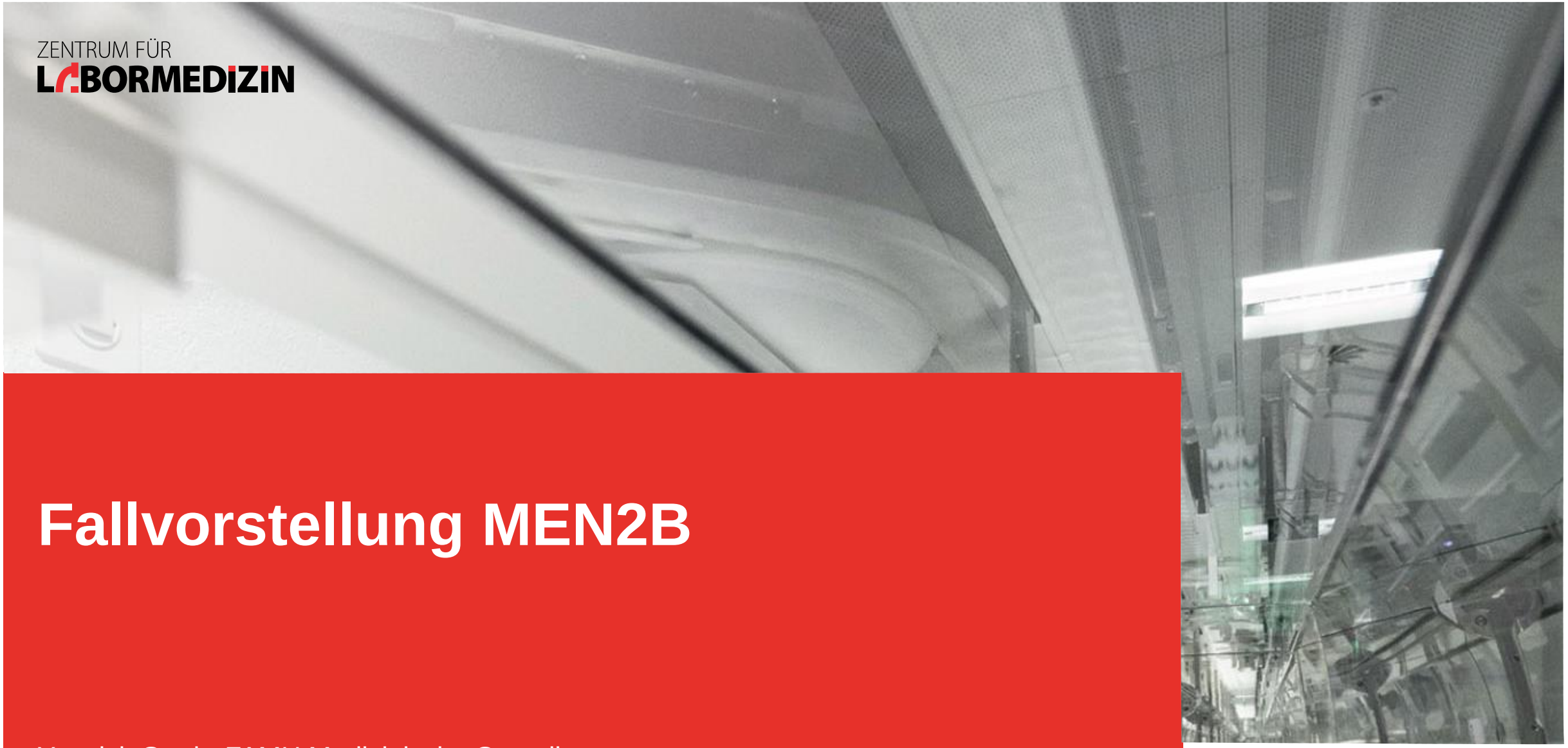
ZENTRUM FÜR
LABORMEDIZIN



Fallvorstellung MEN2B

Yannick Gerth, FAMH Medizinische Genetik
Zentrum für Labormedizin, Frohbergstrasse 3, 9000 St.Gallen
info@zlmsg.ch

23. Januar 2024

Fall: 2023.09.14.1610

- ♀ / *2012
- Frage vom OKS nach «rascher» Genetik bzgl. MEN2B, MEN2A, Mucosal neuroma syndrom, NF1
- Klinische Angaben:

Klinische Angaben / Bemerkungen / Diagnosen

Indexpatient*in: ☒ Ja ☐ Nein

Falls Nein: Name / Geburtsdatum / Verhältnis zum Indexpatienten:

Ethnie: CH

Blutsverwandtschaft der Eltern: ☐ Ja ☐ Nein

Patient*in ist: ☐ gesund/präsymptomatisch ☒ diagnostisch/symptomatisch (bitte beschreiben)

Hochverdacht MEN2B
Prominente corneale Nervenfasern
Lippenfibrome
Zungenfibrome
Lidfibrome → diffuses kutanes Neurofibrom, breite Lidknoten
grobe Gesichtszüge

Tumorpathologie / vorgängige Diagnostik:
(z.B. MSI, Immunhistochemie...)

V.a. medulläres Schilddrüsen-CA

Stammbaum / Familienanamnese:

Suggestive Findings

MEN2 includes the phenotypes MEN2A; familial medullary thyroid carcinoma (FMTC), which may itself be a variant of MEN2A; and MEN2B.

MEN2A **should be suspected** in individuals with one or more specific endocrine tumor(s): medullary thyroid carcinoma (MTC), pheochromocytoma, or parathyroid adenoma/hyperplasia.

FMTC **should be suspected** in families with more than one individual diagnosed with MTC in the absence of pheochromocytoma or parathyroid adenoma/hyperplasia.

MEN2B **should be suspected** in individuals with distinctive facies including lip mucosal neuromas resulting in thick vermilion of the upper and lower lip, mucosal neuromas of the lips and tongue, medullated corneal nerve fibers, marfanoid habitus, and MTC.

GeneReviews: NBK1257

ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN

Genotyp-Phänotyp Korrelation

Multiple Endocrine Neoplasia Type 2: Genotype-Phenotype Correlations

Affected Codon / Predicted Protein Change	Exon	ATA Risk of MTC	MEN2 Subtype	PCC	HPT	Additional Clinical Features
p.Cys609	10	MOD	MEN2A; FMTC	+	+	HSCR
p.Cys611	10	MOD	MEN2A; FMTC	+	+	HSCR
p.Cys618	10	MOD	MEN2A; FMTC	+	+	HSCR
p.Cys620	10	MOD	MEN2A; FMTC	+	+	HSCR
p.Cys630	11	MOD	MEN2A	+	+	–
p.Cys634	11	H	MEN2A	+	+	CLA
p.Leu790	13	MOD	MEN2A	+	–	PTC
p.Val804Leu	14	MOD	MEN2A	+	+	–
p.Val804Met	14	MOD	MEN2A	+	+	PTC; CLA
p.Ala883Phe 2 - 3 %	15	H	MEN2B	+	–	–
p.Met918Thr ~ 95 %	16	HST	MEN2B	+	–	–

+ = present; – = absent; ATA = American Thyroid Association; CLA = cutaneous lichen amyloidosis; FMTC = familial medullary thyroid carcinoma; H = high risk: HPT = hyperparathyroidism; HST = highest risk; HSCR = Hirschsprung disease; MEN2 = multiple endocrine neoplasia; MEN2A = multiple endocrine neoplasia type 2A; MEN2B = multiple endocrine neoplasia type 2B; MOD = moderate risk; MTC = medullary thyroid carcinoma; PCC = pheochromocytoma; PTC = papillary thyroid cancer

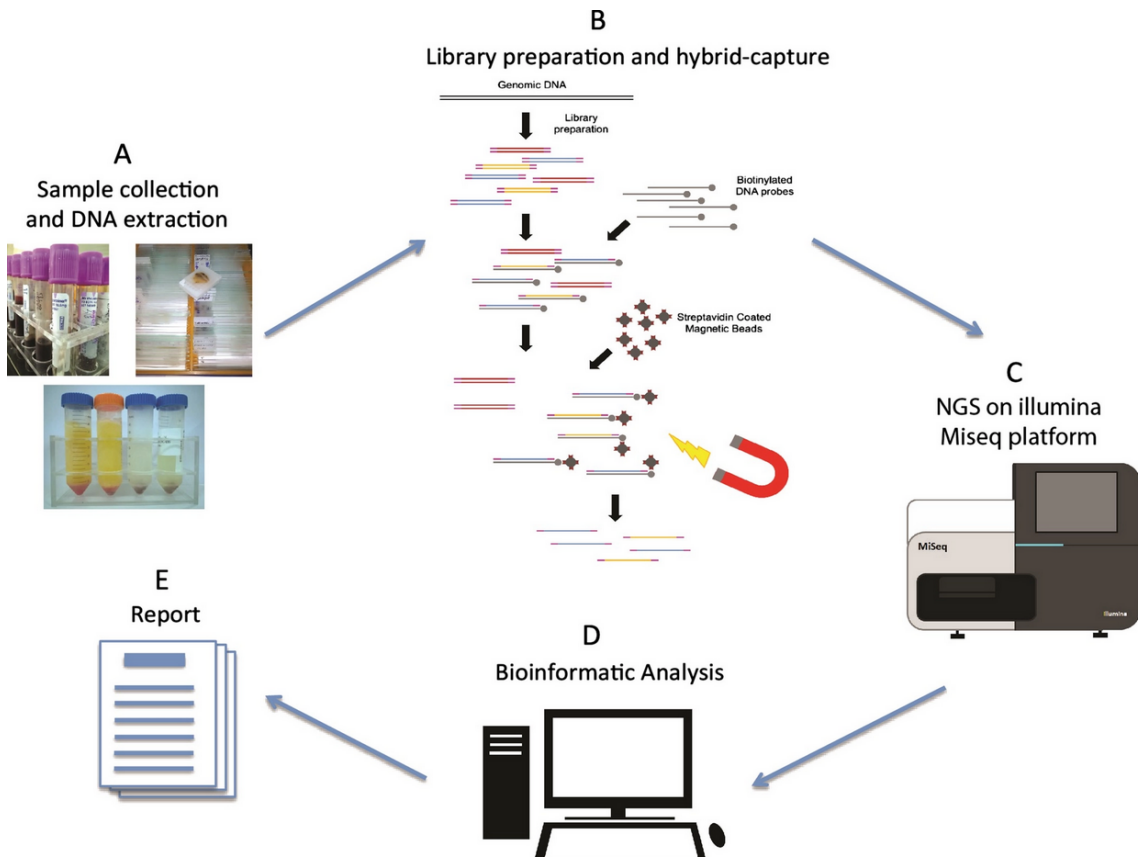
GeneReviews: NBK1257

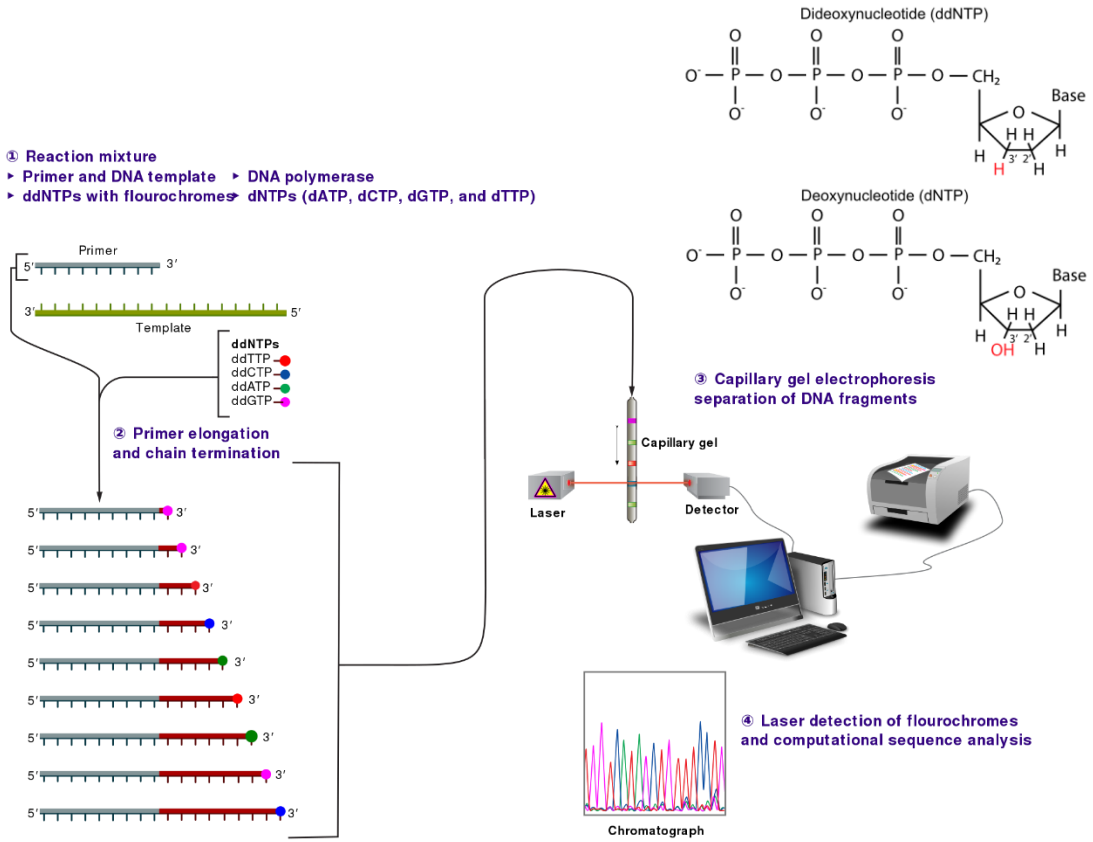
→ Gezielte Testung der p.Met918Thr Variante mittels Sanger-Sequenzierung

(statt breiter Testung mittels NGS-Panel)

ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN

NGS vs. Sanger-Sequenzierung





+ Gesamte kodierende Sequenz mehrerer Gene gleichzeitig

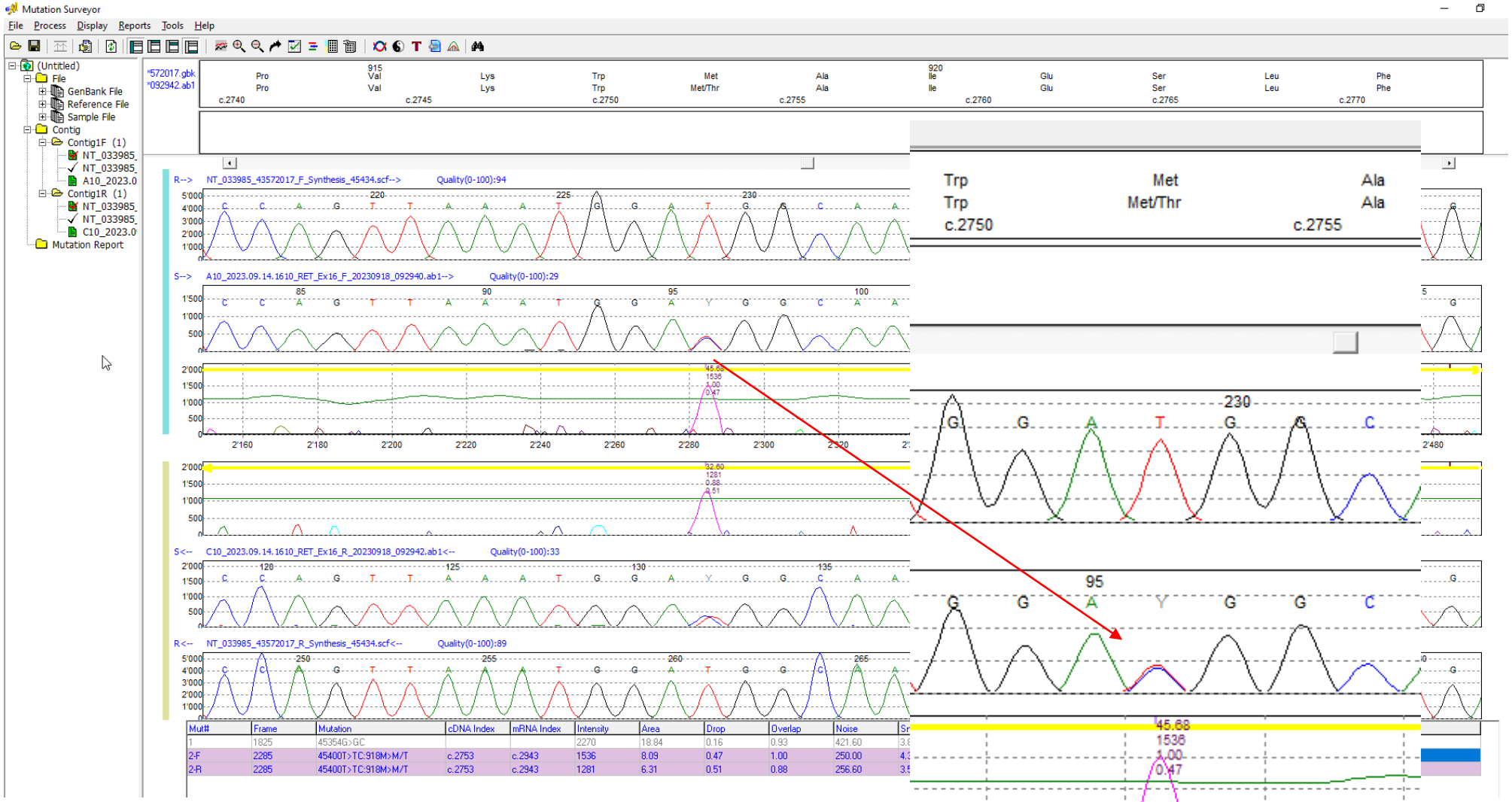
- Analyse dauert länger, da komplexer und Pooling mehrerer Proben

+ Schnelles Resultat, genau, flexibel

- 1 Sequenz/Ansatz, 600-900bp Fragment

ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN

Sanger-Sequenzierung Exon 16 des *RET*-Gens



Referenz-Sequenz (Wildtyp)

Vorwärts-Sequenz (Patientin)

Heterozygote Mutation: roter (=T, Thymin) und blauer (=C, Cytosin) Peak überlagert bei Position 2753

Rückwärts-Sequenz (Patientin)

Referenz-Sequenz (Wildtyp)

- NM_020975.6(*RET*): c.2753T>C p.(Met918Thr)
  Heterozygot (auf einem Allel)

ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN

NM_020975.6(RET):c.2753T>C (p.Met918Thr)

Cite this record

Announcing changes to support somatic variant classifications

varsome | ret c.2753T>C | hg19 | Search | Editions | About | Community | News | Demo | Yannick Gerth

chr10-43617416-T-C (RET:p.M918T)
2 users classified this variant as Pathogenic.

Submit to ClinVar | Link publication | Classify | Share | API Link | Favorites

Interp
Revie
Subm
First i
Most
Last e
Acces
Variat
Descr

Variant
Conditi
Gene(s)

Germline Classification | View All

Pathogenic 18 points = 18 P - 0 B

Gene RET is associated with cancer

Submit to ClinVar

NM_020975.6, MANE Select, protein length 1115, gene RET, missense variant

Users of VarSome Premium benefit from additional data sources included in the automated classification.

Sample Information	Findings
Mode of Inheritance	AD/AR, based on gene information from CGD, ClinGen Disease Validity, GenCC, Mondo, PanelApp and gene2phenotype.

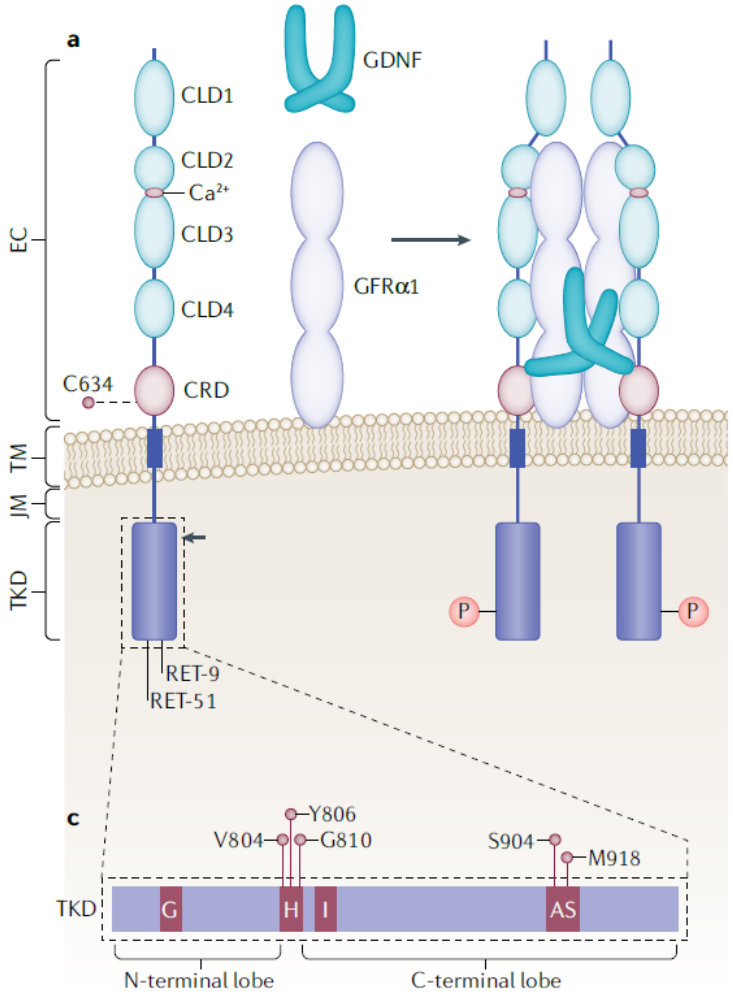
Automated criteria | Show summary view | Enable clinical evidence

Rule	Explanation
PS3 Very Strong	ClinVar classifies this variant as Pathogenic, 2 stars (multiple consistent, reviewed Jul '23, 37 submissions), backed by functional studies (requires user validation) mentioned in 9620546, and also citing 11 articles (34881033, 34629742, 31510104, 30660595, 29656518 and 6 more). UniProt Variants classifies this variant as Pathogenic, backed by functional studies (requires user validation) mentioned in 9620546, and also citing 11 articles (24694336, 24466223, 23907151, 23264394, 22648435 and 6 more), associated with Hirschsprung disease, susceptibility to, 1.
PP3 Strong	MetaRNN = 0.99 is greater than 0.939 ⇒ strong pathogenic.
PM1 Moderate	Hot-spot of length 17 amino-acids has 19 missense/in-frame variants (4 pathogenic variants, 15 uncertain variants and no benign), which qualifies as moderate pathogenic. UniProt protein RET_HUMAN domain 'Protein kinase' has 371 missense/in-frame variants (45 pathogenic variants, 324 uncertain variants and 2 benign variants), which qualifies as supporting pathogenic.
PM5 Moderate	Alternative variant chr10:43617415 A⇒G (Met918Val) is classified Likely Pathogenic, 2 stars, by ClinVar (confirmed using the germline classifier).
PM2 Supporting	Variant not found in gnomAD genomes, good gnomAD genomes coverage = 33.8. GnomAD exomes homozygous allele count = 0 is less than 2 for AD/AR gene RET, good gnomAD exomes coverage = 99.4.
PP5 Supporting	VarSome users have classified this variant as Pathogenic, citing 29912274, and as Pathogenic, citing 29134959.
PVS1 Very Strong	Not a null variant (missense).

Show failed criteria

(May 21, 2023)	single submitter (ACMG Guidelines, 2015) Method: clinical testing	Affected status: yes Allele origin: germline	Cytogenetics, Department of Anatomy, All India Institute of Medical Sciences (AIIMS) Accession: SCV003930405.1

RET-Gen (*ret proto-oncogen*)



mutation of these residues might cause resistance to some kinase inhibitors. M918, whose mutation is associated with sporadic medullary thyroid carcinoma and patients with MEN2B syndrome, is also shown. AS, activation segment; CLD, cadherin-like domain; CRD, cysteine-rich domain; EC, extracellular region; G, glycine-rich loop mediating binding to the nucleotide; H, hinge; I, kinase insert; JM, juxtamembrane segment; TM, transmembrane segment.

- Rezeptor tyrosin kinase
- Signaltransduktion, Regulation von Zellwachstum und –proliferation, Differenzierung
- p.Met918Thr in Exon 16 → erhöhte ATP-Bindungs- und Autophosphorylations-Aktivität → unabhängige Aktivierung der RET Kinase
- Gain-of-function Mutation
- M918T auch häufig als somatische (Tumor-)Variante bei sporadischen MTC

ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN

Salvatore et al., *Nat Rev Endocrinol*, 2021, PMID: 33603219

Tagesnummer:	2023.09.14.1610	Probeneingang:	14.09.2023
Untersuchtes Material:	EDTA-Blut	Befunddatum:	18.09.2023
Klinische Angaben:	V.a. medulläres Schilddrüsen-Karzinom (MTC); prominente corneale Nervenfasern, Lippenfibrome, Zungenfibrome, Lidfibrome (diffuses kutanes Neurofibrom, keine Lischknoten); grobe Gesichtszüge: hochgradiger Verdacht auf MEN2B.		

Durchgeführte Analysen

DNA-Extraktion aus Blutprobe. PCR-Amplifikation und bidirektionale Sanger-Sequenzierung von Exon 16 des *RET*-Gens (*ret proto-oncogene*; HGNC-ID: 9967; Referenz-Sequenz: NM_020975.6) zum Nachweis/Ausschluss der bei MEN2B sehr häufig beschriebenen Sequenzvariante c.2753T>C p.(Met918Thr).

Resultat

In der zugesandten Blutprobe wurde die *RET*-Sequenzvariante NM_020975.6(*RET*): c.2753T>C heterozygot nachgewiesen.

Diese Missense Variante führt zu einem Austausch der hochkonservierten Aminosäure Methionin zu Threonin bei Kodon 918, **p.(Met918Thr)** und wurde bereits in der Literatur und in dedizierten Datenbanken mehrfach beschrieben (Carlson K M et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; PMID: 7906417; ClinVar-ID: 13919; LOVD-ID: RET_000025). Gemäss ACMG-Kriterien wird die Variante als **pathogen** eingestuft (Kriterien: PS3_vs, PM1_mod, PM2_sup, PM5_mod, PP3_str, PP5_sup).

Interpretation

[redacted] ist heterozygot für die pathogene *RET*-Sequenzvariante c.2753T>C p.(Met918Thr). Das molekulargenetische Resultat bestätigt somit die klinische Verdachtsdiagnose einer multiplen endokrinen Neoplasie Typ 2B (MEN2B; OMIM-Nr.: #162300).

The proportion of individuals with MEN2B caused by a *de novo* germline pathogenic variant is 50%. The majority of *de novo* pathogenic variants are paternal in origin, but maternal origin has been reported.

TABLE 4. RELATIONSHIP OF COMMON *RET* MUTATIONS TO RISK OF AGGRESSIVE MTC IN MEN2A AND MEN2B, AND TO THE INCIDENCE OF PHEO, HPTH, CLA, AND HD IN MEN2A

RET *mutation*[a]	*Exon*	*MTC risk level*[b]	*Incidence of PHEO*[c]	*Incidence of HPTH*[c]	*CLA*[d]	*HD*[d]
G533C	8	MOD	+	–	N	N
C609F/G/R/S/Y	10	MOD	+/++	+	N	Y
C611F/G/S/Y/W	10	MOD	+/++	+	N	Y
C618F/R/S	10	MOD	+/++	+	N	Y
C620F/R/S	10	MOD	+/++	+	N	Y
C630R/Y	11	MOD	+/++	+	N	N
D631Y	11	MOD	+++	–	N	N
C634F/G/R/S/W/Y	11	H	+++	++	Y	N
K666E	11	MOD	+	–	N	N
E768D	13	MOD	–	–	N	N
L790F	13	MOD	+	–	N	N
V804L	14	MOD	+	+	N	N
V804M	14	MOD	+	+	Y	N
A883F	15	H	+++	–	N	N
S891A	15	MOD	+	+	N	N
R912P	16	MOD	–	–	N	N
M918T	16	HST	+++	–	N	N

[a]The references for each of the *RET* mutations can be found in the Supplementary Information, where all reported *RET* mutations in MTC are listed.
[b]Risk of aggressive MTC: MOD, moderate; H, high; HST, highest.
[c]Incidence of PHEO and HPTH: + = ~ 10%; ++ = ~ 20%–30%; +++ = ~ 50%.
[d]Y, positive occurrence; N, negative occurrence.

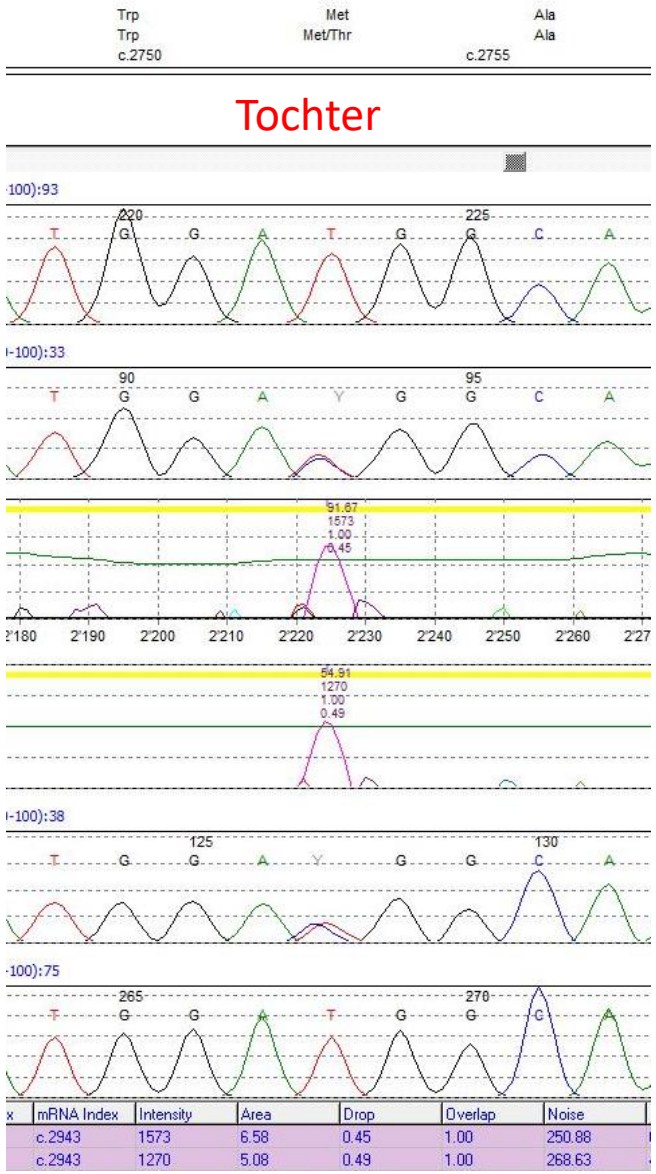
Neumutationen (*de novo*) sind bei MEN2B-Patient*innen relativ häufig (ca. 50-75%), die spezifische Testung der Eltern bzgl. der Variante wird empfohlen. Die *RET*-Sequenzvariante c.2753T>C p.(Met918Thr) wird mit einer sehr hohen Risikostufe für ein aggressives Schilddrüsenkarzinom (ca. 100%) und einer Inzidenz von ca. 50% für Phäochromozytome assoziiert (Wells SA et al.; *Thyroid*, 2015, PMID: 25810047). Somit sind entsprechende medizinische Vorsorgeuntersuchungen und Interventionen (jährliche biochemische Testung bzgl. Phäo/HPT ab 11 Jahren, prophylaktische Chirurgie im 1. Lebensjahr) indiziert (s.a. GeneReviews: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1257/).

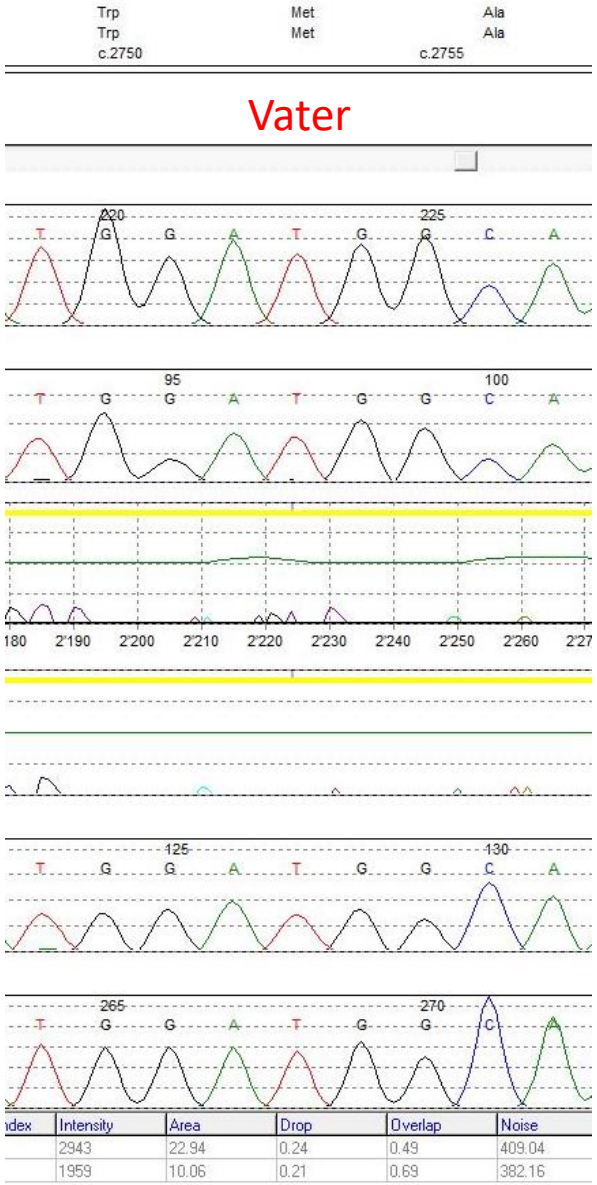
Bemerkung

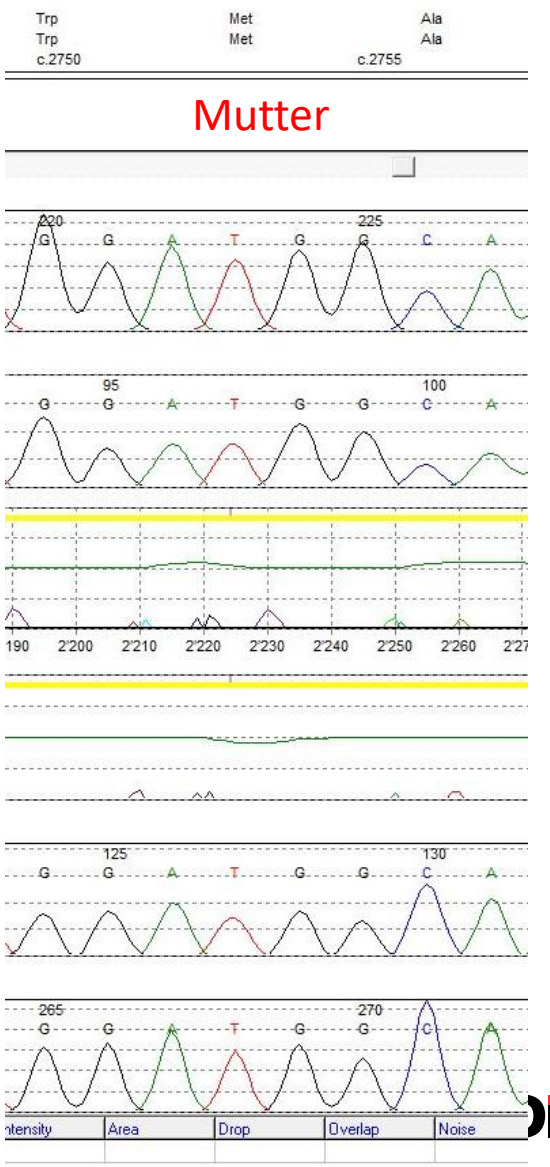
Aufgrund der Bedeutung für die Patientin und ihrer Familie (de novo-Testung, Möglichkeit der Trägertestung, prophylaktische Screening-Untersuchungen resp. Chirurgie), sollte das Resultat im Rahmen einer genetischen Beratung mitgeteilt werden. Entsprechend dem autosomal-dominanten Erbgang des MEN2B-Syndroms, wird die pathogene *RET*-Sequenzvariante mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% an die Nachkommen weitervererbt. Wir empfehlen deshalb auch eine genetische Beratung der Familienangehörigen, damit auch ihnen auf Wunsch eine entsprechende Diagnostik zukommen kann.
Bei Fragen stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

ZENTRUM FÜR
LABORMEDIZIN

Testung der Eltern







Herzlichen Dank!

Zentrum für Labormedizin
Yannick Gerth MSc
FAMH Medizinische Genetik

yannick.gerth@zlmsg.ch

071 494 93 68

Zentrum für Labormedizin
Ausbildungszentrum für FAMH, FMH, FVH, BMA und BMLD

www.zlmsg.ch

akkreditiert nach ISO/IEC17025 (STS 0155)
KCHI Klinische Chemie, Hämatologie und Immunologie
HM Humanmedizinische Mikrobiologie
VD Veterinärdiagnostik