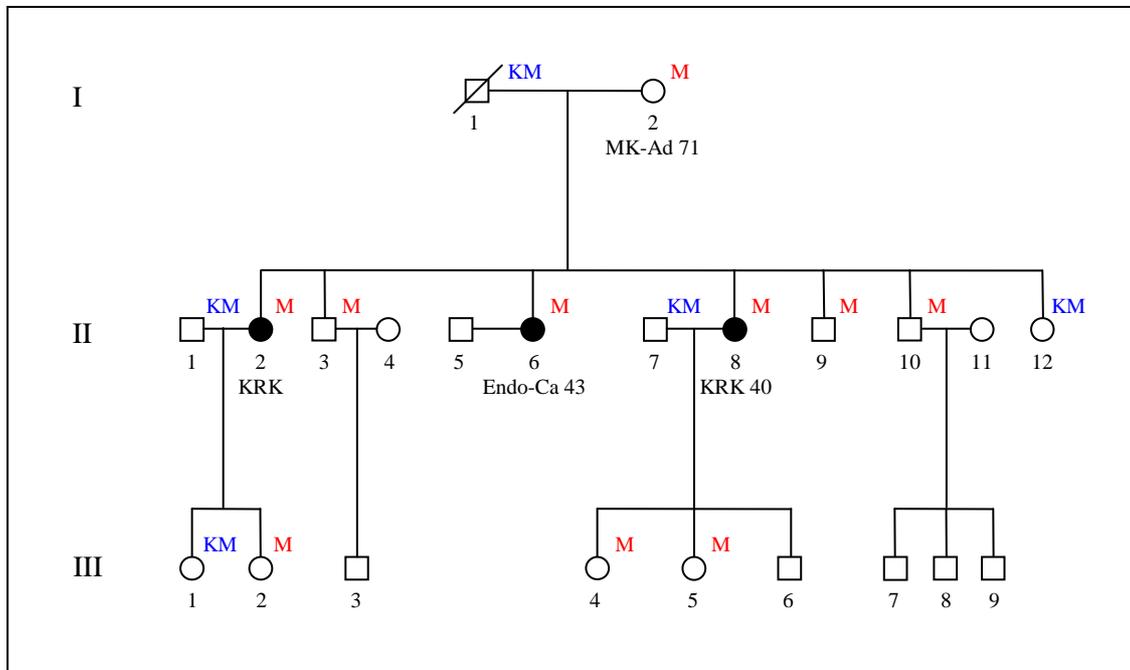


Abb. 15: Stammbaum einer Familie mit einer hMSH2-Promotormethylierung in der Keimbahn über drei Generationen (modifiziert nach Chan et al. 2006). Bei zehn Familienmitgliedern konnte die Epimutation nachgewiesen werden (M), zwei Geschwister zeigten keine Methylierung (KM). Drei Geschwister (II-2, II-6 und II-8) entwickelten früh ein KRK oder HNPCC-assoziierte Tumore (MK-Ad = Multiple kolorektale Adenome, KRK = kolorektales Karzinom, Endo-Ca = Endometriumkarzinom).

12 Familienmitglieder (I-2, II-2, II-3, II-6, II-8, II-9, II-10, II-12, III-1, III-2, III-4, III-5) und die Ehemänner von Individuum II-2 und II-8 wurden auf ihren Methylierungsstatus hin (in Leukozyten und in gesunder Rektummukosa) untersucht. Das Methylierungsmuster des Vaters (I-1) wurde rekonstruiert. Bei zehn Individuen

konnte eine Methylierung im hMSH2-Promotor nachgewiesen werden. Nur zwei Individuen (II-12 und III-1) hatten die Methylierung nicht geerbt und zeigten auch keine Methylierungsbanden im untersuchten Gewebe. Drei Geschwister (II-2, II-6 und II-8) mit der vererbten Epimutation entwickelten zu einem frühen Zeitpunkt kolorektale Karzinome oder HNPCC-assoziierte Tumore. Im Tumorgewebe zeigte sich eine hochgradige Mikrosatelliteninstabilität und ein MSH2-Expressionsausfall. Es konnte zwar auch eine somatische Frameshift-Mutation im Exon 11 von hMSH2 aufgedeckt, jedoch keine Keimbahnmutation dargestellt werden. Somit wurde eine genetische Mutation als Ursache ausgeschlossen. Andere Mutationen in MMR-Genen waren nicht nachweisbar.

Untersuchungen verschiedener somatischer Gewebeproben aus Mundschleimhaut und Endometriumflüssigkeit der drei Tumorträgerinnen waren zusätzlich positiv hinsichtlich des Methylierungsmusters. Alle Epimutationsträger wiesen einen hohen prozentualen Methylierungsgrad in ihrer Rektumschleimhaut auf (Mittelwert 30,2 %, Spanne 21,7 % - 37,6 %), während die Kontrollgruppe deutlich niedrigere Werte zeigte (Mittelwert 2,3 %, Spanne 1,5 % - 4,9 %). Methylierungsanalysen der somatischen Gewebeproben aus Wangenschleimhaut und Endometriumsflüssigkeit zeigten einen niedrigeren Methylierungsgrad von 5,5 % - 14,1 %. Die prozentuale Methylierung der Leukozyten hingegen unterschied sich nur gering von der Kontrollgruppe. Der Mittelwert der Epimutationsträger betrug dabei 3,39 % (Spanne 2,2 % - 4,9 %) und der der Kontrollgruppe 2,06 % (Spanne 1,2 % - 3,2 %). Es zeigte sich ein deutliches Mosaik-Muster der methylierten Allele mit den höchsten Methylierungsraten in karzinombetroffenen Geweben wie Darm und Endometrium. Die Epimutation inaktiviert auch hier nur das erste Allel des hMSH2-Gens, ein „Second Hit“ ist nötig, um die Karzinogenese zu starten.

Bis jetzt ist die Studie von Chan et al. (2006) die einzige, die eine hereditäre Keimbahnepimutation im hMSH2-Promotorbereich beschreibt. Die Interpretation der Ergebnisse dieser Studie von Chan et al. (2006) ist in der Fachwelt stark umstritten (siehe 3.2).

2.2.3 MGMT

Das MGMT-Gen, ein DNA-Reparaturgen, bestehend aus einem Intron und vier Exons und ist auf dem langen Arm von Chromosom 10 (10q26) lokalisiert. Es kodiert für die O⁶-Methylguanin-Methyl-Transferase (MGMT), ein 207 Aminosäure großes und 24 kDa schweres Protein. Das DNA-Reparaturgen MGMT ist Bestandteil des Reversions-Reparaturmechanismus (RER), auch direkte Reparatur genannt. Der RER ist ein selten benutzter Reparatursmechanismus, der eine modifizierte Base direkt ohne Zwischenschritte in die Ursprungsform zurückkonvertiert (Murken et al. 2006). O⁶-Guanin ist ein häufiges Angriffsziel verschiedener Karzinogene und alkylierender Substanzen. Solche fehlerhaft an der O⁶-Position alkylierten Gruppen werden von dem DNA-Reparaturenzym MGMT entfernt, indem die Alkylgruppen auf einen Cysteinrest des Proteins übertragen werden. Da die Bindung irreversibel ist, wird das MGMT-Enzym dadurch dauerhaft inaktiviert, weshalb man auch von einem Selbstmordenzym spricht. Die Persistenz solcher O⁶-Methylguanin-Addukte kann unter anderem zu einer fehlerhaften Basenpaarung des Guanins mit Thymin führen und so eine G:C nach A:T Transition zur Folge haben. Funktionelle Störungen des MGMT-Enzyms können somit zu einer erhöhten Mutationsrate und nachfolgend zur Tumorentstehung führen. Eine Inaktivierung des MGMT-Gens durch Promotorhypermethylierung ist ein wichtiger Mechanismus, der einen Expressionsausfall des MGMT-Gens zur Folge hat. In zahlreichen Neoplasien, vor allem bei kolorektalen Karzinomen, konnte diese Epimutation nachgewiesen werden (Esteller et al. 1999).

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass zu 35-40 % bei kolorektalen Karzinomen eine Inaktivierung des DNA-Reparaturgens MGMT durch Promotorhypermethylierung vorliegt (Esteller et al. 1999, Menigatti et al. 2007, Ogino et al. 2007). Für die MGMT-Genexpression sind zwei methylierungssensible Promotorregionen, sogenannte „core-Regionen“, von großer Bedeutung. Die Minimal-Promotorregion (Mp-Region) ist stromaufwärts von Exon 1 gelegen und die Enhancer-Region (Eh-Region) ist stromabwärts der Mp-Region lokalisiert (Nakagawachi et al. 2003). Eine Inaktivierung des MGMT-Gens durch Promotorhypermethylierung führt zu einer erhöhten Rate von G:C nach A:T Mutationen im Onkogen K-ras und im Tumorsuppressorgen TP53 (Esteller 2000, Esteller et al. 2001, Menigatti et al. 2007). Bei etwa 33-40 % aller kolorektalen Karzinome lässt sich eine Mutation im K-ras darstellen (Esteller 2000,

Nagasaka et al. 2008). Esteller et al. (2000) konnten zeigen, dass bei 71 % der kolorektalen Karzinome mit einer nachweisbaren G zu A Mutation im K-ras Onkogen ebenfalls ein Expressionsausfall des MGMT-Gens als Folge einer Promotorhypermethylierung vorlag. Grennblatt et al. (1994) wiesen in 70 % der TP53 Mutationen in KKR eine Transitionsmutation nach. Esteller et al. (2001) konnten 34 % der TP53 Mutationen in kolorektalen Karzinomen auf eine Inaktivierung des MGMT-Gens durch Promotorhypermethylierung zurückführen. Die Inaktivierung des MGMT-Gens durch Promotorhypermethylierung ist ein frühes Ereignis in der Tumorgenese des kolorektalen Karzinoms (Esteller et al. 1999, Menigatti et al. 2007).

Untersuchungen, inwieweit eine Promotorhypermethylierung des MGMT-Gens transgenerationell vererbbar ist, liegen bis jetzt noch nicht vor.

2.3 Basen-Exzisions-Reparaturgene

Täglich entstehen in jeder kernhaltigen Zelle etwa 10.000 bis 50.000 veränderte Basen. Würden diese DNA-Schäden nicht von Reparatursystemen erkannt und eliminiert werden, wäre die Aufrechterhaltung der genomischen Stabilität in Gefahr. Die Basen-Exzisions-Reparatur (BER) ist das wichtigste Reparatursystem zur Entfernung von oxidativ veränderten und alkylierten Basen aus der DNA. Einer der häufigsten oxidativen Modifikationen ist das 8-Oxoguanin. Die beschädigten Basen werden durch schadenspezifische DNA-Glykosylasen entfernt. Nach Wood et al. (2005) sind mindestens zehn menschliche DNA-Glykosylasen bekannt.

Bestimmte Tumordispositionserkrankungen, die unter anderem zur Entwicklung von kolorektalen Karzinomen führen, können durch Mutationen in Genen, die für BER-Enzyme kodieren, verursacht werden.

2.3.1 MAP-Syndrom

2.3.1.1 Beschreibung und klinische Charakteristika

Im Jahr 2002 wurde eine neue Form der adenomatösen Polyposis entdeckt (Al-Tassan et al. 2002), die als MUTYH-assoziierte Polyposis (MAP) bezeichnet wird und circa 20-30 % der adenomatösen Polyposis ohne nachweisbare APC-Mutation verursacht (Lefevre et al. 2006, Croitoru et al. 2007). Die MAP ist durch das Auftreten einer Vielzahl von Polypen des Dickdarms gekennzeichnet, die bei histologischer Untersuchung Adenomen entsprechen. Wie die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) ist auch die MAP eine obligate Präkanzerose mit einem sehr hohen Entartungsrisiko der Adenome hin zu einem kolorektalen Karzinom. Die MAP ist klinisch nur schwer von der FAP oder der abgeschwächteren, milden Form der FAP, der attenuierten FAP (AFAP) zu unterscheiden. Bis jetzt gibt es keine spezifischen klinischen oder pathologischen Kriterien, wie z.B. die Bethesda-Kriterien bei HNPCC, die das Vorhandensein einer MUTYH-Mutation voraussagen könnten.

Das Manifestationsalter bei MAP liegt mit durchschnittlich 50 Jahren unter dem Durchschnittsalter von Patienten mit einem sporadischen KRK (Croitoru et al. 2004).

In Einzelfällen wurden die Erstdiagnosen bereits im zweiten Lebensjahrzehnt beschrieben (Sampson et al. 2003, Dallosso et al. 2008). Fast alle Patienten weisen Adenome auf, deren Anzahl zwischen einigen Wenigen und einigen Hundert variieren kann (Lipton et al. 2003, Sampson et al. 2003, Sieber et al. 2003). Es gibt aber auch Fälle von MAP-Patienten, bei denen überhaupt keine Polypen im Dickdarm darzustellen waren (Sampson et al. 2003, Farrington et al. 2005). Zum Zeitpunkt der Diagnose einer MAP liegt bereits bei circa 60 % der Patienten ein kolorektales Karzinom vor (Sampson et al. 2003, Sieber et al. 2003, Dallosso et al. 2008). Extraintestinale Manifestationen finden sich bei MAP-Patienten seltener als bei FAP-Individuen. In verschiedenen Studien wurden bei MAP-Patienten unter anderem Karzinome im oberen Magendarmtrakt, gynäkologische Tumore (Endometrium, Ovar, Mamma), benigne Hauttumore, Zahnanomalien, kongenitale Hypertrophien des retinalen Pigmentepithels (CHRPE) sowie Duodenumadenome beschrieben (Sampson et al. 2003, Sieber et al. 2003, Gismondi et al. 2004, Barnetson et al. 2007).

Tabelle 8 stellt anhand der Daten von vier verschiedenen Studien klinische Merkmale der MUTYH-assoziierten Polyposis tabellarisch gegenüber.

Tab. 8: Gegenüberstellung klinischer Charakteristika von Patienten mit biallelischen MUTYH-Mutationen aus vier verschiedenen Studien (DP = Duodenale Polyposis, CHRPE = Kongenitale Hypertrophien des retinalen Pigmentepithels, G-Ca = Magenkarzinom, ZZ = Zahnzyste, HZ = Hautzyste, O = Osteom, G-Ad = Magenadenome, M-Ca = Mammakarzinom) (modifiziert nach Lipton und Tomlinson 2006).

	Sieber et al. (2003)	Sampson et al. (2003)	Gismondi et al. (2004)	Dallosso et al. (2008)
Individuen mit biallelischen MUTYH-Mutationen	14	25	14	33
Durchschnittsalter zum Diagnosezeitpunkt (Mittelwert / Spanne)	52 (51/30-70)	46 (48/13-65)	49 (27-61)	47 (48/13-67)
Patienten mit KRK bei Diagnose	50 %	48 %	79 %	58 %
Patienten mit extraintestinalen Manifestationen (Art)	3 (2 DP, 1 CHRPE)	2 (1 DP, 1 G-Ca)	7 (1 ZZ, 1 HZ, 2 O, 3 CHRPE)	2 (1 G-Ad, 1 M-Ca)

Die Penetranz der Krankheit ist nahezu 100 % (Jo und Chung 2005) und unbehandelte Patienten entwickeln spätestens im fünften oder sechsten Lebensjahrzehnt ein kolorektales Karzinom (Farrington et al. 2005). Laut einer Studie von Lipton et al. (2003) beträgt die Rate metachroner und synchroner kolorektaler Karzinome 27 %. Bei 70 % der MAP-Patienten sind die kolorektalen Karzinome auf der linken Seite lokalisiert (Lipton et al. 2003, Lefevre et al. 2006).

Die Adenome zeigen ein überwiegend tubulöses bis tubulovillöses Wachstumsmuster mit gelegentlichen hyperplastischen Polypen. Trotz einer enormen Variationsbreite in der Adenomgröße (zwischen 1 mm und 40 mm) sind für MAP-Patienten Mikroadenome typisch. MAP-assoziierte Karzinome werden vorwiegend als „low-grade“-Tumore eingestuft und sind zu 75 % mit synchronen Adenomen assoziiert (Lipton et al. 2003, O’Shea et al. 2008). Die Progression der Adenome zu Karzinomen scheint sich bei MUTYH-Mutationsträgern langsamer zu vollziehen als bei HNPCC-Patienten (Sieber et al. 2003).

2.3.1.2 Molekulargenetik

Zum ersten Mal wurde die MUTYH-assoziierte Polyposis 2002 von Al-Tassan et al. in einer Studie über eine britische Familie mit multiplen kolorektalen Adenomen und Karzinomen, ohne einer nachweisbaren Keimbahnmutation im APC-Gen beschrieben. Analysen somatischer Mutationsspektren im APC-Gen der Tumore deckten einen ungewöhnlich hohen Anteil von G:C→T:A-Transversionen auf, die Nonsense- und Splice-Mutationen im APC-Gen zur Folge hatten. Mutationsanalysen des MUTYH-Gens der betroffenen Individuen zeigten, dass die Geschwister alle compound heterozygot für die Missense-Mutationen Y165C und G382D waren. Der Stammbaum der von Al-Tassan et al. (2002) beschriebenen Familie ist in Abbildung 16 dargestellt. Weitere Studien (Jones et al. 2002, Sampson et al. 2003, Sieber et al. 2003) zeigten, dass diese Entdeckung kein Einzelfall war, sondern sich eine biallelische MUTYH-Mutation bei etwa 30 % der Patienten mit multiplen kolorektalen Adenomen darstellen lässt.

Die MAP ist somit die erste Tumordispositionserkrankung, die auf einen Defekt im Basen-Exzisions-Reparatursystem (BER) zurückzuführen ist.

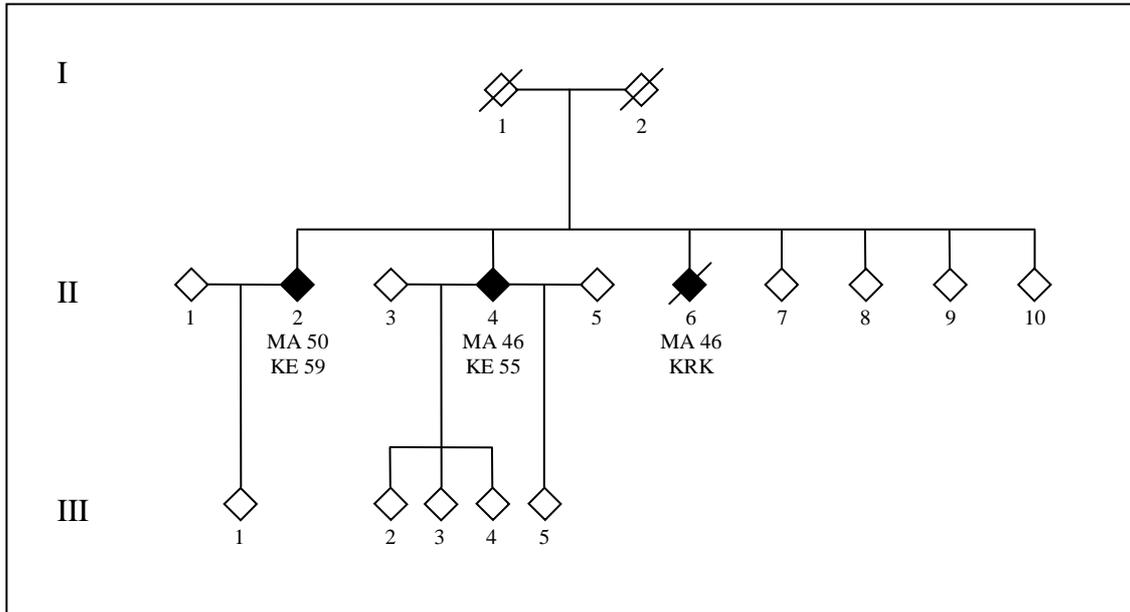


Abb. 16: Stammbaum der britischen Familie mit multiplen kolorektalen Adenomen und Karzinomen bei nachgewiesener MUTYH-Mutation (modifiziert nach Al-Tassan et al. 2002).

Zwei Geschwister (II-2 und II-4) entwickelten Adenome im Alter von 50 und 46 Jahren. Neun Jahre später wurden etwa 50 makroskopisch sichtbare Adenome detektiert und die Patienten kolektomiert (MA = Multiple Adenome, KE = Kolektomie). Individuum II-6 starb an einem KRK. Alle drei Geschwister waren compound heterozygot für die Mutationen Tyr165Cys und Gly382Asp. Die übrigen Familienmitglieder (II-7 bis II-10 und III-1 bis III-5) waren entweder heterozygot für eine der Varianten oder komplett unauffällig.

Die MAP folgt, anders als die FAP und AFAP, einem autosomal-rezessiven Erbgang. Das bedeutet, dass die Polyposis-Erkrankung erst auftritt, wenn beide Kopien des MUTYH-Gens mutiert sind. Kennzeichnend für den autosomal-rezessiven Erbgang ist, dass die Erkrankung nur in einer Generation innerhalb einer Familie auftritt. Geschwister einer betroffenen Person haben ein mathematisches Erkrankungsrisiko von 25 %. Verursacht wird die MAP durch biallelische Mutationen im MUTYH-Gen auf Chromosom 1. Das 7,1 Kilobasen große MUTYH-Gen, bestehend aus 15 Introns und 16 Exons, ist auf dem kurzen Arm von Chromosom 1 zwischen p32.1 und p34.3 lokalisiert und kodiert für ein 535 Aminosäuren großes Protein (Slupska et al. 1996). Das MUTYH-Protein ist eine Glykosylase und schützt die Zelle zusammen mit den Enzymen MTH1 (MutT-homologes Protein) und OGG1 (8-Oxoguanin-DNA-Glykosylase 1) vor der häufigsten oxidativen Basenmodifikation 8-Oxoguanin. In Abbildung 17 ist die Funktion der drei Enzyme graphisch dargestellt.

Wird 8-Oxoguanin nicht entfernt, kommt es zu einer Fehlpaarung mit Adenin und somit zu einer G:C→T:A-Transversion, der häufigsten mutagenen Veränderung in einer DNA (Murken et al. 2006). MUTYH ist das menschliche Homolog des MutY-Enzyms in *E. coli*. Mit dem bakteriellen MutY-Protein weist es eine strukturelle Sequenzübereinstimmung von 41 % auf (Slupska et al. 1996). MUTYH interagiert auch direkt mit der Untereinheit MSH6 des Mut α -Heterodimers aus dem MMR-System. Diese Bindung stimuliert die DNA-Bindung und Glykosylaseaktivität von MUTYH mit 8-Oxoguanin-Fehlpaarungen.

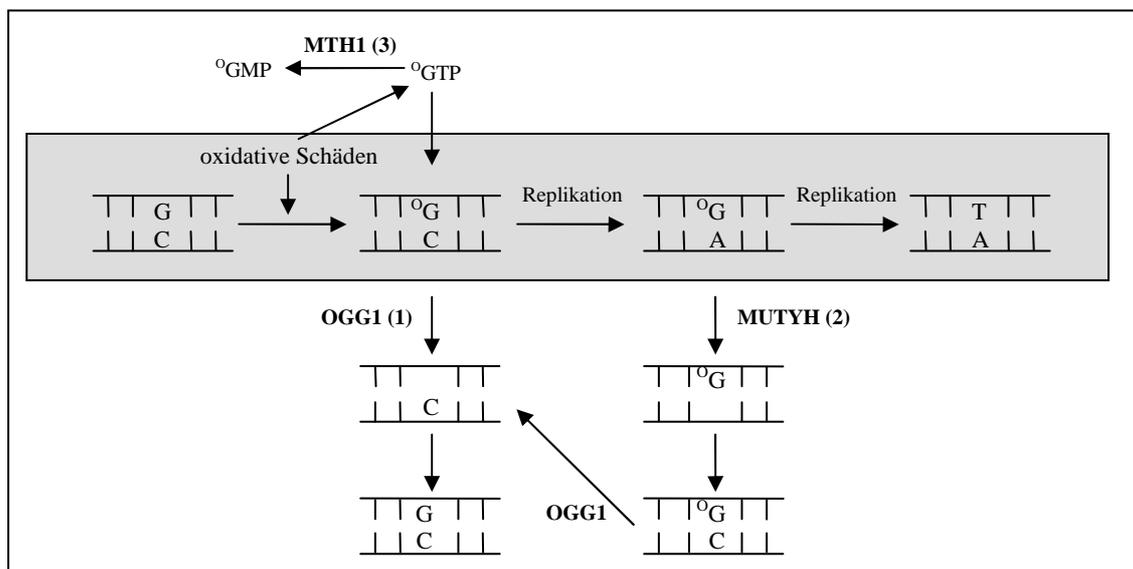


Abb. 17: Die Rolle der Enzyme MUTYH, MTH1 und OGG1 in einer menschlichen Zelle (modifiziert nach Sampson et al. 2005).

OGG1 (1) entspricht dem MutM-Enzym von *E. coli*. Es entfernt die den Cytosinen gegenüberliegenden 8-Oxoguanine (^oG), so dass reguläre Guanine eingebaut werden können. MUTYH (2) schneidet die mit 8-Oxoguaninen fälschlicherweise gepaarten Adenine heraus. Eine nachfolgende ^oG-C-Paarung kann wiederum mit OGG1 aufgelöst werden. MTH1 (3) ist homolog zum MutT in *E. coli*. Die 8-oxo-dGTPase dephosphoryliert ^oGTP und schützt so die DNA vor wiederholtem Einbau von 8-Oxoguanin in die freie Stelle.

Bis Mitte des Jahres 2007 konnten über 80 Keimbahnmutationen in MUTYH-Genen bei MAP-Patienten nachgewiesen werden (siehe Abbildung 18) (Croitoru et al. 2007, David et al. 2007). Etwa zwei Drittel der Mutationen sind Missense-Mutationen, deren Krankheitswert nicht eindeutig geklärt ist. Die restlichen Keimbahnmutationen verursachen einen vorzeitigen Kettenabbruch der MUTYH-Proteine und führen so zu

trunkierten Proteinprodukten. In Nordeuropa sind die zwei häufigsten Mutationsvarianten im MUTYH-Gen, mit einem Anteil von etwa 80 %, die Mutationen Y165C und G382D (Jones et al. 2002, Enholm et al. 2003, Sieber et al. 2003). In anderen ethnischen Gruppen konnten andere pathologische Alterationen gefunden werden. Bei Patienten pakistanischer Herkunft ist die Mutation Y90X sehr häufig, bei Individuen indischen Ursprungs die Mutation E446X und bei Mutationsträgern aus dem mediterranen Raum die Mutation 1395delGGA (Halford et al. 2003). Aufgrund der Mutationsart sowie der Lokalisation in der DNA-Sequenz im MUTYH-Gen ist es in manchen Fällen möglich, Voraussagen über die Konsequenz einer bestimmten Mutation zu stellen. Während einige Mutationen zu einem kompletten Proteinausfall von MUTYH führen, reduzieren andere Mutationen lediglich die Genexpression. Desweiteren können durch die Mutationen Protein-Protein-Interaktionen sowie Modifikationen der Posttranslation verändert sein. Chmeil et al. (2003) untersuchten die beiden Mutationsvarianten Y165C und G382D und konnten zeigen, dass die Fähigkeit des veränderten MUTYH-Enzyms, 8-Oxoguanin:Adenin-Fehlpaarungen zu erkennen und zu reparieren, deutlich reduziert war.

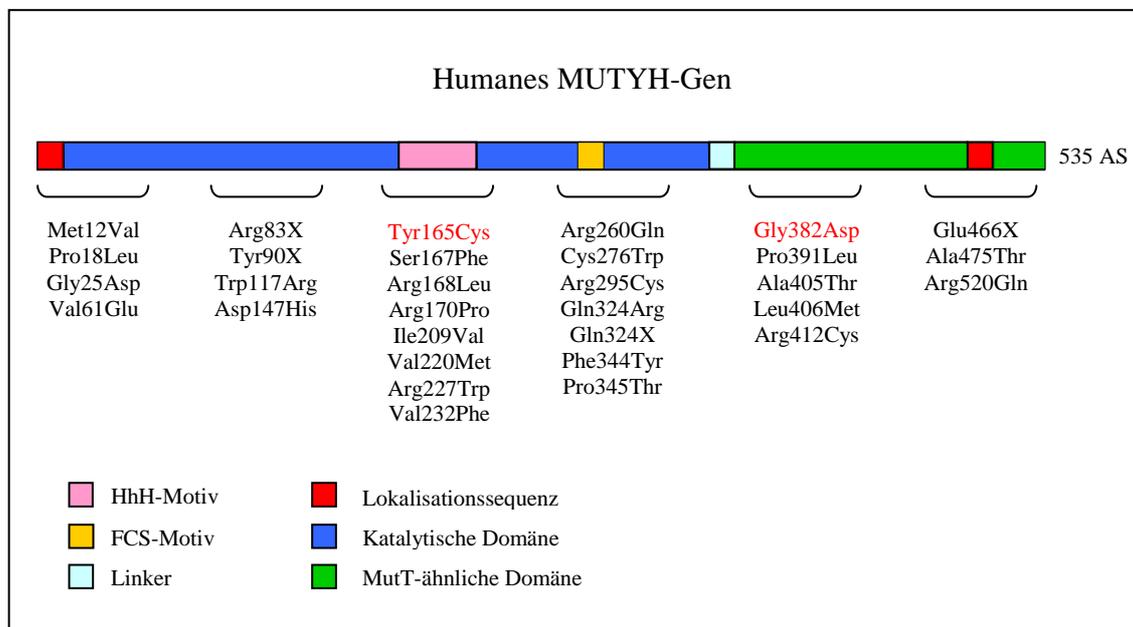


Abb. 18: Keimbahnmutationen im MUTYH-Gen bei Individuen mit MAP (modifiziert nach David et al. 2007). Die verschiedenen funktionellen Domänen sind farblich gekennzeichnet (FCS = Fe-S-Cluster-Schleife, HhH = Helix-Hairpin-Helix, AS = Aminosäuren). Die beiden häufigsten Mutationsvarianten in Nordeuropa sind rot hervorgehoben.

Mutationen in MUTYH-Genen können dazu führen, dass G:C→T:A-Transversionen nicht mehr vollständig repariert werden und sich so in anderen Genen akkumulieren. Im Tumorgewebe von MAP-Patienten konnten vor allem im APC-Gen vermehrt G:C→T:A-Transversionen nachgewiesen werden, aber auch in anderen Genen wie im K-ras (Lipton et al. 2003) und im BRAF (Ponti et al. 2007). Mutationen in TGFBIIR und SMAD4 spielen nach aktuellem Kenntnisstand keine oder allenfalls eine untergeordnete Rolle (Lipton et al. 2003, Sampson et al. 2003). MAP-assoziierte Tumore zeigen meist keine Mikrosatelliteninstabilität wie HNPCC-assoziierte Karzinome. Nur in einigen wenigen Fällen konnte eine MSI bei Karzinomen mit einer biallelischen MUTYH-Mutation nachgewiesen werden (Colebatch et al. 2006, O'Shea et al. 2008). Die Karzinogenese der MAP unterscheidet sich somit zwar vom CIN- und MSI-Pathway, beinhalten jedoch auch Elemente beider Mechanismen.

Das Erkrankungsrisiko von Personen, die nur ein verändertes MUTYH-Allel aufweisen (heterozygote Träger), ist derzeit noch nicht eindeutig geklärt. In der Allgemeinbevölkerung wird von einer Heterozygotenfrequenz von ungefähr 1 % ausgegangen. Nach Farrington et al. (2005) haben heterozygote Mutationsträger über dem 55sten Lebensjahr ein 1,63-fach erhöhtes Risiko, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken.

2.3.2 MBD4

Das neun Kilobasen schwere MBD4-Gen, bestehend aus acht Exons, ist auf dem langen Arm von Chromosom 3q21-q22 lokalisiert und kodiert für ein 580 Aminosäuren großes und 66 kDa schweres Protein (Hendrich et al. 1999a, Wood et al. 2005).

Das MBD4-Protein (Methyl-CpG binding domain-protein 4), Synonym MED1 (Methyl-CpG binding endonuclease 1), gehört zu den DNA-Glykosylasen, einer Gruppe von DNA-Reparaturgenen der Basen-Exzisions-Reparatur. MBD4 entfernt spezifisch Thymin- oder Uracil-Fehlpaarungen gegenüber von Guanin an methylierten oder unmethylierten CpG-Sequenzen (Hendrich et al. 1999b, Petronzelli et al. 2000). Guanin:Thymin-Fehlpaarungen entstehen sehr häufig in Folge einer spontanen Deaminierung von 5-Methylcytosin zu Thymin. Werden sie nicht korrigiert, kommt es bei der nächsten Replikationsrunde zu G:C→A:T-Transitionen an CpG-Stellen, die zur Tumorgenese beitragen. Laut Kleihues et al. (1997) sind in kolorektalen Karzinomen nahezu 50 % der somatischen Mutationen im Tumorsuppressorgen TP53 G:C→A:T-Transitionen innerhalb von CpG-Stellen.

MBD4 wurde 1998 von Hendrich und Bird bei der Suche nach Enzymen mit einem Methyl-CpG-Bindungs-Motiv entdeckt. Es gehört zu einer Proteinfamilie, deren fünf Mitglieder (MBD1-4 und MeCP2) alle eine Methyl-CpG-Bindungsdomäne (MBD) besitzen.

Das MBD4 Protein besteht aus zwei funktionellen Domänen, der N-terminalen Methyl-CpG-Bindungs-Domäne (MBD), die die Bindung methylierter CpGs innerhalb der DNA ermöglicht, und einer COOH-terminalen Glykosylase-Domäne (Hendrich et al. 1999b). Aminosäuresequenzanalysen bei Mäusen und Menschen zeigen eine hohe Übereinstimmung der jeweiligen Domäne. Die humane N-terminale Domäne ist zu 86,2 % mit der von Mäusen identisch, die C-terminale Domäne zeigt eine 95 %ige Homologie (Hendrich et al. 1999b) (siehe Abbildung 19). Die Bindungsaffinität des MBD4-Enzyms zu seinem Substrat ist bei komplett methylierter DNA höher als bei nur teilweise methylierter DNA (Bellacosa et al. 1999). Das MBD4-Enzym ist eine monofunktionale Glykosylase, das heißt, das Protein besitzt nur eine Glykosylaseaktivität und keine AP-Lyaseaktivität (Hendrich et al. 1999b, Petronzelli et al. 2000). Bellacosa et al. (1999) konnten zeigen, dass MBD4 auch mit dem MMR-Protein MLH1 interagiert.

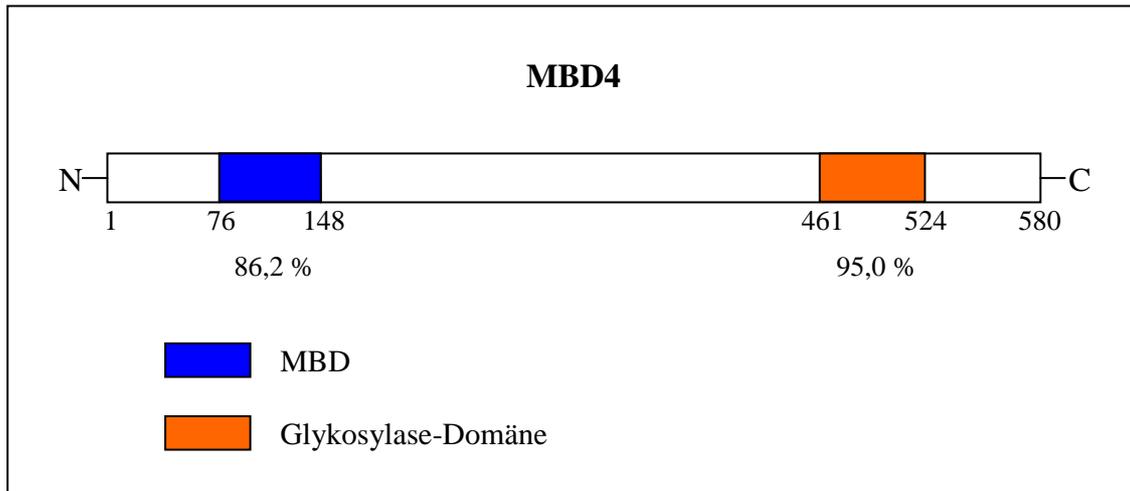


Abb. 19: Schematische Darstellung des MBD4-Proteins (modifiziert nach Hendrich et al. 1999b).
 Farblich hervorgehoben sind die beiden funktionellen Domänen, die aminoterminalen Methyl-Bindungsdomäne (MBD) (AS 76-148) sowie die carboxyterminale Glykosylase-Domäne (AS 461-524) (ExpASy 2008). Die Prozentangaben unterhalb der Domänen zeigen an, inwieweit die MBD4-Domänen der Maus identisch sind mit denen des Menschen.

Studien von Millar et al. (2002) und Wong et al. (2002) an Knockout-Mäusen mit inaktiviertem MBD4-Gen zeigten eine 2- bis 3-fach erhöhte Mutationsfrequenz von C→T-Transitionen an CpG-Stellen. Ebenso war bei MBD4-negativen Mäusen mit einer APC-Keimbahnmutation die Tumorgenese in Folge vermehrter somatischer C→T-Transitionen an CpG-Stellen innerhalb der kodierenden Regionen des Wildtyp-APC-Allels erhöht. Sansom et al. (2004) konnten bei MBD4-Knockout-Mäusen mit gleichzeitiger MMR-Defizienz keine gesteigerte Tumorgenese feststellen. Sie folgerten daraus, dass ein MBD4-Mangel eine MMR-abhängige Tumorprogression nicht beeinflusst.

Beim Menschen wiesen verschiedene Studien an mikrosatelliteninstabilen kolorektalen Tumoren und anderen Karzinomen wie Endometrium-, Pankreas und Magenkarzinome in 15-43 % der Fälle MBD4-Mutationen nach (Bader et al. 1999, Riccio et al. 1999, Yamada et al. 2002, Evertson et al. 2003). MBD4-Mutationen in mikrosatelliten-stabilen Karzinomen hingegen konnten bis jetzt nicht dargestellt werden (Bader et al. 1999, Riccio et al. 1999, Yamada et al. 2002, Evertson et al. 2003).

Tabelle 9 gibt einen Überblick über MBD4-Mutationen bei mikrosatelliteninstabilen Tumoren.

Tab. 9: MBD4-Genmutationen in mikrosatelliteninstabilen Tumoren beim Menschen (modifiziert nach Bellacosa 2001).

Karzinome	Anzahl der Fälle mit MBD4-Mutation / Gesamtzahl der untersuchten Fälle	Prozentualer Anteil der MBD4-Mutationen	Literaturverweise
KRK	11/42	26,2 %	Riccio et al. 1999
KRK	9/20	45,0 %	Bader et al. 1999
KRK	3/15	20 %	Yamada et al. 2002
KRK	4/26	15 %	Evertson et al. 2003
Magen	4/14	29 %	Yamada et al. 2002
Endometrium	2/9	22,2 %	Riccio et al. 1999
Pankreas	1/5	20,0 %	Riccio et al. 1999

Die meisten der Mutationen im MBD4-Gen sind Frameshift-Mutationen in Folge von Deletionen und Insertionen, die zu einem trunkierten Proteinprodukt führen (Bader et al. 1999, Riccio et al. 1999). Sequenzanalysen des mutierten MBD4-Gens in verschiedenen mikrosatelliteninstabilen Neoplasien zeigten, dass fast alle Mutationen in einer Polyadenin (A)₁₀-kodierenden Region (Codon 310 bis 313) in Exon 3 liegen. Die Folge dieser Mutation ist ein vorzeitiger Kettenabbruch mit einem verkürzten MBD4-Protein ohne C-terminale Glykosylaseaktivität (Riccio et al. 1999, Wong et al. 2002). In einigen Fällen konnte eine biallelische Mutation des MBD4-Gens im Tumorgewebe dargestellt werden, entweder durch Frameshift-Mutationen in beiden Allelen oder durch LOH des zweiten Allels (Bellacosa et al. 1999, Riccio et al. 1999). Meistens liegt jedoch eine monoallelische heterozygote Mutation vor (Bader et al. 1999, Riccio et al. 1999).

Laut Chow et al. (2006) gibt es eine mündliche Bestätigung über eine beschriebene Keimbahnmutation im MBD4-Gen bei einem Individuum mit einem hochgradigen mikrosatelliteninstabilen Tumor.

3 Diskussion

Im vorangegangenen Ergebnissteil wurde dargestellt, welche Rolle verschiedene Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen bei der Entstehung von kolorektalen Karzinomen spielen. Anhand neuester Literatur wurden die Klinik und die Genetik der einzelnen erblichen Krebs syndrome beschrieben, die mit KRK assoziiert und auf Mutationen in DNA-Reparaturgenen zurückzuführen sind. Ebenso wurde aufgezeigt, welche Auswirkungen Mutationen in den einzelnen DNA-Reparaturgenen auf die Entwicklung von kolorektalen Neoplasien haben können.

Tabelle 10 liefert einen zusammenfassenden Überblick der Ergebnisse.

Tab. 10: Übersicht über die zusammengefassten Ergebnisse.

DNA-Reparatursystem	DNA-Reparaturgene	Art der Mutation	Krebssyndrom/Tumor	erblich
MMR	hMLH1	Genetisch	HNPCC, MTS, TS, MMR-D	JA
		Epigenetisch	KRK	JA
	hMSH2	Genetisch	HNPCC, MTS, TS, MMR-D	JA
		Epigenetisch	KRK	(JA)
	hMSH6	Genetisch	HNPCC, MTS, TS, MMR-D	JA
	hMLH3	Genetisch	HNPCC	JA
hPMS2	Genetisch	HNPCC, TS, MMR-D	JA	
	hPMS1	Genetisch	HNPCC	JA
RER	MGMT	Epigenetisch	KRK	NEIN
BER	MUTYH	Genetisch	MAP	JA
	MBD4	Genetisch	KRK	NEIN

3.1 Mismatch-Reparaturgene

Funktionsstörungen in MMR-Genen verursachen verschiedene Tumordispositionssyndrome, die mit kolorektalen Karzinomen assoziiert sind.

In etwa 70 % lässt sich beim **HNPCC-Syndrom** eine Keimbahnmutation in MMR-Genen nachweisen, wobei circa 90 % dieser Mutationen in den Genen hMLH1 und hMSH2 zu finden sind. Der im Vergleich zu hMSH6 und hPMS2 hohe Anteil dieser beiden MMR-Gene lässt sich damit erklären, dass beide Proteine keine alternativen Bindungspartner für die Bildung der Heterodimere zu Verfügung haben. Bei Verlust des MSH6-Proteins kann MSH2 aber alternativ mit MSH3 binden und bei Mutationen im hPMS2-Gen kann MLH1 mit PMS1 oder mit MLH3 ein Heterodimer bilden. Dies erklärt teilweise die niedrige Penetranz von hMSH6- und hPMS2-Mutationen. Es ist anzunehmen, dass der Anteil von hPMS2-Mutationen jedoch höher ist als bisher beschrieben (12 %), da aufgrund der hPMS2-Pseudogene im menschlichen Genom die Detektion von hPMS2-Keimbahnmutationen bei HNPCC-Patienten erschwert wird.

Keimbahnmutationen in anderen MMR-Genen (hMSH3, hMSH4 und hMSH5) konnten bis jetzt nicht festgestellt werden und scheinen für die Entstehung von HNPCC keine Rolle zu spielen. Eine Beteiligung des Exonuklease-1 Gens (EXO1) an der Genese des HNPCC scheint auch ausgeschlossen (Jagmohan-Changur et al. 2003, Thompson et al. 2004).

Oft werden mit den gängigen Detektionstechniken (PCR und Sanger-Sequenzierung) nicht alle Mutationsarten in MMR-Genen entdeckt. So sind z.B. für die Identifizierung von großen Genomischen Rearrangements andere Identifizierungstest nötig (z.B. MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

Bei ungewöhnlichen Varianten des klassischen HNPCC-Syndroms, wie z.B. ein sehr frühes Erstmanifestationsalter oder sehr milde Verlaufsformen sollten auch compound heterozygote und/oder polygenetische Mutationen in Erwägung gezogen werden. In Studien von Soravia et al. (2006) und Uhrhammer und Bignon (2008) konnten in HNPCC-Patienten sowohl Mutationen im MMR-Gen hMSH2 als auch im FAP-verursachenden APC-Gen nachgewiesen werden. Okkels et al. (2006) identifizierten bei einem HNPCC-Patienten mit sehr frühem Erstmanifestationsalter (18. Lebensjahr) eines KRK und multiplen Adenomen eine compound heterozygote hMSH6-Mutation

sowie eine Mutation im APC-Gen. Auch Kombinationen von hMSH6- und MUTYH-Mutationen sind beschrieben (Niessen et al. 2006, van Puijenbroek et al. 2007).

Bei einigen Familien, die die Amsterdam-Kriterien für HNPCC erfüllen, lassen sich weder mikrosatelliteninstabile Tumore noch Keimbahnmutationen in MMR-Genen darstellen (Lindor et al. 2005, Mueller-Koch et al. 2005). Kolorektale Karzinome manifestieren sich hier später, sind vermehrt distal lokalisiert, zeigen eine langsamere Progression der Adenom-Karzinom-Sequenz und weisen seltener synchrone und metachrone sowie extraintestinale Neoplasien auf. Von einigen Autoren wird diese Gruppe als „familial colorectal cancer typ X“ oder „MMR mutation negative“-HNPCC-Familie bezeichnet (Grady 2005, Lindor et al. 2005). Die molekulargenetische Grundlage dieser Entität ist noch nicht geklärt. Nach Mueller-Koch et al. (2005) scheint die Pathogenese der KKK hier dem „CIN-Pathway“ zu folgen.

Auch beim **Muir-Torre-Syndrom** liegen vor allem Keimbahnmutationen in den beiden MMR-Genen hMSH2 und hMLH1 vor. Mikrosatellitenstabile MTS-Tumore (Typ 2) scheinen einen anderen molekularen Hintergrund aufzuweisen als MMR-Keimbahnmutationen. Vielleicht spielt hier die Inaktivierung des FHIT-Tumorsuppressorgens eine wichtige Rolle. Bei periokulären MTS-Talgdrüsentumoren sowie im Tiermodell mit Mäusen konnte schon ein Zusammenhang von mikrosatellitenstabilen MTS-Tumoren und einer FHIT-Geninaktivierung dargestellt werden (Fong et al. 2000, Holbach et al. 2002, Goldberg et al. 2006).

Die erst im Jahr 2007 identifizierten Keimbahnmutationen bei MTS im MMR-Gen hMSH6 scheinen eine größere Bedeutung zu haben als zuerst angenommen. Chhibber et al. (2008) konnten in ihrer Studie hMSH6-Mutationen mit einem Anteil von 41 % unter den MMR-Mutationen bei MTS-Patienten nachweisen. hMSH6-Analysen sollten deshalb neben hMSH2- und hMLH1-Untersuchungen ein fester Bestandteil in der MTS-Diagnostik sein (Arnold et al. 2007, Murphy et al. 2008).

Da das MTS als eine phänotypische Variante des HNPCC-Syndroms angesehen wird, wäre eine Erweiterung der klinischen Definition des Lynch-Syndroms mit Aufnahme von Talgdrüsentumoren und Keratoakanthomen zum neoplastischen Spektrum sinnvoll, wie es auch von einigen Autoren gefordert wird (Ponti et al. 2006, Murphy et al. 2008).

Bei Patienten mit MTS-Phänotyp und adenomatöser Polyposis sollten auch MUTYH-Mutationen (MAP-Syndrom) in Erwägung gezogen werden (Ponti et al. 2005b).

In etwa 20 % der Fälle lässt sich beim **Turcot-Syndrom** eine Keimbahnmutation in den MMR-Genen hMLH1, hPMS2, hMSH2 und hMSH6 nachweisen.

In den letzten Jahren werden immer mehr Fälle von vererbten biallelischen Defekten in MMR-Genen, assoziiert mit ZNS-Tumoren, gastrointestinalen Neoplasien, aber auch malignen Tumoren des blutbildenden Systems, Café-au-lait-Flecken und anderen Neurofibromatose-ähnlichen Merkmalen aufgedeckt und teilweise noch dem Turcot-Syndrom zugeordnet (Bougeard et al. 2003, De Vos et al. 2004, Hedge et al. 2005, Ostergaard et al. 2005).

Molekulargenetische Analysen an Turcot-Syndrom-Patienten verstärken die Vermutung, dass es sich hierbei um zwei verschiedene Entitäten handelt:

- Monoallelische Keimbahnmutationen in hPMS2, hMLH1, hMSH6 und hMSH2 führen zum klassischen Turcot-Syndrom.
- Biallelische (homozygote oder compound heterozygote) Keimbahnmutationen in hPMS2, hMLH1, hMSH6 und hMSH2 zeigen ein anderes Tumorspektrum und ein früheres Manifestationsalter (erste oder zweite Lebensdekade). Das heißt, eine Zuordnung zum MMR-D-Syndrom erscheint hier sinnvoller zu sein (siehe 2.1.4).

Das **Mismatch-Repair-Deficiency-Syndrom (MMR-D)** ist eine relativ „junge“ Tumordispositionserkrankung, die auf eine biallelische Keimbahnmutation in MMR-Genen zurückzuführen ist. Auffällig ist bei Betrachtung der Familien-Stammbäume, dass nur circa 50 % der Eltern von MMR-D betroffenen Kindern HNPCC-assoziierte Malignitäten aufweisen (Krüger et al. 2008), obwohl doch alle Eltern heterozygote Mutationsträger sein müssten. Eine Ursache hierfür könnte sein, dass die Eltern zum Zeitpunkt der MMR-D-Syndrom-Diagnose des Kindes noch zu jung für die Manifestation eines HNPCC-assoziierten Tumors waren. Eine andere Erklärung wäre ein späteres Manifestationsalter, sowie eine niedrigere Penetranz bei heterozygoter hPMS2-Keimbahnmutation. Die Identifizierung eines MMR-D-Syndroms ist bereits

wegen der Möglichkeit einer genetischen Testung und noch zwingender aufgrund einer klinischen Überwachung der monoallelischen Angehörigen anzustreben.

3.2 Epigenetische Mechanismen

In den letzten Jahren wird mehr und mehr deutlicher, welche wichtige zentrale Rolle epigenetische Mechanismen bei der Tumorentstehung und Tumorprogression einnehmen. Eine Veränderung des Methylierungsmusters in Promotorregionen scheint ebenso häufig zu sein wie eine Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen in Krebszellen durch genetische Mutationen (Costello et al. 2000, Esteller et al. 2001).

Im Gegensatz zu genetischen Mutationen sind epigenetische Veränderungen aber im Prinzip reversibel und es besteht so beispielsweise die Möglichkeit, die durch DNA-Hypermethylierung inaktivierte Gene wieder zu reaktivieren. Es wäre z.B. möglich, epigenetisch modifizierte Krebszellen mit neuen Medikamenten gezielt in einen harmlosen epigenetischen Zustand zurückzuverwandeln, anstatt sie abzutöten oder operativ zu entfernen. Das, was man bis jetzt über epigenetische Prozesse bei der Tumorentstehung weiß, scheint erst die Spitze des Eisbergs zu sein. Es ist zu erwarten, in naher Zukunft bei der Karzinogenese weitere Hinweise auf epigenetische Mechanismen und nicht nur genetische Mutationen zu finden. Diese neuen Erkenntnisse könnten zur Entwicklung von innovativen Therapien führen, die epigenetisch stillgelegte Gene wieder aktivieren. Einige Wirkstoffe, die die DNA-Methylierung oder die Modifizierung von Histonen hemmen, werden bereits in der Krebstherapie klinisch erprobt.

Bei erblichen kolorektalen Karzinomen findet man neben genetischen Modifikationen auch epigenetische Mutationen in DNA-Reparaturgenen.

hMLH1-Promotormethylierungen spielen vor allem bei sporadischen kolorektalen Karzinomen eine Rolle, während Keimbahnepimutationen im hMLH1-Gen bei hereditären kolorektalen Neoplasien eher selten zu finden sind. hMLH1-Keimbahnepimutationsanalysen werden bei HNPCC-Patienten mit einem frühen Manifestationsalter eines KKK, MSI-Tumor, MLH1-Expressionsausfall und ohne

nachweisbarer Keimbahnmutation im hMLH1-Gen als sinnvoll erachtet (Suter et al. 2004, Görgens et al. 2007, Hitchins et al. 2007, Valle et al. 2007).

Ohne Untersuchung der Gameten ist es schwierig festzustellen, ob es sich bei einer Epimutation um eine de-novo-Epimutation handelt, oder ob die Modifikation von den Eltern vererbt worden ist. Auffällig ist, dass das methylierte Allel fast immer das maternale Allel ist. Wahrscheinlich ereignen sich Epimutationen häufiger in der Oogenese oder werden währenddessen eher aufrechterhalten. Während der Spermatogenese hingegen erfolgt eine Umprogrammierung, die alle epigenetischen Veränderungen auslöscht. Bis jetzt wurden nur in zwei Studien hMLH1-Epimutationen in den Keimzellen (Suter et al. 2004) bzw. vererbte hMLH1-Epimutationen (Hitchins et al. 2007) beschrieben. Hitchins und Ward (2007) kritisieren allerdings die Daten von Suter et al. (2004) und vermuten, dass die festgestellten hMLH1-Epimutationen in den Spermien des Probanden auf Verunreinigungen mit methylierten Körperzellen zurückzuführen sind. Solange der molekulargenetische Mechanismus der hMLH1-Epimutation nicht vollständig aufgeklärt ist, lässt sich keine absolute Aussage zu einem paternalen Vererbungsrisiko treffen.

Es ist davon auszugehen, dass mit den bis jetzt zugänglichen Techniken noch nicht alle epigenetischen Veränderungen erfasst werden können und so viele Epimutationen im Verborgenen bleiben.

Bisher ist nur von Chan et al. (2006) eine Familie mit einer vererbten Keimbahnmethylierung des **hMSH2**-Promotors über drei Generationen beschrieben worden. Suter und Martin (2007) sowie Horsthemke (2007) kritisieren die Auslegung der Ergebnisse von Chan et al. (2006) als Beweis für eine vererbte hMSH2-Keimbahnmethylierung. Das Mosaikmuster der Hypermethylierung deutet ihrer Ansicht nach eher auf ein somatisches Ereignis nach der Fertilisation hin. Interessant wäre zu erfahren, ob die hMSH2-Epimutation in Geweben aller drei Keimblätter zu finden ist. Auch liegen keine Angaben dazu vor, ob die Epimutation in den Gameten nachgewiesen werden konnte. Gegen eine hMSH2-Keimbahnepimutation spricht auch das strikte Mendelsche Vererbungsmuster der Epimutation, sowie die vollständige Penetranz über drei Generationen. Ihrer Meinung nach ist die von Chan et al. (2006) beschriebene Epimutation als sekundäre Epimutation zu sehen, die, ähnlich dem

pathogenen Mechanismus des Fragilen X Syndroms (FMR1), Folge einer cis-wirkenden-DNA-Mutation ist, (Stöger et al. 1997).

Eine Inaktivierung des DNA-Reparaturgens **MGMT** durch Promotorhypermethylierung lässt sich in nahezu 40 % bei kolorektalen Karzinomen nachweisen (Esteller et al. 1999, Menigatti et al. 2007, Ogino et al. 2007). Eine transgenerationelle Vererbung dieser Epimutation ist bis jetzt noch nicht beschrieben worden. Eine erhöhte Mutationsrate im Onkogen K-ras und im Tumorsuppressorgen TP53 als Folge der Epimutation ist belegt. Inwieweit die Inaktivierung von MGMT auch Einfluss auf weitere „traditionelle Krebsgene“ wie z.B. APC, DCC und SMAD in der Tumorgenese des kolorektalen Karzinoms hat, ist noch offen. Die Inaktivierung des MGMT-Gens durch Promotorhypermethylierung verursacht ähnlich den MMR-defekten Tumoren einen „Mutator-Phänotyp“, der das Krebsrisiko in anderen Zellen steigert.

3.3 Basen-Exzisions-Reparaturgene

Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen des BER-Systems sind auch an der Tumorgenese des kolorektalen Karzinoms beteiligt.

Die **MUTYH-assoziierte Polyposis (MAP)** ist ein relativ „neues“ Krebsdispositionssyndrom und wurde erst 2002 zum ersten Mal von Al-Tassan et al. beschrieben.

Meistens sind MAP-Tumore mikrosatellitenstabil. Nur in einigen wenigen Fällen konnte eine MSI bei Karzinomen mit einer biallelischen MUTYH-Mutation nachgewiesen werden (Colebatch et al. 2006, O’Shea et al. 2008). Colebatch et al. vermuten, dass in solchen Fällen biallelische MUTYH-Mutationen in der frühen Tumorgenese eine Rolle spielen, dann aber durch Mutationen in MMR-Genen ersetzt werden, die zu einer Mikrosatelliteninstabilität führen.

Der molekulargenetische Mechanismus der MAP ist noch lange nicht vollständig aufgeklärt und es sind noch viele Fragen offen, z.B. inwieweit die Schwere der Erkrankung mit der Art der MUTYH-Mutation korreliert oder warum gerade das Kolon und das APC-Gen so anfällig für BER-Defekte sind.

Auch ist nicht geklärt, welche Früherkennungsuntersuchungen für heterozygote MUTYH-Mutationsträger sinnvoll sind. Laut Farrington et al. (2005) weisen

heterozygote Mutationsträger ein 1,63-fach erhöhtes Risiko auf, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken. Ob dieses gering erhöhte Risiko intensivere Früherkennungsuntersuchungen rechtfertigt, kann derzeit noch nicht abschließend beurteilt werden. Homozygoten Mutationsträgern einer MUTYH-Mutation wird derzeit das gleiche Früherkennungsprogramm wie Patienten mit einer APC-assoziierten AFAP empfohlen.

Beim Menschen konnten Mutationen im **MBD4**-Gen zu 15-43 % in mikrosatelliteninstabilen kolorektalen Tumoren nachgewiesen werden. Mikrosatellitenstabile Karzinome zeigten hingegen keine MBD4-Mutationen. Es stellt sich hier die Frage, ob die MBD4-Mutationen nicht als Folge der genomischen Instabilität durch die Mikrosatelliteninstabilität zustande gekommen sind.

Bis jetzt sind in der Literatur noch keine Keimbahnmutationen in MBD4-Genen beschrieben worden.

Bei einer weiteren Tumordispositionserkrankung, dem Hyperplastischen Polypösen Syndrom (HPS), ist der molekulargenetische Hintergrund noch weitgehend unklar und es konnten bis jetzt noch keine Gene eindeutig identifiziert werden. Eine Beteiligung von BER-Genen ist sehr wahrscheinlich und weitere Untersuchungen sind hier zur Aufklärung des genetischen Pathomechanismus nötig.

Die Erforschung von Mutationen in DNA-Reparaturgenen hat sich im letzten Jahrzehnt rasant entwickelt. Verschiedene Krebs syndrome konnten aufgeklärt oder neu beschrieben werden. Die molekulargenetische Identifizierung von Tumordispositionserkrankungen ermöglicht es, Mutationsträger zuverlässig zu erfassen und diese geeigneten Früherkennungsuntersuchungen und Präventionsmaßnahmen zuzuführen.

Da sich die Techniken zur Mutationsdetektion ständig verbessern, ist in Zukunft mit der Entdeckung weiterer Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen zu rechnen.

4 Zusammenfassung

5 bis 10 % aller kolorektalen Karzinome entstehen auf dem Boden einer erblichen Disposition. Bei der Tumorgenese dieser hereditären kolorektalen Karzinome spielen pathogenetisch vor allem Mutationen in DNA-Reparaturgenen eine wichtige Rolle. Ziel dieser Arbeit war es, anhand neuester Literatur darzustellen, welche Bedeutung Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen als Risikofaktoren bei der Entstehung von erblichen kolorektalen Karzinomen haben.

Die meisten Mutationen unter den DNA-Reparaturgenen finden sich in Genen des Mismatch-Reparatursystems. Genetische Keimbahnmutationen in MMR-Genen sind an der Pathogenese von vier verschiedenen Krebsyndromen beteiligt, die zu kolorektalen Karzinomen führen können. Es sind das autosomal-dominant vererbte HNPCC-Syndrom mit Mutationen im hMLH1-, hMSH2-, hMSH6-, hMLH3-, hPMS2- und hPMS1-Gen, das autosomal-dominant vererbte Muir-Torre-Syndrom dessen Grundlage Mutationen im hMSH2-, hMLH1- und hMSH6-Gen sind, das autosomal-dominant oder autosomal-rezessiv vererbte Turcot-Syndrom mit Mutationen im hMLH1-, hPMS2-, hMSH2- und hMSH6-Gen sowie das autosomal-rezessiv vererbte Mismatch-Repair-Deficiency-Syndrom mit Mutationen im hMLH1-, hMSH2-, hMSH6- und hPMS2-Gen. Neben genetischen Mutationen werden auch zunehmend epigenetische Modifikationen entdeckt, die DNA-Reparaturgene durch Promotorhypermethylierung inaktivieren und so an der Pathogenese erblicher kolorektaler Karzinome mitwirken. Bis jetzt sind Epimutationen in den MMR-Genen hMLH1 und hMSH2 in der Literatur beschrieben worden. Auch im DNA-Reparaturgen MGMT, einem Gen aus dem Reversions-Reparatursystem, konnten Epimutationen nachgewiesen werden, die die Entstehung von kolorektalen Tumoren fördern.

Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen des Basen-Exzisions-Reparatursystems sind ebenso an der Tumorgenese des kolorektalen Karzinoms beteiligt. Genetische Keimbahnmutationen im DNA-Reparaturgen MUTYH führen zur MUTYH-assoziierten Polyposis (MAP), einem erblichen Krebsyndrom, mit einem autosomal-rezessiven Erbgang. Genetische Mutationen konnten auch im MBD4-Gen, einem weiteren BER-Gen, in kolorektalen Karzinomen nachgewiesen werden.

5 Literaturverzeichnis

Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkänen L, Mecklin JP, Järvinen H, Powell SM, Jen J, Hamilton SR, Petersen GM, Kinzler KW, Vogelstein B (1993): Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 260: 812-816.

Akhtar S, Oza KK, Khan SA, Wright J (1999): Muir-Torre syndrome: a case report of a patient with concurrent jejunal and ureteral cancer and a review of the literature. *J Am Acad Derm* 41: 681-686.

Akiyama Y, Sato H, Yamada T, Nagasaki H, Tsuchiya A, Abe R, Yuasa Y (1997): Germline mutation of the hMSH6/GTBP gene in an atypical hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindred. *Cancer Res* 57: 3920-3923.

Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, Hodges AK, Davies DR, David SS, Sampson JR, Cheadle JP (2002): Inherited variants of MYH associated with somatic G:C→T:A mutations in colorectal tumors. *Nat Genet* 30: 227-232.

Arnold A, Payne S, Fisher S, Fricker D, Soloway J, White SM, Novelli M, MacDonald K, Mackay J, Groves R, Canham N (2007): An individual with Muir-Torre syndrome found to have a pathogenic MSH6 gene mutation. *Familial Cancer* 6: 317-321.

Bader S, Walker M, Hendrich B, Bird A, Bird C, Hooper M, Wyllie A (1999): Somatic frameshift mutations in the MBD4 gene of sporadic colon cancers with mismatch repair deficiency. *Oncogene* 18: 8044-8047.

Bandipalliam P (2005): Syndrome of early onset colon cancers, hematologic malignancies & features of neurofibromatosis in HNPCC families with homozygous mismatch repair gene mutations. *Fam Cancer* 4: 323-333.

Bapat B, Xia L, Madlensky L, Mitri A, Tonin P, Narod SA, Gallinger S (1996): The genetic basis of Muir-Torre syndrome includes the hMLH1 locus. *Am J Hum Genet* 59: 736-739.

Barana D, Cetto GL, Oliani C, van der Klift H, Wijnen J, Fodde R, Longa ED, Radice P (2004): Spectrum of genetic alterations in Muir-Torre syndrome is the same as in HNPCC. *Am J Med Genet* 125: 318-319.

- Barnetson RA**, Devlin L, Miller J, Farrington SM, Slater S, Drake AC, Campbell H, Dunlop MG, Porteous ME (2007): Germline mutation prevalence in the base excision repair gene, MYH, in patients with endometrial cancer. *Clin Genet* 72: 551-555.
- Baylin SB**, Hoppener JW, de Bustros A, Steenbergh PH, Lips CJ, Nelkin BD (1986): DNA methylation patterns of the calcitonin gene in human lung cancers and lymphomas. *Cancer Res* 46: 2917-2922.
- Bellacosa A**, Cicchillitti L, Schepis F, Riccio A, Yeung AT, Matsumoto Y, Golemis EA, Genuardi M, Neri G (1999): MED1, a novel human methyl-CpG-binding endonuclease, interacts with DNA mismatch repair protein MLH1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 3969-3974.
- Bellacosa A** (2001): Role of MED1 (MBD4) Gene in DNA repair and human cancer. *J Cell Physiol* 187: 137-144.
- Boland CR**, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S (1998): A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 58: 5248-5257.
- Bougeard G**, Charbonnier F, Moerman A, Martin C, Ruchoux MM, Drouot N, Frebourg T (2003): Early onset brain tumor and lymphoma in MSH2-deficient children. *Am J Hum Genet* 72: 213-216.
- Bronner CE**, Baker SM, Morrison PT, Warren G, Smith LG, Lescoe MK, Kane M, Earabino C, Lipford J, Lindblom A, Tannergard P, Bollag RJ, Godwin AR, Ward DC, Nordenskj M, Fishel R, Kolodner R, Liskay RM (1994): Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 368: 258-261.
- Chan TL**, Yuen ST, Kong CK, Chan YW, Chan AS, Ng WF, Tsui WY, Lo MW, Tam WY, Li VS, Leung SY (2006): Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 38: 1178-1183.
- Chang DK**, Ricciardiello L, Goel A, Chang CL, Boland CL (2000): Steady-state regulation of human DNA mismatch repair system. *J Biol Chem* 275: 18424-18431.

Cheadle JP, Sampson JR (2007): MUTYH-associated-polyposis from defect in base excision repair to clinical genetic testing. *DNA repair* 6: 274-279.

Chen WS, Chen JY, Liu JM, Lin WC, King KL, Whang-Peng J, Yang WK (1997): Microsatellite instability in sporadic-colon-cancer patients with and without liver metastases. *Int J Cancer* 74: 470-474.

Chhibber V, Dresser K, Mahalingam M (2008): MSH6: extending the reliability of immunohistochemistry as a screening tool in Muir-Torre syndrome. *Mod Pathol* 21: 159-164.

Chmiel NH, Livingston AL, David SS (2003): Insight into the functional consequences of inherited variants of the hMYH adenine glycosylase associated with colorectal cancer: complementation assays with hMYH variants and pre-steady-state kinetics of the corresponding mutated E.coli enzymes. *J Mol Biol* 327: 431-443.

Chow E, Lipton L, Lynch E, D'Souza R, Aragona C, Hodgkin L, Brown G, Winship I, Barker M, Buchanan D, Cowie S, Nasioulas S, du Sart D, Young J, Leggett B, Jass J, Macrae F (2006): Hyperplastic polyposis syndrome: phenotypic presentations and the role of MBD4 and MYH. *Gastroenterology* 131: 30-39.

Cohen PR, Kohn SR, Kurzrock R (1991): Association of sebaceous gland tumors and internal malignancy: the Muir-Torre syndrome. *Am J Med* 90: 606-613.

Colebatch A, Hitchins M, Williams R, Meagher A, Hawkins NJ, Ward RL (2006): The role of MYH and microsatellite instability in the development of sporadic colorectal cancer. *Br J Cancer* 95: 1239-1243.

Costello JF, Frühwald MC, Smiraglia DJ, Rush LJ, Robertson GP, Gao X, Wright FA, Feramisco JD, Peltomäki P, Lang JC, Schuller DE, Yu L, Bloomfield CD, Caligiuri MA, Yates A, Nishikawa R, Su Huang H, Petrelli NJ, Zhang X, O'Dorisio MS, Held WA, Cavenee WK, Plass C (2000): Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns. *Nat Genet* 24: 132-138.

Croitoru ME, Cleary SP, Di Nicola N, Manno M, Selander T, Aronson M, Redston M, Cotterchio M, Knight J, Gryfe R, Gallinger S (2004): Association between biallelic and monoallelic germline MYH gene mutations and colorectal cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 96: 1631-1634.

Croitoru ME, Cleary SP, Berk T, Di Nicola N, Kopolovic I, Bapat B, Gallinger S (2007): Germline MYH mutations in a clinic-based series of Canadian multiple colorectal adenoma patients. *J Surg Oncol* 95: 499-506.

Dalosso AR, Dolwani S, Jones N, Jones S, Colley J, Maynard J, Idziaszczyk S, Humphreys V, Arnold J, Donaldson A, Eccles D, Ellis A, Evans DG, Frayling IM, Hes FJ, Houlston RS, Maher ER, Nielsen M, Parry S, Tyler E, Moskvina V, Cheadle JP, Sampson JR (2008): Inherited predisposition to colorectal adenomas caused by multiple rare alleles of MUTYH but not OGG1, NUDT1, NTH1 or NEIL 1, 2 or 3. *Gut* [Epub ahead of print].

David SS, O'Shea VL, Kundu S (2007): Base-excision repair of oxidative DNA damage. *Nature* 447: 941-950.

De Rosa M, Fasano C, Panariello L, Scarano MI, Belli G, Iannelli A, Ciciliano F, Izzo P (2000): Evidence for a recessive inheritance of Turcot's syndrome caused by compound heterozygous mutations within the PMS2 gene. *Oncogene* 19: 1719-1723.

De Vos M, Hayward BE, Picton S, Sheridan E, Bonthron DT (2004): Novel PMS2 pseudogenes can conceal recessive mutations causing a distinctive childhood cancer syndrome. *Am J Hum Genet* 74: 954-964.

De Vos M, Hayward BE, Charlton R, Taylor GR, Glaser AW, Picton S, Cole TR, Maher ER, McKeown CM, Mann JR, Yates JR, Baralle D, Rankin J, Bonthron DT, Sheridan E (2006): PMS2 mutations in childhood cancer. *J Natl Cancer Inst* 98: 358-361.

Dunlop MG, Farrington SM, Carothers AD, Wyllie AH, Sharp L, Burn J, Liu B, Kinzler KW, Vogelstein B (1997): Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum Mol Genet* 6: 105-110.

Duval A, Rolland S, Tubacher E, Bui H, Thomas G, Hamelin R (2000): The human T-cell transcription factor-4 gene: structure, extensive characterization of alternative splicings, and mutational analysis in colorectal cancer cell lines. *Cancer Res* 60: 3872-3879.

Duval A, Rolland S, Compoin A, Tubacher E, Iacopetta B, Thomas G, Hamelin R (2001): Evolution of instability at coding and noncoding repeat sequences in human MSI-H colorectal cancers. *Hum Mol Genet* 10: 513-518.

Enholm S, Hienonen T, Suomalainen A, Lipton L, Tomlinson I, Kärjä V, Eskelinen M, Mecklin JP, Karhu A, Järvinen HJ, Aaltonen LA (2003): Proportion and phenotype of MYH-associated colorectal neoplasia in a population-based series of Finnish colorectal cancer patients. *Am J Pathol* 163: 827-832.

Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG (1999): Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res* 59: 793-797.

Esteller M (2000): Epigenetic lesions causing genetic lesions in human cancer: promoter hypermethylation of DNA repair genes. *Eur J Cancer* 36: 2294-2300.

Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Watkins DN, Issa JP, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG (2000): Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 60: 2368-2371.

Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG (2001): A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 61: 3225-3229.

Esteller M, Risques RA, Toyota M, Capella G, Moreno V, Peinado MA, Baylin SB, Herman JG (2001): Promoter hypermethylation of the DNA repair gene O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase is associated with the presence of G:C to A:T transition mutations in p53 in human colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 61: 4689-4692.

Evertson S, Wallin A, Arbman G, Rütten S, Emterling A, Zhang H, Sun XF (2003): Microsatellite instability and MBD4 mutation in unselected colorectal cancer. *Anticancer Res* 23: 3569-3574.

ExPASy (Expert Protein Analysis System) proteomics server of the Swiss Institute of Bioinformatics (SIB) (2008). <http://www.expasy.org/uniprot/O95243#seq> (Zugriff Juli 2008).

Farrington SM, Tenesa A, Barnetson R, Wiltshire A, Prendergast J, Porteous M, Campbell H, Dunlop MG (2005): Germline susceptibility to colorectal cancer due to base-excision repair gene defects. *Am J Hum Genet* 77: 112-119.

Feinberg AP, Vogelstein B (1983): Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* 301: 89-92.

Felton KEA, Gilchrist DM, Andrew SE (2007): Constitutive deficiency in DNA mismatch repair: is it time for Lynch III? *Clin Genet* 71: 499-500.

Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R (1993): The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 75: 1027-1038.

Fong LY, Fidanza V, Zanesi N, Lock LF, Siracusa LD, Mancini R, Siprashvili Z, Ottey M, Martin SE, Druck T, McCue PA, Croce CM, Huebner K (2000): Muir-Torre-like syndrome in Fhit-deficient mice. *Proc Nat Acad Sci* 97: 4742-4747.

Garcia M, Jemal A, Ward EM, Center MM, Hao Y, Siegel RL, Thun MJ (2007): Global Cancer Facts & Figures 2007. American Cancer Society. http://www.cancer.org/downloads/STT/Global_Cancer_Facts_and_Figures_2007_rev.pdf (Zugriff Juli 2008).

Gazzoli I, Loda M, Garber J, Syngal S, Kolodner RD (2002): A hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma case associated with hypermethylation of the MLH1 gene in normal tissue and loss of heterozygosity of the unmethylated allele in the resulting microsatellite instability-high tumor. *Cancer Res* 62: 3925-3928.

Gismondi V, Meta M, Bonelli L, Radice P, Sala P, Bertario L, Viel A, Fornasarig M, Arrigoni A, Gentile M, Ponz de Leon M, Anselmi L, Mareni C, Bruzzi P, Varesco L (2004): Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the MYH gene in Italian patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas. *Int J Cancer* 109: 680-684.

Görgens H, Hoffmann J, Schackert HK, Ebert M (2007): MLH1-Keimbahnmethylierung als Ursache für das hereditäre nicht-Polyposis-assoziierte kolorektale Karzinom Syndrom (HNPCC). *Chirurgisches Forum* 36: 77-78.

Goldberg M, Rummelt C, Foja S, Holbach LM, Ballhausen WG (2006): Different genetic pathways in the development of periocular sebaceous gland carcinomas in presumptive Muir-Torre syndrome patients. *Hum Mutat* 27: 155-162.

Grady WM (2005): Molecular basis for subdividing hereditary colon cancer? *Gut* 54: 1676-1678.

Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC (1994): Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 54: 4855-4878.

Greger V, Passarge E, Hopping W, Messmer E, Horsthemke B (1989): Epigenetic changes may contribute to the formation and spontaneous regression of retinoblastoma. *Hum Genet* 83: 155-158.

Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, Redston M, Gallinger S (2000): Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med* 342: 69-77.

Halford SE, Rowan AJ, Lipton L, Sieber OM, Pack K, Thomas HJ, Hodgson SV, Bodmer WF, Tomlinson IP (2003): Germline mutations but not somatic changes at the MYH locus contribute to the pathogenesis of unselected colorectal cancers. *Am J Pathol* 162: 1545-1548.

Hall NR, Murday VA, Chapman P, Williams MA, Burn J, Finan PJ, Bishop DT (1994): Genetic linkage in Muir-Torre syndrome to the same chromosomal site as cancer family syndrome. *Europ J Cancer* 30: 180-182.

Hamilton SR, Liu B, Parson RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, Krush AJ, Berk T, Cohen Z, Tetu B, Burger PC, Wood PA, Taqi F, Booker SV, Petersen GM, Offerhaus GJA, Tersmette AC, Giardiello FM, Vogelstein B, Kinzler KW (1995): The molecular basis of Turcot's syndrome. *New Eng J Med* 332: 839-847.

Hedge MR, Chong B, Blazo ME, Chin LHE, Ward PA, Chintagumpala MM, Kim JY, Plon SE, Richards CS (2005): A homozygous mutation in MSH6 causes Turcot syndrome. *Clin Cancer Res* 11: 4689-4693.

Heinimann K (2000): Molekulargenetische Diagnostik bei HNPCC (Hereditäres Kolorektal-Karzinom ohne generalisierte Polypose). *Schweizerische Ärztezeitung* 81: 2009-2012.

Hemminki A, Peltomaki P, Mecklin JP, Jarvinen H, Salovaara R, Nystrom-Lahti M, de la Chapelle A, Aaltonen LA (1994): Loss of the wild type MLH1 gene is a feature of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 8: 405-410.

Hendrich B, Bird A (1998): Identification and characterization of a family of mammalian methyl-CpG binding proteins. *Mol Cell Biol* 18: 6538-6547.

Hendrich B, Abbott C, McQueen H, Chambers D, Cross S, Bird A (1999a): Genomic structure and chromosomal mapping of the murine and human Mbd1, Mbd2, Mbd3, and Mbd4 genes. *Mamm Genome* 10: 906-912.

Hendrich B, Hardeland U, Ng HH, Jiricny J, Bird A (1999b): The thymine glycosylase MBD4 can bind to the product of deamination at methylated CpG sites. *Nature* 401: 301-304.

Herold G (2007): *Innere Medizin. Eine vorlesungsorientierte Darstellung.* Verlag: Eigenverlag, Köln, 417-418.

Hienonen T, Laiho P, Salovaara R, Mecklin JP, Järvinen H, Sistonen P, Peltomäki P, Lehtonen R, Nupponen NN, Launonen V, Karhu A, Aaltonen LA (2003): Little evidence for involvement of MLH3 in colorectal cancer predisposition. *Int J Cancer* 106: 292-296.

Hitchins M, Williams R, Cheong K, Halani N, Lin VA, Packham D, Ku S, Buckle A, Hawkins N, Burn J, Gallinger S, Goldblatt J, Kirk J, Tomlinson I, Scott R, Spigelman A, Suter C, Martin D, Suthers G, Ward R (2005): MLH1 germline epimutations as a factor in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 129: 1392-1399.

Hitchins MP, Ward RL (2007): Erasure of MLH1 methylation in spermatozoa-implications for epigenetic inheritance. *Nat Genet* 39: 1289.

Hitchins MP, Wong JJL, Suthers G, Suter CM, Martin DIK, Hawkins NJ, Ward RJ (2007): Inheritance of a cancer-associated MLH1 germ-line epimutation. *N Engl J Med* 357: 697-705.

Holbach LM, von Moller A, Decker C, Junemann AGM, Rummelt-Hofmann C, Ballhausen WG (2002): Loss of fragile histidine triad (FHIT) expression and microsatellite instability in periocular sebaceous gland carcinoma in patients with Muir-Torre syndrome. *Am J Ophthalmol* 134: 147-148.

Holliday R (1987): The inheritance of epigenetic defects. *Science* 238: 163-170.

Honchel R, Halling KC, Schaid DJ, Pittelkow M, Thibodeau SN (1994): Microsatellite instability in Muir-Torre syndrome. *Cancer Res* 54: 1159-1163.

Horenstein MG, Victor G Prieto VG, Fivenson DP, Vinson RP, Heymann WR, Quirk C, Elston DM (2007): Muir-Torre Syndrome. *eMedicine*: 1-11. <http://emedicine.com/derm/topic275.htm> (Zugriff Mai 2008).

Horsthemke B (2007): Heritable germline epimutations in humans. *Nat Genet* 39: 573-574.

InSIGHT (International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours). <http://www.insight-group.org> (Zugriff am 11.05.2008).

Jacinto FV, Esteller M (2007): Mutator pathways unleashed by epigenetic silencing in human cancer. *Mutagenesis* 22: 247-253.

Jagmohan-Changur S, Poikonen T, Vilkki S, Launonen V, Wikman F, Orntoft TF, Møller P, Vasen H, Tops C, Kolodner RD, Mecklin JP, Järvinen H, Bevan S, Houlston RS, Aaltonen LA, Fodde R, Wijnen J, Karhu A (2003): EXO1 variants occur commonly in normal population: evidence against a role in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 63: 154-158.

Jass JR (1998): Diagnosis of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Histopathology* 32: 491-497.

Jass JR (2007): Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 50: 113-130.

Jo WS, Chung DC (2005): Genetics of hereditary colorectal cancer. *Semin Oncol* 32: 11-23.

Jones PA, Baylin SB (2002): The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 3: 415-428.

Jones S, Emmerson P, Maynard J, Best JM, Jordan S, Williams GT, Sampson JR, Cheadle JP (2002): Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C→T:A mutations. *Hum Mol Genet* 11: 2961-2967.

Kleihues P, Schäuble B, zur Hausen A, Estève J, Ohgaki H (1997): Tumors associated with p53 germline mutations: a synopsis of 91 families. *Am J Pathol* 150: 1-13.

Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends (2008): 6. überarbeitete Auflage. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin.

Krüger S, Kinzel M, Walldorf C, Gottschling S, Bier A, Tinschert S, von Stackelberg A, Henn W, Görgens H, Boue S, Kölbl K, Büttner R, Schackert HK (2008): Homozygous PMS2 germline mutations in two families with early-onset haematological malignancy, brain tumours, HNPCC-associated tumours, and signs of neurofibromatosis type 1. *Eur J Hum Genet* 16: 62-72.

Kruse R, Lamberti C, Wang Y, Ruelfs C, Bruns A, Esche C, Lehmann P, Ruzicka T, Rutten A, Friedl W, Propping P (1996): Is the mismatch repair deficient type of Muir-Torre syndrome confined to mutations in the hMSH2 gene? *Hum Genet* 98: 747-750.

Kruse R, Rutten A, Lamberti C, Hosseiny-Malayeri HR, Wang Y, Ruelfs C, Jungck M, Mathiak M, Ruzicka T, Hartschuh W, Bisceglia M, Friedl W, Propping P (1998): Muir-Torre phenotype has a frequency of DNA mismatch-repair-gene mutations similar to that in hereditary nonpolyposis colorectal cancer families defined by the Amsterdam criteria. *Am J Hum Genet* 63: 63-70.

Kruse R, Rutten A, Hosseiny-Malayeri HR, Bisceglia M, Friedl W, Propping P, Ruzicka T, Mangold E (2001): 'Second hit' in sebaceous tumors from Muir-Torre patients with germline mutations in MSH2: allele loss is not the preferred mode of inactivation. *J Invest Derm* 116: 463-465.

Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Jen J, Parson R, Peltomaki P, Sistonen P, Aaltonen LA, Nyström-Lahti M, Guan XY, Zhang J, Meltzer PS, Yu JW, Kao FT, Chen DJ, Cerosaletti KM, Fournier REK, Todd S, Lewis T, Leach RJ, Naylor SL, Weissenbach J, Mecklin JP, Järvinen H, Petersen GM, Hamilton SR, Green J, Jass J, Watson P, Lynch HT, Trent JM, de la Chapelle A, Kinzler KW, Vogelstein B (1993): Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 75: 1215-1225.

Lefevre JH, Rodrigue CM, Mourra N, Bennis M, Flejou JF, Parc R, Tiret E, Gespach C, Parc YR (2006): Implication of MYH in colorectal polyposis. *Ann Surg* 244: 874-879.

Lin KM, Shashidharan M, Ternent CA, Thorson AG, Blatchford GJ, Christensen MA, Lanspa SJ, Lemon SJ, Watson P, Lynch HT (1998): Colorectal and extracolonic cancer variations in MLH1/MSH2 hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindreds and the general population. *Dis Colon Rectum* 41: 428-433.

Lindahl T, Karran P, Wood RD (1997): DNA excision repair pathways. *Curr Opin Genet Dev* 7: 158-169.

Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, Haile R, Casey G, Baron J, Gallinger S, Bapat B, Aronson M, Hopper J, Jass J, LeMarchand L, Grove J, Potter J, Newcomb P, Terdiman JP, Conrad P, Moslein G, Goldberg R, Ziogas A, Anton-Culver H, de Andrade M, Siegmund K, Thibodeau SN, Boardman LA, Seminara D (2005): Lower cancer

incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA* 293: 1979-1985.

Lipkin SM, Wang V, Stoler DL, Anderson GR, Kirsch I, Hadley D, Lynch HT, Collins FS (2001): Germline and somatic mutation analyses in the DNA mismatch repair gene *MLH3*: Evidence for somatic mutation in colorectal cancers. *Hum Mut* 17: 389-396.

Lipton L, Halford SE, Johnson V, Novelli MR, Jones A, Cummings C, Barclay E, Sieber O, Sadat A, Bisgaard ML, Hodgson SV, Aaltonen LA, Thomas HJ, Tomlinson IP (2003): Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway. *Cancer Res* 63: 7595-7599.

Lipton L, Tomlinson I (2006): The genetics of FAP and FAP-like syndromes. *Familial Cancer* 5: 221-226.

Liu B, Nicolaides NC, Markowitz S, Willson JK, Parson RE, Jen J, Papadopolous N, Peltomaki P, de la Chapelle A, Hamilton SR, Kinzler KW, Vogelstein B (1995): Mismatch repair gene defects in sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nat. Genet* 9: 48-55.

Liu HX, Zhou XL, Liu T, Werelius B, Lindmark G, Dahl N, Lindblom A (2003): The role of h*MLH3* in familial colorectal cancer. *Cancer Res* 63: 1894-1899.

Liu T, Yan H, Kuismanen S, Percesepe A, Bisgaard ML, Pedroni M, Benatti P, Kinzler KW, Vogelstein B, Ponz de Leon M, Peltomäki P, Lindblom A (2001): The role of h*PMS1* and h*PMS2* in predisposing to colorectal cancer. *Cancer Res* 61: 7798-7802.

Loukola A, Vilkki S, Singh J (2000): Germline and somatic mutation analysis of *MLH3* in MSI-positive colorectal cancer. *Am J Pathol* 157: 347-352.

Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ (1966): Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 117: 206-212.

Lynch HT, Lynch PM, Pester J, Fusaro RM (1981): The cancer family syndrome: rare cutaneous phenotypic linkage of Torre's syndrome. *JAMA* 141: 607-611.

Lynch HT, de la Chapelle A (2003): Hereditary Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 348: 919-932.

Lynch J (1997): The genetics and natural history of hereditary colon cancer. *Semin Oncol Nurs* 13: 91-98.

Mangold E, Pagenstecher C, Leister M, Mathiak M, Rutten A, Friedl W, Propping P, Ruzicka T, Kruse R (2004): A genotype-phenotype correlation in HNPCC: strong predominance of msh2 mutations in 41 patients with Muir-Torre syndrome. *J Med Genet* 41: 567-572.

Mangold E, Rahner N, Friedrichs N, Büttner R, Pagenstecher C, Aretz S, Friedl W, Ruzicka T, Propping P, Rütten A, Kruse R (2007): MSH6 mutation in Muir-Torre syndrome: could this a rare finding? *B J Dermatol* 156: 158-162.

Mark ME, Josbert JK, Paul D (2000): Microsatellite instability and expression of MLH-1 and hMSH2 in sebaceous gland carcinomas as markers for Muir-Torre syndrome. *Clin Cancer Res* 6: 1784-1789.

Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parson R, Sun L, Lutterbaugh J, Fan RS, Zborowska E, Kinzler KW, Vogelstein B, Brattain M, Willson J (1995): Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 268: 1336-1338.

Matsui T, Hayashi N, Yao K, Yao T, Takenaka K, Hoashi T, Takemura S, Iwashita A, Tanaka A, Koga M (1998): A father and son with Turcot's syndrome: evidence for autosomal dominant inheritance: report of two cases. *Dis Colon Rectum* 41: 797-801.

Mecklin JP, Svendsen LB, Peltomäki P, Vasen HF (1994): Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 29: 673-677.

Menigatti M, Pedroni M, Verrone AM, Borghi F, Scarselli A, Benatti P, Losi L, Di Gregorio C, Schär P, Marra G, Ponz de Leon M, Roncucci L (2007): O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter hypermethylation in colorectal carcinogenesis. *Oncol Rep* 17: 1421-1427.

Menko FH, Kaspers GL, Meijer GA, Claes K, van Hagen JM, Gille JJP (2004): A homozygous MSH6 mutation in a child with café-au-lait spots, oligodendroglioma and rectal cancer. *Fam Cancer* 3: 123-127.

Millar CB, Guy J, Sansom OJ, Selfridge J, MacDougall E, Hendrich B, Keightley PD, Bishop SM, Clarke AR, Bird A (2002): Enhanced CpG mutability and tumorigenesis in MBD4-deficient mice. *Science* 297: 403-405.

Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, Kikuchi-Yanoshita R, Muraoka M, Yasuno M, Igari T, Koike M, Chiba M, Mori T (1997): Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 17: 271-272.

- Miyakura Y**, Sugano K, Akasu T, Yoshida T, Maekawa M, Saitoh S, Sasaki H, Nomizu T, Konishi F, Fujita S, Moriya Y, Nagai H (2004): Extensive but hemiallelic methylation of the hMLH1 promoter region in early-onset sporadic colon cancers with microsatellite instability. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2: 147-156.
- Morak M**, Schackert HK, Rahner N, Betz B, Ebert M, Walldorf C, Royer-Pokora B, Schulmann K, von Knebel-Doeberitz M, Dietmaier W, Keller G, Kerker B, Leitner G, Holinski-Feder E (2008): Further evidence for heritability of an epimutation in one of 12 cases with MLH1 promoter methylation in blood cells clinically displaying HNPCC. *Eur J Hum Genet* 16: 804-811.
- Morgan HD**, Sutherland HG, Martin DI, Whitelaw E (1999): Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat Genet* 23: 314-318.
- Mueller-Koch Y**, Vogelsang H, Kopp R, Lohse P, Keller G, Aust D, Muders M, Gross M, Daum J, Schiemann U, Grabowski M, Scholz M, Kerker B, Becker I, Henke G, Holinski-Feder E (2005): Hereditary non-polyposis colorectal cancer: clinical and molecular evidence for a new entity of hereditary colorectal cancer. *Gut* 54: 1733-1740.
- Muir C**, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan S (1987): Cancer incidence in five continents. IARC (International Agency for Research on Cancer) Sci Publ, Lyon, Vol 5, No 88.
- Muir GG**, Bell AY, Barlow KA (1967): Multiple primary carcinomata of the colon, duodenum, and larynx associated with keratoacanthomata of the face. *Brit J Surg* 54: 191-195.
- Murken J**, Grimm T, Holinski-Feder E (2006): Taschenlehrbuch Humangenetik. 7. vollständig überarbeitete Auflage. Thieme Verlag. Stuttgart, New York: 82-84.
- Murphy HR**, Armstrong R, Cairns D, Greenhalgh KL (2008): Muir-Torre Syndrome: expanding the genotype and phenotype – a further family with a MSH6 mutation. *Fam Cancer* 7: 255-257.
- Nagasaka T**, Goel A, Notohara K, Takahata T, Sasamoto H, Uchida T, Nishida N, Tanaka N, Boland CR, Matsubara N (2008): Methylation pattern of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene in colon during progressive colorectal tumorigenesis. *Int J Cancer* 122: 2429-2436.

Nakagawa H, Hampel H, de la Chapelle A (2003): Identification and characterization of genomic rearrangements of MSH2 and MLH1 in Lynch syndrome (HNPCC) by novel techniques. *Hum Mutat* 22: 258.

Nakagawa H, Lockman JC, Wendy L. Frankel WL, Hampel H, Steenblock K, Burgart LJ, Thibodeau SN, de la Chapelle A (2004): Disease-causing germline mutations are frequent in patients whose tumors stain negative for PMS2 protein, but paralogous genes obscure mutation detection and interpretation. *Cancer Res* 64: 4721-4727.

Nakagawachi T, Soejima H, Urano T, Zhao W, Higashimoto K, Satoh Y, Matsukura S, Kudo S, Kitajima Y, Harada H, Furukawa K, Matsuzaki H, Emi M, Nakabeppu Y, Miyazaki K, Sekiguchi M, Mukai T (2003): Silencing effect of CpG island hypermethylation and histone modifications on O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene expression in human cancer. *Oncogene* 22: 8835-8844.

Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Wei YF, Carter KC, Ruben SM, Rosen CA, Haseltine WA, Fleischmann RD, Frasher CM, Adams MD, Venter JC, Dunlop MG, Hamilton SR, Petersen GM, de la Chapelle A, Vogelstein B, Kinzler KW (1994): Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 371: 75-80.

Niessen RC, Sijmons RH, Ou J, Olthof SG, Osinga J, Ligtenberg MJ, Hogervorst FB, Weiss MM, Tops CM, Hes FJ, de Bock GH, Buys CH, Kleibeuker JH, Hofstra RM (2006): MUTYH and the mismatch repair system: partners in crime? *Hum Genet* 119: 206-211.

Nyström-Lahti M, Wu Y, Moisio AL, Hofstra RM, Osinga J, Mecklin JP, Järvinen HJ, Leisti J, Buys CH, de la Chapelle A, Peltomäki P (1996): DNA mismatch repair gene mutations in 55 kindreds with verified or putative hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 5: 763-769.

Ogino S, Kawasaki T, Kirkner GJ, Suemoto Y, Meyerhardt JA, Fuchs CS (2007): Molecular correlates with MGMT promoter methylation and silencing support CpG island methylator phenotype-low (CIMP-low) in colorectal cancer. *Gut* 56: 1564-1571.

Ohmiya N, Matsumoto S, Yamamoto H, Baranovskaya S, Malkhosyan SR, Perucho M (2001): Germline and somatic mutations in hMSH6 and hMSH3 in gastrointestinal cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Gene* 272: 301-313.

Okkels H, Sunde L, Lindorff-Larsen K, Thorlacius-Ussing O, Gandrup P, Lindebjerg J, Stubbeteglbjaerg P, Oestergaard JR, Nielsen FC, Krarup HB (2006): Polyposis and early cancer in a patient with low penetrant mutations in MSH6 and APC: hereditary colorectal cancer as a polygenic trait. *Int J Colorectal Dis* 21: 847-850.

O'Shea AM, Cleary SP, Croitoru MA, Kim H, Berk T, Monga N, Riddell RH, Pollett A, Gallinger S (2008): Pathological features of colorectal carcinomas in MYH-associated polyposis. *Histopathology* [Epub ahead of print].

Ostergaard JR, Sunde L, Okkels H (2005): Neurofibromatosis von Recklinghausen type I phenotype and early onset of cancer in sibings compound heterozygous for mutations in MSH6. *Am J Med Genet* 139: 96-105.

Paraf F, Jothy S, Van Meir EG (1997): Brain tumor-polyposis syndrome: two genetic diseases? *J Clin Oncol* 15: 2744-2758.

Parkin DM, Bray F (2006): International patterns of cancer incidence and mortality. In: Schottenfeld D, Fraumeni Jr JF, eds. *Cancer epidemiology and prevention*. New York: Oxford. University Press; 2006: 101-138.

Parsons R, Myeroff LL, Liu B, Willson JK, Markowitz SD, Kinzler KW, Vogelstein B (1995): Microsatellite instability and mutations of the transforming growth factor beta type II receptor gene in colorectal cancer. *Cancer Res* 55: 5548-5550.

Peltomäki P (2001): DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res* 488: 77-85.

Petronzelli F, Riccio A, Markham GD, Seeholzer SH, Stoerker J, Genuardi M, Yeung AT, Matsumoto Y, Bellacosa A (2000): Biphasic kinetics of the human DNA repair protein MED1 (MBD4), a mismatch-specific DNA N-glycosylase. *J Biol Chem* 275: 32422-32429.

Ponti G, Ponz de Leon M (2005): Muir-Torre syndrome. *Lancet Oncol* 6: 980-987.

Ponti G, Losi L, Di Gegorio C, Roncucci L, Pedroni M, Scarselli A, Benatti P, Seidenari S, Pellacani G, Lembo L, Rossi G, Marino M, Lucci-Cordisco E, Ponz de Leon M (2005a): Identification of Muir-Torre syndrome among patients with sebaceous tumors and keratoacanthomas: role of clinical features, microsatellite instability, and immunohistochemistry. *Cancer* 103: 1018-1025.

Ponti G, Ponz de Leon M, Maffei S, Pedroni M, Losi L, Di Gregorio C, Gismondi V, Scarselli A, Benatti P, Roncari B, Seidenari S, Pellacani G, Varotti C, Prete E, Varesco L, Roncucci L (2005b): Attenuated familial adenomatous polyposis and Muir-Torre

syndrome linked to compound biallelic constitutional MYH gene mutations. *Clin Genet* 68: 442-447.

Ponti G, Ponz de Leon M, Losi S, Di Gregorio C, Benatti P, Pedroni M, Scarselli A, Riegler G, Lembo L, Pellacani G, Seidenari S, Rossi G, Roncucci L (2005c): Different phenotypes in Muir-Torre syndrome: clinical and biomolecular characterization in two Italian families. *British Journal of Dermatology* 152: 1335-1338.

Ponti G, Losi L, Pedroni M, Lucci-Cordisco E, Di Gregorio C, Pellacani G, Seidenari S (2006): Value of MLH1 and MSH2 mutations in the appearance of Muir-Torre syndrome phenotype in HNPCC patients presenting sebaceous gland tumors or keratoacanthomas. *J Invest Dermatol* 126: 2302-2307.

Ponti G, Venesio T, Losi L, Pellacani G, Bertario L, Sala P, Pedroni M, Petti C, Maffei S, Varesco L, Lerch E, Baggio A, Bassoli S, Longo C, Seidenari S (2007): BRAF mutations in multiple sebaceous hyperplasias of patients belonging to MYH-associated polyposis pedigrees. *J Invest Dermatol* 127: 1387-1391.

Rahman N, Scott RH (2007): Cancer genes associated with phenotypes in monoallelic and biallelic mutation carriers: new lessons from old players. *Hum Mol Genet* 16: 60-66.

Rakyan VK, Chong S, Champ ME, Cuthbert PC, Morgan HD, Luu KV, Whitelaw E (2003): Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine Axin(Fu) allele occurs after maternal and paternal transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 2538-2543.

Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, Perucho M (1997): Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 275: 967-969.

Raschle M, Marra G, Nystrom-Lahti M, Schar P, Jiricny J (1999): Identification of hMutLbeta, a heterodimer of hMLH1 and hPMS1. *J Biol Chem* 274: 32368-32375.

Riccio A, Aaltonen LA, Godwin AK, Loukola A, Percesepe A, Salovaara R, Masciullo V, Genuardi M, Paravatou-Petsotas M, Bassi DE, Ruggeri BA, Klein-Szanto AJ, Testa JR, Neri G, Bellacosa A (1999): The DNA repair gene MBD4 (MED1) is mutated in human carcinomas with microsatellite instability. *Nat Genet* 23: 266-268.

Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, Watson P, Lynch HT, Boyd J (1993): Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 53: 5100-5103.

Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, Lynch H, Perucho M, Smyrk T, Sobin L, Srivastava S (1997): A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 89: 1758-1762.

Sampson JR, Dolwani S, Jones S, Eccles D, Ellis A, Evans DG, Frayling I, Jordan S, Maher ER, Mak T, Maynard J, Pigatto F, Shaw J, Cheadle JP (2003): Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. *Lancet* 362: 39-41.

Sampson JR, Jones S, Dolwani S, Cheadle JP (2005): MutYH (MYH) and colorectal cancer. *Biochem Soc Trans* 33: 679-683.

Sansom OJ, Bishop SM, Bird A, Clarke AR (2004): MBD4 deficiency does not increase mutation or accelerate tumorigenesis in mice lacking MMR. *Oncogene* 23: 5693-5696.

Schwartz RA, Torre DP (1995): The Muir-Torre syndrome: a 25-year retrospect. *J Am Acad Derm* 33: 90-104.

Scott RH, Mansour S, Pritchard-Jones K, Kumar D, MacSweeney F, Rahman N (2007): Medulloblastoma, acute myeloid leukemia and colonic carcinomas in a child with biallelic MSH6 mutations. *Nat Clin Pract Oncol* 4: 130-134.

Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, Heinemann K, Fidalgo P, Phillips RK, Bisgaard ML, Orntoft TF, Aaltonen LA, Hodgson SV, Thomas HJ, Tomlinson IP (2003): Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. *N Engl J Med* 348: 791-799.

Siegenthaler W, Blum H (2006): *Klinische Pathophysiologie*. 9. neubearb. Aufl. Stuttgart : Thieme, ISBN 3134496097, S. 848.

Slupska MM, Baikalov C, Luther WM, Chiang JH, Wei YF, Miller JH (1996): Cloning and sequencing a human homolog (hMYH) of the Escherichia coli mutY gene whose function is required for the repair of oxidative DNA damage. *J Bacteriol* 178: 3885-3892.

Soravia C, DeLozier CD, Dobbie Z, Berthod CR, Arrigoni E, Bründler MA, Blouin JL, Foulkes WD, Hutter P (2006): Double frameshift mutations in APC and MSH2 in the same individual. *Int J Colorectal Dis* 21: 79-83.

South CD, Hampel H, Comeras I, Westman JA, Frankel WL, de la Chapelle A (2008): The frequency of Muir-Torre syndrome among Lynch syndrome families. *J Natl Cancer Inst* 100: 277-281.

Stewart WM, Lauret P, Hemet J, Thomine E, Gueville RM (1977): Multiple keratoacanthomas and visceral carcinomas: Torre's syndrome. *Ann Dermatol Venerol* 104: 622-626.

Stöger R, Kajimura TM, Brown WT, Laird CD (1997): Epigenetic variation illustrated by DNA methylation patterns of the fragile-X gene FMR1. *Hum Mol Genet* 6: 1791-1801.

Strachan T, Read AP (2005): *Molekulare Humangenetik*. 3.Auflage, Elsevier GmbH, München, S. 554.

Suter CM, Martin DI, Ward RL (2004): Germline epimutation of MLH1 in individuals with multiple cancer. *Nat Genet* 36: 497-501.

Suter CM, Martin DI (2007): Inherited epimutation or a haplotypic basis for the propensity to silence? *Nat Genet* 39: 573.

Thibodeau SN, Bren G, Schaid D (1993): Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 260: 816-819.

Thompson E, Meldrum CJ, Crooks R, McPhillips M, Thomas L, Spigelman AD, Scott RJ (2004): Hereditary non-polyposis colorectal cancer and the role of hPMS2 and hEXO1 mutations. *Clin Genet* 65: 215-225.

Torre D (1968): Multiple sebaceous tumors. *Arch Derm* 98: 549-551.

Truninger K, Menigatti M, Luz J, Russell A, Haider R, Gebbers JO, Bannwart F, Yurtsever H, Neuweiler J, Riehle HM, Cattaruzza MS, Heinimann K, Schär P, Jiricny J, Marra G (2005): Immunohistochemical analysis reveals high frequency of PMS2 defects in colorectal cancer. *Gastroenterology* 128: 1160-1171.

Turcot J, Despres JP, St. Pierre F (1959): Malignant tumors of the central nervous system associated with familial polyposis of the colon: report of two cases. *Dis Colon Rectum* 2: 465-468.

Uhrhammer N, Bignon YJ (2008): Report of a family segregating mutations in both the APC and MSH2 genes: juvenile onset of colorectal cancer in a double heterozygote. *Int J Colorectal Dis* [Epub ahead of print].

Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S (2004): Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 96: 261-268.

Valle L, Carbonell P, Fernandez V, Dotor AM, Sanz M, Benitez J, Urioste M (2007): MLH1 germline epimutations in selected patients with early-onset non-polyposis colorectal cancer. *Clin Genet* 71: 232-237.

Van Puijbroek M, Nielsen M, Reinards TH, Weiss MM, Wagner A, Hendriks YM, Vasen HF, Tops CM, Wijnen J, van Wezel T, Hes FJ, Morreau H (2007): The natural history of a combined defect in MSH6 and MUTYH in a HNPCC family. *Fam Cancer* 6: 43-51.

Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT (1991): The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 34: 424-425.

Vasen HF, Nagengast FM, Khan PM (1995): Interval cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). *Lancet* 345: 1183-1184.

Vasen HF, Wijnen JT, Menko FH, Kleibeuker JH, Taal BG, Griffioen G, Nagengast FM, Meijers-Heijboer EH, Bertario L, Varesco L, Bisgaard ML, Mohr J, Fodde R, Khan PM (1996): Cancer risk in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. *Gastroenterology* 110: 1020-1027.

Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT (1999): New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* 116: 1453-1456.

Vasen HF, Stormorken A, Menko FH, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Griffioen G, Taal BG, Moller P, Wijnen JT (2001): Msh2 mutation carriers are at higher risk of cancer than mlh1 mutation carriers: a study of hereditary nonpolyposis colorectal cancer families. *J Clin Oncol* 19: 4074-4080.

Vasen HF (2007): Review article: the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Aliment Pharmacol Ther* 26: 113-126.

Verma L, Kane MF, Brassett C, Schmeits J, Evans DG, Kolodner RD, Maher ER (1999): Mononucleotide microsatellite instability and germline MSH6 mutation analysis in early onset colorectal cancer. *J Med Genet* 39: 678-682.

Waddington CH (1940): Organisers and Genes. Cambridge, UK. Cambridge University Press.

Wang Q, Montmain G, Ruano E, Upadhyaya M, Dudley S, Liskay RM, Thibodeau SN, Puisieux A (2003): Neurofibromatosis type 1 gene as a mutational target in a mismatch repair-deficient cell type. *Hum Genet* 112: 117-123.

Warthin AS (1913): Hereditary with reference to carcinoma. *Arch Intern Med* 12: 546-555.

Whiteside D, McLeod R, Graham G, Steckley JL, Booth K, Somerville MJ, Andrew SE (2002): A homozygous germ-line mutation in the human MSH2 gene predisposes to haematological malignancy and multiple café-au-lait spots. *Cancer Res* 62: 359-362.

Wong E, Yang K, Kuraguchi M, Werling U, Avdievich E, Fan K, Fazzari M, Jin B, Brown AM, Lipkin M, Edelman W (2002): Mbd4 inactivation increases Cright-arrowT transition mutations and promotes gastrointestinal tumor formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 14937-14942.

Wood RD, Mitchell M, Lindahl T (2005): Human DNA repair genes, 2005. *Mutat Res* 577: 275-283.

Woods MO, Williams P, Careen A, Edwards L, Bartlett S, McLaughlin J, Youngusband HB (2007). A new variant database for mismatch repair genes associated with Lynch syndrome. *Hum Mut* 28: 669-673. <http://www.med.mun.ca/MMRvariants> (Zugriff Mai 2008).

Yamada T, Koyama T, Ohwada S, Tago K, Sakamoto I, Yoshimura S, Hamada K, Takeyoshi I, Morishita Y (2002): Frameshift mutations in the MBD4/MED1 gene in primary gastric cancer with high-frequency microsatellite instability. *Cancer Lett* 181: 115-120.

Yuen ST, Chan TL, Ho JW, Chan AS, Chung LP, Lam PW, Tse CW, Wyllie AH, Leung SY (2002): Germline, somatic and epigenetic events underlying mismatch repair deficiency in colorectal and HNPCC-related cancers. *Oncogene* 21: 7585-7592.