VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Metoder til identifikation af kræftgener

Professor Torben A. Kruse

Odense Universitetshospital, Afdeling for Biokemi, Farmakologi og Genetik, og
Syddansk Universitet, Klinisk Institut

Som beskrevet i dette nummer af Ugeskriftet [1] er det ved genetisk epidemiologiske metoder såsom tvillingeundersøgelser muligt at påvise, at medfødte genetiske faktorer spiller en rolle ved udvikling af cancer, eller sagt på en anden måde så findes der genvarianter/genmutationer, som øger kræftrisikoen. Det leder naturligt til de næste spørgsmål: Hvilke genvarianter drejer det sig om, og hvordan kan vi finde disse? På grund af genomets høje grad af kompleksitet er det ingen enkel opgave. Da der i genomet er 3 mia. basepar, svarer problemet til at skulle finde en trykfejl i bøger på en ca. 40 m lang boghylde. Sagen kompliceres yderligere af, at ovennævnte genetisk epidemiologiske metoder typisk kan vise noget om heritabiliteten, dvs. graden af arvelighed, mens man vha. dem normalt ikke er i stand til med større sikkerhed at afgøre, hvor mange gener der er involveret, hvilke mekanismer der ligger bag, eller hvor stor en sygdomsrisiko der kan tilskrives den enkelte genvariant.

Det betyder, at det er nødvendigt at benytte flere strategier for at belyse problemet. De to mest benyttede strategier er koblingsstudier i familier og associationsstudier, som der vil blive fokuseret på i denne artikel. For en mere udtømmende gennemgang af metoder til identifikation af sygdomsgener henvises til [2].

Associationsstudium

Den umiddelbart mest direkte metode, når man ønsker at afgøre, om en given genvariant øger kræftrisikoen, er at bestemme hyppigheden af varianten blandt kræftpatienter og derefter sammenligner den med hyppigheden i en kontrolgruppe, altså konstatere om der er association mellem genvariant og kræftsygdom. Fordelen ved denne metode er, at det potentielt er muligt at identificere genvarianter, der kun øger kræftrisikoen i begrænset omfang og derfor ikke giver anledning til tydelig familiær forekomst af sygdommen. Der er dog adskillige vanskeligheder og problemer ved denne metode. For det første er der et meget stort antal mulige gener at undersøge (det er estimeret, at genomet indeholder 20.000-25.000 gener), og de har typisk hver omkring ti genvarianter af en vis hyppighed.

Hvis der observeres en tilsyneladende signifikant forskel i genvarianthyppighed mellem case- og kontrolgruppe kan der være flere mulige forklaringer:

- Den mest interessante mulighed er naturligvis, at det drejer sig om en funktionel betydningsfuld variant, som i sig selv forårsager en medfødt forhøjet kræftrisiko.
- Det kan være en falsk positiv. Når man tænker på det store antal sammenligninger, der hidtil er foretaget, og specielt det meget store antal, som fremover med ny teknologi vil blive foretaget, er det meget vanskeligt at finde et rimeligt signifikansniveau. En betydelig del af de publicerede associationer er uden tvivl falske positive, hvilket er en af grundene til, at de som oftest er vanskelige at reproducere.
- Det kan dreje sig om en signifikant forskel mellem to grupper, som ikke bør sammenlignes. Hvis der ikke udvises den allerstørste omhyggelighed ved udvælgelsen af en relevant kontrolgruppe, kan det medføre forskel i genvarianthyppigheder, som ikke har noget med kræft at gøre. Hvis f.eks. sygdommen optræder hyppigere i en etnisk undergruppe af befolkningen, vil en hvilken som helst genvariant, som er hyppigere i denne undergruppe tilsyneladende udvise association til kræft.
- Endelig kan en reel forskel forekomme, selv om den undersøgte variant ikke har nogen funktionel betydning, hvis den på kromosomet sidder tæt på den sygdomsdisponerende variant, og de to varianter ofte »følges ad« og dermed udgør en såkaldt koblingsuligevægt.

Der er yderligere en komplicerende faktor, som ofte overses. For at et associationsstudium giver nogen mening, er det en forudsætning, at den disponerende genvariant er af en vis hyppighed blandt afficerede. Dette er den såkaldte *common variant, common disease*-hypotese. Hos hver af os findes der, ud over hyppige genvarianter, også sjældne genvarianter, som kun forekommer hos enkelte individer eller familier. I hvor stor udstrækning sådanne mere private, sjældne genvarianter er det genetiske bidrag til kræftsygdomme, er endnu uvist. Vi kan forestille os, at sekvensændringer i et bestemt gen øger risikoen for kræft, men at der kan være tale om mange, måske hundredvis af forskellige varianter, således at en gruppe ubeslægtede syge typisk har forskellige sygdomsdisponerende varianter af dette gen. I den situation vil det være umuligt at identificerere genet ved associationsstudier. At denne meget heterogene forklaringsmodel ikke er urealistisk, understreges af, at det faktisk er den forklaring, der er fundet at være den rigtige ved en række arvelige sygdomme, herunder også kræftsygdomme (se nedenfor).

Koblingsanalyse

For genvarianter, der i sig selv medfører en meget stor kræftrisiko, er der en anden strategi, nemlig koblingsanalyse i familier, idet koblingsanalysen kan lede os på sporet af genvarian-

ten. Nedarvningen af sådanne højpenetrante genvarianter vil medføre tydelig familiær forekomst af sygdommen, og sygdomstilfældene i den enkelte familie vil afspejle nedarvningen af den sygdomsfremkaldende genvariant. Det er muligt at analysere familiemedlemmer for flere hundrede genetiske markører jævnt fordelt over hele genomet og derved følge nedarvningen af alle dele af arvemassen i familien. Er der en markør, som nedarves i familien efter samme mønster som sygdommen, må den sygdomsfremkaldende genvariant være beliggende tæt på markøren, og der er således udpeget en kandidatregion, som må indeholde det relevante gen. Det er herefter »kun« nødvendigt at undersøge det begrænsede antal gener, der ligger i denne region, nærmere, i stedet for de tusindvis af potentielle kandidatgener. Det er denne metode, der kaldes positionel kloning, hvor man først lokaliserer sygdomsgenet og derefter identificerer det blandt et begrænset antal kandidater.

En række relativt sjældne kræftsygdomme er meget arvelige, dvs. de skyldes næsten udelukkende variation/mutation af et enkelt gen. Det gælder f.eks. familiær adenomatøs polypose. Sygdomsgenet blev her først lokaliseret til den lange arm af kromosom 5, hvorefter genet blev identificeret som beskrevet ovenfor.

Brystkræft, tarmkræft og æggestokkræft

Hyppige former for kræft, såsom brystkræft, tarmkræft og æggestokkræft, er tilsyneladende ikke arvelige på samme måde. Dels ses der ofte sporadiske sygdomstilfælde, dvs. enkeltstående kræfttilfælde i familier, og dels viser tvillingeundersøgelser heller ikke 100% konkordans mellem enæggede tvillinger. På den anden side ses der ofte familier med adskillige tilfælde. For 15-20 år siden blev det diskuteret, om dette kunne være tegn på arvelige tilfælde, eller om det blot drejede sig om tilfældige ophobninger af hyppige sygdomme i enkelte familier. Resultaterne af store befolkningsbaserede segregationsanalyser, dvs. omhyggelige analyser af forekomstmønstret af f.eks. brystkræft, tydede på, at en undergruppe af brystkræfttilfældene var arvelige og derfor gav anledning til familiær ophobning [3]. Der blev i en række lande efterfølgende foretaget omfattende markørundersøgelser og koblingsanalyser i større brystkræftfamilier, og i 1994 rapporterede *Mary Claire King et al* om en kobling mellem markører på kromosom 17 og sygdommen i ca. halvdelen af de undersøgte brystkræftfamilier [4]. Kort efter rapportede en canadisk/fransk gruppe, at kromosom 17-genet også øgede risikoen for æggestokkræft [5]. I 1996 blev det klart, at en del af forekomsten af brystkræft i de familier, hvor der ikke fandtes nogen kobling til kromosom 17, kunne forklares ved et brystkræftdisponerende gen på kromosom 13 [6]. En ihærdig international indsats førte efterfølgende til identifikation af begge gener: *BRCA1* og *BRCA2* [7, 8]. I Danmark som i en række andre lande undersøges disse gener i dag for mutationer i forbindelse med risikovurdering og genetisk rådgivning i familier med gentagne tilfælde af bryst- og æggestokkræft. Det har bl.a. ført til en langstrakt kamp om rettighederne til disse gener specielt ved de europæiske patentmyndigheder. Denne sag har tidligere været beskrevet i Ugeskriftet [9].

For arvelige undergrupper af den almindelige tarmkræft (såkaldt hereditær nonpolypøs kolorektal cancer (HNPCC)) blev der på samme måde fundet kobling til regioner på kromosomerne 2 og 3, og efterfølgende blev generne MSH2 og MLH1 [10, 11], som begge er involveret DNA-*repair*, fundet. Mutationsundersøgelser af disse gener anvendes ligeledes ved udredning, risikovurdering og rådgivning af familier med mange kræfttilfælde.

Fremtidige muligheder

Der vil uden tvivl også i de kommende år blive identificeret gener, som, når de muteres, medfører høj kræftrisiko. Men da disse som beskrevet ovenfor medfører tydelig familiær forekomst, og der i mere end ti år har været udmærkede metoder, som man kan lokalisere sådanne gener med, og stadigt forbedrede muligheder for efterfølgende at identificere disse, er det nok begrænset, hvor mange spektakulære gennembrud, der kan forventes på dette område. Når det drejer sig om svagerevirkende gener, de såkaldte susceptibilitetsgener, er sagen en anden. De tekniske muligheder for at teste meget store antal af genvarianter med et begrænset forbrug af tid og penge er kraftigt stigende i disse år. Der er derfor næppe nogen tvivl om, at de kommende år vil bringe os en betydelig bedre forståelse af medfødt kræftrisiko, også hvor denne er et resultat af samspil mellem adskillige gener og miljøfaktorer.

Korrespondance: *Torben A. Kruse,* Afdeling for Biokemi, Farmakologi og Genetik, Odense Universitetshospital, DK-5000 Odense C.
E-mail: torben.kruse@ouh.fyns-amt.dk

Antaget: 10. maj 2006
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Olsen JH, Hahnemann JMD, Brøndum-Nielsen K. Genetisk epidemiologi og kræft. Ugeskr Læger 2006;168;2344-8.
2. Ewald H, Kruse TA. Genetisk mapning af sygdomsgener. Ugeskr Læger 2000;162:4129-33.
3. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. Am J Hum Genet 1991;48:232-42.
4. Hall JM, Lee MK, Newman et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. Science 1990;250:1684-9.
5. Narod SA, Feunteun J, Lynch HT et al. Famlial breast-ovarian cancer locus on chromosome 17q12-q23. Lancet 1991;338:82-83
6. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. Science 1994; 265:2088-90.
7. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science 1994;266:66-71.
8. Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature 1995;378:789-92.
9. Kruse TA. Monopol på Gendiagnostik? Ugeskr Læger 2002;164:1653-4.
10. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N et al. Mutations of a MutS homolog in hereditary non-polyposis colorectal cancer. Cell 1993;75:1215-25.
11. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei Y-F et al. Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. Science 1994;263:1625-9.