

DNA diagnostiek voor erfelijke non-polyposis colorectale kanker (HNPCC), ook wel Lynch-syndroom genoemd

Kanker van de dikke darm en endeldarm (colorectale kanker) is één van de meest voorkomende, levensbedreigende vormen van kanker bij zowel vrouwen als mannen. Veelal komt deze kanker maar bij een enkeling in een familie voor. Echter, in ongeveer 20% van alle gevallen blijken er in een familie meerdere personen met colorectale kanker voor te komen. Het meest voorkomende erfelijke darmkankersyndroom wordt aangeduid als Lynch syndroom of "Hereditair (oftewel erfelijk) Non-Polyposis Colorectaal Carcinoom", afgekort als HNPCC. Alhoewel jaren lang HNPCC werd gebruikt als aanduiding voor het kankersyndroom wordt de afgelopen jaren steeds vaker Lynch-syndroom gebruikt vanwege het kunnen krijgen van tumoren buiten de dikke darm (geen 'Colorectal Cancer'). In dit verhaal zal ik dat daarom ook doen. Bij Lynch-syndroom-patiënten zijn sinds 1993 kiembaanmutaties in vijf zogeheten "mismatch repair"-genen (MMR-genen) geïdentificeerd. De meeste mutaties worden gevonden in drie van deze genen, te weten MSH2, MLH1 en MSH6. De laatste jaren zijn ook vrij veel mutaties gevonden in een vierde gen met de naam PMS2. Door het vinden van mutaties in deze 4 genen kunnen wij nu in een groot aantal families de oorzaak van de kanker vinden en aan deze patiënten en hun familieleden direct gerichte (presymptomatische) diagnostiek aanbieden.

Lynch-syndroom wordt klinisch gedefinieerd door het voorkomen van colorectale tumoren bij ten minste drie familieleden in (ten minste) twee opeenvolgende generaties, waarbij één van de patiënten gediagnosticeerd moet zijn voor het 50ste levensjaar (Amsterdam criteria). Het viel Dr. Henry Lynch al veel eerder op dat in dergelijke families naast colorectale tumoren ook bepaalde andere typen tumoren voorkwamen, met als belangrijkste type endometrium kanker. Omdat Dr. Lynch dit heeft ontdekt, spreken wij nu over Lynch-syndroom. Mede als gevolg van zijn bevindingen werden in 1999 nieuwe criteria opgesteld om het kankersyndroom klinisch te definiëren. De criteria verschillen slechts in één opzicht, namelijk dat voor dikke darm kanker nu ook kan worden gelezen syndroomgerelateerde tumor (Amsterdam II criteria).

Bij Lynch-syndroom-patiënten zijn sinds 1993 in MMR-genen kiembaanmutaties gevonden. MMR-genen coderen voor eiwitten die betrokken zijn bij het herstel van DNA-fouten die optreden tijdens de DNA-verdubbeling (tijdens de celdeling). Deze 4 genen heten MLH1, MSH2, MSH6 en PMS2.

Naast deze 4 zijn er nog andere 5 MMR-genen geïdentificeerd: MSH3, MSH5, MLH3, PMS1, en EXO1. In deze genen zijn nog geen bewezen ziekteverwekkende mutaties aangetroffen. Wel werden DNA-varianten gevonden in MLH3 en EXO1, maar of die ook echt de ziekte kunnen veroorzaken is nog onduidelijk.

Tot nu toe zijn honderden verschillende erfelijke mutaties gerapporteerd bij de database van de "International society for hereditary gastrointestinal tumors". Daarvan werden de meeste geïdentificeerd in MSH2 en in MLH1 (ongeveer 90%). Mutaties in MSH6 en PMS2 vormen een minderheid. Het gaat hier voornamelijk om kleine mutaties; er zijn echter ook grote gaten (die noemen we deleties) in het DNA gevonden.

Tumoren ontwikkelen zich niet als gevolg van de MMR-mutatie zelf maar zijn het gevolg van fouten in de DNA-sequenties van belangrijke genen die niet worden hersteld. Veelal treden fouten op in repeterende sequenties, vaak door "slippage" van DNA-polymerases. Het valt te vergelijken met een ritssluiting die een aantal tanden overslaat. Een dergelijke repeterende sequentie komt bijvoorbeeld voor in het TGF β IIIR gen, een gen dat heel belangrijk is voor het normaal functioneren van een cel. Fouten in repeterende sequenties van belangrijke genen worden veelvuldig aangetroffen in tumoren met MMR-defecten.

Ook vinden mutaties plaats en inbouw van extra bouwstenen of juist minder bouwstenen, in repeterende sequenties buiten de genen (microsatellieten). Deze kunnen worden waargenomen door tumor-DNA te vergelijken met DNA uit normaal weefsel van dezelfde patiënt. Als er een verschil wordt waargenomen tussen tumor- en normaal weefsel spreken wij van instabiliteit van de microsatelliet (afgekort als MSI). Als wij kijken naar patiënten met MSH2- of MLH1-mutaties dan blijken vrijwel alle tumoren van deze patiënten MSI te vertonen. MSI wordt dan ook niet alleen gezien als een aanwijzing voor de betrokkenheid van een mismatch repair gen bij het ontstaan van de tumor in het algemeen, maar meer specifiek voor de betrokkenheid van MSH2 of MLH1 in de tumorontwikkeling. In ongeveer 50% van de Lynch-syndroom families (families die voldoen aan de Amsterdam II criteria), waarin patiënten MSI-positieve tumoren hebben worden mutaties in MSH2 en MLH1 gevonden. Bij families die niet geheel voldoen aan de Lynch-syndroom criteria zakt het percentage MSH2- en MLH1-mutaties naar ongeveer 10%.

In zowel echte Lynch-syndroom-families als in Lynch-syndroom-achtige families waarbij tumoren geen MSI laten zien (MSI-low zijn), worden dus zelden MMR (lees hier MSH2 en MLH1) mutaties gevonden. Het blijkt dat 10-15% van de Lynch-syndroom-patiënten evenals een meerderheid van de Lynch-syndroom-achtige patiënten tumoren heeft zonder MSI. Aan deze mensen kon daarom met betrekking tot DNA-diagnostiek weinig tot niets geboden worden. Wij vroegen ons echter af of het ontbreken van MSI in een tumor inderdaad betekent dat er geen MMR-genen betrokken zijn bij de tumorontwikkeling. Omdat MSI wordt bepaald met behulp van een lengteanalyse van microsatellieten, worden veranderingen die niet gepaard gaan met lengteveranderingen, niet opgemerkt. Het zou dus kunnen, dat in een tumor zonder MSI een type MMR-gen gemuteerd is dat normaal andersoortige mutaties repareert. Argumenten ten gunste van deze hypothese werden in de literatuur gevonden in onderzoeken uitgevoerd bij gisten en muizen.

Deze onderzoeken wezen uit dat reparatie van mismatches tussen twee basen, zonder dat er sprake is van een deletie of insertie, wordt uitgevoerd door onder andere MSH6. Gezien deze bevindingen zou in de Lynch-syndroom- en Lynch-syndroom-achtige families met MSI-negatieve tumoren (dus geen tekenen van instabiliteit) MSH6 wel eens gemuteerd kunnen zijn. Om deze hypothese te toetsen, hebben wij alle patiënten die ook voor MSH2 en MLH1 zijn gescreend ook geanalyseerd op MSH6-mutaties. Dit is gedaan in Lynch-syndroom-families en Lynch-syndroom-achtige families met zowel MSI-positieve als MSI-negatieve tumoren. Wij vonden 10 MSH6-mutaties in de onderzochte patiëntengroep. Verder valt op dat de meeste mutaties inderdaad worden gevonden in de MSI-groep zonder instabiliteit met uitzondering van 2 tumoren. Naar aanleiding van ons onderzoek zijn door veel andere groepen vergelijkbare patiëntengroepen gescreend. De meeste MSH6-tumoren bleken echter wel MSI te hebben. MSI lijkt dus nog steeds de goede graadmeter voor de aanwezigheid van een mutatie in een van de MMR-genen.

Omdat de mutaties zorgen voor het verlies van het eiwit wordt ook gekeken in de tumor of 1 van de MMR-eiwitten misschien afwezig is. Dit onderzoek geeft een directe aanwijzing over welk gen mogelijk gemuteerd is. Dit onderzoek is dan ook samen met het MSI-onderzoek standaard opgenomen in de diagnostiek. Beide onderzoeken bepalen of er DNA-onderzoek dient plaatsvinden en welke genen moeten worden onderzocht.

Robert Hofstra

Hoogleraar ontwikkeling genetica bij de mens
Afdeling Genetica, UMC Groningen