

NOVEMBRE 2021

RECOMMANDATIONS ET RÉFÉRENTIELS

ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL / argumentaire

L'Institut national du cancer (INCa) est l'agence d'expertise sanitaire et scientifique en cancérologie chargée de coordonner la lutte contre les cancers en France.

Le présent document constitue un référentiel de bonnes pratiques et de prise en charge en cancérologie pris en application du 2° de l'article L.1415-2 du code de la santé publique et a été soumis à la commission des expertises de l'Institut national du cancer en date du 14/09/2021.

Cette expertise sanitaire a été adoptée par décision du Président de l'Institut N° 2021-21 en date du 18/10/2021, publiée au Registre des actes administratifs de l'Institut.

La coordination a été assurée par :

Aurélie Krol, PhD, Chef de projets, Département Biologie, Transfert et Innovations,
Pôle Recherche et Innovation

Sophie Le Ricousse, PhD, Responsable du Département Biologie, Transfert et Innovations,
Pôle Recherche et Innovation

Ce document doit être cité comme suit : © Évaluation du statut MMR tumoral, Collection Recommandations et référentiels, novembre 2021

Ce document est publié par l'Institut national du cancer qui en détient les droits. Les informations figurant dans ce document peuvent être réutilisées dès lors que 1) leur réutilisation entre dans le champ d'application de la loi N° 78-753 du 17 juillet 1978, 2) ces informations ne sont pas altérées et leur sens dénaturé et 3) leur source et la date de leur dernière mise à jour sont mentionnées.

Ce document est téléchargeable sur e-cancer.fr

NOVEMBRE 2021

ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL

ARGUMENTAIRE

Le présent document constitue un référentiel de bonnes pratiques et de prise en charge en cancérologie pris en application du 2° de l'article L.1415-2 du code de la santé publique et a été soumis à la commission des expertises de l'Institut national du cancer en date du 14/09/2021. Cette expertise sanitaire a été adoptée par décision du Président de l'Institut N° 2021-21 en date du 18/10/2021, publiée au [Registre des actes administratifs de l'Institut](#).

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	6
LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS	8
INTRODUCTION.....	10
MÉTHODOLOGIE D'ÉLABORATION	13
A. Objectifs	13
B. Cibles du document	13
C. Matériel et Méthode	13
Méthodologie	13
Déroulement du travail	14
Modalités de constitution des groupes de rédacteurs et de relecteurs	14
D. Niveau de preuve scientifique et Grade de recommandations	16
E. Gestion des liens d'intérêts des experts.....	17
F. Rôle de l'institut national du cancer.....	18
CHAPITRE 1 : TERMINOLOGIES	19
A. Question traitée dans ce chapitre.....	19
B. Sélection bibliographique	19
C. Question 1 : Quelle terminologie utiliser pour définir le test MMR tumoral et la déficience du système MMR ?.....	19
CHAPITRE 2 : QUEL ÉCHANTILLON TUMORAL UTILISER POUR LE TEST ?	21
A. Questions traitées dans ce chapitre.....	21
B. Sélection bibliographique	21
1. Question 2 :	21
2. Question 3 :	22
3. Question 4 :	22
4. Question 5 :	22
C. Question 2 : Biopsie ou pièce opératoire	23
1. Choix du matériel : biopsie ou pièce opératoire.....	23
2. Études de concordance biopsie-pièce opératoire	23
D. Question 3 : Cas particulier des adénomes colorectaux sans cancer colorectal (CCR)	26
E. Question 4 : Tumeurs primitives, métastases et tumeurs multiples.....	27
1. Tumeur primitive versus métastase	27
2. Cancers colorectaux synchrones avec ou sans métastase.....	27
F. Question 5 : Biopsies liquides.....	29
CHAPITRE 3 : L'IMMUNOHISTOCHIMIE (IHC) DES PROTÉINES DU SYSTÈME MMR	31
A. Questions traitées dans ce chapitre.....	31
B. Sélection bibliographique	31
1. Question 6	31
2. Question 7	31
3. Question 8	32
4. Question 9	32
C. Question 6 : Technique immunohistochimique et choix des anticorps.....	33
1. Technique immunohistochimique	33
2. Combien et quels anticorps faut-il tester ?	33
D. Question 7 : Interprétation du marquage des protéines MMR	34
1. Limite de détection d'une perte d'expression.....	35
2. Pièges et artéfacts	35
3. Assurance qualité	38

E. Question 8 : Rédaction des résultats d'analyse immunohistochimique.....	39
F. Question 9 : Sensibilité/Spécificité de l'IHC pour détecter un statut dMMR	45
CHAPITRE 4 : BIOLOGIE MOLÉCULAIRE TUMORALE DE LA DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR	48
A. Questions traitées dans ce chapitre.....	48
B. Sélection bibliographique	48
1. Question 10	48
2. Question 11	48
3. Question 12	49
C. Question 10 : Quelles techniques MSI-PCR doit-on utiliser pour la détection d'une tumeur MSI ?	49
1. Panels consensuels NCI-Bethesda et NCI-Pentaplex	49
2. Autres panels / marqueurs	54
3. Contrôle qualité.....	55
D. Question 11 : Apport de la technique de séquençage de nouvelle génération (NGS) pour la détection d'une tumeur MSI.....	57
E. Tests MSI sur ADN tumoral circulant (cf. chapitre IID).....	58
F. Question 12 : Tests complémentaires pour le diagnostic différentiel syndrome de Lynch (ou CMMRD) / tumeur sporadique	58
1. Méthylation du promoteur du gène <i>MLH1</i>	59
2. Mutations <i>BRAF</i>	60
3. Analyse de mutation <i>BRAF</i> vs. analyse de méthylation <i>MLH1</i>	61
4. Autres marqueurs potentiels.....	62
CHAPITRE 5 : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL	66
A. Questions traitées dans ce chapitre.....	66
B. Sélection bibliographique	66
1. Question 13	66
2. Question 14	67
3. Question 15	67
4. Question 16	68
5. Question 17	68
6. Question 18	68
C. Introduction.....	68
D. Question 13 : Tests MMR tumoraux et syndrome de Lynch.....	69
1. Caractéristiques épidémiologiques, génétiques et tumorales du syndrome de Lynch et du syndrome CMMRD	69
2. Évaluation de statut MMR tumoral à visée oncogénétique	70
E. Question 14 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral en oncologie digestive.....	71
1. Épidémiologie du statut dMMR dans les tumeurs digestives.....	71
2. Impact pronostique et/ou thérapeutique du statut dMMR dans les tumeurs digestives	73
3. Tests MMR tumoraux à visée oncogénétique	76
4. Indications de détermination à visée pronostique et/ou prédictive du statut dMMR dans les tumeurs digestives.....	77
5. Indications pour de l'immunothérapie dans les cancers digestifs.....	79
6. Recommandations d'évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les tumeurs digestives ...	80
7. Techniques à réaliser pour l'évaluation du statut MMR tumoral des tumeurs digestives	81
8. Algorithmes définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique.....	82
F. Question 15 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les cancers gynécologiques	84
1. Épidémiologie des tumeurs dMMR dans les cancers gynécologiques.....	84
2. Le cancer de l'endomètre	85
3. Autres cancers gynécologiques : Cancer de l'ovaire.....	91
4. Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique.....	93
G. Question 16 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs sébacées et autres tumeurs cutanées.....	94
1. Définition	94
2. Épidémiologie du SMT-SL	95
3. Analyse immunohistochimique des tumeurs cutanées	95
4. Analyse moléculaire des tumeurs cutanées pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL	98
5. Analyse constitutionnelle des patients avec des tumeurs cutanées pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL.....	99
6. Cas particulier des patients transplantés d'organe solide	101

7. Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs sébacées.....	102
H. Question 17 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les cancers urologiques	103
1. Les tumeurs de la voie excrétrice supérieure (TVES).....	103
2. Les cancers de la prostate	105
3. Algorithmes définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers urologiques.....	107
I. Question 18 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs cérébrales primitives.	109
1. Épidémiologie	109
2. Contexte clinique et enjeux	110
3. Recherche de déficience du système MMR dans les tumeurs neuroépithéliales <i>de novo</i>	110
4. Recherche de déficience du système MMR dans les récurrences après traitement au témozolomide.....	114
5. Recherche de déficience du système MMR dans les autres types de tumeurs cérébrales	114
6. Particularités des méthodes diagnostiques dans les tumeurs cérébrales	115
7. Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs cérébrales.....	116
J. Question 13 (suite) : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les autres cancers.	116
CHAPITRE 6 : INDICATIONS DE CONSULTATION ONCOGÉNÉTIQUE APRÈS IDENTIFICATION D'UN STATUT dMMR.....	118
A. Question traitée dans ce chapitre.....	118
B. Sélection bibliographique	118
C. Question 19 : Quels patients dMMR doivent être orientés vers une consultation d'oncogénétique ? .	118
1. Précriblage tumoral des cancers dMMR via la recherche d'une hyperméthylation du promoteur du gène <i>MLH1</i> et de la mutation <i>BRAF V600E</i> avant la consultation d'oncogénétique	119
2. Cancers dMMR du spectre du syndrome de Lynch, hors hyperméthylation du promoteur de <i>MLH1</i> (et/ou hors mutation <i>BRAF V600E</i> dans le cas des CCR)	120
3. Découverte incidente de mutations tumorales de gènes du système MMR par NGS.....	122
4. Cas des cancers avec tumeur pMMR.....	122
5. Cas des cancers sans test MMR tumoral disponible.....	122
D. Algorithme de décision d'orientation d'un patient vers une consultation d'oncogénétique.....	123
BIBLIOGRAPHIE	124
ANNEXES.....	147
Annexe Relecture : Ensemble des résultats pour les niveaux d'accord des recommandations.....	147
Annexes Chapitre II : Quel échantillon tumoral utiliser pour le test.....	154
Annexes Chapitre III : immunohistochimie	155
Annexes Chapitre IV : Biologie moléculaire	169
1. Annexe IV.1 : Analyse bibliographique des tests MSI-PCR et méthodes alternatives	169
2. Annexe IV.2 : Apport de la technique NGS pour la détection d'une MSI.....	195
2. Annexe IV.3 : ADN tumoral circulant	196
3. Annexe IV.4 : Intérêt de la méthylation <i>MLH1</i> dans les cancers non CCR et non endométriaux pour distinguer SL et tumeur sporadique	197
Annexes Chapitre V : indication des tests MMR tumoraux	198
Tumeurs cutanées	198

Liste des figures

Figure 1 : Immunomarquage MLH1 dans un cancer du côlon. Marquage punctiforme de certains noyaux tumoraux (flèche)	36
Figure 2 : Adénocarcinome mucineux du côlon chez une femme de 35 ans, avec un syndrome de Lynch lié à une mutation germinale de <i>TACSTD1</i>	36
Figure 3 : Adénocarcinome rectal post radio-chimiothérapie. Maintien d'expression MSH2. Forte diminution d'expression hétérogène de MSH6.	37
Figure 4 : Outil décisionnel pour l'interprétation des immunomarquages des protéines MMR dans les tumeurs	38
Figure 5 : Adénocarcinome colique de phénotype dMMR : Perte d'expression conjointe de l'hétérodimère fonctionnel MLH1/PMS2.....	42
Figure 6 : Carcinome de l'endomètre peu différencié de phénotype dMMR : perte d'expression isolée de MSH6 chez une patiente avec un syndrome de Lynch lié à <i>MSH6</i>	42
Figure 7 : Adénocarcinome colique bien différencié de phénotype dMMR : perte clonale de MSH6 et de MSH2 avec maintien d'expression de PMS2 et de MLH1 chez un patient avec un syndrome de Lynch lié à <i>MSH6</i>	43
Figure 8 : Exemples d'immunomarquages avec expression non interprétable ou équivoque :.....	43
Figure 9 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers colorectaux.....	82
Figure 10 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les adénocarcinomes œso-gastriques	83
Figure 11 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de l'endomètre.....	93
Figure 12 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de l'ovaire.....	94
Figure 13 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs sébacées.....	102
Figure 14 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs des voies excrétrices supérieures	107
Figure 15 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de la prostate	108
Figure 16 : Recherche de la déficience du système MMR dans les gliomes de haut grade <i>IDH</i> normal ..	112
Figure 17 : Recherche de la déficience du système MMR dans les gliomes de haut grade <i>IDH</i> muté	112
Figure 18 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour tumeurs cérébrales.....	116
Figure 19 : Algorithme de décision d'orientation d'un patient vers une consultation d'oncogénétique .	123

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification générale du niveau de preuve.....	17
Tableau 2 : Correspondance entre l'analyse de la littérature et les grades des recommandations	17
Tableau 3 : Exemple de conclusions et d'interprétations des résultats d'immunohistochimie, applicable aux tumeurs du spectre du syndrome de Lynch.....	44
Tableau 4 : Fréquence du statut dMMR dans les différentes tumeurs digestives	72
Tableau 5 : Impact pronostique et thérapeutique du statut dMMR dans les différentes tumeurs digestives.....	74
Tableau 6 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les différentes tumeurs digestives à visée thérapeutique	78
Tableau 7 : Pourcentage de tumeurs dMMR dans les différents types tumoraux gynécologiques.....	84
Tableau 8 : Score de Risque de la Mayo-Clinic	100
Tableau 9 : Recherche de la déficience MMR dans les gliomes	113
Tableau 10 : Taux de concordance dMMR entre tumeur primitive et métastases appariées, dans le cancer colorectal	154
Tableau 11 : Listes des AC et des automates utilisés en France lors du contrôle qualité externe AFAQAP 2019 (39 laboratoires participants)	155
Tableau 12 : Stratégie diagnostique en immunohistochimie en fonction du nombre d'anticorps utilisés.....	157
Tableau 13 : Interprétation des marquages. Limites de détection.....	158
Tableau 14 : Études d'agrément interobservateurs.....	159
Tableau 15 : Concordances IHC et détection de l'instabilité microsatellitaire.....	160
Tableau 16 : Principales études publiées dans la littérature anglo-saxonne ayant réalisé une analyse immunohistochimique pour les protéines du système MMR dans des tumeurs cutanées.....	198
Tableau 17 : Principales études publiées dans la littérature ayant réalisé une recherche d'instabilité des microsatellites ou d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 dans des tumeurs cutanées et comparaison avec l'Immunohistochimie.	205

Liste des abréviations

ACP : Anatomocytopathologie

ADN : Acide desoxyribonucléique

ADNtc : ADN tumoral circulant

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation

BRAF : V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

CCR : Cancer colorectal

CCRm : Cancer colorectal métastatique

CE : Cancer de l'endomètre

CHG : Centre hospitalier général

CHU : Centre hospitalier universitaire

CLCC : Centre de lutte contre le cancer

CMMRD : Constitutional MisMatch Repair Deficiency

dMMR : Système MMR déficient

ESGO : Société Européenne d'Oncologie Gynécologique

ESMO : Société Européenne d'Oncologie Médicale

ESP : Société Européenne de Pathologie

ESTRO : Société Européenne de Radiothérapie et d'Oncologie

GERCOR : Groupe Coopérateur Multidisciplinaire en Oncologie

HAS : Haute Autorité de Santé

HNPCC : Cancer du côlon héréditaire non polyposique

ICI : Inhibiteurs des points de contrôle de la réponse immunitaire

IHC : Immunohistochimie

INCa : Institut national du cancer

MLH1 : MutL homolog 1

MMR : MisMatch Repair

MSH2 : DNA mismatch repair protein Msh2

MSH6 : DNA mismatch repair protein Msh6

MSI : Instabilité microsatellitaire

MSI-H : Instabilité microsatellitaire élevée

MSI-I : Instabilité microsatellitaire intermédiaire

MSI-L : Instabilité microsatellitaire faible

MSS : Stabilité microsatellitaire

Liste des abréviations

NF1 : Neurofi Bromatose 1

NGS : Séquençage de nouvelle génération

NP1 ou 2 : Niveaux de preuve 1 ou 2

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PFS : Survie sans progression

pMMR : Système MMR stable

PMS2 : PMS1 Homolog 2

RPC : Recommandations pour la pratique clinique

RTU : Recommandation Temporaire d'Utilisation

SL : Syndrome de Lynch

SMT-SL : Syndrome de Muir-Torre – Syndrome de Lynch (nom donné au syndrome de Lynch lorsque le patient est atteint d'une tumeur cutanée)

TNCD : Thésaurus National de Cancérologie Digestive

TS : Tumeur sébacée

TVES : Tumeurs des voies excrétrices supérieures

INTRODUCTION

De nombreux variants génétiques (variants ponctuels, amplifications, réarrangements, perte de matériel chromosomique, méthylation...) ont été identifiés dans les tumeurs. Ils constituent des marqueurs diagnostiques, pronostiques ou thérapeutiques et permettent des soins adaptés, spécifiques du patient.

La caractérisation moléculaire de la tumeur est ainsi devenue un critère déterminant dans le choix de la stratégie thérapeutique, qui ne repose plus seulement sur le type et le stade de la maladie.

Le système MisMatch Repair et l'instabilité microsatellitaire

Dans le fonctionnement normal d'une cellule, le système de réparation des mésappariements (MisMatch Repair, MMR) reconnaît et répare les insertions, délétions et mésappariements de bases qui peuvent se produire pendant la réplication de l'ADN. Dans certains cancers, la perte de fonction de ce système s'accompagne de la perte d'expression d'une ou plusieurs protéines MMR (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) et entraîne une accumulation de mutations dans les cellules, ce qui se traduit par une instabilité microsatellitaire (MSI).

Les protéines MMR agissent en hétérodimères fonctionnels : MSH6 avec MSH2 et PMS2 avec MLH1. Une mutation des gènes *MLH1* ou *MSH2* entraîne une dégradation protéolytique de la protéine mutée mais également de son partenaire secondaire, PMS2 ou MSH6 respectivement, et une perte d'expression concomitante des deux protéines de l'hétérodimère.

La perte d'expression des protéines MMR, facilement détectable en immunohistochimie, ou l'identification d'une instabilité microsatellitaire (MSI), détectable en biologie moléculaire, constituent donc des marqueurs de déficience du système MMR.

Les formes de cancers avec instabilité microsatellitaire

Les cancers présentant une instabilité microsatellitaire peuvent être héréditaires ou sporadiques :

- le syndrome de Lynch (SL) est une prédisposition génétique à transmission autosomique dominante liée à une altération constitutionnelle d'un gène codant une protéine du système MMR. Quatre gènes sont essentiellement touchés : *MLH1* et *MSH2*, responsables d'au moins deux tiers des cas, *MSH6* et *PMS2*, plus rarement impliqués. Les principales tumeurs du SL sont le cancer colorectal (CCR) et le cancer de l'endomètre (CE)¹. Ces mutations peuvent aussi entraîner, plus rarement, des cancers de l'intestin grêle, des voies excrétrices urinaires (bassin et uretère essentiellement), des voies biliaires, ainsi que des cancers de l'estomac, de l'ovaire, des tumeurs sébacées, des tumeurs cérébrales et du pancréas dans une moindre mesure¹;

¹ - Lynch, H. T., Snyder, C. L., Shaw, T. G., Heinen, C. D. and Hitchins, M. P. (2015). Milestones of Lynch syndrome : 1895-2015. *Nat. Rev. Cancer* 15, 181-194.

- les cancers sporadiques sont associés à des mutations somatiques d'un des gènes du système MMR, comme par exemple, la perte d'expression de la protéine MLH1 due à l'hyperméthylation du promoteur de son gène.

Évolution des applications du statut MMR tumoral

Jusqu'à récemment, les évaluations du statut MMR tumoral étaient principalement réalisées dans les tumeurs du spectre du SL, afin d'identifier les patients à orienter vers une consultation d'oncogénétique. Des études plus récentes ont montré que ce biomarqueur était aussi un facteur prédictif de la réponse à certaines immunothérapies dans toutes les tumeurs solides (Le *et al.*, 2017 ; Luchini *et al.*, 2019). De plus, il a aussi été montré qu'il a un impact sur le pronostic et la chimiosensibilité de certains cancers, pouvant donc influencer les choix thérapeutiques (Lecomte *et al.*, 2019).

Enfin, en France, il existe, à ce jour, trois traitements (anticorps anti PD-1) dont la prescription nécessite l'évaluation du statut MMR tumoral : le pembrolizumab et le nivolumab dans le cancer colorectal (dans le cadre d'une AMM) et le dostarlimab dans le cancer de l'endomètre (dans le cadre d'une ATU de cohorte).

Ainsi, l'évaluation du statut MMR tumoral est maintenant utile pour :

- identifier les patients susceptibles d'être porteurs d'une altération constitutionnelle d'un gène MMR et devant, de ce fait, être orientés vers une consultation d'oncogénétique (INCa, 2016) ;
- établir un pronostic, qui peut influencer les choix thérapeutiques (Argilés *et al.*, 2020) ;
- prédire la réponse thérapeutique, notamment à la chimiothérapie (Tougeron *et al.*, 2016) et plus particulièrement à l'immunothérapie (Diaz, L. *et al.*, 2019) et donc orienter les choix thérapeutiques dans différents types de tumeurs. Il est à noter que, pour l'instant, dans les cancers autres que le CCR et le cancer de l'endomètre, il n'y a pas d'autorisation de prescription d'immunothérapie dépendant du statut MMR tumoral.

Les techniques d'évaluation du statut MMR

L'évaluation du statut MMR tumoral peut s'avérer complexe et les techniques à utiliser peuvent varier en fonction de l'indication et du type tumoral. Ainsi, les recommandations de la détermination du statut MMR tumoral au sein des tumeurs du spectre du SL (INCa, 2016) comprennent :

- l'étude de l'expression des protéines MMR en immunohistochimie (IHC) ;
- et/ou l'examen de marqueurs microsatellitaires sur ADN tumoral en biologie moléculaire ;
- voire la recherche d'une hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 ;
- voire la recherche de mutations *BRAF*.

La réalisation ou non de la totalité de ces examens et leur enchaînement dépendent du type de tumeur analysé ainsi que du résultat obtenu à chaque étape.

De plus, les techniques et les interprétations des résultats sont à adapter pour chaque localisation tumorale, les différents organes ayant des caractéristiques spécifiques (Stelloo *et al.*, 2017). Les

recommandations pour évaluer le statut MMR tumoral pourront donc être différentes suivant les organes.

Cette situation expose donc à une hétérogénéité des pratiques d'évaluation du statut MMR tumoral en France, pouvant traduire une mauvaise qualité des soins et conduisant à une perte d'équité entre les patients sur le territoire.

Ce document est composé de plusieurs parties portant sur :

- la terminologie à employer pour parler du statut MMR tumoral et des différents tests s'y rapportant ;
- la présentation des aspects techniques des tests MMR tumoraux avec :
 - le choix des échantillons tumoraux ;
 - l'immunohistochimie ;
 - la biologie moléculaire ;
- les indications de réalisation des tests MMR tumoraux dans les localisations tumorales concernées par ce test ;
- l'indication d'orientation d'un patient vers une consultation d'oncogénétique ou non en fonction des résultats des tests tumoraux réalisés et du contexte personnel et familial.

MÉTHODOLOGIE D'ÉLABORATION

A. OBJECTIFS

Au-delà de l'identification des patients atteints du SL et compte-tenu de l'intérêt du statut MMR tumoral comme biomarqueur pronostique ou théranostique, il est important d'émettre des recommandations sur la prescription et les modalités de l'évaluation du statut MMR tumoral dans différentes localisations. De plus, il faudra préciser chez quel patient et à quel moment de son parcours une évaluation du statut MMR tumoral est nécessaire.

Par ailleurs, ce document vise aussi à préconiser le(s) meilleur(s) test(s) à réaliser dans chaque cas (immunohistochimie, biologie moléculaire, NGS, panels de marqueurs, contrainte du matériel tumoral, etc.) et à préciser leurs limites et la stratégie de tests à mettre en place.

B. CIBLES DU DOCUMENT

Professionnels de santé concernés par ces recommandations :

Ces recommandations s'adressent à :

- tout clinicien susceptible de prescrire des tests MMR tumoraux ;
- les anatomopathologistes et biologistes devant réaliser des tests MMR tumoraux.

C. MATÉRIEL ET MÉTHODE

Méthodologie

La méthodologie retenue est adaptée de celle du consensus formalisé avec processus de type Delphi allégé (Haute Autorité de Santé, 2010). Elle s'appuie sur :

- un **promoteur** : l'Institut national du cancer (INCa) ;
- un **coordonnateur scientifique** : Pr Janick Selves (désignée par ses pairs) ;
- un **groupe de rédacteurs** : ce groupe a défini les termes des questions et a rédigé le document ;
- un **groupe de relecteurs** : ils sont impliqués dans deux phases : la phase de cotation et la phase de relecture.

Il s'agit, par ailleurs, d'une méthode mixte s'appuyant à la fois sur :

- une revue exhaustive de la littérature. Les équations de recherche ont été définies par les experts et précisées pour chaque question dans le document complet ;
- l'avis argumenté des experts.

Déroulement du travail

- 1^{er} temps : le **groupe de rédacteurs** a défini les questions à poser et a réparti les tâches de rédaction à chaque membre (1 à 3 rédacteurs par question) ;
- 2^e temps : chaque membre a fait la recherche bibliographique sur la question qui lui a été attribuée et a rédigé cette question ;
- 3^e temps : le **groupe de rédacteurs** a rédigé une première version du document avec les propositions de recommandations. Ce document a été discuté et validé lors de réunions en visioconférence. ;
- 4^e temps : les professionnels du **groupe de relecteurs** ont donné leurs avis sur les différentes propositions de recommandations en tenant compte du niveau de preuve disponible et de leur expérience en pratique. Ce temps a été divisé en 3 étapes :
 - une **cotation individuelle** des propositions de recommandations par chaque membre du groupe de relecteurs (questionnaire en ligne SPHINX, préparé par l'INCa, cf. Annexe Relecture) ;
 - puis **deux réunions de consensus** ont eu lieu en visioconférence qui ont permis de discuter des recommandations pour lesquelles les avis divergeaient, afin d'arriver à un avis consensuel ;
 - une **seconde cotation individuelle** des recommandations a été réalisée suite à ces réunions (questionnaire en ligne SPHINX, préparé par l'INCa, cf. Annexe Relecture) ;
- 5^e temps : finalisation de la rédaction du document par le **groupe de rédacteurs** en fonction des cotations du groupe de relecture ;
- 6^e temps : relecture finale du document par le **groupe de relecture**.

Modalités de constitution des groupes de rédacteurs et de relecteurs

Les membres de ces groupes sont des professionnels concernés dans leur pratique par la problématique et souhaitant contribuer à cette expertise.

Ils sont composés d'anatomopathologistes, de biologistes ou pathologistes moléculaires et d'oncologues spécialistes des cancers digestifs, gynécologiques, urologiques, dermatologiques et neurologiques, d'hépto-gastro-entérologues et d'oncogénéticiens ; ces spécialités étant les plus concernées par la réalisation des tests MMR.

Rédacteurs :

La participation des membres du groupe, experts dans leur domaine, a été proposée par le coordonnateur et les sociétés savantes correspondantes : la Société Française de Pathologie, le Groupe Francophone de Cytogénomique Oncologique, l'Association française d'assurance qualité en anatomie pathologique, l'association Arcagy-Gineco, le groupe coopératif en oncologie gynécologique, le comité de cancérologie de l'association française d'urologie, l'intergroupe onco-urologie, la Fédération Francophone de Cancérologie Digestive et la société française de dermatologie.

Membres :

- **Coordonnateur :** Pr Janick Selves, CHU de Toulouse
- **Biologistes et pathologistes moléculaires / Anatomopathologistes**
 - Pr Frédéric BIBEAU, CHU de Caen
 - Pr Marie Pierre BUISINE, CHU de Lille
 - Pr Alex DUVAL, Hôpital Saint Antoine, AP-HP ; INSERM
 - Dr Éric FROUIN, CHU de Poitiers
 - Dr Étienne ROULEAU, Gustave Roussy
 - Pr Janick SELVES, CHU Toulouse
 - Pr Magali SVRCEK, Hôpital Saint Antoine, AP-HP
- **Spécialistes d'organe / oncologues médicaux**
 - Oncologue digestif :**
 - Pr Rosine GUIMBAUD, CHU de Toulouse
 - Pr David TOUGERON, CHU de Poitiers
 - Oncologue gynécologue :**
 - Pr Jérôme ALEXANDRE, Hôpital Cochin, AP-HP
 - Neuropathologiste :**
 - Dr Franck BIELLE, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP
 - Oncologue Urologue :**
 - Pr Olivier CUSSENOT, Hôpital Tenon, AP-HP
 - Dermato-pathologiste :**
 - Dr Éric FROUIN, CHU de Poitiers
- **Oncogénétique :**
 - Pr Rosine GUIMBAUD, CHU de Toulouse
 - Pr David TOUGERON, CHU de Poitiers
 - Pr Marie Pierre BUISINE, CHU de Lille

Relecteurs :

Les sociétés savantes suivantes ont été sollicitées pour proposer des experts connaissant le sujet, soit « experts reconnus », soit « pratique quotidienne dans le domaine, », devant faire partie du secteur public (CHU, CHG, CLCC) et du secteur libéral : la Société Française de Pathologie, le Groupe Francophone de Cytogénomique Oncologique, l'Association française d'assurance qualité en anatomie pathologique, le Groupe Génétique et Cancer, le GERCOR, la Fédération Francophone en Cancérologie Digestive, le groupe UNICANCER GI pour les cancers digestifs, l'association Arcagy-Gineco, la Société Française d'Oncologie Gynécologique, la société française de dermatologie, la société française de neuropathologie, l'association des neuro-oncologues d'expression française, le comité de cancérologie de l'association française d'urologie et l'intergroupe onco-urologie.

Les membres de ce groupe n'ont pas fait partie du groupe de rédacteurs.

Membres, spécialité et affiliations ou lieux d'exercice professionnel :

Pascaline BERTHET, Oncologie, oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen

Céline BOSSARD, Anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Nantes

Lise BOUSSEMART, Oncodermatologue, CHU de Nantes

Odile CABARET, Génétique, Gustave Roussy, Villejuif

Pascale CERVERA, Pathologiste moléculaire, Hôpital Saint Antoine, AP-HP

Romain COHEN, Oncologie médicale, Mayo Clinic, États-Unis

Éva COMPERAT, Anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Tenon, AP-HP

Marion DHOOGHE, Gastroentérologie, Oncogénétique, Oncologie digestive, Hôpital Cochin, AP-HP

Christine LAGORCE, Anatomie et cytologie pathologiques, HEGP, AP-HP

Éric LAVOINE, Anatomie et cytologie pathologiques, IHP group, Angers

Alexandra LEARY, Gynécologie, Gustave Roussy, Villejuif

Karen LEROY, Biologiste, Hôpital Cochin, AP-HP

Alain LORTHOLARY, Oncologue et oncogénéticien, Hôpital privé du Confluent, Nantes

Pierre NAÏBO, Oncogénétique, Centre Léon Bérard, Lyon

Laurence OLLIVAUD, Oncodermatologue, Libéral, Charenton

Audrey REMENIERAS, Oncogénétique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille

Morgan ROUPRET, Urologie, La Pitié Salpêtrière, AP-HP

Emmanuelle SAMALIN, Oncologie digestive, Institut du Cancer de Montpellier

Mehdi TOUAT, Neuro-oncologue, La Pitié Salpêtrière, AP-HP

Séverine VALMARY-DEGANO, Anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Grenoble

Qing WANG, Biologie moléculaire, Oncogénétique, Centre Léon Bérard, Lyon

D. NIVEAU DE PREUVE SCIENTIFIQUE ET GRADE DE RECOMMANDATIONS

Un niveau de preuve a été affecté selon l'échelle proposée par la HAS². Cette cotation repose sur le type et la qualité des études disponibles ainsi que sur la cohérence ou non de leurs résultats.

Il existe différentes échelles selon qu'il s'agisse d'évaluer le niveau de preuve (NP) d'une étude thérapeutique ou de biomarqueurs pronostiques ou prédictifs de la réponse aux traitements. Par ailleurs il n'existe pas d'essais contrôlés randomisés pour la réalisation des tests diagnostiques moléculaires ; même pour ceux reconnus par tous et utilisés en routine. Il s'est donc posé la question du choix de l'échelle à appliquer considérant les différentes problématiques abordées dans ces recommandations et cela a fait l'objet d'une réflexion au sein du groupe de travail.

C'est donc une classification générale du NP qui a été choisie (cf. Tableau 1).

Tableau 1 : Classification générale du niveau de preuve²

Niveau de preuve	Description
Fort (NP1)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Le protocole est adapté pour répondre au mieux à la question posée ; ▪ La réalisation est effectuée sans biais majeur ; ▪ L'analyse statistique est adaptée aux objectifs ; ▪ La puissance est suffisante
Intermédiaire (NP2)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Le protocole est adapté pour répondre au mieux à la question posée ; ▪ Puissance nettement insuffisante (effectif insuffisant ou puissance a posteriori insuffisante) ; ▪ Et/ou des anomalies mineures
Faible (NP3)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Autres types d'études

Ainsi, sur la base de l'analyse de la littérature, le groupe de rédacteurs a proposé, chaque fois que possible, des recommandations. Selon le niveau de preuve des études sur lesquelles elles sont fondées, les recommandations ont un grade variable, de A à C (Tableau 2).

Tableau 2 : Correspondance entre l'analyse de la littérature et les grades des recommandations (adapté de la référence²)

Niveau de preuve	Grade de recommandation
Fort (NP1)	A
Intermédiaire (NP2)	B
Faible (NP3)	C

En l'absence de données scientifiques disponibles ou lorsque le niveau de preuve des données de la littérature est jugé insuffisant et qu'il existe une hétérogénéité des pratiques, la recommandation est basée sur un accord d'experts. L'accord d'experts correspond, dans ces conditions, à l'approbation d'au moins 80 % des membres du groupe de travail (cf. référence²).

E. GESTION DES LIENS D'INTÉRÊTS DES EXPERTS

Les principes de prévention et de gestion des conflits d'intérêts sont fixés par :

- la loi 2011-2012 du 29 décembre 2011 sur le renforcement de la sécurité sanitaire du médicament et autres produits de santé ;
- la charte de l'expertise sanitaire, décret n° 2013-413 du 21 mai 2013 ;
- le code de déontologie de l'INCa ;
- le dispositif de prévention et de gestion des conflits d'intérêts en vigueur à l'INCa³.

Les experts des groupes de rédacteurs et relecteurs ont participé *intuitu personae* et non en qualité de représentant d'un organisme, d'une société savante ou d'un groupe de professionnels.

² - https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2013-06/etat_des_lieux_niveau_preuve_gradation.pdf

³ <http://www.e-cancer.fr/Institut-national-du-cancer/Deontologie-et-transparence-DPI/Acteurs-de-l-expertise>

L'Institut s'est assuré, avant leur nomination et tout au long des travaux d'expertise, que les experts proposés par le coordonnateur scientifique et les sociétés savantes disposaient de l'indépendance nécessaire pour réaliser les travaux d'expertise demandés en s'appuyant notamment sur l'analyse de leurs déclarations d'intérêts, et les informations les concernant disponibles dans la base « Transparence santé »⁴.

Pour cela, l'Institut a collecté les déclarations d'intérêts, a analysé chaque lien déclaré au regard de sa relation avec l'objet de l'expertise et de son intensité, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts⁵ au regard des points traités dans le cadre de l'expertise, et a tracé cette analyse. La commission des expertises a rendu un avis motivé au Président de l'Institut national du cancer qui a décidé de la nomination des experts. Les déclarations publiques d'intérêts (DPI) des experts sont publiées sur le site unique DPI-SANTÉ⁶.

F. RÔLE DE L'INSTITUT NATIONAL DU CANCER

L'Institut national du cancer est le promoteur du projet, qui était suivi par le département Biologie Transfert et Innovation.

L'équipe de l'Institut a :

- assuré et veillé au respect de la prévention et de la gestion des conflits d'intérêts,
- accompagné les groupes de travail dans le déroulement du projet et,
- assisté à toutes les réunions du groupe de travail.

L'Institut a apporté un soutien méthodologique et logistique à différentes étapes, notamment : aide logistique ; accompagnement dans la gestion de projet ; mise à disposition d'outils (grilles d'analyse méthodologique, modèle d'argumentaires) ; la mise en œuvre de la relecture nationale ; participation à la rédaction, aide sur la conception graphique, les illustrations et la réalisation de la maquette du document final.

Des points réguliers ont été organisés entre le coordonnateur scientifique et les collaborateurs de l'Institut afin de s'assurer du respect du cahier des charges, de la note de cadrage et de la méthodologie d'élaboration.

⁴ <https://www.transparence.sante.gouv.fr>

⁵ Les notions de lien et de conflit d'intérêts sont définies par la charte de l'expertise sanitaire : « la notion de liens recouvre les intérêts ou les activités, passés ou présents, d'ordre patrimonial, professionnel ou familial, de l'expert en relation avec l'objet de l'expertise qui lui est confiée... Un conflit d'intérêts naît d'une situation dans laquelle les liens d'intérêts d'un expert sont susceptibles par leur nature ou leur intensité, de mettre en cause son impartialité ou son indépendance dans l'exercice de sa mission d'expertise au regard du dossier à traiter. »

⁶ <https://dpi.sante.gouv.fr/dpi-public-webapp/app/home>

CHAPITRE 1 : Terminologies

A. QUESTION TRAITÉE DANS CE CHAPITRE

Question 1 : quelle terminologie utiliser pour définir le test MMR tumoral et la déficience du système MMR ?

B. SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

Sélection des recommandations françaises et internationales et des articles princeps : (Hampel *et al.*, 2005; Shia, 2008; Lynch *et al.*, 2015a; INCa, 2016; Sepulveda *et al.*, 2017; Stelloo *et al.*, 2017; Latham *et al.*, 2019; Luchini *et al.*, 2019; Svrcek *et al.*, 2019; André *et al.*, 2020).

C. QUESTION 1 : QUELLE TERMINOLOGIE UTILISER POUR DÉFINIR LE TEST MMR TUMORAL ET LA DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR ?

Le système de réparation des mésappariements de l'ADN (système MMR pour MisMatch Repair) permet de maintenir l'intégrité de l'ADN, notamment lors des phases de réplication. Une déficience du système MMR (MisMatch Repair) se traduit par une accumulation de mutations dans le génome et plus particulièrement dans les séquences répétées de type microsatellites qui sont les sièges privilégiés des mésappariements lors du processus de réplication de l'ADN. **L'identification d'une instabilité microsatellitaire (MSI) constitue ainsi un marqueur de déficience du système MMR** (Jiricny, 2006) (NP1). De même, l'inactivation d'un gène MMR, se traduit dans la majorité des cas par **la perte d'expression de la protéine MMR mutée, facilement détectable en immunohistochimie et constitue aussi un marqueur de déficience du système MMR**. La déficience du système MMR s'accompagne aussi d'un taux élevé de mutations dans le génome entier responsable d'un génotype tumoral « hypermuté », évaluable par technique NGS sur exome ou large panel de gènes par mesure de la charge mutationnelle. Ce génotype hypermuté n'est pas spécifique d'une déficience du système MMR et peut être la conséquence d'autres événements comme des virus, mutagènes, mutation *POLE, POLD1...*). Aussi, il ne sera pas discuté dans ces recommandations en tant que marqueur d'une déficience MMR. De plus, des études ont montré la forte association entre une signature mutationnelle caractéristique (substitution C>T dans NpCpG) et la déficience du système MMR. (Alexandrov *et al.*, 2013) (NP1) Non validée en pratique clinique, cette signature mutationnelle ne sera pas traitée dans ce document.

Différents termes sont utilisés ou ont été utilisés pour définir le caractère fonctionnel ou pas du système MMR dans une tumeur : tumeur RER positive ou négative (pour Replication ERror, terme à ne plus utiliser), tumeur MSI (microsatellite instability) ou MSS (microsatellite stable), tumeur dMMR ou pMMR (pour déficient MMR tumor et proficient MMR tumor des anglo-saxons). Il n'existe pas de consensus sur la terminologie à appliquer concernant le test tumoral qui vise à analyser le caractère fonctionnel ou pas des protéines du système MMR et à évaluer le statut MMR (Luchini *et al.*, 2019) (NP1).

Les termes MSI et MSS sont souvent utilisés par abus de langage pour les résultats de l'immunohistochimie des protéines MMR sans analyse de l'ADN tumoral : il existe cependant des cas avec une authentique déficience du système MMR sans perte d'expression des protéines MMR. Certains auteurs réservent le terme dMMR/pMMR au seul résultat de l'immunohistochimie, par opposition au terme MSI/MSS réservé alors à la biologie moléculaire, ce qui est limitant puisqu'une tumeur avec instabilité microsatellitaire est également une tumeur dMMR.

Dans ce document, la terminologie suivante sera utilisée :

- **MSI et MSS pour décrire les résultats d'un test de biologie moléculaire ;**
- **pMMR-IHC et dMMR-IHC pour les résultats d'IHC ;**
- **dMMR et pMMR pour parler globalement du statut du système MMR d'une tumeur.**

N.B. : il ne faut pas confondre les tests MMR tumoraux (instabilité microsatellitaire et IHC) avec les tests fonctionnels utilisés pour déterminer le caractère délétère ou non d'une mutation germinale et qui apprécient la fonctionnalité d'une protéine MMR mutée (Bodo *et al.*, 2015; Bouvet *et al.*, 2019) (NP1).

Recommandations

La terminologie suivante est recommandée :

- « **statut MMR tumoral** » pour nommer de façon générique le(s) test(s) évaluant la fonctionnalité du système MMR ;
- **Tumeur « dMMR »** pour désigner une tumeur avec une déficience du système MMR ;
- **Tumeur « pMMR »** pour désigner une tumeur avec un système MMR fonctionnel.

(accord d'experts).

La technique par laquelle le statut MMR tumoral a été évalué doit être précisée :

- **Tumeur pMMR-IHC / dMMR-IHC** si déterminé par immunohistochimie (IHC), en précisant la ou les protéines dont l'expression est perdue ;
- **Tumeur MSS (MicroSatellite Stable) / MSI (MicroSatellite Instable)** par biologie moléculaire.

(accord d'experts).

Un statut MMR tumoral pouvant être discordant entre les deux techniques, le résultat de chacune doit être précisé *(accord d'experts).*

Exemples :

- statut pMMR-IHC : maintien de l'expression des 4 protéines MMR (IHC) ;
- statut MSS : absence d'instabilité microsatellitaire (biologie moléculaire) ;
- statut pMMR : maintien de l'expression des 4 protéines MMR et absence d'instabilité microsatellitaire (MSS) ;
- statut pMMR-IHC et MSI : exemple d'un statut MMR tumoral discordant : maintien de l'expression des 4 protéines MMR mais instabilité microsatellitaire (MSI).

CHAPITRE 2 : Quel échantillon tumoral utiliser pour le test ?

A. QUESTIONS TRAITÉES DANS CE CHAPITRE

Question 2 : Quels types de prélèvements faut-il utiliser pour réaliser les tests MMR tumoraux ?

Question 3 : Que faire pour le cas particulier de l'adénome colorectal sans cancer colorectal (CCR) ?

Question 4 : Comment prendre en compte l'hétérogénéité tumorale dans le choix de l'échantillon tumoral ?

Question 5 : Peut-on utiliser les biopsies liquides ?

B. SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

1. Question 2 :

- utilisation des mots-clés suivants : **(colorectal cancer) AND (neoadjuvant) AND (PCR) AND (predictive testing)**. Deux références ont été trouvées, une a été retenue comportant la moitié des mots-clés et s'inscrivant dans la problématique du chapitre (Fadhil W Histopathology. 2012). L'autre référence correspondait à des analyses transcriptionnelles sans lien avec la question posée.
- pour cette même question 2 une recherche complémentaire a été effectuée de la façon suivante : **(biopsy) AND (MSI) AND (neoadjuvant therapy)**. 35 références ont été trouvées. Les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas ont été exclus. Les références devaient comporter une analyse conjointe du statut MSI sur biopsie préalable et sur pièce de résection appariée lorsqu'elle n'était pas stérilisée par le traitement adjuvant. Trois références ont été sélectionnées (Ondrejka *et al.*, Histopathology, 2011, Goldstein JB Am J Surg Pathol 2011 et Bao F Am J Surg Pathol. 2010).

Une quatrième référence, connue des pathologistes du groupe de travail n'est pas apparue sur ces sélections et a été intégrée dans le texte (Shia *et al.*, Am J Surg Pathol. 2011).

Deux publications correspondant à des articles de référence et fréquemment citées figurent dans ce chapitre dans un cadre introductif ou de rappel. L'une porte sur l'importance de la maîtrise de l'étape préanalytique (fixation) (Sepulveda *et al.*, 2017), l'autre correspond à un rappel de travail de synthèse sur le statut MSI et des recommandations dans le cadre de l'immunothérapie (Luchini *et al.* 2019).

La référence Kuan *et al.*, 2017 est issue de la sélection réalisée dans le chapitre 3 portant sur l'immunohistochimie.

2. Question 3 :

Pour la question 3 les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas ont été exclus, ainsi que les articles portant sur des études réalisées *in vitro* et des études d'expérimentation animale.

- utilisation des mots-clés suivants : (Colonoscopy) AND (Colonic polyps) AND (Colorectal Neoplasms) AND (Hereditary Nonpolyposis), AND (Microsatellite Instability) AND (Immunohistochemistry) : 8 références ont été trouvées, une retenue (Walsh *et al.* 2009).
- utilisation des mots-clés suivants : **(colorectal adenoma) AND (microsatellite instability) AND (screening) AND (meta analysis)** : 11 références ont été trouvées et deux retenues (Dabir *et al.*, 2020, Pino *et al.* 2009).
- utilisation des mots-clés suivants : **(colorectal adenoma) AND (microsatellite instability) AND (guidelines)** : 35 références ont été trouvées, une retenue (Velayos *et al.* 2005).

La référence Kushnir *et al.*, 2014 a été proposée par un pathologiste du groupe de travail et s'inscrit dans celle de Velayos *et al.*

3. Question 4 :

- utilisation des mots-clés suivants : **(primary) AND (metastasis) AND (MSI) AND (comparison)**. 11 références ont été trouvées. Les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas ont été exclus. Les articles ne comportant pas de mention du statut MSI, ou traitant du statut MSI sans comparaison entre différents sites tumoraux ont été exclus. Un article datant de 2019 contenant tous les mots-clés a été retenu (He *et al.* J Natl Compr Canc Netw. 2019). Il représentait la plus importante et récente série analysée dans le cadre de la question posée. Les références de cet article ont été analysées et certaines, bien qu'anciennes, ont été retenues de façon additionnelle dans le cadre de la question posée étant donné le faible nombre de travaux portant sur la question (Ishimaru *et al.*, 1995 ; Melloni *et al.*, 2006 ; Larsen *et al.*, 2009 ; Murata *et al.*, 2013 ; Haraldsdottir *et al.*, 2016 ; Fujiyoshi *et al.*, 2017 ; Jung *et al.*, 2017).

Pour les cancers de l'endomètre l'interrogation suivante a été formulée : **(endometrial cancer) AND (recurrence) AND (DNA MMR) AND (discordance)** : 3 références ont été retrouvées et deux ont été retenues compte tenu de leur caractère récent (Ta *et al.*, 2018 ; Aird *et al.*, 2020).

Pour les cancers primitifs synchrones l'interrogation suivante a été formulée : **(synchronous) AND (primary) AND (colorectal cancer) AND (MSI)** : 51 références ont été objectivées et deux ont été retenues (Dykes *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2013). Deux autres références, correspondant à des travaux de synthèse, connus des pathologistes du groupe de travail ont été intégrées dans le texte (Pai, Am J Surg Pathol. 2016, Roth Am J Clin Path 2016).

4. Question 5 :

- utilisation des mots-clés suivants : **(liquid biopsy) AND (microsatellite instability)**. 35 références ont été trouvées. Les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas ont été exclus. Deux

articles originaux récents datant de 2020 ont été retenus (Silveira AB Clin Chem. 2020 ; Ladas I, Clin Chem. 2020).

Une recherche complémentaire a été effectuée : **(plasma) AND (microsatellite instability)**. 82 références ont été trouvées. Les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas, les tumeurs solides n'entrant pas dans le cadre de l'instabilité microsatellitaire ont été exclus. Deux articles originaux récents datant de 2019 ont été retenus (Willis J, Clin Cancer Res. 2019 ; Georgiadis A, Clin Cancer Res. 2019).

C. QUESTION 2 : BIOPSIE OU PIÈCE OPÉRATOIRE

1. Choix du matériel : biopsie ou pièce opératoire

Le test immunohistochimique peut être réalisé sur biopsies ou pièces opératoires. Ces dernières offrent l'opportunité de sélectionner le bloc le plus adéquat en termes de quantité de tumeur et de témoins intrinsèques (muqueuse normale, fibroblastes du stroma et cellules inflammatoires notamment lymphocytaires). Elles diminuent également l'hétérogénéité de certains marqueurs qui pourraient être considérés comme faussement absents sur biopsie (par exemple faux négatif de l'immunohistochimie MSH6). Il est essentiel d'ouvrir les pièces opératoires pour optimiser la fixation et éviter une sous-fixation particulièrement délétère pour l'IHC des protéines MMR. Cela peut conduire à des risques de faux diagnostics de perte d'expression (Sepulveda *et al.*, 2017) (NP1) qui sont développés dans le chapitre C « Immunohistochimie ».

Les biopsies comportent un matériel généralement moins abondant que celui présent sur pièce opératoire. Elles offrent, cependant, l'avantage d'une fixation aisée et homogène. Généralement des témoins intrinsèques peuvent être objectivés (muqueuse normale et/ou fibroblastes du stroma et/ou cellules inflammatoires). L'ensemble de ces données souligne l'intérêt de l'immunohistochimie pour détecter une perte d'expression des protéines du système MMR sur des échantillons biopsiques de petite taille ou du matériel de cytoponction même si la technique peut s'avérer d'interprétation difficile ou impossible. Par ailleurs, les biopsies constituent un matériel indispensable en situation métastatique et en situation néoadjuvante, pour lesquelles les pièces de résection ne sont pas disponibles en raison d'une accessibilité du matériel ou du contexte clinique (patient non encore opéré, patient métastatique non opérable). Ces deux situations ont d'ailleurs fait ou font l'objet d'essais cliniques d'immunothérapie, notamment dans les cancers gastriques et colorectaux, soulignant l'importance de la biopsie pré-thérapeutique et de sa bonne gestion pour la détermination de biomarqueurs prédictifs (Luchini *et al.*, 2019) (NP1). L'IHC réalisée pour analyser les 4 protéines du système MMR doit donc être privilégiée en première intention sur les prélèvements avec peu de cellules tumorales (prélèvements obtenus après traitements néo-adjuvants, matériel de cytoponction, biopsies de petite taille, sous-type histologique paucicellulaire de type adénocarcinome mucineux).

Les techniques de biologie moléculaire peuvent être réalisées sur du matériel de biopsie ou de cytoponction mais nécessitent une quantité minimale de cellules tumorales et sont soumises au seuil de sensibilité de chaque technique (partie développée dans le chapitre « biologie moléculaire »).

2. Études de concordance biopsie-pièce opératoire

Les études concernant le statut dMMR sur biopsie et pièce chirurgicale appariées ont montré une très bonne concordance dans les cancers digestifs. Ces études ont reposé sur des techniques immunohistochimiques ou de biologie moléculaire, mais très rarement employées de façon conjointe.

Sur une série de 30 cas de cancers colorectaux comportant biopsie et pièce de résection appariées, Fadhil *et al.* ont constaté un statut moléculaire similaire entre les deux types d'échantillons (Fadhil *et al.*, 2012) (NP2). Shia *et al.* ont réalisé une étude similaire, mais sur une série plus conséquente de 70 cas comportant majoritairement des cancers coliques, plus rarement des adénocarcinomes de l'intestin grêle et ano-rectaux, uniquement avec une technique d'immunohistochimie reposant sur le statut des 4 protéines MMR. Malgré une faible discordance concernant MLH1 et MSH6, mais qui n'affectait pas au total l'interprétation finale (en raison de l'étude conjointe du statut des protéines MSH2 et PMS2), les auteurs concluent que biopsie et pièce opératoire sont fiables autant l'une que l'autre pour évaluer le statut MMR tumoral par immunohistochimie (Shia *et al.*, 2011) (NP1).

Des études de concordance entre biopsie et pièce de résection après traitement néoadjuvant ont été également menées (Bao *et al.*, 2010; Ondrejka *et al.*, 2011). Parmi les données disponibles, celles de Bao *et al.* sont les plus informatives soulignant une diminution, voire une perte d'expression de MSH6 en immunohistochimie, objectivée dans 20 % des pièces opératoires examinées, sans aucune instabilité microsatellitaire associée, déterminée par biologie moléculaire (Bao *et al.*, 2010) (NP1). Ces disparités concernaient des cancers du rectum après radio-chimiothérapie néoadjuvante et se caractérisaient par un maintien de l'expression de MSH6 sur le matériel pré-thérapeutique (Bao *et al.*, 2010). Elles ont été confirmées dans une étude récente (Goldstein *et al.*, 2017) (NP1). L'ensemble de ces données rend donc préférable de réaliser avant tout traitement, l'évaluation du statut MMR sur les biopsies endoscopiques plutôt que sur du matériel opératoire post-traitement. Les modifications de l'expression de MSH6 ont été également rapportées dans les cancers du côlon post-chimiothérapie ou secondairement à des phénomènes hypoxiques et/ou à une diminution de la prolifération cellulaire (Kuan *et al.*, 2017) (NP2) (cf. chapitre III.E sur l'immunohistochimie).

Recommandations

L'évaluation du statut MMR tumoral est réalisable sur biopsie ou pièce opératoire.

Il est recommandé de choisir l'échantillon (biopsie ou pièce opératoire) en fonction de la disponibilité du matériel (*grade A*).

Lorsque plusieurs prélèvements sont disponibles chez un même patient, il est recommandé de privilégier le prélèvement le plus riche en cellules tumorales et le plus récent (*accord d'experts*).

Il est recommandé de privilégier l'immunohistochimie pour évaluer le statut MMR tumoral sur des échantillons carcinomateux peu cellulaires, biopsiques de petite taille ou de cytoponction (*grade A*).

Remarque : *les techniques de biologie cellulaire nécessitent une cellularité tumorale minimale.*

Il est recommandé de privilégier le prélèvement réalisé avant tout traitement néoadjuvant ou d'induction (*grade A*).

Remarque : *l'expression de la protéine MSH6 peut être modifiée après traitement préopératoire par radiothérapie et/ou chimiothérapie.*

D. QUESTION 3 : CAS PARTICULIER DES ADÉNOMES COLORECTAUX SANS CANCER COLORECTAL (CCR)

Chez les patients pour lesquels un syndrome de Lynch est suspecté et en l'absence d'un CCR invasif, l'évaluation du statut MMR d'adénomes colorectaux peut être utile pour établir le diagnostic de syndrome de Lynch (Walsh *et al.*, 2012) (NP1). Dans une méta-analyse récente ayant porté sur 41 études, un statut dMMR était retrouvé dans 69,5 % des adénomes colorectaux de patients atteints du syndrome de Lynch (Dabir *et al.*, 2020). Un statut dMMR est plus fréquemment observé chez les malades de plus de 60 ans (82 % versus 54 %), au niveau d'adénomes villeux (84 %), mesurant plus de 1 cm (81 %) et en dysplasie de haut grade (88 %) (Dabir *et al.*, 2020) (NP1). Il est toutefois important de noter que l'absence de perte d'expression des protéines MMR au niveau d'un adénome colorectal n'exclut pas la possibilité d'un SL. Contrairement à d'autres études (Pino *et al.*, 2009), cette méta-analyse n'a pas mis en évidence de différence significative de perte d'expression en fonction du gène MMR muté, ni en fonction du siège des adénomes (NP1).

Velayos *et al.* et Kushnir *et al.* ne recommandent pas d'évaluer systématiquement le statut MMR tumoral des adénomes colorectaux, même chez les malades de moins de 40 ans (Velayos *et al.*, 2005; Kushnir *et al.*, 2014) (NP1). Ce test ne doit être réalisé que chez les patients avec une suspicion de SL et dans le cadre d'une filière oncogénétique.

Enfin, il n'y a pas d'intérêt à tester les lésions colorectales festonnées de type lésions sessiles festonnées (les ex « adénomes/polypes sessiles festonnés ») lorsque l'on suspecte un SL, ces lésions étant souvent liées à une hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* et donc d'origine sporadique.

Recommandations

Pour les **adénomes colorectaux**, il n'est pas recommandé d'évaluer systématiquement le statut MMR tumoral, même chez les malades de moins de 40 ans. Ce test ne doit être réalisé que chez les patients avec une suspicion de syndrome de Lynch, dans le cadre d'une filière oncogénétique (*grade B*). Chez les patients pour lesquels on suspecte un syndrome de Lynch, l'évaluation du statut MMR tumoral dans des **adénomes colorectaux** est possible mais avec une sensibilité plus faible que dans les cancers invasifs. Il est recommandé de privilégier l'étude des adénomes les plus avancés (adénomes villeux mesurant plus de 1 cm et en dysplasie de haut grade. I). Il n'y a pas d'intérêt à tester les lésions colorectales festonnées de type lésions sessiles festonnées (*grade A*).

Attention : il est toutefois très important de noter que l'absence de perte d'expression des protéines MMR et un statut MSS dans un adénome colorectal n'excluent pas la possibilité d'un syndrome de Lynch.

E. QUESTION 4 : TUMEURS PRIMITIVES, MÉTASTASES ET TUMEURS MULTIPLES

1. Tumeur primitive versus métastase

Peu d'études sont disponibles concernant le statut MMR entre tumeur primitive et métastase appariée étant donné le faible pourcentage de patients présentant une évolution métastatique avec ce statut moléculaire.

Dans le cancer colorectal, une concordance est néanmoins soulignée dans le cadre d'une série récente portant sur 369 patients avec cancer colorectal, s'appuyant sur des techniques d'immunohistochimie et de biologie moléculaire (He *et al.*, 2019) (en annexe, **Tableau 10**). Des discordances étaient notées dans 20 % des cas concernant les métastases péritonéales et ovariennes (He *et al.*, 2019) (NP2).

Les analyses poolées de différentes séries confirment ces données et certains auteurs ont soulevé l'hypothèse d'une disparité organe dépendante (Ishimaru *et al.*, 1995; Melloni *et al.*, 2006; Larsen *et al.*, 2009; Murata *et al.*, 2013; Haraldsdottir *et al.*, 2016; Fujiyoshi *et al.*, 2017; Jung *et al.*, 2017; He *et al.*, 2019) (NP2) (en annexe, **Tableau 10**).

D'autre part, la possibilité d'une hétérogénéité liée à la présence de sous-clones est également débattue (Tachon *et al.*, 2018) (NP2). Dans le cancer de l'endomètre, les rares publications existantes n'ont pas montré de discordance entre tumeur primitive et métastases. Les rares cas (2 %) initialement interprétés comme discordants dans ces séries comportaient en fait un sous-clone dMMR dans la tumeur primitive à l'origine d'une métastase dMMR (Ta *et al.*, 2018; Aird *et al.*, 2020) (NP2).

Conclusions : L'ancienneté de certaines études, les méthodologies différentes utilisées, l'absence de réalisation conjointe de techniques immunohistochimiques et de biologie moléculaire dans la plupart des cas et le faible nombre de cas au sein des séries publiées ne permettent pas de dresser de conclusion définitive sur de possibles disparités du statut MMR entre tumeur primitive et métastase. Dans la majorité des cas le statut apparaît concordant entre les différents sites. Il faut également signaler que les publications disponibles concernent principalement le cancer colorectal.

2. Cancers colorectaux synchrones avec ou sans métastase

Les CCR synchrones sont relativement rares (1 à 4 % des CCR réséqués). Néanmoins, les malades atteints du syndrome de Lynch présentent une incidence élevée de CCR synchrones. Une perte d'expression des protéines MMR est rapportée dans environ 35 % des cancers synchrones (Pai and Pai, 2016) (NP2). De manière intéressante, la plupart des études objectivent une très bonne concordance du statut MMR entre les tumeurs synchrones d'un même patient, atteignant 87 % à 98 % (Dykes *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2013) (NP2). Cependant une autre étude mentionne chez des patients atteints de syndrome de Lynch et présentant des tumeurs synchrones ou métachrones, une discordance du statut MMR dans 31 % des cas (Roth *et al.*, 2016) (NP2). L'ensemble de ces données incite donc à tester toutes les tumeurs pour les cas de tumeurs synchrones.

Recommandations

Il n'existe pas actuellement de données solides objectivant une disparité du statut MMR tumoral entre tumeur primitive et métastases. Il est recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral sur la tumeur primitive ou la métastase, en fonction de la disponibilité et de la cellularité tumorale du matériel. Par ailleurs, il est recommandé de privilégier le prélèvement réalisé avant tout traitement par radiothérapie et/ou chimiothérapie (*grade B*).

En cas de tumeurs synchrones multiples (par exemple, colorectales), il est recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral sur toutes les tumeurs, notamment afin de rechercher un syndrome de Lynch, plus fréquent dans ce cas (*accord d'experts*).

Chez un patient métastatique avec plusieurs tumeurs primitives de statut MMR tumoral différent, il est recommandé d'évaluer de nouveau le statut MMR tumoral (IHC et biologie moléculaire) sur la métastase dans le cadre d'un possible traitement par immunothérapie (*accord d'experts*).

F. QUESTION 5 : BIOPSIES LIQUIDES

Les biopsies liquides sont définies par l'utilisation d'un prélèvement sanguin pour analyser le plus souvent de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) ou des cellules tumorales circulantes, afin de caractériser une maladie tumorale, dans un cadre diagnostique, pronostique ou prédictif. L'ADNtc dérivé de cellules cancéreuses peut être identifié chez plus de 90 % des patients atteints d'un cancer avancé, ce qui représente une source potentielle non invasive d'ADN tumoral pour caractériser une tumeur donnée (Siravegna *et al.*, 2019) (NP1). Les études concernant la détermination du statut MSI par biopsie liquide à partir d'ADNtc commencent à enrichir la littérature médicale. Elles offrent l'avantage d'être réalisables en cas de matériel tissulaire rare ou épuisé, d'être répétables séquentiellement pour monitorer une réponse ou une résistance à l'immunothérapie par inhibiteur de check-points et de palier à l'hétérogénéité tumorale.

Différentes techniques ont été proposées : 1) pour augmenter la sensibilité en cas de faible fréquence allélique, aboutissant à une possible utilisation en clinique, par enrichissement du plasma en ADNtc (Ladas *et al.*, 2018) (NP2) 2) pour évaluer la performance de marqueurs différents de ceux de la NCI-Pentaplex (PCR) (Hause *et al.*, 2016; Silveira *et al.*, 2020) (NP2). Elles ont donné des résultats encourageants. Deux études sont venues récemment renforcer la fiabilité et l'utilité de l'ADNtc pour déterminer le statut MSI. Georgiadis *et al.* ont utilisé une technologie d'hybride capture avec un panel de gènes pan-cancer incluant des régions microsatellitaires aboutissant à une spécificité de 99 % et une sensibilité de 78 % (Georgiadis *et al.*, 2019) (NP2). De plus, la détermination du statut MSI sur ADNtc isolé avant traitement du patient, permettait de prédire la survie sans progression. Par ailleurs, l'analyse séquentielle d'échantillons plasmatiques a permis le suivi d'une réponse durable chez des patients traités par inhibiteur des check-points de l'immunité.

Willis *et al.* se sont appuyés sur une méthode de détection MSI pan-cancer en utilisant la technique Guardant 360 préalablement validée à partir d'échantillons d'ADNtc pour lesquels le statut MSI était déterminé sur technique moléculaire classique tissulaire (J. Willis *et al.* 2019). À partir d'échantillons plasmatiques provenant de patients porteurs de tumeurs solides, cette technique a permis de

détecter 87 % de statut MSI préalablement déterminé sur tissu et 99,5 % de statut MSS, aboutissant à une exactitude de 98,4 % et une valeur prédictive positive de 95 %. La prévalence du statut MSI selon les types tumoraux à partir d'ADNtc était identique à celle déterminée à partir de tissus. Chez des patients atteints de cancer gastrique et traités par immunothérapie, le statut MSI déterminé par cette technique, était associé à un bénéfice clinique, 63 % des malades ayant une réponse complète ou partielle (NP2).

Ainsi, la détection du statut MSI à partir de l'ADNtc semble faisable et pourrait aider à l'appréciation de la réponse au traitement et de l'activité de la maladie. Ces premiers résultats, certes encourageants, nécessitent toutefois d'être validés dans des cohortes prospectives.

Recommandation

Il n'est pas recommandé, en l'état actuel des connaissances, d'évaluer le statut MSI à partir d'ADNtc (en dehors d'essais cliniques) (*accord d'experts*).

CHAPITRE 3 : L'immunohistochimie (IHC) des protéines du système MMR

A. QUESTIONS TRAITÉES DANS CE CHAPITRE

Question 6 : Comment réaliser les IHC et quels anticorps utiliser ?

Question 7 : Comment interpréter le marquage des protéines MMR par IHC ?

Question 8 : Comment rédiger des résultats d'analyse immunohistochimique ?

Question 9 : Quelles sont les sensibilités et spécificités de l'IHC pour détecter un statut dMMR dans les différentes localisations tumorales ?

B. SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

1. Question 6

- reprise des recommandations nationales ou internationales des sociétés savantes et des organismes de contrôle de qualité les plus récentes sur ce sujet (INCa 2010 « Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides. », Sepulveda *et al.*, 2017 ; Luchini *et al.*, 2019 ; nordiq ; AFAQAP).
- utilisation des mots-clés suivants : MMR immunohistochemistry AND two-antibodies strategy OR two-stains panel sur la période : 2009-2020.

Huit références ont été identifiées parmi lesquelles ont été retenues les références avec le plus de cas étudiés, le type tumoral précisé et ceux avec comparaison des deux approches (4 vs 2 anticorps) : 4 articles retenus et un article princeps Shia *et al.*, 2009.

2. Question 7

- reprise des articles princeps sur le sujet et sur les études d'agrément inter-observateurs (Shia, 2008 ; Klarskov *et al.*, 2010 ; Overbeek *et al.*, 2008 ; Sari *et al.*, 2019 ; Pai and Pai, 2016).
- utilisation des mots-clés suivants :
 - (MMR immunohistochemistry OR Mismatch Repair deficiency) AND failure OR limits OR indeterminate results OR pitfalls) ainsi que : (MMR immunohistochemistry) AND heterogeneous OR equivocal OR doubtful OR indeterminate OR aberrant OR cytoplasmic OR nucleolar staining) sur la période : 2005-2020.

227 références ont été identifiées. Les études en doubles, les études inappropriées, les études *in vitro* ont été exclues. Les travaux sélectionnés présentent la meilleure description morphologique du type de marquage pour chaque anticorps et/ou système de scoring

quantitatif détaillé et/ou corrélation avec biologie moléculaire et/ou mutation germinale : 6 articles retenus.

- (isolated loss of MSH6 OR MSH6 staining OR MSH6 immunohistochemistry OR loss of MSH6) AND/OR neoadjuvant OR pretherapeutic treatment sur la période : 2010-2019. Ont été exclues les études en doubles, les études inappropriées, les études *in vitro*. Ont été retenus les articles avec le plus de cas, et/ou les mieux documentés et/ou les plus récents : 4 articles retenus.
- paragraphe assurance qualité : reprise des recommandations nationales ou internationales des sociétés savantes et des organismes de contrôle de qualité les plus récentes sur ce sujet (2017-2020) : Sepulveda *et al.*, 2017 ; Sari *et al.*, 2019 ; Yozu *et al.*, 2019 ; AFAQAP et les articles princeps : Overbeek *et al.*, 2008.

3. Question 8

- reprise des articles biologiques fondamentaux princeps : (Acharya *et al.*, 1996; Kadyrov *et al.*, 2006; Mensenkamp *et al.*, 2014).
- reprises des recommandations françaises et internationales et des articles princeps : (INCa, Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch, 2016) ; INCa 2010 « Bonnes pratiques pour la recherche à visée thérapeutique de mutations somatiques dans les tumeurs solides. » ; Sepulveda *et al.*, 2017 ; Luchini *et al.*, 2019, Shia, 2008.
- sélection sur les mots-clés suivants : (isolated loss of PMS2 OR MSH6 OR clonal loss of MMR protein OR heterogeneous loss of MMR protein OR additional loss of MSH6 OR secondary mutation of MSH6) AND (Lynch syndrome OR sporadic cancer OR interpretation) AND (colorectal OR endometrial cancer). Période 2010-2020 : 165 références. Ont été exclues les études en doubles, les études *in vitro*, les études non appropriées, soit 111 références. Ont été retenues les études les mieux documentées morphologiquement, celles dans lesquelles l'origine (sporadique ou constitutionnelle) des tumeurs était la mieux documentée : 6 références sélectionnées.

4. Question 9

- sélection des mots-clés suivants :
 - Missense MMR mutation AND retained MMRprotein expression OR Lynch syndrome OR microsatellite instability. Période : 2019-2020 : Ont été retenus les articles les mieux documentés : 2 articles retenus.
 - MMR Immunohistochemistry AND (microsatellite instability OR molecular biology) AND (correlation OR concordance OR comparison OR concordance) AND (colorectal OR endometrial OR pancreatic cancer OR gastric adenocarcinoma or sebaceous tumor OR Upper tract urothelial carcinoma OR glioblastoma OR astrocytoma OR glioma). Période : 2002-2020. Ont été retenus les articles les mieux documentés, avec étude si possible des anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR et biologie moléculaire avec panel Bethesda complet ou Pentaplex : 27 articles retenus.

C. QUESTION 6 : TECHNIQUE IMMUNOHISTOCHIMIQUE ET CHOIX DES ANTICORPS

1. Technique immunohistochimique

Il n'existe pas de test standardisé pour l'IHC des 4 protéines MMR. Les tests IHC des protéines MMR sont des tests « maison » devant faire l'objet de contrôles qualité internes et externes. Il existe plusieurs anticorps (AC) commercialisés (liste en annexe, **Tableau 12**) et l'utilisation d'anticorps prédilués doit être préférée. La performance de ces différents anticorps est globalement bonne mais variable et dépendante des conditions de conservation de l'échantillon tumoral et de l'automate employé. Compte-tenu des contraintes d'accessibilité des automates d'IHC, aucun anticorps ne peut être recommandé et la meilleure combinaison anticorps/automate doit être identifiée dans chaque laboratoire. Plusieurs sites internet permettent d'orienter le choix des anticorps en fonction de l'automate utilisé dans son laboratoire (www.nordiqc.org). Il est recommandé que les laboratoires d'anatomie pathologique utilisant ces anticorps participent régulièrement à des tests d'assurance qualité. L'AFAQAP propose un test pour chacun des 4 anticorps dirigé contre les protéines MMR (voir en annexe, **Tableau 11**).

Les étapes pré-analytiques conditionnent la qualité de la technique et de l'interprétation de l'IHC des protéines MMR (Sepulveda *et al.*, 2017) (NP1) et doivent être réalisées selon les règles de bonnes pratiques concernant l'évaluation des biomarqueurs tumoraux (INCa, 2010) (NP1). L'échantillon tumoral doit être fixé en formol tamponné neutre à 10 % et inclus en paraffine (l'IHC des protéines MMR ne marche pas sur les tissus congelés). Pour les biopsies, il est recommandé de placer le prélèvement dans le fixateur immédiatement (délai de quelques minutes). Pour les pièces opératoires, le délai de fixation doit être inférieur à 1 heure. Le volume de fixateur doit être suffisant (rapport de 1 à 10). Le temps de fixation doit être d'au moins 6 à 8 heures pour les biopsies afin d'éviter une sous-fixation et au maximum de 72 heures (24 à 48 heures) pour les pièces opératoires. Il est important d'ouvrir les pièces opératoires pour faciliter la fixation et éviter une sous-fixation des zones centrales de la tumeur. En effet, la sous-fixation est particulièrement délétère pour l'IHC des protéines MMR avec des risques de faux diagnostics de perte d'expression (Sepulveda *et al.*, 2017) (NP1).

2. Combien et quels anticorps faut-il tester ?

La règle est de tester les anticorps dirigés contre les quatre protéines MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6. Cependant, dans les cancers colorectaux mais aussi dans d'autres types tumoraux, il a été montré qu'un test avec 2 anticorps (contre les protéines PMS2 et MSH6) pouvait être aussi efficace et moins coûteux qu'un test avec les 4 anticorps (Shia *et al.*, 2009; Stelloo *et al.*, 2017; Side-Pfenning and Sabourin, 2018) (NP2). Ces protocoles préconisent une analyse en 1^{re} intention avec les anticorps dirigés contre PMS2 et MSH6, suivie de l'analyse des deux autres protéines MLH1 et MSH2 en cas de perte d'expression d'une protéine lors de la première analyse. Cependant, l'interprétation des immunomarquages peut être parfois plus difficile avec l'utilisation de ces deux AC (en particulier MSH6) et/ou en fonction du type tumoral (gliomes) ou du type de tissu (pièce opératoire). Cette méthode peut également engendrer un délai supplémentaire du rendu de résultat. Il a également

été rapporté que ce type d'approche pouvait ne pas détecter plus de la moitié des pertes d'expression de MSH2 et donc environ 50 % des syndromes de Lynch liés à MSH2 (Pearlman *et al.*, 2018) (NP1). Enfin les recommandations ESMO du test MMR en vue d'une immunothérapie recommandent de tester les 4 AC (Luchini *et al.*, 2019) (NP1). Il est donc recommandé de réaliser les tests avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR.

La synthèse de la bibliographie sur les anticorps à tester est en annexe, dans le **Tableau 12**.

Recommandations

Pour l'étape de préparation et de conservation de l'échantillon tumoral, il est recommandé d'appliquer les règles de bonnes pratiques pour l'évaluation des biomarqueurs tumoraux⁷ (*accord d'experts validé comme indispensable*).

Il est recommandé de réaliser l'immunohistochimie en utilisant les anticorps dirigés contre les 4 protéines MMR : MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 (*grade A*).

Aucun anticorps ne peut être recommandé en particulier et la meilleure combinaison anticorps/automate doit être trouvée dans chaque laboratoire (*accord d'experts*).

D. QUESTION 7 : INTERPRÉTATION DU MARQUAGE DES PROTÉINES MMR

Les protéines MMR sont des protéines ubiquitaires, exprimées dans la majorité des tissus et des cellules de l'organisme avec une expression plus intense dans les cellules en cycle (fond des cryptes, couche basale des épithéliums). Ces cellules normales (cellules du stroma, cellules inflammatoires, cellules endothéliales, etc.) constituent de bons témoins internes de la technique IHC. L'expression normale des protéines MMR est une expression intense et diffuse des 4 protéines MMR dans tous les noyaux des cellules tumorales (statut normal ou pMMR en immunohistochimie), souvent plus intense dans la tumeur que dans les cellules normales adjacentes. **Un phénotype MMR déficient en immunohistochimie (dMMR-IHC) se traduit par une perte d'expression complète d'une ou plusieurs protéines MMR dans la tumeur (avec un maintien d'expression dans les cellules normales)**. Cette perte d'expression est généralement diffuse dans toute la tumeur. Pour chaque protéine, le marquage peut être maintenu (normal), perdu, équivoque ou non interprétable :

- **marquage non interprétable** : absence de marquage des cellules tumorales et des cellules du stroma traduisant un défaut technique et qui ne doit pas être interprété. La technique doit être répétée pour obtenir des témoins internes positifs, seuls gages d'une bonne technique (Shia, 2008) (NP1). Il est toutefois important de noter que ce type de marquage n'est pas forcément lié à un problème technique, mais peut s'observer dans les cas exceptionnels de syndrome MMR déficient constitutionnel (ou CMMRD pour Constitutional Mismatch Repair Deficiency), lié à une mutation germinale biallélique d'un des gènes du système MMR.

⁷ - INCa (2010). Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides.

- **marquage équivoque** (ou indéterminé ou douteux) : il peut s'agir d'un marquage faible des témoins internes qui doit conduire à une interprétation très prudente : seul un marquage plus intense que celui observé dans les cellules témoins pourra être interprété comme un maintien d'expression des protéines MMR, alors qu'une absence de marquage ou un très faible marquage (cellules normales et tumorales) ne devront pas être interprétés. Ces faibles marquages résultent le plus souvent d'une sous-fixation et sont plus fréquents dans les pièces opératoires (Klarskov *et al.*, 2010) (NP1). Un recours à une autre technique IHC (dans un centre expert) et une recherche de MSI par biologie moléculaire sont alors nécessaires (Overbeek *et al.*, 2008; Sari *et al.*, 2019) (NP1). Un marquage d'intensité variable au sein de la tumeur, classiquement avec une absence de marquage au centre de la tumeur et des zones un peu marquées en périphérie, à la fois dans les cellules tumorales et dans les témoins internes, et observé généralement avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR, traduit également des variations de fixation ou des phénomènes d'hypoxie et ne doit pas être interprété comme une perte d'expression (Shia, 2008) (NP1).

1. Limite de détection d'une perte d'expression

L'IHC est une technique utilisable même avec un échantillon de tumeur de très petite taille, renfermant peu de cellules tumorales (par exemple : biopsies, matériel de cytoponction). **Il n'existe cependant pas de recommandation sur le seuil minimal de cellules tumorales nécessaire pour qu'une analyse IHC soit valide.** Bien que plusieurs travaux appliquent une règle de pourcentage de cellules marquées, cela peut induire des faux-négatifs (marquage faussement interprété comme maintien d'expression) (Pearlman *et al.*, 2018) (NP1). D'autre part, il n'existe aucun consensus sur un seuil de cellules marquées, très variable en fonction des auteurs (5 %, 10 %), et difficilement applicable en pratique (Sarode and Robinson, 2019; Shia *et al.*, 2009) (NP2). **Pour toutes ces raisons, il n'est pas recommandé d'appliquer un seuil de pourcentage de cellules marquées, mais vraiment de considérer comme perdue une expression des protéines MMR absente dans toutes les cellules tumorales, en présence d'un témoin interne positif.**

2. Pièges et artéfacts

Il existe des marquages particuliers qu'il faut connaître :

i) **Marquage nucléaire ponctuel** (« tacheté » ou nucléolaire) observé en particulier avec la protéine MLH1 et qui correspond généralement à une perte d'expression (Pai and Pai, 2016) (NP1). Ce type de marquage est souvent associé à une perte d'expression de la protéine PMS2 et est souvent lié à une méthylation du promoteur de *MLH1* (Shia, 2008) (NP1), mais aussi à des SL avec mutation de *MLH1* ou *PMS2* (Sarode and Robinson, 2019) (NP1) (**Figure 1**).

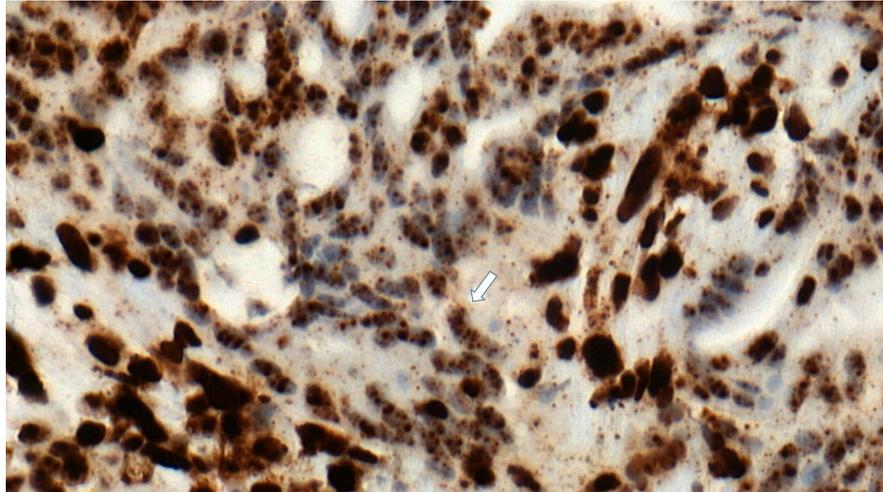


Figure 1 : Immunomarquage MLH1 dans un cancer du côlon. Marquage punctiforme de certains noyaux tumoraux (flèche)

ii) **Faible marquage MLH1 avec perte d'expression PMS2** : dans les CCR et les cancers de l'endomètre, ce profil correspond souvent à une authentique inactivation de *MLH1* (donc à une perte d'expression), soit d'origine constitutionnelle mais le plus souvent sporadique par hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (Kato *et al.*, 2016; Pai and Pai, 2016) (NP1). Il convient donc de conclure à une probable perte couplée de MLH1 et PMS2 et non pas à une perte isolée de PMS2. Cette perte couplée conduira alors à une recherche d'hyperméthylation de *MLH1* (cf. chapitre IV-F-1 Méthylation du promoteur du gène MLH1).

iii) **Marquage cytoplasmique sans marquage nucléaire**, en particulier avec MSH2 : ce profil a été décrit en cas de délétion constitutionnelle de la région distale du gène *TACSTD1 (EPCAM)* (Cini *et al.*, 2019) (NP1). Il doit être interprété comme une perte d'expression de MSH2 (**Figure 2**).

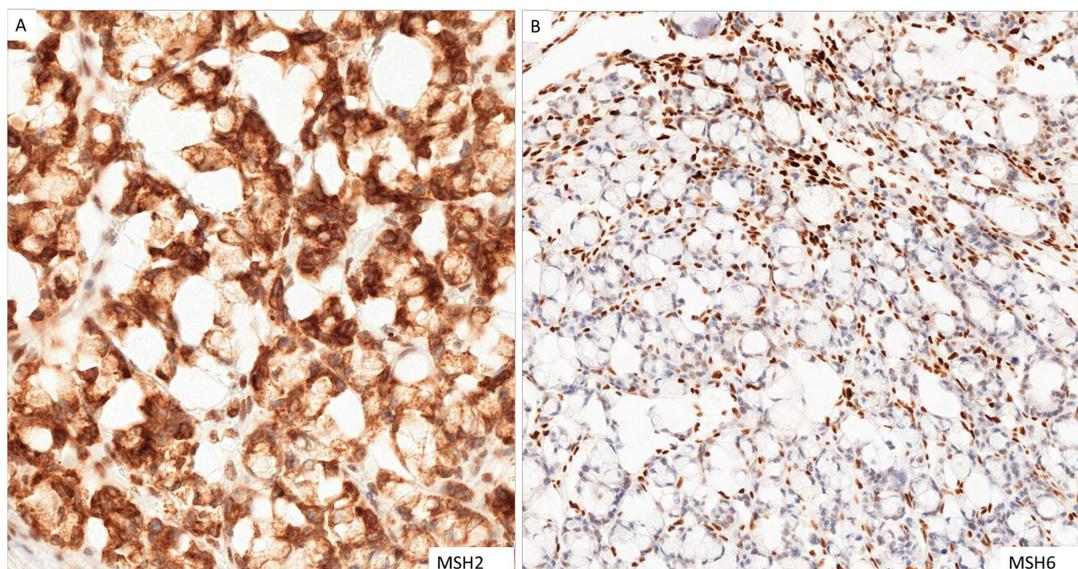


Figure 2 : Adénocarcinome mucineux du côlon chez une femme de 35 ans, avec un syndrome de Lynch lié à une mutation germinale de *TACSTD1 (EPCAM)*. A : marquage cytoplasmique sans marquage nucléaire avec l'anti-MSH2. B : Perte d'expression de MSH6 (pas de marquage des noyaux des cellules tumorales avec marquage intense des noyaux du stroma)

iv) **Marquage de MSH6** : diminution de l'intensité ou perte du marquage MSH6 post-traitement, initialement décrit dans les cancers du rectum après radio-chimiothérapie néoadjuvante mais sans instabilité microsatellitaire et avec maintien de l'expression de MSH6 sur le matériel pré-thérapeutique (**Figure 3**). Il est donc préférable d'effectuer l'analyse sur les biopsies endoscopiques réalisées avant tout traitement plutôt que sur du matériel opératoire (Bao *et al.*, 2010) (NP1). Ceci a également été décrit dans les cancers du côlon post-chimiothérapie et même sans chimiothérapie, secondairement à l'hypoxie et/ou à une diminution de la prolifération cellulaire (Kuan *et al.*, 2017) (NP1). Une expression nucléolaire et proéminente de MSH6 peut également être observée et correspond généralement à une authentique perte d'expression (Pai and Pai, 2016) (NP1). Dans les cancers de l'endomètre ou de l'ovaire (non séreux, non-mucineux) il peut exister des cellules tumorales dispersées non marquées ou faiblement marquées adjacentes à des cellules tumorales fortement marquées ne s'inscrivant pas dans le cadre d'une véritable perte d'expression (Sari *et al.*, 2019) (NP1).

v) Il a également été décrit, dans de rares cas de cancers colorectaux, un **marquage distinct de la membrane nucléaire des noyaux** des cellules tumorales sans marquage nucléaire diffus. Ce type de marquage résulte d'artefact technique mais correspond généralement à une authentique perte d'expression (Pai and Pai, 2016) (NP1).

Un outil décisionnel a été proposé pour l'interprétation des immunomarquages MMR dans les cancers de l'endomètre et de l'ovaire (Sari *et al.*, 2019) (NP1). Cet outil est parfaitement applicable aux CCR et aux autres tumeurs (**Figure 4**).

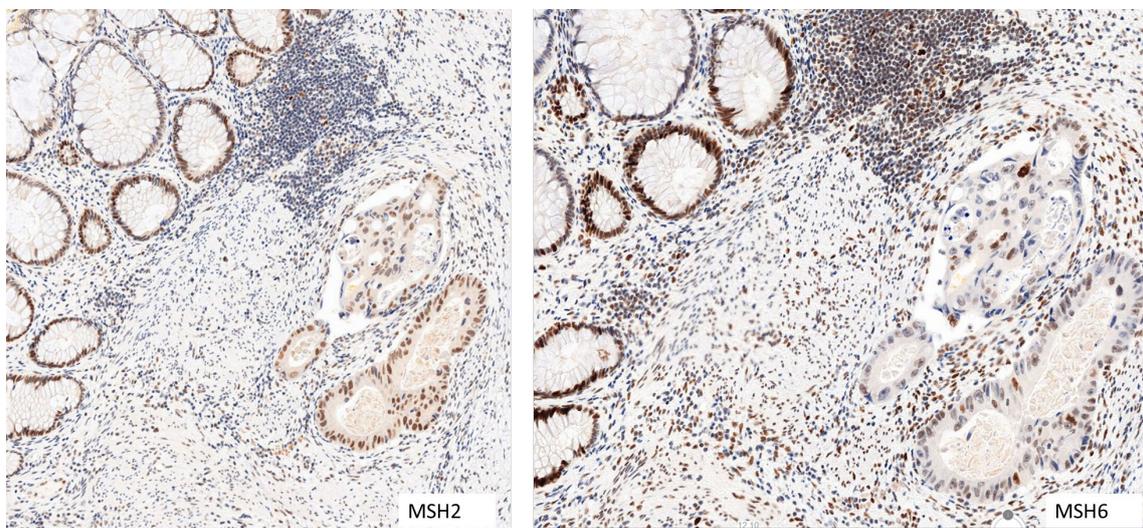


Figure 3 : Adénocarcinome rectal post radio-chimiothérapie. Maintien d'expression MSH2. Forte diminution d'expression hétérogène de MSH6.

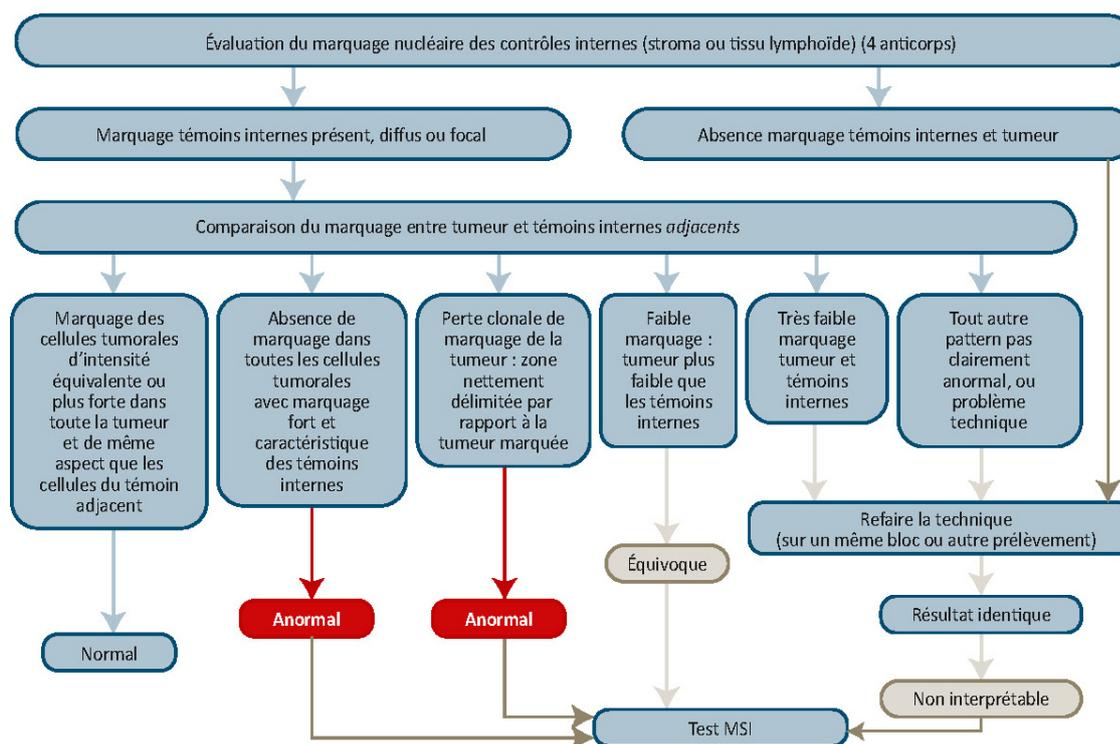


Figure 4 : Outil décisionnel pour l'interprétation des immunomarquages des protéines MMR dans les tumeurs, adapté d'après (Sari *et al.*, 2019).

3. Assurance qualité

Toutes les recommandations publiées au niveau international préconisent de mettre en place un programme de contrôle de qualité des techniques d'analyse, en prônant en particulier l'utilisation de témoins (amygdale par exemple) et la participation à des programmes de contrôle de qualité externe (Sepulveda *et al.*, 2017; Yozu *et al.*, 2019) (NP1). L'AFAQAP (Association française d'assurance qualité en anatomie pathologique) propose des tests sur l'immunomarquage des protéines MMR (MLH1 et MSH2 depuis 2009 et MSH6 et PMS2 depuis 2016). Certains auteurs prônent que l'immunohistochimie soit réalisée dans un cadre spécialisé, par des pathologistes expérimentés, et que les résultats des immunomarquages soient évalués en tenant compte du statut moléculaire de la tumeur (Overbeek *et al.*, 2008) (NP1). En dehors des centres spécialisés, il est souhaitable que tous les pathologistes suivent des formations dédiées à la réalisation de ce test et à son interprétation et qu'ils travaillent en lien avec un laboratoire de biologie moléculaire, utile pour calibrer ces immunomarquages (Overbeek *et al.*, 2008; Sari *et al.*, 2019) (NP1).

La synthèse de la bibliographie sur l'interprétation des marquages et les limites de détection est en annexe, dans le **Tableau 13**, celle sur les études d'agrément interobservateurs, dans le **Tableau 14**.

Recommandations

Un phénotype dMMR en immunohistochimie se traduit par une perte d'expression **complète** d'une ou plusieurs protéines MMR dans la tumeur (avec un maintien d'expression dans les cellules normales).

Il n'est pas recommandé d'appliquer un seuil de pourcentage de cellules tumorales marquées pour déterminer une perte d'expression d'une protéine MMR (*grade B*).

Attention : Une forte diminution d'expression des protéines MMR dans les cellules tumorales par rapport aux cellules normales est équivoque et ne permet pas de conclure avant la réalisation d'un test de biologie moléculaire.

Une absence de marquage des cellules tumorales et des cellules du stroma traduit la plupart du temps un défaut technique : un tel résultat ne doit pas être interprété. Il est recommandé de répéter la technique pour obtenir des témoins internes positifs (*grade A*).

Remarque : Il existe cependant de très rares cas de perte d'expression totale d'une protéine MMR dans la tumeur et le tissu sain dans le cadre du syndrome MMR déficient constitutionnel ou CMMRD.

Il est recommandé de décrire avec précision et d'interpréter avec prudence les marquages complexes, équivoques et les marquages particuliers. Dans ces cas-là, et pour les cas non interprétables, la technique d'immunohistochimie doit obligatoirement être complétée par une recherche d'instabilité microsatellitaire par biologie moléculaire (*grade A*).

Pour réaliser des tests d'immunohistochimie, il est recommandé d'être formé à l'analyse et à l'interprétation des résultats, de respecter les règles d'interprétation et de participer régulièrement aux évaluations externes de la qualité. L'immunohistochimie peut être réalisée dans tous les laboratoires d'anatomocytopathologie qui respectent ces recommandations. (*accord d'experts validé comme indispensable*).

E. QUESTION 8 : RÉDACTION DES RÉSULTATS D'ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE

Les protéines MMR agissent en hétérodimères fonctionnels, MSH6 avec MSH2 et PMS2 avec MLH1, dans lesquels les partenaires obligatoires sont respectivement MSH2 et MLH1, les partenaires secondaires respectivement MSH6 et PMS2, mais aussi avec des partenaires optionnels (MSH3 à la place de MSH6 et MLH3 ou PMS1 à la place de PMS2). En conséquence, une mutation des gènes *MLH1* ou *MSH2* entraîne une dégradation protéolytique de la protéine mutée mais également de son partenaire secondaire, PMS2 ou MSH6 respectivement, et une perte d'expression concomitante des deux protéines de l'hétérodimère (Acharya *et al.*, 1996; Kadyrov *et al.*, 2006) (NP1). Cette perte d'expression « en couple » est le profil le plus fréquent des tumeurs dMMR. Chaque perte d'expression d'un hétérodimère correspond à un ou plusieurs mécanismes possibles d'inactivation des protéines MMR : une perte d'expression de PMS2/MLH1 correspond soit à une inactivation tumorale de *MLH1* par hyperméthylation de son promoteur (le plus fréquent) soit à un syndrome de Lynch, alors qu'une perte d'expression de MSH2/MSH6 correspond le plus souvent à un syndrome de

Lynch (il existe cependant des cas d'inactivation purement tumorale de MSH2 ou MSH6, par double mutation acquise d'un gène dans la tumeur) (Mensenkamp *et al.*, 2014) (NP1).

En revanche, une mutation de *PMS2* ou *MSH6* n'entraîne pas obligatoirement de dégradation de leur partenaire primaire car ces protéines mutées peuvent être substituées par un partenaire optionnel (*MSH3*, *PMS1* ou *MLH3*), assurant alors la stabilité de *MLH1* ou *MSH2*. Il en résulte une perte isolée d'une seule protéine de l'hétérodimère : *MSH6* ou *PMS2*. Ce profil d'expression s'observe dans environ 8 à 9 % des tumeurs dMMR (Jaffrelot *et al.*, sous presse) (NP1). Il a particulièrement été rapporté dans les cancers de l'endomètre et les CCR (Alpert *et al.*, 2018) (NP1) et plus rarement dans d'autres types tumoraux (Jaffrelot *et al.*, sous presse) (NP1). Il résulte le plus souvent d'un SL (il existe cependant des cas d'inactivation purement tumorale de *MSH6*, plus rarement de *PMS2*).

Un profil de perte d'expression particulier a été décrit très récemment : la perte d'expression clonale des protéines MMR. Il se caractérise par une perte d'expression abrupte et nette des deux protéines d'un hétérodimère dans une zone tumorale ou plusieurs foyers tumoraux au sein d'une même tumeur (Stelloo *et al.*, 2017; Tachon *et al.*, 2018) (NP1). Ces profils d'expression clonale traduisent l'hétérogénéité tumorale et s'accompagnent d'une instabilité microsatellitaire. Ils résultent de mécanismes variés : hyperméthylation hétérogène du promoteur de *MLH1* le plus souvent, Syndrome de Lynch, etc. Ce profil d'expression est rare, décrit dans 3 à 5 % des cas, essentiellement des cancers de l'endomètre et du côlon et avec une fréquence non connue pour les autres types tumoraux.

Enfin, dans de très rares cas, il existe une perte d'expression « complexe » d'une ou plusieurs protéines MMR (ex : perte d'expression des 4 protéines MMR, perte d'expression de *MLH1/PMS2* et *MSH6*, perte d'expression de deux protéines ne correspondant pas aux hétérodimères), résultant de mécanismes complexes d'inactivation des protéines MMR (Jaffrelot *et al.*, sous presse) (NP1). Les plus fréquents sont une perte d'expression de trois ou quatre protéines MMR secondaire à une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (responsable de la perte d'expression *MLH1/PMS2*) suivi d'une double mutation tumorale de *MSH6* (responsable de la perte d'expression *MSH6 +/-MSH2*) (Shia *et al.*, 2013; Westwood *et al.*, 2019) (NP1).

Au total, il existe 4 profils d'expression possibles des protéines MMR, avec 6 combinaisons possibles de perte d'expression de protéines MMR et donc de tumeur dMMR-IHC, illustrés dans les Figures 5 à 8 :

- **expression normale des 4 protéines (pMMR-IHC) ;**
- **expression anormale de protéines MMR : perte d'expression de protéines (dMMR-IHC) :**
 - perte d'expression conjointe de *MLH1* et de *PMS2* ;
 - perte d'expression conjointe de *MSH6* et de *MSH2* ;
 - perte d'expression isolée de *PMS2* ;
 - perte d'expression isolée de *MSH6* ;
 - perte d'expression clonale de protéines MMR ;
 - perte d'expression complexe ;
- **expression équivoque (indéterminée ou douteuse) ;**
- **non interprétable.**

Chapitre 3 : L'immunohistochimie (IHC) des protéines du système MMR

Ces profils ont été décrits dans les cancers de l'endomètre et du côlon (Stelloo *et al.*, 2017; Jaffrelot *et al.*, sous presse) (NP1). Il existe peu d'études sur les profils d'expression dans les autres types tumoraux, mais ils paraissent pouvoir également s'appliquer de manière similaire à ceux décrits dans les cancers colorectaux et de l'endomètre.

À chaque profil d'expression correspond donc un ou plusieurs mécanismes particuliers d'inactivation des protéines MMR qui peut orienter vers un cadre diagnostique sporadique ou familial et qui détermine le besoin de réalisation d'analyses complémentaires tumorales ou constitutionnelles (INCa, Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch, 2016). Chaque type de résultat doit donc être accompagné d'une interprétation et d'une proposition sur la conduite à tenir (**Tableau 3**).

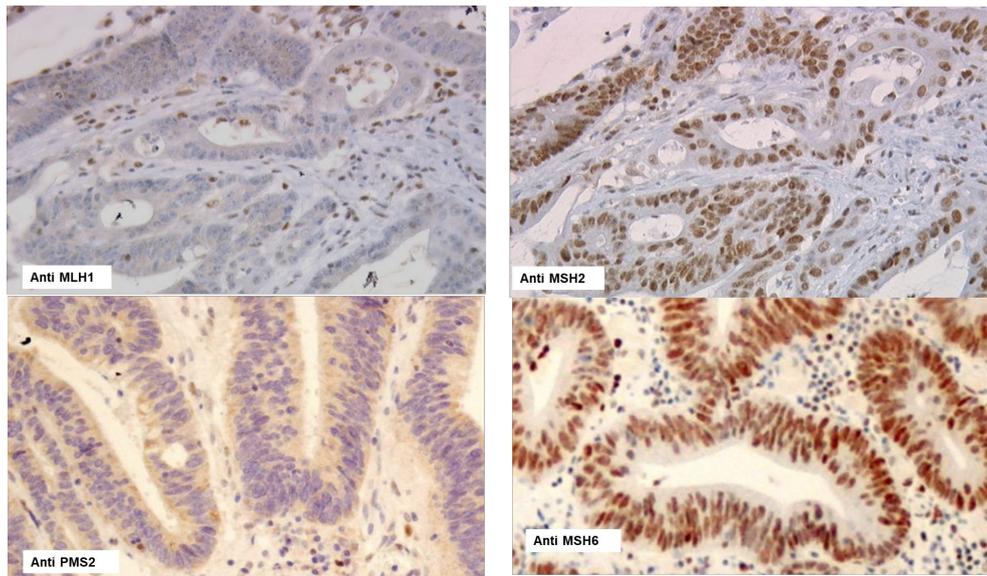


Figure 5 : Adénocarcinome colique de phénotype dMMR : Perte d'expression conjointe de l'hétérodimère fonctionnel MLH1/PMS2

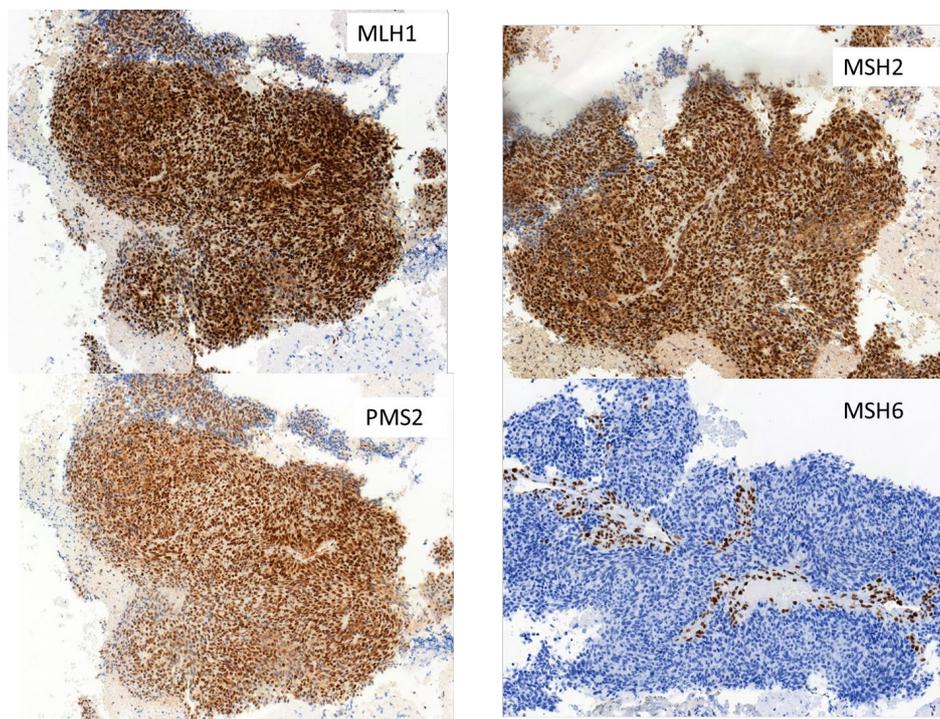


Figure 6 : Carcinome de l'endomètre peu différencié de phénotype dMMR : perte d'expression isolée de MSH6 chez une patiente avec un syndrome de Lynch lié à *MSH6*.

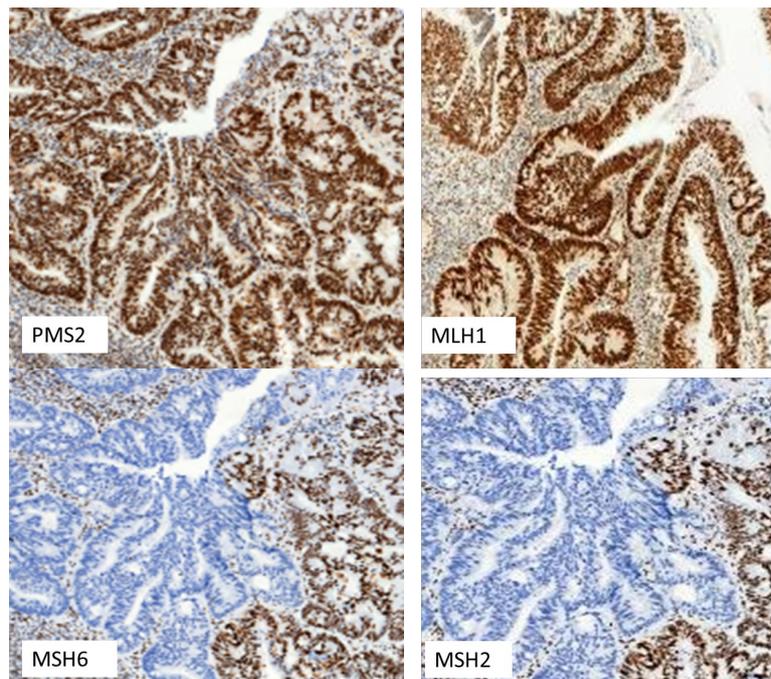


Figure 7 : Adénocarcinome colique bien différencié de phénotype dMMR : perte clonale de MSH6 et de MSH2 avec maintien d'expression de PMS2 et de MLH1 chez un patient avec un syndrome de Lynch lié à MSH6.

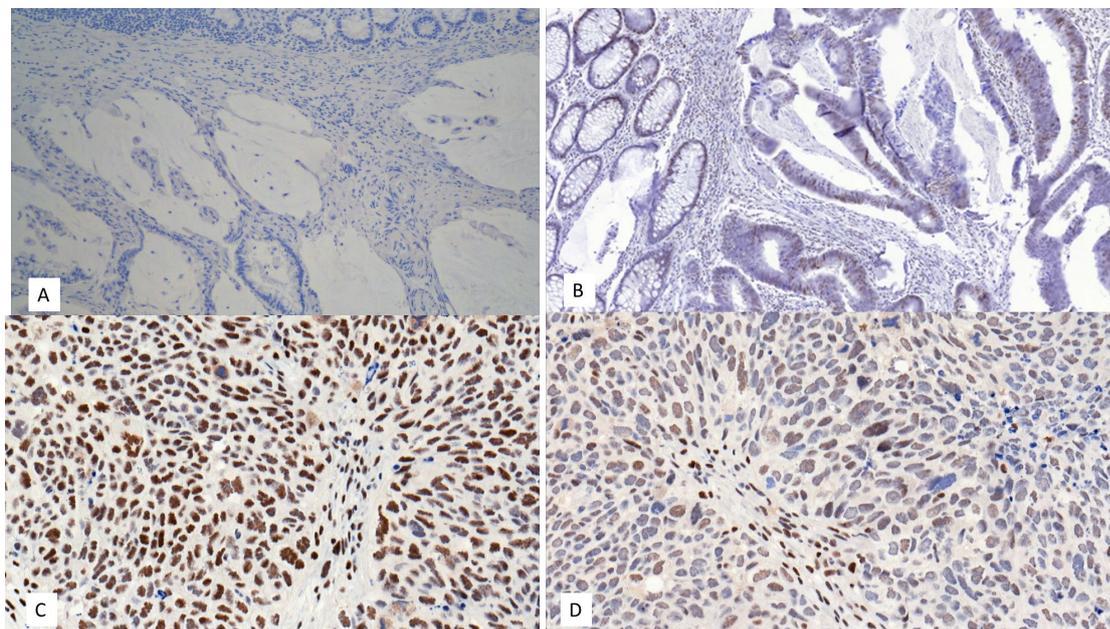


Figure 8 : Exemples d'immunomarquages avec expression non interprétable ou équivoque :

A : Adénocarcinome mucineux colique, MLH1 : immunohistochimie non interprétable (aucun marquage dans cellules du stroma ni dans cellules tumorales), B : Adénocarcinome colique bien différencié, MLH1 : marquage équivoque car marquage faible de MLH1, variable dans la tumeur mais un peu plus faible que dans les témoins internes. C et D : Carcinome urothélial (TVES) avec maintien d'expression de MLH1 (C) mais expression équivoque de PMS2 (D).

Tableau 3 : Exemple de conclusions et d'interprétations des résultats d'immunohistochimie, applicable aux tumeurs du spectre du syndrome de Lynch (ce tableau ne s'applique qu'au résultat d'analyse IHC seul. L'interprétation globale du statut MMR tumoral incluant l'ensemble des données immunohistochimiques, le statut microsatellitaire et les analyses moléculaires supplémentaires doit être faite en fonction du type tumoral, cf. chapitre V indications d'évaluation du statut MMR tumoral)

Profil d'expression	Conclusion	Interprétation
Expression normale des 4 protéines	Phénotype pMMR en immunohistochimie	Ce phénotype est en faveur d'une tumeur non liée au syndrome de Lynch (toutefois, le résultat est à interpréter en fonction du contexte personnel et familial).
Perte d'expression MLH1 et PMS2 (ou très faible expression MLH1 et perte PMS2) ou Perte d'expression clonale MLH1 et PMS2	Phénotype dMMR en immunohistochimie	Des analyses moléculaires supplémentaires doivent être réalisées dans cette tumeur pour orienter le caractère sporadique ou potentiellement constitutionnel de cette tumeur.
Perte d'expression MSH6 et MSH2 ou Perte d'expression clonale MSH6 et MSH2	Phénotype dMMR en immunohistochimie	Ce phénotype est plus souvent associé à un syndrome de Lynch qu'à une forme sporadique. Une consultation génétique doit être proposée à ce (cette) patient(e).
Perte d'expression isolée PMS2	Phénotype dMMR en immunohistochimie	Ce phénotype est plus souvent associé à un syndrome de Lynch qu'à une forme sporadique. Une consultation génétique doit être proposée à ce (cette) patient(e). *
Perte d'expression isolée MSH6	Phénotype dMMR en immunohistochimie	Ce phénotype est plus souvent associé à un syndrome de Lynch qu'à une forme sporadique. Une consultation génétique doit être proposée à ce (cette) patient(e).
Perte d'expression complexe des protéines MMR	Phénotype dMMR en immunohistochimie	Ce phénotype est souvent associé à un syndrome de Lynch. Une consultation génétique doit être proposée à ce (cette) patient(e).
Expression équivoque (indéterminée ou douteuse)	Phénotype MMR non évaluable par immunohistochimie	Une recherche d'instabilité microsatellitaire par biologie moléculaire doit être réalisée.
Non interprétable	Phénotype MMR non évaluable dans ce matériel.	Une analyse doit être réalisée sur un autre matériel tumoral si disponible.

* : dans les cas de marquage faible de MLH1, il est nécessaire de rechercher une hyperméthylation du promoteur de *MLH1*

Recommandations

Il est recommandé de **confirmer toutes les pertes d'expression de protéines MMR** (dMMR-IHC), quel que soit le profil d'expression, par la recherche d'une instabilité microsatellitaire **en biologie moléculaire**, adaptée au type tumoral. Le compte-rendu du résultat d'immunohistochimie doit clairement préciser que l'interprétation globale du statut MMR tumoral sera réalisée avec le résultat de la biologie moléculaire (*grade B*).

Il est recommandé de **compléter tout immunomarquage complexe, équivoque (ou « douteux ») des protéines MMR** par la recherche d'une instabilité microsatellitaire **en biologie moléculaire**. Une interprétation globale du statut MMR tumoral devra être réalisée avec le résultat de la biologie moléculaire (*grade A*).

Il est recommandé que le laboratoire d'anatomocytopathologie qui a rendu un résultat MMR par immunohistochimie réalise, ou fasse réaliser par un tiers, les tests moléculaires complémentaires actuellement recommandés (méthylation du promoteur du gène *MLH1* et/ou mutation du gène *BRAF*), dès lors que nécessaires. Ces analyses doivent être faites le plus rapidement possible selon les recommandations pour la réalisation des tests moléculaires tumoraux (INCa, 2010) (*accord d'expert validé comme indispensable*).

Il est recommandé d'appliquer une terminologie universelle pour rédiger le résultat d'une analyse immunohistochimique et de l'accompagner d'une interprétation du résultat avec proposition sur l'orientation vers une origine sporadique ou vers une probable origine constitutionnelle nécessitant une consultation d'oncogénétique (cf. Tableau 3) (*accord d'expert validé comme indispensable*).

F. QUESTION 9 : SENSIBILITÉ/SPÉCIFICITÉ DE L'IHC POUR DÉTECTER UN STATUT dMMR

La sensibilité et la spécificité de ce test sont difficiles à déterminer car il n'existe pas de *gold standard* universel qui peut être : l'identification d'une déficience MMR (perte d'expression de protéines MMR, MSI ou charge mutationnelle), l'identification d'une mutation germinale (pour le syndrome de Lynch), ou bien la prédiction de sensibilité à un traitement. Les données les plus disponibles concernent la concordance entre l'IHC et le test MSI en biologie moléculaire (cf. **Tableau 15**), mais basées sur des techniques très différentes (MSI-PCR et plus récemment NGS mais avec différents panels), rendant les comparaisons d'études difficiles. L'immunohistochimie est fiable pour identifier les mutations qui entraînent une protéine tronquée ou une dégradation de la protéine. Cependant, les faux négatifs restent possibles en cas de mutations faux sens qui entraînent des protéines mutantes catalytiquement inactives, mais antigéniquement intactes. Dans une publication récente, ce taux de faux négatifs dus à des mutations faux sens des gènes MMR représenterait jusqu'à 6 % des cas des cancers colorectaux (Hechtman *et al.*, 2020) (NP2). Une autre étude confirme que ces mutations faux-sens (constitutionnelles ou tumorales) peuvent s'accompagner d'un maintien d'expression de la protéine mutée (Chen *et al.*, 2020) (NP1). Cependant, dans ces deux études, une analyse attentive montrait dans la majorité de ces cas une diminution du marquage de la protéine mutée par rapport au tissu normal et une perte de marquage de l'autre protéine partenaire de l'hétérodimère, permettant généralement de conclure à un statut

dMMR-IHC. Le cas échéant la recherche du statut MSI en biologie moléculaire permet de conclure dans la majorité des cas.

Lorsque les quatre protéines MMR (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) sont testées, la corrélation entre la perte d'expression des protéines MMR et les tests MSI est très bonne pour **les cancers colorectaux**. Dans les trois séries principales, comprenant 1 144, 1 066 et 1 119 patients atteints de CCR, la sensibilité de la détection des tumeurs dMMR par immunohistochimie était respectivement de 92 %, 93 % et 94 % (Lindor *et al.*, 2002; Engel *et al.*, 2006; Hampel *et al.*, 2006) (NP1). La valeur prédictive d'un examen normal en immunohistochimie pour un profil MSS ou MSI-low est de 96,7 % et la valeur prédictive d'un examen anormal est de 100 % pour un profil MSI-High (Lindor *et al.*, 2002) (NP1). Ces séries anciennes sont cependant basées sur des techniques parfois incomplètes. D'autres séries, plus récentes comparant l'IHC avec les anticorps dirigés contre les autres protéines MMR et la biologie moléculaire avec le panel consensuel NCI-Bethesda ou NCI-Pentaplex (cf. chapitre IV-A panels consensuels NCI-Bethesda et NCI-Pentaplex) déterminent un taux de concordance entre les deux techniques qui varie de 91 % à 99 % avec une sensibilité de l'IHC pour détecter un statut MSI-H de 98 à 100 % et une spécificité de 98,2 % (Hatch *et al.*, 2005; Yuan *et al.*, 2015; Jaffrelot *et al.*, sous presse) (NP1). La concordance entre l'IHC et la détection de MSI-High par NGS (MSIsensor) pour les SL est de 98,2 % (Latham *et al.*, 2019) (NP1). Toutefois, dans cette dernière étude, la concordance entre ces deux techniques était meilleure pour les cancers colorectaux et pour les cancers de l'endomètre que pour les autres localisations.

Dans les cancers de l'endomètre, la concordance entre l'IHC et la biologie moléculaire est de 94 % et la majorité des cas discordants correspond à une perte d'expression en immunohistochimie avec un statut MSS/MSI-low (Stelloo *et al.*, 2017) (NP1).

Pour les tumeurs sébacées, la concordance entre l'IHC et la biologie moléculaire a été très peu étudiée et varie de 82 % (Lamba *et al.*, 2015) à 100 % (Entius *et al.*, 2000; Ponti *et al.*, 2005) (NP3). Les discordances correspondent à des tumeurs MSI sans perte d'expression en immunohistochimie, avec dans cette étude une absence d'analyse avec des anticorps dirigés contre les protéines MSH6 et PMS2 (Lamba *et al.*, 2015) (NP3).

Dans les cancers de la prostate, le test MSI par PCR (NCI-Pentaplex) est peu sensible (environ 60 %) pour détecter une déficience MMR (basée sur des altérations tumorales des gènes MMR, une charge mutationnelle et un large panel microsatellites en NGS) alors que l'IHC détecte la quasi-totalité des cas (Guedes *et al.*, 2017; Abida *et al.*, 2019; Fraune *et al.*, 2020) (NP2).

Dans les tumeurs de voies excrétrices supérieures (TVES), la fréquence du statut dMMR-IHC seule avec les 4 AC varie de 4,8 % à 13,6 % (5 études), avec une seule étude discordante à 18 %. Les études de comparaison avec la recherche d'instabilité microsatellitaire sont difficiles car les panels utilisés sont très variables, ainsi que le nombre et le type d'AC testés (parfois seulement 2 ou 3 AC) et les deux approches sont rarement faites simultanément mais le plus souvent de façon successive. Si on ne retient que les études récentes comparant les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR avec le panel de NCI-Bethesda ou la NCI-Pentaplex, la concordance est de 46 % entre les deux techniques (13 % dMMR-IHC et 6 % MSI) et 2/6 cas de SL ne sont identifiés que par l'IHC (Metcalf *et al.*, 2018) (NP1). Une autre étude montre une concordance de 40 % (Ju *et al.*, 2018) (NP1) et l'IHC détecte généralement plus de cas dMMR que la biologie moléculaire. Il est également souligné

l'importance de l'interprétation de l'IHC. En effet, une faible expression interprétée comme une perte d'expression peut expliquer la discordance avec la biologie moléculaire (Ju *et al.*, 2018) (NP1). Quelles que soient les études, le profil d'expression le plus fréquent concerne la perte en couple MSH2/MSH6, la perte isolée MSH6 et plus rarement la perte en couple MLH1/PMS2. Il est souvent rapporté une association avec des critères morphologiques : faible grade tumoral, lésion papillaire inversée, augmentation des lymphocytes infiltrant la tumeur (TILS) et histoire familiale évocatrice d'un SL.

Dans le cancer œso-gastrique, les deux méthodes semblent être équivalentes et l'immunohistochimie semble prédire le statut dMMR avec une sensibilité et une spécificité élevée (respectivement 91,1 % et 98,5 %) (Bae *et al.*, 2015) (NP1). Cependant, peu d'études ont comparé les performances de l'IHC et de la PCR.

Dans l'adénocarcinome canalaire du pancréas, l'IHC à l'aide des 4 anticorps dirigés contre les protéines MMR semble plus sensible pour la détermination du statut MMR que les méthodes de PCR (NCI-Pentaplex et/ou HT17) (Lupinacci *et al.*, 2018) (NP1). Dans cette étude, qui a porté sur le plus grand nombre de cas de cancer du pancréas, seuls 9 cas sur 513 ont été identifiés comme étant de phénotype dMMR. Les 9 cas présentaient une perte d'expression en IHC, et seulement 5 d'entre eux ont révélé un phénotype MSI par PCR. Néanmoins, l'abondance du stroma desmoplastique fréquemment observé dans ce type de cancer serait potentiellement responsable d'une dilution de l'ADN tumoral par l'ADN des éléments du stroma et expliquerait la faible concordance entre ces deux techniques. Pour le screening du statut MMR de ce type tumoral, il est proposé, de débiter par l'IHC, à l'aide des 4 anticorps, et de faire ensuite une analyse par une technique de PCR (NCI-Pentaplex). Cette approche semble d'autant plus intéressante que ce cancer est très souvent diagnostiqué sur des prélèvements avec peu de matériel disponible (produits de cytoponction pancréatique ou biopsies de localisations secondaires). Ces données demandent toutefois à être validées dans d'autres études. L'utilisation de techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS), préconisées par certains groupes, notamment en cas de prélèvements de petite taille (Luchini *et al.*, 2020) (NP2), demande à être comparée aux deux techniques de référence (IHC et PCR) avant leur généralisation.

Dans les tumeurs cérébrales, l'IHC des protéines MMR présente des difficultés particulières liées à l'intrication des cellules tumorales et des cellules normales du cerveau et à la faible expression des protéines MMR dans les cellules normales du cerveau qui prolifèrent peu. Ainsi les cellules tumorales peuvent exprimer les protéines MMR selon un gradient depuis une absence d'expression jusqu'à une forte expression. L'interprétation des immunomarquages MMR est donc souvent difficile (risque de faux négatif et de faux positif d'une déficience MMR). Cependant l'IHC a montré une bonne sensibilité dans les tumeurs cérébrales dans le SL et le CMMRD (Lavoine *et al.*, 2015; Therkildsen *et al.*, 2015) (NP1). En revanche, la sensibilité de la détection de l'instabilité microsatellitaire par technique PCR dans les tumeurs cérébrales est faible (Lavoine *et al.*, 2015) (NP1). Au total, l'étude immunohistochimique doit donc être particulièrement fiable et robuste car elle apparaît comme le principal outil d'identification des tumeurs cérébrales dMMR. Pour toutes ces raisons, certains auteurs préconisent que les tests MMR tumoraux soient réalisés dans des centres experts.

La synthèse de la bibliographie des études de concordance IHC et biologie moléculaire est présente en annexe, dans le **Tableau 15**.

CHAPITRE 4 : Biologie moléculaire tumorale de la déficience du système MMR

Une **déficience du système MMR** se traduit par une accumulation de mutations dans le génome et en particulier dans les séquences répétées de type microsatellites (sièges privilégiés des mésappariements lors du processus de réplication de l'ADN). L'analyse de ce type de séquences constitue ainsi un moyen d'apprécier la fonctionnalité du système MMR, l'identification d'une **instabilité microsatellitaire (MSI)** constituant un **marqueur de déficience du système MMR**.

A. QUESTIONS TRAITÉES DANS CE CHAPITRE

Question 10 : Quelles techniques MSI-PCR doit-on utiliser pour la détection d'une tumeur MSI ?

Question 11 : Quels sont les apports de la technique de séquençage de nouvelle génération (NGS) pour la détection d'une tumeur MSI ?

Question 12 : Quels tests complémentaires doit-on réaliser pour le diagnostic différentiel du syndrome de Lynch (ou CMMRD) et d'une tumeur sporadique ?

B. SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

1. Question 10

- reprise des références princeps (Boland *et al.* 1998 ; Perucho, 1999 ; Suraweera *et al.* 2002 ; Duval & Hamelin 2002) et utilisation des combinaisons de mots-clés suivants :
 - microsatellite instability AND (sensitivity OR (idylla OR Bacher) OR (endometrium OR ovary OR urothelial OR urothelium OR urinary tract OR stomach OR pancreas OR biliary OR sebaceous OR Muir-Torre OR brain OR prostate OR sarcoma)) AND ("1998/01/01"[PDAT] : "2020/01/01"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms]. Période : 1998-2020 : 2 205 références ont été trouvées. Les articles portant sur des études réalisées *in vitro*, les études d'expérimentation animale, les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas ont été exclus. Lorsque de multiples références sur la même thématique et rapportant des résultats similaires et/ou redondants ont été obtenues, seules les études avec le plus haut niveau de preuve ont été retenues. Ainsi 49 références ont été retenues.

2. Question 11

La recherche a été effectuée avec les mots-clés suivants : microsatellite instability AND NGS. Période : 2014-2020 : 152 résultats : 12 références ont été retenues. Les articles retenus sont ceux détaillant la méthodologie bioinformatique appliquée, les cibles (exome ou panel), le nombre et le

type de microsatellites, le type tumoral et le nombre de tumeurs analysées, la référence appliquée (MSI-PCR, IHC, base de données). Ont été exclus les éditoriaux et les lettres de revue.

3. Question 12

- la recherche a été effectuée en utilisant les combinaisons de mots-clés suivants :
 - Lynch AND sporadic cancer ; Lynch AND differential diagnosis ; Lynch AND (methylation MLH1 OR BRAF ; microsatellite instability AND methylation ; methylation MLH1 AND (colon OR colorectal OR endometrium OR ovary OR urothelial OR urothelium OR urinary tract OR stomach OR pancreas OR biliary OR sebaceous OR Muir-Torre OR brain) ; BRAF AND (colon OR colorectal OR endometrium OR ovary OR urothelial OR urothelium OR urinary tract OR stomach OR pancreas OR biliary OR sebaceous OR Muir-Torre OR brain) ; cBioPortal for Cancer Genomics (<https://www.cbioportal.org/>) gène *BRAF*. Période : 1999-2020 ;

Les articles portant sur des études réalisées *in vitro*, les études d'expérimentation animale, les éditoriaux, les lettres aux revues, les rapports de cas ont été exclus. Lorsque de multiples références sur la même thématique et rapportant des résultats similaires et/ou redondants ont été obtenues, seules les études avec le plus haut niveau de preuve ont été retenues. 58 références ont été sélectionnées.

C. QUESTION 10 : QUELLES TECHNIQUES MSI-PCR DOIT-ON UTILISER POUR LA DÉTECTION D'UNE TUMEUR MSI ?

1. Panels consensuels NCI-Bethesda et NCI-Pentaplex

Les microsatellites sont des séquences répétées d'ADN constituées de répétitions en tandem de motifs de 1 à 5 pb. Ils sont répartis dans l'ensemble du génome, dans les régions non codantes et codantes.

Divers marqueurs ont été proposés pour déterminer le statut MSI. En 1997, un congrès international au National Cancer Institute sur les tumeurs MSI a conduit, dans un souci d'harmonisation, à recommander l'utilisation d'un panel de cinq marqueurs, composé de trois marqueurs dinucléotidiques (D2S123, D5S346 et D17S250) et de deux marqueurs mononucléotidiques (BAT25 et BAT26), connu sous le nom de **panel NCI-Bethesda ou NCI** (Boland *et al.*, 1998) (NP1). Dans ce contexte, une tumeur a été définie comme MSI-High (MSI-H) lorsqu'elle présentait au moins 2 marqueurs instables comparativement à l'ADN normal correspondant et MSI-Low (MSI-L) ou MSS lorsqu'elle montrait une instabilité à un seul ou aucun des 5 marqueurs respectivement (Boland *et al.*, 1998) (NP1). Néanmoins, les tumeurs colorectales MSI-L n'ayant pas révélé de différence significative sur le plan clinique avec les tumeurs MSS, seules les tumeurs MSI-H ont par la suite été considérées comme MSI (Boland *et al.*, 1998) (NP1). **Bien que ce panel reste très utilisé au niveau international, celui-ci a révélé certaines limites**, liées principalement à l'utilisation de marqueurs dinucléotidiques qui ont montré une sensibilité et une spécificité moindres comparativement aux marqueurs mononucléotidiques (Boland *et al.*, 1998; Suraweera *et al.*, 2002) (NP1).

En 2002, a ainsi été proposé un nouveau panel composé de cinq marqueurs mononucléotidiques quasi-monomorphiques (BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR24), identifié sous le nom de **NCI-Pentaplex**,

capable d'identifier les tumeurs MSI sans nécessité de recourir à l'ADN normal correspondant pour une analyse comparative (Suraweera *et al.*, 2002; Buhard *et al.*, 2006) (NP1). Le panel originel, comme son évolution (remplacement du marqueur NR22 par NR27/Mono-27), ont révélé de **meilleures performances** en termes de sensibilité et spécificité comparativement au panel de NCI-Bethesda, conduisant à **privilégier et recommander le NCI-Pentaplex** pour déterminer le statut MSI (Buhard *et al.*, 2004; Umar *et al.*, 2004; Wong *et al.*, 2006; Xicola *et al.*, 2007; You *et al.*, 2010; Goel *et al.*, 2010) (NP1). Si initialement, il avait été établi qu'au moins 3 marqueurs instables étaient nécessaires pour définir une tumeur comme MSI (ce seuil garantissant une spécificité optimale sans analyse de l'ADN normal correspondant) (Buhard *et al.*, 2004) (NP1), il est vite apparu que ce seuil minimal ne pouvait identifier certaines tumeurs dMMR, en particulier des tumeurs de l'endomètre ou liées à des mutations du gène *MSH6* (cf. paragraphe suivant), conduisant à ramener le seuil à 2/5 marqueurs instables pour définir une tumeur comme MSI (Wong *et al.*, 2006; You *et al.*, 2010; Goel *et al.*, 2010) (NP1). Néanmoins, la présence de polymorphismes, bien que rare (Buhard *et al.*, 2006) (NP1), peut conduire à une interprétation erronée en l'absence de tissu sain pour une analyse comparative (Cohen *et al.*, 2018) (NP1).

En conclusion, **le seuil de $\geq 2/5$ marqueurs instables permet d'obtenir avec le NCI-Pentaplex une sensibilité optimale. Néanmoins, en cas de 2/5 marqueurs instables, une analyse comparative avec de l'ADN de tissu sain est nécessaire à l'interprétation, ceci afin de s'affranchir d'éventuels polymorphismes et garantir ainsi la spécificité. En l'absence de tissu sain pour analyse comparative, il est recommandé d'appliquer le seuil de $\geq 3/5$ marqueurs instables pour définir une tumeur comme MSI.**

Par ailleurs, l'étude réalisée par You *et al.* (2010) (NP2) a démontré l'intérêt d'utiliser des méthodes basées sur l'**amplification de fragments de petite taille**, ceci afin de faciliter l'amplification des différents marqueurs à partir d'ADN de qualité moindre et limiter ainsi le nombre de résultats non contributifs. Ainsi, le NCI-Pentaplex originel, pour lequel la taille des fragments amplifiés normaux varie entre 103 et 142 pb, pourrait être plus efficace que son évolution commercialisée (MSI Analysis System v1.2 Promega) pour laquelle la taille des fragments amplifiés normaux varie entre 87 et 179 pb (90 % de cas avec 5/5 marqueurs exploitables vs 51 %) (You *et al.*, 2010).

Il existe peu d'études ayant évalué la limite de détection des méthodes, celle-ci étant étroitement liée, indépendamment du tissu testé et du gène en cause (cf. paragraphes suivants), à la **proportion de cellules tumorales** présentes dans l'échantillon à analyser. Les quelques données disponibles suggèrent une limite de détection entre 6,25 % et 20 % de cellules tumorales, voire 30 % pour les cancers de l'endomètre qui se caractérisent par un niveau d'instabilité moindre (Danjoux *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2017; Susanti *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2019) (NP2). De plus, dans de rares cas, une hétérogénéité intra-tumorale de l'instabilité microsatellitaire peut exister, pouvant conduire à un défaut de détection malgré une proportion élevée de cellules tumorales (Tachon *et al.*, 2018) (NP2).

En conclusion, **la détection d'une instabilité microsatellitaire étant fortement liée à la proportion de cellules tumorales dans l'échantillon, il est recommandé de ne réaliser le test MSI-PCR ou, si réalisé, de ne considérer un résultat négatif comme interprétable, que dans les échantillons avec un pourcentage de cellules tumorales supérieur à 20 % (30 % pour les cancers de l'endomètre).**

a) Quelles spécificités pour les tumeurs non colorectales ?

Des **profils d'instabilité différents** peuvent être observés **en fonction du type de tumeur et du gène MMR altéré**. Ceci concerne aussi bien les **cibles de l'instabilité** (identité et types de marqueurs microsatellites (mono-, di-, voire tétra-nucléotidiques), motifs répétés au sein de séquences codantes) que le **niveau d'instabilité** (taille des délétions /insertions) plus ou moins importante), ceci ayant des **conséquences sur la sensibilité** des tests utilisés.

❖ *Estomac*

Les études portant sur les cancers gastriques ne rapportent pas de difficulté pour détecter l'instabilité microsatellitaire, ce qui suggère que les cancers gastriques ne présentent pas de profil particulier comparativement aux cancers colorectaux (Bae *et al.*, 2015) (NP1).

❖ *Endomètre*

Les cancers (adénocarcinomes) de l'endomètre se caractérisent par un **niveau d'instabilité moindre** en comparaison des cancers (adénocarcinomes) colorectaux (Kuismanen *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2006; You *et al.*, 2010; Pagin *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2017; Libera *et al.*, 2017) (NP1). Ceci concerne le nombre de marqueurs instables, ainsi que le niveau d'instabilité pour un marqueur donné (évalués respectivement en moyenne à 0,27 marqueur pour l'endomètre vs 0,45 pour le CCR et à 5,1 pb au total pour l'endomètre vs 9,3 pb pour le CCR (Kuismanen *et al.*, 2002) ; 3 pb en moyenne pour l'endomètre vs 6 pb pour CCR (Wang *et al.*, 2017), avec pour conséquence une **sensibilité moindre des panels utilisés**.

Dans ce contexte, l'utilisation des marqueurs **mononucléotidiques** s'est révélée **plus performante** par rapport à celle des marqueurs dinucléotidiques (Wong *et al.*, 2006).

S'il apparaît que le recours à l'ADN de tissu sain n'est pas utile à l'interprétation dans la majorité des cas (You *et al.*, 2010) (NP2), une analyse comparative avec l'ADN normal a néanmoins été recommandée (Wong *et al.*, 2006) (NP1), permettant de prendre en considération des dérapages moindres (1-2 pb) tout en s'affranchissant des éventuels polymorphismes interindividuels et d'augmenter ainsi la sensibilité du test (Libera *et al.*, 2017) (NP1).

Certaines études ont montré un intérêt potentiel à utiliser des marqueurs mononucléotidiques contenant un nombre plus élevé de répétitions, tels BAT40, BAT52, BAT57, BAT59, BAT60, pour augmenter la sensibilité du test (Hendriks *et al.*, 2004; Pagin *et al.*, 2013; Bacher, 2018) (NP1).

Il a été montré que les gènes cibles de l'instabilité (les gènes contenant des séquences répétées dans leur séquence codante) dans les cancers de l'endomètre diffèrent de ceux des CCR ou gastriques, avec notamment seulement 12-18 % de mutation du gène *TGFBR2* dans les cancers de l'endomètre vs 73-81 % dans les CCR et 69 % dans les cancers gastriques (Duval and Hamelin, 2002; Kuismanen *et al.*, 2002) (NP1), 0 % de mutation du gène *TCF.4* dans les cancers de l'endomètre vs 39 % dans les CCR (Duval and Hamelin, 2002) (NP1). Ceci est à prendre en considération lorsque le statut MSI est déterminé par la méthode NGS à partir d'un panel ciblé de gènes, le choix des gènes étudiés pouvant donner des résultats variés en termes de sensibilité (Kim and Park, 2014).

❖ *Voies excrétrices supérieures*

Les tumeurs des voies excrétrices supérieures se caractérisent également par un **niveau d'instabilité moindre** comparativement aux CCR (Mongiat-Artus *et al.*, 2006; Gylling *et al.*, 2008; Pagin *et al.*, 2013) (NP1). Ceci concerne le nombre de marqueurs instables et le niveau d'instabilité pour un marqueur donné (2-8 pb, (Mongiat-Artus *et al.*, 2006) (NP1)), avec pour conséquence attendue une **sensibilité moindre des panels utilisés**.

Dans ce contexte, l'utilisation des **marqueurs mononucléotidiques** a révélé sa **supériorité** par rapport à celle des marqueurs dinucléotidiques (Gylling *et al.*, 2008) (NP2).

En raison du niveau d'instabilité moindre, il a été recommandé, comme pour les cancers de l'endomètre, de tester l'ADN normal en parallèle (Mongiat-Artus *et al.*, 2006) (NP1).

Plusieurs études évoquent un intérêt à utiliser, en complément des marqueurs usuels, le marqueur BAT40, un polyT localisé dans un intron du gène de la 3- β -hydroxystéroïd déshydrogénase (Dietmaier *et al.*, 1997; Hartmann *et al.*, 2002; Mongiat-Artus *et al.*, 2006; Pagin *et al.*, 2013) (NP1). Celui-ci serait plus sensible que les autres marqueurs (BAT40 93 % vs BAT25 53 % et BAT26 40 %, (Hartmann *et al.*, 2002) (NPA1)), ceci pouvant s'expliquer par son nombre de répétitions particulièrement élevé, le rendant particulièrement instable ((Dietmaier *et al.*, 1997; Pagin *et al.*, 2013) (NP1) : BAT40 8,4 pb (SD 3,5) vs BAT26 7,3 pb (SD 3,7) ou NR27 7,3 pb (SD 3,5) ou BAT25 5,6 pb (SD 2,5) or NR21 5,1 pb (SD 2,1)).

Il a été montré que les gènes cibles de l'instabilité dans les cancers des voies urinaires excrétrices diffèrent de ceux des CCR, avec seulement 23 % de mutations du gène *TGFBR2* et 23 % de mutations du gène *BAX* dans les cancers des voies urinaires vs 73-81 % de mutations du gène *TGFBR2* et 45 % de mutations du gène *BAX* dans les CCR (Kuismanen *et al.*, 2002; Duval and Hamelin, 2002; Gylling *et al.*, 2008) (NP1). Ceci est à prendre en considération pour la détermination du statut MSI par la méthode NGS à partir d'un panel ciblé de gènes.

❖ *Tumeurs cutanées : adénomes, sébacéomes et carcinomes sébacés*

Concernant les tumeurs cutanées, très peu d'études se sont intéressées à l'instabilité microsatellitaire, la plupart utilisant l'IHC pour évaluer le statut MMR tumoral. Quelques études (relativement anciennes) s'intéressant au syndrome de Muir-Torre ont déterminé de façon conjointe le statut MSI (à l'aide du panel NCI-Bethesda) et le statut MMR-IHC dans les tumeurs cutanées et les tumeurs viscérales associées. Celles-ci montrent une concordance parfaite entre les deux méthodes (Entius *et al.*, 2000; Machin *et al.*, 2002; Ponti *et al.*, 2005) (NP1). Par ailleurs, le profil d'instabilité observé dans les tumeurs cutanées semble similaire à celui obtenu dans les tumeurs colorectales (instabilité franche) suggérant qu'il n'y a pas de difficulté pour la détecter (Entius *et al.*, 2000) (NP2). Néanmoins, d'autres études plus récentes suggèrent certaines difficultés pour détecter l'instabilité (Everett *et al.*, 2014) (NP2).

❖ *Tumeurs du SNC*

Concernant les tumeurs cérébrales, très peu d'études ont évalué les performances des tests moléculaires avec un *gold standard* et les effectifs sont très limités. Néanmoins, il apparaît qu'en termes de **sensibilité**, les performances des tests moléculaires sont moins bonnes que l'IHC des protéines MMR. Si les performances sont meilleures pour les panels utilisant des marqueurs

mononucléotidiques, elles restent néanmoins limitées : 0 MSI/7 dMMR-IHC testés avec le panel NCI-Bethesda (Gylling *et al.*, 2008) (NP1) ; 3 MSI/4 dMMR-IHC testés avec le NCI-Pentaplex (hexaplex (NCI-Pentaplex + BAT40)) (Leenen *et al.*, 2011; Pagin *et al.*, 2013; Heath *et al.*, 2013) (NP1).

❖ *Pancréas*

Les données concernant les cancers du pancréas sont extrêmement limitées. Néanmoins, il semble que les performances des tests moléculaires soient moins bonnes que l'IHC des protéines MMR, l'une des explications étant la présence de l'abondant stroma desmoplastique fréquemment observé dans ce type de cancer, potentiellement responsable d'une dilution de l'ADN tumoral par l'ADN des éléments du stroma (Lupinacci *et al.*, 2018) (NP2).

Les données **avec l'utilisation d'un gold standard** sur les autres types tumoraux (grêle, voies biliaires, prostate...) sont très limitées, voire absentes.

b) Spécificité liée au gène

❖ *Tumeurs liées à une mutation du gène MSH6*

Les tumeurs liées à des mutations du gène *MSH6* se caractérisent par un **niveau d'instabilité moindre** (Goel *et al.*, 2010; Pagin *et al.*, 2013; You *et al.*, 2010) (NP1). Ceci concerne le **nombre de marqueurs instables** et le **niveau d'instabilité** pour un marqueur donné (évalués respectivement à 3,9/6 marqueurs testés (NCI-Pentaplex + BAT40) pour les tumeurs liées à *MSH6* vs 5,3/6 pour les tumeurs non liées à *MSH6*, et 19,3 pb au total pour les tumeurs *MSH6* vs 26,3 pb au total pour les tumeurs non *MSH6*) (Pagin *et al.*, 2013), avec pour conséquence une **sensibilité moindre des panels utilisés**. Ce phénomène serait lié à la fonction biologique même de la protéine *MSH6* dans le système MMR et à la compensation partielle de sa fonction par la protéine *MSH3* (Acharya *et al.*, 1996; Drummond *et al.*, 1995; Palombo *et al.*, 1995).

❖ *Tumeurs liées à une mutation du gène PMS2*

Il existe très peu de données exploitables concernant le profil d'instabilité microsatellitaire pour les tumeurs liées à un syndrome de Lynch avec mutation du gène *PMS2*. Néanmoins, dans une étude récente portant sur des patients porteurs d'un variant pathogène ou probablement pathogène du gène *PMS2*, il était rapporté une bonne sensibilité du test MSI, seulement 2,9 % des tumeurs montrant un statut stable (4/136, 3 CCR et 1 endomètre) (Wang *et al.*, 2020) (NP1).

En conclusions :

Les tumeurs **autres que les tumeurs colorectales et de l'estomac**, en particulier les tumeurs de l'endomètre, les tumeurs urothéliales, et les tumeurs cérébrales, mais probablement aussi les tumeurs sébacées, les tumeurs des cancers de la prostate ou du pancréas, ainsi que les tumeurs **liées à des mutations du gène *MSH6***, se caractérisent par un **niveau d'instabilité moindre**. Ceci concerne le nombre de marqueurs instables et le niveau d'instabilité pour un marqueur donné (Hendriks *et al.*, 2004; Kuismanen *et al.*, 2002; Pagin *et al.*, 2013), avec un **risque non négligeable de faux négatif**. À noter que les performances des tests moléculaires sont particulièrement mauvaises pour les tumeurs cérébrales.

De fait, une **analyse comparative avec l'ADN normal est hautement recommandée pour l'analyse des tumeurs autres que les tumeurs colorectales et de l'estomac**, ceci permettant de prendre en considération des dérapages moindres et d'augmenter ainsi la sensibilité des tests sans en diminuer la spécificité.

Il semble qu'il y ait un intérêt à utiliser des marqueurs contenant un **nombre plus élevé de répétitions** (« *Long mono-nt repeats* » (LMRs)). Ceci a été démontré pour BAT40 en comparaison aux marqueurs usuels dans les tumeurs non colorectales et pour BAT52, BAT55, BAT56, BAT57, BAT59 (Pan-cancer MSI system Promega) dans les polypes colorectaux. À noter que comme ces LMRs sont relativement polymorphiques, une analyse sur l'ADN de tissu sain est nécessaire pour comparaison. Ceci n'aurait cependant pas d'impact sur les modalités pratiques si leur usage est limité à l'étude des tumeurs non colorectales pour lesquelles il est recommandé de tester l'ADN de tissu sain en parallèle.

Enfin, les tumeurs **non colorectales** se caractérisent également par des **gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire différents**, ce qui est à prendre en considération dès lors que la recherche d'instabilité est réalisée par **NGS à partir d'un panel ciblé de gènes**, les performances du test étant de fait étroitement liées au choix des gènes analysés.

4. Autres panels / marqueurs

- **Idylla MSI Assay (Biocartis)** (marqueurs ACVR2A, BTBD7, DIDO1, MRE11, RYR3, SEC31A, SULF2) : simple et rapide ; bonnes performances sur les CCR, (Lee *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019; Zwaenepoel, 2020) (NP1), mais relativement peu de données à l'heure actuelle concernant les autres cancers que les CCR (Samaison *et al.*, 2019; Pécriaux *et al.*, 2020) (NP1). Une étude récente réalisée sur 115 tumeurs dont 62 hors CCR suggère néanmoins de bonnes performances du test (Pécriaux *et al.*, 2020) (NP2).
- **Pan-cancer MSI system (Promega)** (marqueurs LMRs : BAT52, BAT55, BAT56, BAT57, BAT59) : cf. paragraphe précédent.
- **TrueMark MSI Assay (ThermoFisher)** (13 marqueurs : BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR24, NR27, BAT40, CAT25, ABI-16, ABI-17, ABI-19, ABI-20A, ABI-20B (ABI = marqueurs « propriétaires »)) : pas de publication et manque de recul, mais probablement au moins aussi performant, voire plus performant que NCI-Pentaplex au vu des marqueurs utilisés (NCI-Pentaplex étendu).
- **HSP110 HT17** : un seul marqueur avec de très bonnes performances dans les CCR, supérieures au NCI-Pentaplex (Buhard *et al.*, 2016; Berardinelli *et al.*, 2018) (NP1), mais pas de données disponibles concernant les performances dans les cancers non colorectaux.
- **EWSR1** : un seul marqueur, avec de bonnes performances dans les CCR et les cancers de l'estomac (Kishore *et al.*, 2014; Kondelin *et al.*, 2015) (NP1), mais les données sont peu nombreuses pour les cancers de l'endomètre et il n'y en a aucune dans les autres cancers. Ce marqueur est aussi utilisé en association à d'autres marqueurs dans le Panel N_LyST (Susanti *et al.*, 2018) (NP2) (cf. ci-dessous).
- **BAT40** : marqueur type LMR toujours utilisé en complément d'autres marqueurs (cf. paragraphe précédent).

- **CAT25** : marqueur qui serait moins polymorphique que BAT25, BAT26 ; performances similaires à BAT25, BAT26 ; bonnes performances dans les CCR (Findeisen *et al.*, 2005; Bianchi *et al.*, 2009) (NP1).
- **Panel N_LyST** (*Nottingham Lynch Syndrome Test*) (marqueurs BAT25, BAT26, BCAT25, MYB, EWSR1 (+ BRAF V600 + Méthylation *MLH1*)) : test ayant la particularité d'utiliser l'analyse HRM. Bonnes performances sur les CCR avec une limite de détection déterminée à ~ 6,25 % de cellules tumorales et présenterait l'avantage de discriminer les CCR Lynch des CCR sporadiques en 1 seul test (Susanti *et al.*, 2018) (NP2). Il n'existe pas de données sur les cancers non colorectaux.

En conclusion, il existe plusieurs panels commerciaux utilisant des marqueurs microsatellites différents. Il existe aussi plusieurs autres marqueurs microsatellites d'intérêt potentiel. Cependant, à l'heure actuelle, en l'absence de plus larges études comparatives, aucune recommandation ne peut être proposée.

5. Contrôle qualité

L'évaluation externe de la qualité (EEQ) Gen&Tiss existe depuis 2012 pour évaluer les performances en génétique somatique des tumeurs solides. Ce contrôle est réalisé conjointement avec l'Association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologique (AFAQAP) et le Groupe francophone de cytogénomique oncologique (GFCO). Il évalue depuis 2013 le marqueur d'instabilité des microsatellites de 5 échantillons de tumeurs du cancer du côlon et 1 échantillon éducatif. Quelques cas de mauvaise interprétation liée au statut MSI-L ont été initialement relevés, ainsi qu'un nombre non négligeable de cas non contributifs. Jusqu'en 2018, 100 % des techniques utilisées étaient basées sur l'analyse de fragments. En 2019, il y avait 21 participants pour le test MSI avec 100 % de succès et 17 participants pour le test de méthylation avec 94 % de succès.

L'analyse de la bibliographie de ces paragraphes est en annexe 1 du chapitre IV.

Recommandations

Choix des panels utilisés :

Il est recommandé d'utiliser le panel NCI-Pentaplex (BAT25, BAT26, NR21, NR22 ou NR27/Mono-27, NR24) comme technique de référence pour déterminer le statut MSI (*grade A*).

Remarque : *le panel NCI-Pentaplex a fait preuve d'excellentes performances (en particulier meilleures que celles du panel NCI-Bethesda).*

Avec le NCI-Pentaplex, en cas de **2 marqueurs instables** sur 5, il est recommandé de réaliser une **analyse comparative avec de l'ADN de tissu sain** pour déterminer s'il s'agit d'un profil d'instabilité microsatellitaire ou d'un profil lié à un polymorphisme.

En l'absence de tissu sain pour analyse comparative, un résultat avec seulement 2 marqueurs instables n'est pas interprétable et nécessite une confrontation aux résultats d'immunohistochimie. Il est alors recommandé d'appliquer le **seuil de ≥ 3 marqueurs instables** sur 5 pour définir une tumeur comme MSI (*accord d'experts*).

Il est recommandé d'utiliser des méthodes basées sur l'amplification de fragments d'ADN de petite taille (*grade A*).

Remarque : *cela facilite l'amplification des différents marqueurs à partir d'ADN de qualité moindre et limite, ainsi, le nombre de résultats non contributifs.*

Il semble qu'il y ait un intérêt à utiliser des marqueurs contenant un nombre plus élevé de répétitions (long mono-nt repeats). D'autres marqueurs ou panels ont également été décrits comme pouvant aussi présenter un intérêt particulier. Cependant, en l'absence de plus larges études comparatives, aucune recommandation ne peut être proposée (*accord d'experts*).

Pureté de l'échantillon en cellules tumorales :

La détection d'une instabilité microsatellitaire est fortement liée à la proportion de cellules tumorales dans l'échantillon.

Il est recommandé de réaliser le test MSI-PCR sur des échantillons avec un pourcentage de cellules tumorales supérieur à 20 % et 30 % pour les cancers de l'endomètre. Si le test est réalisé sur des échantillons de cellularité tumorale plus faible, seuls les résultats avec instabilité microsatellitaire pourront être interprétés (*grade B*).

Les tumeurs autres que les tumeurs colorectales et de l'estomac, en particulier les tumeurs de l'endomètre, les tumeurs urothéliales, et les tumeurs cérébrales, mais probablement aussi les tumeurs sébacées, les tumeurs de la prostate ou du pancréas, ainsi que les tumeurs liées à des mutations du gène *MSH6*, se caractérisent par un niveau d'instabilité moindre et des gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire différents. Cela engendre un risque non négligeable de faux négatifs.

Comparaison avec du tissu sain :

Une analyse comparative avec l'ADN de tissu sain est recommandée pour les tumeurs autres que les tumeurs colorectales et de l'estomac (*grade A pour l'endomètre, les tumeurs urothéliales et les tumeurs cérébrales, mais accord d'experts pour les autres types tumoraux*).

Absence d'instabilité microsatellitaire et syndrome de Lynch :

En cas de contexte clinique évocateur d'un syndrome de Lynch, une absence d'instabilité microsatellitaire n'élimine pas complètement la possibilité d'un syndrome de Lynch, même après comparaison avec un tissu sain.

Pour cette indication, il est donc recommandé de confronter les résultats de biologie moléculaire à ceux de l'IHC et une interprétation globale du statut MMR tumoral devra être réalisée avec les résultats de biologie moléculaire et de l'IHC (*accord d'experts*).

Évaluation externe de la qualité :

Il est hautement recommandé de participer régulièrement aux tests d'évaluation externe de la qualité (*accord d'experts validé comme indispensable*).

Remarque : Une participation à une évaluation externe de la qualité est indispensable pour que l'examen soit accrédité (Norme NF EN ISO 15189).

D. QUESTION 11 : APPORT DE LA TECHNIQUE DE SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (NGS) POUR LA DÉTECTION D'UNE TUMEUR MSI

Les données génomiques, issues de l'étude de plus de 200,000 loci dans plusieurs cancers, ont permis d'accroître le nombre de cibles potentielles d'instabilité (Hause *et al.*, 2016) (NP1) dans le contexte d'analyses réalisables à l'échelle de l'exome. Ces dernières années, plusieurs équipes ont étudié l'apport de la technique NGS pour la détection d'une MSI. Cette technique permet l'analyse de nombreux homopolymères non ciblés (exome) ou ciblés (panels) issus de données génomiques ou transcriptomiques, différents des séquences microsatellitaires consensus testées par MSI-PCR. Elle nécessite cependant des méthodes d'analyse bio-informatique dédiées (Bass *et al.*, 2014; Salipante *et al.*, 2014; Foltz *et al.*, 2017; Middha *et al.*, 2017; Kautto *et al.*, 2017; Vanderwalde *et al.*, 2018; Johansen *et al.*, 2019; Escudié *et al.*, 2019). (NP2, NP1, NP2, NP1, NP1, NP2, NP1, NP1).

Globalement les performances de ces techniques MSI-NGS n'ont pas encore été correctement évaluées par rapport aux techniques traditionnelles de référence (MSI-PCR et IHC). En outre, ces techniques ont surtout été testées dans les CCR, beaucoup moins dans les tumeurs d'autres cancers (cf. tableaux, Annexe 2 du chapitre IV). Il faut également souligner que la plupart de ces méthodes, sauf trois (MIAMs, mSINGS et la dernière version de MSISensor), nécessitent la comparaison avec de l'ADN de tissu sain du patient, ce qui freine l'utilisation en routine, surtout s'il est envisagé d'étudier conjointement l'instabilité microsatellitaire et d'autres biomarqueurs (ex *RAS* et *BRAF* pour les CCR, *POLE* pour les cancers de l'endomètre).

Il existe encore des limites à l'utilisation du MSI-NGS en routine : i) il n'existe pas de réelle comparaison des performances des différents homopolymères testés (répétitions mono, di ou tétra nucléotidique) ni de leur nombre nécessaire, pour un même type tumoral et entre différents types tumoraux, ii) les gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire sont différents en fonction des types tumoraux, ce qui est à prendre en considération dès lors que la recherche d'instabilité est réalisée par NGS à partir d'un panel ciblé de gènes, iii) la majorité des pipelines d'analyses classent les tumeurs en trois groupes : MSI-H, MSS et une troisième catégorie MSI-I (MSI intermédiaire) qui peut représenter jusqu'à 4,6 % des tumeurs (Latham *et al.*, 2019) (NP1), iv) la majorité de ces techniques sont basées sur une approche de capture, plus rarement d'amplicons, ce qui les rend encore difficile d'accès avec un coût élevé, et cette technique n'est probablement pas utilisable sur certains séquenceurs (Ion Proton / S5 / S5XL Thermo Fisher), avec lesquels il existe un taux d'erreur élevé sur les homopolymères mais qui équipent de nombreuses plateformes de génétique moléculaire en France. vi) la limite de détection pour le MSI n'est pas encore clairement déterminée (comparable (16 %) ou très abaissée (0,1 %) selon les études) (Middha *et al.*, 2017; Willis *et al.*, 2019) (NP1).

Parmi ces méthodes, il convient de préciser que la méthode MSISensor fait aujourd'hui déjà autorité outre-Atlantique puisqu'elle a été agréée par la FDA comme méthode de référence pour identifier le statut MSI d'une tumeur en pan-cancer en vue de la prescription d'une immunothérapie, sans nécessité de référence à la MSI-PCR ou à l'IHC en parallèle. Cette méthode a notamment été approuvée pour une application à l'échelle de l'exome tumoral ou sur de la capture ciblée et est utilisée dans certains panels commerciaux. Un travail récent (Ratovomanana *et al.*, Gastroenterology,

in press), a évalué la performance du test FDA-approved MSISensor dans une grande série de patients porteurs d'un CCR (métastatique ou non, incluant des patients traités par immunothérapie et inclus dans des essais cliniques), en comparant avec les performances de l'IHC couplée à la MSI-PCR. Ce travail montre un manque de sensibilité de ce test par rapport aux techniques de référence ($\geq 10\%$ de Faux Négatifs par rapport à la MSI-PCR et/ou IHC), tant chez les patients métastatiques que non métastatiques, avec un manque de détection du MSI pour plusieurs patients métastatiques ayant répondu à l'immunothérapie (Ratovomanana *et al.*, 2021). Dans ce même travail, la réalisation d'un test optimisé MSI-NGS est proposée et montre des performances au moins égales, en termes de sensibilité et de spécificité, à la NCI-Pentaplex dans les CCR. La validation des performances de ce test est en cours en pan-cancer.

Recommandations

À ce jour, il n'est pas recommandé d'utiliser les techniques NGS seules pour identifier une instabilité microsatellitaire (*accord d'experts*).

Remarque 1 : les méthodes proposées nécessitent encore d'être validées de manière robuste.

Remarque 2 : les tumeurs non colorectales se caractérisent par des gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire différents. Les performances d'un test à partir d'un panel ciblé de gènes seront donc étroitement liées au choix des gènes analysés.

Il est recommandé de confirmer une instabilité microsatellitaire détectée dans le cadre d'un screening moléculaire large utilisant des techniques NGS par, au moins, immunohistochimie (*accord d'experts*).

E. TESTS MSI SUR ADN TUMORAL CIRCULANT (cf. CHAPITRE 2.D.)

L'extension des analyses à l'ADNtc, principalement plasmatique, pose aussi la question de la détection de l'instabilité des microsatellites. Les principales difficultés sont la limite de détection des techniques basées sur l'analyse de fragment et la forte contamination avec de l'ADN constitutionnel. Plusieurs approches sont proposées pour enrichir en fragments d'ADN instables (COLD PCR, nuclease-assisted minor-allele enrichment with probe-overlap, NaME-PrO...) (Ladas *et al.*, 2018). L'approche NGS est aussi mise en avant avec des performances très attractives (Georgiadis *et al.*, 2019; Razavi *et al.*, 2019; Willis *et al.*, 2019; Cai *et al.*, 2020) (cf. chapitre IID : Biopsies liquides et Annexe 3).

F. QUESTION 12 : TESTS COMPLÉMENTAIRES POUR LE DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL SYNDROME DE LYNCH (OU CMMRD) / TUMEUR SPORADIQUE

Si la sensibilité des statuts dMMR pour prédire le diagnostic de syndrome de Lynch (SL) est élevée, leur spécificité est faible. En effet, la quasi-totalité des cancers colorectaux (CCR) et la plupart des tumeurs extra-coliques de patients atteints de SL sont dMMR, mais seulement 22 % des CCR dMMR (Hampel *et al.*, 2006; Hampel *et al.*, 2008) et 8-14 % des cancers de l'endomètre (CE) dMMR (Buchanan *et al.*, 2014; Goodfellow *et al.*, 2015; Hampel *et al.*, 2006) sont dus à une mutation

germinale d'un gène MMR, la majorité étant donc d'origine sporadique, via des mécanismes différents d'inactivation purement tumorale des gènes MMR.

Les tumeurs associées au SL (ou au CMMRD) et les tumeurs dMMR sporadiques présentent des caractéristiques moléculaires qui sont couramment utilisées pour les distinguer.

La plupart des tumeurs dMMR sporadiques sont dues à l'inactivation du gène *MLH1* par méthylation de son promoteur. **L'analyse immunohistochimique des protéines MMR est donc la première étape dans la distinction des tumeurs SL des tumeurs dMMR sporadiques**, puisque la perte d'expression de MSH2 et MSH6 combinées ou la perte isolée de MSH6 ou de PMS2 plaidera en faveur d'une tumeur liée au SL. En revanche, la détection de **la perte d'expression de MLH1 n'est pas spécifique et nécessite une analyse complémentaire** pour distinguer une tumeur SL causée par une altération constitutionnelle de *MLH1* d'une tumeur sporadique causée par l'hyperméthylation tumorale acquise du promoteur de *MLH1*. Il convient de noter qu'une **hétérogénéité du marquage IHC**, avec des zones franches de la tumeur montrant une perte brutale de l'expression des protéines MLH1 et PMS2, pourrait être un indicateur d'altérations inactivatrices acquises de *MLH1* (principalement l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1*), plaidant en faveur d'un cancer sporadique plutôt que d'un cancer lié au SL dans le CCR et le cancer de l'endomètre, respectivement (Joost *et al.*, 2014; Pai *et al.*, 2015) (NP2). La **perte isolée de PMS2** peut également être due à l'inactivation du gène *MLH1* par hyperméthylation de son promoteur (Kato *et al.*, 2016) (NP2).

Bien que ce raisonnement soit applicable à la majorité des tumeurs, une exception notable concerne les **tumeurs sébacées**. En effet, la plupart des tumeurs sébacées dMMR présentent une perte d'expression des protéines MSH2 et MSH6, ce qui est considéré comme hautement prédictif d'un SL pour les autres tumeurs ; mais une mutation germinale du gène *MSH2* n'est détectée que dans 1/3 des cas pour les tumeurs sébacées (Roberts *et al.*, 2013; Everett *et al.*, 2014; Roberts *et al.*, 2014) (NP1). Ceci suggère qu'une **proportion significative des tumeurs sébacées dMMR est sporadique et se développe du fait d'événements mutationnels tumoraux de MSH2 et/ou MSH6 plutôt que suite à l'hyperméthylation du promoteur du gène MLH1**.

1. Méthylation du promoteur du gène *MLH1*

Comme mentionné précédemment, les tumeurs sporadiques dMMR sont généralement associées à une hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*, ceci coïncidant avec le statut CIMP (*CpG island methylator phenotype*) (Toyota *et al.*, 1999; Weisenberger *et al.*, 2006) (NP1). La méthylation des îlots CpG est un processus physiologique lié au vieillissement, qui concerne un certain nombre de gènes spécifiques du cancer, dont *MLH1*, entraînant leur inactivation (Toyota *et al.*, 1999). En revanche, la méthylation du gène *MLH1* est rare chez les patients atteints de SL. **L'analyse du promoteur du gène *MLH1* dans les tumeurs avec perte d'expression de la protéine MLH1 est donc très utile pour distinguer les tumeurs liées au SL et les tumeurs sporadiques**. Il est important de noter que **seul le statut de méthylation de la région proximale du promoteur a un intérêt**. En effet, seule l'hyperméthylation de la région proximale (connue dans la littérature sous les termes de régions C et D) est corrélée à une absence d'expression de la protéine MLH1, la région C étant la plus spécifique (Deng *et al.*, 1999; Capel *et al.*, 2007) (NP1).

Environ 75 % des CCR dMMR avec perte d'expression de la protéine MLH1 non sélectionnés (en fonction de l'âge au diagnostic ou des antécédents familiaux de cancer) présentent une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (Hampel *et al.*, 2005; Hampel *et al.*, 2008) (NP1). À l'inverse, l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* est rare dans le SL, estimée à moins de 6 % des tumeurs de patients porteurs d'un variant pathogène du gène *MLH1* (Parsons *et al.*, 2012) (NP1). Une étude chez des patients présentant un CCR dMMR avec perte de MLH1 a montré que l'absence de méthylation du gène *MLH1* avait une sensibilité de 94 % et une spécificité de 88 % pour l'identification des patients porteurs d'un variant germlinal du gène *MLH1* (Newton *et al.*, 2014) (NP1).

Soixante-quinze à 95 % des cancers de l'endomètre dMMR avec perte d'expression de la protéine MLH1 présentent une hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* (Hampel *et al.*, 2006; Leenen *et al.*, 2012; Buchanan *et al.*, 2014; Bruegl *et al.*, 2014) (NP1). Cependant, comme dans le cas des CCR, l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* est rare dans le SL (Buchanan *et al.*, 2014) (NP2).

De même, la plupart des cancers gastriques dMMR, des cancers de l'ovaire, des carcinomes ampullaires avec perte d'expression de MLH1 sont associés à une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (Ruemmele *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2013; Bennett *et al.*, 2019; Leskela *et al.*, 2020) (NP1), évoquant des cancers sporadiques. Néanmoins, les données actuellement disponibles pour ces tumeurs, comme pour les autres types tumoraux, sont insuffisantes et ne permettent pas de valider la détection d'une hyperméthylation du gène *MLH1* pour exclure le diagnostic de SL (cf. tableau en Annexe 4).

2. Mutations *BRAF*

Huit à 10 % de l'ensemble des CCR présentent une mutation tumorale dans le gène *BRAF* (MIM*164757). La plupart des mutations *BRAF* correspondent à la mutation V600E (NM_004333.4 : c.1799T>A, p.Val600Glu) (78 %) qui active la voie MAPK (Jones *et al.*, 2017). Dans le CCR, cette mutation est étroitement associée au statut MSI et à l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (Weisenberger *et al.*, 2006) (NP1). La mutation *BRAF V600E* pourrait jouer un rôle dans l'initiation et la promotion de la tumorigenèse colorectale *via* la voie des tumeurs festonnées et le statut CIMP (Rad *et al.*, 2013; Sakamoto *et al.*, 2017; Bond *et al.*, 2018). Environ 50-60 % des CCR sporadiques dMMR présentent la mutation *BRAF V600E* ([40-73 %] ; (Domingo *et al.*, 2004; Loughrey *et al.*, 2007) (NP1). En revanche, la mutation *BRAF V600E* n'est presque jamais détectée dans le CCR lié au SL (1,4 %) (Domingo *et al.*, 2004; Loughrey *et al.*, 2007; Bessa *et al.*, 2008; Bouzourene *et al.*, 2010; Rad *et al.*, 2013; Newton *et al.*, 2014; Moreira *et al.*, 2015) (NP1). Par conséquent, pour les tumeurs avec perte d'expression de la protéine MLH1, **la détection d'une mutation *BRAF V600E* est un bon prédicteur négatif du SL**. L'absence de mutation *BRAF V600E* a une sensibilité de 98,6 %, mais une spécificité de 66 % pour l'identification des porteurs de la mutation *MLH1* dans les cas de CCR dMMR avec perte de MLH1 (Newton *et al.*, 2014) (NP1). Il convient de noter qu'aucune information n'est disponible sur les mutations non V600E, qui représentent environ 20 % de l'ensemble des mutations *BRAF* identifiées dans les CCR ; mais ces mutations sont peu fréquentes dans les CCR MSI (6 %) et semblent représenter une catégorie distincte de tumeurs, tant sur le plan biologique que clinique (Jones *et al.*, 2017; Dankner *et al.*, 2018) (NP1).

Les mutations *BRAF* sont très rares dans les cancers de l'endomètre (< 1 %) (Mutch *et al.*, 2004; Salvesen *et al.*, 2005; Kawaguchi *et al.*, 2009; Peterson *et al.*, 2012; Leenen *et al.*, 2012) (NP1) et non associées à la méthylation du promoteur du gène *MLH1*, ni au statut dMMR (Mutch *et al.*, 2004; Salvesen *et al.*, 2005) (NP1). Une seule étude a identifié une fréquence relativement élevée de mutations *BRAF* dans les cancers de l'endomètre (21 %), avec une surreprésentation apparente dans les tumeurs *MLH1* déficientes (41 % contre 11 % dans les tumeurs pMMR) (Feng *et al.*, 2005) (NP2). Cependant, les résultats de cette étude sont difficiles à interpréter car la plupart des mutations étaient non-V600E. En tout état de cause, l'intérêt clinique de l'analyse des mutations *BRAF* dans les cancers de l'endomètre est peu probable.

Les mutations *BRAF* sont peu fréquentes dans les adénocarcinomes de l'intestin grêle (7,6 %), seuls 10 % correspondant à V600E et une majorité semblant être inactivatrices (Schrock *et al.*, 2017) (NP2). Aucune information n'est disponible concernant l'association entre mutations *BRAF* et statut MSI dans ces cancers. Les mutations *BRAF* oncogéniques sont très rares dans les cancers de l'ovaire (<1%), les cancers gastriques (1 %), les cholangiocarcinomes (3 %), les cancers du pancréas (2 %), les carcinomes urothéliaux (4 %), les glioblastomes (2 %), la plupart de ces mutations étant non-V600E, excepté dans les glioblastomes (Cbioportal, www.cbioportal.org; Niskakoski *et al.*, 2013). Par conséquent, **l'analyse des mutations *BRAF* dans les tumeurs non-CCR n'a aucune utilité pour distinguer les tumeurs sporadiques des tumeurs liées au SL.**

L'IHC *BRAF* V600E a été proposée comme alternative à l'analyse des mutations *BRAF* par méthodes moléculaires, avec des résultats très variables. Plusieurs études ont suggéré une très grande sensibilité et une haute spécificité de l'IHC spécifique *BRAF* V600E pour la détection des CCR *BRAF* mutés [(Capper *et al.*, 2013) (se 100 %, sp 98,8 %) ; (Thiel *et al.*, 2013) (se 100 %, sp 100 %) ; (Toon *et al.*, 2013) 200/201 (concordance de 99,5 %)], tandis que d'autres ont souligné une sensibilité, une spécificité et une robustesse insuffisantes pour une utilisation en pratique clinique [(Lasota *et al.*, 2014) (se 51-85 %, sp 68 %) ; (Adackapara *et al.*, 2013) (35-71%, sp 74 %)]. Une revue récente de 25 publications (4 041 patients) rapporte une sensibilité de l'IHC anti-V600E de 93 % et une spécificité de 96 % par rapport aux techniques moléculaires, les auteurs soulignant cependant la difficulté d'interprétation du marquage dans certains cas (Dvorak *et al.*, 2019) (NP1).

3. Analyse de mutation *BRAF* vs. analyse de méthylation *MLH1*

Le test permettant l'identification des **mutations du gène *BRAF*** est **plus répandu** dans les laboratoires que le test d'identification d'une hyperméthylation du gène *MLH1*, le premier étant couramment utilisé à des fins thérapeutiques. Il est aussi **techniquement plus simple et plus robuste** que l'analyse de la méthylation. Cependant, l'utilité clinique de la mutation *BRAF* V600E pour l'identification des patients potentiellement atteints du SL est limitée car elle est **restreinte au CCR**. De plus, **la mutation *BRAF* V600E concerne moins de 60 % des CCR dMMR sporadiques**, ce qui implique que plus de 40 % nécessiteront une analyse complémentaire de méthylation du promoteur du gène *MLH1*.

L'analyse de la **méthylation du gène *MLH1*** est **techniquement plus difficile** que l'analyse des mutations *BRAF*. Mais la valeur clinique de cette analyse est beaucoup plus élevée pour l'identification des patients avec SL atteints de CCR (Parsons *et al.*, 2012; Newton *et al.*, 2014) (NP1), et s'applique à tous les types de tumeurs.

Plusieurs stratégies rentables, en matière de coût, ont été proposées pour optimiser l'identification du SL chez les patients atteints de CCR dMMR avec perte de MLH1 : (1) analyse de la mutation *BRAF* seule, (2) analyse de la méthylation du promoteur du gène *MLH1* seule, et (3) analyse de la mutation *BRAF* suivie d'une analyse de la méthylation du gène *MLH1* dans les cas sans mutation *BRAF*. L'analyse d'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* est non seulement plus performante que l'analyse de mutation *BRAF*, mais elle est également plus rentable. L'utilisation de l'analyse de la mutation *BRAF* comme seul test augmenterait de deux à trois fois le taux d'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour la réalisation de tests génétiques par rapport à l'analyse de méthylation *MLH1* seule (Adar *et al.*, 2017). Toutefois, **l'approche hybride peut faciliter la mise en œuvre de l'identification des patients potentiellement atteints du SL sans en augmenter le coût de manière significative** (Pérez-Carbonell *et al.*, 2010; Gausachs *et al.*, 2012; Adar *et al.*, 2017) (NP1).

Les pièges : bien que l'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* et la mutation *BRAF V600E* soient de bons prédicteurs négatifs du SL, les données doivent être interprétées avec prudence en fonction du contexte clinique (antécédents personnels et familiaux de cancer du patient).

En ce qui concerne l'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*, bien que sa valeur prédictive négative pour le SL soit élevée, **la détection d'une hyperméthylation n'exclut pas totalement un diagnostic de SL**. En effet, l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* peut parfois être la cause de l'inactivation du second allèle au niveau tumoral (2nd hit) chez les patients présentant une mutation germinale de *MLH1* (Bouzourene *et al.*, 2010; Rahner *et al.*, 2008; Yokoyama *et al.*, 2018) (NP1). L'analyse quantitative de la méthylation du promoteur du gène *MLH1* a été proposée comme moyen de distinguer la méthylation bi-allélique et mono-allélique (Bettstetter *et al.*, 2007) (NP1), mais cela implique une évaluation stricte de la proportion de cellules tumorales et la conclusion reste souvent difficile. De plus, des épimutations constitutionnelles du gène *MLH1* peuvent être la cause de SL (Hitchins, 2016) (NP1). De même, des mutations *BRAF V600E* ont été occasionnellement détectées dans des CCR de patients porteurs d'un variant pathogène d'un gène MMR (Hitchins, 2016; Newton *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2003) (NP1). Il est à noter que ces mutations *BRAF* pourraient être plus fréquentes dans les tumeurs de patients présentant une épimutation constitutionnelle du gène *MLH1* (3/30 cas identifiés avec une épimutation *MLH1*, Hitchins *et al.*, 2016) (NP2). Ainsi, bien que la situation soit rare, il faut garder à l'esprit que **la prise en compte de la mutation *BRAF* et de la méthylation du promoteur du gène *MLH1* pour écarter le diagnostic de SL ignorera certaines personnes atteintes de SL**. Ces éléments doivent impérativement être pris en compte dans l'interprétation des résultats de biologie moléculaire.

À l'inverse, **l'absence d'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* ne permet pas de poser le diagnostic de SL**, un certain nombre de tumeurs sporadiques étant dMMR par acquisition de deux mutations tumorales, et certaines tumeurs héréditaires dMMR étant dues à d'autres gènes que les gènes MMR (*POLE*, *MUTYH*). De tels écueils soulignent l'importance d'interpréter les données moléculaires avec prudence et d'orienter les patients vers une consultation d'oncogénétique en cas de contexte évocateur de SL, même en présence de mutation *BRAF* et/ou d'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*.

4. Autres marqueurs potentiels

Récemment, des **signatures mutationnelles tumorales** ont été identifiées à partir d'analyses WGS (whole genome sequencing) et WES (whole exome sequencing), permettant de mieux comprendre l'étiologie des processus de tumorigenèse (Alexandrov *et al.*, 2013). La signature 6 est fortement associée au statut dMMR dans le CCR, mais plusieurs autres signatures ont été associées à une déficience MMR dans divers cancers (Alexandrov *et al.*, 2013; Alexandrov *et al.*, 2016). Il a été démontré que les signatures 6 et 15 sont plus fréquentes dans les tumeurs sébacées dMMR chez les patients atteints de SL par rapport aux tumeurs pMMR (Georgeson *et al.*, 2019) (NP3). Cependant, on ne sait pas encore si certaines de ces signatures mutationnelles sont capables de distinguer les tumeurs liées au SL des tumeurs sporadiques dMMR.

Dans une étude récente, chez une série de patients atteints de CCR, le **séquençage tumoral des gènes MMR** en plus de l'évaluation des statuts *BRAF* et MSI parmi d'autres gènes, a montré une meilleure sensibilité que l'analyse du statut MSI ou l'IHC suivis d'une analyse de mutation *BRAF* (100 % vs. 89,7 %), avec une spécificité égale (95,3 vs. 94,6 %) pour suspecter un SL (Hampel *et al.*, 2018) (NP2). Ce résultat nécessite cependant d'être confirmé car le séquençage des tumeurs reste relativement difficile techniquement et peut passer à côté de certaines altérations difficilement ou non détectables par NGS, et le rapport coût-efficacité doit être déterminé. Cela soulève la question de l'introduction du séquençage des tumeurs en première intention, avec ou sans analyse de méthylation du promoteur du gène *MLH1* en complément, en remplacement des tests actuels pour identifier les patients potentiellement atteints du SL. Il apparaît cependant que le séquençage tumoral des gènes MMR présente principalement un intérêt pour écarter le diagnostic de SL dans le cas où l'analyse constitutionnelle s'avère négative.

Stratégie optimale pour la discrimination des tumeurs dMMR liées au SL et sporadiques :

Une stratégie permettant de distinguer les cancers liés au SL et les cancers sporadiques est proposée pour chaque localisation dans chacun des logigrammes (cf. chapitre V. Indication d'évaluation du statut MMR tumoral). Cependant, il est important de considérer qu'il **n'existe pas de marqueur somatique permettant une parfaite discrimination des cancers liés au SL et des cancers sporadiques**. Comme indiqué ci-dessus, même la détection d'une hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* ou d'une mutation *BRAF* (dans le CCR) n'exclut pas définitivement la possibilité de SL ; il est donc **indispensable d'examiner les résultats à la lumière des données cliniques, c'est-à-dire des antécédents personnels et familiaux de cancer du patient**. De plus, bien que ces marqueurs soient utilisés pour dépister le SL, **ils ne doivent pas être considérés comme des marqueurs diagnostiques du SL**. Seule l'identification d'un variant germlinal pathogène dans l'un des quatre gènes du système MMR (ou *EPCAM*) confirmera le diagnostic de SL, ce qui conduira à une prise en charge adaptée du patient et de ses apparentés.

Recommandations

Immunohistochimie des protéines MMR :

L'analyse immunohistochimique des protéines MMR est la première étape dans la distinction entre les tumeurs dues à un syndrome de Lynch et les tumeurs dMMR sporadiques :

- en cas de perte d'expression combinée de MSH2 et MSH6 ou de perte d'expression isolée de MSH6 ou de PMS2, il est recommandé d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique ;
- en revanche, la détection de la perte d'expression de MLH1 n'étant pas spécifique, il est recommandé de réaliser une analyse complémentaire avant d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique (*grade A*).

Hyperméthylation du promoteur de *MLH1* et mutation V600E de *BRAF* :

L'analyse du promoteur du gène *MLH1* (région proximale uniquement) dans les cancers colorectaux et cancers de l'endomètre avec perte d'expression de la protéine MLH1 est recommandée. (*grade A*).

Remarque : *cette analyse permet de distinguer les tumeurs liées au syndrome de Lynch des tumeurs sporadiques avec une très bonne sensibilité et spécificité.*

Pour les autres types tumoraux (dont les cancers gastriques, ampullaires, de l'ovaire), si la présence d'une hyperméthylation du gène *MLH1* est évocatrice d'une tumeur sporadique, les données actuellement disponibles sont insuffisantes pour envisager son utilisation pour exclure le diagnostic de syndrome de Lynch (*accord d'experts*).

Dans les **cancers colorectaux avec perte d'expression de la protéine MLH1**, et uniquement pour ces cancers, **la présence de la mutation BRAF V600E est un bon prédicteur négatif de syndrome de Lynch**. En revanche, l'absence de la mutation BRAF V600E est beaucoup moins spécifique que l'absence d'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*.

Dans les **cancers colorectaux**, il est recommandé d'utiliser la biologie moléculaire pour rechercher la mutation *BRAF V600E* (*grade A*).

Remarque : *les données de la littérature concernant les performances de l'immunohistochimie (avec un anticorps anti-BRAF V600E) sont contradictoires.*

Dans les **cancers non-colorectaux**, il n'est pas recommandé d'effectuer la recherche de mutations du gène *BRAF* pour distinguer les tumeurs sporadiques des tumeurs liées au syndrome de Lynch, celle-ci n'étant d'aucune utilité (*grade A*).

Pour les **cancers colorectaux**, la stratégie d'analyse seule de l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* est recommandée. Elle est plus performante et rentable que l'analyse seule de mutation *BRAF*. Toutefois, une stratégie hybride (analyse de la mutation *BRAF* en première intention et analyse de méthylation du promoteur *MLH1* pour les cas sans mutation) est possible pour faciliter l'identification des patients potentiellement atteints du syndrome de Lynch sans en augmenter le coût de manière significative (*grade A*).

L'analyse d'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* et de mutation *BRAF* n'ayant pas de spécificité absolue pour exclure la possibilité d'un syndrome de Lynch, il est recommandé de toujours interpréter les résultats en fonction du contexte clinique (*grade A*).

Séquençage de nouvelle génération des gènes MMR :

Le séquençage par NGS des gènes MMR en première intention sur la tumeur pour l'identification du syndrome de Lynch n'est pas recommandé en l'état actuel des connaissances (*grade C*).

Remarque : *À l'heure actuelle, le séquençage tumoral des gènes MMR par NGS a principalement un intérêt pour écarter le diagnostic de syndrome de Lynch dans le cas où l'analyse constitutionnelle s'avère négative.*

CHAPITRE 5 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral

A. QUESTIONS TRAITÉES DANS CE CHAPITRE

Question 13 : Tests tumoraux et syndrome de Lynch.

Question 14 : Quelles sont les indications d'évaluation du statut MMR en oncologie digestive ?

Question 15 : Quelles sont les indications d'évaluation du statut MMR dans les cancers gynécologiques ?

Question 16 : Quelles sont les indications d'évaluation du statut MMR dans les tumeurs sébacées et autres tumeurs cutanées ?

Question 17 : Quelles sont les indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs urologiques ?

Question 18 : Quelles sont les indications d'évaluation du statut MMR dans les tumeurs cérébrales primitives ?

B. SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

1. Question 13

- reprise des articles princeps sur le sujet (Lynch *et al.*, 2015 , Hamilton *et al.*, 1995, Giardello *et al.*, 2014, Jarvinen *et al.*, 2000, Schmeler *et al.* 2006) et des recommandations nationales (INCa, 2016).

Utilisation des mots-clés suivants :

- ("2010/01/01"[PDAT] : "2021"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms] AND Lynch syndrome AND screening AND microsatellite instability : 490 références ont été trouvées ;
Ont été exclues les études en double et les études inappropriées. Ont été retenus les articles avec le plus de cas, et/ou les mieux documentés et/ou les plus récents : 5 articles retenus ;
- (CMMRD OR constitutional mismatch repair deficiency) avec le filtre type article : review (période 1999-2021) : 37 références ont été trouvées ;
Ont été retenus les articles les mieux documentés et/ou les plus récents : 3 articles retenus.

2. Question 14

Les articles portant sur des études réalisées *in vitro*, les études d'expérimentation animale, les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas ont été exclus. Lorsqu'il y avait de multiples références sur la même thématique et rapportant des résultats similaires et/ou redondants, seules les études avec le plus haut niveau de preuve ont été retenues.

Pour les cancers colorectaux la recherche suivante a été effectuée :

- mismatch repair deficiency OR microsatellite instability AND colorectal cancer ("2010/01/01"[PDAT] : "2021"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms] ;
2 820 références ont été trouvées. Seules 24 ont été retenues considérant les critères précisés ci-dessus.

Pour les cancers œso-gastriques la recherche suivante a été effectuée :

- mismatch repair deficiency OR microsatellite instability AND (oesophageal OR gastric OR gastro-oesophageal) ("2010/01/01"[PDAT] : "2021"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms] ;
533 références ont été trouvées ; 13 références ont été retenues considérant les critères précisés ci-dessus.

Pour les cancers du grêle la recherche suivante a été effectuée :

- mismatch repair deficiency OR microsatellite instability AND (small bowel adenocarcinoma) ("2010/01/01"[PDAT] : "2021"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms]
43 références ont été trouvées, une référence retenue considérant les critères précisés ci-dessus.

3. Question 15

Pour le cancer de l'endomètre, les mots-clés utilisés pour la recherche bibliographique ont été les suivants :

- mismatch repair deficiency OR microsatellite instability AND endometrial cancer ("2010/01/01"[PDAT] : "2021"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms].
464 références ont été trouvées. Les articles exclus sont ceux portant sur des études réalisées *in vitro*, les études d'expérimentation animale, les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas, certaines études portant uniquement sur des aspects thérapeutiques et les études apparaissant dans les deux sélections. 42 références ont été retenues.

Pour le cancer de l'ovaire, les mots-clés utilisés pour la recherche bibliographique ont été les suivants :

- mismatch repair deficiency OR microsatellite instability AND ovarian cancer ("2010/01/01"[PDAT] : "2021"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms].

222 références ont été trouvées. Les articles exclus sont ceux portant sur des études réalisées *in vitro*, les études d'expérimentation animale, les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas, certaines études portant uniquement sur des aspects thérapeutiques et les études apparaissant dans les deux sélections. 7 références ont été retenues.

4. Question 16

Les mots-clés utilisés pour la recherche bibliographique ont été les suivants :

- mismatch repair OR microsatellites instability AND sebaceous. Période de 1992 au 31 août 2020. 206 références ont été trouvées. Ont été exclus les cas rapportés, les revues de la littérature ou les études très incomplètes. 40 articles ont été sélectionnés.

5. Question 17

Pour les TVES, les mots-clés utilisés pour la recherche bibliographique ont été les suivants :

- Lynch syndrome ; urothelial cancer ; upper urinary tract ; DNA mismatch repair genes ; MMR ; microsatellite instability ; immunotherapy ; checkpoint inhibitor. Période 1998-2020. 167 références ont été trouvées. Parmi celles-ci, ont été exclues les revues générales non étayées par une méta analyse ou une revue *ad hoc* de la littérature, les études ne correspondant pas au type histologique ou à l'organe étudié. 19 articles ont été sélectionnés.

Pour les cancers de la prostate, les mots-clés utilisés pour la recherche bibliographique ont été les suivants :

- Lynch syndrome ; prostate cancer ; DNA mismatch repair genes ; MMR ; microsatellite instability ; immunotherapy ; checkpoint inhibitor. Période 2007-2020. 104 références ont été trouvées. Parmi celles-ci, ont été exclues les revues générales non étayées par une méta analyse ou une revue *ad hoc* de la littérature, les études ne correspondant pas au type histologique étudié. 9 articles ont été sélectionnés.

6. Question 18

Pour les gliomes, les mots-clés utilisés pour la recherche bibliographique ont été les suivants :

- mismatch repair deficiency OR microsatellite instability AND glioma ("2005/01/01"[PDAT] : "2020"[PDAT]) AND ("english"[Language] OR "french"[Language]) AND "humans"[MeSH Terms]. 105 références ont été trouvées. Les articles exclus sont ceux portant sur des études réalisées *in vitro*, les études d'expérimentation animale, les éditoriaux, les lettres des revues, les rapports de cas et certaines études portant uniquement sur des aspects thérapeutiques. 16 références ont été sélectionnées.

C. INTRODUCTION

L'évaluation du statut MMR a un intérêt dans différentes situations :

- **identification des patients potentiellement atteints du syndrome de Lynch ;**
- **impact pronostique pouvant modifier la prise en charge ;**

- **impact thérapeutique ;**
- **inclusion dans un essai thérapeutique spécifique aux tumeurs dMMR, notamment pour les traitements d'immunothérapie.**

Ce chapitre regroupe les recommandations d'indications de l'évaluation du statut MMR tumoral, destinées à identifier quel patient tester et à quelle(s) étape(s) de son parcours. Les localisations concernées par l'évaluation du statut MMR tumoral sont :

- **les tumeurs digestives ;**
- **les tumeurs gynécologiques ;**
- **les tumeurs cutanées ;**
- **les tumeurs urologiques et ;**
- les tumeurs cérébrales.

Pour les autres types tumoraux, faute de données suffisantes, il n'est pas possible de proposer des recommandations.

D. QUESTION 13 : TESTS MMR TUMORAUX ET SYNDROME DE LYNCH

1. Caractéristiques épidémiologiques, génétiques et tumorales du syndrome de Lynch et du syndrome CMMRD

Le syndrome de Lynch (SL) ou HNPCC (*Hereditary nonpolyposis colorectal cancer*) est une prédisposition génétique au cancer de transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète. Il est dû à une mutation monoallélique constitutionnelle d'un des gènes du système de réparation des erreurs d'appariement de l'ADN : les gènes *MMR* (MisMatch repair : *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ou *PMS2*) ou du gène *EPCAM* (situé en amont du promoteur du gène *MSH2* et conduisant à l'inactivation épigénétique du gène *MSH2*).

Une inactivation tumorale de l'autre copie du gène (par mutation, perte d'hétérozygotie, altération épigénétique...) aboutit à l'inactivation du gène *MMR* et à la perte de fonction de la protéine correspondante et constitue le mécanisme de carcinogenèse du SL.

Cette perte de fonction tumorale se traduit par une instabilité microsatellitaire (MSI) analysable en biologie moléculaire et un défaut d'expression d'une / des protéine(s) du système MMR, identifiable en immunohistochimie, conférant un statut dMMR à toute tumeur développée dans le cadre d'un SL.

Le SL induit un risque nettement plus élevé, dès un âge jeune et tout au long de la vie, principalement de cancer colorectal (CCR) et de cancer de l'endomètre (CE), mais aussi de cancers du tractus urothélial (notamment des voies excrétrices urinaires supérieures ou TVES) et de l'intestin grêle et, à moindre degré, de cancers de l'ovaire, de l'estomac, des voies biliaires, de tumeurs sébacées cutanées et de cancers du pancréas (Lynch *et al.*, 2015b) (NP1).

Ainsi les cancers dits du « spectre étroit du SL » sont le CCR, le cancer de l'endomètre, les cancers urothéliaux (notamment des TVES) et les cancers de l'intestin grêle et ceux du « spectre élargi » sont le cancer gastrique, le cholangiocarcinome, le cancer de l'ovaire, les tumeurs sébacées cutanées et le cancer du pancréas.

De plus dans la forme phénotypique appelée « syndrome de Muir Torre » (ou SMT-SL pour Syndrome de Muir Torre - syndrome de Lynch) s'y associent des néoplasmes sébacés et kératoacanthomes multiples et dans la forme phénotypique appelée « syndrome de Turcot » s'y associent des tumeurs cérébrales de type glioblastome (Hamilton *et al.*, 1995; Ponti *et al.*, 2016a) (NP1). À noter que la terminologie syndrome de Turcot s'applique aux syndromes de prédisposition aux CCR associés à des tumeurs cérébrales et s'emploie donc également dans certaines formes de polyposes adénomateuses familiales avec tumeurs cérébrales (le plus souvent des médulloblastomes).

Des études récentes tendent à montrer que de nombreux autres types de tumeurs peuvent également être retrouvés associés au SL, mais avec une fréquence nettement moindre (Latham *et al.*, 2019) (NP1).

Les estimations de la fréquence du SL dans la population générale se limitaient auparavant à l'analyse des patients ayant des critères d'âge et d'antécédents personnels et familiaux de cancer évocateurs correspondants aux critères dits d'Amsterdam II, d'Amsterdam élargis, ou de NCI-Bethesda (Lynch *et al.*, 2015b). En utilisant les données familiales basées sur la population du registre des familles du cancer du côlon, Win *et al.* ont récemment estimé que la prévalence du SL dans la population générale atteignait 0,35 % ce qui en fait un syndrome de prédisposition au cancer fréquent (Win *et al.*, 2017) (NP2).

Il est maintenant bien établi qu'une proportion importante de cas, environ 30 % (jusqu'à 40 % des cas pour le CE), n'est pas détectée si seuls les critères cliniques et familiaux (d'Amsterdam et de NCI-Bethesda) sont retenus (Kahn *et al.*, 2019) (NP1). Or l'identification des patients potentiellement atteints du SL doit être favorisée compte tenu de sa fréquence et du bénéfice d'une prise en charge spécifique individuelle et familiale (Burn *et al.*, 2011; Giardiello *et al.*, 2014; Järvinen *et al.*, 2000; Schmeler *et al.*, 2006) (NP1).

Le syndrome CMMRD (*constitutional mismatch repair deficiency*) est un syndrome de prédisposition aux cancers de l'enfant, de l'adolescent et du jeune adulte, dû à une mutation biallélique homozygote ou hétérozygote composite des gènes MMR (principalement *PMS2* ou *MSH6*, plus rarement *MLH1* ou *MSH2*). Ces patients développent principalement des cancers coliques et des adénomes multiples précoces du tube digestif, des hémopathies et des tumeurs cérébrales. Il s'y associe des manifestations observées dans la neurofibromatose de type 1 (taches café au lait, taches de rousseur, neurofibromes) (Buecher *et al.*, 2019) (NP1). Le consortium européen "Care for CMMRD" a proposé des critères cliniques devant faire évoquer ce syndrome (Bakry *et al.*, 2014; Wimmer *et al.*, 2014; Buecher *et al.*, 2019) (NP1).

2. Évaluation de statut MMR tumoral à visée oncogénétique

La principale stratégie de diagnostic du SL repose sur l'analyse germinale des gènes *MMR* au décours d'une consultation d'oncogénétique chez les personnes atteintes de tumeurs du spectre HNPCC présentant un statut tumoral dMMR.

Néanmoins, en l'absence de statut dMMR mais dans un contexte clinique et/ou familial évocateur d'une prédisposition génétique tumorale (de type SL ou autre que le SL), une consultation d'oncogénétique doit également être proposée.

Si un statut dMMR est une condition majeure pour suspecter un SL, **l'étape préalable concernant les indications d'évaluation du statut MMR tumoral est essentielle dans la stratégie d'identification des SL.**

En France jusqu'à présent, au-delà des contextes personnels et familiaux très évocateurs d'un SL (critères d'Amsterdam ou de NCI-Bethesda), l'évaluation du statut MMR tumoral (IHC/MSI) était préconisée chez les patients de moins de 60 ans atteints d'un CCR, chez les patientes présentant un cancer de l'endomètre diagnostiqué avant 60 ans (l'examen pouvant se discuter entre 50 et 60 ans) et, au-delà de ces âges, chez les patients avec antécédents personnels ou familiaux (au premier degré) de CCR ou de cancer(s) du spectre du SL (INCa, Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch, 2016). Ces tests somatiques peuvent, en outre, être prescrits à des personnes avec un cancer du spectre du syndrome de Lynch, autre qu'un CCR ou qu'un cancer de l'endomètre, sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un syndrome de Lynch. Une alternative à cette stratégie est **l'évaluation systématique du statut MMR tumoral**, aussi appelée **dépistage universel** ou « **universal screening** » du SL dans la pratique courante et la littérature anglo-saxonne. Cette évaluation systématique, notamment pour les cancers les plus fréquents du SL, correspond à l'évaluation du statut MMR tumoral chez tous les patients atteints de ces tumeurs, indépendamment de l'âge et du contexte familial et personnel de cancer.

Les indications de recherche de SL seront détaillées pour chaque localisation tumorale (cancers digestifs, gynécologiques, tumeurs cutanées, cancers urologiques et tumeurs cérébrales) dans les chapitres suivants.

E. QUESTION 14 : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL EN ONCOLOGIE DIGESTIVE

1. Épidémiologie du statut dMMR dans les tumeurs digestives

Toutes les tumeurs digestives peuvent avoir un statut dMMR mais il est **essentiellement retrouvé dans les adénocarcinomes**, et principalement ceux du **côlon et de l'estomac** mais pas exclusivement. En fonction du type de tumeurs, le statut dMMR peut être plutôt d'origine sporadique (par hyperméthylation du promoteur de *MLH1*) ou constitutionnel (syndrome de Lynch) (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Fréquence du statut dMMR dans les différentes tumeurs digestives

Site tumoral	Type histologique	% dMMR	Syndrome de Lynch (pourcentage parmi les tumeurs dMMR)	Références
Œsophage	Épidermoïde	< 1 %	Non décrit	(Bouchez <i>et al.</i> , 2019) (NP2)
	Adénocarcinome	2 à 7 %	Rare	(Bouchez <i>et al.</i> , 2019) (NP1)
Estomac	Adénocarcinome	7 à 22 %	2 à 10 %	(An <i>et al.</i> , 2012; Ratti <i>et al.</i> , 2018) (NP1)
Voies biliaires	Adénocarcinome	1 à 5 %	Fréquent	(Roa <i>et al.</i> , 2005) (NP2)
Carcinome hépatocellulaire	Carcinome	< 1 %	Non décrit	(accord d'experts)
Pancréas	Adénocarcinome	0,5 à 2 %	Rare	(Lupinacci <i>et al.</i> , 2018) (NP2)
Tumeurs neuroendocrines	Carcinome neuroendocrine	5 à 15 %	Non décrit	(Sahnane <i>et al.</i> , 2015) (NP2)
Intestin grêle	Adénocarcinome	5 à 35 %	5 à 20 %	(Aparicio <i>et al.</i> , 2013a) (NP2)
Colorectal	Adénocarcinome	10 à 15 %	10 à 20 %	(Boland and Goel, 2010) (NP1)
Anus	Épidermoïde	< 1 %	Non décrit	(Bouchez <i>et al.</i> , 2019) (NP2)

Les **adénocarcinomes de l'œsophage dMMR** représentent 2 à 7 % des adénocarcinomes de l'œsophage (Bouchez *et al.*, 2019) (NP1). Ils sont en général diagnostiqués à des stades précoces et principalement sur endobrachyœsophage.

Dans les **adénocarcinomes œso-gastriques**, environ 7 à 22 % sont dMMR, dont 80-90 % sont d'origine sporadique, le plus souvent par hyperméthylation du promoteur de *MLH1*. L'incidence est variable selon les régions. Ainsi, 7 à 10 % des adénocarcinomes gastriques sont dMMR dans la population occidentale (Ratti *et al.*, 2018) mais jusqu'à 22 % dans la population mondiale (Bass *et al.*, 2014) (NP1). Ils sont associés à un âge moyen au diagnostic d'environ 65 ans, ils sont généralement moyennement différenciés et localisés dans la partie distale de l'estomac, et sont principalement de type intestinal selon la classification de Lauren (An *et al.*, 2012) (NP1). Ils sont également de meilleur pronostic que les tumeurs pMMR avec un envahissement ganglionnaire moins fréquent et un diagnostic généralement à un stade précoce (Ratti *et al.*, 2018) (NP1). La mutation *BRAF* n'a été décrite qu'exceptionnellement dans les tumeurs de l'estomac et ne permet pas d'orienter vers une tumeur sporadique ou liée à un SL (contrairement au CCR).

Entre 5 et 35 % des **adénocarcinomes du grêle** sont dMMR selon les séries. Ils semblent diagnostiqués à un stade précoce et de meilleur pronostic que les tumeurs pMMR (Aparicio *et al.*, 2013a) (NP2). Les tumeurs dMMR d'origine sporadique, avec hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*, semblent bien plus rares que dans le CCR (environ 5 %) et donc les adénocarcinomes du grêle dMMR sont fréquemment associés à un SL.

Les **adénocarcinomes du pancréas dMMR** ne concernent que 0,5 à 2 % des tumeurs du pancréas. La valeur pronostique du statut dMMR dans le cancer du pancréas n'a pas été clairement démontrée, cependant il y aurait une tendance à un meilleur pronostic des tumeurs dMMR et elles sont plus

souvent associées à des tumeurs développées sur tumeur intracanalair papillaire et mucineuse du pancréas (TIPMP) et peuvent être associées au SL (Lupinacci *et al.*, 2018) (NP2).

Les tumeurs dMMR représentent 2 à 5 % des **cholangiocarcinomes**. Des mutations du système MMR ont été mises en évidence au niveau de lésions dysplasiques et de cholécystite chronique, suggérant que l'instabilité microsatellitaire pourrait intervenir très tôt dans la carcinogénèse des cholangiocarcinomes (Roa *et al.*, 2005; Ju *et al.*, 2019) (NP2). Les cholangiocarcinomes dMMR sont fréquemment associés à un SL.

Les **adénocarcinomes colorectaux** dMMR représentent environ 10 à 15 % des CCR. Ils sont principalement localisés dans le colon droit, peu différenciés avec un contingent mucineux important, un infiltrat lymphocytaire important et un envahissement pariétal important (fréquemment T4) (Kim *et al.*, 1994; Tougeron *et al.*, 2009) (NP1). De plus, la fréquence du statut dMMR diminue avec le stade, de 20 % dans les stades I-II à 5 % dans les stades IV. Les CCR dMMR d'origine sporadique par hyperméthylation du promoteur de *MLH1* sont plus fréquents chez les sujets âgés et chez les femmes. Les formes sporadiques représentent près de 80 % des CCR dMMR, les autres sont associés à un SL.

Dans les **tumeurs neuroendocrines**, un statut dMMR est observé dans 5 à 15 % des cas, quasi exclusivement dans les carcinomes neuroendocrines, le plus souvent dans les tumeurs intestinales et par hyperméthylation du promoteur de *MLH1*, donc sporadique (Sahnane *et al.*, 2015) (NP2).

Dans les **autres tumeurs digestives**, l'instabilité microsatellitaire est soit très rare soit n'a jamais été décrite.

En conclusion les points importants sont :

- **un statut dMMR est fréquent dans les adénocarcinomes de l'estomac, de l'intestin grêle et colorectaux ;**
- **les tumeurs digestives dMMR sont souvent diagnostiquées à un stade précoce, de bon pronostic et présentent certaines particularités clinico-pathologiques.**

2. Impact pronostique et/ou thérapeutique du statut dMMR dans les tumeurs digestives

L'instabilité microsatellitaire est une forme particulière d'instabilité génétique touchant des gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire participant à l'initiation et à la progression tumorale. Un décalage du cadre de lecture peut être aussi à l'origine de l'apparition de néo-antigènes potentiellement immunogènes, responsables de l'activation de lymphocytes T spécifiques de ces épitopes, qui jouent un rôle primordial dans l'élimination des cellules tumorales. L'instabilité microsatellitaire est associée à une infiltration immunitaire importante notamment en lymphocytes T CD8⁺, du fait de la formation de néo-peptides immunogènes générés par la mutation des gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire (Phillips *et al.*, 2004) (NP1). Cette caractéristique des tumeurs dMMR explique probablement une meilleure efficacité du système immunitaire pour limiter la progression tumorale, et donc le meilleur pronostic et la sensibilité importante à l'immunothérapie (inhibiteurs des points de contrôle immunitaire ou *immune checkpoint inhibitors*) (Le *et al.*, 2017) (NP1).

Tableau 5 : Impact pronostique et thérapeutique du statut dMMR dans les différentes tumeurs digestives (* Toutes les tumeurs dMMR sont très sensibles aux inhibiteurs des *immunes checkpoints*)

Site tumoral	Impact pronostique du statut dMMR	Impact thérapeutique du statut dMMR*	Références
Œsophage	?	?	(Bouchez <i>et al.</i> , 2019) (NP2)
Estomac	Bon dans les stades I, II, III Mauvais dans les stades IV	Gain en survie incertain de la chimiothérapie adjuvante dans les stades non métastatiques	(Beghelli <i>et al.</i> , 2006; An <i>et al.</i> , 2012; Kim <i>et al.</i> , 2015; Smyth <i>et al.</i> , 2017; Choi <i>et al.</i> , 2017; Ratti <i>et al.</i> , 2018) (NP1)
Voies biliaires	?	?	Accord d'expert
Pancréas	Bon	?	Accord d'expert
Tumeurs neuroendocrines	Bon	?	Accord d'expert
Intestin grêle	Bon dans les stades I, II, III	?	(Aparicio <i>et al.</i> , 2013a) (NP2)
Colorectal	Bon dans les stades I, II, III Mauvais dans les stades IV	Résistance à la chimiothérapie adjuvante par 5FU dans les CCR stades II	(Gryfe <i>et al.</i> , 2000; Sargent <i>et al.</i> , 2010; Popat <i>et al.</i> , 2005; Aparicio <i>et al.</i> , 2013b; Venderbosch <i>et al.</i> , 2014; Le <i>et al.</i> , 2015; Tougeron <i>et al.</i> , 2016; Tougeron <i>et al.</i> , 2017; Overman <i>et al.</i> , 2017; Zaanen <i>et al.</i> , 2018; Tougeron <i>et al.</i> , 2020) (NP1)

a) Adénocarcinomes colorectaux

Les **adénocarcinomes colorectaux dMMR** sont plus fréquemment de stade précoce et de meilleur pronostic dans les formes non métastatiques que les tumeurs pMMR, y compris à un âge avancé (Sargent *et al.*, 2010; Aparicio *et al.*, 2013b) (NP1). Ainsi, le statut dMMR confère un meilleur pronostic dans les CCR de stade I, II et III avec une survie globale meilleure que les CCR pMMR (Gryfe *et al.*, 2000; Popat *et al.*, 2005) (NP1). Les patients atteints de CCR dMMR de stade II, qui sont à faible risque de récurrence (inférieur à 10 % à 5 ans), n'ont pas de gain en survie d'une chimiothérapie adjuvante à base de 5-fluorouracile (5FU) seul (Sargent *et al.*, 2010; Bass *et al.*, 2014) (NP1) (**Tableau 5**). Les patients atteints de CCR dMMR de stade III, qui sont à plus haut risque de récurrence (environ 30 % à 5 ans), mais avec un meilleur pronostic que les patients atteints de CCR pMMR de stade III, ont un gain en survie après une chimiothérapie adjuvante à base de fluoropyrimidines (5-FU ou capécitabine) plus oxaliplatine (Tougeron *et al.*, 2014; Zaanen *et al.*, 2018) (NP1).

Par ailleurs, d'autres études et une méta-analyse démontrent que les patients atteints de CCR métastatiques (CCRm) dMMR, qui représentent environ 5 % des CCRm, ont une survie globale et une survie sans progression plus courte que ceux atteints de CCRm pMMR (Venderbosch *et al.*, 2014; Tougeron *et al.*, 2017) (NP1). Au stade métastatique ces tumeurs semblent plus sensibles aux anti-angiogéniques (Tougeron *et al.*, 2020) (NP2). Elles sont surtout très sensibles aux inhibiteurs des *immunes checkpoints* (ICI) (Le *et al.*, 2015; Overman *et al.*, 2017; André *et al.*, 2020) (NP1).

b) Adénocarcinomes œso-gastriques

Comme dans le CCR, l'**adénocarcinome œso-gastrique dMMR** non métastatique est de bon pronostic mais on n'observe pas de gain en survie chez les patients après une chimiothérapie adjuvante (Beghelli *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2015; Choi *et al.*, 2017; Smyth *et al.*, 2017; Pietrantonio *et al.*, 2019) (NP1). Dans une étude post-hoc de l'essai MAGIC (*Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy*), les patients avec un adénocarcinome œso-gastrique MSI opérés avaient un meilleur pronostic que les patients avec une tumeur MSS. Les patients avec un adénocarcinome œso-gastrique MSI n'avaient pas de gain en survie après une chimiothérapie péri-opératoire par ECF. (EPIRUBICINE, CISPLATINE et 5FU) (Smyth *et al.*, 2017) (NP1). Ces résultats ont été retrouvés également dans les analyses du sous-groupe des tumeurs dMMR de l'essai CLASSIC (« *Capecitabine and Oxaliplatin adjuvant study in stomach cancer* ») (Choi *et al.*, 2017) (NP1). Dans une méta-analyse récente l'absence de gain en survie après une chimiothérapie adjuvante a été confirmée (Pietrantonio *et al.*, 2019) (NP1).

c) Adénocarcinomes de l'intestin grêle

Dans les **adénocarcinomes de l'intestin grêle** le statut dMMR est également associé à un meilleur pronostic avec une survie sans récurrence plus longue que dans les tumeurs pMMR (Aparicio *et al.*, 2013a) (NP2).

d) Adénocarcinomes de l'œsophage

Les **adénocarcinomes de l'œsophage dMMR** semblent également diagnostiqués à des stades précoces mais sans différence significative en termes de survie globale par rapport aux tumeurs pMMR (Bouchez *et al.*, 2019) (NP2).

e) Autres tumeurs digestives

Dans les **autres tumeurs digestives** il n'y a aucune étude avec un effectif suffisant permettant des conclusions fiables sur l'impact pronostique ou thérapeutique du statut dMMR.

En conclusion les points importants sont :

- **le statut dMMR est associé à un bon pronostic dans les tumeurs digestives non métastatiques notamment les adénocarcinomes de l'estomac, du grêle et colorectaux.**
- **le statut dMMR est associé à une chimiorésistance, notamment au 5FU dans les cancers colorectaux de stade II et un gain en survie non démontré après une chimiothérapie adjuvante dans les adénocarcinomes de l'estomac.**

- **au stade métastatique, les tumeurs digestives dMMR semblent résistantes à la chimiothérapie mais sont très sensibles aux inhibiteurs des *immunes checkpoints*.**

3. Tests MMR tumoraux à visée oncogénétique

a) Cancers colorectaux

On estime qu'environ 3 % à 5 % de tous les CCR sont liés au SL et que restreindre l'accès au diagnostic de SL aux patients avec CCR présentant des critères d'âge ou d'antécédents personnels et/ou familiaux empêche le diagnostic de 30 % à 40 % des SL. Ainsi, au cours de ces dernières années, l'intérêt d'une stratégie d'évaluation systématique du statut MMR tumoral (avec indication de consultation d'oncogénétique en cas de statut dMMR) pour tous les individus diagnostiqués avec un CCR a pu être démontré et a permis de valider cette **évaluation systématique du statut MMR tumoral**, également connue sous le nom de **dépistage universel** (ou « *universal screening* »).

L'évaluation systématique du statut MMR tumoral pour les patients atteints de CCR a été depuis inscrite dans la plupart des recommandations, notamment françaises (Balmaña *et al.*, 2013; Vasen *et al.*, 2013; Giardiello *et al.*, 2014; Stoffel *et al.*, 2015; Syngal *et al.*, 2015; Vangala *et al.*, 2018) (NP2).

Ainsi, avec la diffusion de la réalisation des tests MMR tumoraux sur le territoire français et compte tenu de la meilleure couverture d'identification du SL qu'il apporte, **une évaluation systématique du statut MMR tumoral doit être proposée pour tout CCR, quel que soit le stade.**

b) Adénocarcinomes du grêle (duodénum, jéjunum, iléon) :

Compte tenu de la faible incidence de ces tumeurs, de la fréquence élevée de profil tumoral dMMR (5-35 %) et de la probabilité importante de SL (5-20 %) (Aparicio *et al.*, 2013a; Jun *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2017) (NP2), une évaluation systématique du statut MMR tumoral doit être proposée dans tous les adénocarcinomes du grêle.

c) Adénocarcinomes œso-gastriques :

Compte tenu de la fréquence élevée de tumeurs dMMR (7 à 22 %) dont environ 80 à 90 % sont d'origine sporadique, une évaluation systématique du statut MMR tumoral à visée oncogénétique n'est pas validée. Cependant, la recherche dMMR tumorale doit être faite en cas d'âge précoce de survenu et/ou d'antécédent personnel ou familial évocateur(s) de SL. Néanmoins, au vu des impacts thérapeutiques potentiels liés à l'immunothérapie, une évaluation systématique du statut MMR tumoral peut être recommandée en pratique.

d) Autres tumeurs digestives

Compte tenu de la moindre fréquence des autres tumeurs digestives (cholangiocarcinomes par exemple) associées au SL et de la très faible fréquence du statut dMMR/MSI dans ces tumeurs une évaluation systématique du statut MMR tumoral n'est pas recommandée à visée oncogénétique mais l'évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique doit être demandée sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un SL.

Recommandations à visée oncogénétique

Recommandations pour les cancers colorectaux :

Une évaluation systématique du statut MMR tumoral est recommandée pour tout cancer colorectal, compte tenu de son intérêt dans l'identification des patients potentiellement atteints du syndrome de Lynch, (*grade A*).

Recommandations pour les adénocarcinomes œso-gastriques :

Une évaluation du statut MMR tumoral est recommandée en cas d'âge précoce de survenue d'un adénocarcinome œso-gastrique et/ou d'antécédent personnel et/ou familial évocateur(s) d'un syndrome de Lynch (*grade A*). Néanmoins, compte tenu des impacts thérapeutiques potentiels liés à l'immunothérapie, une évaluation systématique du statut MMR tumoral peut être recommandée en pratique (*grade C*).

Recommandations pour les adénocarcinomes de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon) :

Pour tous les adénocarcinomes de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon), une évaluation systématique du statut MMR tumoral est recommandée, quels que soient le stade, l'âge et le contexte familial et personnel du patient (*grade C*).

Recommandations pour les autres tumeurs digestives :

Pour les autres cancers digestifs, une évaluation systématique du statut MMR tumoral à visée oncogénétique n'est pas recommandée, mais l'évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique est recommandée, sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un syndrome de Lynch (*grade B*).

4. Indications de détermination à visée pronostique et/ou prédictive du statut dMMR dans les tumeurs digestives

a) Cancers colorectaux

Dans les **cancers colorectaux**, le statut dMMR a un impact pronostique et thérapeutique en situation adjuvante, notamment dans les stades II à haut risque de récurrence, concernant l'indication de la chimiothérapie (pas de chimiothérapie adjuvante pour les CCR stade II de statut dMMR sauf s'il existe des facteurs de mauvais pronostic comme les tumeurs T4) et ses modalités (une chimiothérapie par fluoropyrimidine seule n'apporte pas de gain en survie dans le CCR stade III de statut dMMR et une combinaison fluoropyrimidine plus oxaliplatine doit être utilisée) (Lecomte *et al.*, 2019) (NP1). La détermination du statut dMMR tumoral est indispensable dans les stades IV (CCR métastatiques) pour proposer l'inclusion d'un patient dans un essai thérapeutique d'immunothérapie en attendant les autorisations de mise sur le marché (AMM) (**Tableau 6**).

b) Adénocarcinomes œso-gastriques

Comme dans le CCR, le statut dMMR a un impact pronostique et thérapeutique en situation adjuvante dans l'**adénocarcinome œso-gastrique**, compte tenu du bon pronostic et de l'absence possible de gain en survie d'une chimiothérapie adjuvante. Les données ne sont cependant pas assez solides pour recommander une évaluation systématique du statut MMR tumoral dans l'adénocarcinome œso-gastrique non métastatique en dehors d'essai thérapeutique. L'évaluation du statut MMR tumoral est indispensable dans les stades IV pour proposer une inclusion des patients

dans un essai thérapeutique d'immunothérapie en attendant les autorisations de mise sur le marché (AMM).

c) Autres tumeurs digestives

Dans les **autres tumeurs digestives**, il n'y a aucune étude avec un effectif suffisant permettant des conclusions fiables sur l'impact pronostique ou thérapeutique du statut dMMR. Par conséquent, l'évaluation du statut MMR est à discuter au cas par cas dans les stades IV dans l'objectif de proposer un essai thérapeutique d'immunothérapie.

Tableau 6 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les différentes tumeurs digestives à visée thérapeutique

Site tumoral	Indications formelles d'évaluation du statut MMR tumoral	Indications d'évaluation du statut MMR tumoral à discuter
Œsophage	-	Dans les stades IV chimiorésistants pour proposer un essai clinique d'immunothérapie
Estomac	-	Dans les stades non métastatiques pour déterminer la réalisation ou non et les modalités de la chimiothérapie adjuvante Dans les stades IV chimiorésistants pour proposer un essai clinique d'immunothérapie
Voies biliaires	-	Dans les stades IV chimiorésistants pour proposer un essai clinique d'immunothérapie
Pancréas	-	-
Tumeurs neuroendocrines	-	Dans les carcinomes neuroendocrines stades IV chimiorésistants pour proposer un essai clinique d'immunothérapie
Intestin grêle	-	Dans les stades IV chimiorésistants pour proposer un essai clinique d'immunothérapie
Colorectal	Dans les stades II pour déterminer la réalisation ou non et les modalités de la chimiothérapie adjuvante Dans les stades IV pour proposer une immunothérapie	Tous les stades pour proposer un essai clinique d'immunothérapie

En conclusion, les points importants sont :

- le statut MMR tumoral doit être évalué systématiquement dans les CCR stade II et IV compte tenu de son impact pronostique et thérapeutique (réalisation ou non d'une chimiothérapie adjuvante et ses modalités dans les stades II, traitement par immunothérapie dans les stades IV). Cependant compte tenu des connaissances actuelles et de l'intérêt d'identifier une instabilité microsatellitaire dans le cadre du syndrome de Lynch, il est recommandé d'évaluer systématiquement le statut MMR pour tous les cancers colorectaux quel que soit le stade.

- **l'évaluation du statut MMR tumoral est à discuter dans les adénocarcinomes de l'estomac non métastatique compte tenu de son impact pronostique et thérapeutique (réalisation ou non d'une chimiothérapie adjuvante) et au cas par cas pour proposer un essai thérapeutique d'immunothérapie.**
- **dans les autres tumeurs digestives l'évaluation du statut MMR tumoral est à discuter au cas par cas pour proposer un essai thérapeutique d'immunothérapie.**

5. Indications pour de l'immunothérapie dans les cancers digestifs

a) Résultats des inhibiteurs des points de contrôle de la réponse immunitaire (ICI) en oncologie digestive

❖ *Cancers colorectaux métastatiques*

En cancérologie digestive les ICI ont montré une efficacité majeure dans les **CCR dMMR métastatiques chimiorésistants**, en monothérapie et en combinant anti-PD-1/anti-PD-L1 et anti-CTLA-4 avec des taux de contrôle de la maladie de 95 % et de survie globale (SG) à 12 mois de 85 % chez des patients avec un CCR dMMR métastatique chimio-résistant (Le *et al.*, 2015; Overman *et al.*, 2018) (NP1). Cela s'explique par le fait que les tumeurs dMMR sont génétiquement très instables avec de multiples mutations qui génèrent des néo-antigènes immunogènes. Des essais thérapeutiques (terminés ou en cours) comparent immunothérapie *versus* chimiothérapie en 1^{re} ligne (essai de phase III KEYNOTE-177) ou 2^e ligne (essai de phase II PRODIGE 54 – SAMCO) dans les CCR dMMR métastatiques. L'essai KEYNOTE-177 a montré la supériorité de l'immunothérapie (Pembrolizumab) en première ligne par rapport à la chimiothérapie dans les CCRm dMMR (André *et al.*, 2020) (NP1). Le pembrolizumab a obtenu une AMM en janvier 2021 : il est autorisé en monothérapie pour un traitement de première ligne de cancers colorectaux métastatiques MSI ou dMMR-IHC chez l'adulte.

❖ *Adénocarcinomes œso-gastriques métastatiques*

D'autres études ont ensuite montré que les ICI étaient très efficaces dans **toutes les tumeurs dMMR métastatiques chimio-résistantes quel que soit le primitif** et donc dans les adénocarcinomes œso-gastriques métastatiques dMMR. Dans l'étude de Le DT *et al.*, publiée en 2017, 86 patients ayant des tumeurs MSI métastatiques avaient reçu du Pembrolizumab (anti-PD-1); les médianes de survie sans progression (SSP) et de SG n'étaient pas atteintes, toutes tumeurs confondues (Le *et al.*, 2017) (NP1). Les analyses de sous-groupes ne montraient pas de différence significative entre les CCR métastatiques MSI et les tumeurs non colorectales métastatiques MSI. Plusieurs études ont confirmé que **les adénocarcinomes œso-gastriques dMMR métastatiques chimiorésistants** étaient très sensibles à l'immunothérapie (Fuchs *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2018) (NP1). L'étude de phase II KEYNOTE-059 a évalué l'effet du Pembrolizumab chez 259 patients ayant un cancer gastrique ou de la jonction œso-gastrique prétraités par au moins 2 lignes de chimiothérapie (Fuchs *et al.*, 2018) (NP1). Les taux de réponse étaient de 57,1 % dans les tumeurs MSI versus 9,0 % dans les tumeurs MSS.

❖ *En situation néoadjuvante*

En **situation préopératoire**, dans l'essai NICHE, 20 patients atteints d'un CCR dMMR à un stade précoce ont reçu un traitement préopératoire par Nivolumab (anti-PD-1) et Ipilimumab (anti-CTLA-4) avec des résultats impressionnants puisqu'il y avait 12 réponses histologiques complètes et 7 réponses

histologiques majeures (avec 1 à 2 % de cellules tumorales viables résiduelles) (Chalabi *et al.*, 2020a; Chalabi *et al.*, 2020b) (NP2). Des essais en situation néoadjuvante sont en cours pour le traitement des adénocarcinomes œso-gastriques dMMR non métastatiques, dont l'étude NEONIPIGA qui évalue le taux de réponse pathologique complète chez les patients atteints d'adénocarcinome œso-gastrique dMMR non métastatique traités en néoadjuvant par Nivolumab et Ipilimumab. En situation post-opératoire, un essai en cours, ATOMIC, compare Folfox versus Folfox plus Atézolizumab (anti-PD-L1) dans les CCR dMMR de stade III.

b) Indications de détermination du statut dMMR dans les tumeurs digestives pour de l'immunothérapie

- le statut dMMR doit être recherché systématiquement dans les CCR et adénocarcinomes œso-gastriques de stade IV compte tenu de la fréquence de l'instabilité microsatellitaire et des possibilités de traitement par immunothérapie dans le cadre d'AMM ou d'essais cliniques.
- la recherche d'un statut dMMR est à discuter dans les autres adénocarcinomes digestifs métastatiques chimiorésistants compte tenu de l'efficacité de l'immunothérapie.
- la recherche d'un statut dMMR est à discuter dans les CCR et adénocarcinomes œso-gastriques non métastatiques s'ils sont potentiellement éligibles à un essai thérapeutique d'immunothérapie en néoadjuvant ou adjuvant.

6. Recommandations d'évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les tumeurs digestives

Recommandations à visées thérapeutiques

Recommandations pour les cancers colorectaux :

Il est recommandé d'évaluer systématiquement le statut MMR tumoral dans les cancers colorectaux de stade II et IV compte tenu de son impact pronostique et thérapeutique (réalisation ou non d'une chimiothérapie adjuvante avec adaptation de ses modalités dans les stades II, immunothérapie dans les stades IV) (*grade A*).

Recommandations pour les adénocarcinomes œso-gastriques :

Pour les adénocarcinomes œso-gastriques non métastatiques, il est recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral, compte tenu de son impact pronostique et thérapeutique (réalisation ou non d'une chimiothérapie adjuvante ou inclusion dans des essais d'immunothérapie) (*grade B*).

Remarque : Afin que ce résultat soit disponible rapidement pour le choix thérapeutique, il est possible d'évaluer systématiquement le statut MMR tumoral sur la biopsie diagnostique ou la pièce opératoire en l'absence de traitement néoadjuvant.

Dans les adénocarcinomes œso-gastriques de stade IV, il est recommandé d'évaluer systématiquement le statut MMR tumoral, compte tenu de la fréquence de l'instabilité microsatellitaire et des possibilités d'inclusion dans des essais d'immunothérapie (*grade A*).

Recommandations pour les adénocarcinomes de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon) :

Il est recommandé de considérer l'évaluation du statut MMR dans les adénocarcinomes de l'intestin grêle métastatiques chimiorésistants dans le cadre d'essais d'immunothérapie (*grade A*).

Recommandations pour les autres tumeurs digestives :

Il est recommandé de considérer l'évaluation du statut MMR dans les autres adénocarcinomes digestifs métastatiques chimiorésistants dans le cadre d'essais d'immunothérapie (*grade A*).

7. Techniques à réaliser pour l'évaluation du statut MMR tumoral des tumeurs digestives

Pour les cancers colorectaux, compte tenu de la très bonne sensibilité et spécificité des deux techniques (MMR-IHC avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR et MSI en PCR) (cf. chapitre 3. l'immunohistochimie des protéines MMR et IV. la biologie moléculaire du système MMR), la technique à réaliser en première intention est laissée au choix des praticiens, des pratiques de chaque laboratoire et en fonction des autres analyses tumorales nécessaires en IHC et/ou biologie moléculaire.

Pour les cancers gastriques, les deux méthodes (MMR-IHC avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR et MSI en PCR) semblent être équivalentes avec une sensibilité et une spécificité élevée. Comme l'IHC permet une analyse rapide, sur du matériel biopsique de petite taille, et peut être combinée avec l'analyse systématique du statut HER2 en IHC, il est recommandé d'utiliser l'IHC en première intention.

Recommandations techniques pour l'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs œsogastriques

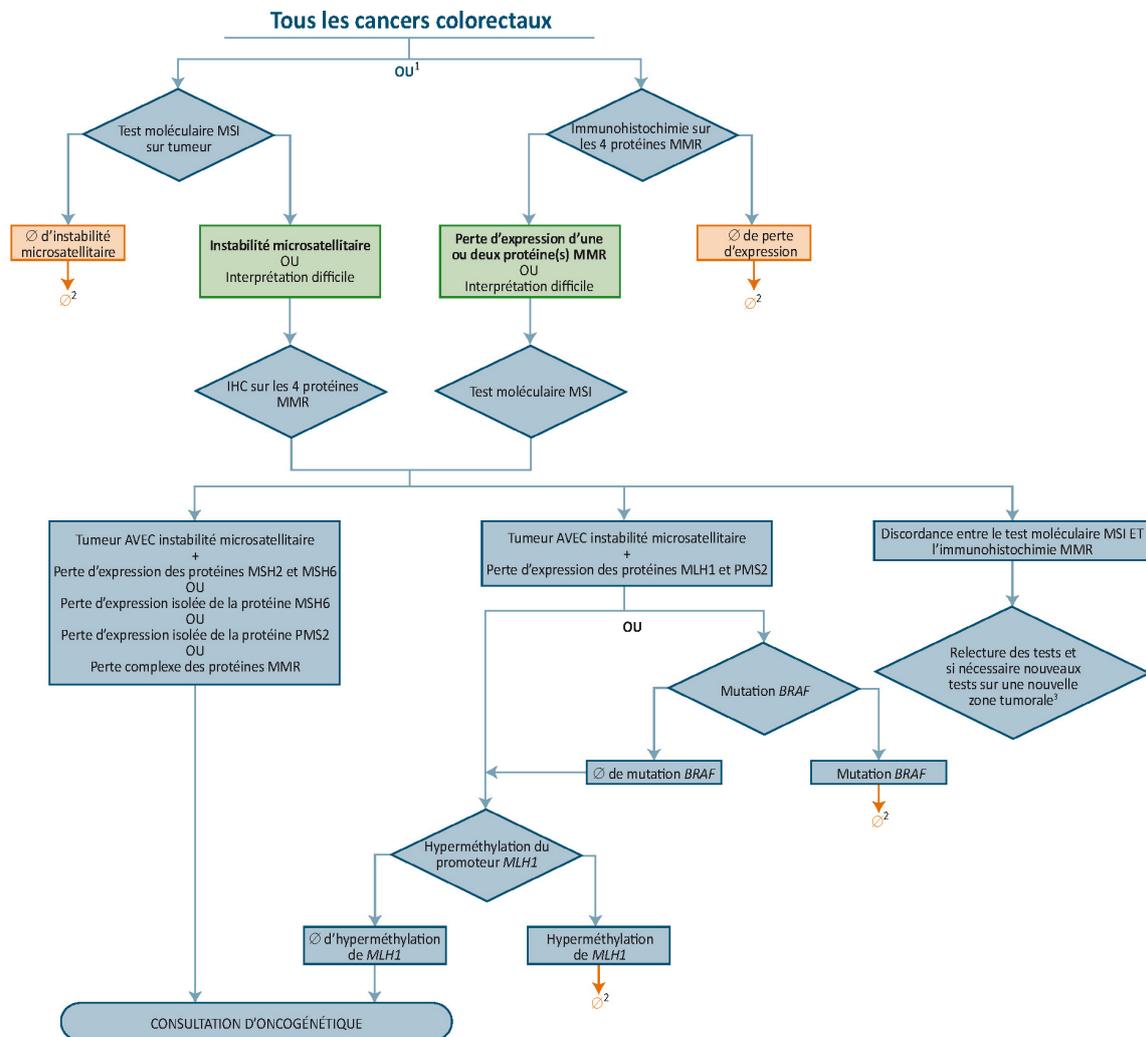
Pour les adénocarcinomes œso-gastriques, les deux méthodes (MMR-IHC avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR et MSI en PCR) semblent être équivalentes. Toutefois, l'IHC permet une analyse rapide, sur du matériel biopsique de petite taille et peut être combinée avec l'analyse systématique d'autres statuts en IHC (HER2...).

Il est recommandé d'utiliser l'IHC en première intention pour évaluer le statut MMR tumoral dans les adénocarcinomes œso-gastriques (*accord d'experts*).

8. Algorithmes définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique

a) Cancers colorectaux

Figure 9 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers colorectaux



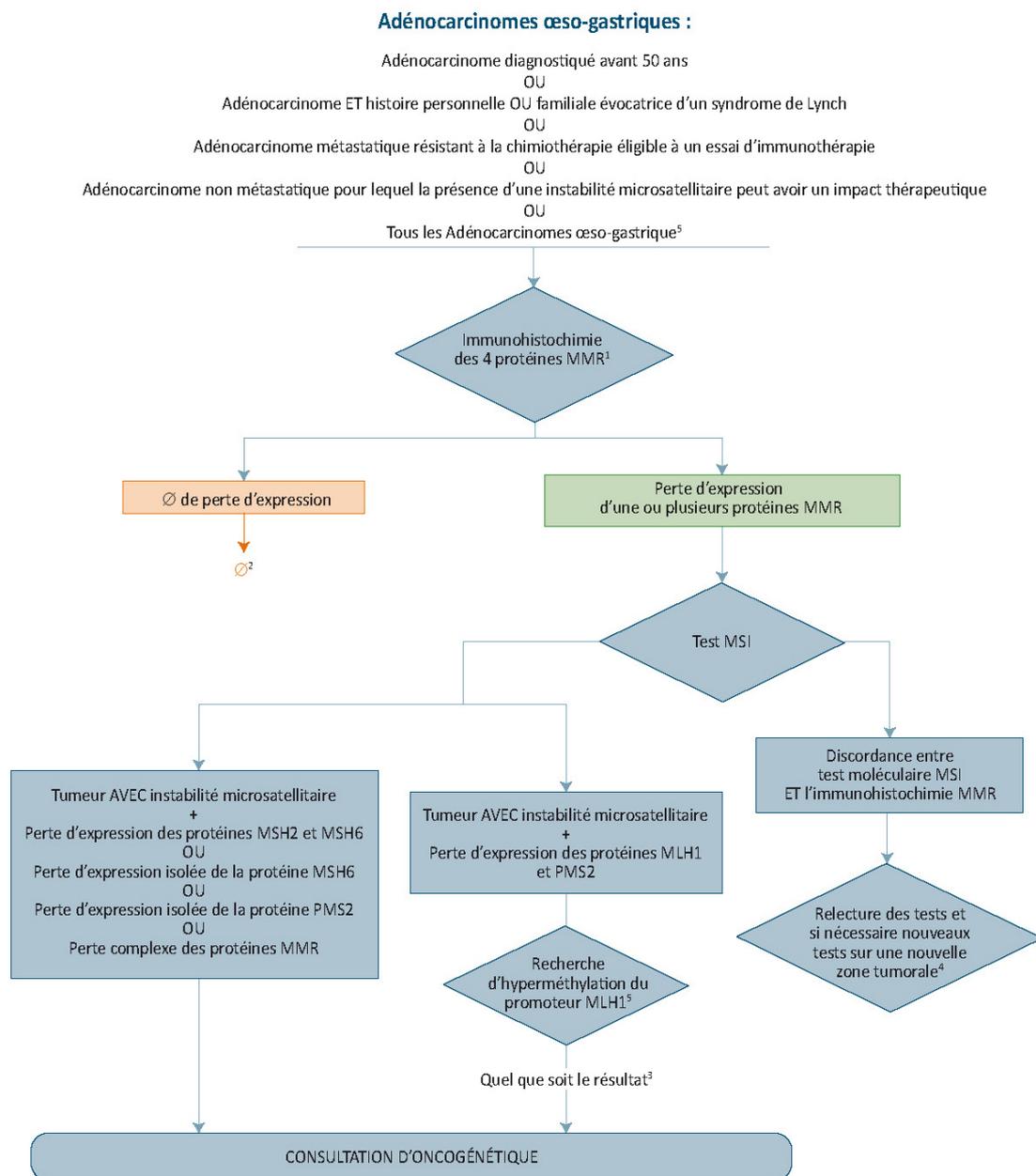
¹ En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch ou pour les patients métastatiques potentiellement éligibles à un essai d'immunothérapie, les 2 tests moléculaire et immunohistochimique doivent être réalisés d'emblée. Une stratégie d'analyse combinée des deux techniques d'emblée est également possible.

² Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique à une pathologie digestive autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée.

³ Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

b) Adénocarcinomes œso-gastriques

Figure 10 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les adénocarcinomes œso-gastriques



¹ En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch ou pour les patients métastatiques potentiellement éligibles à un essai d'immunothérapie, les 2 tests moléculaire et immunohistochimique doivent être réalisés d'emblée. Une stratégie d'analyse combinée des deux techniques d'emblée est également possible. L'IHC est privilégiée en première intention compte tenu du matériel biopsique de petite taille et de la nécessité de réaliser d'autres potentiels marqueurs IHC.

² Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique à une pathologie digestive autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée.

³ Le résultat de la recherche d'hyperméthylation du promoteur du test MLH1 sera pris en compte par l'oncogénéticien pour la décision de la suite de la prise en charge.

⁴ Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

⁵ Avis d'expert.

F. QUESTION 15 : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL DANS LES CANCERS GYNÉCOLOGIQUES

Les cancers gynécologiques incluent les cancers du sein et les cancers pelviens : endomètre, ovaire et col. Le statut dMMR se rencontrant surtout dans les carcinomes de l'endomètre (CE), c'est cette localisation qui fera l'objet de l'essentiel de ce chapitre.

1. Épidémiologie des tumeurs dMMR dans les cancers gynécologiques

La fréquence du statut dMMR dans le CE localisé a été estimée entre 20 et 30 % dans toutes les grandes études (Kandoth *et al.*, 2013; Stelloo *et al.*, 2017) (NP1).

Une analyse de l'exome complet à partir des données du TCGA a permis d'évaluer la fréquence du statut dMMR dans les cancers gynécologiques les plus fréquents (Bonneville *et al.*, 2017) (NP1) (**Tableau 7**).

Tableau 7 : pourcentage de tumeurs dMMR dans les différents types tumoraux gynécologiques

Type tumoral	% des tumeurs dMMR		
	NGS (Bonneville <i>et al.</i> , 2017)	PCR (Stelloo <i>et al.</i> , 2017)	IHC
Carcinomes de l'endomètre :			
Carcinomes de l'endomètre	32 % (n = 542)	24 % (n = 696)	28 % (n = 696) (Stelloo <i>et al.</i> , 2017)
Carcinome endométrioïde		25 % (n = 679)	
Carcinome séreux	0 (n = 53) (Kandoth <i>et al.</i> , 2013)	6% (n = 17)	
Carcinosarcome	3.5 % (n = 57)		18 % (n = 22) (Jones <i>et al.</i> , 2014) 7% (n = 231) (Travaglino <i>et al.</i> , 2020b)
Carcinome à cellules claires			19 % (n = 32) (DeLair <i>et al.</i> , 2017)
carcinomes indifférenciés et dédifférenciés			44 % (n = 73) (Travaglino <i>et al.</i> , 2020a)
Carcinome du col utérin (épidermoïde et adénocarcinome)	2.6 % (n = 305)		
Adénocarcinome du sein	1.5 % (n = 1 044)		
Type tumoral	% des tumeurs dMMR		
Carcinomes ovariens :			
Carcinome séreux	1.4 % (n = 437)		0.3 % (n = 358) (Fraune <i>et al.</i> , 2020)
Carcinome endométrioïde			23 % (n = 35) (Fraune <i>et al.</i> , 2020)
Carcinome mucineux			0 (n = 34) (Fraune <i>et al.</i> , 2020)
Carcinome à cellules claires			0 (n = 23) (Fraune <i>et al.</i> , 2020) 13% (n = 23) (Willis <i>et al.</i> , 2017)

2. Le cancer de l'endomètre

a) Anomalies moléculaires causales du statut dMMR

Environ 75 % des cancers de l'endomètre (CE) dMMR présentent une perte de l'expression de *MLH1* en rapport avec une hyperméthylation de son promoteur (Goodfellow *et al.*, 2015; Stelloo *et al.*, 2017) (NP1). Parmi les 25 % avec une perte d'une autre protéine (*MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) ou de *MLH1* sans hyperméthylation, une mutation constitutionnelle (syndrome de Lynch) est mise en évidence dans environ 20 % des cas, soit 5 % de l'ensemble des CE dMMR (Goodfellow *et al.*, 2015; Latham *et al.*, 2019) (NP1). Les mutations constitutionnelles de *MSH2* seraient les plus fréquemment retrouvées chez les patientes présentant un CE dans le cadre d'un SL (40 % des cas), suivies de celles de *MLH1* et *MSH6* (environ 30 %) (Rossi *et al.*, 2017) (NP2). Les mutations de *PMS2* seraient beaucoup plus rares. Les mutations de *MSH6* ont été associées à un risque globalement plus faible de cancers du côlon et de l'endomètre que celles de *MLH1* et *MSH2* (Bonadona *et al.*, 2011) (NP1).

b) Caractéristiques clinico-pathologiques des tumeurs dMMR

Âge des patientes et antécédents personnels

Les CE liés à un SL surviennent chez des patientes plus jeunes que chez celles sans mutation constitutionnelle (âge médian : 54,3 ans versus 62,3 ans) (Goodfellow *et al.*, 2015) (NP1). La prévalence du SL est de 9 % pour les cas survenant avant 50 ans (Kwon *et al.*, 2011) (NP2). Mais dans 25 % des SL le CE survient après 60 ans (Goodfellow *et al.*, 2015) (NP1).

Les tumeurs avec méthylation de *MLH1* surviennent chez des femmes plus âgées (âge médian au diagnostic : 65 ans) que les tumeurs dMMR avec mutation constitutionnelle (âge médian : 59 ans) mais également que les tumeurs pMMR (âge médian 60 ans) (Goodfellow *et al.*, 2015; McMeekin *et al.*, 2016) (NP1).

Dans la majorité des cas associés au SL, le CE serait le premier cancer du spectre (entre 51 et 80 % des cas) (Lu *et al.*, 2005; Rossi *et al.*, 2017) (NP2). Dans 20 % des cas, il existe un cancer de l'ovaire synchrone (Rossi *et al.*, 2017) (NP2).

Antécédents familiaux

Un antécédent de cancer du spectre du SL chez un parent au premier degré est associé au risque de SL. Cependant, dans plus d'un tiers des cas de CE lié au SL, aucun antécédent familial n'est retrouvé, notamment en cas de transmission par la branche paternelle (Goodfellow *et al.*, 2015) (NP1).

Ces observations ont conduit à proposer une évaluation systématique du statut MMR tumoral du SL par IHC MMR dans le CE de type endométrioïde quel que soit l'âge (Rabban *et al.*, 2014) (NP2). En cas de perte de *MLH1*, une recherche d'hyperméthylation de son promoteur doit être réalisée avant d'envisager une consultation d'oncogénétique.

Indice de masse corporelle

La prévalence de l'obésité a été retrouvée plus faible chez les patientes présentant une mutation constitutionnelle dans le système MMR comparativement à celles présentant une inactivation épigénétique de *MLH1* ou un statut pMMR (50 % versus 67 % et 70 %, respectivement) (McMeekin *et al.*, 2016) (NP1).

Caractéristiques tumorales

Le type histologique des carcinomes de l'endomètre dMMR est le plus souvent endométrioïde (plus de 90 % des cas) (Kommos *et al.*, 2018) (NP1). Si 30 % des carcinomes endométrioïdes sont dMMR, la proportion serait de 19 % pour les carcinomes à cellules claires (DeLair *et al.*, 2017) (NP2), 3,5 à 18 % pour les carcinosarcomes (Travaglino *et al.*, 2020b) (NP2) et 44 % pour les carcinomes indifférenciés et différenciés (Travaglino *et al.*, 2020a) (NP2). Dans les données du TCGA, aucun carcinome séreux (n = 53) ne présentait de statut dMMR (Kandoth *et al.*, 2013) (NP2).

Les CE associés au SL siègeraient de façon préférentielle au niveau du segment inférieur de l'utérus mais cela ne semble pas être le cas des tumeurs avec méthylation de MLH1 (Rossi *et al.*, 2017; Westin *et al.*, 2008) (NP2).

Les tumeurs dMMR présentent des caractéristiques histologiques spécifiques : important infiltrat lymphocytaire intra-tumoral, présence d'un contingent tumoral indifférencié coexistant avec un contingent de grade 1 ou 2 (Garg and Soslow, 2009) (NP2), grade plus élevé (47 % de G3, (Kommos *et al.*, 2018; Raffone *et al.*, 2020) (NP1)) et fréquence accrue d'embolies tumorales vasculaires.

La méthylation de *MLH1*, mais pas les mutations constitutionnelles, a été associée à un stade FIGO plus élevé que les tumeurs pMMR (McMeekin *et al.*, 2016) (NP2). Dans une méta-analyse, les tumeurs dMMR présentent plus souvent un envahissement ganglionnaire (stade IIIC) que les tumeurs endométrioïdes *TP53* non mutées et pMMR (« low-copy number ») (Raffone *et al.*, 2020) (NP2).

Au total, les tumeurs dMMR sont associées à des facteurs de mauvais pronostic (grade, embolies tumorales vasculaires, stade FIGO) et sont plus souvent classées à haut risque de rechute selon la classification clinique de l'ESMO (Colombo *et al.*, 2016) comparativement aux tumeurs endométrioïdes *TP53* non mutées et pMMR (34 versus 14 %) (Kommos *et al.*, 2018) (NP1).

c) Valeur pronostique indépendante du statut dMMR dans les cancers de l'endomètre localisés (stade FIGO I à III)

Les données du TCGA ont permis de définir 4 groupes moléculaires de cancer de l'endomètre (CE) : ultra-muté associé à une mutation inactivatrice du domaine exonucléase de *POLE* (5 %), hypermuté dMMR (30 %), « serous-like » (20 %) caractérisé par une mutation de *TP53* et un nombre élevé d'altérations du nombre de copies de gènes (« copy number high ») et enfin un groupe avec peu de mutations et un faible nombre d'altérations du nombre de copie (« copy number low »), pMMR et sans mutation de *TP53* ni *POLE* (45 %) (Kandoth *et al.*, 2013) (NP1). Cette classification a un intérêt pronostique : Les tumeurs de meilleur pronostic sont celles mutées *POLE* alors que le plus mauvais pronostic est associé aux tumeurs « serous-like ». Les tumeurs dMMR et « copy number low » ont un pronostic intermédiaire. Ces données du TCGA sont à la base de la classification Promise permettant de distinguer les 4 groupes moléculaires par le séquençage du domaine exonucléase de *POLE* et l'analyse par IHC de l'expression des protéines du système MMR et *TP53* (Kommos *et al.*, 2018) (NP1). Dans la méta-analyse des études évaluant la classification Promise, les tumeurs dMMR étaient associées en analyse univariée à un mauvais pronostic comparativement aux tumeurs « copy number low » (pMMR *TP53* et *POLE* non mutés). Cependant, cette différence disparaissait en analyse

multivariée prenant en compte les autres facteurs pronostiques (grade, stade, présence d'emboles, degré d'envahissement du myomètre, âge) (Raffone *et al.*, 2019) (NP1).

En conclusion : Si on tient compte de facteurs pronostiques cliniques, les tumeurs dMMR sont de pronostic équivalent aux tumeurs « copy number low » (pMMR, TP53 et POLE sauvage) et de meilleur pronostic que les tumeurs « serous-like » (TP53 muté).

d) Efficacité des traitements adjuvants et statut MMR

Radiothérapie pelvienne dans les tumeurs de risque intermédiaire haut

L'étude Portec 2 a comparé la radiothérapie pelvienne post-opératoire à une curiethérapie du fond vaginal dans les tumeurs de pronostic intermédiaire haut selon la classification de l'ESMO (stade IB G1-2 avec emboles ou IA G3). Globalement, les 2 bras étaient équivalents sur le taux de récurrence vaginale mais le taux de récurrence pelvienne était significativement plus important dans le bras « curiethérapie ». Au cours d'une analyse post-hoc, le surcroît de récurrence pelvienne dans ce bras s'est révélé limité aux tumeurs « serous-like » ou avec de nombreux emboles tumoraux vasculaires ou surexprimant L1CAM (Wortman *et al.*, 2018) (NP2).

Ainsi, ces données suggèrent que l'indication de radiothérapie pelvienne dans les tumeurs de pronostic intermédiaire haut pourrait être limitée aux tumeurs « serous-like » ou avec de nombreux emboles tumoraux vasculaires ou surexprimant L1CAM. Dans les tumeurs dMMR sans embolie, la curiethérapie serait suffisante.

Chimiothérapie adjuvante dans les tumeurs à haut risque

L'étude Portec 3 a évalué l'apport de la chimiothérapie adjuvante dans les tumeurs à haut risque (selon la classification de l'ESMO) en plus de la radiothérapie pelvienne (tumeurs IB grade 3 ou avec emboles, stades II-III, histologie non endométrioïde). Les résultats ont montré qu'il existait un bénéfice modeste mais statistiquement significatif de la chimiothérapie adjuvante en termes de survie sans récurrence et de survie globale (de Boer *et al.*, 2019) (NP1).

Une analyse *post-hoc* a été réalisée pour évaluer ces résultats en fonction de la classification moléculaire. Il a ainsi pu être démontré que les patients atteints de tumeurs « serous-like » (profil TP53 muté en IHC, pMMR, POLE non muté) tiraient un bénéfice absolu de la chimiothérapie adjuvante de 25 % en termes de survie sans récurrence alors que celui-ci était nul pour les patients atteints de tumeurs dMMR (León-Castillo *et al.*, 2020) (NP2).

e) Place de l'évaluation du statut MMR dans la recherche du syndrome de Lynch

On estime qu'environ 2 % de tous les CE sont liés au SL et que restreindre l'accès au diagnostic de SL aux patients avec CE présentant des critères d'âge ou d'antécédents personnels et/ou familiaux empêche le diagnostic de 30 % et 40 % des SL (Goodfellow *et al.*, 2015) (NP1). Ainsi, au cours de ces dernières années, l'intérêt d'une stratégie d'évaluation du statut MMR tumoral (avec indication de consultation d'oncogénétique en cas de statut dMMR) pour toutes les femmes diagnostiquées avec un CE a pu être démontré et a permis de valider cette **évaluation systématique du statut MMR tumoral**, également connue sous le nom de **dépistage universel** (ou « *universal screening* »).

L'**évaluation systématique du statut MMR tumoral** a été depuis recommandée dans le CE par plusieurs sociétés (Dillon *et al.*, 2017; Adar *et al.*, 2018; Kahn *et al.*, 2019) (NP1).

Ainsi, avec la diffusion de la réalisation des tests MMR tumoraux sur le territoire français et compte tenu de la meilleure couverture d'identification du SL qu'il apporte, **une évaluation systématique du statut MMR tumoral doit être proposée pour tout CE.**

Recommandation à visée oncogénétique

Une **évaluation systématique du statut MMR tumoral** est recommandée dès le diagnostic pour tout cancer de l'endomètre, quels que soient le stade, l'âge et le contexte personnel et familial du patient (*grade A*).

f) Place de l'évaluation du statut MMR dans la décision thérapeutique en adjuvant

Selon les recommandations de l'ESMO publiées en 2016, les indications de traitement adjuvant (radiothérapie externe, curiethérapie, chimiothérapie) reposaient sur des facteurs pronostiques cliniques (Colombo *et al.*, 2016) (NP1). Ces facteurs étaient : le stade FIGO, le type histologique (endométriode *versus* non endométriode), le grade et la présence ou non d'embolies tumorales vasculaires ou lymphatiques. Ces recommandations ne tenaient pas compte de la classification moléculaire.

Les tumeurs dites à haut risque, pour lesquelles il existait une indication de radiothérapie pelvienne et chimiothérapie, étaient en particulier définies par un « haut grade » qui recouvre les carcinomes endométriodes de grade 3 (G3), les carcinomes séreux, à cellules claires et indifférenciées ainsi que les carcinosarcomes.

Plusieurs études ont cependant rapporté une reproductibilité inter-observateur suboptimale, même parmi des pathologistes experts, pour l'identification de ces tumeurs, aussi bien concernant la définition du grade 3 versus 2 que pour la distinction endométriode / séreux (Murali *et al.*, 2019) (NP2).

Indépendamment des difficultés de classification morphologique, les carcinomes endométriodes de G3 sont hétérogènes sur le plan moléculaire. Dans une étude, 36.2 % ont été classés dMMR, 12.9 % *POLE* muté, 20.7 % « serous-like », et 30.2 % « low copy number ». En analyse multivariée incluant le stade FIGO et l'âge, les statuts *POLE* muté et dMMR étaient des facteurs pronostiques indépendants associés à une meilleure survie sans rechute des tumeurs de G3 ; alors que la présence d'une mutation de *TP53* était associée à un mauvais pronostic (Bosse *et al.*, 2018) (NP2). Plus rarement, des carcinomes endométriodes de grade 1-2 pourraient également être classés « serous-like », mais leur pronostic n'est pas clairement défini (Beinse *et al.*, 2020) (NP2).

L'identification des tumeurs « serous-like » ne peut pas reposer uniquement sur l'IHC TP53. En effet, certaines tumeurs mutées *POLE* ou dMMR peuvent présenter une mutation de *TP53* qui n'a pas alors de valeur pronostique péjorative (Soslow *et al.*, 2019) (NP1). Il est donc nécessaire d'associer systématiquement à l'IHC TP53, une évaluation du statut MMR par IHC et idéalement un séquençage de *POLE*.

Pour ces raisons, la Société Internationale de Gynéco-Pathologie recommande l'utilisation en routine de la classification Promise (séquençage domaine exonucléase de *POLE*, IHC TP53, MSH6 et PMS2) pour les carcinomes endométrioides de G3 afin de mieux identifier les tumeurs serous-like de plus mauvais pronostic et qui requièrent un traitement adjuvant (Soslow *et al.*, 2019) (NP1).

En janvier 2021, la société européenne d'oncologie gynécologique (ESGO), la société européenne de radiothérapie et d'oncologie (ESTRO) et la société européenne de pathologie (ESP) ont conjointement recommandé l'utilisation de la classification moléculaire Promise pour l'ensemble des carcinomes de l'endomètre (Concin *et al.*, 2021) (NP1).

Selon ces recommandations, les carcinomes endométrioides de stade 1 ou 2 du groupe *TP53* muté justifieraient d'une chimiothérapie adjuvante systématique alors qu'elle ne serait pas indiquée pour les tumeurs des autres groupes moléculaires.

La chimiothérapie adjuvante reste indiquée dans les tumeurs dMMR de stade III-IVA ou d'histologie non endométrioides (à cellules claires, indifférenciées, carcinosarcome, séreux) en raison d'un plus mauvais pronostic (Travaglino *et al.*, 2020a) (NP2).

Recommandation à visée thérapeutique

L'évaluation combinée du statut MMR tumoral avec les autres critères de la classification Promise (immunohistochimie TP53, mutation *POLE*) est recommandée dans tous les cancers de l'endomètre, spécialement les tumeurs endométrioides de haut grade pour faciliter l'identification des tumeurs « serous-like » (de pronostic sombre) et discuter un traitement adjuvant (*grade B*).

g) Évaluation du statut MMR à visée théranostique dans les cancers métastatiques : indication de l'immunothérapie

Dans les **cancers de l'endomètre métastatiques**, la fréquence du statut dMMR a été estimée entre 15 et 20 % (Soumerai *et al.*, 2018) (NP1). Aucune étude n'a rapporté le pronostic des cancers métastatiques en fonction du statut MMR.

L'immunothérapie avec un anti-PD1 a été évaluée spécifiquement dans le CE dMMR. Plusieurs essais de phase II réalisés chez des patientes prétraitées par chimiothérapie ont retrouvé des taux de réponse de 27 à 57 % alors qu'ils sont inférieurs à 10 % pour les tumeurs pMMR (Le *et al.*, 2015; Marabelle *et al.*, 2020; Oaknin *et al.*, 2020; Ott *et al.*, 2017) (NP1).

Dans l'essai de phase II le plus large, évaluant le pembrolizumab chez 49 patientes, le taux de réponse était de 57 % et la PFS de 25 mois. La médiane de durée de réponse n'était pas atteinte (Marabelle *et al.*, 2020). Pour comparaison, dans une étude de phase III en 2^e ligne, la chimiothérapie par doxorubicine ou taxol hebdomadaire était associée à un taux de réponse de 11 % et une PFS de 4,0 mois (McMeekin *et al.*, 2015)(NP1).

Aucun ICI ne dispose actuellement d'AMM dans cette indication en Europe. Cependant, plusieurs essais sont en cours. Une ATU de cohorte pour le dostarlimab a été initiée en novembre 2020 dans le CE métastatique dMMR en échec après une ligne de chimiothérapie à base de platine

Chapitre 5 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral

(<https://www.ansm.sante.fr/afssaps/Activites/Autorisations-temporaires-d-utilisation-ATU/ATU-de-cohorte-en-cours/Liste-des-ATU-de-cohorte-en-cours/DOSTARLIMAB-50-mg-ml-solution-pour-perfusion>).

Recommandation à visée thérapeutique

Si le statut n'a pas été recherché précédemment, l'évaluation du statut MMR tumoral est recommandée dans le cancer de l'endomètre en rechute ou avancé pour évaluer l'éligibilité à une immunothérapie (*grade B*).

Lorsqu'une immunothérapie est envisagée, un statut dMMR-IHC doit être confirmé systématiquement en biologie moléculaire : dans le cancer du côlon, il a été observé un taux élevé d'échec primaire de l'immunothérapie dû à des faux-positifs de déficience MMR lorsqu'un seul test était réalisé (IHC seule ou PCR seule) (Cohen *et al.*, 2019) (NP2) **mais il n'y a pas de données dans le cancer de l'endomètre.**

Recommandations

Spécificités techniques :

Il est recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral par **IHC, avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR**, en première intention dans les cancers de l'endomètre, (*grade B*).

En cas de statut **dMMR-IHC ou de résultat équivoque** (douteux), l'évaluation du statut MMR tumoral en **biologie moléculaire** est recommandée avant l'orientation vers une consultation d'oncogénétique ou la prescription d'une immunothérapie (*grade B*).

En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch, il est recommandé de réaliser d'emblée les 2 tests moléculaires (PCR) et immunohistochimique (*grade B*).

Si une discordance persiste après les tests moléculaires et immunohistochimiques, il est recommandé de discuter le cas en centre expert, entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens (*accord d'experts*).

Orientation vers une consultation d'oncogénétique :

Pour le clinicien, il est recommandé d'interpréter un résultat de test MMR tumoral qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch en fonction des données cliniques de la patiente et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique au cancer de l'endomètre autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée. Une consultation d'oncogénétique doit alors être proposée à la patiente (*accord d'experts*).

La recherche d'une hyperméthylation du promoteur de MLH1 est recommandée en cas de perte d'expression de MLH1 avant d'envisager une consultation d'oncogénétique afin de discriminer les cancers liés au syndrome de Lynch et les cancers sporadiques (*grade A*).

3. Autres cancers gynécologiques : Cancer de l'ovaire

Il existe 5 sous types histologiques de carcinome ovarien qui présentent des altérations moléculaires distinctes : séreux de haut grade (le plus fréquent), séreux de bas grade, endométrioïde, mucineux et à cellules claires (Prat, 2012) (NP1). Le statut dMMR a été observé essentiellement dans les cancers endométrioïdes (10 à 20 % des cas) et le plus souvent en rapport avec une méthylation du promoteur de *MLH1* (Fraune *et al.*, 2020; Krämer *et al.*, 2020) (NP1). Dans les cas de cancers

endométrioides de l'endomètre synchrones avec un carcinome ovarien de même histologie, la proportion de MSI était également de 20 % (Soliman *et al.*, 2005) (NP2).

Le statut dMMR est plus rare dans les autres types histologiques : 2 à 10 % dans les cancers à cellules claires (Willis *et al.*, 2017; Fraune *et al.*, 2020) (NP2), < 2 % dans les carcinomes séreux et encore plus exceptionnel dans les carcinomes mucineux.

Avec la limite du faible effectif, le statut dMMR dans les cancers endométrioides ne semblait pas associé à des caractéristiques cliniques particulières (Fraune *et al.*, 2020) (NP2). Dans deux séries de respectivement 36 et 511 cas de carcinomes endométrioides de l'ovaire, les 4 sous types moléculaires décrits dans le CE étaient retrouvés dans des proportions similaires (Cybulska *et al.*, 2019; Krämer *et al.*, 2020) (NP1). Tout comme dans le CE, les carcinomes endométrioides ovariens dMMR étaient associés à un meilleur pronostic que ceux *TP53* mutés.

Parmi 80 patientes avec SL présentant un cancer de l'ovaire, le type histologique le plus fréquent était le carcinome séreux suivi du type endométrioides. L'âge de survenue était plus jeune que dans les formes sporadiques (Akbari *et al.*, 2017) (NP2).

Recommandations pour les cancers de l'ovaire

À visée oncogénétique et thérapeutique :

Il est recommandé **d'évaluer systématiquement le statut MMR tumoral dans les carcinomes endométrioides ou à cellules claires**, quels que soient le stade, l'âge et le contexte familial et personnel du patient, afin d'identifier les patients potentiellement atteints du syndrome de Lynch et d'évaluer l'éligibilité à un essai clinique d'immunothérapie existant dans les formes métastatiques résistantes aux traitements usuels (*grade B*).

Dans les **carcinomes de l'ovaire non endométrioides ou non à cellules claires**, il n'est pas recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral systématiquement mais **cette évaluation est recommandée dans un contexte évocateur de syndrome de Lynch** et pour évaluer l'éligibilité à **des essais cliniques d'immunothérapie** existant dans les formes métastatiques résistantes aux traitements usuels (*accord d'experts*).

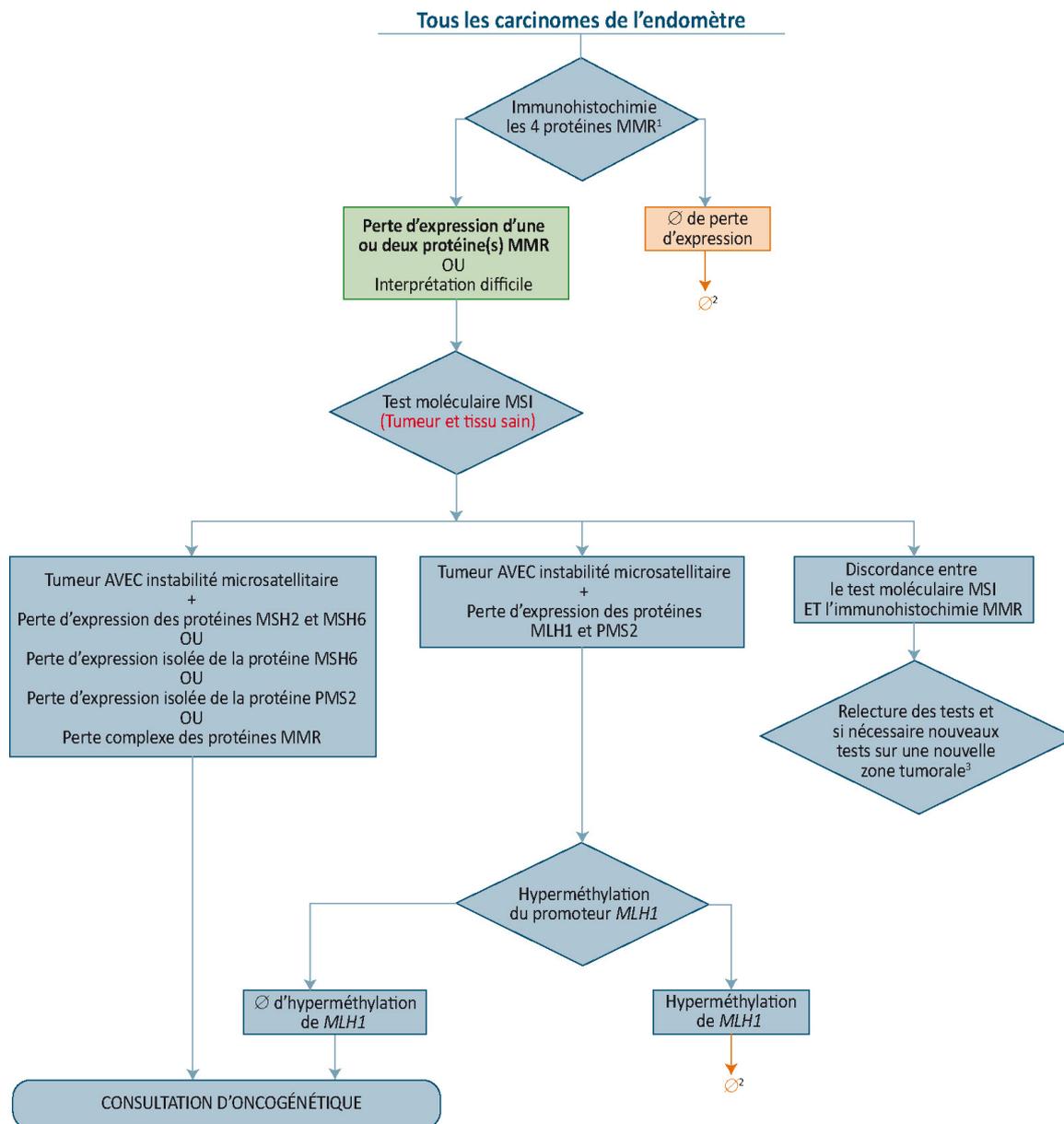
Spécificités techniques :

Il n'existe pas de données suffisantes pour recommander une technique plutôt qu'une autre (IHC ou biologie moléculaire) pour évaluer le statut MMR tumoral en première intention (*accord d'experts*).

4. Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique

a) Cancer de l'endomètre

Figure 11 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de l'endomètre



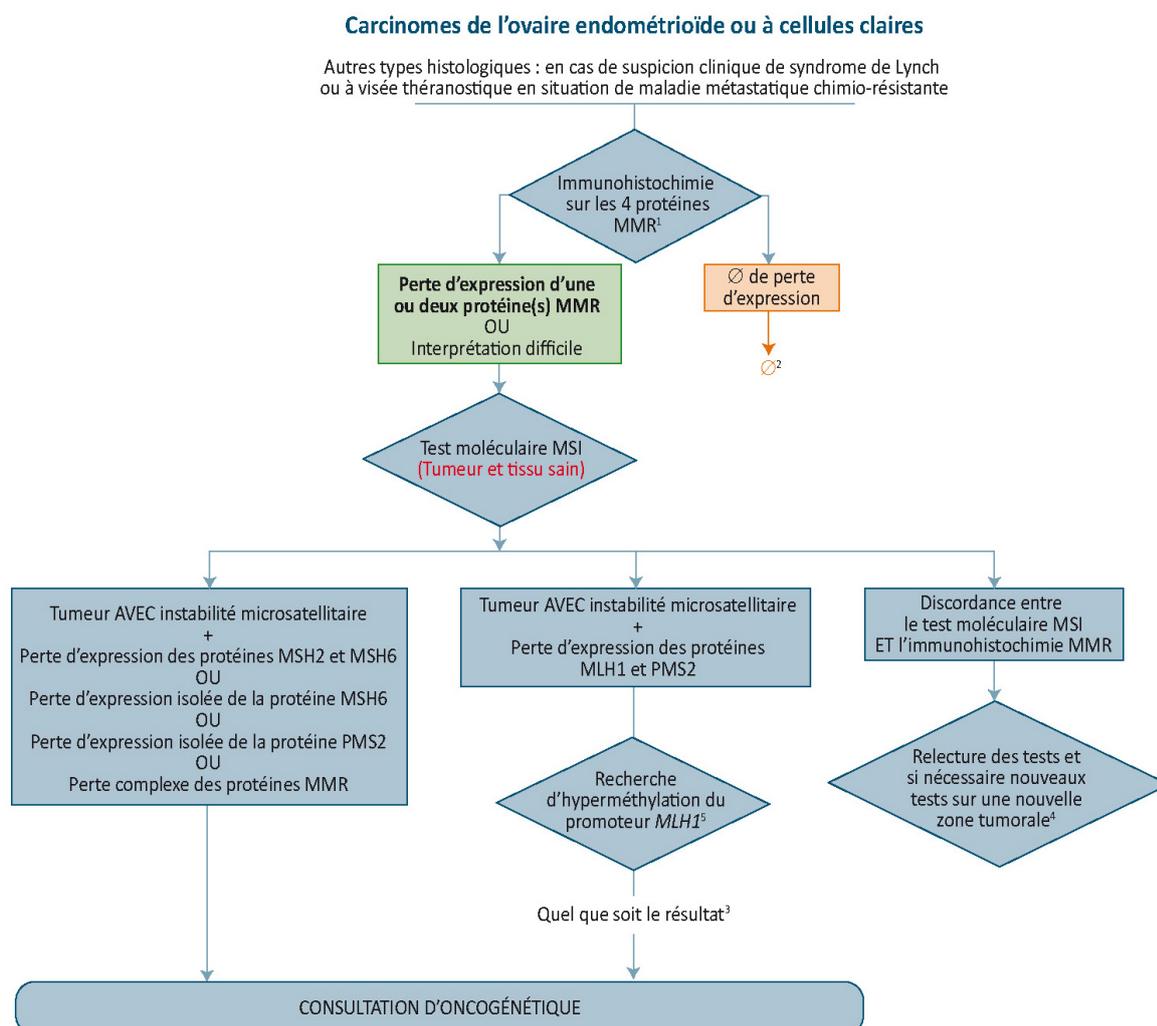
¹ En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch, les 2 tests moléculaire et immunohistochimique doivent être réalisés d'emblée. Une stratégie d'analyse combinée des deux techniques d'emblée est également possible.

² Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique au cancer de l'endomètre autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée.

³ Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

b) Cancers de l'ovaire

Figure 12 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de l'ovaire



¹ En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch, les 2 tests moléculaire et immunohistochimique doivent être réalisés d'emblée. Compte tenu du fait que les performances de l'IHC et de la PCR n'ont pas été comparés dans le cancer de l'ovaire, une stratégie d'analyse combinée des deux techniques d'emblée est également possible.

² Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique au cancer de l'ovaire autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée.

³ Le résultat de la recherche d'hyperméthylation du promoteur du test MLH1 sera pris en compte par l'oncogénéticien pour la décision de la suite de la prise en charge.

⁴ Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

⁵ Avis d'expert.

G. QUESTION 16 : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL DANS LES TUMEURS SÉBACÉES ET AUTRES TUMEURS CUTANÉES

1. Définition

Le **syndrome de Muir-Torre (SMT)** est le nom donné au syndrome de Lynch (SL) lorsque le patient est atteint d'une tumeur cutanée. L'acronyme SMT-SL, ou MT-LS en anglais, est désormais employé.

Outre les cancers habituels du spectre Lynch, ce syndrome associe des tumeurs sébacées (adénomes, sébacéomes, carcinomes sébacés (CS), tumeurs sébacées difficiles à classer) et des kératoacanthomes multiples. Des tumeurs cutanées avec une différenciation sébacée (par exemple : carcinome épidermoïde ou basocellulaire à différenciation sébacée) peuvent être associées de manière exceptionnelle.

2. Épidémiologie du SMT-SL

La fréquence du SMT-SL varie de 1 % à 9,2 % des patients et de 8,7 à 28 % des familles avec un SL prouvé (Ponti *et al.*, 2006; South *et al.*, 2008; Adan *et al.*, 2018) (NP3, NP2, NP2).

L'incidence du SMT-SL, parmi les patients avec une tumeur sébacée, a été peu étudiée et varie de 5,8 à 29 % (Ponti *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2012; Everett *et al.*, 2014; Marcoval *et al.*, 2019) (NP3, NP3, NP2, NP3). Une seule étude comportait une recherche de mutation constitutionnelle des gènes MMR de tous les patients (86 patients) ayant eu au moins une tumeur sébacée et obtenait une incidence de 29 % du SMT-SL parmi les tumeurs sébacées (Everett *et al.*, 2014) (NP2). Une autre étude de 89 patients avec au moins une tumeur sébacée et ayant eu une recherche de mutation constitutionnelle des gènes MMR a trouvé une fréquence du SMT-SL de 45 % mais il s'agissait de tumeurs sébacées sélectionnées sur des critères cliniques (Roberts *et al.*, 2014) (NP3).

3. Analyse immunohistochimique des tumeurs cutanées

La plupart des études publiées concernant les tumeurs cutanées n'ont pas comparé IHC et biologie moléculaire, ni IHC et une recherche de mutation constitutionnelle des gènes MMR. De plus, la plupart de ces études, anciennes, n'ont étudié l'expression que de 2 protéines (MLH1 et MSH2) ou 3 protéines (ajout de MSH6) au lieu de celle des 4 protéines, actuellement recommandée. Les données issues de la littérature sont donc incomplètes, limitant leur interprétation.

a) Fréquence du statut dMMR et types de statuts dMMR dans les tumeurs cutanées

Le statut dMMR parmi des tumeurs sébacées non sélectionnées varie de 5,4 à 66 % (En annexe, **Tableau 16**), la plus importante série étant une série australienne ayant porté sur 919 tumeurs sébacées, pour lesquelles le statut dMMR était observé dans 30,7 % des cas (Walsh *et al.*, 2019) (NP2).

Le **Tableau 16** (en annexe), résume les données des principales études d'IHC sur les protéines du système MMR en pathologie dermatologique. Le statut dMMR concerne préférentiellement la perte d'expression des protéines MSH2 et MSH6 avec des fréquences variant de 50 à 100 % des tumeurs testées. En moyenne 65 à 75 % des tumeurs ont une perte de MSH2 et MSH6. Le 2^e statut le plus fréquent, est la perte combinée des protéines MLH1/PMS2, qui varie de 7 à 50 % des tumeurs testées, avec une moyenne de 20 %. La perte isolée de MSH6 est un événement rare, observé seulement dans 4 à 29 % des tumeurs (en moyenne 10 % des cas), tandis que la perte isolée de PMS2 est un phénomène exceptionnel (1 à 7 % des tumeurs). D'autres statuts dMMR complexes ont aussi été exceptionnellement rapportés. (Chhibber *et al.*, 2008; Mojtahed *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012; Roberts *et al.*, 2013; Everett *et al.*, 2014) (NP3, NP3, NP3, NP3, NP2).

Une étude a proposé de limiter à 2 anticorps (MSH6/PMS2) le screening des tumeurs du spectre Lynch, dont des tumeurs sébacées, pour limiter les coûts des analyses (Mojtahed *et al.*, 2011) (NP3). Comme expliqué dans le chapitre immunohistochimie (cf. supra), il est recommandé de faire l'analyse avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR.

b) Types histologiques associés avec un statut dMMR

Les tumeurs cutanées, ayant le plus fréquemment une perte d'expression des protéines du système MMR, sont les **adénomes sébacés** (AS), 12 à 86 % d'entre eux ayant un statut dMMR. Les sébacéomes et les carcinomes sébacés sont des tumeurs plus rares. La fréquence d'un statut dMMR dans ces tumeurs varie respectivement de 24 à 62 % et de 10 à 62 %.

Un statut dMMR est rarement observé dans des **hyperplasies sébacées**, toujours dans un contexte de SMT-SL (donc associé à un cancer profond ou à d'autres tumeurs sébacées). Il n'est jamais observé dans des hyperplasies sébacées isolées (Mathiak *et al.*, 2002; Popnikolov *et al.*, 2003; Cesinaro *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2008; Orta *et al.*, 2009; Joly *et al.*, 2015; Plocharczyk *et al.*, 2013) (NP3). Attention, l'analyse d'hyperplasies sébacées en IHC peut s'avérer trompeuse chez des patients avec un SMT-SL prouvé : 4 hyperplasies sébacées de patients avec un SMT-SL avaient un statut pMMR (44 % des hyperplasies sébacées) quand les autres tumeurs cutanées ou profondes des mêmes patients avaient un statut dMMR (Orta *et al.*, 2009) (NP3).

Un statut dMMR a aussi été rarement rapporté dans des **tumeurs cutanées variées avec différenciation sébacée** : tumeurs sébacées kystiques (Mathiak *et al.*, 2002), carcinomes basocellulaires ou épidermoïdes à différenciation sébacée (Walsh *et al.*, 2019) (NP2), ou des tumeurs sébacées inclassables ou atypiques (Mojtahed *et al.*, 2011; Plocharczyk *et al.*, 2013; Lamba *et al.*, 2015) (NP3).

Il peut aussi être observé un statut dMMR dans des **kératoacanthomes associés à un SMT-SL**, mais jamais dans des kératoacanthomes isolés (Mathiak *et al.*, 2002; Ponti *et al.*, 2005; Kuwabara *et al.*, 2018) (NP3). De même, chez les patients avec un SMT-SL prouvé, un statut dMMR peut être observé dans des tumeurs ou lésions épithéliales épidermiques variées comme des **kératoses séborrhéiques, des stuccokératoses, des papillomes**, etc. (Swale *et al.*, 1999) (NP3). À l'inverse, il n'y a jamais de statut dMMR dans les hamartomes verruco-sébacés (Popnikolov *et al.*, 2003; Lamba *et al.*, 2015) (NP3).

Il n'y a pas de particularités histologiques permettant de différencier une tumeur sébacée avec un statut dMMR d'une tumeur sébacée sporadique (Mathiak *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2008) (NP3).

c) Siège et nombre des tumeurs sébacées associées à un statut dMMR

Les tumeurs sébacées avec un statut dMMR prédominent sur les membres (65 à 92 % contre 23 à 27 % des tumeurs de l'extrémité céphalique), et dans la plupart des grandes études, cette différence était significative (Singh *et al.*, 2008; Orta *et al.*, 2009; Walsh *et al.*, 2019) (NP3, NP3, NP2). Cependant, des études opposées ont aussi été publiées (Ponti *et al.*, 2005) (NP3).

De même, l'association SMT-SL et carcinome sébacé périoculaire est très discutée : cette topographie est exclue de la recherche du SMT-SL dans les recommandations nord-américaines sur les carcinomes sébacés (Liau *et al.*, 2014; Owen *et al.*, 2019) (NP3, NP2). Cependant, 10 à 15 % des

carcinomes sébacés oculaires des plus grandes séries de CS de cette topographie avaient un statut dMMR en IHC, aucune analyse génétique n'ayant été réalisée (Gaskin *et al.*, 2011; Rajan Kd *et al.*, 2014) (NP3).

Les tumeurs sébacées sont le plus souvent multiples chez les patients avec un SMT-SL (Roberts *et al.*, 2013; Everett *et al.*, 2014) (NP3, NP2) : ce critère (2 tumeurs sébacées ou plus) a été inclus dans le Score de Risque de SMT-SL de la Mayo-Clinic (Roberts *et al.*, 2014) (NP3).

d) Âge et sexe des patients avec un statut dMMR

Le statut dMMR concerne plus fréquemment des hommes que des femmes, avec une fréquence de 8 à 43 % de femmes pour 57 à 92 % d'hommes (Ponti *et al.*, 2005; Roberts *et al.*, 2013; Schon *et al.*, 2018; Walsh *et al.*, 2019) (NP3, NP3, NP2, NP2). Cette différence est exceptionnellement significative, ce d'autant que les tumeurs sébacées sporadiques sont plus fréquemment observées chez les hommes (sex-ratio de 2 hommes pour 1 femme) (Walsh *et al.*, 2019) (NP2).

Les patients avec un statut dMMR ont en général leur 1^{re} tumeur sébacée plus jeune que ceux avec un statut pMMR. L'âge moyen de survenue de la 1^{re} tumeur sébacée varie de 54,0 ans à 66,6 ans contre 68,2 ans à 72,4 ans pour les patients avec une tumeur sébacée sans lien avec un SMT-SL ni statut dMMR ; cette différence n'étant pas toujours significative (Ponti *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2008; Ponti *et al.*, 2014; Everett *et al.*, 2014; Schon *et al.*, 2018; Marcoval *et al.*, 2019) (NP3, NP3, NP3, NP2, NP2, NP2). À l'inverse, dans la plus grande étude australienne, l'âge de survenue des tumeurs sébacées était similaire quel que soit le statut MMR en IHC (dMMR : 67,7 ans et pMMR : 68,4 ans) (Walsh *et al.*, 2019) (NP2).

Certains auteurs ont proposé de limiter aux patients de moins de 50 ans ou d'appliquer un critère d'âge de 50 ans pour évaluer le statut MMR tumoral afin d'identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL (Abbas and Mahalingam, 2009; Owen *et al.*, 2019) (NP3, NP2).

Recommandations pour les tumeurs sébacées et autres tumeurs cutanées

À visée oncogénétique :

L'évaluation systématique du statut MMR tumoral est recommandée dans toutes les tumeurs sébacées avec pour but d'identifier les patients potentiellement atteints d'un syndrome de Muir-Torre - Syndrome de Lynch (SMT-SL). (*grade B*).

Remarque : en l'état actuel des connaissances, ce statut n'a pas d'impact pronostique ou thérapeutique dans ces tumeurs.

Il n'est pas recommandé d'utiliser des critères d'âge, de sexe ou de localisation de la tumeur cutanée sébacée pour sélectionner les patients pour lesquels évaluer le statut MMR tumoral. (*accord d'experts*).

Remarque : la topographie périoculaire n'écarte pas l'association avec un SMT-SL, même si celle-ci demeure rare.

L'évaluation systématique du statut MMR tumoral pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL n'est pas recommandée à partir d'une tumeur cutanée non sébacée, même avec différenciation sébacée partielle (*accord d'experts*).

Spécificités techniques :

Il est recommandé d'utiliser, en première intention, l'immunohistochimie (avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR) pour dépister un SMT-SL dans les tumeurs sébacées (adénomes, sébacéomes, carcinomes sébacés, tumeurs sébacées difficiles à classer) (*accord d'experts*).

L'évaluation du statut MMR tumoral par immunohistochimie à partir d'un kératoacanthome ou d'une hyperplasie sébacée n'est pas recommandée du fait du risque important de faux négatifs. Cependant, lorsqu'il s'agit du seul tissu disponible, chez un patient avec une histoire clinique évocatrice de SMT-SL, l'analyse immunohistochimique peut être réalisée, sous réserve qu'un statut pMMR n'exclut pas un SMT-SL (*accord d'experts*).

L'évaluation du statut MMR tumoral par immunohistochimie n'est pas recommandée à partir d'une tumeur cutanée non sébacée, même avec différenciation sébacée partielle (*accord d'experts*).

La recherche d'une instabilité microsatellitaire peut être réalisée dans les tumeurs sébacées pour identifier les patients potentiellement atteints du syndrome de Muir-Torre, en complément de l'immunohistochimie. Une comparaison avec du tissu sain est alors nécessaire (*accord d'experts*).

4. Analyse moléculaire des tumeurs cutanées pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL

La présence d'une instabilité des microsatellites a été rapportée dans 37 à 100 % des tumeurs sébacées associées à un SMT-SL (Honchel *et al.*, 1994; Kruse *et al.*, 1998; Entius *et al.*, 2000; Mathiak *et al.*, 2002; Cesinaro *et al.*, 2007; Everett *et al.*, 2014; Lamba *et al.*, 2015) (NP3, NP3, NP3, NP3, NP3, NP2, NP2). Une étude avait rapporté une fréquence très faible (5,9 %) de l'instabilité des microsatellites mais elle portait aussi sur de nombreux kératoacanthomes qui ont moins fréquemment un statut dMMR/MSI (Ponti *et al.*, 2005) (NP3). Différents panels de microsatellites ont été utilisés (En annexe, **Tableau 17**).

Le taux de discordance entre la biologie moléculaire et l'immunohistochimie était jusqu'à récemment rapporté très faible, mais le plus souvent dans des études avec un nombre limité de cas (En annexe, Tableau 17). L'instabilité des microsatellites a été cherchée par panel NCI-Pentaplex (2 études) et par Panel NCI-Bethesda (8 études), et la concordance avec les résultats d'IHC semble meilleure pour le Panel NCI-Bethesda : 7 études avec une concordance de 100 % et 1 étude avec une concordance de 93 % (Entius *et al.*, 2000; Harwood *et al.*, 2001; Machin *et al.*, 2002; Mathiak *et al.*, 2002; Ponti *et al.*, 2005; Ponti *et al.*, 2006; Cesinaro *et al.*, 2007; Pagin *et al.*, 2013; Ponti *et al.*, 2014; Rajan Kd *et al.*, 2014) (NP3, NP3, NP3, NP3, NP3, NP3, NP3, NP3, NP2, NP3). Pour le panel NCI-Pentaplex, il existait de 18 à 54 % de discordances (Mojtahed *et al.*, 2011; Lamba *et al.*, 2015) (NP3).

L'étude avec la plus large série (138 tumeurs analysées) rapportait 18 % de discordances, mais dans cette étude, 2 anticorps seulement (MLH1 et MSH2) étaient utilisés pour l'IHC (Lamba *et al.*, 2015) (NP3).

Les discordances dans les autres études publiées portaient sur une perte isolée de MSH6 (statut MSI-Low ou MSS), une perte de MSH2 (statut MSS), ou une perte combinée de MLH1/PMS2 (statut MSS) et une tumeur sans perte d'expression (pMMR-IHC) mais MSI-Low (Cesinaro *et al.*, 2007; Mojtahed *et al.*, 2011; Everett *et al.*, 2014) (NP3).

L'instabilité des microsatellites intéresse tous les types histologiques de tumeurs sébacées, dans des proportions similaires à celles décrites ci-dessus pour l'IHC.

Aucune étude ne s'est intéressée à la fréquence d'une instabilité microsatellitaire par rapport au sexe, à l'âge, la localisation ou le caractère multiple des tumeurs cutanées notamment sébacées.

Enfin, la recherche d'une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* a été exceptionnellement cherchée et trouvée chez des patients sans histoire clinique suggestive de SMT-SL (4 cas avec perte de *MLH1* ou du couple *MLH1/PMS2*) (Joly *et al.*, 2015; Kuwabara *et al.*, 2018) (NP3). Dans tous les cas il s'agissait de patients ayant eu une tumeur sébacée sporadique, sans mutation germinale de *MLH1*. De plus larges études sont nécessaires pour en connaître la fréquence exacte dans les tumeurs cutanées. La présence d'une mutation du gène *BRAF* a été exceptionnellement étudiée dans des tumeurs sébacées, sans corrélation avec un statut dMMR.

Recommandations pour les tumeurs sébacées

Spécificités techniques :

La recherche d'une instabilité microsatellitaire peut être réalisée dans les tumeurs sébacées pour dépister un syndrome de Muir-Torre, en complément de l'immunohistochimie. Une comparaison avec du tissu sain est alors nécessaire (*accord d'experts*).

Orientation vers une consultation d'oncogénétique :

Dans le cadre des tumeurs sébacées avec perte combinée de *MLH1/PMS2*, en l'absence de données suffisantes, il n'est pas recommandé de s'appuyer sur l'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* pour affirmer l'origine sporadique de la tumeur (*accord d'experts*).

5. Analyse constitutionnelle des patients avec des tumeurs cutanées pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL

Deux études ont réalisé une analyse constitutionnelle des gènes du système MMR de patients avec une tumeur sébacée (TS), la première sur tous les patients opérés d'une TS, la seconde après sélection de patients avec TS et ayant eu une analyse IHC des 4 protéines du système MMR (Everett *et al.*, 2014; Roberts *et al.*, 2014) (NP2, NP3).

Dans la première étude, parmi les 18 patients avec une mutation germinale d'une des 4 protéines du système MMR, 15 patients (83 %) avaient un statut dMMR-IHC. À l'inverse, parmi les 38 patients avec un statut dMMR en IHC et/ou biologie moléculaire, seuls 14 (37 %) avaient une mutation germinale d'une des 4 protéines du système MMR, soit une mauvaise valeur prédictive de l'identification du SMT-SL par l'IHC. Dans cette étude, les auteurs montraient que 52 % des patients avec une mutation germinale d'un gène du système MMR ne répondaient pas aux critères d'Amsterdam II pour le diagnostic du SL (Everett *et al.*, 2014) (NP2).

Dans l'autre étude de 89 patients ayant bénéficié d'une analyse constitutionnelle des gènes du système MMR, 74 TS avaient eu une analyse en IHC et 71 avaient un statut dMMR. Parmi ces cas, 40 patients n'avaient pas de mutation germinale d'une des 4 protéines du système MMR (Roberts *et al.*, 2014) (NP3).

Cette importante fréquence de TS dMMR sans mutation germinale est expliquée par une inactivation tumorale du système MMR dans les TS. Ce phénomène peut concerner jusqu'à 71 % des TS avec un statut dMMR sans histoire clinique suggestive de SMT-SL (Joly *et al.*, 2015) (NP2).

Devant ces résultats, un score de risque de SMT-SL a été proposé par l'équipe de la Mayo Clinic (Roberts *et al.*, 2014). Il repose sur 4 items cotés de 0 à 2 points (score total de 0 à 5 points). Un score supérieur ou égal à 2 indiquerait un risque élevé de SMT-SL et justifierait d'une consultation d'oncogénétique.

Le Score de Risque de la Mayo-Clinic est le suivant (Roberts *et al.*, 2014) (NP2) (**Tableau 8**) :

Tableau 8 : Score de Risque de la Mayo-Clinic

Âge de survenue de la 1^{re} tumeur sébacée*	> 60 ans	0 point
	≤ 60 ans	1 point
Nombre total de tumeurs sébacées*	1 tumeur	0 point
	2 tumeurs ou plus	2 points
Histoire personnelle de cancer du spectre Lynch**	Non	0 point
	Oui	1 point
Histoire familiale de cancer du spectre Lynch**	Non	0 point
	Oui	1 point

* : Adénome sébacé, sébacéome, carcinome sébacé (les hyperplasies sébacées sont exclues).

** : Cancer colorectal, cancer de l'endomètre, cancer de l'ovaire, cancer de l'intestin grêle, cancer du tractus urinaire (uretère rénale ou pelvienne), cancer des voies biliaires.

Ce score n'a jamais été évalué sur des grandes cohortes.

Ce score a été inclus dans les recommandations de sociétés savantes nord-américaines pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL à partir des carcinomes sébacés quelle que soit leur topographie (Owen *et al.*, 2019) (NP2). Dans ces recommandations, ce score de risque est établi en première intention (Owen *et al.*, 2019) (NP2) :

- patients avec un premier carcinome sébacé extra-oculaire et un Score de Risque de la Mayo-Clinic ≥ à 2 : dépistage génétique. Pas de dépistage des patients atteints de carcinome sébacé périoculaire (recommandation de GRADE B, catégorie 2B - > 90 % d'accord)
- patients de moins de 50 ans lors du premier carcinome sébacé extra-oculaire, avec un statut dMMR en immunohistochimie et un Score de Risque de la Mayo-Clinic inférieur à 2 : dépistage génétique (recommandation de GRADE D, catégorie 2A – accord unanime).

Une enquête de pratiques nord-américaine auprès de dermatopathologistes avait souligné une attitude similaire, 63 % des personnes interrogées ne réalisaient une étude IHC qu'à la demande du clinicien, alors que seulement 29 % la réalisaient de manière systématique devant toute tumeur sébacée (Lee *et al.*, 2017) (NP3). Néanmoins, lorsqu'ils ne réalisaient pas l'IHC d'emblée, les dermatopathologistes suggéraient la possibilité de la réaliser dans leur compte-rendu.

Enfin, il faut souligner que dans 22 % des cas, une tumeur sébacée isolée peut être la première tumeur d'un patient avec un SMT-SL (Akhtar *et al.*, 1999) (NP3).

Recommandation

Orientation vers une consultation d'oncogénétique :

En cas de statut dMMR d'une tumeur sébacée, il est recommandé d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique afin de discuter d'une éventuelle indication d'analyse génétique constitutionnelle à la recherche d'un syndrome de Lynch selon les données de l'histoire personnelle et familiale (score de la Mayo Clinic) (*grade B*).

6. Cas particulier des patients transplantés d'organe solide

Les patients transplantés d'organe peuvent développer des tumeurs sébacées sous immunosuppression avec une fréquence de 30 % comparée à 4 % dans la population générale non immunodéprimée (Harwood *et al.*, 2003) (NP2). Ces lésions sébacées peuvent être multiples (association de plusieurs carcinomes sébacés, de lésions sébacées bénignes et malignes, ou de lésions sébacées et de lésions épithéliales cutanées malignes de type Carcinome BasoCellulaire (CBC) ou Carcinome Épidermoïde (Harwood *et al.*, 2001) (NP2).

Les tumeurs sébacées de patients transplantés d'organe solide peuvent être associées dans 10 à 75 % des cas à un statut dMMR, sans mutation d'un gène du système MMR (Harwood *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 2013) (NP3). À l'inverse, l'immunosuppression chez un patient transplanté peut démasquer un SMT-SL demeuré silencieux (Ponti *et al.*, 2016b; Tomonari *et al.*, 2019) (NP3).

Recommandation

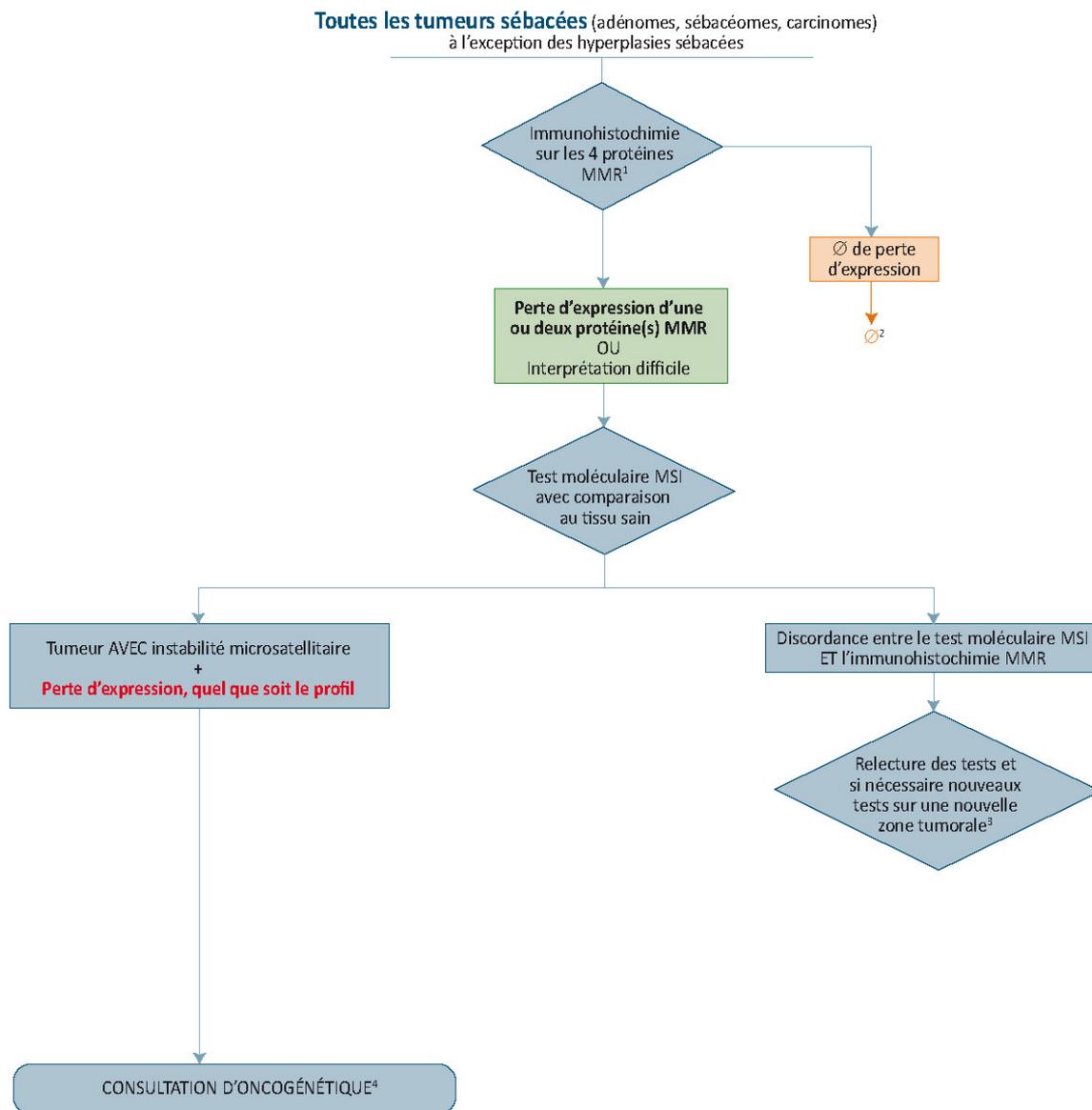
Orientation vers une consultation d'oncogénétique :

Il est recommandé d'appliquer les mêmes recommandations aux patients greffés d'organe solide qu'aux autres patients, pour identifier les patients potentiellement atteints du SMT-SL (*accord d'experts*).

Remarque : le statut dMMR est fréquent dans les tumeurs cutanées sébacées de patients transplantés d'organe solide. Le lien avec un SMT-SL est faible mais possible.

7. Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs sébacées

Figure 13 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs sébacées



¹ L'immunohistochimie est recommandée en première intention. En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch – Syndrome de Muir-Torre les 2 tests moléculaire et immunohistochimique doivent être réalisés d'emblée. Une stratégie d'analyse combinée des deux techniques d'emblée est également possible. ² Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch – Syndrome de Muir-Torre doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux.

³ Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

⁴ Une attention particulière sera portée aux patients greffés d'organe solide qui ont fréquemment un phénotype dMMR/MSI sans lien avec un syndrome de Lynch – Syndrome de Muir-Torre.

H. QUESTION 17 : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL DANS LES CANCERS UROLOGIQUES

1. Les tumeurs de la voie excrétrice supérieure (TVES)

a) Épidémiologie des TVES

Les carcinomes urothéliaux du tractus supérieur, ou carcinomes à cellules transitionnelles des voies urinaires supérieures, sont des maladies rares et hétérogènes, avec une incidence annuelle estimée dans les pays occidentaux à environ un à deux cas pour 100 000 habitants. Ces tumeurs représentent 5 % des carcinomes urothéliaux et sont associées dans 20 % des cas à des tumeurs du même type de la vessie. Deux facteurs de risque leur sont cependant particuliers : d'une part génétique avec le SL et d'autre part l'exposition environnementale à l'acide aristolochique. Les tumeurs des voies urinaires supérieures se classent au troisième rang (5 %) après le cancer du côlon (63 %) et de l'endomètre (9 %) dans le groupe des tumeurs liées au SL (Ericson *et al.*, 2005; García-Tello *et al.*, 2014; Hollande *et al.*, 2014; Harper *et al.*, 2017; Ito *et al.*, 2020; Dominguez-Valentin *et al.*, 2020) (NP1). Sur le plan tumoral, les mutations les plus fréquentes impliquent les gènes *FGFR3* (20 à 30 %), *HRAS* (5 à 15 %), *CDKN2B* (5 à 15 %). Pour les tumeurs avancées les gènes *TP53* (25 %), et *ARID1A* (15 %) sont aussi fréquemment retrouvés altérés (Necchi *et al.*, 2020) (NP2).

La topographie des lésions TVES est multifocale à 10-20 % (bilatérale à 2-6 %), plus fréquemment (2: 1) localisée dans les cavités pyélocaliques que dans l'uretère. Au moment du diagnostic, 60 % des TVES sont invasives et 10 % métastatiques. Les TVES ont une incidence maximale chez les personnes âgées de plus de 70 ans et sont trois fois plus fréquentes chez les hommes. Schématiquement, les TVES à faible risque sont traitées par photovaporisation laser en urétéro-réno-scopie afin de réduire la morbidité immédiate et les résultats de la fonction rénale, et les TVES à haut risque sont traitées par néphrourectomie radicale. L'atteinte des ganglions lymphatiques et les maladies métastatiques nécessitent une chimiothérapie systémique. Dans le carcinome à cellules transitionnelles de la vessie, les patients atteints d'une tumeur non invasive musculaire de haut grade bénéficient d'une immunothérapie adjuvante locale basée sur l'instillation intravésicale de *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG). Cependant, le traitement par BCG n'est pas recommandé pour les patients TVES en raison du risque d'infection systémique par le BCG (Rouprêt *et al.*, 2020). Ainsi, les nouvelles thérapies adjuvantes sont un défi pour les TVES afin de faire progresser le traitement de ces patients. Des avancées récentes sur les inhibiteurs de la tyrosine kinase ciblant les récepteurs *FGFR3* (Fibroblast Growth Factor R3) et les immunothérapies contre le récepteur PD1 (Programmation de la mort cellulaire 1) ou son ligand PD-L1, suggèrent que, comme le carcinome de la vessie, ces tumeurs pourraient bénéficier de ces traitements (Castro and Goldstein, 2015; Skala *et al.*, 2017; Campedel *et al.*, 2018; Jamil *et al.*, 2019) (NP2).

b) Fréquence et modes d'évaluation du statut dMMR dans les TVES

Le premier rapport sur l'instabilité des microsatellites dans les tumeurs des voies urinaires supérieures a été publié en 1998 (Takahashi *et al.*, 1998) (NP3). Les taux de MSI-H estimés dans les premières publications étaient autour de 20 % et plus fréquents dans les tumeurs affectant les jeunes patients (âge moyen 60 ans). En utilisant le panel complet de marqueurs NCI-Bethesda le taux

de MSI-H était de 13 % par rapport à 1 % sur des échantillons de tumeur de la vessie. Les études récentes ont rapporté des taux de MSI-H plus faibles autour de 5 à 10 % en utilisant les nouveaux marqueurs mononucléotidiques NCI-Pentaplex (Ericson *et al.*, 2005; Mongiat-Artus *et al.*, 2006) (NP2). Un travail plus récent basé sur un criblage tumoral par NGS (MSI par MSISensor) identifie 6,2 % des TVES avec MSI (Audenet *et al.*, 2019) (NP2). La fréquence du statut dMMR-IHC dans les TVES (avec l'utilisation des 4 AC) varie de 4,8 % à 13,6 % (Harper *et al.*, 2017; Ju *et al.*, 2018; Metcalfe *et al.*, 2018) (NP2). Cependant la concordance entre les deux techniques est très variable (de 40 à 100 %), avec souvent l'IHC qui détecte davantage de tumeurs dMMR que la biologie moléculaire. Les profils de perte d'expression les plus fréquents sont la perte couplée de MSH2/MSH6, la perte isolée de MSH6 et, moins couramment, la perte couplée de MLH1/PMS2. Il n'y a pas de mutation de *BRAF* et la méthylation du promoteur de *MLH1* n'a été que très peu étudiée dans les TVES et est absente quand elle a été recherchée.

c) TVES et syndrome de Lynch

La prévalence du SL dans les populations de TVES non sélectionnées varie d'au moins 1,8 % dans une étude japonaise récente (Ito *et al.*, 2020) (NP3) à 5,2 % dans une série nord-américaine (Metcalfe *et al.*, 2018) (NP2). Un travail récent basé sur un criblage tumoral par NGS (MSI, TMB et signature mutationnelle) identifie 5 % minimum de SL (Audenet *et al.*, 2019) (NP2).

Les mutations de *MSH2* sont les plus fréquemment retrouvées chez les patients avec une TVES et un SL (~70 %) (Joost *et al.*, 2015) (NP2) ce qui suggère un risque plus élevé pour ces patients de développer une TVES que pour les porteurs de mutation *MLH1* ou *MSH6*. Par ailleurs, le taux de tumeurs dMMR-IHC est plus élevé (10-15 %) en cas d'histoire familiale évoquant un SL.

Compte tenu de la fréquence des TVES dMMR avec un profil de perte d'expression portant le plus fréquemment sur MSH2-MSH6, et de la fréquence du SL au cours des TVES, une **évaluation systématique du statut MMR tumoral** doit être proposée dans tous les cas de TVES.

d) Impact pronostique et thérapeutique du statut dMMR

Le pronostic des TVES dMMR serait meilleur que celui des TVES pMMR, quel que soit le stade étudié. Pour les formes avancées, il doit poser la question de l'inclusion dans un essai clinique d'immunothérapie (Rouprêt *et al.*, 2005; García-Tello *et al.*, 2014; Hollande *et al.*, 2014; Urakami *et al.*, 2018) (NP2). La recherche du statut dMMR doit être discutée dans les TVES métastatiques chimio-résistantes en fonction des possibilités d'inclusion dans des essais d'immunothérapie.

Conclusion :

La prévalence des TVES dMMR est de l'ordre de 5 % et atteint 15 % s'il existe des critères faisant suspecter un syndrome de Lynch.

Recommandations pour les TVES

À visée oncogénétique :

Dans le cas de tumeurs de la voie excrétrice supérieure, une **évaluation systématique du statut MMR tumoral** est recommandée. Un résultat non en faveur d'un syndrome de Lynch doit être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux (*grade C*).

Spécificités techniques :

Dans les tumeurs de la voie excrétrice supérieure, la sensibilité de l'immunohistochimie avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR (mais pas sa spécificité) paraît meilleure que celle des techniques de biologie moléculaire.

Dans les tumeurs de la voie excrétrice supérieure, l'évaluation du statut MMR tumoral en immunohistochimie avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR est recommandée en première intention (*accord d'experts*).

Dans les tumeurs de la voie excrétrice supérieure, une recherche d'instabilité microsatellitaire est recommandée pour toute tumeur de statut dMMR-IHC et pour tout marquage équivoque/douteux. Une comparaison avec du tissu sain est nécessaire (*grade C*).

Orientation vers une consultation d'oncogénétique :

Dans les tumeurs de la voie excrétrice supérieure, il est recommandé d'orienter vers une consultation d'oncogénétique tous les cas dMMR, ainsi que les cas discordants (*grade B*).

2. Les cancers de la prostate

a) Épidémiologie des cancers de la prostate dMMR

Les cancers de la prostate avec déficience du système MMR, sont rares (<1% au stade localisé (Azzouzi *et al.*, 2007) (NP3) ; < 5 % aux stades avancés (Mateo *et al.*, 2017; Graham *et al.*, 2020) (NP2). Les cancers de la prostate ne sont pas des cancers classiques du spectre des SL. Parmi une étude de 1 048 cancers de la prostate, tous stades confondus, 5 % sont dMMR et moins de 0,5 % correspondent à des SL (Latham *et al.*, 2019) (NP2).

Ils ont des critères anatomo-pathologiques agressifs, avec des formes intractables (25 %), une incidence élevée de score de Gleason ≥ 8 et des taux élevés (40 à 50 %) de maladies métastatiques *de novo*, fréquemment viscérales (30 % des patients métastatiques). Sur le plan moléculaire, ils se caractérisent par un taux élevé de mutations (tumor mutational burden > 10 mut/Mb). Pour les cancers avancés, ils répondent à la privation androgénique, mais moins bien aux taxanes en chimiothérapie lors du stade de résistance à la castration (van Dessel *et al.*, 2019). Ils constituent un sous-groupe de patients actuellement candidats et en évaluation pour l'immunothérapie anti-PD1 ou CTL4 (Mateo *et al.*, 2017; Graham *et al.*, 2020) (NP2).

b) Cancer de la prostate et prédispositions génétiques

Sur le plan germlinal, Pritchard *et al.* Rapportent, sur 692 patients avec un cancer de la prostate métastatique, des mutations délétères germinales, tous gènes de prédispositions confondus (*BRCA 1* et *2*, *Check 2*, ...) pour 12 % des cas (84/692) dont 1 % des cas pour *MSH2*, 1 % pour *MSH6* et 2 % pour *PMS2*, soit 0,6 % de l'ensemble des cas avec une mutation germinale portant sur un gène du système MMR (Pritchard *et al.*, 2016) (NP2). Abida *et al.* Rapportent, sur 1 346 patients atteints d'un cancer de la prostate, 3 % de tumeurs MSI-H dont 22 % portaient une mutation germinale dans un gène associé au SL (Abida *et al.*, 2019) (NP2). La plupart des patients (46 %) avaient des mutations *MSH6*.

c) Modes d'évaluation du statut MMR tumoral dans les cancers de la prostate

Sur le plan tumoral, le test MSI par PCR (NCI-Pentaplex) paraît peu sensible (environ 60 %) pour détecter une déficience du système MMR (évaluée sur les altérations tumorales des gènes du système MMR, la charge mutationnelle et un large panel microsatellites en NGS) alors que l'IHC détecte la quasi-totalité des cas (cf. annexes question 4 et 5 : Guedes *et al.*, 2017; Hempelmann *et al.*, 2018; Abida *et al.*, 2019; Fraune *et al.*, 2020) (NP2). La majorité des pertes d'expression concerne le couple MSH2/MSH6.

d) Place de l'évaluation du statut MMR à visée thérapeutique

Au stade métastatique, compte-tenu de la moins bonne réponse aux taxanes lors de la résistance à la castration, le statut MMR tumoral doit être évalué en vue d'une inclusion dans un essai thérapeutique d'immunothérapie (anti-PD1 ou CTLA4).

Il n'y a pas d'impact pronostique ni thérapeutique d'un statut dMMR au stade non métastatique.

Recommandations pour les cancers de la prostate

À visée oncogénétique et thérapeutique :

Une évaluation du statut MMR tumoral est recommandée en cas de cancer de la prostate métastatique, résistant à la castration, pouvant justifier d'un protocole d'immunothérapie ou s'il existe des critères faisant suspecter un syndrome de Lynch (*grade B*).

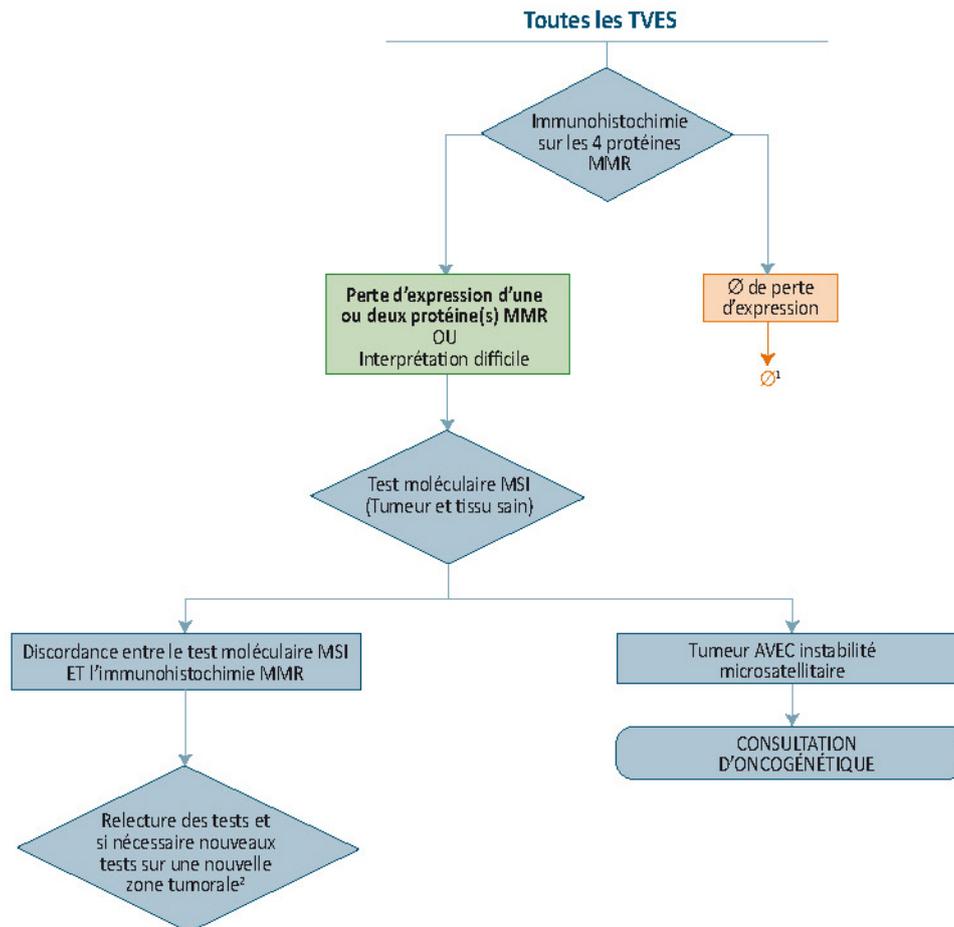
Spécificités techniques :

Dans ces cancers de la prostate, il est recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral en première intention par immunohistochimie. En cas de statut dMMR en IHC ou équivoque ou non interprétable, il est recommandé de réaliser une analyse en biologie moléculaire par technique PCR et/ou NGS pour rechercher une instabilité microsatellitaire. Si une discordance persiste après les tests moléculaires et immunohistochimiques, le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens (*grade C*).

3. Algorithmes définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers urologiques

a) Tumeurs des voies excrétrices supérieures

Figure 14 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs des voies excrétrices supérieures

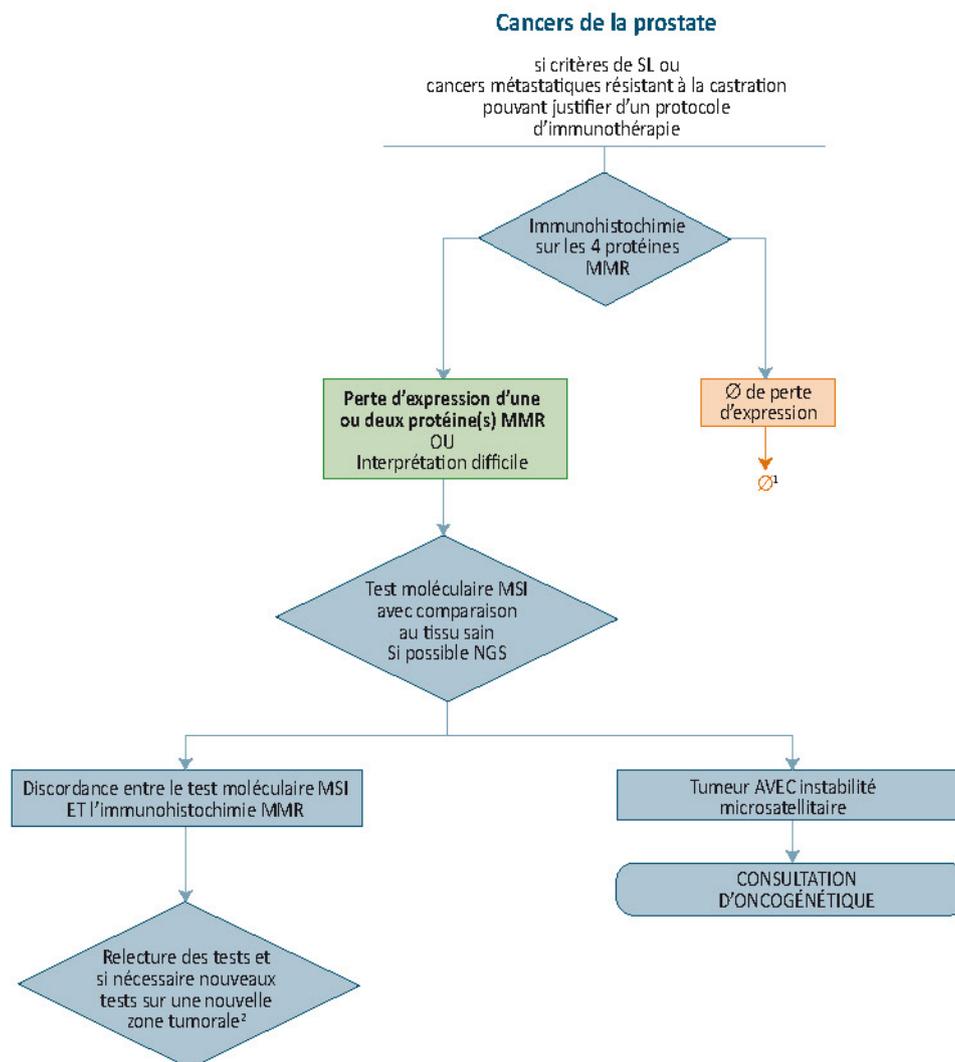


¹ Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique au cancer autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée.

² Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

Prostate

Figure 15 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de la prostate



¹ Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique au cancer autre que le syndrome de Lynch est suspectée ou envisagée.

² Si une discordance persiste le cas doit être discuté en centre expert entre cliniciens, anatomopathologistes, biologistes moléculaires et/ou oncogénéticiens.

I. QUESTION 18 : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL DANS LES TUMEURS CÉRÉBRALES PRIMITIVES.

1. Épidémiologie

La **déficience du système MMR est exceptionnelle dans les tumeurs cérébrales primitives sporadiques**. Dans le cadre du syndrome de Lynch, selon une série Danoise (3 162 individus, 288 familles), les gliomes de haut grade peuvent survenir avec un risque cumulatif de 2,5 % chez les patients avec mutation de *MSH2*, 0,8 % chez les patients avec mutation de *MSH6* et 0,5 % chez les patients avec mutation de *MLH1* (Therkildsen *et al.*, 2015) ; ils sont ainsi nettement plus rares que les autres cancers associés à cette prédisposition (exemples : risque de cancer colorectal de 50 %-80 % et de cancer de l'endomètre de 40 %-60 %). Le syndrome CMMRD est autosomique récessif causé par des mutations germinales bialléliques d'un gène du système MMR. Dans le cadre du syndrome CMMRD, des gliomes de haut grade ou tumeurs embryonnaires du système nerveux central représentent 36 % des cancers (Wimmer *et al.*, 2014). Ils constituent ainsi, avec les carcinomes du spectre Lynch (39 %), les types tumoraux les plus fréquemment associés à cette prédisposition (Wimmer *et al.*, 2014; Lavoine *et al.*, 2015).

Au total, **les tumeurs dMMR au diagnostic initial représentent : moins de 1 % des tumeurs cérébrales** selon deux études [1/690 (Eckert *et al.*, 2007) et 1/923 (Latham *et al.*, 2019)] (NP2) mais ce pourcentage est probablement sous-estimé par les techniques utilisées ; une étude utilisant la charge mutationnelle et les signatures mutationnelles a mis en évidence un nombre de cas de 17/1673 (Touat *et al.*, 2020) (NP2). Ces tumeurs sont associées à un syndrome de prédisposition soit monoallélique soit biallélique.

Les tumeurs dMMR de novo correspondent à plusieurs diagnostics histomoléculaires de la classification OMS 2016 (Wimmer *et al.*, 2014; Therkildsen *et al.*, 2015; Maletzki *et al.*, 2017; Guerrini-Rousseau *et al.*, 2019; Touat *et al.*, 2020) (NP1). Il s'agit majoritairement des gliomes diffus de haut grade (*IDH* normal 87 % ou *IDH* muté 13 % selon 30 cas) (Maletzki *et al.*, 2017; Guerrini-Rousseau *et al.*, 2019; Touat *et al.*, 2020) (NP1). Il s'agit plus rarement de xanthoastrocytomes pléomorphes anaplasiques, de tumeurs glioneuronales, de tumeurs embryonnaires de type médulloblastomes, ou de tumeurs embryonnaires NOS.

Les tumeurs pMMR au diagnostic initial peuvent développer une résistance secondaire au témozolomide (TMZ) par acquisition d'une déficience du système MMR secondaire. Cette dernière résulte le plus souvent de mutations ponctuelles dans les gènes du système MMR. Elle est associée à l'apparition, dans la récurrence tumorale, d'une hypermutation et d'une signature mutationnelle (Johnson *et al.*, 2014) qui étaient absentes de la tumeur initiale (Hunter *et al.*, 2006; Alexandrov *et al.*, 2013; Johnson *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2016; Barthel *et al.*, 2019; Touat *et al.*, 2020) (NP1). Cette déficience du système MMR secondaire est d'autant plus fréquente que les tumeurs sont sensibles aux TMZ et que la pression de sélection exercée par le TMZ est forte. La prévalence de la déficience du système MMR secondaire décroît en fonction des facteurs moléculaires prédictifs d'une meilleure réponse : statut *IDH* muté codéleté 1p/19q > statut *IDH* muté non codéleté > statut *IDH* normal MGMT méthylé > statut *IDH* normal MGMT non méthylé (Touat *et al.*, 2020) (NP1).

2. Contexte clinique et enjeux

Le TMZ est une chimiothérapie alkylante qui occupe une place majeure dans le traitement des gliomes. Le traitement conventionnel du glioblastome *IDH* normal (la forme la plus fréquente de gliomes chez l'adulte) est un protocole associant radiothérapie et TMZ concomitant puis TMZ adjuvant (Stupp *et al.*, 2005).

La déficience du système MMR confère une résistance au témozolomide car le mécanisme d'action anti-tumorale du TMZ repose sur l'intégrité du système MMR (Allan and Travis, 2005). Le TMZ produit des lésions O-6-méthyl-guanine (O6mG). Dans une cellule tumorale dépourvue de l'enzyme MGMT de réparation des lésions O6mG, les lésions O6mG persistent. Ces lésions sont responsables de mésappariements qui résultent des erreurs répétées de réplication par la polymérase en regard de la base O6mG (introduction d'une thymine à la place d'une cytosine) activant la réponse aux dommages de l'ADN et empêchant la poursuite du cycle cellulaire (Wang and Edelman, 2006; Yoshioka *et al.*, 2006).

Un premier enjeu clinique est de détecter les tumeurs cérébrales dMMR au diagnostic initial pour choisir une alternative au témozolomide pour plusieurs raisons :

- les cellules tumorales dMMR sont résistantes au TMZ d'où une inefficacité attendue. Il existe un risque théorique que le TMZ induise une forte quantité de mutations dans les cellules tumorales dMMR et favorise la progression tumorale ;
- il existe un risque théorique que les cellules normales d'un patient présentant une déficience MMR constitutionnelle subissent une mutagenèse dans les lignages cellulaires normaux exprimant peu la MGMT, comme les cellules souches hématopoïétiques (Gerson *et al.*, 1996) (NP3) ;
- certains patients pourraient bénéficier d'une immunothérapie mais les facteurs prédictifs de la réponse et le pourcentage de répondeurs sont encore mal connus (Bouffet *et al.*, 2016; Guerrini-Rousseau *et al.*, 2019; Touat *et al.*, 2020) (NP3).

Un deuxième enjeu clinique de la détection des tumeurs dMMR *de novo* est de mettre en place une prise en charge oncogénétique du patient.

Un troisième enjeu clinique est la détection de la déficience du système MMR secondaire à un traitement par témozolomide pour identifier le mécanisme de résistance au traitement. La déficience du système MMR est alors un biomarqueur prédictif qui peut intervenir dans le choix de la deuxième ligne de traitement dans certaines situations cliniques.

3. Recherche de déficience du système MMR dans les tumeurs neuroépithéliales *de novo*

Les tumeurs cérébrales dMMR *de novo* représentent 1 % des tumeurs cérébrales ce qui est en défaveur d'une recherche systématique avec les moyens diagnostiques actuels. Pourtant les enjeux cliniques du statut dMMR sont majeurs pour le choix de la première ligne de traitement (voir ci-avant) et pour la prise en charge oncogénétique.

Dans le futur, l'analyse NGS des tumeurs cérébrales pourrait se généraliser et permettre une détection systématique. **Avec les moyens diagnostiques actuels, le test de la déficience du système MMR est ciblé en fonction de critères cliniques, histologiques et moléculaires :**

- **âge** : les gliomes de haut grade dMMR *IDH* normal ou muté survenant dans le cadre du SL ou du CMMRD surviennent à un âge médian plus jeune que les tumeurs sporadiques. L'âge médian est de 40 ans (5-73) dans le SL, et de 10 ans (2-40) pour le CMMRD (Guerrini-Rousseau *et al.*, 2019; Therkildsen *et al.*, 2015; Wimmer *et al.*, 2014) (NP2). Un âge inférieur à 25 ans a été proposé comme évocateurs de CMMRD pour les gliomes de haut grade (Wimmer *et al.*, 2014) (NP2) ; néanmoins ce seuil ne permet pas de repérer une majorité des gliomes associés au SL. Les gliomes sporadiques *IDH* muté surviennent en majorité entre 20 et 60 ans avec une médiane vers 35 ans (Louis *et al.*, 2016) (NP2). La déficience du système MMR est décrite dans un sous-groupe de gliomes *IDH* muté de haut grade survenant pour 91 % chez des sujets de moins de 25 ans (Suwala *et al.*, 2021) (NP2). Quatre-vingt-dix pour cent des glioblastomes sporadiques *IDH* normal surviennent entre 30 et 80 ans avec une médiane à 60 ans (Louis *et al.*, 2016) (NP2). La déficience du système MMR est ainsi élevée dans la population pédiatrique, et plus encore dans les populations avec consanguinité élevée : fréquence de 23 % au Canada et 39 % en Jordanie (Amayiri *et al.*, 2016) (NP2).
- **type histologique** : les gliomes dMMR rapportés sont en majorité des gliomes diffus de haut grade. Des caractères histologiques (présence de cellules tumorales géantes), immunohistochimiques (surexpression de P53 et perte d'expression d'ATRX) sont associés aux gliomes dMMR *de novo* mais ne sont ni spécifiques ni constants (Amayiri *et al.*, 2016; Guerrini-Rousseau *et al.*, 2019) (NP2). La déficience du système MMR est exceptionnelle dans les tumeurs de bas grade.
- **voie moléculaire** : dans les études publiées, les gliomes dMMR sont le plus souvent *IDH* normal 87 % et parfois *IDH* muté (13 %). Il n'est pas rapporté de gliomes dMMR histone mutée (K27 ou G34)
- **la charge mutationnelle** : une déficience du système MMR est observée dans environ 60 % des gliomes hypermutés *de novo* (Touat *et al.*, 2020) (NP2).

Afin de limiter le volume de tests et la proportion de tests négatifs, des critères sont proposés pour orienter les recherches pour les tumeurs qui présentent la plus forte probabilité de déficience du système MMR. **Tester les gliomes de haut grade *IDH* muté avant 25 ans et les gliomes de haut grade *IDH* normal avant 40 ans permet ainsi d'éviter une majorité des cas sporadiques, de détecter la totalité des cas CMMRD et la moitié des cas de SL. La détection de gliomes dMMR associés au CMMRD ou au SL chez les patients les plus âgés [après 40 ans pour les *IDH* normal (Figure 9), après 25 ans pour les *IDH* mutés (Figure 10)] peut reposer sur des critères cliniques (signes cliniques de CMMRD, antécédent familial de SL/CMMRD ou de tumeurs du spectre du SL), histologiques (cellules géantes) ou moléculaires (présence d'une hypermutation, d'un statut *IDH* normal ATRX perdu) (Tableau 9).**

Figure 16 : Recherche de la déficience du système MMR dans les gliomes de haut grade *IDH* normal

Recherche de la déficience MMR dans les gliomes de haut grade *IDH* normal

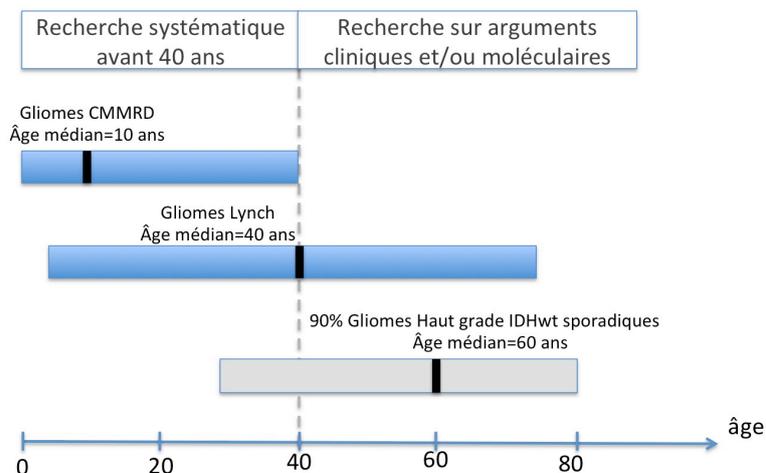


Figure 17 : Recherche de la déficience du système MMR dans les gliomes de haut grade *IDH* muté

Recherche de la déficience MMR dans les gliomes de haut grade *IDH* muté

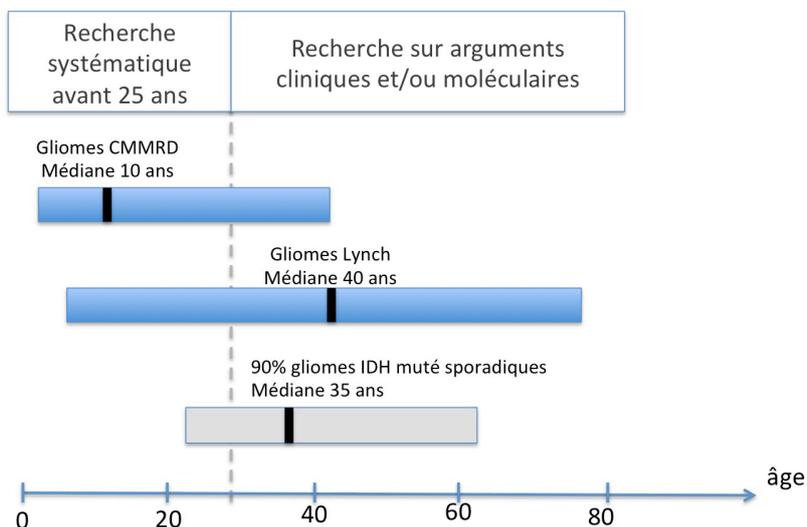


Tableau 9 : Recherche de la déficience MMR dans les gliomes

RECHERCHE de la déficience MMR dans les gliomes	SOUHAITABLE	AU CAS PAR CAS	SANS INDICATION A PRIORI
Facteurs cliniques	<ul style="list-style-type: none"> – Antécédents personnels ou familiaux de SL ou de CMMRD – Antécédents personnels/familiaux de tumeur du spectre CMMRD/Lynch avant 50 ans – Facteurs cliniques en faveur de CMMRD : tâche café au lait, consanguinité... (voir Wimmer <i>et al.</i> 2014). 	<ul style="list-style-type: none"> – Antécédents personnels/familiaux de tumeur du spectre Lynch après 50 ans – Récidive de gliome opéré après traitement par témozolomide 	<ul style="list-style-type: none"> – Autre syndrome de prédisposition (NF1, Li-Fraumeni...)*
Facteurs Histologiques et moléculaires	<ul style="list-style-type: none"> – À tout âge : Gliome de haut grade <i>IDH</i> normal, ATRX perdu en dehors de la NF1* +/- P53+ +/- cellules géantes – À tout âge : Hypermutation dans un gliome de haut grade <i>de novo</i> – Avant 40 ans, gliome diffus de haut grade <i>IDH</i> normal – Avant 25 ans, gliome diffus de haut grade <i>IDH</i> muté 	<ul style="list-style-type: none"> – Gliomes de haut grade avec cellules géantes – Autres types tumoraux, autres grades et autres classes d'âge 	Gliomes diffus histone muté K27 ou G34

* : la NF1 partage avec le syndrome CMMRD des signes cliniques (ex : taches café au lait) (Wimmer *et al.*, 2014; Guerrini-Rousseau *et al.*, 2019), et des paramètres histomoléculaires (gliomes de haut grade *IDH* normal ATRX perdu (D'Angelo *et al.*, 2019)). Si la NF1 n'est pas certaine, la recherche de déficience MMR est souhaitable.

Recommandations

À visée oncogénétique :

Compte-tenu de la faible prévalence des tumeurs cérébrales dMMR avant traitement (1 % dans les gliomes) et des techniques actuelles, il n'est pas recommandé d'évaluer systématiquement le statut MMR dans ces tumeurs (*grade B*).

L'évaluation du statut MMR tumoral est recommandée pour les gliomes, en fonction de critères cliniques évocateurs d'un syndrome de Lynch ou CMMRD, histologiques ou moléculaires (*grade B*).

Avant traitement, il est recommandé d'évaluer le statut MMR tumoral dans tous les gliomes de haut grade au diagnostic initial, pour les tumeurs *IDH* mutée avant 25 ans et les tumeurs *IDH* normale avant 40 ans (*accord d'experts*).

Remarque : cette recherche permet de détecter la grande majorité des cas CMMRD et la moitié des cas de syndrome de Lynch.

La détection de gliomes dMMR associés au CMMRD ou au syndrome de Lynch chez les **patients les plus âgés** (après 40 ans pour les IDH normal, après 25 ans pour les IDH muté) est recommandée sur des critères cliniques (signes cliniques de CMMRD ou antécédents personnels ou familiaux évocateurs de syndrome de Lynch/CMMRD), histologiques (cellules géantes) ou moléculaires (hypermutation, statut IDH normal ATRX perdu) (*accord d'experts*).

4. Recherche de déficience du système MMR dans les récurrences après traitement au témozolomide

Il n'existe pas de traitement spécifique des récurrences de gliomes avec déficience du système MMR secondaire après traitement au TMZ. Le choix de la nouvelle ligne de traitement est généralement indépendant du statut MMR (par exemple, lomustine). En revanche, si la reprise ou l'intensification du TMZ sont envisagées comme de possibles options thérapeutiques, l'évaluation du statut MMR de la récurrence apparaît utile. Enfin, des essais thérapeutiques peuvent reposer sur le critère dMMR ou hypermutant pour inclure ces patients en récurrence.

Recommandations pour les gliomes

À visée thérapeutique :

Pour les patients atteints de gliomes en récurrence **après traitement par témozolomide (TMZ)**, une évaluation systématique du statut MMR secondaire n'est pas recommandée. Cette évaluation peut être faite à la demande du clinicien pour des situations particulières (reprise du TMZ, essais thérapeutiques) (*accord d'experts*).

Pour les patients en récurrence de gliomes, il n'est pas recommandé de réaliser une nouvelle biopsie uniquement pour évaluer le statut MMR tumoral en soins courants, dans l'état actuel des connaissances. L'indication d'un tel geste doit faire l'objet d'une discussion au cas par cas, en réunion de concertation pluridisciplinaire, en fonction des éventuels diagnostics différentiels envisagés, de la faisabilité du geste et des possibilités locales de traitement si la récurrence est confirmée (*accord d'experts*).

5. Recherche de déficience du système MMR dans les autres types de tumeurs cérébrales

Une réponse au nivolumab d'un méningiome récidivant dMMR a été rapportée mais seul un méningiome sur 465 testés était dMMR (Dunn *et al.*, 2018) (NP3). Si cette prévalence de 0,2 % est en défaveur d'une recherche systématique de déficience du système MMR, une recherche peut être faite à la demande du clinicien dans le cas d'un méningiome agressif sans ressource thérapeutique, si une immunothérapie est accessible.

Recommandation

Les données épidémiologiques sur la déficience du système MMR sont très limitées dans les tumeurs cérébrales autres que les gliomes et ne permettent pas de faire de recommandations (*accord d'experts*).

6. Particularités des méthodes diagnostiques dans les tumeurs cérébrales

Le diagnostic de la déficience du système MMR dans les tumeurs cérébrales se distingue par plusieurs points :

- il n'est pas recommandé d'utiliser la PCR NCI-Pentaplex pour l'analyse de l'ADN tumoral car sa sensibilité est trop faible (Touat *et al.*, 2020) NP2 ;
- pour l'analyse IHC d'une tumeur dans un contexte CMMRD, un témoin positif externe à l'échantillon et présent sur la lame test est nécessaire. En effet, il n'y a alors pas de témoin positif interne ;
- la sensibilité de l'IHC des 4 protéines MMR est d'environ 80 % dans les tumeurs cérébrales (McCord *et al.*, 2020; Touat *et al.*, 2020) NP1. En effet, des mutations des gènes MMR conduisent à une déficience du système MMR sans perte d'expression des protéines comme par exemple les mutations faux sens à effet dominant négatif tel que *MSH6* T1219I (Touat *et al.*, 2020) ;
- les tumeurs cérébrales primitives dMMR *de novo* présentent une hypermutation et les signatures mutationnelles n° 6, 15, 21, 26. Une mutation tumorale de *POLE* ou *POLD1* peut survenir au cours de l'oncogenèse causée par la déficience du système MMR et la charge mutationnelle est alors encore plus élevée (« ultra-hypermutation ») avec des signatures mutationnelles n° 10 (*POLE*) ou n° 14 (*POLE/MMR*) ou n° 20 (*POLD1/MMR*) (Campbell *et al.*, 2017). Les récurrences de tumeurs cérébrales avec déficience du système MMR secondaire après témozolomide présentent une hypermutation et une signature n° 11 (Alexandrov *et al.*, 2013; Touat *et al.*, 2020).

Recommandations

Spécificités techniques :

Dans les tumeurs cérébrales, les recommandations techniques pour réaliser un test MMR tumoral sont :

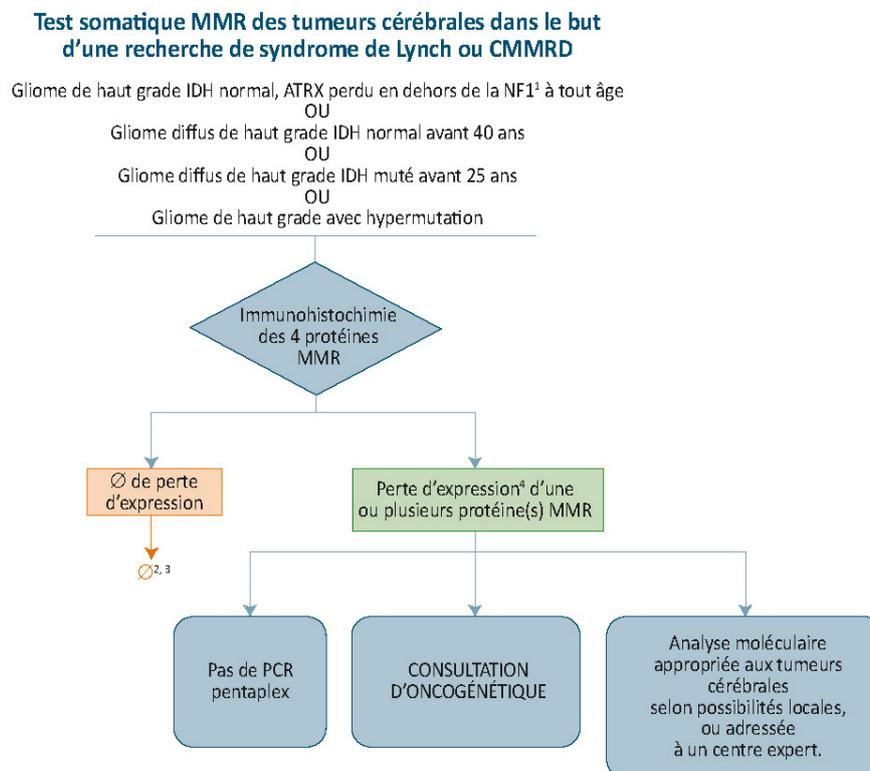
- de ne pas utiliser la PCR NCI-Pentaplex ;
- d'utiliser l'immunohistochimie avec les anticorps dirigés contre les quatre protéines MMR et des témoins externes sur lame ;
- de compléter l'immunohistochimie par une autre technique lorsque celle-ci est disponible et que le contexte est évocateur de déficience du système MMR. Ces analyses peuvent être la charge mutationnelle, le séquençage des gènes MMR, les signatures mutationnelles.

(grade B)

Remarque : la PCR NCI-Pentaplex est peu sensible pour l'analyse des tumeurs cérébrales.

7. Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les tumeurs cérébrales

Figure 18 : Algorithme définissant la cascade de réalisation des tests somatiques et l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour tumeurs cérébrales



¹ La NF1 partage avec le syndrome CMMRD des signes cliniques (ex. : tâches café au lait), et des paramètres histomoléculaires (gliomes de haut grade IDH normal la ATRX perdu). Si la NF1 n'est pas certaine, la recherche de déficience MMR est souhaitable.

² En cas de forte suspicion de syndrome de Lynch/CMMRD, une analyse moléculaire appropriée aux tumeurs cérébrales (excluant PCR pentaplex) peut être effectuée selon les possibilités locales ou dans un centre expert car il existe des cas de déficience MMR sans perte d'expression immunohistochimique.

³ Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch ou CMMRD doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux. Une prédisposition génétique à une pathologie cérébrale autre que le syndrome de Lynch/CMMRD est suspectée ou envisagée.

⁴ Si la perte d'expression est observée sur une récurrence après témozolomide, il peut s'agir d'une déficience MMR acquise au cours du traitement et donc sans lien avec un syndrome de prédisposition. Il est préférable d'effectuer le test somatique MMR sur la tumeur initiale avec traitement par témozolomide.

J. QUESTION 13 (SUITE) : INDICATIONS D'ÉVALUATION DU STATUT MMR TUMORAL DANS LES AUTRES CANCERS.

Pour les cancers et tumeurs qui n'ont pas été décrits dans le reste du document, compte tenu de la moindre fréquence de ces tumeurs liées au SL et de la très faible fréquence du statut dMMR dans ces tumeurs, une évaluation systématique du statut MMR tumoral à visée oncogénétique n'est pas efficiente mais l'évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique doit être demandée sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un SL. En effet, de nombreux types tumoraux peuvent être liés à un SL même si leur fréquence hors spectre HNPCC est très faible (Latham *et al.*, 2019) (NP1).

*Recommandations pour les cancers et tumeurs AUTRES que colorectales,
gastriques, de l'intestin grêle, de l'endomètre, sébacées et de la voie excrétrice
supérieure*

Dans ces cancers et tumeurs, une évaluation systématique du statut MMR tumoral à visée oncogénétique n'est pas recommandée : l'évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique est recommandée sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un syndrome de Lynch (*grade B*).

CHAPITRE 6 : Indications de consultation oncogénétique après identification d'un statut dMMR

A. QUESTION TRAITÉE DANS CE CHAPITRE

Question 19 : Quels patients dMMR doivent être orientés vers une consultation d'oncogénétique ?

B. SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

Reprise des articles princeps sur le sujet (Hampel *et al.*, 2006 ; Hampel *et al.*, 2008 ; Buchanan *et al.*, 2014) et des recommandations nationales (INCa, 2016).

Et utilisation des mots-clés suivants :

- Lynch syndrome AND screening AND microsatellite instability AND (MLH1 methylation OR Lynch like syndrome). Période 2010-2021 : 123 références ont été trouvées.

Ont été exclues les études en double, les études inappropriées et les études *in vitro*. Ont été retenus les articles avec le plus de cas, et/ou les mieux documentés et/ou les plus récents : 4 articles ont été retenus.

C. QUESTION 19 : QUELS PATIENTS dMMR DOIVENT ETRE ORIENTES VERS UNE CONSULTATION D'ONCOGENETIQUE ?

Toute tumeur de statut dMMR doit mener à se poser la question de l'indication, pour le patient atteint, d'une consultation d'oncogénétique.

Si, en théorie, toute tumeur développée dans le cadre d'un SL est de statut dMMR (forte sensibilité), à l'inverse toutes les tumeurs dMMR ne relèvent pas systématiquement d'un SL (faible spécificité). Ainsi, si environ 15 % des cancers colorectaux (CCR) au stade localisé présentent un statut tumoral dMMR, seuls 3 à 5 % surviennent dans le cadre d'un SL ; les autres cas, dits « sporadiques », relèvent d'une inactivation du système MMR purement tumorale. On estime ainsi que seulement 22 % des CCR dMMR et 8 à 14 % des cancers de l'endomètre (CE) dMMR relèvent d'un SL, les autres cas étant sporadiques (Hampel *et al.*, 2006; Hampel *et al.*, 2008; Buchanan *et al.*, 2014) (NP1).

Les mécanismes d'inactivation tumorale bi-allélique de gènes MMR expliquent le statut dMMR non lié au SL.

1. Prédiagnostic tumoral des cancers dMMR via la recherche d'une hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* et de la mutation *BRAF V600E* avant la consultation d'oncogénétique

a) Cancers colorectaux et cancers de l'endomètre dMMR

Pour les CCR et les CE, cette inactivation bi-allélique de gènes MMR est en grande majorité liée à une **hyperméthylation de la région promotrice du gène *MLH1*** (cf. chapitre IV la biologie moléculaire du système MMR). Ainsi l'identification d'une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* dans le contexte **d'un CCR ou d'un cancer de l'endomètre dMMR avec extinction de *MLH1-PMS2*** est un argument fort en faveur du mécanisme tumoral du statut et permet d'écarter raisonnablement un SL (où la présence d'une telle hyperméthylation est un phénomène rare).

De plus, et **uniquement pour le CCR**, la mutation ***BRAF V600E***, est étroitement associée à l'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* et donc au profil sporadique des tumeurs dMMR avec extinction de *MLH1-PMS2*. Étant exceptionnellement présente au cours d'un SL, sa présence oriente vers l'origine sporadique des CCR dMMR avec extinction *MLH1-PMS2* (Newton *et al.*, 2014) (NP1) (cf. chapitre IV la biologie moléculaire du système MMR).

Recommandations

Cancers colorectaux et cancers de l'endomètre dMMR :

Il est recommandé d'orienter vers une consultation d'oncogénétique tous les patients avec un cancer colorectal dMMR, sauf ceux avec une perte d'expression *MLH1-PMS2* et une méthylation du promoteur de *MLH1* ou une mutation *BRAF V600E* (grade A).

Il est recommandé d'orienter vers une consultation d'oncogénétique toutes les patientes avec un cancer de l'endomètre dMMR, sauf celles avec une perte d'expression *MLH1-PMS2* et une méthylation du promoteur de *MLH1* (grade A).

Pour les cancers colorectaux (CCR) et les cancers de l'endomètre : l'identification d'un statut tumoral dMMR avec extinction *MLH1-PMS2* et hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (et/ou avec mutation *BRAF V600E* uniquement dans le cas des CCR) est très en faveur du caractère sporadique du statut dMMR. Sauf contexte personnel ou familial évocateur, il n'est pas recommandé d'orienter ces patients vers une consultation d'oncogénétique (grade A).

b) Cancers gastriques, ovariens et duodénaux-ampullaires dMMR

Une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* est mise en évidence dans la plupart des cancers gastriques, ovariens et ampullaires dMMR avec extinction *MLH1-PMS2*. Néanmoins, la valeur étiologique de ce test pour affirmer l'origine sporadique du caractère dMMR avec perte d'expression *MLH1-PMS2*, bien que probable, n'est pas encore suffisamment démontrée. Ce seul test ne permet donc pas d'écarter une origine génétique constitutionnelle et de se passer d'une consultation d'oncogénétique (cf. chapitre IV la biologie moléculaire du système MMR).

Recommandations

Cancers gastriques, ovariens et duodéno-ampullaires dMMR :

Il est recommandé d'orienter vers une consultation d'oncogénétique tous les patients avec cancers gastriques, ovariens et duodéno-ampullaires dMMR avec extinction MLH1-PMS2, quel que soit le statut de méthylation du promoteur de MLH1 (*grade B*).

Remarque 1 : *les données disponibles restant encore trop limitées pour les cancers gastriques, ovariens et duodéno-ampullaires dMMR avec extinction MLH1-PMS2, la présence d'une hyperméthylation du promoteur de MLH1 ne permet pas d'affirmer l'origine sporadique du caractère dMMR.*

Remarque 2 : *La recherche d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 peut être réalisée pour les cancers gastriques, ovariens et duodéno-ampullaires dMMR avec extinction MLH1-PMS2. Son résultat sera pris en compte par l'oncogénéticien pour les soins du patient.*

c) Autres tumeurs dMMR du spectre Lynch

Dans les autres types de cancer dMMR avec extinction MLH1-PMS2, on ne dispose pas de données concernant une éventuelle hyperméthylation du promoteur de *MLH1*. Cela ne permet pas d'évoquer une possible utilité de ce type de précriblage.

2. Cancers dMMR du spectre du syndrome de Lynch, hors hyperméthylation du promoteur de *MLH1* (et/ou hors mutation *BRAF V600E* dans le cas des CCR)

Ce groupe correspond à tous les cancers dMMR à l'**exclusion** des CCR et cancer de l'endomètre dMMR avec perte d'expression MLH1-PMS2 et hyperméthylation de *MLH1* et des CCR avec perte d'expression MLH1-PMS2 et mutation *BRAF V600E*.

a) Cancers du spectre de Lynch

Jusqu'à récemment, on a considéré que pratiquement tous les CCR et cancer de l'endomètre dMMR de profil autres que ceux résultant de l'hyperméthylation tumorale du promoteur *MLH1* étaient présumés être dus au SL, même en l'absence d'identification de mutation constitutionnelle de gène *MMR* (seule caractéristique permettant d'affirmer avec certitude le diagnostic de SL), ce groupe définissant le **syndrome Lynch-like** (Rodríguez-Soler *et al.*, 2013) (NP2).

Néanmoins il est maintenant acquis que le syndrome de Lynch-like pourrait correspondre à des situations différentes : 1) un authentique SL pour lequel la mutation germinale *MMR* n'a pas pu être détectée, 2) un syndrome de prédisposition génétique lié à une mutation germinale de gènes non *MMR* impliqués également dans la réparation de l'ADN et la synthèse de l'ADN (Xavier *et al.*, 2019; Xicola *et al.*, 2019) (NP2) et 3) une origine purement tumorale par inactivation biallélique tumorale d'un gène du système MMR.

Ainsi d'authentiques cas de cancers dMMR, autres qu'avec perte d'expression MLH1-PMS2 et méthylation *MLH1*, peuvent relever d'un mécanisme sporadique mais actuellement, même la mise en évidence d'une inactivation MMR biallélique au niveau tumoral, retrouvée dans 50 à 60 % des CCR par exemple (Carethers and Stoffel, 2015) (NP2), ne permet pas d'en affirmer l'origine

constitutionnelle (avec 2^e hit tumoral) ou sporadique (2 évènements tumoraux) et d'exclure à elle seule l'indication de consultation d'oncogénétique.

b) Tumeurs cutanées sébacées

La plupart des tumeurs sébacées de profil dMMR tumoral présentent une perte d'expression des protéines MSH2 et MSH6 avec seulement un tiers entrant dans le cadre d'un SL prouvé. Cela laisse présager l'origine sporadique de la majorité des tumeurs sébacées dMMR par évènements mutationnels tumoraux, mais **la preuve de l'origine sporadique ne peut pas être facilement affirmée et conduit à proposer une consultation d'oncogénétique pour toute tumeur sébacée de statut dMMR tumoral. L'indication d'analyse constitutionnelle à la recherche d'un SL sera alors posée en consultation d'oncogénétique selon les données de l'histoire personnelle et familiale (cf. chapitre VG Indication d'évaluation du statut MMR dans les tumeurs sébacées et autres tumeurs cutanées).**

Recommandation

Le profil sporadique du caractère dMMR ne peut écarter un syndrome de Lynch que pour les cas de cancers colorectaux (CCR) ou cancers de l'endomètre avec perte d'expression de MLH1-PMS2 et hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 (et/ou mutation BRAF pour les CCR).

Il est recommandé d'orienter vers une consultation d'oncogénétique les patients pour tout type tumoral dMMR autre que CCR ou cancer de l'endomètre avec perte d'expression de MLH1-PMS2 et hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 (et/ou mutation BRAF pour les CCR) (grade C).

c) Autres cancers dMMR

Le spectre des cancers associés au SL continue de s'étendre à mesure que l'utilisation de la technologie de séquençage de nouvelle génération se développe. Latham Schwark *et al.* ont analysé les données germinales et tumorales de plus de 15 000 tumeurs (comprenant plus de 50 types de cancer) et ont découvert que la moitié de tous les cancers dMMR, survenus chez les patients porteurs d'une mutation germinale *MMR*, étaient des cancers non-CCR et non-CE et comprenaient diverses tumeurs malignes non classiquement liées au SL, telles que les sarcomes des tissus mous, les tumeurs des cellules germinales, le mésothéliome, le mélanome et les tumeurs du SNC, entre autres (Latham *et al.*, 2019) (NP1). Parmi ces cas, 54,5 % (18/33) n'auraient pas satisfaits aux critères cliniques de test génétique. Ces résultats soulignent la **nécessité d'une consultation d'oncogénétique dédiée à la recherche d'un SL pour toutes les tumeurs dMMR, dans les types de cancer qui ne sont pas typiquement associés au SL.**

Recommandation

Actuellement, pour toute tumeur dMMR, hors du spectre du syndrome de Lynch et des tumeurs sébacées, l'identification par séquençage de nouvelle génération d'une inactivation tumorale biallélique de gènes *MMR* n'est pas validée pour permettre d'affirmer l'origine sporadique du caractère dMMR. Il est donc recommandé d'orienter ces patients vers une consultation d'oncogénétique (recommandation de grade B).

3. Découverte incidente de mutations tumorales de gènes du système MMR par NGS

Le développement de génotypages tumoraux étendus par NGS a amené à mettre en évidence, de façon incidente, des mutations de gènes du système MMR au cours d'analyses faites en dehors de toute indication oncogénétique, pronostique ou thérapeutique d'évaluation du statut MMR tumoral (screening pour accès aux essais de phases précoces par exemple). Dans ce cadre, la révélation d'une mutation tumorale MMR ne doit pas mener directement à une indication d'oncogénétique pour en rechercher une origine constitutionnelle mais doit pousser à une recherche spécifique du statut dMMR par les techniques standard. Une consultation d'oncogénétique ne doit être proposée qu'en cas de statut dMMR établi selon ces techniques standard.

Recommandation

Une vérification du statut dMMR par les techniques de référence (IHC et statut microsatellitaire en biologie moléculaire) est recommandée dans le cas d'identification de mutation(s) des gènes du système MMR sur un échantillon tumoral par NGS, avant d'orienter les patients vers une consultation d'oncogénétique (*accord d'experts*).

4. Cas des cancers avec tumeur pMMR

Recommandation

En l'absence d'une déficience tumorale du système MMR, dans un contexte clinique personnel et/ou familial évocateur d'une prédisposition génétique à une pathologie autre que le syndrome de Lynch, il est recommandé d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique (*accord d'experts*).

5. Cas des cancers sans test MMR tumoral disponible

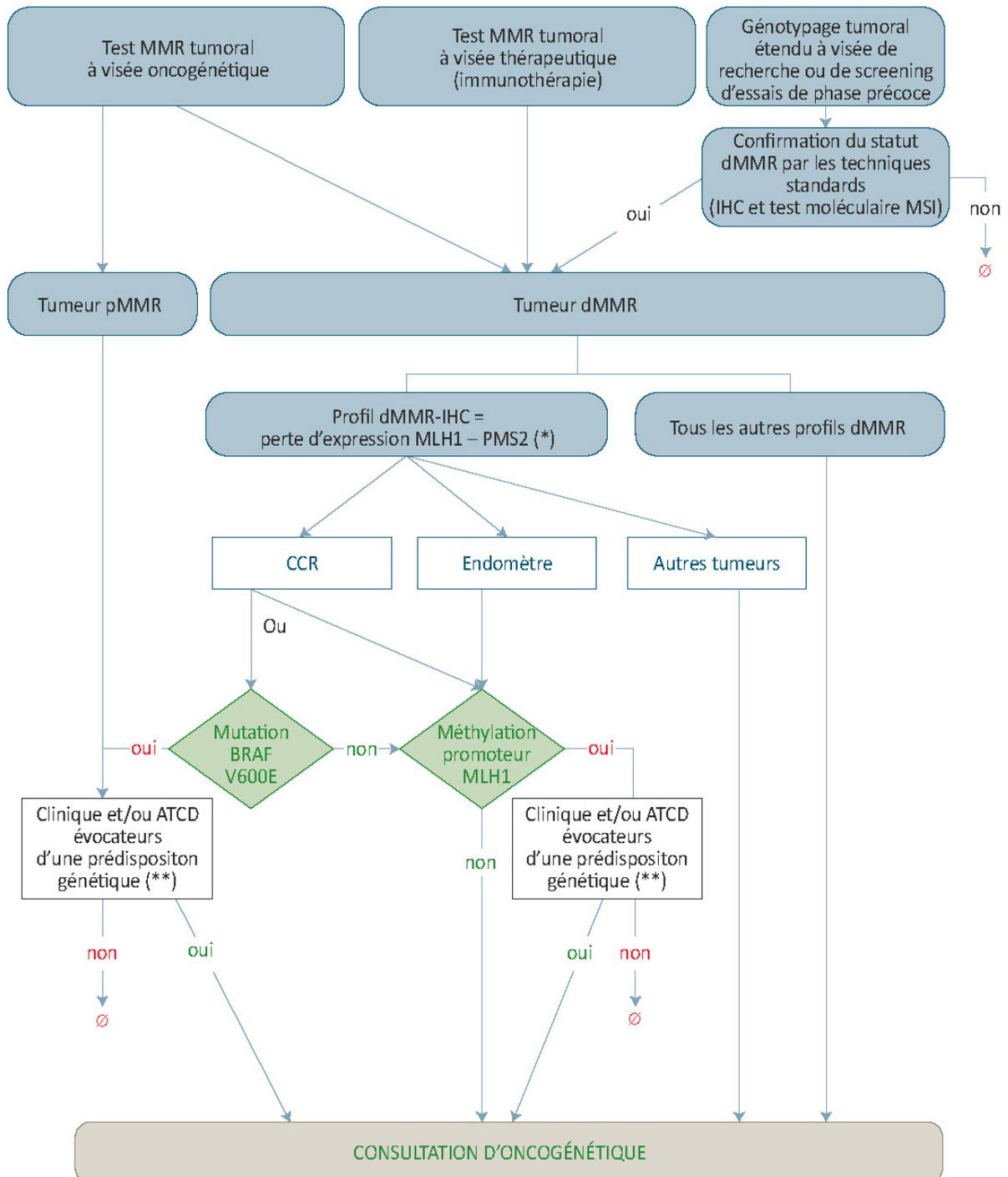
Si l'évaluation du statut MMR tumoral est un outil important pour l'identification des cas index porteurs d'un SL, son efficacité est intrinsèquement limitée aux personnes qui ont effectivement été atteintes d'un cancer et pour lesquelles un échantillon de la tumeur est disponible.

Recommandation

Dans une situation personnelle et/ou familiale évocatrice de la présence d'un syndrome de Lynch mais où aucun échantillon de tumeur n'est disponible pour l'analyse, il est recommandé d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique (*accord d'experts*).

D. ALGORITHME DE DECISION D'ORIENTATION D'UN PATIENT VERS UNE CONSULTATION D'ONCOGENETIQUE

Figure 19 : Algorithme de décision d'orientation d'un patient vers une consultation d'oncogénétique



Bibliographie

- Abbas, O. and Mahalingam, M.** (2009). Cutaneous sebaceous neoplasms as markers of Muir-Torre syndrome: a diagnostic algorithm. *J. Cutan. Pathol.* **36**, 613–619.
- Abida, W., ML, C., J, A., S, M., KA, A. and HA, V.** (2019). Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade. *JAMA Oncol* **5**, 471–478.
- Acharya, S., Wilson, T., Gradia, S., Kane, M. F., Guerrette, S., Marsischky, G. T., Kolodner, R. and Fishel, R.** (1996). hMSH2 forms specific mismatch-binding complexes with hMSH3 and hMSH6. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93**, 13629–13634.
- Adackapara, C. A., Sholl, L. M., Barletta, J. A. and Hornick, J. L.** (2013). Immunohistochemistry using the BRAF V600E mutation-specific monoclonal antibody VE1 is not a useful surrogate for genotyping in colorectal adenocarcinoma. *Histopathology* **Aug;63(2):187-93**.
- Adan, F., Crijns, M. B., Zandstra, W. S. E., Bekkenk, M. W., Bleeker, F. E., Dekker, E. and van Leerdam, M. E. (2018). Cumulative risk of skin tumours in patients with Lynch syndrome. *Br. J. Dermatol.* **179**, 522–523.
- Adar, T., Rodgers, L. H., Shannon, K. M., Yoshida, M., Ma, T., Mattia, A., Lauwers, G. Y., Iafrate, A. J. and Chung, D. C.** (2017). A tailored approach to BRAF and MLH1 methylation testing in a universal screening program for Lynch syndrome. *Mod Pathol* **Mar;30(3):440-447**.
- Adar, T., Rodgers, L. H., Shannon, K. M., Yoshida, M., Ma, T., Mattia, A., Lauwers, G. Y., Iafrate, A. J., Hartford, N. M., Oliva, E., *et al.* (2018). Universal screening of both endometrial and colon cancers increases the detection of Lynch syndrome. *Cancer* **124**, 3145–3153.
- Aird, J. J., Steel, M. J., Chow, C., Ho, J., Wolber, R., Gilks, C. B., Hoang, L. N. and Schaeffer, D. F.** (2020). Should you repeat mismatch repair testing in cases of tumour recurrence? An evaluation of repeat mismatch repair testing by the use of immunohistochemistry in recurrent tumours of the gastrointestinal and gynaecological tracts. *Histopathology* **76**, 521–530.
- Akbari, M. R., Zhang, S., Cragun, D., Lee, J.-H., Coppola, D., McLaughlin, J., Risch, H. A., Rosen, B., Shaw, P., Sellers, T. A., *et al.* (2017). Correlation between germline mutations in MMR genes and microsatellite instability in ovarian cancer specimens. *Fam. Cancer* **16**, 351–355.
- Akhtar, S., Oza, K. K., Khan, S. A. and Wright, J.** (1999). Muir-Torre syndrome: case report of a patient with concurrent jejunal and ureteral cancer and a review of the literature. *J. Am. Acad. Dermatol.* **41**, 681–686.
- Alexandrov, L. B., Nik-Zainal, S., Wedge, D. C., Aparicio, S. A. J. R., Behjati, S., Biankin, A. V., Bignell, G. R., Bolli, N., Borg, A., Børresen-Dale, A.-L., *et al.*** (2013). Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* **500**, 415–421.
- Alexandrov, L. B., Ju, Y. S., Haase, K., Van Loo, P., Martincorena, I., Nik-Zainal, S., Totoki, Y., Fujimoto, A., Nakagawa, H., Shibata, T., *et al.*** (2016). Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. *Science* **4;354(6312):618-622**.
- Allan, J. M. and Travis, L. B.** (2005). Mechanisms of therapy-related carcinogenesis. *Nat. Rev. Cancer* **5**, 943–955.
- Alpert, L., Pai, R. K., Srivastava, A., McKinnon, W., Wilcox, R., Yantiss, R. K., Arcega, R., Wang, H. L., Robert, M. E., Liu, X., *et al.*** (2018). Colorectal Carcinomas With Isolated Loss of PMS2 Staining by Immunohistochemistry. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **142**, 523–528.
- Amayiri, N., Tabori, U., Campbell, B., Bakry, D., Aronson, M., Durno, C., Rakopoulos, P., Malkin, D., Qaddoumi, I., Musharbash, A., *et al.*** (2016). High frequency of mismatch repair deficiency among pediatric high grade gliomas in Jordan. *Int. J. Cancer* **138**, 380–385.
- An, J. Y., Kim, H., Cheong, J.-H., Hyung, W. J., Kim, H. and Noh, S. H.** (2012). Microsatellite instability in sporadic gastric cancer: its prognostic role and guidance for 5-FU based chemotherapy after R0 resection. *Int. J. Cancer* **131**, 505–511.
- André, T., Shiu, K.-K., Kim, T. W., Jensen, B. V., Jensen, L. H., Punt, C., Smith, D., Garcia-Carbonero, R., Benavides, M., Gibbs, P., *et al.*** (2020). Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N. Engl. J. Med.* **383**, 2207–2218.

Bibliographie

- Aparicio, T., Svrcek, M., Zaanan, A., Beohou, E., Laforest, A., Afchain, P. and Mitry, E. (2013a). Small bowel adenocarcinoma phenotyping, a clinicobiological prognostic study ». *Br. J. Cancer* **109**, 3057–66.
- Aparicio, T., Schischmanoff, O., Poupardin, C., Soufir, N., Angelakov, C., Barrat, C., Levy, V., Choudat, L., Cucherousset, J., Boubaya, M., *et al.* (2013b). Deficient mismatch repair phenotype is a prognostic factor for colorectal cancer in elderly patients. *Dig. Liver Dis.* **45**, 245–250.
- Argilés, G., Taberero, J., Labianca, R., Hochhauser, D., Salazar, R., Iveson, T., Laurent-Puig, P., Quirke, P., Yoshino, T., Taieb, J., *et al.* (2020). Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **31**, 1291–1305.
- Audenet, F., Isharwal, S., Cha, E. K., Donoghue, M. T. A., Drill, E. N., Ostrovnaya, I., Pietzak, E. J., Sfakianos, J. P., Bagrodia, A., Murugan, P., *et al.* (2019). Clonal Relatedness and Mutational Differences between Upper Tract and Bladder Urothelial Carcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **25**, 967–976.
- Azzouzi, A.-R., Catto, J. W. F., Rehman, I., Larre, S., Roupret, M., Feeley, K. M., Cussenot, O., Meuth, M. and Hamdy, F. C. (2007). Clinically localised prostate cancer is microsatellite stable. *BJU Int.* **99**, 1031–1035.
- Bacher (2018). non publié.
- Bae, Y. S., Kim, H., Noh, S. H. and Kim, H. (2015). Usefulness of Immunohistochemistry for Microsatellite Instability Screening in Gastric Cancer. *Gut Liver* **9**, 629–635.
- Bakry, D., Aronson, M., Durno, C., Rimawi, H., Farah, R., Alharbi, Q. K., Alharbi, M., Shamvil, A., Ben-Shachar, S., Mistry, M., *et al.* (2014). Genetic and clinical determinants of constitutional mismatch repair deficiency syndrome: report from the constitutional mismatch repair deficiency consortium. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* **1990** **50**, 987–996.
- Balmaña, J., Balaguer, F., Cervantes, A., Arnold, D. and ESMO Guidelines Working Group (2013). Familial risk-colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **24 Suppl 6**, vi73-80.
- Bao, F., Panarelli, N. C., Rennert, H., Sherr, D. L. and Yantiss, R. K. (2010). Neoadjuvant therapy induces loss of MSH6 expression in colorectal carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **34**, 1798–1804.
- Barthel, F. P., Johnson, K. C., Varn, F. S., Moskalik, A. D., Tanner, G., Kocakavuk, E., Anderson, K. J., Abiola, O., Aldape, K., Alfaro, K. D., *et al.* (2019). Longitudinal molecular trajectories of diffuse glioma in adults. *Nature* **576**, 112–120.
- Bass, A. J., Thorsson, V., Shmulevich, I., Reynolds, S. M., Miller, M., Bernard, B., Hinoue, T., Laird, P. W., Curtis, C., Shen, H., *et al.* (2014). Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* **513**, 202–209.
- Beghelli, S., de Manzoni, G., Barbi, S., Tomezzoli, A., Roviello, F., Di Gregorio, C., Vindigni, C., Bortesi, L., Parisi, A., Saragoni, L., *et al.* (2006). Microsatellite instability in gastric cancer is associated with better prognosis in only stage II cancers. *Surgery* **139**, 347–356.
- Beinse, G., Rance, B., Just, P.-A., Izac, B., Letourneur, F., Saidu, N. E. B., Chouzenoux, S., Nicco, C., Goldwasser, F., Batteux, F., *et al.* (2020). Identification of TP53 mutated group using a molecular and immunohistochemical classification of endometrial carcinoma to improve prognostic evaluation for adjuvant treatments. *Int. J. Gynecol. Cancer Off. J. Int. Gynecol. Cancer Soc.* **30**, 640–647.
- Bennett, J. A., Pesci, A., Morales-Oyarvide, V., Da Silva, A., Nardi, V. and Oliva, E. (2019). Incidence of Mismatch Repair Protein Deficiency and Associated Clinicopathologic Features in a Cohort of 104 Ovarian Endometrioid Carcinomas. *Am J Surg Pathol Feb*; **43(2):235-243**,.
- Berardinelli, G. N., Scapulatempo-Neto, C., Durães, R., Oliveira, M., Guimarães, D. and Reis, R. M. (2018). Advantage of HSP110 (T17) marker inclusion for microsatellite instability (MSI) detection in colorectal cancer patients. *Oncotarget*.
- Bessa, X., Ballesté, B., Andreu, M., Castells, A., Bellosillo, B., Balaguer, F., Castellví-Bel, S., Paya, A., Jover, R., Alenda, C., *et al.* (2008). A prospective, multicenter, population-based study of BRAF mutational analysis for Lynch syndrome screening. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* **6**, 206–214.
- Bettstetter, M., Dechant, S., Ruemmele, P., Grabowski, M., Keller, G., Holinski-Feder, E., Hartmann, A., Hofstaedter, F. and Dietmaier, W. (2007). Distinction of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and sporadic microsatellite-unstable colorectal cancer through quantification of MLH1 methylation by real-time PCR. *Clin Cancer Res. Jun* **1;13(11):3221-8**,.

Bibliographie

- Bianchi, F., Galizia, E., Catalani, R., Belvederesi, L., Ferretti, C., Corradini, F. and Cellerino, R.** (2009). CAT25 is a mononucleotide marker to identify HNPCC patients. *J. Mol. Diagn. JMD* **11**, 248–252.
- Bodo, S., Colas, C., Buhard, O., Collura, A., Tinat, J., Lavoine, N., Guilloux, A., Chalastanis, A., Lafitte, P., Coulet, F., et al.** (2015). Diagnosis of Constitutional Mismatch Repair-Deficiency Syndrome Based on Microsatellite Instability and Lymphocyte Tolerance to Methylating Agents. *Gastroenterology* **149**, 1017-1029.e3.
- Boland, C. R. and Goel, A.** (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* **138**, 2073-2087.e3.
- Boland, Thibodeau, S. N., Hamilton, S., SR, D. E., JR, Burt, R. W., Meltzer, S. J., Rodriguez-Bigas, M. A., Fodde, R., Ranzani, G. N. and 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.* **15;58(22):5248-57**,.
- Bonadona, V., Bonaïti, B., Olschwang, S., Grandjouan, S., Huiart, L., Longy, M., Guimbaud, R., Buecher, B., Bignon, Y.-J., Caron, O., et al.** (2011). Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA* **305**, 2304–2310.
- Bond, C. E., Liu, C., Kawamata, F., McKeone, D. M., Fernando, W., Jamieson, S., Pearson, S. A., Kane, A., Woods, S. L., Lannagan, T. R. M., et al.** (2018). Oncogenic BRAF mutation induces DNA methylation changes in a murine model for human serrated colorectal neoplasia. *Epigenetics* **13**, 40–48.
- Bonneville, R., Krook, M. A., Kautto, E. A., Miya, J., Wing, M. R., Chen, H.-Z., Reeser, J. W., Yu, L. and Roychowdhury, S.** (2017). Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis. Oncol.* **2017**,.
- Bosse, T., Nout, R. A., McAlpine, J. N., McConechy, M. K., Britton, H., Hussein, Y. R., Gonzalez, C., Ganesan, R., Steele, J. C., Harrison, B. T., et al.** (2018). Molecular Classification of Grade 3 Endometrioid Endometrial Cancers Identifies Distinct Prognostic Subgroups. *Am. J. Surg. Pathol.* **42**, 561–568.
- Bouchez, C., Kempf, E. and Tournigand, C.** (2019). Traitement des autres tumeurs solides métastatiques MSI/dMMR. *Bull. Cancer (Paris)* **106**, 143–150.
- Bouffet, E., Larouche, V., Campbell, B. B., Merico, D., de Borja, R., Aronson, M., Durno, C., Krueger, J., Cabric, V., Ramaswamy, V., et al.** (2016). Immune Checkpoint Inhibition for Hypermutant Glioblastoma Multiforme Resulting From Germline Biallelic Mismatch Repair Deficiency. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **34**, 2206–2211.
- Bouvet, D., Bodo, S., Munier, A., Guillerm, E., Bertrand, R., Colas, C., Duval, A., Coulet, F. and Muleris, M.** (2019). Methylation Tolerance-Based Functional Assay to Assess Variants of Unknown Significance in the MLH1 and MSH2 Genes and Identify Patients With Lynch Syndrome. *Gastroenterology* **157**, 421–431.
- Bouzourene, H., Hutter, P., Losi, L., Martin, P. and Benhattar, J.** (2010). Selection of patients with germline MLH1 mutated Lynch syndrome by determination of MLH1 methylation and BRAF mutation. *Fam. Cancer* **9**, 167–172.
- Bruegl, A. S., Djordjevic, B., Urbauer, D. L., Westin, S. N., Soliman, P. T., Lu, K. H., Luthra, R. and Broaddus, R. R.** (2014). Utility of MLH1 methylation analysis in the clinical evaluation of Lynch Syndrome in women with endometrial cancer. *Curr Pharm Des* **20**, 1655–63.
- Buchanan, D. D., Tan, Y. Y., Walsh, M. D., Clendenning, M., Metcalf, A. M., Ferguson, K., Arnold, S. T., Thompson, B. A., Lose, F. A., Parsons, M. T., et al.** (2014). Tumor mismatch repair immunohistochemistry and DNA MLH1 methylation testing of patients with endometrial cancer diagnosed at age younger than 60 years optimizes triage for population-level germline mismatch repair gene mutation testing. *J Clin Oncol* **10;32(2):90-100**,.
- Buecher, B., Le Mentec, M., Doz, F., Bourdeaut, F., Gauthier-Villars, M., Stoppa-Lyonnet, D. and Colas, C.** (2019). [Constitutional MMR deficiency: Genetic bases and clinical implications]. *Bull. Cancer (Paris)* **106**, 162–172.
- Buhard, Suraweera, N., Lectard, A., Duval, A. and Hamelin, R.** (2004). Quasimonomorphic mononucleotide repeats for high-level microsatellite instability analysis. *Markers* 251–7.
- Buhard, O., Cattaneo, F., Wong, Y. F., Yim, S. F., Friedman, E., Flejou, J.-F., Duval, A. and Hamelin, R.** (2006). Multipopulation analysis of polymorphisms in five mononucleotide repeats used to determine the microsatellite instability status of human tumors. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **24**, 241–251.

Bibliographie

- Buhard, O., Lagrange, A., Guilloux, A., Colas, C., Chouchène, M., Wanherdrick, K., Coulet, F., Guillerm, E., Dorard, C., Marisa, L., et al.** (2016). HSP110 T17 simplifies and improves the microsatellite instability testing in patients with colorectal cancer. *J Med Genet* Jun;53(6):377-84.
- Burn, J., Gerdes, A.-M., Macrae, F., Mecklin, J.-P., Moeslein, G., Olschwang, S., Eccles, D., Evans, D. G., Maher, E. R., Bertario, L., et al.** (2011). Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **378**, 2081–2087.
- Cai, Z., Wang, Z., Liu, C., Shi, D., Li, D., Zheng, M., Han-Zhang, H., Lizaso, A., Xiang, J., Lv, J., et al.** (2020). Detection of Microsatellite Instability from Circulating Tumor DNA by Targeted Deep Sequencing. *J Mol Diagn* 1;22(7):860-870.
- Campbell, B. B., Light, N., Fabrizio, D., Zatzman, M., Fuligni, F., de Borja, R., Davidson, S., Edwards, M., Elvin, J. A., Hodel, K. P., et al.** (2017). Comprehensive Analysis of Hypermutation in Human Cancer. *Cell* **171**, 1042-1056.e10.
- Campedel, L., Seisen, T., Cussenot, O., Comperat, E., Varinot, J., Rouprêt, M. and Cancel-Tassin, G.** (2018). [Prognostic value of PD-1/PD-L1 expression in upper tract urothelial carcinoma]. *Progres En Urol. J. Assoc. Francaise Urol. Soc. Francaise Urol.* **28**, 900–905.
- Capel, E., Fléjou, J. F. and Hamelin, R.** (2007). Assessment of MLH1 promoter methylation in relation to gene expression requires specific analysis. *Oncogene*.
- Capper, D., Voigt, A., Bozukova, G., Ahadova, A., Kickingereeder, P., Deimling, A., Knebel Doeberitz, M. and Kloor, M.** (2013). BRAF V600E-specific immunohistochemistry for the exclusion of Lynch syndrome in MSI-H colorectal cancer. *Int J Cancer* 1;133(7):1624-30.
- Carethers, J. M. and Stoffel, E. M.** (2015). Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer. *World J. Gastroenterol.* **21**, 9253–9261.
- Castro, M. P. and Goldstein, N.** (2015). Mismatch repair deficiency associated with complete remission to combination programmed cell death ligand immune therapy in a patient with sporadic urothelial carcinoma: immunotheranostic considerations. *J. Immunother. Cancer* **3**, 58.
- Cbioportal** (www.cbioportal.org).
- Cesinaro, A. M., Ubiali, A., Sighinolfi, P., Trentini, G. P., Gentili, F. and Facchetti, F.** (2007). Mismatch repair proteins expression and microsatellite instability in skin lesions with sebaceous differentiation: a study in different clinical subgroups with and without extracutaneous cancer. *Am. J. Dermatopathol.* **29**, 351–358.
- Chalabi, M., Fanchi, L. F., Van Den Berg, J. G. and Beets, G. L.** (2020a). Neoadjuvant ipilimumab plus nivolumab in early stage colon cancer ». *Oncol. Consulté*.
- Chalabi, M., Fanchi, L. F., Dijkstra, K. K., Van den Berg, J. G., Aalbers, A. G., Sikorska, K., Lopez-Yurda, M., Grootsholten, C., Beets, G. L., Snaebjornsson, P., et al.** (2020b). Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers. *Nat. Med.* **26**, 566–576.
- Chen, W., Hampel, H., Pearlman, R., Jones, D., Zhao, W., Alsomali, M., Knight, D. and Frankel, W. L.** (2020). Unexpected expression of mismatch repair protein is more commonly seen with pathogenic missense than with other mutations in Lynch syndrome. *Hum. Pathol.* **103**, 34–41.
- Chhibber, V., Dresser, K. and Mahalingam, M.** (2008). MSH-6: extending the reliability of immunohistochemistry as a screening tool in Muir-Torre syndrome. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **21**, 159–164.
- Choi, Y. Y., Kim, H., Yang, H.-K., Kim, W. H., Kim, Y. W., Kook, M.-C., Park, Y.-K., Kim, H.-H., Lee, H.-S., Lee, K. H., et al.** (2017). Clinical impact of microsatellite instability in patients with stage II and III gastric cancer: Results from the CLASSIC trial. *J. Clin. Oncol.* **35**, 4022–4022.
- Cini, G., Quaia, M., Canzonieri, V., Fornasarig, M., Maestro, R., Morabito, A., D’Elia, A. V., Urso, E. D., Mammi, I. and Viel, A.** (2019). Toward a better definition of EPCAM deletions in Lynch Syndrome: Report of new variants in Italy and the associated molecular phenotype. *Mol. Genet. Genomic Med.* **7**, e587.

Bibliographie

- Cohen, J., Rousseau, B.-C., Bourgoïn, R., Larnaudie, L., Dupuy, A., Ollier, M. and Pujals, A. (2018). Evaluation of clinicopathological and molecular criterias for screening of exonucleasic domain POLE (edPOLE) mutated patients in proficient mismatch repair (pMMR) colorectal and endometrial can. *Abstr. Book The 43rd ESMO Congr. ESMO 2018*.
- Cohen, R., Hain, E., Buhard, O., Guilloux, A., Bardier, A., Kaci, R., Bertheau, P., Renaud, F., Bibeau, F., Fléjou, J. F., *et al.* (2019). Association of Primary Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Metastatic Colorectal Cancer With Misdiagnosis of Microsatellite Instability or Mismatch Repair Deficiency Status. *JAMA Oncol* **15**(4):551-555,.
- Colombo, N., Creutzberg, C., Amant, F., Bosse, T., González-Martín, A., Ledermann, J., Marth, C., Nout, R., Querleu, D., Mirza, M. R., *et al.* (2016). ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **27**, 16–41.
- Concin, N., Matias-Guiu, X., Vergote, I., Cibula, D., Mirza, M. R., Marnitz, S., Ledermann, J., Bosse, T., Chargari, C., Fagotti, A., *et al.* (2021). ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer Off. J. Int. Gynecol. Cancer Soc.* **31**, 12–39.
- Cybulska, P., Paula, A. D. C., Tseng, J., Leitao, M. M., Bashashati, A., Huntsman, D. G., Nazeran, T. M., Aghajanian, C., Abu-Rustum, N. R., Delair, D. F., *et al.* (2019). Molecular profiling and molecular classification of endometrioid ovarian carcinomas. *Gynecol. Oncol.* **154**, 516–523.
- Dabir, P. D., Bruggeling, C. E., van der Post, R. S., Dutilh, B. E., Hoogerbrugge, N., Ligtenberg, M. J. L., Boleij, A. and Nagtegaal, I. D. (2020). Microsatellite instability screening in colorectal adenomas to detect Lynch syndrome patients? A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **28**, 277–286.
- D'Angelo, F., Ceccarelli, M., Tala, null, Garofano, L., Zhang, J., Frattini, V., Caruso, F. P., Lewis, G., Alfaro, K. D., Bauchet, L., *et al.* (2019). The molecular landscape of glioma in patients with Neurofibromatosis 1. *Nat. Med.* **25**, 176–187.
- Danjoux, M., Guimbaud, R., Al Saati, T., Meggetto, F., Carrère, N., Portier, G., Delsol, G. and Selves, J. (2006). Contribution of microdissection for the detection of microsatellite instability in colorectal cancer. *Hum. Pathol.* **37**, 361–368.
- Dankner, M., Rose, A. A. N., Rajkumar, S., Siegel, P. M. and Watson, I. R. (2018). Classifying BRAF alterations in cancer: new rational therapeutic strategies for actionable mutations. *Oncogene Jun*;37(24):3183-3199,.
- de Boer, S. M., Powell, M. E., Mileskin, L., Katsaros, D., Bessette, P., Haie-Meder, C., Ottevanger, P. B., Ledermann, J. A., Khaw, P., D'Amico, R., *et al.* (2019). Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone in women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): patterns of recurrence and post-hoc survival analysis of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* **20**, 1273–1285.
- Delair, D. F., Burke, K. A., Selenica, P., Lim, R. S., Scott, S. N., Middha, S., Mohanty, A. S., Cheng, D. T., Berger, M. F., Soslow, R. A., *et al.* (2017). The genetic landscape of endometrial clear cell carcinomas. *J. Pathol.* **243**, 230–241.
- Deng, G., Chen, A., Hong, J., Chae, H. S. and Kim, Y. S. (1999). *Methylation of CpG in a small region of the hMLH1 promoter invariably correlates with the absence of gene expression. Cancer Res.*
- Diaz, L., Le, D. and P. Ascierto (2019). Pembrolizumab in microsatellite instability high cancers: updated analysis of the phase 2 KEYNOTE-164 and KEYNOTE-158 studies.
- Dietmaier, W., Wallinger, S., Bocker, T., Kullmann, F., Fishel, R. and Rüschoff, J. (1997). *Diagnostic microsatellite instability: definition and correlation with mismatch repair protein expression. Cancer Res.*
- Dillon, J. L., Gonzalez, J. L., DeMars, L., Bloch, K. J. and Tafe, L. J. (2017). Universal screening for Lynch syndrome in endometrial cancers: frequency of germline mutations and identification of patients with Lynch-like syndrome. *Hum. Pathol.* **70**, 121–128.
- Domingo, E., Laiho, P., Ollikainen, M., Pinto, M., Wang, L., French, A. J., Westra, J., Frebourg, T., Espín, E., Armengol, M., *et al.* (2004). BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. *J. Med. Genet.* **41**, 664–668.
- Dominguez-Valentin, M., Sampson, J. R., Seppälä, T. T., Ten Broeke, S. W., Plazzer, J.-P., Nakken, S., Engel, C., Aretz, S., Jenkins, M. A., Sunde, L., *et al.* (2020). Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch

Bibliographie

repair variants: findings from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.* **22**, 15–25.

Drummond, J. T., Li, G. M., Longley, M. J. and Modrich, P. (1995). Isolation of an hMSH2-p160 heterodimer that restores DNA mismatch repair to tumor cells. *Science* **268**, 1909–1912.

Dunn, I. F., Du, Z., Touat, M., Sisti, M. B., Wen, P. Y., Umeton, R., Dubuc, A. M., Ducar, M., Canoll, P. D., Severson, E., et al. (2018). Mismatch repair deficiency in high-grade meningioma: a rare but recurrent event associated with dramatic immune activation and clinical response to PD-1 blockade. *JCO Precis. Oncol.* **2018**,.

Duval and Hamelin (2002). Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Res* **1;62(9):2447-54. Review.**,.

Dvorak, K., Higgins, A., Palting, J., Cohen, M. and Brunhoeber, P. (2019). Immunohistochemistry with Anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Antibody is a Sensitive Method for Detection of the BRAF V600E Mutation in Colon Cancer: Evaluation of 120 Cases with and without KRAS Mutation and Literature Review. *Pathol. Oncol. Res. POR* **25**, 349–359.

Dykes, S. L., Qui, H., Rothenberger, D. A. and García-Aguilar, J. (2003). Evidence of a preferred molecular pathway in patients with synchronous colorectal cancer. *Cancer* **98**, 48–54.

Eckert, A., Kloor, M., Giersch, A., Ahmadi, R., Herold-Mende, C., Hampl, J. A., Heppner, F. L., Zoubaa, S., Holinski-Feder, E., Pietsch, T., et al. (2007). Microsatellite instability in pediatric and adult high-grade gliomas. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **17**, 146–150.

Engel, C., Forberg, J., Holinski-Feder, E., Pagenstecher, C., Plaschke, J., Kloor, M., Poremba, C., Pox, C. P., Rüschoff, J., Keller, G., et al. (2006). Novel strategy for optimal sequential application of clinical criteria, immunohistochemistry and microsatellite analysis in the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int. J. Cancer* **118**, 115–122.

Entius, M. M., Keller, J. J., Drillenburger, P., Kuypers, K. C., Giardiello, F. M. and Offerhaus, G. J. (2000). Microsatellite Instability and Expression of hMLH-1 and hMSH-2 in Sebaceous Gland Carcinomas as Markers for Muir-Torre Syndrome. *Clin Cancer Res* **May;6(5):1784-9.**,.

Ericson, K. M., Isinger, A. P., Isfoss, B. L. and Nilbert, M. C. (2005). Low frequency of defective mismatch repair in a population-based series of upper urothelial carcinoma. *BMC Cancer* **5**, 23.

Escudié, F., Van Goethem, C., Grand, D., Vendrell, J., Vigier, A., Brousset, P., Evrard, S. M., Solassol, J. and Selves, J. (2019). MIAMs: microsatellite instability detection on NGS amplicons data. *Bioinformatics*.

Everett, J. N., Raymond, V. M., Dandapani, M., Marvin, M., Kohlmann, W., Chittenden, A., Koeppe, E., Gustafson, S. L., Else, T., Fullen, D. R., et al. (2014). Screening for germline mismatch repair mutations following diagnosis of sebaceous neoplasm. *JAMA Dermatol* **Dec;150(12):1315-21.**,.

Fadhil, W., Ibrahim, S., Seth, R., AbuAli, G., Ragnath, K., Kaye, P. and Ilyas, M. (2012). The utility of diagnostic biopsy specimens for predictive molecular testing in colorectal cancer. *Histopathology* **61**, 1117–1124.

Feng, Y. Z., Shiozawa, T., Miyamoto, T., Kashima, H., Kurai, M., Suzuki, A. and Konishi, I. (2005). BRAF mutation in endometrial carcinoma and hyperplasia: correlation with KRAS and p53 mutations and mismatch repair protein expression. *Clin Cancer Res* **1;11(17):6133-8.**,.

Findeisen, P., Kloor, M., Merx, S., Sutter, C., Woerner, S. M., Dostmann, N., Benner, A., Dondog, B., Pawlita, M., Dippold, W., et al. (2005). T25 repeat in the 3' untranslated region of the CASP2 gene: a sensitive and specific marker for microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* **15;65(18):8072-8.**,.

Foltz, S. M., Liang, W. W., Xie, M. and Ding, L. (2017). MIRMMR: binary classification of microsatellite instability using methylation and mutations. *Bioinformatics* **1;33(23):3799-3801.**,.

Fraune, C., Rosebrock, J., Simon, R., Hube-Magg, C., Makrypidi-Fraune, G., Kluth, M., Büscheck, F., Höflmayer, D., Schmalfeldt, B., Müller, V., et al. (2020). High homogeneity of MMR deficiency in ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* **156**, 669–675.

Bibliographie

- Fuchs, C. S., Doi, T., Jang, R. W., Muro, K., Satoh, T., Machado, M., Sun, W., Jalal, S. I., Shah, M. A., Metges, J.-P., et al.** (2018). Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Patients With Previously Treated Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol.* **4**, e180013.
- Fujiyoshi, K., Yamamoto, G., Takahashi, A., Arai, Y., Yamada, M., Kakuta, M. and Yamaguchi, K.** (2017). High Concordance Rate of KRAS/BRAF Mutations and MSI-H between Primary Colorectal Cancer and Corresponding Metastases ». *Oncol. Rep.* **37**, 785–92.
- García-Tello, A., Ramón de Fata, F., Andrés, G., Ropero, S., López, J. I. and Angulo, J. C.** (2014). DNA repair genes and prognosis in sporadic forms of urothelial carcinoma of the upper urinary tract. *Actas Urol. Esp.* **38**, 600–607.
- Garg, K. and Soslow, R. A.** (2009). Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer) and endometrial carcinoma. *J. Clin. Pathol.* **62**, 679–684.
- Gaskin, B. J., Fernando, B. S., Sullivan, C. A., Whitehead, K. and Sullivan, T. J.** (2011). The significance of DNA mismatch repair genes in the diagnosis and management of periocular sebaceous cell carcinoma and Muir-Torre syndrome. *Br. J. Ophthalmol.* **95**, 1686–1690.
- Gausachs, M., Mur, P., Corral, J., Pineda, M., González, S., Benito, L., Menéndez, M., Espinàs, J. A., Brunet, J., Iñiesta, M. D., et al.** (2012). MLH1 promoter hypermethylation in the analytical algorithm of Lynch syndrome: a cost-effectiveness study. *Eur J Hum Genet Jul;20(7):762-8.*
- Georgeson, P., Walsh, M. D., Clendenning, M., Daneshvar, S., Pope, B. J., Mahmood, K., Joo, J. E., Jayasekara, H., Jenkins, M. A., Winship, I. M., et al.** (2019). Tumor mutational signatures in sebaceous skin lesions from individuals with Lynch syndrome. *Mol Genet Genomic Med Jul;7(7):e00781.*
- Georgiadis, A., Durham, J. N., Keefer, L. A., Bartlett, B. R., Zielonka, M., Murphy, D., White, J. R., Lu, S., Verner, E. L., Ruan, F., et al.** (2019). Noninvasive Detection of Microsatellite Instability and High Tumor Mutation Burden in Cancer Patients Treated with PD-1 Blockade. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **25**, 7024–7034.
- Gerson, S. L., Phillips, W., Kastan, M., Dumenco, L. L. and Donovan, C.** (1996). Human CD34+ hematopoietic progenitors have low, cytokine-unresponsive O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase and are sensitive to O6-benzylguanine plus BCNU. *Blood* **88**, 1649–1655.
- Giardiello, F. M., Allen, J. I., Axilbund, J. E., Boland, C. R., Burke, C. A., Burt, R. W., Church, J. M., Dornitz, J. A., Johnson, D. A., Kaltenbach, T., et al.** (2014). Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the US Multi-society Task Force on colorectal cancer. *Am. J. Gastroenterol.* **109**, 1159–1179.
- Goel, A., Nagasaka, T., Hamelin, R. and Boland, C. R.** (2010). An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. *PLoS One* **5**, e9393.
- Goldstein, J. B., Wu, W., Borrás, E., Masand, G., Cuddy, A., Mork, M. E., Bannon, S. A., Lynch, P. M., Rodríguez-Bigas, M., Taggart, M. W., et al.** (2017). Can Microsatellite Status of Colorectal Cancer Be Reliably Assessed after Neoadjuvant Therapy? *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **23**, 5246–5254.
- Goodfellow, P. J., Billingsley, C. C., Lankes, H. A., Ali, S., Cohn, D. E., Broaddus, R. J., Ramirez, N., Pritchard, C. C., Hampel, H., Chassen, A. S., et al.** (2015). MLH1 Methylation Analysis, and Immunohistochemistry for Lynch Syndrome Screening in Endometrial Cancers From GOG210: An NRG Oncology and Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* **20;33(36):4301-8.**
- Graham, L. S., Montgomery, B., Cheng, H. H., Yu, E. Y., Nelson, P. S., Pritchard, C., Erickson, S., Alva, A. and Schweizer, M. T.** (2020). Mismatch repair deficiency in metastatic prostate cancer: Response to PD-1 blockade and standard therapies. *PLoS One* **15**, e0233260.
- Gryfe, R., Kim, H., Hsieh, E. T., Aronson, M. D., Holowaty, E. J., Bull, S. B., Redston, M. and Gallinger, S.** (2000). Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **342**, 69–77.
- Guedes, L. B., Antonarakis, E. S., Schweizer, M. T., Mirkheshti, N., Almutairi, F., Park, J. C., Glavaris, S., Hicks, J., Eisenberger, M. A., De Marzo, A. M., et al.** (2017). *MSH2 Loss in Primary Prostate Cancer.* *Clin Cancer Res.*

Bibliographie

- Guerrini-Rousseau, L., Varlet, P., Colas, C., Andreiuolo, F., Bourdeaut, F., Dahan, K., Devalck, C., Faure-Conter, C., Genuardi, M., Goldberg, Y., *et al.* (2019). Constitutional mismatch repair deficiency-associated brain tumors: report from the European C4CMRD consortium. *Neuro-Oncol. Adv.* 1, vdz033.
- Gylling, A., Nieminen, T., Abdel-Rahman, W., Nuorva, K., Juhola, M., Joensuu, E., Järvinen, H., Mecklin, J., Aarnio, M. and Peltomäki, P. (2008). Differential cancer predisposition in Lynch syndrome: insights from molecular analysis of brain and urinary tract tumors. *Carcinogenesis* Jul;29(7):1351-9,.
- Hamilton, S. R., Liu, B., Parsons, R. E., Papadopoulos, N., Jen, J., Powell, S. M., Krush, A. J., Berk, T., Cohen, Z. and Tetu, B. (1995). The molecular basis of Turcot's syndrome. *N. Engl. J. Med.* 332, 839–847.
- Hampel, H., Frankel, W. L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., Nakagawa, H., Sotamaa, K., Prior, T. W., Westman, J., *et al.* (2005). Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N. Engl. J. Med.* 352, 1851–1860.
- Hampel, H., Frankel, W., Panescu, J., Lockman, J., Sotamaa, K., Fix, D., Comeras, I., La Jeunesse, J., Nakagawa, H., Westman, J. A., *et al.* (2006). Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res.* 66, 7810–7817.
- Hampel, H., Frankel, W. L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P. and Clendenning, M. (2008). Feasibility of Screening for Lynch Syndrome among Patients with Colorectal Cancer ». *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 26, 5783–88.
- Hampel, H., Pearlman, R., Beightol, M., Zhao, W., Jones, D., Frankel, W. L., Goodfellow, P. J., Yilmaz, A., Miller, K., Bacher, J., *et al.* (2018). Ohio Colorectal Cancer Prevention Initiative Study Group. Assessment of Tumor Sequencing as a Replacement for Lynch Syndrome Screening and Current Molecular Tests for Patients With Colorectal Cancer. *JAMA Oncol* 1;4(6):806-813,.
- Haraldsdottir, S., Roth, R., Pearlman, R., Hampel, H., Arnold, C. A. and Frankel, W. L. (2016). Mismatch Repair Deficiency Concordance between Primary Colorectal Cancer and Corresponding Metastasis ». *Fam. Cancer* 15, 253–60.
- Harper, H. L., McKenney, J. K., Heald, B., Stephenson, A., Campbell, S. C., Plesec, T. and Magi-Galluzzi, C. (2017). Upper tract urothelial carcinomas: frequency of association with mismatch repair protein loss and lynch syndrome. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 30, 146–156.
- Hartmann, A., Zanardo, L., Bocker-Edmonston, T., Blaszyk, H., Dietmaier, W., Stoehr, R., Chevillat, J. C., Junker, K., Wieland, W., Knuechel, R., *et al.* (2002). Frequent microsatellite instability in sporadic tumors of the upper urinary tract. *Cancer Res* 62, 6796–6802.
- Harwood, C. A., Swale, V. J., Bataille, V. A., Quinn, A. G., Ghali, L., Patel, S. V., Dove-Edwin, I., Cerio, R. and McGregor, J. M. (2001). An association between sebaceous carcinoma and microsatellite instability in immunosuppressed organ transplant recipients. *J. Invest. Dermatol.* 116, 246–253.
- Harwood, C. A., McGregor, J. M., Swale, V. J., Proby, C. M., Leigh, I. M., Newton, R., Khorshid, S. M. and Cerio, R. (2003). High frequency and diversity of cutaneous appendageal tumors in organ transplant recipients. *J. Am. Acad. Dermatol.* 48, 401–408.
- Hatch, S. B., Lightfoot, H. M., Garwacki, C. P., Moore, D. T., Calvo, B. F., Woosley, J. T., Sciarrotta, J., Funkhouser, W. K. and Farber, R. A. (2005). Microsatellite instability testing in colorectal carcinoma: choice of markers affects sensitivity of detection of mismatch repair-deficient tumors. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 11, 2180–2187.
- Hause, R. J., Pritchard, C. C., Shendure, J. and Salipante, S. J. (2016). Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nat. Med.* 22, 1342–1350.
- Haute Autorité de Santé (2010). Élaboration de recommandations de bonne pratique Méthode «Recommandations par consensus formalisé».
- He, W.-Z., Hu, W.-M., Wang, F., Rong, Y.-M., Yang, L., Xie, Q.-K. and Yang, Y.-Z. (2019). Comparison of Mismatch Repair Status Between Primary and Matched Metastatic Sites in Patients With Colorectal Cancer ». *J. Natl. Compr. Cancer Netw. JNCCN* 17, 1174–83.

Bibliographie

- Heath, J. A., Ng, J., Beshay, V., Coleman, L., Lo, P. and Amor, D. J. (2013). Anaplastic oligodendroglioma in an adolescent with Lynch syndrome. *Pediatr Blood Cancer* Jun;60(6):E13-5,.
- Hechtman, J. F., Rana, S., Middha, S., Stadler, Z. K., Latham, A., Benayed, R., Soslow, R., Ladanyi, M., Yaeger, R., Zehir, A., et al. (2020). Retained mismatch repair protein expression occurs in approximately 6% of microsatellite instability-high cancers and is associated with missense mutations in mismatch repair genes. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 33, 871–879.
- Hempelmann, J. A., Lockwood, C. M., Konnick, E. Q., Schweizer, M. T., Antonarakis, E. S., Lotan, T. L., Montgomery, B., Nelson, P. S., Klemfuss, N., Salipante, S. J., et al. (2018). Microsatellite instability in prostate cancer by PCR or next-generation sequencing. *J. Immunother. Cancer* 6, 29.
- Hendriks, Y. M., Wagner, A., Morreau, H., Menko, F., Stormorken, A., Quehenberger, F., Sandkuijl, L., Moller, P., Genuardi, M., Van Houwelingen, H., et al. (2004). Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. *Gastroenterology* 127, 17–25.
- Hitchins, M. P. (2016). Finding the needle in a haystack: identification of cases of Lynch syndrome with MLH1 epimutation. *Fam Cancer* Jul;15(3):413-22,.
- Hollande, C., Colin, P., de La Motte Rouge, T., Audenet, F., Yates, D. R., Phé, V., Ouzzane, A., Droupy, S., Ruffion, A., de La Taille, A., et al. (2014). Hereditary-like urothelial carcinomas of the upper urinary tract benefit more from adjuvant cisplatin-based chemotherapy after radical nephroureterectomy than do sporadic tumours. *BJU Int.* 113, 574–580.
- Honchel, R., Halling, K. C., Schaid, D. J., Pittelkow, M. and Thibodeau, S. N. (1994). Microsatellite instability in Muir-Torre syndrome. *Cancer Res.* 54, 1159–1163.
- Hu, H., Chang, D. T., Nikiforova, M. N., Kuan, S.-F. and Pai, R. K. (2013). Clinicopathologic features of synchronous colorectal carcinoma: A distinct subset arising from multiple sessile serrated adenomas and associated with high levels of microsatellite instability and favorable prognosis. *Am. J. Surg. Pathol.* 37, 1660–1670.
- Hunter, C., Smith, R., Cahill, D. P., Stephens, P., Stevens, C., Teague, J., Greenman, C., Edkins, S., Bignell, G., Davies, H., et al. (2006). A hypermutation phenotype and somatic MSH6 mutations in recurrent human malignant gliomas after alkylator chemotherapy. *Cancer Res.* 66, 3987–3991.
- INCa (2010). Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides.
- INCa (2016). *Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch* ». INCa.
- INCa, Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch (2016). Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch.
- Ishimaru, G., Adachi, J., Shiseki, M., Yamaguchi, N., Muto, T. and Yokota, J. (1995). Microsatellite Instability in Primary and Metastatic Colorectal Cancers ». *Int. J. Cancer* 64, 153–57.
- Ito, T., Kono, K., Eguchi, H., Okazaki, Y., Yamamoto, G., Tachikawa, T., Akagi, K., Okada, Y., Kawakami, S., Morozumi, M., et al. (2020). Prevalence of Lynch syndrome among patients with upper urinary tract carcinoma in a Japanese hospital-based population. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 50, 80–88.
- Jaffrelot, M., Farès, N., Brunac, A. C., Laurenty, A. P., Danjoux, M., Grand, D., Icher, S., Meilleroux, J., Mery, E., Buscail, E., et al. (sous presse). An unusual phenotype occurs in 15% of mismatch repair deficient tumors and is associated with non-colorectal cancers and genetic syndromes. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc.*
- Jamil, M. L., Deebajah, M., Sood, A. and Alanee, S. (2019). Combination of pembrolizumab and BCG treatment after endoscopic ablation of high-risk superficial upper urinary tract urothelial carcinoma in patients not candidates for radical nephroureterectomy: protocol for phase-II study. *BMJ Open* 9, e027066.
- Järvinen, H. J., Aarnio, M., Mustonen, H., Aktan-Collan, K., Aaltonen, L. A., Peltomäki, P., De La Chapelle, A. and Mecklin, J. P. (2000). Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 118, 829–834.

Bibliographie

- Jiricny, J. (2006). The multifaceted mismatch-repair system. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 335–346.
- Johansen, A. F. B., Kassentoft, C. G. and Knudsen, M. (2019). Validation of computational determination of microsatellite status using whole exome sequencing data from colorectal cancer patients. *BMC Cancer* 19,.
- Johnson, B. E., Mazor, T., Hong, C., Barnes, M., Aihara, K., McLean, C. Y., Fouse, S. D., Yamamoto, S., Ueda, H., Tatsuno, K., *et al.* (2014). Mutational analysis reveals the origin and therapy-driven evolution of recurrent glioma. *Science* 343, 189–193.
- Joly, M.-O., Attignon, V., Saurin, J.-C., Desseigne, F., Leroux, D., Martin-Denavit, T., Giraud, S., Bonnet-Dupeyron, M.-N., Faivre, L., Auclair, J., *et al.* (2015). Somatic MMR gene mutations as a cause for MSI-H sebaceous neoplasms in Muir-Torre syndrome-like patients. *Hum. Mutat.* 36, 292–295.
- Jones, S., Stransky, N., McCord, C. L., Cerami, E., Lagowski, J., Kelly, D., Angiuoli, S. V., Sausen, M., Kann, L., Shukla, M., *et al.* (2014). Genomic analyses of gynaecologic carcinosarcomas reveal frequent mutations in chromatin remodelling genes. *Nat. Commun.* 5, 5006.
- Jones, J. C., Renfro, L. A., Al-Shamsi, H. O., Schrock, A. B., Rankin, A., Zhang, B. Y., Kasi, P. M., Voss, J. S., Leal, A. D., Sun, J., *et al.* (2017). Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 10;35(23):2624-2630,.
- Joost, P., Veurink, N., Holck, S., Klarskov, L., Bojesen, A., Harbo, M., Baldetorp, B., Rambech, E. and Nilbert, M. (2014). Heterogenous mismatch-repair status in colorectal cancer. *Diagn Pathol.*
- Joost, P., Therkildsen, C., Dominguez-Valentin, M., Jönsson, M. and Nilbert, M. (2015). Urinary Tract Cancer in Lynch Syndrome; Increased Risk in Carriers of MSH2 Mutations. *Urology* 86, 1212–1217.
- Ju, J. Y., Mills, A. M., Mahadevan, M. S., Fan, J., Culp, S. H., Thomas, M. H. and Cathro, H. P. (2018). Universal Lynch Syndrome Screening Should be Performed in All Upper Tract Urothelial Carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.* 42, 1549–1555.
- Ju, J. Y., Dibbern, M. E., Mahadevan, M. S., Fan, J., Kunk, P. R. and Stelow, E. B. (2019). Mismatch Repair Protein Deficiency/Microsatellite Instability Is Rare in Cholangiocarcinomas and Associated With Distinctive Morphologies. *Am. J. Clin. Pathol.*
- Jun, S.-Y., Lee, E.-J., Kim, M.-J., Chun, S. M., Bae, Y. K., Hong, S. U., Choi, J., Kim, J. M., Jang, K.-T., Kim, J. Y., *et al.* (2017). Lynch syndrome-related small intestinal adenocarcinomas. *Oncotarget* 8, 21483–21500.
- Jung, J., Kang, Y., Lee, Y. J., Kim, E., Ahn, B., Lee, E. and Kim, J. Y. (2017). Comparison of the Mismatch Repair System between Primary and Metastatic Colorectal Cancers Using Immunohistochemistry ». *J. Pathol. Transl. Med.* 51, 129–36.
- Kadyrov, F. A., Dzantiev, L., Constantin, N. and Modrich, P. (2006). Endonucleolytic function of MutLalpha in human mismatch repair. *Cell* 126, 297–308.
- Kahn, R. M., Gordhandas, S., Maddy, B. P., Baltich Nelson, B., Askin, G., Christos, P. J., Caputo, T. A., Chapman-Davis, E., Holcomb, K. and Frey, M. K. (2019). Universal endometrial cancer tumor typing: How much has immunohistochemistry, microsatellite instability, and MLH1 methylation improved the diagnosis of Lynch syndrome across the population? *Cancer* 125, 3172–3183.
- Kandoth, C., McLellan, M. D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., Lu, C., Xie, M., Zhang, Q., McMichael, J. F., Wyczalkowski, M. A., *et al.* (2013). Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature* 502, 333–339.
- Kato, A., Sato, N., Sugawara, T., Takahashi, K., Kito, M., Makino, K., Sato, T., Shimizu, D., Shirasawa, H., Miura, H., *et al.* (2016). Isolated Loss of PMS2 Immunohistochemical Expression is Frequently Caused by Heterogenous MLH1 Promoter Hypermethylation in Lynch Syndrome Screening for Endometrial Cancer Patients. *Am. J. Surg. Pathol.* 40, 770–776.
- Kautto, E. A., Bonneville, R. and Miya, J. (2017). Performance evaluation for rapid detection of pan-cancer microsatellite instability with MANTIS. *Oncotarget* 8, 7452–7463.
- Kawaguchi, M., Yanokura, M., Banno, K., Kobayashi, Y., Kuwabara, Y., Kobayashi, M., Nomura, H., Hirasawa, A., Susumu, N. and Aoki, D. (2009). Analysis of a correlation between the BRAF V600E mutation and abnormal DNA mismatch repair in patients with sporadic endometrial cancer. *Int J Oncol* Jun;34(6):1541-7,.
- Kim, T.-M. and Park, P. J. (2014). A genome-wide view of microsatellite instability: old stories of cancer mutations revisited with new sequencing technologies. *Cancer Res.* 74, 6377–6382.

Bibliographie

- Kim, H., Jen, J., Vogelstein, B. and Hamilton, S. R. (1994). Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am. J. Pathol.* 145, 148–156.
- Kim, K. J., Lee, T. H., Cho, N. Y., Yang, H. K., Kim, W. H. and Kang, G. H. (2013). Differential clinicopathologic features in microsatellite-unstable gastric cancers with and without MLH1 methylation. *Hum Pathol* Jun;44(6):1055-64,.
- Kim, S. Y., Choi, Y. Y., An, J. Y., Shin, H. B., Jo, A., Choi, H., Seo, S. H., Bang, H.-J., Cheong, J.-H., Hyung, W. J., *et al.* (2015). The benefit of microsatellite instability is attenuated by chemotherapy in stage II and stage III gastric cancer: Results from a large cohort with subgroup analyses. *Int. J. Cancer* 137, 819–825.
- Kim, S. T., Cristescu, R., Bass, A. J., Kim, K.-M., Odegaard, J. I., Kim, K., Liu, X. Q., Sher, X., Jung, H., Lee, M., *et al.* (2018). Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer. *Nat. Med.* 24, 1449–1458.
- Kishore, S., Piscuoglio, S., Kovac, M. B., Gylling, A., Wenzel, F., Trapani, F., Altermatt, H. J., Mele, V., Marra, G., Peltomäki, P., *et al.* (2014). 3'-UTR poly(T/U) tract deletions and altered expression of EWSR1 are a hallmark of mismatch repair-deficient cancers. *Cancer Res* 1;74(1):224-34,.
- Klarskov, L., Ladelund, S., Holck, S., Roenlund, K., Lindebjerg, J., Elebro, J., Halvarsson, B., von Salomé, J., Bernstein, I. and Nilbert, M. (2010). Interobserver variability in the evaluation of mismatch repair protein immunostaining. *Hum. Pathol.* 41, 1387–1396.
- Kommos, S., McConechy, M. K., Kommos, F., Leung, S., Bunz, A., Magrill, J., Britton, H., Kommos, F., Grevenkamp, F., Karnezis, A., *et al.* (2018). Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 29, 1180–1188.
- Kondelin, J., Tuupainen, S., Gylfe, A. E., Aavikko, M., Renkonen-Sinisalo, L., Järvinen, H., Böhm, J., Mecklin, J. P., Andersen, C. L., Vahteristo, P., *et al.* (2015). 3'-UTR poly(T/U) repeat of EWSR1 is altered in microsatellite unstable colorectal cancer with nearly perfect sensitivity. *Fam Cancer Sep;14(3):449-53,.*
- Krämer, P., Talhouk, A., Brett, M. A., Chiu, D. S., Cairns, E. S., Scheunhage, D. A., Hammond, R. F. L., Farnell, D., Nazeran, T. M., Grube, M., *et al.* (2020). Endometrial Cancer Molecular Risk Stratification is Equally Prognostic for Endometrioid Ovarian Carcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 26, 5400–5410.
- Kruse, R., Rütten, A., Lamberti, C., Hosseiny-Malayeri, H. R., Wang, Y., Ruelfs, C., Jungck, M., Mathiak, M., Ruzicka, T., Hartschuh, W., *et al.* (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.
- Kuan, S.-F., Ren, B., Brand, R., Dudley, B. and Pai, R. K. (2017). Neoadjuvant therapy in microsatellite-stable colorectal carcinoma induces concomitant loss of MSH6 and Ki-67 expression. *Hum. Pathol.* 63, 33–39.
- Kuismanen, S. A., Moisio, A. L., Schweizer, P., Truninger, K., Salovaara, R., Arola, J., Butzow, R., Jiricny, J. and Nyström-Lahti, M. (2002). Peltomäki P. Endometrial and colorectal tumors from patients with hereditary nonpolyposis colon cancer display different patterns of microsatellite instability. *Am J Pathol* Jun;160(6):1953-8,.
- Kushnir, V. M., Nalbantoglu, I., Watson, R., Goodwin, J., Safar, E., Chokshi, R. V., Azar, R. R. and Davidson, N. O. (2014). Advanced colorectal adenomas in patients under 45 years of age are mostly sporadic. *Dig. Dis. Sci.* 59, 2757–2764.
- Kuwabara, K., Suzuki, O., Chika, N., Kumamoto, K., Minabe, T., Fukuda, T., Arai, E., Tamaru, J.-I., Akagi, K., Eguchi, H., *et al.* (2018). Prevalence and molecular characteristics of DNA mismatch repair protein-deficient sebaceous neoplasms and keratoacanthomas in a Japanese hospital-based population. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 48, 514–521.
- Kwon, J. S., Scott, J. L., Gilks, C. B., Daniels, M. S., Sun, C. C. and Lu, K. H. (2011). Testing women with endometrial cancer to detect Lynch syndrome. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 29, 2247–2252.
- Ladas, I., Yu, F., Leong, K. W., Fitarelli-Kiehl, M., Song, C., Ashtaputre, R., Kulke, M., Mamon, H. and Makrigiorgos, G. M. (2018). Enhanced detection of microsatellite instability using pre-PCR elimination of wild-type DNA homo-polymers in tissue and liquid biopsies. *Nucleic Acids Res.* 46, e74.
- Lamba, A. R., Moore, A. Y. and Moore, T. (2015). Defective DNA mismatch repair activity is common in sebaceous neoplasms, and may be an ineffective approach to screen for Lynch syndrome. *Fam. Cancer.*

Bibliographie

- Larsen, N. B., Engel, P. J. H., Rasmussen, M. and Rasmussen, L. J. (2009). Differential Expression of HMLH1 in Sporadic Human Colorectal Cancer Tumors and Distant Metastases ». *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 117, 839–48.
- Lasota, J., Kowalik, A., Wasag, B., Wang, Z. F., Felisiak-Golabek, A., Coates, T., Kopczynski, J., Gozdz, S. and Miettinen, M. (2014). Detection of the BRAF V600E mutation in colon carcinoma: critical evaluation of the immunohistochemical approach. *Am J Surg Pathol* Sep;38(9):1235-41,.
- Latham, A., Srinivasan, P., Kemel, Y., Shia, J., Bandlamudi, C., Mandelker, D., Middha, S., Hechtman, J., Zehir, A., Dubard-Gault, M., et al. (2019). Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 37, 286–295.
- Lavoine, N., Colas, C., Muleris, M., Bodo, S., Duval, A., Entz-Werle, N., Coulet, F., Cabaret, O., Andreiuolo, F., Charpy, C., et al. (2015). Constitutional mismatch repair deficiency syndrome: clinical description in a French cohort. *J. Med. Genet.* 52, 770–778.
- Le, D. T., Uram, J. N., Wang, H., Bartlett, B. R., Kemberling, H., Eyring, A. D., Skora, A. D., Luber, B. S., Azad, N. S., Laheru, D., et al. (2015). PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N. Engl. J. Med.* 372, 2509–2520.
- Le, D. T., Durham, J. N., Smith, K. N., Wang, H., Bartlett, B. R., Aulakh, L. K., Lu, S., Kemberling, H., Wilt, C., Luber, B. S., et al. (2017). Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 357, 409–413.
- Lecomte, T., André, T., Bibeau, F., Cohen, R., Lagasse, J., Laurent-Puig, P., Martin-Babau, J., Panis, Y., Portales, F., Taïeb, J., et al. (2019). Cancer du côlon non métastatique - Thésaurus National de Cancérologie Digestive.
- Lee, B. A., Yu, L., Ma, L., Lind, A. C. and Lu, D. (2012). Sebaceous neoplasms with mismatch repair protein expressions and the frequency of co-existing visceral tumors. *J. Am. Acad. Dermatol.* 67, 1228–1234.
- Lee, J. B., Litzner, B. R. and Vidal, C. I. (2017). Review of the current medical literature and assessment of current utilization patterns regarding mismatch repair protein immunohistochemistry in cutaneous Muir-Torre syndrome-associated neoplasms. *J. Cutan. Pathol.* 44, 931–937.
- Lee, M., Chun, S. M., Sung, C. O., Kim, S. Y., Kim, T. W., Jang, S. J. and Kim, J. (2019). Clinical Utility of a Fully Automated Microsatellite Instability Test with Minimal Hands-on Time. *J Pathol Transl Med.*
- Leenen, C. H., Geurts-Giele, W. R., Dubbink, H. J., Reddingius, R., Ouweland, A. M., Tops, C. M., Klift, H. M., Kuipers, E. J., Leerdam, M. E., Dinjens, W. N., et al. (2011). Pitfalls in molecular analysis for mismatch repair deficiency in a family with biallelic pms2 germline mutations. *Clin Genet* Dec;80(6):558-65,.
- Leenen, C. H., Lier, M. G., Doorn, H. C., Leerdam, M. E., Kooi, S. G., Waard, J., Hoedemaeker, R. F., Ouweland, A. M., Hulspas, S. M., Dubbink, H. J., et al. (2012). Prospective evaluation of molecular screening for Lynch syndrome in patients with endometrial cancer ≤ 70 years. *Gynecol Oncol* May;125(2):414-20,.
- León-Castillo, A., de Boer, S. M., Powell, M. E., Mileschkin, L. R., Mackay, H. J., Leary, A., Nijman, H. W., Singh, N., Pollock, P. M., Bessette, P., et al. (2020). Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 38, 3388–3397.
- Leskela, S., Romero, I., Cristobal, E., Pérez-Mies, B., Rosa-Rosa, J. M., Gutierrez-Pecharroman, A., Caniego-Casas, T., Santón, A., Ojeda, B., López-Reig, R., et al. (2020). Mismatch Repair Deficiency in Ovarian Carcinoma: Frequency, Causes, and Consequences. *Am. J. Surg. Pathol.* 44, 649–656.
- Li, X., Xu, J., Li, L., Mu, X., Wang, Y. and Li, X. (2019). Evaluation of a Fully Automated Idylla Test System for Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer* Dec;18(4):e316-e323,.
- Liau, J.-Y., Liao, S.-L., Hsiao, C.-H., Lin, M.-C., Chang, H.-C. and Kuo, K.-T. (2014). Hypermethylation of the CDKN2A gene promoter is a frequent epigenetic change in periocular sebaceous carcinoma and is associated with younger patient age. *Hum. Pathol.* 45, 533–539.
- Libera, L., Sahnane, N., Carnevali, I. W., Cimetti, L., Cerutti, R., Chiaravalli, A. M., Riva, C., Tibiletti, M. G., Sessa, F. and Furlan, D. (2017). Microsatellite analysis of sporadic and hereditary gynaecological cancer in routine diagnostics. *J Clin Pathol* Sep;70(9):792-797,.

Bibliographie

- Lindor, N. M., Burgart, L. J., Leontovich, O., Goldberg, R. M., Cunningham, J. M., Sargent, D. J., Walsh-Vockley, C., Petersen, G. M., Walsh, M. D., Leggett, B. A., *et al.* (2002). Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 20, 1043–1048.
- Loughrey, M. B., Waring, P. M., Tan, A., Trivett, M., Kovalenko, S., Beshay, V., Young, M. A., McArthur, G., Boussioutas, A. and Dobrovic, A. (2007). Incorporation of somatic BRAF mutation testing into an algorithm for the investigation of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Fam Cancer* 6, 301–10.
- Louis, D., Ohgaki, H., Wiestler, O. and Cavenee, W. (2016). *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, 4th Edition.*
- Lu, K. H., Dinh, M., Kohlmann, W., Watson, P., Green, J., Syngal, S., Bandipalliam, P., Chen, L.-M., Allen, B., Conrad, P., *et al.* (2005). Gynecologic cancer as a “sentinel cancer” for women with hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Obstet. Gynecol.* 105, 569–574.
- Luchini, C., Bibeau, F., Ligtenberg, M. J. L., Singh, N., Nottegar, A., Bosse, T., Miller, R., Riaz, N., Douillard, J.-Y., Andre, F., *et al.* (2019). ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann. Oncol.* 30, 1232–1243.
- Luchini, Brosens, L. A. A., Wood, L. D., Chatterjee, D., Shin, J. I., Sciammarella, C., Fiadone, G., Malleo, G., Salvia, R., Kryklyva, V., *et al.* (2020). Comprehensive characterisation of pancreatic ductal adenocarcinoma with microsatellite instability: histology, molecular pathology and clinical implications. *Gut.*
- Lupinacci, R. M., Goloudina, A., Buhard, O., Bachet, J.-B., Maréchal, R., Demetter, P., Cros, J., Bardier-Dupas, A., Collura, A., Cervera, P., *et al.* (2018). Prevalence of Microsatellite Instability in Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Gastroenterology* 154, 1061–1065.
- Lynch, H. T., Snyder, C. L., Shaw, T. G., Heinen, C. D. and Hitchins, M. P. (2015a). Milestones of Lynch Syndrome: 1895-2015 ». *Nat. Rev. Cancer* 15, 181–94.
- Lynch, H. T., Snyder, C. L., Shaw, T. G., Heinen, C. D. and Hitchins, M. P. (2015b). Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat. Rev. Cancer* 15, 181–194.
- Machin, P., Catusus, L., Pons, C., Muñoz, J., Conde-Zurita, J. M., Balmaña, J., Barnadas, M., Martí, R. M., Prat, J. and Matias-Guiu, X. (2002). Microsatellite instability and immunostaining for MSH-2 and MLH-1 in cutaneous and internal tumors from patients with the Muir-Torre syndrome. *J Cutan Pathol* Aug;29(7):415-20,.
- Maletzki, C., Huehns, M., Bauer, I., Ripperger, T., Mork, M. M., Vilar, E., Klöcking, S., Zettl, H., Prall, F. and Linnebacher, M. (2017). Frameshift mutational target gene analysis identifies similarities and differences in constitutional mismatch repair-deficiency and Lynch syndrome. *Mol. Carcinog.* 56, 1753–1764.
- Marabelle, A., Le, D. T., Ascierto, P. A., Di Giacomo, A. M., De Jesus-Acosta, A., Delord, J.-P., Geva, R., Gottfried, M., Penel, N., Hansen, A. R., *et al.* (2020). Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 1–10.
- Marcoval, J., Talavera-Belmonte, A., Fornons-Servent, R., Bauer-Alonso, A., Penín, R. M. and Servitje, O. (2019). Cutaneous sebaceous tumours and Lynch syndrome: long-term follow-up of 60 patients. *Clin. Exp. Dermatol.* 44, 506–511.
- Mateo, J., Boysen, G., Barbieri, C. E., Bryant, H. E., Castro, E., Nelson, P. S., Olmos, D., Pritchard, C. C., Rubin, M. A. and de Bono, J. S. (2017). DNA Repair in Prostate Cancer: Biology and Clinical Implications. *Eur. Urol.* 71, 417–425.
- Mathiak, M., Rütten, A., Mangold, E., Fischer, H.-P., Ruzicka, T., Friedl, W., Propping, P. and Kruse, R. (2002). Loss of DNA mismatch repair proteins in skin tumors from patients with Muir-Torre syndrome and MSH2 or MLH1 germline mutations: establishment of immunohistochemical analysis as a screening test. *Am. J. Surg. Pathol.* 26, 338–343.
- McCord, M., Steffens, A., Javier, R., Kam, K.-L., McCortney, K. and Horbinski, C. (2020). The efficacy of DNA mismatch repair enzyme immunohistochemistry as a screening test for hypermutated gliomas. *Acta Neuropathol. Commun.* 8, 15.

Bibliographie

- McMeekin, S., Dizon, D., Barter, J., Scambia, G., Manzyuk, L., Lisyanskaya, A., Oaknin, A., Ringuette, S., Mukhopadhyay, P., Rosenberg, J., *et al.* (2015). Phase III randomized trial of second-line ixabepilone versus paclitaxel or doxorubicin in women with advanced endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 138, 18–23.
- McMeekin, D. S., Trichter, D. L., Cohn, D. E., Mutch, D. G., Lankes, H. A., Geller, M. A., Powell, M. A., Backes, F. J., Landrum, L. M., Zaino, R., *et al.* (2016). Clinicopathologic Significance of Mismatch Repair Defects in Endometrial Cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 34, 3062–3068.
- Melloni, G., Doglioni, C., Bandiera, A., Carretta, A., Ciriaco, P., Arrigoni, G. and Zannini, P. (2006). Prognostic Factors and Analysis of Microsatellite Instability in Resected Pulmonary Metastases from Colorectal Carcinoma ». *Ann. Thorac. Surg.* 81, 2008–13.
- Mensenkamp, A. R., Vogelaar, I. P., van Zelst-Stams, W. A. G., Goossens, M., Ouchene, H., Hendriks-Cornelissen, S. J. B., Kwint, M. P., Hoogerbrugge, N., Nagtegaal, I. D. and Ligtenberg, M. J. L. (2014). Somatic mutations in MLH1 and MSH2 are a frequent cause of mismatch-repair deficiency in Lynch syndrome-like tumors. *Gastroenterology* 146, 643-646.e8.
- Metcalfe, M. J., Petros, F. G., Rao, P., Mork, M. E., Xiao, L., Broaddus, R. R. and Matin, S. F. (2018). Universal Point of Care Testing for Lynch Syndrome in Patients with Upper Tract Urothelial Carcinoma. *J. Urol.* 199, 60–65.
- Middha, S., Zhang, L., Nafa, K., Niu, B., Ye, K. and Zhang, Q. (2017). Reliable Pan-Cancer Microsatellite Instability Assessment by Using Targeted Next-Generation Sequencing Data. *JCO Precis Oncol* 2017, 1015–6.
- Mojtahed, A., Schrijver, I., Ford, J. M., Longacre, T. A. and Pai, R. K. (2011). A two-antibody mismatch repair protein immunohistochemistry screening approach for colorectal carcinomas, skin sebaceous tumors, and gynecologic tract carcinomas. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 24, 1004–1014.
- Mongiat-Artus, P., Miquel, C., Aa, M., Buhard, O., Hamelin, R., Soliman, H., Bangma, C., Janin, A., Teillac, P., Kwast, T., *et al.* (2006). Microsatellite instability and mutation analysis of candidate genes in urothelial cell carcinomas of upper urinary tract. *Oncogene* 30;25(14):2113–8,.
- Moreira, L., Muñoz, J., Cuatrecasas, M., Quintanilla, I., Leoz, M. L., Carballal, S., Ocaña, T., López-Cerón, M., Pellise, M., Castellví-Bel, S., *et al.* (2015). Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Prevalence of somatic mutl homolog 1 promoter hypermethylation in Lynch syndrome colorectal cancer. *Cancer* 1;121(9):1395-404,.
- Murali, R., Davidson, B., Fadare, O., Carlson, J. A., Crum, C. P., Gilks, C. B., Irving, J. A., Malpica, A., Matias-Guiu, X., McCluggage, W. G., *et al.* (2019). High-grade Endometrial Carcinomas: Morphologic and Immunohistochemical Features, Diagnostic Challenges and Recommendations. *Int. J. Gynecol. Pathol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Pathol.* 38 Suppl 1, S40–S63.
- Murata, A., Baba, Y., Watanabe, M., Shigaki, H., Miyake, K., Ishimoto, T. and Iwatsuki, M. (2013). Methylation Levels of LINE-1 in Primary Lesion and Matched Metastatic Lesions of Colorectal Cancer ». *Br. J. Cancer* 109, 408–15.
- Mutch, D. G., Powell, M. A., Mallon, M. A. and Goodfellow, P. J. (2004). RAS/RAF mutation and defective DNA mismatch repair in endometrial cancers. *Am J Obstet Gynecol* Apr;190(4):935-42,.
- Necchi, A., Madison, R., Pal, S. K., Ross, J. S., Agarwal, N., Sonpavde, G., Joshi, M., Yin, M., Miller, V. A., Grivas, P., *et al.* (2020). Comprehensive Genomic Profiling of Upper-tract and Bladder Urothelial Carcinoma. *Eur. Urol. Focus.*
- Newton, K., Jorgensen, N. M., Wallace, A. J., Buchanan, D. D., Laloo, F., McMahon, R. F. T., Hill, J. and Evans, D. G. (2014). Tumour MLH1 promoter region methylation testing is an effective prescreen for Lynch Syndrome (HNPCC). *J. Med. Genet.* 51, 789–796.
- Niskakoski, A., Kaur, S., Renkonen-Sinisalo, L., Lassus, H., Järvinen, H. J., Mecklin, J. P., Bützow, R. and Peltomäki, P. (2013). Distinct molecular profiles in Lynch syndrome-associated and sporadic ovarian carcinomas. *Int J Cancer* 1;133(11):2596-608,.
- Oaknin, A., Tinker, A. V., Gilbert, L., Samouëlian, V., Mathews, C., Brown, J., Barretina-Ginesta, M.-P., Moreno, V., Gravina, A., Abdeddaim, C., *et al.* (2020). Clinical Activity and Safety of the Anti-Programmed Death 1 Monoclonal Antibody Dostarlimab for Patients With Recurrent or Advanced Mismatch Repair-Deficient Endometrial Cancer: A Nonrandomized Phase 1 Clinical Trial. *JAMA Oncol.*

Bibliographie

- Ondrejka, S. L., Schaeffer, D. F., Jakubowski, M. A., Owen, D. A. and Bronner, M. P. (2011). Does neoadjuvant therapy alter KRAS and/or MSI results in rectal adenocarcinoma testing? *Am. J. Surg. Pathol.* **35**, 1327–1330.
- Orta, L., Klimstra, D. S., Qin, J., Mecca, P., Tang, L. H., Busam, K. J. and Shia, J.** (2009). Towards identification of hereditary DNA mismatch repair deficiency: sebaceous neoplasm warrants routine immunohistochemical screening regardless of patient's age or other clinical characteristics. *Am. J. Surg. Pathol.* **33**, 934–944.
- Ott, P. A., Bang, Y.-J., Berton-Rigaud, D., Elez, E., Pishvaian, M. J., Rugo, H. S., Puzanov, I., Mehnert, J. M., Aung, K. L., Lopez, J., et al.** (2017). Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Advanced Programmed Death Ligand 1-Positive Endometrial Cancer: Results From the KEYNOTE-028 Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **35**, 2535–2541.
- Overbeek, L. I. H., Ligtenberg, M. J. L., Willems, R. W., Hermens, R. P. M. G., Blokk, W. A. M., Dubois, S. V., van der Linden, H., Meijer, J. W. R., Mlynek-Kersjes, M. L., Hoogerbrugge, N., et al.** (2008). Interpretation of immunohistochemistry for mismatch repair proteins is only reliable in a specialized setting. *Am. J. Surg. Pathol.* **32**, 1246–1251.
- Overman, M. J., McDermott, R., Leach, J. L., Lonardi, S., Lenz, H.-J., Morse, M. A., Desai, J., Hill, A., Axelson, M., Moss, R. A., et al.** (2017). Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* **18**, 1182–1191.
- Overman, M. J., Lonardi, S., Wong, K. Y. M., Lenz, H.-J., Gelsomino, F., Aglietta, M., Morse, M. A., Van Cutsem, E., McDermott, R., Hill, A., et al.** (2018). Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J. Clin. Oncol.* **36**, 773–779.
- Owen, J. L., Kibbi, N., Worley, B., Kelm, R. C., Wang, J. V., Barker, C. A., Behshad, R., Bichakjian, C. K., Bolotin, D., Bordeaux, J. S., et al.** (2019). Sebaceous carcinoma: evidence-based clinical practice guidelines. *Lancet Oncol.* **20**, e699–e714.
- Pagin, A., Zerimech, F., Leclerc, J., Wacrenier, A., Lejeune, S., Descarpentries, C., Escande, F., Porchet, N. and Buisine, M. P.** (2013). Evaluation of a new panel of six mononucleotide repeat markers for the detection of DNA mismatch repair-deficient tumours. *Br J Cancer* **28;108(10):2079-87**,.
- Pai, R. K. and Pai, R. K.** (2016). A Practical Approach to the Evaluation of Gastrointestinal Tract Carcinomas for Lynch Syndrome ». *Am. J. Surg. Pathol.* **40**, 17–34.
- Pai, R. K., Plesec, T. P., Abdul-Karim, F. W., Yang, B., Marquard, J., Shadrach, B. and Roma, A. R.** (2015). Abrupt loss of MLH1 and PMS2 expression in endometrial carcinoma: molecular and morphologic analysis of 6 cases. *Am J Surg Pathol Jul;39(7):993-9*,.
- Palombo, F., Gallinari, P., Iaccarino, I., Lettieri, T., Hughes, M., D'Arrigo, A., Truong, O., Hsuan, J. J. and Jiricny, J.** (1995). GTBP, a 160-kilodalton protein essential for mismatch-binding activity in human cells. *Science* **268**, 1912–1914.
- Parsons, M. T., Buchanan, D. D., Thompson, B., Young, J. P. and Spurdle, A. B.** (2012). Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J Med Genet Mar;49(3):151-7*,.
- Pearlman, R., Markow, M., Knight, D., Chen, W., Arnold, C. A., Pritchard, C. C., Hampel, H. and Frankel, W. L.** (2018). Two-Stain Immunohistochemical Screening for Lynch Syndrome in Colorectal Cancer May Fail to Detect Mismatch Repair Deficiency ». *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **31**, 1891–1900.
- Pécriaux, A., Favre, L., Calderaro, J., Charpy, C., Derman, J. and Pujals, A.** (2020). Detection of microsatellite instability in a panel of solid tumours with the Idylla MSI Test using extracted DNA. *J Clin Pathol.*
- Pérez-Carbonell, L., Alenda, C., Payá, A., Castillejo, A., Barberá, V. M., Guillén, C., Rojas, E., Acame, N., Gutiérrez-Aviñó, F. J., Castells, A., et al.** (2010). Methylation analysis of MLH1 improves the selection of patients for genetic testing in Lynch syndrome. *J Mol Diagn Jul;12(4):498-504*,.
- Peterson, L. M., Kipp, B. R., Halling, K. C., Kerr, S. E., Smith, D. I., Distad, T. J., Clayton, A. C. and Medeiros, F.** (2012). Molecular characterization of endometrial cancer: a correlative study assessing microsatellite instability, MLH1 hypermethylation, DNA mismatch repair protein expression, and PTEN, PIK3CA, KRAS, and BRAF mutation analysis. *Int J Gynecol Pathol May;31(3):195-205*,.

Bibliographie

- Phillips, S. M., Banerjea, A., Feakins, R., Li, S. R., Bustin, S. A. and Dorudi, S.** (2004). Tumour-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer with microsatellite instability are activated and cytotoxic. *BJS* **91**, 469–475.
- Pietrantonio, F., Miceli, R., Raimondi, A., Kim, Y. W., Kang, W. K., Langley, R. E., Choi, Y. Y., Kim, K.-M., Nankivell, M. G., Morano, F., et al.** (2019). Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability As a Biomarker in Gastric Cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **37**, 3392–3400.
- Pino, M. S., Mino-Kenudson, M., Wildemore, B. M., Ganguly, A., Batten, J., Sperduti, I., Iafrate, A. J. and Chung, D. C.** (2009). Deficient DNA mismatch repair is common in Lynch syndrome-associated colorectal adenomas. *J. Mol. Diagn. JMD* **11**, 238–247.
- Plocharczyk, E. F., Frankel, W. L., Hampel, H. and Peters, S. B.** (2013). Mismatch repair protein deficiency is common in sebaceous neoplasms and suggests the importance of screening for Lynch syndrome. *Am. J. Dermatopathol.* **35**, 191–195.
- Ponti, G., Losi, L. and Di Gregorio, C.** (2005). *Identification of Muir-Torre syndrome among patients with sebaceous tumors and keratoacanthomas: role of clinical features, microsatellite instability, and immunohistochemistry.*
- Ponti, G., Losi, L., Pedroni, M., Lucci-Cordisco, E., Di Gregorio, C., Pellacani, G. and 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., Pellacani, G., Ruini, C., Percesepe, A., Longo, C., Mandel, V. D., Crucianelli, F., Gorelli, G. and Tomasi, A.** (2014). Muir-Torre syndrome or phenocopy? The value of the immunohistochemical expression of mismatch repair proteins in sebaceous tumors of immunocompromised patients. *Fam. Cancer* **13**, 553–561.
- Ponti, G., Manfredini, M., Tomasi, A. and Pellacani, G.** (2016a). Muir-Torre Syndrome and founder mismatch repair gene mutations: A long gone historical genetic challenge. *Gene* **589**, 127–132.
- Ponti, G., Manfredini, M., Pellacani, G. and Tomasi, A.** (2016b). Role of microsatellite instability, immunohistochemistry and mismatch repair germline aberrations in immunosuppressed transplant patients: a phenocopy dilemma in Muir-Torre syndrome. *Clin. Chem. Lab. Med.* **54**, 1725–1731.
- Popat, S., Hubner, R. and Houlston, R. s.** (2005). Systematic Review of Microsatellite Instability and Colorectal Cancer Prognosis. *J. Clin. Oncol.* **23**, 609–618.
- Popnikolov, N. K., Gatalica, Z., Colome-Grimmer, M. I. and Sánchez, R. L.** (2003). Loss of mismatch repair proteins in sebaceous gland tumors. *J. Cutan. Pathol.* **30**, 178–184.
- Prat, J.** (2012). Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch. Int. J. Pathol.* **460**, 237–249.
- Pritchard, C. C., Mateo, J., Walsh, M. F., De Sarkar, N., Abida, W., Beltran, H., Garofalo, A., Gulati, R., Carreira, S., Eeles, R., et al.** (2016). Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **375**, 443–453.
- Rabban, J. T., Calkins, S. M., Karnezis, A. N., Grenert, J. P., Blanco, A., Crawford, B. and Chen, L.-M.** (2014). Association of tumor morphology with mismatch-repair protein status in older endometrial cancer patients: implications for universal versus selective screening strategies for Lynch syndrome. *Am. J. Surg. Pathol.* **38**, 793–800.
- Rad, R., Cadiñanos, J., Rad, L., Varela, I., Strong, A., Kriegl, L., Constantino-Casas, F., Eser, S., Hieber, M., Seidler, B., et al.** (2013). A genetic progression model of Braf(V600E)-induced intestinal tumorigenesis reveals targets for therapeutic intervention. *Cancer Cell* **8**;24(1):15-29,.
- Raffone, A., Travaglino, A., Mascolo, M., Carbone, L., Guida, M., Insabato, L. and Zullo, F.** (2019). TCGA molecular groups of endometrial cancer: Pooled data about prognosis. *Gynecol. Oncol.* **155**, 374–383.
- Raffone, A., Travaglino, A., Mascolo, M., Carotenuto, C., Guida, M., Mollo, A., Insabato, L. and Zullo, F.** (2020). Histopathological characterization of ProMisE molecular groups of endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* **157**, 252–259.
- Rahner, N., Friedrichs, N., Steinke, V., Aretz, S., Friedl, W., Buettner, R., Mangold, E., Propping, P. and Walldorf, C.** (2008). Coexisting somatic promoter hypermethylation and pathogenic MLH1 germline mutation in Lynch syndrome. *J Pathol Jan*;214(1):10-6,.

Bibliographie

- Rajan Kd, A., Burris, C., Iliff, N., Grant, M., Eshleman, J. R. and Eberhart, C. G. (2014). DNA mismatch repair defects and microsatellite instability status in periocular sebaceous carcinoma. *Am. J. Ophthalmol.* **157**, 640-647.e1–2.
- Ratovomanana, T., Cohen, R., Svrcek, M., Renaud, F., Cervera, P., Siret, A., Letourneur, Q., Buhard, O., Bourgoin, P., Guillermin, E., *et al.* (2021). Performance of Next-Generation Sequencing for the Detection of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer With Deficient DNA Mismatch Repair. *Gastroenterology* **161**, 814-826.e7.
- Ratti, M., Lampis, A., Hahne, J. C., Passalacqua, R. and Valeri, N. (2018). Microsatellite instability in gastric cancer: molecular bases, clinical perspectives, and new treatment approaches. *Cell. Mol. Life Sci.* **75**, 4151–4162.
- Razavi, P., Li, B. T., Brown, D. N., Jung, B., Hubbell, E., Shen, R., Abida, W., Juluru, K., De Bruijn, I., Hou, C., *et al.* (2019). High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants. *Nat Med* **Dec;25(12):1928-1937**.
- Roa, J. C., Roa, I., Correa, P., Vo, Q., Araya, J. C., Villaseca, M., Guzmán, P. and Schneider, B. G. (2005). Microsatellite instability in preneoplastic and neoplastic lesions of the gallbladder. *J. Gastroenterol.* **40**, 79–86.
- Roberts, M. E., Riegert-Johnson, D. L., Thomas, B. C., Thomas, C. S., Heckman, M. G., Krishna, M., DiCaudo, D. J., Bridges, A. G., Hunt, K. S., Rumilla, K. M., *et al.* (2013). Screening for Muir-Torre syndrome using mismatch repair protein immunohistochemistry of sebaceous neoplasms. *J Genet Couns* **Jun;22(3):393-405**.
- Roberts, M. E., Riegert-Johnson, D. L., Thomas, B. C., Rumilla, K. M., Thomas, C. S., Heckman, M. G., Purcell, J. U., Hanson, N. B., Leppig, K. A., Lim, J., *et al.* (2014). A clinical scoring system to identify patients with sebaceous neoplasms at risk for the Muir-Torre variant of Lynch syndrome. *Genet Med* **Sep;16(9):711-6**.
- Rodríguez-Soler, M., Pérez-Carbonell, L., Guarinos, C., Zapater, P., Castillejo, A., Barberá, V. M., Juárez, M., Bessa, X., Xicola, R. M., Clofent, J., *et al.* (2013). Risk of cancer in cases of suspected lynch syndrome without germline mutation. *Gastroenterology* **144**, 926-932.e1; quiz e13-14.
- Rossi, L., Le Frere-Belda, M.-A., Laurent-Puig, P., Buecher, B., De Pauw, A., Stoppa-Lyonnet, D., Canlorbe, G., Caron, O., Borghese, B., Colas, C., *et al.* (2017). Clinicopathologic Characteristics of Endometrial Cancer in Lynch Syndrome: A French Multicenter Study. *Int. J. Gynecol. Cancer Off. J. Int. Gynecol. Cancer Soc.* **27**, 953–960.
- Roth, R. M., Haraldsdottir, S., Hampel, H., Arnold, C. A. and Frankel, W. L. (2016). Discordant Mismatch Repair Protein Immunoreactivity in Lynch Syndrome-Associated Neoplasms: A Recommendation for Screening Synchronous/Metachronous Neoplasms. *Am. J. Clin. Pathol.* **146**, 50–56.
- Rouprêt, M., Fromont, G., Azzouzi, A.-R., Catto, J. W., Vallancien, G., Hamdy, F. C. and Cussenot, O. (2005). Microsatellite instability as predictor of survival in patients with invasive upper urinary tract transitional cell carcinoma. *Urology* **65**, 1233–1237.
- Rouprêt, M., Babjuk, M., Burger, M., Capoun, O., Cohen, D., Compérat, E. M., Cowan, N. C., Dominguez-Escrig, J. L., Gontero, P., Hugh Mostafid, A., *et al.* (2020). European Association of Urology Guidelines on Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma: 2020 Update. *Eur. Urol.*
- Ruemmele, P., Dietmaier, W., Terracciano, L., Tornillo, L., Bataille, F., Kaiser, A., Wuensch, P. H., Heinmoeller, E., Homayounfar, K., Luetges, J., *et al.* (2009). Histopathologic features and microsatellite instability of cancers of the papilla of Vater and their precursor lesions. *Am J Surg Pathol* **May;33(5):691-704**.
- Sahnane, N., Furlan, D., Monti, M., Romualdi, C., Vanoli, A., Vicari, E., Solcia, E., Capella, C., Sessa, F. and La Rosa, S. (2015). Microsatellite unstable gastrointestinal neuroendocrine carcinomas: a new clinicopathologic entity. *Endocr. Relat. Cancer* **22**, 35–45.
- Sakamoto, N., Feng, Y., Stolfi, C., Kurosu, Y., Green, M., Lin, J., Green, M. E., Sentani, K., Yasui, W., McMahon, M., *et al.* (2017). BRAF(V600E) cooperates with CDX2 inactivation to promote serrated colorectal tumorigenesis. *Elife* **10;6:e20331**.
- Salipante, S. J., Scroggins, S. M. and Hampel, H. L. (2014). Microsatellite instability detection by next generation sequencing. *Clin Chem* **60**, 1192–9.
- Salvesen, H. B., Kumar, R., Stefansson, I., Angelini, S., MacDonald, N., Smeds, J., Jacobs, I. J., Hemminki, K., Das, S. and Akslen, L. A. (2005). Low frequency of BRAF and CDKN2A mutations in endometrial cancer. *Int J Cancer.*

Bibliographie

- Samaison, L., Grall, M., Staroz, F. and Uguen, A.** (2019). Microsatellite instability diagnosis using the fully automated Idylla platform: feasibility study of an in-house rapid molecular testing ancillary to immunohistochemistry in pathology laboratories. *J Clin Pathol Dec*;72(12):830-835.
- Sargent, D. J., Marsoni, S., Monges, G., Thibodeau, S. N., Labianca, R., Hamilton, S. R., French, A. J., Kabat, B., Foster, N. R., Torri, V., et al.** (2010). Defective Mismatch Repair As a Predictive Marker for Lack of Efficacy of Fluorouracil-Based Adjuvant Therapy in Colon Cancer. *J. Clin. Oncol.* **28**, 3219–3226.
- Sari, A., Pollett, A., Eiriksson, L. R., Lumsden-Johanson, B., Van de Laar, E., Kazerouni, H., Salehi, A., Sur, M., Lytwyn, A. and Ferguson, S. E.** (2019). Interobserver Agreement for Mismatch Repair Protein Immunohistochemistry in Endometrial and Nonserous, Nonmucinous Ovarian Carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.* **43**, 591–600.
- Sarode, V. R. and Robinson, L.** (2019). Screening for Lynch Syndrome by Immunohistochemistry of Mismatch Repair Proteins: Significance of Indeterminate Result and Correlation With Mutational Studies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **143**, 1225–1233.
- Schmeler, K. M., Lynch, H. T., Chen, L., Munsell, M. F., Soliman, P. T., Clark, M. B., Daniels, M. S., White, K. G., Boyd-Rogers, S. G., Conrad, P. G., et al.** (2006). Prophylactic surgery to reduce the risk of gynecologic cancers in the Lynch syndrome. *N. Engl. J. Med.* **354**, 261–269.
- Schon, K., Rytina, E., Drummond, J., Simmonds, J., Abbs, S., Sandford, R. and Tischkowitz, M.** (2018). Evaluation of universal immunohistochemical screening of sebaceous neoplasms in a service setting. *Clin. Exp. Dermatol.* **43**, 410–415.
- Schrock, A. B., Devoe, C. E., McWilliams, R., Sun, J., Aparicio, T., Stephens, P. J., Ross, J. S., Wilson, R., Miller, V. A., Ali, S. M., et al.** (2017). Genomic Profiling of Small-Bowel Adenocarcinoma. *JAMA Oncol* **1**;3(11):1546-1553.
- Sepulveda, A. R., Hamilton, S. R., Allegra, C. J., Grody, W., Cushman-Vokoun, A. M., Funkhouser, W. K., Kopetz, S. E., Lieu, C., Lindor, N. M., Minsky, B. D., et al.** (2017). Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **35**, 1453–1486.
- Shia, J.** (2008). Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J. Mol. Diagn. JMD* **10**, 293–300.
- Shia, J., Tang, L. H., Vakiani, E., Guillem, J. G., Stadler, Z. K., Soslow, R. A., Katabi, N., Weiser, M. R., Paty, P. B., Temple, L. K., et al.** (2009). Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: a 2-antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel. *Am. J. Surg. Pathol.* **33**, 1639–1645.
- Shia, J., Stadler, Z., Weiser, M. R., Rentz, M., Gonen, M., Tang, L. H., Vakiani, E., Katabi, N., Xiong, X., Markowitz, A. J., et al.** (2011). Immunohistochemical staining for DNA mismatch repair proteins in intestinal tract carcinoma: how reliable are biopsy samples? *Am. J. Surg. Pathol.* **35**, 447–454.
- Shia, J., Zhang, L., Shike, M., Guo, M., Stadler, Z., Xiong, X., Tang, L. H., Vakiani, E., Katabi, N., Wang, H., et al.** (2013). Secondary mutation in a coding mononucleotide tract in MSH6 causes loss of immunorexpression of MSH6 in colorectal carcinomas with MLH1/PMS2 deficiency. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **26**, 131–138.
- Side-Pfenning, G. and Sabourin, J.-C.** (2018). Side-Pfennig, Sabourin et al., Carrefour Pathologie 2018.
- Silveira, A. B., Bidard, F.-C., Kasperek, A., Melaabi, S., Tanguy, M.-L., Rodrigues, M., Bataillon, G., Cabel, L., Buecher, B., Pierga, J.-Y., et al.** (2020). High-Accuracy Determination of Microsatellite Instability Compatible with Liquid Biopsies. *Clin. Chem.* **66**, 606–613.
- Singh, R. S., Grayson, W., Redston, M., Diwan, A. H., Warneke, C. L., McKee, P. H., Lev, D., Lyle, S., Calonje, E. and Lazar, A. J. F.** (2008). Site and tumor type predicts DNA mismatch repair status in cutaneous sebaceous neoplasia. *Am. J. Surg. Pathol.* **32**, 936–942.
- Siravegna, G., Mussolin, B., Venesio, T., Marsoni, S., Seoane, J., Dive, C., Papadopoulos, N., Kopetz, S., Corcoran, R. B., Siu, L. L., et al.** (2019). How liquid biopsies can change clinical practice in oncology. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **30**, 1580–1590.

Bibliographie

- Skala, S. L., Liu, T.-Y., Udager, A. M., Weizer, A. Z., Montgomery, J. S., Palapattu, G. S., Siddiqui, J., Cao, X., Fields, K., Abugharib, A. E., *et al.* (2017). Programmed Death-ligand 1 Expression in Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Eur. Urol. Focus* **3**, 502–509.
- Smyth, E. C., Wotherspoon, A., Peckitt, C., Gonzalez, D., Hulkki-Wilson, S., Eltahir, Z., Fassan, M., Rugge, M., Valeri, N., Okines, A., *et al.* (2017). Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial. *JAMA Oncol.* **3**, 1197–1203.
- Soliman, P. T., Broaddus, R. R., Schmeler, K. M., Daniels, M. S., Gonzalez, D., Slomovitz, B. M., Gershenson, D. M. and Lu, K. H. (2005). Women with synchronous primary cancers of the endometrium and ovary: do they have Lynch syndrome? *J Clin Oncol.*
- Soslow, R. A., Tornos, C., Park, K. J., Malpica, A., Matias-Guiu, X., Oliva, E., Parkash, V., Carlson, J., McCluggage, W. G. and Gilks, C. B. (2019). Endometrial Carcinoma Diagnosis: Use of FIGO Grading and Genomic Subcategories in Clinical Practice: Recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists. *Int. J. Gynecol. Pathol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Pathol.* **38 Suppl 1**, S64–S74.
- Soumerai, T. E., Donoghue, M. T. A., Bandlamudi, C., Srinivasan, P., Chang, M. T., Zamarin, D., Cadoo, K. A., Grisham, R. N., O’Cearbhaill, R. E., Tew, W. P., *et al.* (2018). Clinical Utility of Prospective Molecular Characterization in Advanced Endometrial Cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **24**, 5939–5947.
- South, C. D., Hampel, H., Comeras, I., Westman, J. A., Frankel, W. L. and de la Chapelle, A. (2008). The frequency of Muir-Torre syndrome among Lynch syndrome families. *J. Natl. Cancer Inst.* **100**, 277–281.
- Stelloo, E., Jansen, A. M. L., Osse, E. M., Nout, R. A., Creutzberg, C. L., Ruano, D., Church, D. N., Morreau, H., Smit, V. T. H. B. M., van Wezel, T., *et al.* (2017). Practical guidance for mismatch repair-deficiency testing in endometrial cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **28**, 96–102.
- Stoffel, E. M., Mangu, P. B., Gruber, S. B., Hamilton, S. R., Kalady, M. F., Lau, M. W. Y., Lu, K. H., Roach, N., Limburg, P. J., American Society of Clinical Oncology, *et al.* (2015). Hereditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline endorsement of the familial risk-colorectal cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **33**, 209–217.
- Stupp, R., Mason, W. P., van den Bent, M. J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M. J. B., Belanger, K., Brandes, A. A., Marosi, C., Bogdahn, U., *et al.* (2005). Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* **352**, 987–996.
- Suraweera, N., Duval, A., Reperant, M., Vaury, C., Furlan, D., Leroy, K., Seruca, R., Iacopetta, B. and Hamelin, R. (2002). Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology Dec*;123(6):1804-11,.
- Susanti, S., Fadhil, W., Ebili, H. O., Asiri, A., Nestarenkaite, A., Hadjimichael, E., Ham-Karim, H. A., Field, J., Stafford, K., Matharoo-Ball, B., *et al.* (2018). N_LyST: a simple and rapid screening test for Lynch syndrome. *J. Clin. Pathol.* **71**, 713–720.
- Suwala, A. K., Stichel, D., Schrimpf, D., Kloor, M., Wefers, A. K., Reinhardt, A., Maas, S. L. N., Kratz, C. P., Schweizer, L., Hasselblatt, M., *et al.* (2021). Primary mismatch repair deficient IDH-mutant astrocytoma (PMMRDIA) is a distinct type with a poor prognosis. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **141**, 85–100.
- Svrcek, M., Lascols, O., Cohen, R., Collura, A., Jonchère, V., Fléjou, J.-F., Buhard, O. and Duval, A. (2019). MSI/MMR-deficient tumor diagnosis: Which standard for screening and for diagnosis? Diagnostic modalities for the colon and other sites: Differences between tumors. *Bull. Cancer (Paris)* **106**, 119–128.
- Swale, V. J., Quinn, A. G., Wheeler, J. M., Beck, N. E., Dove-Edwin, I., Thomas, H. J., Bodmer, W. F. and Bataille, V. A. (1999). Microsatellite instability in benign skin lesions in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome. *J. Invest. Dermatol.* **113**, 901–905.
- Syngal, S., Brand, R. E., Church, J. M., Giardiello, F. M., Hampel, H. L., Burt, R. W. and Gastroenterology (2015). ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes ». *Am. J. Gastroenterol.* **110**, 223–62.

Bibliographie

- Ta, R. M., Hecht, J. L. and Lin, D. I.** (2018). Discordant loss of mismatch repair proteins in advanced endometrial endometrioid carcinoma compared to paired primary uterine tumors. *Gynecol. Oncol.* **151**, 401–406.
- Tachon, G., Frouin, E., Karayan-Tapon, L., Auriault, M.-L., Godet, J., Moulin, V., Wang, Q. and Tougeron, D.** (2018). Heterogeneity of mismatch repair defect in colorectal cancer and its implications in clinical practice. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* **1990** **95**, 112–116.
- Takahashi, T., Habuchi, T., Kakehi, Y., Mitsumori, K., Akao, T., Terachi, T. and Yoshida, O.** (1998). Clonal and chronological genetic analysis of multifocal cancers of the bladder and upper urinary tract. *Cancer Res.* **58**, 5835–5841.
- Therkildsen, C., Ladelund, S., Rambech, E., Persson, A., Petersen, A. and Nilbert, M.** (2015). Glioblastomas, astrocytomas and oligodendrogliomas linked to Lynch syndrome. *Eur. J. Neurol.* **22**, 717–724.
- Thiel, A., Heinonen, M., Kantonen, J., Gylling, A., Lahtinen, L., Korhonen, M., Kytölä, S., Mecklin, J.-P., Orpana, A., Peltomäki, P., et al.** (2013). BRAF mutation in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Virchows Arch. Int. J. Pathol.* **463**, 613–621.
- Tomonari, M., Shimada, M., Nakada, Y., Yamamoto, I., Itoh, M., Koike, Y., Kobayashi, A., Miki, J., Yamada, H., Kimura, T., et al.** (2019). Muir-Torre syndrome: sebaceous carcinoma concurrent with colon cancer in a kidney transplant recipient; a case report. *BMC Nephrol.* **20**, 394.
- Toon, C. W., Walsh, M. D., Chou, A., Capper, D., Clarkson, A., Sioson, L., Clarke, S., Mead, S., Walters, R. J., Clendenning, M., et al.** (2013).
- Touat, M., Li, Y. Y., Boynton, A. N., Spurr, L. F., Iorgulescu, J. B., Bohrsen, C. L., Cortes-Ciriano, I., Birzu, C., Geduldig, J. E., Pelton, K., et al.** (2020). Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas. *Nature* **580**, 517–523.
- Tougeron, D., Fauquemberg, E., Rouquette, A., Le Pessot, F., Sesboué, R., Laurent, M., Berthet, P., Mauillon, J., Di Fiore, F., Sabourin, J.-C., et al.** (2009). Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancers with microsatellite instability are correlated with the number and spectrum of frameshift mutations. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **22**, 1186–1195.
- Tougeron, D., Sickersen, G., Lecomte, T., Mouillet, G., Trouilloud, I., Coriat, R., Aparicio, T., Des Guetz, G., Lecaille, C., Artru, P., et al.** (2014). Impact of adjuvant chemotherapy with 5-FU or FOLFOX in colon cancers with microsatellite instability: An AGEO multicenter study. *J. Clin. Oncol.* **32**, 3508–3508.
- Tougeron, D., Mouillet, G., Trouilloud, I., Lecomte, T., Coriat, R., Aparicio, T., Des Guetz, G., Lecaille, C., Artru, P., Sickersen, G., et al.** (2016). Efficacy of Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer With Microsatellite Instability: A Large Multicenter AGEO Study. *J. Natl. Cancer Inst.* **108**.
- Tougeron, D., Cohen, R., Sueur, B., Sefrioui, D., Gentilhomme, L., Lecomte, T., Aparicio, T., Des Guetz, G., Artru, P., de la Fouchardiere, C., et al.** (2017). 533PA large retrospective multicenter study evaluating prognosis and chemosensitivity of metastatic colorectal cancer with microsatellite instability. *Ann. Oncol.* **28**.
- Tougeron, D., Sueur, B., Zaan, A., De La Fouchardiere, C., Sefrioui, D., Lecomte, T., Aparicio, T., Guetz, G. D., Artru, P., Hautefeuille, V., et al.** (2020). Prognosis and Chemosensitivity of Deficient MMR Phenotype in Patients with Metastatic Colorectal Cancer: an AGEO Retrospective Multicenter Study. *Int. J. Cancer.*
- Toyota, M., Ahuja, N., Ohe-Toyota, M., Herman, J. G., Baylin, S. B. and Issa, J. P.** (1999). CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.*
- Travaglino, A., Raffone, A., Mascolo, M., Guida, M., Insabato, L., Zannoni, G. F. and Zullo, F.** (2020a). TCGA Molecular Subgroups in Endometrial Undifferentiated/Dedifferentiated Carcinoma. *Pathol. Oncol. Res. POR* **26**, 1411–1416.
- Travaglino, A., Raffone, A., Gencarelli, A., Mollo, A., Guida, M., Insabato, L., Santoro, A., Zannoni, G. F. and Zullo, F.** (2020b). TCGA Classification of Endometrial Cancer: the Place of Carcinosarcoma. *Pathol. Oncol. Res. POR* **26**, 2067–2073.
- Umar, A., Boland, C. R., Terdiman, J. P., Syngal, S., Chapelle, A., Ruschoff, J., Fishel, R., Lindor, N. M., Burgart, L. J., Hamelin, R., et al.** (2004). Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* **96**, 261–268.

Bibliographie

- Urakami, S., Inoshita, N., Oka, S., Miyama, Y., Nomura, S., Arai, M., Sakaguchi, K., Kurosawa, K. and Okaneya, T.** (2018). Clinicopathological characteristics of patients with upper urinary tract urothelial cancer with loss of immunohistochemical expression of the DNA mismatch repair proteins in universal screening. *Int. J. Urol. Off. J. Jpn. Urol. Assoc.* **25**, 151–156.
- van Dessel, L. F., van Riet, J., Smits, M., Zhu, Y., Hamberg, P., van der Heijden, M. S., Bergman, A. M., van Oort, I. M., de Wit, R., Voest, E. E., et al.** (2019). The genomic landscape of metastatic castration-resistant prostate cancers reveals multiple distinct genotypes with potential clinical impact. *Nat. Commun.* **10**, 5251.
- Vanderwalde, A., Spetzler, D. and Xiao, N.** (2018). Microsatellite instability status determined by next-generation sequencing and compared with PD-L1 and tumor mutational burden in 11,348 patients. *Cancer Med* **7**, 746–756.
- Vangala, D. B., Cauchin, E., Balmaña, J., Wyrwicz, L., van Cutsem, E., Güller, U., Castells, A., Carneiro, F., Hammel, P., Ducreux, M., et al.** (2018). Screening and surveillance in hereditary gastrointestinal cancers: Recommendations from the European Society of Digestive Oncology (ESDO) expert discussion at the 20th European Society for Medical Oncology (ESMO)/World Congress on Gastrointestinal Cancer, Barcelona, June 2018. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **104**, 91–103.
- Vasen, H. F. A., Blanco, I., Aktan-Collan, K., Gopie, J. P., Alonso, A., Aretz, S., Bernstein, I., Bertario, L., Burn, J., Capella, G., et al.** (2013). Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut* **62**, 812–823.
- Velayos, F. S., Allen, B. A., Conrad, P. G., Gum, J., Kakar, S., Chung, D. C., Truta, B., Sleisenger, M. H., Kim, Y. S. and Terdiman, J. P.** (2005). Low rate of microsatellite instability in young patients with adenomas: reassessing the Bethesda guidelines. *Am. J. Gastroenterol.* **100**, 1143–1149.
- Venderbosch, S., Nagtegaal, I. D., Maughan, T. S., Smith, C. G., Cheadle, J. P., Fisher, D., Kaplan, R., Quirke, P., Seymour, M. T., Richman, S. D., et al.** (2014). Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN and FOCUS studies. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **20**, 5322–5330.
- Walsh, M. D., Buchanan, D. D., Pearson, S.-A., Clendenning, M., Jenkins, M. A., Win, A. K., Walters, R. J., Spring, K. J., Nagler, B., Pavluk, E., et al.** (2012). Immunohistochemical testing of conventional adenomas for loss of expression of mismatch repair proteins in Lynch syndrome mutation carriers: a case series from the Australasian site of the colon cancer family registry. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **25**, 722–730.
- Walsh, M. D., Jayasekara, H., Huang, A., Winship, I. M. and Buchanan, D. D.** (2019). Clinico-pathological predictors of mismatch repair deficiency in sebaceous neoplasia: A large case series from a single Australian private pathology service. *Australas J Dermatol* **May;60(2):126-133**.
- Wang, J. Y. J. and Edlmann, W.** (2006). Mismatch repair proteins as sensors of alkylation DNA damage. *Cancer Cell* **9**, 417–418.
- Wang, L., Cunningham, J. M., Winters, J. L., Guenther, J. C., French, A. J., Boardman, L. A., Burgart, L. J., McDonnell, S. K., Schaid, D. J. and Thibodeau, S. N.** (2003). BRAF mutations in colon cancer are not likely attributable to defective DNA mismatch repair. *Cancer Res* **1;63(17):5209-12**.
- Wang, J., Cazzato, E., Ladewig, E., Frattini, V., Rosenbloom, D. I. S., Zairis, S., Abate, F., Liu, Z., Elliott, O., Shin, Y.-J., et al.** (2016). Clonal evolution of glioblastoma under therapy. *Nat. Genet.* **48**, 768–776.
- Wang, Y., Shi, C., Eisenberg, R. and Vnencak-Jones, C. L.** (2017). Differences in Microsatellite Instability Profiles between Endometrioid and Colorectal Cancers: A Potential Cause for False-Negative Results? *J Mol Diagn Jan*; **19(1):57-64**.
- Wang, Q., Leclerc, J., Bougeard, G., Olschwang, S., Vasseur, S., Cassinari, K., Boidin, D., Lefol, C., Naïbo, P., Frébourg, T., et al.** (2020). French Consortium of Oncogenetic laboratories for colorectal cancers, Unicancer Cancer Genetic Group (GGC). Characterisation of heterozygous PMS2 variants in French patients with Lynch syndrome. *J Med Genet Jul*; **57(7):487-499**.
- Weisenberger, D. J., Siegmund, K. D., Campan, M., Young, J., Long, T. I., Faasse, M. A., Kang, G. H., Widschwendter, M., Weener, D., Buchanan, D., et al.** (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet Jul*; **38(7):787-93**.

Bibliographie

- Westin, S. N., Lacour, R. A., Urbauer, D. L., Luthra, R., Bodurka, D. C., Lu, K. H. and Broaddus, R. R.** (2008). Carcinoma of the lower uterine segment: a newly described association with Lynch syndrome. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **26**, 5965–5971.
- Westwood, A., Glover, A., Hutchins, G., Young, C., Brockmoeller, S., Robinson, R., WorriLOW, L., Wallace, D., Rankeillor, K., Adlard, J., et al.** (2019). Additional loss of MSH2 and MSH6 expression in sporadic deficient mismatch repair colorectal cancer due to MLH1 promoter hypermethylation. *J. Clin. Pathol.* **72**, 443–447.
- Willis, B. C., Sloan, E. A., Atkins, K. A., Stoler, M. H. and Mills, A. M.** (2017). Mismatch repair status and PD-L1 expression in clear cell carcinomas of the ovary and endometrium. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **30**, 1622–1632.
- Willis, J., Lefterova, M. I., Artyomenko, A., Kasi, P. M., Nakamura, Y., Mody, K., Catenacci, D. V. T., Fakhri, M., Barbacioru, C., Zhao, J., et al.** (2019). Validation of Microsatellite Instability Detection Using a Comprehensive Plasma-Based Genotyping Panel. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **25**, 7035–7045.
- Wimmer, K., Kratz, C. P., Vasen, H. F. A., Caron, O., Colas, C., Entz-Werle, N., Gerdes, A.-M., Goldberg, Y., Ilencikova, D., Muleris, M., et al.** (2014). Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium “care for CMMRD” (C4CMMRD). *J. Med. Genet.* **51**, 355–365.
- Win, A. K., Jenkins, M. A., Dowty, J. G., Antoniou, A. C., Lee, A., Giles, G. G., Buchanan, D. D., Clendenning, M., Rosty, C., Ahnen, D. J., et al.** (2017). Prevalence and Penetrance of Major Genes and Polygenes for Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* **26**, 404–412.
- Wong, Y. F., Cheung, T. H., Lo, K. W., Yim, S. F., Chan, L. K., Buhard, O., Duval, A., TK, C. and Hamelin, R.** (2006). Detection of microsatellite instability in endometrial cancer: advantages of a panel of five mononucleotide repeats over the National Cancer Institute panel of markers. *Carcinogenesis* **27**, 951–955.
- Wortman, B. G., Creutzberg, C. L., Putter, H., Jürgenliemk-Schulz, I. M., Jobsen, J. J., Lutgens, L. C. H. W., van der Steen-Banasik, E. M., Mens, J. W. M., Slot, A., Kroese, M. C. S., et al.** (2018). Ten-year results of the PORTEC-2 trial for high-intermediate risk endometrial carcinoma: improving patient selection for adjuvant therapy. *Br. J. Cancer* **119**, 1067–1074.
- Xavier, A., Olsen, M. F., Lavik, L. A., Johansen, J., Singh, A. K., Sjrursen, W., Scott, R. J. and Talseth-Palmer, B. A.** (2019). Comprehensive mismatch repair gene panel identifies variants in patients with Lynch-like syndrome. *Mol. Genet. Genomic Med.* **7**, e850.
- Xia, M., Singhi, A. D., Dudley, B., Brand, R., Nikiforova, M. and Pai, R. K.** (2017). Small Bowel Adenocarcinoma Frequently Exhibits Lynch Syndrome-associated Mismatch Repair Protein Deficiency But Does Not Harbor Sporadic MLH1 Deficiency. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. AIMM* **25**, 399–406.
- Xicola, R. M., Llor, X., Pons, E., Castells, A., Alenda, C., Piñol, V., Andreu, M., Castellví-Bel, S., Payá, A., Jover, R., et al.** (2007). Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Performance of different microsatellite marker panels for detection of mismatch repair-deficient colorectal tumors. *J Natl Cancer Inst* **7;99(3):244-52**,
- Xicola, R. M., Clark, J. R., Carroll, T., Alvikas, J., Marwaha, P., Regan, M. R., Lopez-Giraldez, F., Choi, J., Emmadi, R., Alagiozian-Angelova, V., et al.** (2019). Implication of DNA repair genes in Lynch-like syndrome. *Fam. Cancer* **18**, 331–342.
- Yokoyama, T., Takehara, K., Sugimoto, N., Kaneko, K., Fujimoto, E., Okazawa-Sakai, M., Okame, S., Shiroyama, Y., Yokoyama, T., Teramoto, N., et al.** (2018). Lynch syndrome-associated endometrial carcinoma with MLH1 germline mutation and MLH1 promoter hypermethylation: a case report and literature review. *BMC Cancer* **21;18(1):576**.
- Yoshioka, K., Yoshioka, Y. and Hsieh, P.** (2006). ATR kinase activation mediated by MutSalph α and MutLal α in response to cytotoxic O6-methylguanine adducts. *Mol. Cell* **22**, 501–510.
- You, J. F., Buhard, O., Ligtenberg, M. J., Kets, C. M., Niessen, R. C., Hofstra, R. M., Wagner, A., Dinjens, W. N., Colas, C., Lascols, O., et al.** (2010). Tumours with loss of MSH6 expression are MSI-H when screened with a pentaplex of five mononucleotide repeats. *Br J Cancer* **103**, 1840–1845.
- Yozu, M., Kumarasinghe, M. P., Brown, I. S., Gill, A. J. and Rosty, C.** (2019). Australasian Gastrointestinal Pathology Society (AGPS) consensus guidelines for universal defective mismatch repair testing in colorectal carcinoma. *Pathology (Phila.)* **51**, 233–239.

Bibliographie

Yuan, L., Chi, Y., Chen, W., Chen, X., Wei, P., Sheng, W., Zhou, X. and Shi, D. (2015). Immunohistochemistry and microsatellite instability analysis in molecular subtyping of colorectal carcinoma based on mismatch repair competency. *Int. J. Clin. Exp. Med.* **8**, 20988–21000.

Zaanan, A., Shi, Q., Taieb, J., Alberts, S. R., Meyers, J. P., Smyrk, T. C., Julie, C., Zawadi, A., Tabernero, J., Mini, E., et al. (2018). Role of Deficient DNA Mismatch Repair Status in Patients With Stage III Colon Cancer Treated With FOLFOX Adjuvant Chemotherapy: A Pooled Analysis From 2 Randomized Clinical Trials. *JAMA Oncol.* **4**, 379–383.

Zwaenepoel (2020). Clinical Performance of the Idylla MSI Test for a Rapid Assessment of the DNA Microsatellite Status in Human Colorectal Cancer. *J Mol Diag Mar*; **22(3):386-395**,.

ANNEXES

Annexe Relecture : Ensemble des résultats pour les niveaux d'accord des recommandations

Le niveau d'accord pour chaque recommandation a été évalué à l'aide d'un questionnaire dans lequel la question « Etes-vous d'accord avec cette recommandation ? » était posée. La réponse était à renseigner selon une échelle allant de 1 à 9 (1 étant « pas du tout d'accord » et 9 « tout à fait d'accord »). De plus, pour chaque recommandation, il y avait une plage laissée libre pour des commentaires éventuels.

Le groupe de relecteurs :

- a réalisé une première cotation (dont le résultat est indiqué dans la 1^{re} colonne du tableau ci-dessous),
- s'est ensuite réuni pour chercher un consensus sur les recommandations qui avaient eues moins de 80 % de réponses notées 8 ou 9, ou pour discuter certaines d'entre elles à la demande de plusieurs membres du groupe. Lors de cette réunion, le groupe de relecteurs a fait évoluer les recommandations,
- a refait une deuxième cotation suite à cette réunion (deuxième colonne du tableau ci-dessous).

Les rédacteurs ont par la suite discuté des avis du groupe de relecteurs et proposé une nouvelle version du document.

Le groupe de relecteurs a relu une dernière fois le document et validé son contenu par mail (3^e colonne du tableau).

Les rédacteurs ont par la suite discuté des avis du groupe de relecteurs et validé la version finale du document.

Pour les avis d'experts (signalés par un (AE) dans le tableau) les éventuels avis divergents sont spécifiés dans le tableau en dessous de la recommandation.

Ainsi, l'écriture des recommandations a pu évoluer au fur et à mesure du processus et les recommandations citées dans le texte sont l'aboutissement de ces échanges entre les groupes de rédacteurs et de relecteurs.

Les réponses des relecteurs, pour chaque recommandation, sur l'accord aux recommandations sont synthétisées dans le tableau ci-dessous :

	Accord sur la recommandation				validé par le groupe de relecteurs (lors de la dernière relecture) et par le groupe de rédacteurs lors de la dernière réunion
	1 ^{re} cotation		2 ^e cotation		
	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	
Chapitre 1 : Terminologie pour définir le test MMR tumoral et la recherche de la déficience du système MMR					
Question 1 : quelle terminologie utiliser pour définir le test MMR tumoral et la déficience du système MMR ?					
terminologie tests MMR (AE)	7,9	80,0	8,8	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
terminologie du statut MMR dépendant du test effectué (AE)	8,5	93,3	8,6	94,1	
un relecteur propose IHC-MMR normale ou anormale pour les résultats d'IHC et un autre propose IHC-MMR avec perte d'expression et IHC-MMR conservée.					
terminologie tumeur avec système MMR déficient/fonctionnel (AE)	7,9	80,0			
Chapitre 2 : Quel échantillon tumoral utiliser pour le test ?					
Question 2 : Faut-il utiliser une biopsie ou une pièce opératoire pour réaliser les tests MMR tumoraux ?					
choix entre biopsie ou pièce opératoire	8,6	100,0			
choix du prélèvement (par rapport au pourcentage de cellules tumorales et au stade de prélèvement) (AE)	8,4	91,7			
un relecteur note : s'il y a eu traitement, il ne faut pas forcément utiliser le prélèvement le plus récent					
choix de la technique si prélèvement avec peu de cellules tumorales	8,9	100,0			
Question 3 : Que faire pour le cas particulier de l'adénome colorectal sans cancer colorectal (CCR) ?					
recherche de SL dans les adénomes colorectaux non systématiques	8,9	100,0	8,8	100,0	
évaluation du statut MMR dans les adénomes colorectaux	8,8	100,0			
Question 4 : Comment prendre en compte l'hétérogénéité tumorale dans le choix de l'échantillon tumoral ?					
choix du prélèvement (tumeur primitive ou métastase avant/après traitement)	8,3	91,7			
évaluation du statut MMR sur tumeurs synchrones multiples (AE)	8,4	100,0	8,7	100,0	
un relecteur propose de déterminer ces statuts en séquentiel					
évaluation du statut MMR sur patient métastatique avec plusieurs tumeurs primitives de statut MMR différents (AE)	7,7	75,0	8,9	100,0	
un relecteur remarque que cela doit être discuté en fonction de la possibilité de réaliser cette biopsie de métastase sans nuire au patient					
Question 5 : Peut-on utiliser les biopsies liquides ?					
utilisation des biopsies liquides pour évaluer le statut MMR (AE)	8,8	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
III. Chapitre 3 : L'immunohistochimie des protéines du système MMR					
Question 6 : Technique immunohistochimique et choix des anticorps					
préparation et conservation des échantillons tumoraux	8,9	100,0			
nombre d'anticorps à utiliser	8,9	100,0			
choix d'anticorps et combinaison anticorps/automate (AE)	8,7	91,7	8,8	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					

	Accord sur la recommandation				validé par le groupe de relecteurs (lors de la dernière relecture) et par le groupe de rédacteurs lors de la dernière réunion
	1 ^{re} cotation		2 ^e cotation		
	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	
Question 7 : Comment interpréter le marquage des protéines MMR par IHC ?					
perte d'expression complète d'une ou plusieurs protéines MMR	8,6	100,0			
Absence de marquage des cellules tumorales et du stroma	8,9	100,0			
description et interprétation des marquages non interprétables, équivoques et des marquages particuliers	8,8	100,0			
participation aux tests d'assurance qualité et formation à l'analyse et l'interprétation des IHC (AE)	8,9	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
Question 8 : Comment rédiger des résultats d'analyse immunohistochimique ?					
confirmation des pertes d'expression des protéines MMR en IHC	8,1	85,7			
confirmation des immunomarquages complexes, équivoques (ou « douteux ») des protéines MMR	8,9	100,0			
organisation des laboratoires d'anatomopathologie pour effectuer les tests moléculaires complémentaires	8,3	85,7			
rédaction des résultats d'analyse IHC	8,8	100,0			
IV. Chapitre 4 : Biologie moléculaire tumorale de la déficience du système MMR					
Question 10 : Quelles techniques MSI-PCR doit-on utiliser pour la détection d'une tumeur MSI ?					
choix des tests NCI-Bethesda ou NCI-Pentaplex	8,4	90,0	8,5	100,0	
nombre de marqueurs instables pour conclure à une tumeur MSI (AE)	8,8	100,0	8,5	90,9	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
taille des fragments amplifiés	8,7	100,0			
nombre de 'long mono-nt repeats' dans les marqueurs (AE)	8,7	88,9	8,5	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
pureté de l'échantillon en cellules tumorales	7,9	88,9	8,6	100,0	
comparaison avec du tissu sain (AE)	8,2	90,0	8,5	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
absence d'instabilité des microsatellites (AE)					x
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
évaluation externe de la qualité	8,7	100,0			
Question 11 : Apports de la technique de séquençage de nouvelle génération (NGS) pour la détection d'une tumeur MSI					
utilisation des techniques de NGS seules pour déterminer le statut MSS/MSI (AE)	8,3	100,0	8,5	100,0	
un relecteur précise que pour lui, les techniques NGS ne sont pas validées pour les cancers colorectaux					
choix du panel de gènes en fonction des localisations tumorales	8,7	100,0			
confirmation de résultats obtenus par NGS par autre(s) technique(s) (AE)	8,1	90,9	8,5	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					

	Accord sur la recommandation				validé par le groupe de relecteurs (lors de la dernière relecture) et par le groupe de rédacteurs lors de la dernière réunion
	1 ^{re} cotation		2 ^e cotation		
	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	
Question 12 : Quels tests complémentaires doit-on réaliser pour le diagnostic différentiel du syndrome de Lynch (ou CMMRD) et d'une tumeur sporadique ?					
que faire en cas de perte d'expression de MSH2 et MSH6 combinée, de perte isolée d'expression de MSH6, PMS2 ou MLH1	8,3	81,8	8,7	100,0	
que faire en cas d'hyperméthylation du promoteur de <i>MLH1</i> (AE)	8,2	90,0	8,4	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
que faire en cas de CCR avec perte d'expression de MLH1	8,8	100,0			
stratégie de recherche d'hyperméthylation du promoteur de <i>MLH1</i> et de mutation <i>BRAF</i> pour les CCR	8,5	100,0			
hyperméthylation du promoteur de <i>MLH1</i> , mutation de <i>BRAF</i> et contexte clinique	8,9	100,0			
place du séquençage NGS des gènes MMR en première intention					x
séquençage NGS et diagnostic de SL (AE)	8,1	90,9	8,1	83,3	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
V. Chapitre 5 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral					
Question 13 : Tests tumoraux et syndrome de Lynch					
identification de patients potentiellement atteints du SL dans les tumeurs AUTRES que colorectales, gastriques, de l'intestin grêle, de l'endomètre, sébacées et de la voie excrétrice supérieure	8,8	100,0			
Question 14 : indications d'évaluation du statut MMR en oncologie digestive					
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les CCR	8,5	92,9	8,8	100,0	
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les CCR	8,4	91,7			
conclusion évaluation du statut MMR tumoral dans les CCR					x
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les adénocarcinomes œso-gastriques	7,8	84,6	8,5	93,3	
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les adénocarcinomes œso-gastriques non métastatiques	8,3	80,0			
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les adénocarcinomes œso-gastriques de stade IV	8,1	83,3	8,5	100,0	
conclusion évaluation du statut MMR tumoral dans les adénocarcinomes œso-gastriques (AE)					x
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
spécificités techniques de l'évaluation du statut MMR tumoral dans les adénocarcinomes œso-gastriques (AE)					x
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les adénocarcinomes de l'intestin grêle	8,6	92,9			
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les autres tumeurs digestives	8,8	100,0			
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les autres tumeurs digestives	8,3	80,0			

	Accord sur la recommandation				validé par le groupe de relecteurs (lors de la dernière relecture) et par le groupe de rédacteurs lors de la dernière réunion
	1 ^{re} cotation		2 ^e cotation		
	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	
Question 15 : Indications d'évaluation du statut MMR dans les cancers gynécologiques					
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les cancers de l'endomètre	8,5	92,9	8,8	100,0	
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les cancers de l'endomètre (discussion de traitement adjuvant)	7,4	71,4	8,6	100,0	
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les cancers de l'endomètre (éligibilité à l'immunothérapie)	7,9	87,5	8,6	100,0	
spécificités de l'évaluation du statut MMR tumoral par IHC pour les cancers de l'endomètre	6,8	66,7	8,6	100,0	
validation d'un statut MMR-IHC ou IHC douteux par évaluation du statut microsatellitaire pour les cancers de l'endomètre	7,3	66,7	8,5	100,0	
tests à réaliser en cas de forte suspicion de SL pour les cancers de l'endomètre	8,2	88,9	8,6	100,0	
que faire en cas de discordance entre les tests en biologie moléculaire et en IHC pour les cancers de l'endomètre (AE)	8,4	88,9	8,5	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
interprétation d'un résultat de test MMR tumoral qui n'est pas en faveur du diagnostic de SL en fonction des données cliniques (AE)	8,7	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
recherche d'une hyperméthylation en cas de perte d'expression de MLH1 avant l'orientation vers une consultation d'oncogénétique pour les cancers de l'endomètre	8,9	100,0			
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les carcinomes endométrioïdes ou à cellules claires	7,9	75,0	8,6	100,0	
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les carcinomes NON endométrioïdes ou à NON cellules claires (AE)	8,4	87,5	8,6	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
spécificités techniques d'évaluation du statut MMR tumoral dans les cancers de l'ovaire (AE)	7,8	62,5	8,6	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
Question 16 : Indications d'évaluation du statut MMR dans les tumeurs sébacées et autres tumeurs cutanées					
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les tumeurs sébacées	7,8	83,3	8,6	100,0	
utilisation de critères d'âge, de sexe ou de localisation de la tumeur cutanée sébacée pour sélectionner les patients chez qui évaluer le statut MMR tumoral (AE)	8,2	83,3			
un relecteur évoque la possibilité de ne pas tester systématiquement les patients de plus de 50 ans					
spécificités techniques d'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs sébacées (AE)	8,6	100,0	8,7	100,0	
un relecteur propose d'ajouter : ou toute tumeur cutanée à différenciation sébacée, s'il n'y a pas d'autre tissu disponible					
identification de patients potentiellement atteints du syndrome de SMT-SL à partir d'un kératoacanthome ou	8,7	100,0			

	Accord sur la recommandation				validé par le groupe de relecteurs (lors de la dernière relecture) et par le groupe de rédacteurs lors de la dernière réunion
	1 ^{re} cotation		2 ^e cotation		
	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	
d'une hyperplasie sébacée (AE)					
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
identification de patients potentiellement atteints du syndrome de SMT-SL à partir d'une tumeur cutanée non sébacée (AE)	7,5	83,3	8,8	100,0	
un relecteur propose d'ajouter : ou toute tumeur cutanée à différenciation sébacée, s'il n'y a pas d'autre tissu disponible					
recherche d'une instabilité microsatellitaire dans les tumeurs sébacées (AE)	8,1	85,7	8,9	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
valeur de l'hyperméthylation du promoteur de <i>MLH1</i> pour affirmer une origine sporadique de la tumeur (AE)	8,7	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
orientation vers une consultation d'oncogénétique en cas de statut dMMR d'une tumeur sébacée	7,3	71,4	8,9	100,0	
statut dMMR et tumeurs cutanées sébacées de patients transplantés d'organe solide (AE)	8,5	83,3			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
Question 17 : Indications d'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs urologiques					
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les TVES	8,7	100,0			
spécificités techniques de la recherche du statut MMR-IHC tumoral dans les TVES (AE)	8,3	85,7	8,6	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
spécificités techniques de l'évaluation du statut microsatellitaire tumoral dans les TVES	8,3	85,7	8,7	100,0	
orientation vers une consultation d'oncogénétique en cas de statut dMMR d'une TVES	8,6	100,0			
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les cancers de la prostate	8,0	85,7	8,9	100,0	
spécificités techniques de l'évaluation du statut MMR tumoral dans les cancers de la prostate	8,1	85,7	8,7	100,0	
Question 18 : Indications d'évaluation du statut MMR dans les tumeurs cérébrales primitives.					
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les tumeurs cérébrales primitives	8,5	100,0	8,7	100,0	
critères cliniques d'évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les gliomes de haut grade (patients jeunes) (AE)	8,5	100,0	8,6	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
critères cliniques d'évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les gliomes de haut grade (patients âgés) (AE)	8,5	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
évaluation du statut MMR tumoral à visée thérapeutique dans les gliomes en récurrence après témozolomide (AE)	8,5	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
réalisation d'une nouvelle biopsie pour préciser le statut MMR tumoral à visée thérapeutique pour les patients atteints d'une récurrence de gliomes (AE)	9,0	100,0	8,8	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					

	Accord sur la recommandation				validé par le groupe de relecteurs (lors de la dernière relecture) et par le groupe de rédacteurs lors de la dernière réunion
	1 ^{re} cotation		2 ^e cotation		
	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	moyenne des notes	% réponses ≥ 7	
évaluation du statut MMR tumoral à visée oncogénétique dans les tumeurs cérébrales autres que les gliomes (AE)	7,8	83,3	8,7	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
spécificités techniques de l'évaluation du statut MMR tumoral dans les tumeurs cérébrales	8,7	100,0			
Chapitre 6 : Indications de consultation oncogénétique après identification d'un statut dMMR					
<i>les trois recommandations suivantes ont fait l'objet d'une évaluation groupée :</i>					
1. orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec un CCR dMMR, non MLH1-MPS2 et sans méthylation de <i>MLH1</i> ou mutation de <i>BRAF</i>					
2. orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec un cancer de l'endomètre dMMR, non MLH1-MPS2 et sans méthylation de <i>MLH1</i>	8,6	92,9	8,8	100,0	
3. orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec un CCR ou cancer de l'endomètre dMMR, MLH1-MPS2 et avec méthylation de <i>MLH1</i> ou mutation de <i>BRAF</i> (pour les CCR)					
orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec un cancer gastrique, ovarien et duodéno-ampullaire dMMR	7,7	75,0	8,5	93,3	
recherche de la méthylation du promoteur de <i>MLH1</i> dans les cancers gastriques, ovariens et ampullaires dMMR (AE)					x
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec une tumeur dMMR hors CCR et cancers de l'endomètre avec le promoteur de <i>MLH1</i> hyperméthylé (et/ou mutés <i>BRAF</i> pour les CCR)	7,8	85,7	7,4	85,7	
orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients dMMR, hors du spectre du SL et des tumeurs sébacées avec une inactivation tumorale biallélique des gènes MMR	7,1	76,9	8,6	100,0	
orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec identification de mutation(s) des gènes du système MMR sur un échantillon tumoral par NGS (AE)	7,5	69,2	8,3	87,5	
un relecteur pose la question du cas où le NGS serait très en faveur d'un SL mais qu'il y a un risque de faux négatif (mutation faux sens) par IHC et MS (localisation sans MSI) qui n'est pas couvert par la recommandation					
orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients pMMR avec contexte clinique et/ou familial évocateur d'un SL (AE)	8,9	100,0			
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					
orientation vers une consultation d'oncogénétique des patients avec contexte clinique et/ou familial évocateur d'un SL mais sans échantillon de tumeur (AE)	8,7	92,9	8,9	100,0	
pas d'avis divergent des relecteurs sur la dernière version de la recommandation					

Annexes Chapitre II : Quel échantillon tumoral utiliser pour le test

Tableau 10 : Taux de concordance dMMR entre tumeur primitive et métastases appariées, dans le cancer colorectal [(a) patients tous dMMR/MSS, BM : Biologie moléculaire, IHC : Immunohistochimie]

Taux de concordance dMMR entre tumeur primitive et métastases appariées dans le cancer colorectal							
Études	Année	Foie	Poumon	Péritoine	Ganglions métastatiques à distance	Ovaires	Technique
(Ishimaru <i>et al.</i> , 1995)	1995	-	-	-	-	-	BM : RB intron 21, 5 di nucléotide repeats (D3S1284, D14S65, D14S78, LPL, D8S167), 1 tétranucléotide repeat (RB intron 20) 1 pentanucléotide repeat (p53 intron 1)
(Melloni <i>et al.</i> , 2006)	2006	-	-	-	-	-	IHC 2 AC MLH1, MSH2
(Larsen <i>et al.</i> , 2009)	2009	1/1 (100%)	-	-	-	-	IHC : 3 AC, hMLH1, PMS2 MSH2
(Murata <i>et al.</i> , 2013)	2013	3/3 (100%)	-	-	-	-	BM : 2 marqueurs NCI-Bethesda BAT25, BAT26
(Fujiyoshi <i>et al.</i> , 2017)	2017	2/2 (100 %)	-	7/9 (77,8 %)	12/13 (92,3 %)	-	BM : 5 marqueurs NCI-Bethesda BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S25
(Haraldsdottir <i>et al.</i> , 2016)	2015	6/6 (100 %)	1/1 (100%)	5/5 (100%)	1/1 (100%)	-	IHC : 4 AC, MLH1, MSH2, MSH6 PMS2
(Jung <i>et al.</i> , 2017)	2017	3/5 (65%)	0/2 (0%)	-	-	-	IHC : 4 AC MLH1, MSH2, MSH6, PMS2
(He <i>et al.</i> , 2019)	2019	10/10 (100%)	3/3 (100%)	15/20% (75%)	9/9 (100%)	0/4 (0%)	IHC : 4 AC MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, BM : 5 marqueurs NCI

Annexes Chapitre III : immunohistochimie

Tableau 11 : Listes des AC et des automates utilisés en France lors du contrôle qualité externe AFAQAP 2019 (39 laboratoires participants)

Anticorps	Clone	Automate	Performance	
PMS2	A16-4 (BD)	Dako-Agilent Autostainer	A/B	
		Leica Bond-III ou Max	A/B	
	A16-4 (Roche-Ventana)	Roche-Ventana Benchmark Ultra ou XT	A/B/C	
		EP51 (Dako-Agilent)	Dako-Agilent Autostainer	A/B
	Dako-Agilent Omnis		A/B	
	Leica Bond-III		A/B	
	Roche-Ventana Benchmark GX ou Ultra ou XT		A/B/C	
	A16-4 (Zytomed)	Leica Bond Max	A/B/C	
	<i>Commentaire général : 8 % des cas avec un marquage parfois un peu faible 100 % de bon diagnostic, 87 % de marquage bon ou optimal, aucun insuffisant</i>			
	MLH1	ES05 (Dako-Agilent)	Dako-Agilent Autostainer	A/B
Dako-Agilent Omnis			A/B/C	
Leica Bond-III			A/B	
Roche-Ventana Benchmark Ultra			A/B/C	
ES05 (Leica/Novocastra/Ménarini)		Dako-Agilent Omnis	A/B	
		Leica Bond-III	A/B	
G168-15 (BD)		Roche-Ventana Benchmark Ultra	A/B	
G168-15 (Diagomics)		Leica Bond-Max	A/B/C	
G168-15 (Cell Marque)		Leica Bond-Max	A/B	
		Roche-Ventana Benchmark GX	A/B	
M1 (Roche-Ventana)		Leica Bond-III	A/B/C	
		Roche-Ventana Benchmark Ultra ou XT	A/B/C/D	
<i>Commentaire général : 25 % des cas avec un marquage limite 98 % de bon diagnostic, 73 % de marquage bon ou optimal, 3 % insuffisant</i>				

Performance classée : A : optimal, B : bon, C : correct mais à améliorer ou D : insuffisant

ANNEXES

Anticorps	Clone	Automate	Performance
MSH6	44 (BD)	Leica Bond-III	D
		Roche-Ventana Benchmark Ultra	D
		Roche-Ventana Benchmark GX	D
	44 (Diagnostic Biosystems)	Roche-Ventana Benchmark GX	D
	44 (Roche-Ventana)	Roche-Ventana Benchmark Ultra ou XT	A/B/C/D
	44 (Diagomics)	Leica Bond-Max	D
	EP49 (Dako-Agilent)	Dako-Agilent Autostainer	A/B/C
		Dako-Agilent Omnis	A/B/C
		Leica Bond-III	A/B/C
		Roche-Ventana Benchmark Ultra	A/B/C/D
	EP49 (Epitomics)	Dako-Agilent Autostainer	A/B/C
		Leica Bond-Max	A/B/C
PU29 (Leica/Novocastra/Ménarini)	Leica Bond-III	A/B/C	
SP93 (Roche Ventana)	Roche-Ventana Benchmark Ultra	A/B/C	
<i>Commentaire général : 16 % des cas avec un marquage faible ou bruit de fond gênant, 84 % de bon diagnostic, 79 % de marquage bon ou optimal, 16 % insuffisant</i>			
MSH2	FE11 (Biocare)	Dako-Agilent Autostainer	A/B/C
		Leica Bond-III ou MAX	A/B/C
	FE11 (Calbiochem)	Leica Bond-III	A/B/C
		Roche-Ventana Benchmark ou Ultra	A/B/C
	FE11 (Dako-Agilent)	Dako-Agilent Autostainer	A/B/C
		Dako-Agilent Omnis	A/B/C
		Leica Bond-III	A/B/C
		Roche-Ventana Benchmark ou Ultra	A/B/C
	FE11 (Zytomed)	Leica Bond-Max	A/B/C
	G219-1129 (Roche-Ventana)	Roche-Ventana Benchmark X ou XT ou Ultra	A/B/C
<i>Commentaire général : 8 % des cas avec bruit de fond gênant 100 % de bon diagnostic, 89 % de marquage bon ou optimal, 0 % insuffisant</i>			

Performance classée : A : optimal, B : bon, C : correct mais à améliorer ou D : insuffisant

Tableau 12 : stratégie diagnostique en immunohistochimie en fonction du nombre d'anticorps utilisés. (AC : anticorps PE, PE : perte d'expression)

Références	Tumeurs testées	Méthodes /AC	Références	Performances	Commentaires
(Shia <i>et al.</i> , 2009)	232 CCR	4 AC d'emblée, puis on regarde la performance de PMS2 et MSH6 seuls	Résultat du marquage avec les 4 AC	Tous les cas MLH1 – sont PMS2- Tous les cas MSH2 – sont MSH6-	18 % des PMS2 – sont des pertes isolées de PMS2 30 % des MSH6 – sont des pertes isolées de MSH6
(Side-Pfenning and Sabourin, 2018)	2 624 cas : 76 % CCR, 23 % autres cancers	4 AC d'emblée, puis on regarde la performance de PMS2 et MSH6 seuls	Résultat du marquage avec les 4 AC	Même sensibilité avec 2 anticorps vs 4 anticorps	Non publié, abstract Proposition : 1re intention : PMS2 + MSH6, Compléter par MSH2 et MLH1 en cas de PE ou difficulté d'interprétation Pas de détail pour CCR vs non-CCR
(Pearlman <i>et al.</i> , 2018)	1 730 CCR	1235 : PMS2 + MSH6 seuls 495 : 4 AC Focus sur intensité marquage MSH6 et MSH2	Si MMR-D : recherche mutation germline et si négative, recherche mutation somatique.	1,9 % (33 cas) avec perte MSH2 : 14 perte MSH6 associé : 11/14 avec mut MSH2 8 (0,5 %) MSH6 ambigu : 7/8 avec mut MSH2 11 (0,6 %) maintien MSH6 soit 0,6 % : 9/11 avec mut MSH2 Les cas restants avec double mutation somatique	Importance d'interpréter un marquage plus faible que les témoins internes comme perte de marquage pour MSH6 Possibilité de marquage focal/patchy de MSH6 avec perte de MSH2 : perte Conclusion : faire les 4 AC <i>commentaires de l'expert : ne pas appliquer la règle de % (> 5 % de marquage = expression) !!</i>
(Stelloo <i>et al.</i> , 2017)	696 cancers endomètre	NCI-Pentaplex + 4 AC Cas discordants : méthylation <i>MLH1</i> , marqueurs dinucléotidiques, mutation somatique MMR et <i>POLE</i>	180 /696 : MSI 196/696 : PE une ou plusieurs protéines	100 % des pertes d'expression détectées par le panel à deux anticorps PMS2/MSH6	

Tableau 13 : Interprétation des marquages. Limites de détection (abréviation : PE : perte d'expression)

Références	Tumeurs testées	Méthodes /AC	Références	Performances	Commentaires
Sarode <i>et al.</i> , Arch Pathol Lab Med, 2019	479 : 380 CCR, 99 cancers de l'endomètre	4 AC Score semi-quantitatif par analyse d'images Score ≥ 10 , < 10 % et 0 %	Seuls les résultats négatifs (score 0) ou indéterminés ont une recherche de mutation + <i>BRAF</i> et méthylation <i>MLH1</i>	87,2 % avec maintien d'expression 9,3 % (45) avec PE, dont 33 % avec SL 3,3 % (16) indéterminés dont 50 % avec SL (MLH1 > MSH6) Total : 4,8 % de SL dont 34,7 % avec un marquage indéterminé (MLH1 germline > MSH6)	Lames vues d'abord pour évaluer la qualité du marquage. Contrôle externe mais mode d'évaluation du contrôle interne non précisé 2 cas avec Dot-like (1 MLH1, 1 MSH2) Pas de MSI !!! Étude prospective, but : identification SL, mais analyse d'images rétrospective
Shia <i>et al.</i> , Am J Surg Pathol 2005	112		MSI status	13 % avec faible marquage (MSH6 > MLH1). Parfois c'est le 2d partenaire de l'hétérodimère qui est plus faible si mutation du 1 ^{er} hétérodimère (couple MSH6/MSH2)	IHC rétrospectif
Mangold <i>et al.</i> J Pathol 2005	82		MSI-H	17 % faible ou focal pour MLH1 (tous MLH1 muté)	IHC rétrospectif
Pearlman, Modern Pathol 2018	1 730 CCR	Focus sur MSH2 (et MSH6) Trois types de marquages : *maintien = ou > aux témoins internes *Équivoque : < au témoin interne mais présent * absence de marquage	Mutations germinales ou somatiques MSH2	Pour MSH6 (en cas d'inactivation germinale ou somatique de MSH2) : 7/33 cas avec marquage équivoque de MSH6	Un marquage de MSH6 plus faible dans la tumeur que dans les témoins peut à tort être interprété comme un maintien d'expression
Bao <i>et al.</i> , AM J Surg Pathol 2010	51 CCR post néo-adjuvant	Marquage MSH6 sur tumeur post - traitement	Marquage MSH6 sur biopsie pré-traitement	10/51 (20 %) avec diminution de MSH6 (dans 70 % à 100 % des cellules tumorales)	
Kuan <i>et al.</i> , Human Pathol, 2027	50 CCR MSS avec T néo-adj 64 CCR MSS sans T néoadjuvant 3 CCR avec mut germinale MSH6	MSH6 + Ki67 + MSH2 (+ MLH1 et PMS2) Interprétation MSH6 : > 10 % puis par tranche de 10 % : appelé marquage « hétérogène »	+/- MSI +/- IHC sur biopsie pré-op pour les deux sous-groupes	- 12/50 avec diminution de MSH6 (20 à 100 % des cellules tumorales). Les 4 cas avec perte complète MSH6 (FOLFOX > 6 cycles ou 5FU + radioT) : MSS et maintien MSH6 en préT 8/64 avec diminution d'expression MSH6 (de 10 à 50 % des cellules tumorales) Associé à une diminution de Ki67 dans les deux sous-groupes 3/3 des SL mutés MSH6 avec perte complète MSH6 et Ki67 élevé	La diminution partielle le plus souvent d'expression de MSH6 dans les CCR est MSH2 indépendante mais traduit une diminution du cycle cellulaire

Tableau 14 : Études d'agrément interobservateurs

Auteurs	Type de tumeur	Design de l'étude	Résultat	Commentaires
Overbeek, Am J Surg Pathol 2008	100 CCR	Agréments interobservateurs (7 lecteurs : 2/7 : experts) et exactitude Avec les 4 AC Pré-évaluation sur 20 cas avec réunion : marquage normal, aberrant ou indéfini	82 % des cas : consensus pour > 4 lecteurs, surtout pour les cas MSS. Kappa modéré : 0.49-0.79 Cas MSI : davantage d'indéterminés 2 experts + 1 n'ont raté aucun cas MSI Conclusion : l'IHC est un outil valide pour détecter un dMMR par des pathologistes experts Marquage aberrant ou indéfini : doit être confirmé par bio mol	Uniquement sur CCR mais message d'expérience nécessaire toujours valable
Sari, Am J Surg Pathol 2019	48 cancers de l'endomètre et 25 cancers ovaïres et non séreux, non mucineux	6 pathologistes, 2 centres (1 expert + 1 non expert) Avec les 4 AC + pré-training sur 9 cas avec un outil décisionnel Intact, perdu, équivoque	Agréments inter-observateur presque parfait Kappa : 0.91 Agrément de tous les lecteurs pour 92 % des tumeurs, moins bon pour les non-experts 6/73 cas avec résultats discordants entre pathologistes (hétérogénéité clonale, TIL, faibles témoins internes) mais un seul cas avec un impact clinique	Meilleurs résultats que sur le papier de Overbeek (12 ans plus tard : diffusion des techniques d'interprétations) Toujours les mêmes problèmes bien identifiés maintenant Outil décisionnel +++

Tableau 15 : Concordances IHC et détection de l'instabilité microsatellitaire

Abréviations : PE : perte d'expression, CCR : cancer colorectal, BM : biologie moléculaire

Cancer colorectal

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Hampel H, NEJM 2005	CCR (317)	MSI panel NCI-Bethesda sur 1 066 cas + IHC 4 protéines sur tous les cas MSI-H (135) ou MSI-Low (73) et sur 109 cas MSS	MSI-H Mutations germline chez les patients MSI-H	Sensibilité IHC pour détecter MSI-H : 93,2 % 10/70 MSI-L avec IHC anormale 2/23 SL ratés par IHC 2/23 SL ratés par MSI	Panel NCI-Bethesda Étude ancienne. IHC non systématique mais uniquement pour MSI-H
Lindor, 2002	1 144 (CCR)	MLH1 et PMS2 10 markers ou 6 markers incluant NCI-Bethesda Plusieurs centres	Comparaison de la performance de l'IHC par rapport à MSI seulement	Discordances : 2,4 % Sensibilité IHC : 92,3 % Spécificité 100 % VPP de l'IHC pour MSS/MSI-L : 96,7 % VPP de l'IHC pour MSI-H : 100 %	2 AC seulement Panel NCI-Bethesda élargi avec peu de marqueurs mononucléotidiques
Engel C <i>et al.</i> , Int J Cancer 2006	1 119 (CCR) CA II ou NCI-Bethesda uniquement	IHC : les 2 AC MLH1 et MSH2 seulement MSI : Panel NCI (mono + Dinucléotides)	Mutations MLH1 ou MSH2 mais seulement pour les cas MSI et/ou dMMR en IHC	IHC par rapport à MSI : Sensibilité : 99.1 % et Spécificité : (99.6 %) mais 6 % des mutations non détectés par l'IHC	Sur patients sélectionnés (CA ou NCI-Bethesda), recherche seule des mutations MLH1 et MSH2 IHC 2 AC seulement, panel NCI
Hatch <i>et al.</i> , 2005	262 (CCR)	Panel NCI (mono + Dinucléotides) 4 AC	26 /262 (10 %) MSI-H ; 26/26 avec perte IHC 11/262 (4 %) MSI-L ; 2/11 avec perte IHC 225 (86 %) : MSS	5,4 % de discordances Sensibilité de l'IHC pour détecter MSI-H : 100 %	Panel NCI
Yuan <i>et al.</i> , 2015	296 (CCR) Critères	4 protéines MMR	Référence : MSI-H	Sensibilité IHC : 100 %	Gold standard : MSI avec panel NCI-Bethesda.

ANNEXES

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
	NCI-Bethesda +	Panel NCI-Bethesda	68/296 MSI-H + 9 MSI-L 72 cas MMR-D en IHC (68 MSI H, 2 MSI-L et 2 MSS)	Spécificité : 98,2 % 1,4 % discordance : PE et MSS, aspect clonal	Perte clonale non considérée comme dMMR Donc IHC > MSI Papier centré sur efficacité 2 AC vs 4 AC (même performance)
Chen <i>et al.</i> , 2018	569 CCR	Monocentrique chinois Panel NCI-Bethesda 4 protéines MMR	37 MSI-H (6,5 %) et 11 MSI-L 69 dMMR en IHC (12,3 %)	Concordance : 92,92 % (9,1 % de discordance) Recommandation : MSI inutile si pMMR. Si dMMR : faire MSI pour confirmer l'instabilité	Faible % MSI % dMMR en IHC plus proche du % attendu
Cohen <i>et al.</i> , abstract ESMO 2018	92 CCR	CCR traité par immunoT 4 protéines MMR + NCI-Pentaplex		9,1 % de discordance	

Tout type histologique

	Type tumoral	Méthodes	Référence (s)	Performances	Commentaires
Selves <i>et al.</i> , abstract ECP 2019	3 800 tumeurs (CCR >> CE > cancers digestifs non CR > autres types histologiques) 491 CCR dMMR 42 Cancers endomètre dMMR 26 cancers digestifs non-coliques dMMR 26 Autres tumeurs dMMR	Monocentrique Pentaplex + 4 AC Puis contrôle avec relecture des lames et de BM Détermination d'un profil classique (= concordant) et d'un profil inhabituel (discordant + d'autres profils particuliers)	585 MM-D : 496 MMR-D classiques et 89/585 MMR-D inhabituel avec description de 4 profils inhabituels : perte isolée PMS2/MSH, perte de > 2 protéines MMR, perte en couple mais pas de MSI, MSI mais sans perte de protéines	Sensibilité IHC pour détecter MSI-H : 99,4 % Sensibilité MSI-H pour détecter PE en IHC : 95,7 % Meilleures performances de la BM pour CCR	Concordance des deux techniques (MSI-H + perte isolée PMS2 ou MSH6, perte en couple et perte complexe) pour le diagnostic de dMMR : 94,3 %
Latham, JCO 2019	15045 cancers (50 types de cancer)	MSI-Sensor /NGS, classé en MSI-H, MIS-I et MSS + IHC pour les cas identifiés SL en germlinal (tout type histo : CCR, EC, urothélial, prostate, gliome...)	SL identifiés par mutations germinales	53SL/326 MSI-H (16,3 %) 13 SL/699 MSI-I (1,9 %) 37 SL /14 020 MSS (0,3 %) 56/57 SL MSI-H/I avec PE en IHC : concordance de 98,2 %, et pour les cas non CCR, non cancer de l'endomètre : 100 % de concordance	

Cancers endomètre et autres types histologiques

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Stello <i>et al.</i> Annals of Oncology 2017	696 Cancer endomètre	NCI-Pentaplex + 4 AC Cas discordants : méthylation <i>MLH1</i> , marqueurs dinucléotidiques, mutation somatique MMR et <i>POLE</i> ,	180 /696 : MSI 196/696 : PE d'une ou plusieurs protéines	Concordance : 655/696, kappa = 0,854 Les 41 cas ambigus : perte sub-clonale (18 cas, MSS ou MSI-L (20), maintien d'expression et MSI-L ou MSI-H : 3 cas dont deux cas de mutations <i>POLE</i>) Cas ambigus, discordants : la majorité avec méthylation	Concordance : 94 % des cas, la majorité avec PE sans MSI mais avec méthylation MSI sans PE : 2/3 cas = mutation <i>POLE</i>
Bruegl AS, 2017	213 Cancers endomètres	Hexaplex NCI-Bethesda + 4 AC + méthylation <i>MLH1</i>		3,1 % discordances (6/213) : 3 marquages hétérogènes et MSS 2 avec PE MSH6 ou <i>MLH1</i> /PMS2 sans méthylation et MSS 1 MSI-H et maintien d'expression des protéines MMR	Dans 5/6 discordances : MSS et PE
Lamba AR, Familial Cancer 2015	164 tumeurs sébacées	2 AC seulement MSH2 et <i>MLH1</i> PCR – 5 marqueurs mononucléotidiques	50/162 (31 %) PE d'une protéine et (52/138) MSI 82 % (111/136) concordants et 18 % (25/136) discordants 69/163 (42 %) avec soit PE en IHC, soit MSI	18 % de discordances	Les deux techniques sont complémentaires

ANNEXES

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Abida, JAMA Oncol 2019	1 346 cancers prostate Objectif : Prévalence dMMR et sensibilité à l'immunoT	Séquençage tumeur (TMB et MSI score par MSI Sensor) + germinal IHC et signature mutationnelle dans cas sélectionnés	TMB, altération gène MMR germlinal ou somatique, ou IHC, ou signature mutationnelle	1 033 avec MSI Sensor validé 32 (3,2 %) MSI-H ou I (23 MSI-H et 9 MSI-I) 21/23 cas avec MSI-H, TMBH et PE en IHC 1/23 : MSS mais TMB-H et pas d'IHC réalisable 7/32 (21,9 %) SL 11 patients hormono-résistants traités par ICI : 6/11 répondeurs	Concordance : 100 % (mais avec MSi Sensor en NGS) MSI phénomène secondaire acquis pour 2/6 patients avec plusieurs tumeurs
Fraune C, Virchows Arch . 2020	200 cancers prostate avancés	4 AC en 1 ^{re} intention sur TMA puis contrôle sur coupes pleines Test MSI-PCR panel NCI-Bethesda uniquement pour cas dMMR	Pas de référence Objectif : Homogénéité de la PE	10/200 avec PE (9 MSH2/MSH6 loss et 1 MLH1/PMS2 loss) 6/10 avec test MSI-PCR : 4 MSI-H et 2 MSI-L (concordance : 2/3) PE homogène dans les tumeurs 64/ 6 avec MSI-H	Peu de cas avec test MSI

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Guedes LB. Clin Cancer Research 2017	1 133 adénomes prostatiques primaires et 43 carcinomes prostatiques à petites cellules	IHC MSH2 seul SI PE MSH2 : MSI-PCR (NCI-Pentaplex, Promega) et mSINGS (NGS)	NGS : caractérisation altération somatique MSH2	1,2 % PE MSH2 (=14 cas) PE homogène 100 % avec altération somatique MSH2 (10/12 double altération somatique et TMB-H) 25 % des PE avec mutation germinale 8/13 (61 %) MSI en PCR 7/12 (58 %) MSI en NGS Surtout haut grade (gleason pattern 5)	Seulement MSH2 testée MSI uniquement pour les cas avec PE Faible concordance : 61 % Explications : faible pureté tumorale des cancers de la prostate, faible prolifération, N.B. : Même taux de concordance dans les autres rares études qui comparent IHC et MSI-PCR avec marqueurs consensus (MSH2/MSH6 seulement, 7 à 8 cas maxi dans chaque étude)
Harper, Modern Pathology (2017) 30, 146-156	215 TVES , dont 30 associées à d'autres tumeurs du SL (et 6/30 avec SL documenté dont 2 SMT) – 194 cas consécutifs cases (2009 to 2014) – + 21 cas sélectionnés spécifiquement pour un historique de SL ou de néoplasme associé à un SL	IHC 4 protéines	aucune	7 % dMMR en IHC (n = 14) 30 % des 30 cas associés à d'autres tumeurs du SL 2,7 % si aucun contexte familial 12 pertes MSH2/MSH6, 2 pertes isolées MSH6. 0 perte MLH1/PMS2	Pas de test MSI. Pas de génétique systématique mais 6 SL sûrs. Corrélation anatomo-clinique : liée aux formes inversées, à une augmentation des TILS

ANNEXES

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Urakami S <i>et al.</i> , International Journal of Urology (2018) 25, 151--156	TVES = 143 patients	IHC (4 prot) Génétique germline recommandée si dMMR		7 patients (5 %) dMMR en IHC (dont 5 PE MSH2/MSH6 ; 1 perte isolée MSH6 et une PE MLH1/PMS2). 2 SL prouvés sur 2 recherchés (MSH2)	Caractéristiques clinicopathologiques : bas grade, lésions papilloma-like inversées Pas de BM
Schneider B <i>et al.</i> , Clinical Genitourinary Cancer 2020, Vol. 18, No. 5, e563-72	N = 128 patients TVES	IHC (4 protéines) MSI en BM : si pMMR en IHC et/ou si ≤ 60 ans et/ou ATCD tumeur spectre	MSI en BM : 5 marqueurs du panel NCI-Bethesda + 1 marqueur supplémentaire : Cat25	dMMR en IHC : n : 24 (18.8 %) MSI : 29 MSI-high (22,7 %), 7 MSI-low. Soit 36 (28,1 %) Possible SL identifié pour 7.8 % des cas	
Giscard OLAGUI <i>et al.</i> , Bull Cancer. 2014 Feb ;101(2):144-50. doi : 10.1684/bdc.2014.1896. +++ abstract seulement	146 patients opérés d'une TVES	IHC sur TMA MSI par BM (NCI-Pentaplex) seulement si PE		dMMR en IHC : 4,8 %, n = 7 MSI : 5 (recherché chez les 7 patients)	
Metcalfe MJ, J Urol. 2018	115 TVES consécutives Sans contexte de SL	IHC 4 protéines (115 cas) et MSI (panel NCI-Bethesda N et T) : 87/115 cas	Génétique pour cas dMMR	13,6 % dMMR (16/115) en IHC : 7 PE MSH6 et 6 PE MSH2/MSH6 6 % (5/87) MSI/MSH 13/16 ont eu les deux analyses : 6/13 concordants (46 %) et 7/13 discordants (dMMR mais MSS ou MSI-L) dont 2 SL 5,2 % SL	9/16 : Consultation d'oncogénétique et 6/9 SL prouvés soit 66 % max et 37 % min

ANNEXES

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Hartmann A, CANCER RESEARCH 2002 62, 6796 – 6802	73 carcinomes urothéliaux de l'urètre et/ou du pelvis rénal non sélectionnés	MSI en BM IHC chez les MSI	MSI National Cancer Institute-designated reference panel (plus BAT40)	21 % MSI-H (15/73) PE (IHC sur 3 prot) : 13/15	Plus grande prévalence chez les patients : femmes, de bas grade et de faible stade tumoral, et avec une croissance papillaire et fréquemment inversée
Ju J <i>et al.</i> , The American Journal of Surgical Pathology : November 2018 -	TVES : 117 Vessie : 160	IHC : MMR expression BM : NCI-Pentaplex N et T si dMMR	Pas de génétique.	IHC : TVES : 9 % (n = 10) dMMR par PE en IHC (8 MSH6 seul ; 1 MSH2 + MSH6 ; 1 MLH1 + PMS2) Vessie : 1 % dMMR (1 MSH6 seul) Parmi les dMMR en IHC : TVES : 4/10 MSI en BM (40 %) (soit 3 % de toutes les TVES) Vessie : Aucune (0 %) MSI en BM	Facteur prédictif de dMMR en IHC : antécédent personnel e CCR Le seul cas MLH1/PMS2 - : <i>BRAF</i> WT et pas de méthylation importante discordance car IHC : faible marquage interprété comme une perte
Ericson, BMC Cancer 2005	216 TVES et rein	MSI en BM IHC (4 prot)	National Cancer Institute (NCI) panel ; BAT25, BAT26, BAT34, BAT40, D2S123 et D5S346 IHC : DAKO	9/216 (4 %) MSI-H MSI-low : 5/216 (2 %). PE : 11/216 (5 %) surtout MSH2 and MSH6.	

ANNEXES

	Type tumoral	Méthodes	Références	Performances	Commentaires
Bai S <i>et al. Am J Clin Pathol</i> 2013 ;139:765-770	132 TVES	IHC : MLH1 et MSH2 MSI (NCI-Pentaplex) si IHC avec PE		PE MSH2 chez 4 patients : 3 % MSI : 4/4	
Roupret M <i>et al. J Med Genet</i> 2004 ;41	N = 164 pts, TVES de présentation sporadique.	MSI en BM IHC MSH2 (Ventana) chez les MSI Et recherche de mutation germinale MSH2	16 marqueurs microsatellitaires : BAT25 (4q12), BAT26 (2p16), MFD15 (1q23), D2S123 (2p16), APC (5q22), BAT40 (1p13.1), D18S58 (18q22), D18S69 (18q21), D10S197 (10p12), MYC1L (1p34), UT5320 (8q24), ACTBP2 (6q13), CF.S1R (5q33-q35), D20S82 (20p12), D11S488 (11q24), et D9S242 (9q33)	N = 27 MSI (16 %) 15/21 perte de MSH2 3 SL mutations germinales (soit 20 % des cas avec PE de MSH2 et 11 % min des MSI)	
Bai S <i>et al. Am J Clin Pathol</i> 2013 ;139:765-770	132 TVES	IHC : MLH1 etMSH2 MSI (NCI-Pentaplex) si IHC avec PE		PE MSH2 chez 4 patients : 3 % MSI : 4/4	

Annexes Chapitre IV : Biologie moléculaire

1. Annexe IV.1 : Analyse bibliographique des tests MSI-PCR et méthodes alternatives

Abréviations : Beth : NCI-Bethesda ; Penta : NCI-pentaplex ; Penta P1 : panel originel avec NR22 ; Penta P2 : panel actualisé avec NR27 ; Id : Idylla ; M1 : MLH1 ; M2 : MSH2 ; M6 : MSH6 ; P2 : PMS2 ; PE : perte d'expression en IHC ; CE : conservation d'expression en IHC ; TS : tissu sain ; ND : Non déterminé ; LoD : limite de détection ; BM : biologie moléculaire ; Se : sensibilité ; Sp : Spécificité ; FP : Faux positif ; FN : Faux négatif ; NI : Non interprétable ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ;

a) MSI-PCR « classique » avec les panels « consensus » : NCI-Bethesda et NCI-Pentaplex

NCI-Bethesda : 2 mono-nucléotidiques : BAT25, BAT26, et 3 di-nucléotidiques : D2S123, D5S346, D17S250

NCI-pentaplex : 5 mono-nucléotidiques : BAT25, BAT26, NR21, NR24, **NR27/MONO27** (Promega MSI v1.2, P2) ou BAT25, BAT26, NR21, **NR22**, NR24 (Suraweera *et al.* 2002, P1)

Méthode : PCR-analyse de fragments

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Goel <i>et al.</i> Pone 2010	213 CCR	Penta P2 (213) + Beth (123 : 86 dMMR, 37 pMMR) pour comparaison	IHC : 114 dMMR (50 M1, 48 M2, 8 P2/M6), 99 pMMR	<u>ND</u>	<p>Penta (seuil $\geq 2/5$ / $\geq 3/5$) :</p> <p>Se : 95.6 (90.1-98.1) / 93.9 Sp : 100 (96.3-100) / 100 VPP : 100 (96.6-100) / 100 VPN : 95.2 (89.2-97.9) / 93.4</p> <p>M1/M2/P2 vs M6 (seuil $\geq 3/5$) :</p> <p>Se : 96 %/100 %/100 % vs 37.5 % (3/8) ; Sp 100 %</p> <p>M1/M2/P2 vs M6 (seuil $\geq 2/5$) :</p> <p>Se : 96 %/100 %/100 % vs 62.5 % (5/8) ; Sp 100 %</p> <p>Penta vs Beth : 100 % de concordance, mais : dMMR : Penta 88 % à 5/5 et 9 % à 4/5 vs 71 % et 24 % pour Beth pMMR : Penta 97 % 0/5 et 3 % 1/5 vs 92 % et 8 % pour Beth</p>	<p>Défaut de Se au seuil de $\geq 3/5$ pour les tumeurs liées à une déficience MSH6 ; seuil à $\geq 2/5$ permet une Se et Sp optimales, notamment pour les tumeurs liées à une déficience de MSH6</p> <p>Penta mêmes résultats que Bethesda mais + francs (+ de marqueurs instables) \Rightarrow Penta + efficace que Beth</p> <p>Penta ne nécessite pas de TS pour analyse comparative \Rightarrow + simple et – coûteux que Beth</p>

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Wong <i>et al.</i> Carcinog. 2006	80 cancers de l'endomètre	Penta P2 (80) + Beth (80) pour comparaison	« Beth » : 21 MSI-H, 69 MSS	ND	Concordance Penta vs Beth : 100 % au seuil de 2/5 Penta : 16/21 \geq 3/5, 5/21 2/5 84/105 (77 %) marqueurs Beth instables vs 101/105 (96 %) marqueurs P2 ; mono-nucléotidiques > dinucléotidiques Se NR27 100 %, NR24 100 %, BAT25 95 %, BAT26 95 %, NR21 90.5 %	Penta mêmes résultats que Beth mais + francs (+ de marqueurs instables) \Rightarrow Penta + efficace que Beth Dérapages moindres \Rightarrow Recommande de tester TS en parallèle pour les cancers de l'endomètre
Xicola <i>et al.</i> JNCI 2007	1058 CCR	Beth (531) (seuil \geq 2/5) + Penta P1 (527) (seuil \geq 3/5) Seuil D \geq 3 pb MSI-H, -L, MSS	IHC (M1/M2/M6/P2) : + analyse constitutionnelle M1/M2 dans dMMR		<u>Beth (531)</u> : Se 76.5 % (61 %-92 %) ; Sp 97.2 % (96 %-99 %) VPP 65.0 % (49 %-81 %) <u>Penta (527)</u> : Se 95.8 % (89 %-103 %) ; Sp 98.7 % (97 %-100 %) VPP 88.5 % (79 %-98 %) Se mono-nt > di-nt Panel BAT26 + NR24 : mêmes performances que Penta	\Rightarrow Penta (au seuil \geq3/5) + efficace que Beth (au seuil \geq2/5) N.B. : BAT26 + NR24 aurait les mêmes performances que Penta (?) # Résultat contradictoire avec autres études concernant NR24 (Goel 2010 ; Pagin 2013)
You <i>et al.</i> Br. J. Cancer 2010	29 : 19 CCR, 6 cancers de l'endomètre, 3 urothéliums, 1 grêle	Penta P1 N.B. : comparaison à P2	MSH6 déficience (mutation constitutionnelle MSH6 ou/et IHC)	ND	Se : 15/15 (100 %) avec TS et 28/29 (97 %) sans TS 26/29 (89.5 %) \geq 3/5 (1 CCR 0/5, 2 CCR 2/5) NCI-Pentaplex originel (Suraweera <i>et al.</i> 2002) vs. Version + récente (Buhard <i>et al.</i> 2006) : 90 % de cas 5/5 marqueurs exploitables vs 51 % ceci en raison de la taille moindre des fragments amplifiés (103-142 pb vs 87-179 pb)	\Rightarrow Penta efficace pour endomètre ; TS pas nécessaire dans majorité des cas... N.B. : 2 tumeurs sans TS classées MSS si seuil à 3/5 \Rightarrow intérêt à utiliser des méthodes amplifiant des fragments de petite taille, afin de limiter les résultats NC (non contributifs) si ADN de mauvaise qualité

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Hissong <i>et al.</i> Mod Pathol. 2018	809 CCR (issus de 922 CCR)	Penta P2 (Promega)	IHC (M1/M2/M6/P2)	ND	Comparaison IHC/Penta : - Résultats concordants dans 806/809 (>99%) : 648 (80.4%) CE/MSS, 158 (19.6 %) PE/MSI - 3 discordances CE/MSI : <ul style="list-style-type: none"> - 1 mauvaise interprétation M6 (rectum traitement néoadjuvant avec marquage faible et « patchy » M6 - 1 erreur labo BM (MSI à la vérification) - 1 erreur IHC (PE M1/P2 à la vérification) 	⇒ très bonne concordance MSI/IHC dans CCR (0.4 % de discordance)

▪ **Cas particulier de PMS2** (*MSH6* traité dans You *et al.* 2010 et Pagnin *et al.* 2013)

Wang *et al.* Human Mutat 2020. MSI et IHC chez patients porteurs de variants constitutionnels PMS2

Van der Klift *et al.* 2016. MSI et IHC chez patients porteurs de variants constitutionnels PMS2

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Wang <i>et al.</i> Human Mutat 2020 (rétro)	163 dont 136 avec variant hétérozygote PMS2 classe 4/5 (80 % de CCR)	Penta P2 (MSI Promega) (+/- BAT40) IHC (M1/M2/M6/P2)	Mutation pathogène constitutionnelle hétérozygote PMS2	<u>MSI</u> : 131/136 (96.3 %) MSI 4 MSS (2.9 %) (3 CCR, 1 endomètre) IHC : 113/148 (76 %) PE P2 : 96 (65 %) PE sélective ; 7 PE P2/M1 ; 34/148 (23 %) avec suspicion de perte ou résultat NC	⇒ IHC PMS2 apparaît plus délicate d'interprétation que MSI (23 % marqueur faible ou non contributif (NC)), mais Se au moins équivalente à MSI <u>si</u> prise en compte des suspicions de perte + NC... Perte combinée possible P2/M1 (7/113 (6 %)) PE isolée PMS2 associée à MSI-H, sauf dans 1 cas (1 ovaire MSI-L) 1 MSS avec PE PMS2 et 3 MSS avec résultats NC ou expression faible P2
Van der Klift <i>et al.</i> 2016	396 patients testés pour PMS2, dont 130 avec variant PMS2 cl. 4/5 (≠ groupes)	Penta P2 ? IHC (M1/M2/M6/P2)	Mutation pathogène constitutionnelle PMS2 (n = 130) N.B. : IHC : 118 avec PE isolée P2, dont 91 avec variant(s) pathogène(s) PMS2	<u>MSI</u> : 78 MSI-H /91, 1 MSI-L, 4 MSS, 8 non testés ou NI ; soit 78 MSI-H/83 (94 %) testés sûrs <u>IHC</u> : 39 cas avec variant pathogène et résultat autre que PE isolée P2 : 8 PE P2/expression faible M1 ; 5 PE P2/M1, 3 CE	Difficile de tirer des conclusions de cette étude (analyses de sous-groupes). 78/91 (86 %) MSI-H, mais 8/91 <u>non testés</u> ou non interprétables (NI) (non détaillé)... 5-13/130 (5-10%) de perte combinée P2/M1 127/130 (97 %) avec PE P2 (isolée ou combinée), mais biais car 118 sélectionnés sur la base de la perte isolée P2

b) Les alternatives : Le test Idylla, HSP110, NGS, les autres panels PCR, nouveau test Promega...

1. Idylla MSI Assay (Biocartis) :

Marqueurs : 7 marqueurs sélectionnés à partir Zhao *et al.* eLife 2014 (panel MSI de 56 marqueurs sélectionnés à partir WGS/WES) sur base de fréquence MSI dans CCR et endomètre, robustesse % technologie, monomorphisme, possibilité multiplex...) : **ACVR2A, BTBD7, DIDO1, MRE11, RYR3, SEC31A, SULF2**

Méthode : PCR- courbes de fusion ; $\geq 50 \text{ mm}^2$ et $\geq 20 \%$ cellules tumorales (préconisations fournisseur) ; rapide (2,5 h/échantillon)

Résultat : interprétable si $\geq 5/7$ marqueurs interprétables (« no mutation detected » / « mutation detected » / « invalid ») ; 2 catégories : MSI-H si $\geq 2/7$ mutés / MSS si $< 2/7$ mutés.

N.B. : 4 publications récentes (Nov et Déc 2019) : bonne concordance avec MSI/IHC mais données ~ uniquement sur CCR.

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Lee <i>et al.</i> J. Path. Trans. Med. 2019 +++	115 CCR	Beth + NGS (105/115) ; 100 % concordance (11 MSI-H, 94 MSS/MSI-L) Beth : 89 MSS, 5 MSI-L, 14 MSI-H NGS : 101 MSS, 11 MSI-H (Kim JMD 2019,21 :241-50)	~10 %*	Exactitude : 99.05 % (104/105) Se : 100 % (11/11) Sp : 98.94 % (93/94) VPP : 91.67 % (11/12) VPN : 100 % (93/93)	105 avec résultats interprétables par les 2 méthodes 1 cas MSI-H avec Id (4/7) et MSS avec Beth et NGS *gamme : 2/3 cas à 2 % détectés, 1/1 à 5 %, 2/2 à 10 % Suggère une LoD < 10 %
Zwaenepoel <i>et al.</i> J. Mol. Diag. 2020 (ss presse) +++	330 CCR	Promega MSI v1.2 + IHC (Agilent ou Dako ou Ventana)	ND	<u>Id vs Promega</u> : Exactitude : 99.7 % (98.3 %-100 %) Se : 94.4 % Sp : 100 % VPP : 98.7 % (92.9 %-99.8 %) VPN : 100 % (98.5 %-100 %) <u>Id vs IHC</u> : Exactitude : 98.7 % (96.7 %-99.5 %) VPP : 94.4 % (86.7 %-97.8 %) VPN : 100 % (98.4 %-100 %)	323 avec résultat interprétable par les 2 méthodes (N.B. : 18 réanalyses (5.4 %) avec Promega, 3 (0.9 %) avec Id ; 7 échecs (2.12 %) avec Promega, 2 (0.61 %) avec Idylla) 1 discordance levée après réanalyse à partir du bloc 310 avec résultat interprétable par les 2 méthodes (Id et IHC) (N.B. : exclusion de 16 cas « douteux » en IHC car PE isolée (7 M1/M2, 9 M6/P2 (?!)*...) 4 discordances : PE en IHC/MSS avec Id dont 2/4 PE < 90 % cellules tumorales <i>*Remarque : difficile dans ce contexte d'avoir une idée claire de l'apport de Idylla en termes de Se pour les tumeurs MSH6</i>

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Samaison <i>et al.</i> J. Clin. Pathol. 2019	12 : 8 CCR, 1 cancer de l'endomètre, 1 cancer de l'ovaire, 1 adénome sébacé	IHC (10/12)* +/- P1 (12/12) ; N.B. : 5 discordances IHC/P1 (5/10)** (3 PE PMS2/MSS ; 2 CE/MSI)	ND	Concordance : Id vs P1 : 11/11 (100 %) Id vs IHC : 5/9	1 cas NI avec Idylla (<5/7 marqueurs interprétables) *2 cas NI avec IHC **CCR <i>Rq</i> : résultat quelque peu étonnant
Li <i>et al.</i> Clin. Col. Cancer 2019	42 CCR	BM <u>ou</u> IHC 20 MSI-H, 22 MSS (20 MSS, 2 MSI-L)	ND	Concordance : 97.62 % (41/42)	1 cas "MSI-H" (PE en IHC) et MSS avec Idylla (0/7)
Maerten <i>et al.</i> Biocartis ESMO 2018	201 CCR	Promega MSI v1.2		Concordance (173/201) : Id vs Promega : 93.6 %	173 avec résultat interprétable par les 2 méthodes (24 échecs (11.9 %) avec Promega, 8 (4.0 %) avec Idylla) 11/173 (6.4 %) MSI-H avec Id, MSS avec Promega
Biocartis, ESMO 2018*				Concordance* : Id vs Promega : 97.7 % Id vs IHC : 97.6 %	*d'après Li <i>et al.</i> 2019

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Péciaux A et al., 2020 J Clin Path	115 pan cancer : 53 CCR, 7 cancers de l'intestin grêle, 15 du duodénum / pancréas, 16 cancers de l'estomac, 15 de l'endomètre, 5 des ovaires, 4 urologiques	NCI-Pentaplex P1 (n = 115) ; IHC (n = 84 : tumeurs non CCR (n = 62) + CCR < 40 ans ou MSI (n = 22) ; 4 anticorps)	4-8 %	<p>Concordance :</p> <p><u>CCR (n = 53) :</u> Id vs P1 : 51/53 (96.2 %) (1 FN, 1 NI) Id vs IHC (16 dMMR, 5 pMMR) : 21/22 (95.5 %) (1 FN)</p> <p><u>Digestif non CCR (n = 38) :</u> Id vs P1 : (36/38 (94.7 %) (1 FN, 1 NI) Id vs IHC : 36/37 (97.3 %) (1 FN)</p> <p><u>Gynéco (n = 20) :</u> Id vs P1 : 17/18 (94.4 %) (1 FN) Id vs IHC : 19/20 (95 %) (1 FN)</p> <p><u>Uro (n = 4) :</u> Id vs P1 : 3/3 (100 %) Id vs IHC : 4/4 (100 %)</p> <p>CCR : se 94 % (16/17) / sp 100 % Digestif non CCR : se 96 % (23/24) /sp (100 %) Gynéco : se 90 % (9/10) / sp 100 % Se globale 94 % et Sp globale 100 %.</p>	<p>Penta P1: seuil à 2/5 ; tissu sain pour analyse comparative pour les non CCR</p> <p>Idylla : 3 faux nég* (1 CCR, 1 grêle et 1 endomètre MSI/dMMR P1 + IHC) et 2 NI (1 CCR MSS IHC non réalisée et 1 digestif non CCR MSS et douteux en IHC)</p> <p>Indique la nécessité de 25 ng d'ADN minimum</p>

N.B. : pour toutes études, suivi des préconisations fournisseur (>20% cellules tumorales)

2. Pan-cancer MSI system (Promega)

D'après des résultats de Bacher *et al.* Plos One 2015 :

Marqueurs : Long mono-nucleotide repeats (LMRs) : **BAT52, BAT55, BAT56, BAT57, BAT59**

Méthode : PCR-analyse fragments

Résultat : 3 catégories : MSI-H si $\geq 2/5$ instables / MSI-L si 1/5 instable / MSS si 0/5 instable

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Bacher <i>et al.</i> POne 2015	430 adénomes CR / 160 patients (52 avec suspicion de SL)	IHC pour Se/Sp (90) : 15/90 PE + Comparaisons : vs Promega MSI v1.2 = P2 vs Beth		<u>LMRs (90)</u> : 15 MSI-H Se : 100 % ; Sp : 96 % <u>P2 (90)</u> : 8 MSI-H Se : 67 % ; Sp : 100 <u>Beth (90)</u> : 9 MSI-H Se : 75 % ; Sp : 97 %	TS disponible dans la majorité des cas (127/160) ; TS généralement utile car LMRs polymorphiques # limite de la méthode N.B. : 3 MSI-L avec P2 et MSI-H avec LMRs

Pan-cancer MSI system :

Marqueurs : 8 marqueurs sélectionnés pour leur plus grande sensibilité à détecter des MSI dans polypes colorectaux, cancers de l'endomètre, cutanés et de la prostate :

BAT25, BAT26, NR21, MONO27, BAT52, BAT57, BAT59, BAT60

Méthode : PCR-analyse fragments

Résultat : **étude en cours**

Conclusion : peu de données disponibles à ce jour

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Bacher <i>et al.</i> ESMO 2018	190 N.B. : Total = 519 / 14 cancers ≠ (100 CCR SL, 100 CCR sporadiques MSI, 100 CCR sporadiques MSS, 219 non CCR suspicion de SL)	mutations MMR/BRAF, IHC + Promega MSI analysis syst v1.2 = P2 pour comparaison (MSI-H $\geq 2/5$, MSI-L 1/5, MSS 0/5)		Résultats <u>préliminaires PanC vs P2</u> : Penta : 108 MSI-H, 17 MSI-L, 55 MSS PanC : 144 MSI-H, 36 MSS Polypes : 5.4 % MSI vs 2.3 % pour P2 PanC : Se 100 % ; Sp 96 % Endomètre : Se x 2 vs P2 "The MSI and IHC results were highly correlated"	⇒ PanC serait plus sensible que Penta, mais étude encore en cours ?

3. TrueMark MSI Assay (ThermoFisher)

Marqueurs : 13 marqueurs : BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR24, NR27, **BAT40, CAT25, ABI-16, ABI-17, ABI-19, ABI-20A, ABI-20B** (ABI = marqueurs « propriétaires » sélectionnés pour leur haute sensibilité dans de multiples cancers)

Méthode : PCR-analyse fragments ; ≥ 200 rfu pour interprétation plus rapide (< 4 h)

Résultat : 3 catégories : MSI-H si $\geq 30\%$ (# 4/13) instables / MSI-L si $\geq 5\%$ (# 1-3/13) instables / MSS si < 5 % (# 0) instable

N.B. : Absence de publication. Validation en interne (poster) :

Comparaison au NCI-Pentaplex P1 (**N.B. : incohérence : noté Bethesda sur poster**) : « Se maximum si D (taille délétion) 3-5 pb $\geq 20\%$ allele frequency ; Sp > 98 % » ; VPP : 0.82 si D ≥ 1 pb, 0.85 si D ≥ 2 pb, 0.88 D ≥ 3 pb... 0.92 si D ≥ 7 pb.

Conclusion : Manque de recul, mais correspond en fait au panel NCI-pentaplex (P1/P2) étendu.

4. Autres panels / marqueurs

Marqueurs : BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR27, **BAT40** (Hexaplex (Hex)) = **Penta P1/P2 + BAT40**

Méthode : PCR-analyse fragments

Résultat : 3 catégories : MSI-H/MSI-L/MSS ; MSI-H si $\geq 3/6$, MSI-L si 1-2/6, MSS si 0/6

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Pagin <i>et al.</i> Br. J. Cancer 2013 (rétro)	148 : 71 CCR ; 77 non CCR (31 Endomètre, 12 Urothéliums, 12 Ovaires, 7 Sébacés, 6 Estomac, 2 SNC, 7 adénomes colorectaux)	IHC (138) +/- méthylation <i>MLH1</i> ou mutation constitutionnelle MMR (61) : 77 dMMR, 71 pMMR Penta (148) à titre de comparaison	ND**	<u>Hex</u> (seuil 1/6 marqueurs / seuil 2/6 marqueurs) : Se : 0.96 (0.89-0.99) / 0.91 Sp* : 0.97 (0.90-1.00) / 0.97 VPP : 0.97 (0.91-1.00) / 0.97 VPN : 0.96 (0.88-0.99) / 0.91 <u>Penta</u> (seuil 1/5 marqueurs / seuil 2/5 marqueurs) : Se : 0.92 (0.84-0.97) / 0.86 Sp : 0.97 (0.90-1.00) / 1.00 VPP : 0.97 (0.90-1.00) / 1.00 VPN : 0.92 (0.83-0.97) / 0.87 Performances CCR vs non-CCR : <u>CCR</u> : Hex Se 1.00 / P1 Se 1.00 <u>Non CCR</u> : Hex Se 0.93 / P1 0.86 <i>cf. plus bas pour détail /organe</i> Performances non MSH6 vs MSH6 : <u>Non M6</u> : Hex Se 0.97 / P1 Se 0.95 <u>MSH6</u> : Hex Se 0.95 / P1 Se 0.84	*2 « FP » : 1 Urothélium mutation constitutionnelle M6 : Hex MSI-L et IHC CE ; 1 Endomètre mutation constitutionnelle P2 Hex MSI-H et IHC CE ; + 2 FP potentiels : 1 adénome rectal + 1 adénome sébacé MSI-H (2/6) et IHC endomètre, tous 2 MSI-L (1/5) avec Pent 2 FN : 1 adénome dyBG, 1 endo < 10 % cellules tumorales Se Hex > Pent quel que soit le seuil. ↑ Se sans ↓ Sp si seuil à 1/6 marqueurs : 8 dMMR dont 7 avec mutation constitutionnelle MMR MSI-L avec 1 ou 2 marqueurs instables (4 avec 2/6 et 4 avec 1/6) Nombre de marqueurs instables non CCR < CCR (4.3 vs 5.4/6) et avec dérapage D moindre (D total 22.5 pb vs 39.5 pb) ⇒ suggéré d'analyser TS en parallèle pour Urothélium, SNC, Adénomes colorectaux 8 tumeurs dMMR (1 Endo, 3 Uro, 1 Ov, 2 CCR, 1 ad) auraient été loupées si BAT40 n'avait pas été testé. BAT40 Se 0.92 (BAT26 0.85, NR27 0.82) et dérapage D > autres marqueurs (8.4 pb vs 7.3 pour BAT26, NR27) ⇒ Intérêt de BAT40 ou autres marqueurs mononucléotidiques plus longs que ceux du Penta pour augmenter la Se, not^t pour tumeurs non-CCR ou liées à MSH6 ? intérêt à reconsidérer MSI-L ? N.B. : BAT40 plus polymorphique, mais seulement 2 allèles fréquents # 88 % et profil perturbé ++ quand instable

**N.B. : LoD évaluée depuis à < 15 % ADN muté (d'après le contrôle de qualité interne 10-15 % à partir de lignées diluées)

ANNEXES

Marqueur : HSP110 T17

Méthode : PCR-analyse fragments ; 100-6 000 rfu (relative fluorescent unit) pour que ce soit interprétable

Résultat : 2 catégories : MSI/MSS ; MSI si T14/T16 (R1) ≥ 0.15 ou/et T15/T16 (R2) ≥ 0.50

N.B. : méthode alternative = E-ice-COLD-PCR (LNA blocker probe) (How-Kit *et al.* Hum. Mutat. 2018) : LoD = 0.1-0.05 % ADN muté

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Buhard <i>et al.</i> J. Med. Genet 2016 (rétro)	755 CCR ou adénomes (685 (666 CCR + 19 adénomes) + 70 à risq SL)	IHC + P2 + HT17 (679 résultats non ambigus (HT17 = P2 ou IHC si HT17 \neq P2) P2 : 685 (313 MSI-H ($\geq 2/5$), 366 MSS (0-1/5), 6 ?) + 70 à risque d'un SL (23 MSI-H, 46 MSS, 1 MSI?) IHC : Discordants HT17/P2 + 122 concordants HT17/P2 (104 MSI-H, 18 MSS) + 70 à risque d'un SL	ND	<u>HT17</u> (679 résultats non ambigus) : Se : 0.98 (0.97-0.99) Sp : 1.00 (0.99-1.00) VPP : 1.00 (1.00-1.00) VPN : 1.00 (0.98-0.99) <u>P2</u> (679 résultats non ambigus) : Se : 0.95 (0.93-0.97) Sp : 1.00 (0.99-1.00) VPP : 1.00 (1.00-1.00) VPN : 1.00 (0.96-0.96) Concordance (70 à risque d'un SL) : HT17 vs P2 : 46/46 MSS, 22/23 MSI, + 1 HT17 + (P2 MSI?)	Concordance (679 résultats non ambigus) : 17 « discordances » : 14 FN P2 (dt 7 1/5 marqueurs) 6 douteux P2 4 FN HT17 \Rightarrow meilleure Se HT17 vs P2 dans CCR ; permettrait de classer des cas douteux avec P2 Concordance (70 à risque d'un SL) : 2 « discordances » : 1 MSI? P2 et HT17 + 1 FN HT17 (faible % ct)
Berardinelli <i>et al.</i> Oncotarget 2018	1 013 CCR ; 321 CCR avec HT17	IHC (M1/M2/M6/P2) (996) : 102 dMMR, 886 pMMR, 8 NI + Penta P2 (1 013) pour comparaison : 106 MSI-H, 907 MSS (37 MSI-L, 870 MSS)		<u>Penta</u> (988) : 95,6 % de concordance Se 99,5 % ; Sp 96,1 %, exact 99,2 % <u>HT17</u> (321 : 106 MSI-H, 215 MSS (35 MSI-L, 180 MSS)) : MSS : 100 % concordance MSI (98 interprétables) : 94.9 % (93/98) HT17 + et 5.1 % (5/98) HT17-	Penta vs IHC : 8 discordances : 4 MSI/CE et 4 MSS (dt 2 MSI-L)/PE ; HT17 positif dans ces 8 cas \Rightarrow suggère une + grande Se de HT17 vs Penta

ANNEXES

Marqueur : **EWSR1** (T16 dans 3'-UTR *EWSR1*, quasi-monomorphique)

Méthode : PCR-analyse fragments (*N.B. : analysé aussi par HRM dans Panel N_LyST (cf. paragraphe suivant)*)

Résultat : 2 catégories : MSI/MSS ; seuil : positif si dérapage D ≥ 1 pb ?

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Kishore <i>et al.</i> Cancer Res 2014 (rétro)	<u>Cohorte 1</u> : 85 SL : 78 CCR + 7 CE ; 113 CCR sporadique (14 Me +, 12 MSI-L, 86 pMMR) <u>Cohorte 2</u> : 8 SL : 8 cancers gastriques SL ; 50 CCR sporadiques, 64 Est sporadiques N.B. : 37 adénomes dt 10 SL	<u>Cohorte 1</u> : mutation constitutionnelle (85+8), Me + (14), pMMR (86) <u>Cohorte de confirmation</u> : 29 dMMR, 93 pMMR Beth + BAT40 , MYCL1 pour statut MMR (Umar <i>et al.</i> 2004)	ND	<u>EWSR1</u> : Se : 100 % (IC95 % : 97-100) Sp : 100 % (IC95 % : 98-100) Profil : 126 délétions (98.4 %) / 2 insertions (1.6 %) (# 2 CCR dMSH2) N.B. : EWSR1 négatif dans les 12 MSI-L	N.B. : TS pour analyse comparative 1.6 % cas avec insertion/expansion ⇒ mêmes résultat que Beth + BAT40 , MYCL1 dans CCR, endomètre (mais seulement 7), estomac
Kondelin <i>et al.</i> Fam Cancer 2015 (rétro)	<u>Cohorte 1</u> : 305 CCR (31 SL) : 157 MSI, 148 MSS <u>Cohorte 2</u> : 56 CCR MSI	Statut MMR déterminé par méthodes variées +++ (7 marqueurs, 16 marqueurs, Beth, Penta) (cohorte 2 / Penta P1)	ND	<u>EWSR1</u> : <u>Cohorte 1</u> : 156/157 MSI (99.4 %) 0/148 MSS (100 %) ⇒ 1 cas discordant # FN <u>Cohorte 2</u> : 56/56 MSI (100 %) N.B. : 1 insertion # 1 seul nt !...	N.B. : ADN extraits de tissus congelés ; TS pour analyse comparative Au total : 1 FN / 213 (0.46 %) N.B. : 1 cas avec insertion # 1 seul nucléotide !... ⇒ auteurs suggèrent que EWSR1 pourrait remplacer Beth

Marqueur : **CAT25** (T₂₅ dans 3'-UTR *CAPS2*, quasi-monomorphique (146-148 pb))

Méthode : PCR-analyse fragments ; pas nécessité ADN de tissu sain pour analyse comparative

Résultat : 2 catégories : MSI/MSS ; seuil : MSI si < 146 pb ou > 148 pb

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Findeisen <i>et al.</i> Cancer Res 2015 (rétro)	117 CCR	<u>Beth</u> : 57 MSI-H, 60 MSS (10 MSI-L, 50 MSS)	ND	<u>CAT25</u> : Se : 56 MSI/57 MSI-H (98.2 %) en absence d'ADN de tissu sain ; 57/57 (100 %) avec Sp : 0 MSI/60 MSS (100 %) N.B. : CAT25 négatif dans les 10 MSI-L Profil : CAT25 D 8.1±2.9 pb , BAT26 8.9±3.1 pb, BAT25 6.0±2.2 pb	Étude du polymorphisme sur 200 caucasiens, 102 Africains, 79 Asiatiques : 146-148 pb # quasi- monomorphiques ⇒ serait moins polymorphique que BAT25 , BAT26 N.B. : 1 FN : 146 pb donc visible seulement avec ADN de tissu sain ⇒ performant dans CCR sans nécessité ADN de tissu sain ; auteurs suggèrent l'intérêt d'un panel « triplex » BAT25 , BAT26 , CAT25

ANNEXES

Panel N_LyST (Nottingham Lynch Syndrome Test)

Marqueurs : BAT25, BAT26, **BCAT25, MYB, EWSR1** (+ BRAF 600 + Me MLH1)

Méthode : HRM ; **Validation de méthode** avec LoD (dilutions ADN lignées)

Résultat : 2 catégories : MSI si $\geq 2/5$ (40 %), MSS si $< 2/5$

Réf.	Tumeurs testées	Référence	LoD	Performances	Commentaires
Susanti <i>et al.</i> J Clin Pathol 2018	<p><u>Cohorte 1</u> :</p> <p>99 CCR : 46 dMMR, 53 pMMR</p> <p><u>Cohorte 2</u> : 88 CCR : 45 MSI/dMMR, 43 MSS/pMMR</p>	<p><u>Cohorte 1</u> : IHC (+ MSI P2 (Promega) dans n = 33)</p> <p><u>Cohorte 2</u> : IHC <u>ou</u> MSI P2 (Promega)</p>	~6.25 %	<p>Comparaison MSI P2/IHC (n = 33) : 100 % concordance LoD : « comparable à P2 » ~6.25 %</p> <p>Performances (2 valideurs ≠ pour évaluer robustesse) :</p> <p>Valideur 1 : 100 % de classement correct Valideur 2 : 2 erreurs (MSS au lieu de MSI) N.B. : 7/96 MSS avec instabilité à 1 marqueur en HRM</p>	<p>Validation de méthode, mais seulement sur CCR LoD du test et de NCI-Pentaplex serait ~ 6.25 % d'ADN muté</p> <p>Le test analyse aussi BRAF et Me MLH1 ⇒ présenterait l'avantage de discriminer CCR SL/CCR sporadiques en 1 seul test rapide, peu coûteux, simple et robuste</p>

c) Autres tumeurs que CCR :

N.B. : très peu d'études avec gold standard + problème de la définition du gold standard.

- Endomètre, ovaire :

- Peu d'études avec un gold standard.

- Libera *et al.* 2017 : 71 tumeurs IHC, Méthylation MLH1 +/- mutation constitutionnelle MMR

- Wang *et al.* 2017 : 91 endomètres ; comparaison endomètre / CCR et MSI/IHC

- Stelloo *et al.* 2017 : 91 endomètres IHC, méthyl MLH1 +/- di-nt et NGS quand discordance

- Kuismanen *et al.* AJP 2002 : 57 tumeurs de patients avec mutation constitutionnelle MLH1/MSH2 ; comparaison BAT25, BAT26, BAT40 et mono-nt codants avec CCR

- Wong *et al.* Carcinogenesis 2006 : 80 tumeurs, comparaison Beth et Penta

- Ollikainen *et al.* 2005 : 33 tumeurs IHC (M1/M2/M6) +/- mutation constitutionnelle MMR

- Pagin *et al.* 2013 : 31 tumeurs IHC, méthylation MLH1 +/- mutation constitutionnelle MMR

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Libera <i>et al.</i> J. Clin. Pathol. 2017 (rétro)	95 tumeurs gynécologiques : 71 endomètres 24 ovaires	P1 (MSI si $\geq 2/5$ et D ≥ 3 pb ; MSI-B « ambigu » si D = 1-2 pb) + marqueurs supplémentaires dont RPL22, SRPR (codants)	IHC, méthyl MLH1, mutation constitutionnelle MMR : 53 dMMR <u>Endomètre</u> : 29 pMMR, 42 dMMR (30 SL, 12 Sporadiques) <u>Ovaire</u> : 13 pMMR, 11 dMMR (9 SL, 2 Sporadiques)	36/53 MSI, 4/53 MSS, 13 MSI-B (11SL/2S) : <u>Endomètre</u> : 32 MSI /42 dMMR, <u>3 MSS, 7 MSI-B</u> (2/2 M6, 2/16 M2, 3/23 M1) <u>Ovaire</u> : 4 MSI/11 dMMR, <u>1 MSS, 6 MSI-B</u> (2/2 M6, 0/3 M1, 4/6 M2) Concordance P1 vs IHC : 96 % Se 68 % (MSI) / 92 % (MSI +MSI-B) ; Sp 100 % N.B. : analyse marqueurs supplémentaires : RPL22 : Se 41,5 % (22/53 dMMR) (associé à M1) ; SRPR : Se 13 % (7/53)	4 vraies discordances si MSI-B comptabilisés avec MSI : 3/42 (7%) endomètre et 1/11 (9%) ovaire N.B. : analyse marqueurs supplémentaires : 1/4 cas discordants rattrapé par RPL22 => Intérêt à considérer les D1- (dérapage/délétions 2 pb), notamment quand profil non gaussien + intérêt potentiel de RPL22 et SRPR en support Penta ? <i>N.B. : difficile de comparer au vu des critères utilisés (catégorie MSI-B) ;</i> <i>Q : quid du seuil D avec Promega ?</i>

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Wang <i>et al.</i> J Mol Diag 2017 (rétro)	91 endomètres ; 311 CCR	Penta 2 (MSI Promega)	Utilisation MSI en gold standard pour IHC (n = 79/91 endomètres)	<p><u>Comparaison des profils Endomètre vs CCR</u> :</p> <p>CCR : moy ± SD : -6.3 ± 2.8 nt ; 80 % CCR avec D moy ≥ 6 nt (seulement 2 % des CCR avec D 1 nt)</p> <p>Endomètre : moy ± SD : -2.9 ± 2.2 nt ; 43 % Endomètres avec D moy ≥ 6 nt (10 % des endomètres avec D1 nt !)</p> <p><u>Comparaison MSI vs IHC (n = 78)</u> :</p> <p>IHC Se 95 % (18/19 MSI-H) vs 100 % pour MSI (?!) ; 1 tumeur MSI-H avec CE en IHC</p> <p><u>Détermination LoD</u> (dilution ADN tumoral) :</p> <p>Résultat MSI non modifié si ≥ 30 % cellules tumorales</p>	<p>⇒ Instabilité moindre dans les Endomètres vs CCR : dérapage D moindre, avec % non négligeable de cas avec D 1 nucléotide ! (10 % des Endomètres vs 2 % CCR)</p> <p>⇒ Risque de faux négatifs si < 30 % de cellules tumorales</p> <p>N.B. : 1 seule discordance MSI/IHC : 1 cas MSI-H avec CE en IHC</p>
Stelloo <i>et al.</i> Ann. Oncol. 2017	696 endo (issus de 854 (essais thérapeutiques))	Penta Promega (MSI-H ≥ 2/5 ; MSI-L 1/5 ; MSS 0/5)	IHC, méthylation MLH1 +/- di-nucléotidiques et NGS quand discordance	<p>MSI-H : 180/696 (26 %) ; IHC PE : 196/696 (28 %)</p> <p>Concordance Penta vs IHC : 655/696 (94 %, k = 0.85)</p> <p>IHC : efficacité Ac M6/P2 identique aux 4 Ac</p> <p>41 (6 %) discordances / cas ambigus # perte focale en IHC (18), MSS/MSI-L/PE (20), MSI-L/H /CE (3)</p> <p>2 MSI-H/CE correspondant à des cas mutés POLE</p> <p>11 MSI-L, 10/11 avec PE en IHC !</p> <p>130/169 (77 %) PE MLH1 dont 97 % méthylés M1 +</p>	<p>⇒ concordance ++ Penta / IHC</p> <p>< 3 % cas avec perte sous-clonale : MLH1 # méthylation + ou MSH6 (2nd)</p> <p>Efficacité anticorps M6/P2 = 4 anticorps</p> <p>⇒ suggéré de ne tester que M6/P2 en 1^{re} intention</p> <p>N.B. : PE dans la plupart des MSI-L (10/11) !</p>
Goodfellow <i>et al.</i> PNAS 2003	441 endo	Beth (441) Me M1 (137), puis mut MSH6 dans les Me- (30)		<p>MSI (441) : 127 (28.8 %) MSI-H, 10 (2.3 %) MSI-L, 304 (68.9 %) MSS</p> <p>Me MLH1 (137) : 92/127 (72 %) MSI-H, 0/10 MSI-L</p> <p>Mut MSH6 : 7/30 (23 %) MSI-H Me- (45-71a sans histoire évocatrice ; 7/7 avec seulement 2-3/5 marqueurs instables # mononucléotidiques)</p>	
Kuismanen <i>et al.</i> AJP 2002	57 endo vs 44 CCR	BAT25, BAT26, BAT40 + TGFB2, PTEN...	Mutation constitutionnelle MLH1 ou MSH2 (+/- IHC)	<p>Endomètre : 0.27 marqueurs instables vs 0.45 pour CCR ; 13/57 (23 %) MSS avec tous les marqueurs vs 4/44 (11 %) pour CCR</p> <p><u>Endo</u> : BAT25 : 58 %, BAT26 : 54 %, BAT40 : 54 %</p> <p>D moy : 5.1 pb (1-12)</p> <p><u>CCR</u> : BAT25 : 79 %, BAT26 : 98 %, BAT40 : 78 %</p> <p>D moy : 9.3 pb (3-16)</p>	<p>⇒ Instabilité moindre dans les Endomètres vs CCR : nombre moindre de marqueurs instables et dérapage D moindre</p>

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Wong <i>et al.</i> Carcinog. 2006	80 endo	Penta P2 et Beth pour comparaison	« Beth » : 21 MSI-H, 69 MSS	Concordance Penta vs Beth : 100 % au seuil de 2/5 Penta : 16/21 \geq 3/5, 5/21 2/5 ! 84/105 (77 %) marqueurs Beth instables vs 101/105 (96 %) marqueurs P2 ; mono-nucléotidiques > di-nucléotidiques Se NR27 100 %, NR24 100 %, BAT25 95 %, BAT26 95 %, NR21 90.5 %	Penta mêmes résultats que Beth mais + francs (+ de marqueurs instables) \Rightarrow Penta + efficace que Beth D moindres \Rightarrow Recommande de tester TS en parallèle pour les endomètres
Ollikainen <i>et al.</i> JCO 2005	34 endo (23 isolés) sélectionnés de 62 avec histoire familiale de cancer	Beth (33)	IHC (M1/M2/M6) (33) (+/- mut cst)	IHC : 16/33 (48 %) PE : 7 M1, 12 M2/M6, 5 M6 MSI : 5/33 (15 %) MSI-H, 18 % MSI-L, 67 % MSS MSI-H : 3/4 (75 %) PE M2/M6, 2/7 (29 %) PE M1, 1/5 (20 %) PE M6 MSI-L : 3 PE M1, 1 PE M6 MSS : 3 PE M1, 1 PE M2/M6, 3 M6 Me M1 : 1/7 PE (14 %) M1 1 famille avec mutation constitutionnelle M6 / 3 endomètres : 1 MSI-L et 2 MSS !	Montre efficacité moindre de Beth vs IHC dans les endomètres. <i>N.B. : effectifs pas clairs (discordances table 2 et texte)</i>
Pagin <i>et al.</i> BJC 2013	31 endo 12 ovaires	Hexa (Penta + BAT40) Seuil à 1 marqueurs (1-2 marqueurs : MSI-L, \geq 2 mq MSI-H)	IHC / mutation constitutionnelle / méthylation M1 : <u>Endomètre</u> : 21 dMMR, 10 pMMR <u>Ovaire</u> : 5 dMMR, 7 pMMR	<u>Endomètre</u> : IHC : 20 PE/21 Hexa : 20 MSI/21, mais 3 cas < 3/6 ! Penta : 19 MSI/21, mais 2 cas < 2/5 ! <u>Ovaire</u> : Hexa : 5 MSI/5, mais 1 cas < 3/6 ! Penta : 5 MSI/5, mais 1 cas < 2/5 !	1 FN en BM < 10 % cellules tumorales (mutation MSH6) 1 FN en IHC CE / mutation constitutionnelle MLH1 Pas de FP 3 Endomètres « MSI-L » : 1 BAT40 (mutation MSH6), 1 BAT26 (mutation MLH1), 1 BAT40 +BAT26 (mutation MSH6) 1 Ovaire « MSI-L » : BAT40, NR22 (mutation MSH6)

Ovaires : pas d'étude exploitable identifiée en dehors de Libera *et al.* 2017, Pagin *et al.* 2013 (problème également relevé dans la revue de Murphy & Wentzensen Int J Cancer 2011) :

Shilpa *et al.* Genomics 2014 104 : 257-263 : étude indienne : > 60 % de MSI dans les cancers de l'ovaire et 47 % dans ovaires normaux avec Beth ?!...

Pandolfi Caliman *et al.* Oncol Letters 2012 4 : 556-560 : 37 patientes avec cancer de l'ovaire ; MSI-H dans 84.6 %, 60 % et 78.9 % des cystadénocarcinomes, cystadénomes, sujets sains, respectivement avec Beth ?!...

Catasús L. *et al.* Hum Pathol 2004 ; 35 : 1360-8 : 39 cancers de l'ovaire ; 5/39 (13 %) MSI avec Beth (3 endométrioïdes, 1 à cellules claires et 1 mixte), 3/5 avec PE MLH1.

Ichikawa *et al.* Lynch *et al.* Cancer Genet Cytogenet **1999** : **4 cancers ovaire** et 4 cancer endomètre de patients **Lynch** + 20 tissus normaux (8 ovaires et 12 endomètres) : MSI dans 4/4 cancers ovaires et 3/4 cancers endomètre et **0/8 et 0/12 tissus normaux** avec batterie de 17 marqueurs.

ANNEXES

Gras E *et al.* Cancer **2001** ; 92 : 2829-36 : 52 + 41 cancers de l'ovaire hors suspicion Lynch ; 7 MSI/56 (12.5 %) carcinomes endométrioides ou à cellules claires avec Beth. Pas d'IHC. Mutations BAX (6/7), TGFBR2 (0/7).

■ Tumeurs cérébrales :

Effectifs très faibles avec « gold standard »...

Gylling *et al.* 2009 : 7 patients avec mutation constitutionnelle MMR

Giunti *et al.* 2009 : 2 patients avec mutation constitutionnelle MMR

Pagin *et al.* 2010 : 2 patients avec mutation constitutionnelle MMR

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Gylling <i>et al.</i> Carcinogenesis 2008 (rétro)	7 Système Nerveux central	Beth IHC M1/M2/M6 + mutations PTEN, ACVR2 , TGFBR2, MRE11	Mutation constitutionnelle MMR : SNC : 3 M1, 3 M2, 1 M6	<u>Système nerveux central</u> : Beth : 0/7 IHC : 3/7 (2 M1/3, 1 M2/3 (1 NI), 0 M6/1 (NI)) Autres marqueurs : 0/7	<u>Système nerveux central</u> : Beth : di-nucléotidiques ND 3/7 IHC : M6 NI 5/6 ; ND 1/7 ⇒ montre que Beth inefficace ; IHC +/- efficace N.B. : montre que ACVR2 (marqueur Idylla) peu efficace
Giunti <i>et al.</i> Eur. J. Hum. Genet. 2009 (rétro)	34 gliomes pédiatriques : 6 haut grade, 28 bas grade (18 congelés, 16 FFPE), > 80 %	Penta P1 (BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR24) Complément si + : BAT40, NR27 + D2S123, D5S346, D17S250 + IHC dans 2 MSI		P1 : 2 MSI /34 (4/5 (B26, N21, N22, B25, D 1-2 pb vs TS) et 3/3 (B25, B26, N21)) # HG, 1 CMMRD NR27 : 0/2 + ; BAT40 : 2/2 + D2S123 : 2/2 + ; D5S346 : 0/2 + ; D17S250 : 2/2 + IHC : 1 PE M1/P2, 1 NI	2 MSI = 1 CMMRD (2 mutations P2) ; 1 SL (mutation M1) IHC : M1/M2 Ventana, M6/P2 manuel N.B. : cas MSI = Haut Grade ; dérapage D moindre (1-2 pb) dans 1 des cas ⇒ risque de FN si pas de TS pour analyse comparative N.B. : BAT40 et 2 marqueurs Beth di-nucléotidiques positifs sur les 2 MSI ; 1 cas IHC NI # CMMRD
Leenen <i>et al.</i> Clin. Genet. 2011	2 : tumeurs neuroectodermique primitive et tumeur gliale anaplasique [+ 8 (revue littérature) : 6 glioblastomes multiformes, 1 oligodendrogliome, 1 astrocytome]	Penta P2 (Promega) (2)	2 mutations constitutionnelles PMS2 (CMMRD)	1/2 MSI-H (gliome) 2 PE PMS2 [revue littérature # cas CMMR-D : 2 MSI-H/8 , 5/8 MSS, 1 NA ; IHC : 5 PE /5 testés]	N.B. : profil MSI montre expansions NR21 et BAT25 (pas des délétions) Total : 3/10 MSI vs 7/7 PE ⇒ IHC + sensible que MSI dans tumeurs SNC *pas de redondance avec les autres études signalées

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Heath <i>et al.</i> Ped. Blood Cancer 2013	1 oligodendrogliome anaplasique	Beth étendu	mutation constitutionnelle. MSH2	PE M2/M6 ; MSS (0/9 marqueurs testés)	
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	2 Système nerveux central	Hexa (Penta + BAT40)	IHC / mutation constit. / méthylation M1 : 1 dMMR, 1 pMMR	IHC : 1 PE/1 dMMR Hexa : 1 MSI/1 dMMR Penta : 1 MSI/1 dMMR	

Conclusion : Total = **11 tumeurs SNC dMMR** (avec référence disponible) : Beth : 0 MSI/7 dMMR testés ; Penta/hexa : 3/4 dMMR testés

- Tumeurs voies urinaires excrétrices

N.B. : très peu d'études avec un gold standard...

Gylling *et al.* 2009 : 14 patients avec mutation constitutionnelle MMR

Mongiat-Artus *et al.* 2006 : 2 patients avec mutation constitutionnelle MMR

Pagin *et al.* : 12 tumeurs IHC, Me MLH1 +/- mutation constitutionnelle MMR

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Gylling <i>et al.</i> Carcinogenesis 2008 (rétro)	14 urothéliales (10 uroépithéliales (5 uretères, 5 vessies), 4 reins)	Beth IHC M1/M2/M6 + mutations PTEN, ACVR2, TGFBR2, MRE11	Mutation constitutionnelle MMR : <u>Uro</u> : 11 M1, 3 M2	<u>Uro</u> : Beth : 9/14 MSI-H (+1/14 MSI-L) : 5/5 uretère, 3/5 vessie, 1/4 rein IHC : 12/12 Autres : ACVR2 4/14, TGFBR2 4/14, MRE11 5/14, PTEN 0/14	<u>Uro</u> : Beth : di-nt ND 2/14 IHC : 2/14 ND ⇒ Se IHC > Beth N.B. : montre que ACVR2 (marqueur Idylla) peu efficace

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Hartmann <i>et al.</i> Cancer Res. 2002	73 TVES (uretère ou bassinets)	Beth + BAT40 (seuil ≥ 2/6) + 4 autres marqueurs si 1 seul + (Dietmaier <i>et al.</i> 1997) IHC M1/M2/M6 dans les 15 MSI		15/73 (21 %) MSI-H : Uretère : 9/22 (41 %) Bassinets : 3/40 (7.5 %) Uretère + bassinets : 3/11 (27.5 %) BAT40 : 14/15 (93.5 %) ; BAT25 53 % ; BAT26 40 % BAT25 +BAT26 +BAT40 : 15/15 (100 %) 9/73 (12.5 %) MSI-L IHC : 13/15 (87 %) MSI-H : PE M2 dans 5/15 (33 %) MSI-H (+ 1/9 MSI-L BAT40 +) ; PE M1 7/15 (47 %), PE M6 1/15	N.B. : TS testé en parallèle BAT40 = marqueur le + sensible : Se 93 % vs BAT25 53 %, BAT26 40 % N.B. : 1 cas MSI-L BAT40 + avec PE M2 ⇒ intérêt BAT40 pour les TVES ?
Mongiart-Artus <i>et al.</i> Oncogene 2006	58 TVES , dont 2 SL	P1 (seuil à 3/5) +Beth (25/58 (4 MSI, 1 MSI-L, 19 MSS)) IHC M1/M2/M6	2 SL (# mutation constitutionnelle MMR?)	P1 : 4/58 (7 %) ; 2 SL/2 (5/5) Beth : 4/58 ; 2/2 SL (5/5) IHC : 2/2 SL	2 SL (avec PE M2/M6 en IHC) 56 autres tumeurs testées mais sans gold standard ! N.B. : dérapage D faible (2-8 pb) ⇒ auteurs recommandent de tester TS en parallèle
Pagin <i>et al.</i> BJC 2013 (rétro)	12 TVES Urothéliaux	Hexa (Penta + BAT40)	IHC / mutation constitutionnelle. / méthylation M1 : 6 dMMR, 6 pMMR	IHC : 5/6 Hexa : 6/6 Penta : 5/6	1 FN en IHC CE / mutation constitutionnelle MSH6

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth	P1/P2	TGFBR2	MRE11	MSH3	BAX	RAD50	Commentaires
Mongiart-Artus <i>et al.</i> 2006	Uretère (7 sites / 2 patients)	2 SL (2/58 testés)	2/2	2/2 (5/5)	2/2 (5/5)	1/7 (1/2)	2/7 (1/2)	2/7 (2/2)	7/7 (2/2)	6/7 (2/2)	P2 seuil à 3/5 ; Beth ; IHC (PE M2/M6) Dérapage faible D 2-8 pb ⇒ recommande de tester TS en parallèle ; montre aussi une certaine hétérogénéité intra-tumorale ⇒ intérêt à tester plusieurs sites ?

ANNEXES

■ Estomac :

Bae *et al.* 2015 : 464 cancers gastriques, comparaison MSI/IHC en utilisant le MSI comme « gold standard »...

Park *et al.* Clin Lab 2017 : évaluation de plusieurs panels (5, 7, 10 marqueurs), avec IHC comme gold standard.

Seo *et al.* J Surg Oncol 2009 :328 cancers gastriques, comparaison MSI Beth/IHC M1/M2

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Seo <i>et al.</i> J Surg Oncol 2009	328 cancers gastriques	Beth IHC M1/M2 ! (pas M6/P2)	MSI	IHC : 36/328 PE M1 ou M2, 292 CE MSI : 10 MSI-H/292 CE, 19 MSI-L ou MSS/36 PE ??! ⇒ IHC Se 63 %, Sp 93.7 %, VPP 47.2 %, VPN 91.2 % ??!	Résultats trop bizarres pour être pris en considération...
Bae <i>et al.</i> Gut Liver 2015 (rétro)	464 cancers gastriques (sélectionnés de 2 959 testés pour MSI)	Beth IHC M1/M2 ! (pas M6/P2)	MSI Beth : 203 MSI-H, 261 MSS	IHC : 185 PE/203 MSI-H ; 257 CE/261 MSS ⇒ Se 91.1 %, Sp 98.5 %	Ne donne pas d'information sur les performances MSI N.B. : 9/185 avec PE combinée M1 +M2 ?? posant question de la fiabilité. ⇒ auteurs concluent sur efficacité de IHC pour déterminer statut MMR + sur le peu de gain attendu en termes de rendement si test IHC M6/P2 en supplément...
Park <i>et al.</i> Clin Lab 2017	56 cancers gastriques	<u>Panel 5</u> : BAT40, BAT26, D18S34, D2S123, D17S520 <u>Panel 7</u> : P5 + BAT25, D18S58 <u>Panel 10</u> : P7 + NR27, D17S250, D17S261 Beth <u>QMR</u> = Penta?? <u>IHC</u> M1/M2/??	IHC : 13/56 dMMR, 43/56 pMMR	<u>Panels custom</u> : Se 92 % (12/13), Sp 100 % (43/43) <u>Beth et QMR</u> : Se 62 % (8/13), Sp 100 % (43/43)	Auteur suggèrent dans la conclusion que l'augmentation de Se avec les panels incluant BAT40 et D18S34 permet de discriminer MSI/MSS dans les CG (!...) À revoir avec l'article complet (non accessible) car pas clair !

ANNEXES

▪ Carcinomes sébacés, kératoacanthomes

N.B. : études anciennes pour la plupart et basées sur des critères cliniques ; études concernant ces tumeurs basées principalement sur l'IHC

Entius *et al.* Clin Cancer Res 2000 : 13 patients avec Muir-Torre (carcinome sébacé + autre tumeur associée) + 8 sporadiques

Machin *et al.* J Cutan Pathol 2002 : 10 tumeurs cutanées + tumeurs associées de 6 patients Muir-Torre

Ponti *et al.* Cancer 2005 : 152 lésions de 120 patients, dont 7 Muir-Torre

Everett JN *et al.* JAMA Dermatol. 2014 IHC

Orta L *et al.* 2009 IHC

Singh RS *et al.* Am J Surg Pathol. 2008 IHC

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Entius <i>et al.</i> Clin Cancer Res 2000 (rétro)	13 Carcinomes Sébacés (CS) Muir-Torre (MT) + 8 CS sporadiques	Beth (rdvté) IHC M1/M2 (pas M6/P2)	Critères cliniques	CS sporadiques : 8/8 MSS et CE en IH MT : 9/13 (69 %) MSI-H (5/5 ou 4/5) <u>et</u> PE M1 ou M2 Parfaite concordance MSI/IHC 3 cas MSS/CE # CS + CCR à âges avancés (67, 72, 80 ans)	⇒ parfaite concordance MSI (Beth) / IHC ; instabilité franche avec 4/5 à 5/5 marqueurs instables
Machin <i>et al.</i> J Cutan Pathol 2002 (rétro)	6 patients MT : 10 tumeurs cutanées (8 adénomes sébacés, 1 CS, 1 kératoacanthome (KA)) + tumeurs associées (4 CCR, 2 endomètres, 2 cancers urologiques, 1 grêle, 1 ovaire, 1 adénome colique)	Beth (SSCP) IHC M1/M2 (pas M6/P2)	Critères cliniques	9/10 tu cutanées MSI <u>et</u> PE M2 ; 10 tumeurs associées MSI <u>et</u> PE M2 de 5/6 patients MT + 1/10 tumeur cutanée et CCR correspondant MSI et PE M1 (IHC douteuse sur CCR) de 1/6 patients MT Parfaite concordance MSI/IHC	⇒ parfaite concordance MSI (Beth) / IHC ; suggère une implication prépondérante de MSH2 (en comparaison de MLH1)
Ponti <i>et al.</i> Cancer 2005	152 lésions de 120 patients, dont 7 MT : MT : 15 adénomes sébacés, 6 épithéliomas sébacés, 7 CS, 6 kératoacanthomes	Beth IHC M1/M2/M6	Critères cliniques	MT : 5/7 patients avec tumeurs MSI <u>et</u> PE M1 ou M2 (concerne 9 tumeurs cutanées : 1 CS, 3 Adénomes Sébacés, 2 Kératoacanthomes + 8 tumeurs associées : 3 CCR, 1 estomac, 1 thyroïde, 1 rein) 2/7 MSS <u>et</u> CE (concerne tumeurs cutanées : 1 CS, 2 AdS + 1 tumeur associée (estomac), autre non testée) N.B. : 1 mutation est identifiée dans le seul cas testé (autres en cours ou NR) N.B. : données concernant les 113 sporadiques ??	Résultats focalisés sur les MT ⇒ parfaite concordance MSI (Beth) / IHC et parfaite concordance tumeurs cutanées / tumeurs associées testées

ANNEXES

■ Intestin grêle :

Pas de publication exploitable identifiée.

Aparicio *et al.* Br J Cancer 2013 : comparaison résultats MSI/MMR

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Aparicio <i>et al.</i> Br J Cancer 2013 (rétro)	61 grêles	Penta 2 (n = 42) IHC M1/M2/M6/P2 (n = 51)		14/61 (23 %) "dMMR" (MSI <u>ou/et</u> PE) Aucune discordance entre MSI et IHC	Peu de détails ⇒ peu exploitable ; suggère néanmoins une bonne concordance MSI/IHC

■ Pancréas :

Pas de publication exploitable identifiée.

Lupinacci *et al.* 2018 : 428 PDAC, MSI seulement dans cas dMMR ou qualifiés au préalable comme « douteux » en IHC.

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Lupinacci <i>et al.</i> Gastro 2018 (rétro)	428 adénocarcinomes canaux pancréatiques (sélection de 602 cas : élimination des cas NI en IHC ou matériel insuffisant + 17 Tumeurs intracanaux papillaires et mucineuses du pancréas – liées à un adénocarcinome canalaire pancréatique)	Penta 1 <u>ou/et</u> HT17 IHC M1/M2/M6/P2	IHC : 363 pMMR + 56 dMMR possible : 49 pMMR, 6 dMMR , 1 douteux (9 exclus) + 2 dMMR , 15 pMMR	MSI réalisé dans cas dMMR ou douteux (n = 56) : 19/56 (34 % NR/NI) (qualité/quantité insuffisante) 1 MSI/1 douteux ; 3 MSI/6 dMMR (contamination par ADN normal ?) ; + 1MSI (HT17)/2 dMMR	N.B. : analyses hétérogènes (MSI non fait dans pMMR francs ; MSI fait mais non exploité dans pMMR de cohorte « dMMR douteux » ; MSI = P1 <u>ou/et</u> HT17) ; raison « NR/NI » non exploité ⇒ difficile d'apporter des messages clairs ; suggère néanmoins que IHC + efficace dans nombre de cas en raison de contamination importante par ADN normal, voire ADN non amplifiable (!)

■ Voies biliaires :

Pas de publication exploitable identifiée.

ANNEXES

■ Prostate :

Hempelmann *et al.* 2018 : 91 cancers de prostate avec séquence des gènes MMR disponible. : comparaison de 2 méthodes NGS à NCI-Pentaplex

Antonarakis *et al.* 2019 : 13 cancers de prostate avec information sur des mutations MMR constitutionnelles ou acquises + information MSI

Réf.	Tumeurs testées	Marqueurs	Référence	Performances	Commentaires
Hempelmann <i>et al.</i> J ImmunoTher Cancer 2018 (rétro)	91 prostates	-Penta 2 (Promega) -MSIplus (18 marqueurs = P2 +13 marqueurs dont HT17 et EWSR1 / CLIA -Large-Panel NGS BROCA (146 mq mono-nt) ou UW-OncoPlex (65 mq mono-nt) / mSINGS - IHC M1/M2/M6/P2 (n = 21)	Séquence gènes MMR (par NGS) : 29 dMMR (mutations bialléliques gène MMR), 62 pMMR	<u>MSIplus</u> : Se 96.6 %, Sp 100 % <u>Large-Panel NGS</u> : Se 93.1 %, Sp 98.4 % <u>Penta 2</u> (Promega) : Se 72.4 %, Sp 100 % IHC dans n = 21 cas (7 MSI, 14 MSS, résultats concordants avec les 3 méthodes) : 2 discordances : 1 PE M6 dans un MSS MMR WT ; 1 PE P2 dans un MSS MMR WT <i>N.B. : tests comparatifs tumeur primitive vs méta et xénogreffes : 100 % de concordance</i>	N.B. : auteurs précisent dans Matériel et méthodes qu'ils ont déterminé la LoD pour les 3 tests moléculaires à 20 % de cellules tumorales ⇒ suggère un défaut de Se du NCI-Pentaplex pour la prostate et un intérêt à l'enrichir de marqueurs supplémentaires identifiés comme particulièrement sensibles
Antonarakis <i>et al.</i> Eur Uro 2019 (rétro)	13 prostates métastatiques , dont 11 avec tissu tumoral disponible	- Penta 2 par NGS - TML - IHC	Mutations pathogènes MMR constitutionnelles (n = 1) ou acquises (n = 10)	<u>Penta 2 / NGS</u> : 8/11 (73 %) <u>IHC</u> : 8/10 (2 CE mutés PMS2 # idem Penta 2 ! ; 3 ^e PE M2/M6) <u>TML</u> : les 3 MSS ont TML ≤ 11/Mb ; les 2 MSS/CE ont TML ≤ 6/Mb	N.B. : 2 cas avec mutation PMS2 identifiée dans la tumeur sont MSS avec CE prot MMR et TML bas ⇒ peut se poser la question du caractère biallélique des mutations identifiées ? N.B. : 1 « vrai FN » pour MSI NGS : MSS / muté M6 et PE M2/M6

■ Études pan-cancers

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth	Tri/tétrant	PTEN	ACVR2*	TGFBR2	MRE11	Commentaires
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	Vessie (5)	Mutation constitutionnelle MMR	4/5 (1 NI)	3/5	2/5	0/5	3/5 (60 %)	2/5 (40 %)	2/5 (40 %)	Test de 3 tri/tétra-nucléotidiques (CAGR1, D9S242, D20S85) # EMAST
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	Uretère (5)	mutation constitutionnelle MMR	5/5	5/5	5/5	0/5	1/5 (20 %)	2/5 (40 %)	3/4 (75 %)	Test de 3 tri/tétrant (CAGR1, D9S242, D20S85) # EMAST
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	Rein (4)	mutation constitutionnelle MMR	3/4 (1 NI)	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4	1/4 (25 %)	Test de 3 tri/tétra-nucléotidiques (CAGR1, D9S242, D20S85) # EMAST

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth	Tri/tétrant	PTEN	ACVR2*	TGFBR2	MRE11	Commentaires
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	SNC (7)	mutation constitutionnell e. MMR	3/7 (2 NI)	0/7	-	0/7	0/7	0/7	0/6	
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	Estomac (13)**	mutation constitutionnell e. MMR	10/10	13/13	-	0/13	13/13 (100 %)	8/13 (62 %)	12/13 (92 %)	
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	Côlon (44)***	mutation constitutionnell e. MMR	35/35 (100 %)	46/48 (96 %)	-	2/44 (5 %)	19/20 (95 %)	32/44 (73 %)	22/27 (81 %)	
Gylling <i>et al.</i> 2008 (rétro)	Endomètre (56)***	mutation constitutionnell e. MMR	42/42 (100 %)	38/60 (63 %)	-	11/56 (20 %)	11/24 (46 %)	10/57 (18 %)	18/30 (60 %)	

* ACVR2 = marqueur dans Idylla MSI Test (Biocartis) ; ** données issues de Gylling *et al.* Gut 2007 ; ***données issues de Ollikainen *et al.*

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth + BAT40	Commentaires
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Côlon (21)	mutation constit. MSH6	18 testées : 14 PE M6 ; 2 PE M6 +M2 ; 1 PE M1 +M6 ; 1 CE	18/21 (86 %) MSI-H ; 3/21 (14 %) MSI-L	2 des 3 tumeurs MSI-L (# <30% marqueurs instables, soit 1/6) auraient été considérées MSS si BAT40 n'avait pas été inclus dans le panel ⇒ montre intérêt de BAT40 pour augmenter Se 1 des 3 tumeurs MSI-L # instabilité d'un marqueur di-nucléotidique ! 1 MSI-L/PE M6 et 1 MSI-L/CE Montre que possibilité de PE combinée M2 +M6 quand mutation constitutionnelle M6
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Endomètre (16)	mutation constit. MSH6	15 testées : 15/15 PE M6	11/16 (69 %) MSI-H ; 4/16 (25 %) MSI-L ; 1 MSS	2 des 11 tumeurs MSI-H et 1 MSI-L auraient été classées MSI-L et MSS si BAT40 n'avait pas été inclus dans le panel ; Toutes les tumeurs MSI-L étaient instables à un marqueur mono-nucléotidique ⇒ montre la supériorité des mono-nucléotidiques, intérêt de BAT40 pour augmenter Se ; montre aussi qu'un % non négligeable de tumeurs endométriales sont MSI-L (25 %)
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Voies urinaires (7)	mutation constit. MSH6	4 testées : 4/4 PE M6	5/7 (71 %) MSI-H ; 2/7 (29 %) MSI-L	
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Ovaire (2)	mutation constit. MSH6	1 testée	2/2 MSI-H	
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Estomac (1)	mutation constit. MSH6	1 testée	1/1 MSS (?!)	

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth + BAT40	Commentaires
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Sein (1)	mutation constit. MSH6	0	1/1 MSI-H	
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Col utérin (1)	mutation constit. MSH6	1 testée	1/1 MSI-L	
Hendriks <i>et al.</i> Gastro (retro)	Total : 49 tumeurs	mutation constit. MSH6	40 testées : 39/40 (97 %) avec perte M6 ; 36/40 (90 %) perte isolée M6	49 testées : Se 71 % pour MSI-H Se 90 % pour MSI-H +L	⇒ suggère un gain à considérer les MSI-L pour une Se optimale, mais sachant que le panel utilisé ici = Beth + BAT40 ⇒ suggère une meilleure Se de IHC vs MSI, mais sachant que le panel utilisé ici = Beth + BAT40

Réf.	Tumeurs testées	Référence	dMMR (pMMR)	Hexa* (P +BAT40)	Commentaires
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	CCR (71)	IHC / mutation constit. / méthylation M1	35/71 (36/71)	35/35 (0/36)	
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	Endomètre (31)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	21/31 (10/31)	20/21 (0/10)	1 FN BM < 10 % cellules tumorales N.B. : 1 FN en IHC (CE) avec mutation constitutionnelle MLH1
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	Ov (12)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	5/12 (7/12)	5/5 (0/7)	
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	Ur (12)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	6/12 (6/12)	6/6 (0/6)	N.B. : 1 FN en IHC (CE) avec mutation constitutionnelle MSH6
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	Tum sébacées (7)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	5/7 (2/7)	5/5 (1/2)	+ 1 « FP » comparé à IHC : Hexa (B40 et B26 instables) ; Penta (B26 seul instable) (mutation constitutionnelle ND)
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	Estomac (6)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	1/6 (5/6)	1/6 (0/5)	
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	SNC (2)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	1/2 (1/2)	1/1 (0/1)	
Pagin <i>et al.</i> 2013 (rétro)	Adénomes CR (7)	IHC / mutation constit. / méthyl M1	3/7 (4/7)	2/3 (1/4)	1 FN : ad R dy BG + 1 « FP » comparé à IHC : Hexa (B40 et B25 instables) ; Penta (B25 instable) (mutation constitutionnelle ND)

* seuil ≥ 1/6 marqueur instable

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth	P1/P2	Commentaires
------	-----------------	-----------	-----	------	-------	--------------

ANNEXES

Réf.	Tumeurs testées	Référence	IHC	Beth	P1/P2	Commentaires
Nguyen <i>et al.</i> Fam. Cancer 2016 (case report)	Médulloblastome et Leucémie (1)* Lymphome T et gliome (1)* Myxofibrosarcome (1) CCR (1)	mutation constit. MLH1 *2 mutations MLH1 (CMMRD)	3/3 (Méd, Gliome, Myx)	6/6 (Méd, Leu, Lym, Glio, Myx, CCR)	P1 : 6/6 mais D1-2 pb sf pour CCR	Suggéré que di-nucléotidiques seraient plus sensibles (profils « MSI typiques » vs D 1-2 nt pour mononucléotidiques)

Autres articles d'intérêt potentiel

Revue : Ladabaum *et al.* (Am Gastro Assoc.) Gastroenterology 2015, 149 : 783-813. Revue de la littérature focalisée sur **CCR**

1. Détermination des performances des tests (MSI, IHC) chez des patients avec **CCR** avec pour objectif l'identification des patients avec SL
Identification de 41 études (/1374 citations) avec évaluation de Se/Sp. Référence (gold std) = résultat analyse constitutionnelle gènes MMR.
N.B. : alerte concernant l'hétérogénéité des méthodes, les effectifs parfois faibles et le caractère incomplet de certaines études (analyse parfois limitée à MLH1 et MSH2, absence d'étude de la méthylation MLH1 ou mutation BRAF) induisant une baisse apparente de la Sp.

Résultat :

MSI : Se 0.93 (0.87-0.96) ; Sp 0.79 (0.70-0.86)

IHC : Se 0.91 (0.85-0.95) ; Sp 0.83 (0.77-0.88)

MSI +IHC : Se 0.97 (0.90-0.99) ; Sp 0.75 (0.62-0.84)

Léger effet de l'âge sur performances : baisse de Sp avec l'augmentation de l'âge. ~15 % des patients SL développent un cancer après 70 ans.

2. Détermination des performances des tests complémentaires (méthyl MLH1, mutation BRAF V600E) chez patients avec **CCR** et perte MLH1 en IHC avec pour objectif d'identifier les cas sporadiques.

Identification de 25 études (/859 citations) avec évaluation de Se/Sp. Référence (gold standard) = résultat analyse constitutionnelle gènes MMR.

N.B. : alerte concernant l'hétérogénéité des méthodes (méthylation promoteur MLH1 surtout (variabilité ++ dans la définition d'une tumeur hyperméthylée)).

Résultat :

Méthylation MLH1 : Se 0.75 (0.59-0.86) ; Sp 0.94 (0.79-0.98)

BRAF V600E : Se 0.76 (0.60-0.87) ; Sp 0.96 (0.60-0.99)

Conclusion : MSI ou IHC identifient la vaste majorité des patients avec CCR et mutation constitutionnelle MMR ; études combinant MSI + IHC identifient ~tous patients avec mutation constitutionnelle MMR. Tests de 2^{de} intention, méthylation MLH1 ou mutation BRAF, ont bonne Se pour identifier les CCR sporadiques parmi ceux avec PE MLH1 ; Sp élevée mais imparfaite, un petit nombre de patients avec SL pouvant avoir une tumeur avec méthylation MLH1 ou mutation BRAF.

Yozu *et al.* Australasian Gastrointestinal Pathology Society (AGPS) consensus guidelines for universal defective MMR testing in colorectal carcinoma. Pathology. 2019, 51 :233-9.

Hechtman *et al.* Retained mismatch repair protein expression occurs in approx. 6 % of MSI-H cancers and is associated with missense mutations in MMR genes. Modern Path. 2019, online :

ANNEXES

Analyse résultats IHC dans 443 tumeurs MSI-H avec mutations *cst* ou/et acquises d'un gène MMR. Pan-cancer.

Méthode de détermination MSI : MSK-IMPACT / **MSIsensor v0.2** ! mais validation par détermination TMB dans les cas MSI/IHC discordants.

Résultat : **32/443 (7.2 %) discordances avec IHC** (+ 4 autres avec mutation constitutionnelle MMR) # **maintien d'expression en IHC (6 %)** ou perte isolée non en accord avec le résultat de mutation (en particulier perte isolée PMS2 avec mutation MLH1) (1 %). Population avec discordances enrichie en **variants faux sens** (vs variants pathogènes). (discordances : 17 CCR, 9 Endo, 1 grêle, 1 thyroïde, 1 col utérin, 1 sein, 1 sarcome, 1 prostate)

Remarques : NGS/MSIsensor et non Penta/Beth ; variants faux-sens : prédits pathogènes sur base d'un algorithme (= REVEL) et non un groupe d'experts (InSiGHT...).

Immunohistochemistry vs MSI testing for screening CCR patients at risk for HNPCC. Part I. The utility of IHC / Part II. The utility of MSI testing. J. Mol. Diag. 2008

Se similaires MSI / IHC (4 anticorps) (~90 %), mais chaque méthode permet de rattraper des cas non repérés par l'autre (Hechtman *et al.* 2019).

Part I. The utility of IHC. Shia :

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> - Disponible en routine dans les labos anapath - IHC généralement vue comme peu coûteuse - Aide à identifier le gène muté - Peut détecter des cas échappant au test MSI (mutés MSH6) 	<ul style="list-style-type: none"> - IHC avec anticorps contre MLH1 peu sensible (mais résolu si test PMS2) - Marquage IHC peut varier entraînant des incertitudes dans l'interprétation (marquages focaux, intensité moindre, marquage cytoplasmique...) - IHC peut ne pas être valable sur biopsies de petite taille (pb de certains marquages focaux) - Résultats d'IHC peuvent être interprétés comme apportant une information génétique (pb du consentement du patient) - La sensibilité de l'IHC est dépendante du panel d'anticorps (risque d'omettre une déficience liée à un autre gène que ceux testés) ?...

Part II. The utility of MSI testing. Zhang :

Avantages	Inconvénients
<p>Bon marqueur de la déficience MMR et facile d'utilisation. NCI-Pentaplex a augmenté l'efficacité du test MSI et réduit le coût. Utilisable à partir d'une seule coupe de tumeur (vs 4 pour IHC)</p> <p>EEQ disponible (N.B. : idem pour IHC) ; reproductibilité proche de 100 % (très peu de variabilité inter labo)</p> <p>Peut détecter une tumeur MMR déficiente avec IHC normale, avec mutation faux-sens</p> <p>Peut potentiellement détecter des tumeurs MMR déficientes du fait d'autres gènes que M1/M2/M6/P2, ex. MSH3 ?...</p>	<p>MSI non spécifique du SL, mais méthylation MLH1, mutation BRAF...</p> <p>Tumeurs liées à mutations constitutionnelle MSH6 ont un niveau d'instabilité moindre. <i>On peut ajouter ici les tumeurs SNC, urothéliales...</i></p>

2. Annexe IV.2 : Apport de la technique NGS pour la détection d'une MSI

	Salipante, 2014			Bonneville et al 2017	Middha et al, 2017	Latham et al, 2019
Source	UW-Oncoplex	Coloseq	TCGA			MSK-IMPACT
Méthode	MSI-Plus	mSINGS		Mantis	MSI Sensor	MSI Sensor
Technique	Panel (0,85 MB)	Panel (44MB)	Exome	Exome	Panel de gènes (468)	Panel de gènes (468)
Nombre de microsatellites	15	146	2957	2350	1000	
Nombre de tumeurs	324	324	324	11 139	12 888	15 045
Stade				Tous stades	Stade avancé	Tous stades
Types tumoraux	CCR	CCR	CCR	39	66	50
Taux MSI				3,8 %	1,8 %	2,2 %
Types tumeur > 1 % MSI				10 types de tumeurs	10 types de tumeurs	18 types de tumeurs
				Mésothéliome: 4% Col: 2 % Corticosurénalome: 2%	Grêle: 16 % Endomètre: 16 % CCR: 8 %	Grêle: 30 % Endomètre: 22% Corticosurén: 45 % Mésothéliome: 4 %
Concordance Pentaplex et IHC	100 %	96 %	100 %		99,4 % (colon et endomètre)	98,2 % avec IHC

	Escudié, 2019	FoundationOne®CDx (F1CDx)
Méthode	Panel de gènes ciblés (45)	Panel de gènes (324)
Technique	Amplicon	Capture
Nombre de microsatellites	panel 1(ERP114314) = 6 marqueurs (NR21, NR22, NR27, Bat25, Bat26, HT110) Panel 2 (ERP110591)24 homopolymères courts	95 intronic homopolymer repeat loci (10-20 bp long in the human reference genome)
Nombre de tumeurs	286 (50% MMS, 50 % MSI)	
Stade	Tous stades	
Types tumoraux	6	
Concordance Pentaplex et IHC	99 % pour panel 1 100 % pour panel 2	Non faite 84 % par rapport à IHC/PCR, mais sur 26 cas seulement (Jaffrelot et al, soumis)

3. Annexe IV.3 : ADN tumoral circulant

Abréviations : ctDNA : ADN tumoral circulant

Article	Georgiadis et al. 2019	Cai et al. 2020	Razavi et al. 2019	Willis et al. 2019
Méthode	NGS	NGS	NGS	NGS
Technique bioinformatique	classique + retraitement informatique	Probabilité hypergéométrique	MSIsensor	Modèle probabilistique
Panel Microsatellites	Panel couvrant 98 kb de gènes 70 loci	Panel de 41 genes	Panel de 508 gènes (2Mb)	Panel de 74 gènes
Échantillons Type tumoral	61 plasmas associés à des tumeurs et 163 plasmas de sujet sains	87 plasmas de cancers colorectaux	124 plasmas avec cancer métastatique	1 145 plasmas avec l'information tumorale 28459 plasma
Limite de détection	-	0,4 à 1 %	-	0.1 %
Sensibilité	78 %	98 % à un seuil de 1 % ctDNA et 91.8 % à un seuil de 0.4 % ctDNA	-	Détection à 87 % (71/82) pour les tissus MSI-H
Spécificité	100 %	100 %	-	99.5 % pour les tissus MSS

4. Annexe IV.4 : Intérêt de la méthylation *MLH1* dans les cancers non CCR et non endométriaux pour distinguer SL et tumeur sporadique

Référence	Tumeurs testées	Méthylation <i>MLH1</i>
Kim <i>et al.</i> 2013	Estomac : n = 90 avec perte <i>MLH1/PMS2</i> (issues cohorte de 102 dMMR, soit 88 % des dMMR)	Technique : MethyLight (méthode quantitative) Résultat : 80/90 (78.4 %) méthylées Pas d'analyse constitutionnelle chez ces patients, ni d'éléments permettant de distinguer un groupe de patients suspect de SL. Seulement notion que les tumeurs non méthylées <i>MLH1</i> sont généralement identifiées chez des patients plus jeunes (60,9 ± 10,26 ans vs. 66,9 ± 10,43 ans) (N.B. : méthylation testée sur toutes les tumeurs dMMR (n = 102), mais toutes les tumeurs avec méthylation du promoteur de <i>MLH1</i> montraient une PE de la protéine <i>MLH1</i> ; comparaison des âges inclut les tumeurs non méthylées avec perte de <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i> ...)
Bennett <i>et al.</i> 2019	Ovaire : n = 5 avec perte <i>MLH1/PMS2</i> (issues cohorte de 20 dMMR)	Technique : MSP Résultat : 5/5 (100 %) méthylées Pas de notion d'analyse constitutionnelle chez ces patients. Seulement notion que les tumeurs non méthylées <i>MLH1</i> ont tendance à être identifiées chez des patientes plus jeunes (<50 ans)
Leskela <i>et al.</i> 2020	Ovaire : n = 16 avec perte <i>MLH1/PMS2</i> : 13 endométrioïdes, 1 cellule claire, 1 séromucineux, 1 indifférencié (issues cohorte de 36 carcinomes stade précoce dMMR)	Technique : MSP Résultat : 13/16 (81 %) méthylées Pas de notion d'analyse constitutionnelle chez ces patientes. Mutation constitutionnelle identifiée dans 2 cas/17 tumeurs dMMR testées en NGS, mais apparemment non testées pour la présence de méthylation <i>MLH1</i>
Ruemmele <i>et al.</i> 2009	Ampoule : n = 6/7 carcinomes et 4 adénomes avec perte <i>MLH1/PMS2</i> (issues d'une cohorte de 15 carcinomes et 8 adénomes MSI-H/dMMR)	Technique : MSP Résultat : 5/6 (83 %) carcinomes et 3/4 (75 %) adénomes méthylés Pas de notion d'analyse constitutionnelle chez ces patientes.

Conclusion : Les études montrent que la méthylation *MLH1* est très fréquente dans ces tumeurs, suggérant une majorité de cas sporadiques. Cependant, elles ne fournissent pas d'argument fort permettant d'exclure la possibilité d'une mutation constitutionnelle associée (pas d'analyse constitutionnelle des gènes MMR), une inactivation par méthylation de l'ADN pouvant constituer le 2nd évènement.

6. Annexes Chapitre V : indication des tests MMR tumoraux

1. Tumeurs cutanées

Tableau 16 : Principales études publiées dans la littérature anglo-saxonne ayant réalisé une analyse immunohistochimique pour les protéines du système MMR dans des tumeurs cutanées

Légendes : AS = adénome sébacé ; BM : biologie moléculaire, CBC-S = Carcinome basocellulaire à différenciation sébacée ; CE-S = Carcinome épidermoïde à différenciation sébacée ; CS = Carcinome sébacé ; dMMR = Système MissMatch Repair déficient ; HS = Hyperplasie sébacée ; HVS = Hamartome verruco-sébacé ; KA = Kératoacanthome ; NC = Tumeur non classée ou type histologique non connu ; P = Patients ; S = Sébacéome ; SMT-SL = Syndrome de Muir-Torre/Syndrome de Lynch ; T = Tumeurs ; TI = Tumeur inclassable ; TSA = Tumeur sébacée atypique ; TSI = Tumeur sébacée inclassable ; TSK = Tumeur sébacée kystique.

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Boennelycke M (Pathol Res Pract 2015)	32 T (32 P) 26 AS 6 CS	18 T (56 %) 17 AS (65 %) 1 CS (17 %)	4 T (22 %) 3 AS 1 CS	12 T (67 %) 12 AS	2 T (11 %) 2 AS	0 T	4 anticorps Pas de BM 2 cas équivoques
Cesinaro AM (Am J Dermatopathol 2007)	79 T (70 P) 23 HS 35 AS 21 CS	25 T (32 %) 2 HS (9 %) 16 AS (46 %) 7 CS (33 %)	5 T (20 %) 3 AS 2 CS	20 T (80 %) 2 HS 13 AS 5 CS			2 anticorps (MLH1/MSH2) BM
Chhibber V (Mod Pathol 2008)	41 T (36 P) 31 AS 10 S	24 T (59 %) 17 AS (55 %) 7 S (70 %)	7 T (29 %) tous MLH1 seul testé 3 AS 4 S (dont 1 perte MLH1 +MSH6)	14 T (58 %) 12 AS 2 S (1 perte isolée MSH2 et 1 perte MSH2/MSH6/+MLH1)	3 T (12,5 %) 2 AS 1 S	0 T	PMS2 fait uniquement si perte isolée de MSH6 BM
Entius MM (Clin Cancer Res 2000)	21 T (21 P) 21 CS	8 T (38 %) 8 CS	4 T (50 %)	4 T (50 %)			2 anticorps (MLH1/MSH2) 1 dossier non contributif BM

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Everett JN (JAMA Dermatol 2014)	77 T (? P)	38 T (49 %)	9 T (24 %) perte MLH1/PMS2 ou MLH1 seule	27 T (71 %) perte MSH2/MSH6 ou MSH2 seule	2 T (5 %) perte équivoque	0 T	14/38 (37 %) ont une mutation germinale. BM
Gaskin BJ Br J Ophthalmol 2011	26 T (26 P) 26 CS (périoculaires)	4 T (15 %)	2 T (50 %)	2 T (50 %) MSH2 seul cité	0 T	0 T	4 anticorps mais pas sur toutes les tumeurs Pas de BM
Harvey NT (Pathology 2016)	24 T (23 P) 10 AS 8 S 6 CS	9 T (37 %) 5 AS (50 %) 2 S (25 %) 2 CS (33 %)	0 T	9 T (100 %) 5 AS 2 S 2 CS	0 T	0 T	4 anticorps Pas de BM
Harwood CA (J Invest Dermatol 2001)	17 T (9 P) 1 AS 10 CS 5 CE 1 CBC	3 T (18 %) 3 CS (30 %)	0 T	3 T 3CS			2 anticorps Patients transplantés d'organe solide
Jessup CJ (Hum Pathol 2016)	216 T (216 P) 133 AS 68 S 15 CS	143 T (66 %)	27 T (19 %)	90 T (63 %)	22 T (15 %)	4 (3 %)	4 anticorps Pas de BM

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Joly MO (Hum Mutat 2015)	19 T (17 P) 1 HS 6 AS 6 S 3 CS 3 NC	19 T (100 %) 1 HS (5 %) 6 AS (31 %) 6 S (31 %) 3 CS (16 %) 3 NC (16 %)	6 T (31 %) 1 HS 3 AS 2 S Dont 4 lésions MLH1 seul	12 T (63 %) 2 AS 4 S 3 CS 3 NC	1 T (5 %) 1 AS	0 T	4 anticorps BM faite (avec méthylation) Étude génétique somatique et germinale
Kuwabara K (Jpn J Clin Oncol 2018)	49 T (44 P) 2 AS 3 S 11 CS 32 KA	8 T (17 % - 50 % si KA exclus) 1 AS (12 %) 2 S (25 %) 5 CS (62 %)	1 T (12 %) 1 S	7 T (87 %) 1 AS 1 S 5 CS	0 T	0 T	4 anticorps Génétique et analyse somatique
Lamba AR (Fam Cancer 2015)	162 T (162 P) 91 AS 43 S 15 CS 4 HVS 1 KA 2 NC	50 T (31 %) 27 AS (30 %) 21 S (49 %) 1 CS (7 %) 1 NC (50 %)	9 T (18 %)*	37 T (74 %)*			2 anticorps (MLH1, MSH2) *4 T avec perte MLH1/MSH2 (2 %) BM

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Liau JY (Hum Pathol 2014)	21 T (21 P) 21 CS (périorculaires)	0 T (0 %)	0 T	0 T	0 T	0 T	4 anticorps Pas de BM
Lee BA (J Am Acad Dermatol 2012)	102 T (100 P) 25 HS 45 AS 15 S 17 CS	27 T (16 % - 35 % si HS exclues)	2 T (7 %) 2 AS	15 T + 10 T*(93 %) 14 AS + 6AS* 1 S + 4 S* *perte MSH2 avec diminution expression MSH6	0 T	0 T	4 anticorps Pas de BM
Machin P (J Cutan Pathol 2002)	10 T (6 P) 7 AS 1 CS 1 KA	10 T (100 %) 7 AS 1 CS 1 KA	1 T (10 %) 1 AS	9 T (90 %) 6 AS 1 CS 1 KA			2 anticorps (MLH1/MSH2) BM 6 Patients avec un cancer profond
Mathiak M (Am J Surg Pathol 2002)	28 T (17 P) 4 HS 6 AS 8 S 3 CS 3 TSK 3 KA 1 CE	18 T (64 %) 1 HS (25 %) 5 AS (83 %) 5 S (62 %) 1 CS (33 %) 3 TSK (100 %) 1 KA (33 %) 1 CE (100 %)	2 T (11 %) 1 AS 1 S	16 T (89 %) 1 HS 4 AS 4 S 1 CS 3 TSK 1 KA 1 CE			2 anticorps (MLH1/MSH2) BM 20 patients SMT-SL et 8 contrôles

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Mojtahed A (Mod Pathol 2011)	49 T 26 AS/S 12 CS 11 TSA	24 T (49 %) 12 AS/S (46 %) 3 CS (25 %) 9 TSA (82 %)	6 T (25 %) 2 AS 2 CS 2 TSA	17 T (71 %) 9 AS 1 CS 7 TSA	1 T (4 %) 1 AS (2AS avec marquage MSH6 équivoque)	0 T	4 anticorps BM
Morales-Burgos A (P R Health Sci J 2008)	15 T (15 P) 5 AS 6 S 4 CS	5 T (33 %) 3 AS (60 %) 2 S (33 %) 2 cas S non diagnostiques	0 T	5 T (100 %) 3 AS 2 S			2 anticorps Pas de BM 6P avec cancer profond
Orta L (Am J Surg Pathol 2009)	51 T (27 P) 7 HS 14 AS 30 CS	27 T (53 % - 61 % si HS exclues) 12 AS (86 %) 15 CS (50 %)	3 T (11 %) 2 AS 1 CS	21 T (78 %) 9 AS 12 CS	1 T (4 %) 1 CS	2 T (7 %) 1 AS 1 CS	4 anticorps Pas de BM
Plocharczyk EF (Am J Dermatopathol 2013)	43 T (39 P) 7 HS 6 AS 3 S 15 CS 12 TSI	14 T (33 %-39 % si HS exclues) 1 AS (17 %) 4 CS (27 %) 9 TSI (75 %)	3 T (21 %)	10 T (71 %)	1 T (7 %)	0 T	4 anticorps Pas de BM

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Ponti G (Cancer 2005)	128 T (120 P) 23 AS 5 S 10 CS 90 KA	7 T (5,4 %) 3 AS (13 %) 1 CS (10 %) 3 KA (3 %)	2 T (29 %) 1 AS 1 KA	5 T (71 %) 2 AS 1 CS 2 KA	0 T		3 anticorps (MLH1/MSH2/MSH6) BM 7 patients suspects de SMT-SL 103 témoins
Popnikolov NK (J Cutan Pathol 2003)	39 T (? P) 10 HS 12 AS 7 CS 10 HVS	11 T (28 %) 2 HS (20 %) 6 AS (50 %) 3 CS (43 %)	5 T (45 %) 1 HS 3 AS 1 CS	6 T (55 %) 1 HS 3 AS 2 CS			2 anticorps (MLH1/MSH2) Pas de BM
Rajan KD (Am J Ophthalmol 2014)	10 T (10 P) 10 CS (périoculaires)	1 T (10 %) 1 CS (10 %)	0 T	1 T 100 % 1 CS			4 anticorps Patients avec tumeurs périoculaires BM
Roberts ME (J Genet Couns 2013)	? T (90 P)	51 P (57 %)	6 P (12 %) 2 P (4 %) avec perte MLH1/PMS2 +MSH6	24 P (47 %) 3 P (6 %) perte isolée de MSH2	15P (29 %)	1 P (2 %)	4 anticorps Pas de BM Étude sur des patients, pas des tumeurs
Schon K (Clin Exp Dermatol 2018)	53 T	26 T (52 %)	6 T (23 %)	19 T (73 %)	1 T (4 %)		4 anticorps Pas de BM

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées (et de patients) et types histologiques	Nombre de Tumeurs dMMR (%)	Perte MLH1/PMS2 ou MLH1	Perte MSH2/MSH6 ou MSH2	Perte MSH6 isolée	Perte PMS2 isolée	Commentaire
Singh RS (Am J Surg Pathol 2008)	111 T (109P) 17 HS 46 AS 13 S 35 CS	33 T (30 %-35 % si HS exclues)	3 T (9 %)	30 T (91 %)			3 anticorps (MLH1, MSH2, MSH6) Pas de BM
Walsh MD (Australas J Dermatol 2019)	919 T (?P) 594 AS 141 S 150 CS 18 CBC-S 13 CE-S 3 TI	282 T (31 %) 210 AS (35 %) 34 S (24 %) 34 CS (23 %) 2 CBC-S (11 %) 1 CE-S (8 %) 1 TI (33 %)	60 T (21 %) 46 AS 7 S 6 CS 1 TI	187 T (66 %) 137 AS 24 S 25 CS 1 CBC-S	30 T (11 %) 22 AS 3 S 3 CS 1 CBC-S 1 CE-S	4 T (1 %) 4 AS	4 anticorps 1 tumeur sans détails des résultats de l'immunohistochimie Pas de BM

Tableau 17 : Principales études publiées dans la littérature ayant réalisé une recherche d'instabilité des microsatellites ou d'hyperméthylation du promoteur de MLH1 dans des tumeurs cutanées et comparaison avec l'Immunohistochimie.

Légendes : AS = adénome sébacé ; P = Patients ; T = Tumeurs ; S = Sébacéome ; CS = Carcinome sébacé ; HS = Hyperplasie sébacée ; KA = Kératoacanthome ; TSI = Tumeur sébacée inclassable ; TSK = Tumeur sébacée kystique ; HVS = Hamartome verruco-sébacé ; AGM = Adénome des glandes de Meibomius, CGM = Carcinome des glandes de Meibomius ; TSI = Tumeur sébacée inclassable ; TI = Tumeur inclassable ; TSA = Tumeur sébacée atypique ; NC = Tumeur non classée.

Références	Nombre de tumeurs testées et types histologiques	Nombre de Tumeurs MSI (%)	Discordances IHC/BM	Type de panel utilisé	Commentaire
Cesinaro AM (Am J Dermatopathol 2007)	19 T (6 NC) 5 HS – 2 NC 7 AS – 2 NC 7 CS – 2 NC	7 T (37 %) 1 HS 2 AS 4 CS	7,7 % 1AS MSS avec perte MSH2	Panel NCI-Bethesda (Bat 25, Bat 26, D2S123, D5S346, D17S250)	
Chhibber V (Mod Pathol 2008)	2 T	0	100 % (perte M6)	Non précisé	Analyse faite uniquement sur 2 tumeurs avec perte isolée de MSH6
Entius MM (Clin Cancer Res 2000)	21 T 21 CS	9 T (43 %) 8 CS	0 %	Panel NCI-Bethesda 1 (Bat 25, Bat 26, Bat 40, D2S123, D17S250)	1 cas MSI avec analyse IHC non interprétable
Everett JN (JAMA Dermatol 2014)	24 T	16 T (66,7 %)	8,3 % 1 AS avec perte MLH1/PMS2 et MSS 1 CS pMMR avec MSI-L	Non précisé	
Halling KC (Cancer 1995)	65 T 65 KA	9 T (14 %) 6/53 sporadiques (11 %) 3/12 associés à cancer du côlon (25 %)	Pas de comparaison	D5S346, D9S176, 635/636, p53, D18S34, D18S49	Pas de tumeur sébacée

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées et types histologiques	Nombre de Tumeurs MSI (%)	Discordances IHC/BM	Type de panel utilisé	Commentaire
Harwood CA (J Invest Dermatol 2001)	17 T (9P) 1 AS 10 CS 5 CE 1 CBC	3 T (18 %) 3 CS (30 %)	0 %	D1S201, D1S214, D9S160, D9S176, D9S162, D9S171, D10S185, D13S155, D17S520, D17S796, D17S785	9 patients greffés d'organes avec de multiples lésions. 1 patient avec CS MSI/dMMR avait 2 CE et 1 CBC MSS/pMMR 3 patients avec multiples lésions cutanées (dont 2 tumeurs sébacées pour 2) étaient pMMR/MSS pour toutes les lésions
Honchel R (Cancer Res 1994)	16 T (13P) 8 SA 1 S 4 CS 1 KA 1 CBC 1 AGM 1 CGM	13 T (81 %) 8 SA 1 S 3 CS 1 KA	Pas de comparaison	Dans les gènes <i>APC</i> , <i>P53</i> , <i>Mfd26</i> et locus 635/636 chromosome 15q	
Joly MO (Hum Mutat 2015)	19 T (17P) 1 HS 6 AS 6 S 3 CS 3 NC	19 T (100 %) 1 HS 6 AS 6 S 3 CS 3 NC	0 %	Non précisé	3 tumeurs avec perte de M1 ou M1/P2 étaient hyperméthylées

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées et types histologiques	Nombre de Tumeurs MSI (%)	Discordances IHC/BM	Type de panel utilisé	Commentaire
Kruse R (Am J Hum Genet 1998)	24 T (16P) 10 AS 11 S 1 TSI 2 KA	23 T (96 %) 10 AS (1 MSI-L) 11 S (1 MSI-L) 1 TSI 1 KA	Pas de comparaison	Bat 25, Bat 26, D2S123, D2S136, D3S1298, D5S346, D6S470, D16S663, D18S35, D18S37, D21S171	Patients avec diagnostic de MTS 1 KA MSS alors que les autres T du patient sont MSI-H
Kruse R (J Invest Dermatol 2003)	58 T 32 HS 6 AS 16 S 3 CS	16 T (28 % - 60 % si HS exclues) 1 HS 4 AS 9 S 2 CS	Pas de comparaison	1 ^{er} set : Bat 25, Bat 26, D2S123, D5S346, D17S250 2 ^e set : BAT40, D3S1298, D3S1611, D6S470, D18S69	
Kuwabara K (Jpn J Clin Oncol 2018)	1 T	?			1 tumeur avec perte M1/P2 était hyperméthylée
Lamba AR (Fam Cancer 2015)	138 T (162P) 79 AS 38 S 14 CS 4 HVS 1 KA 2 NC	52 T (37 %) 26 AS (33 %) 16 S (42 %) 7 CS (50 %) 1 HVS (25 %) 1 KA (100 %) 1 NC (50 %)	18 %	Bat25, Bat 26, NR21, NR24, NR27	Pas de précision sur les discordances. 2 anticorps utilisés en IHC seulement.

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées et types histologiques	Nombre de Tumeurs MSI (%)	Discordances IHC/BM	Type de panel utilisé	Commentaire
Machin P (J Cutan Pathol 2002)	10 T (6P) 7 AS 1 CS 1 KA	10 T (100 %) 7 AS 1 CS 1 KA	0 %	Bat 25, Bat 26, D2S123, D5S346, D17S250	6 Patients avec un cancer profond
Mangold E (J Med Genet 2004)	22 T (même série que Mathiak ?)	22 MSI		Bat 25, Bat 26, Bat 40, D2S123, D2S136, D3S1298, D5S346, D6S470, D17S250, D18S35, D18S37, D21S171	Patients avec un SMT
Mathiak M (Am J Surg Pathol 2002)	20 T (17P) 3 HS 3 AS 8 S 3 CS 1 TSK 1 KA 1 CE	12 T (60 %) 3 AS 6 S 1 CS 1 TSK 1 CE	0 %	Bat 25, Bat 26, Bat 40, D2S123, D2S136, D3S1298, D5S346, D6S470, D17S250, D18S35, D18S37, D21S171	20 patients MTS et 8 patients contrôles
Mojtahed A (Mod Pathol 2011)	7 T 4 AS/S 1 CS 2 TSA	6 T (49 à 86 %) 3 AS (MSI-L) 1 CS (MSI-H) 2 TSA (MSI-H)	14 % à 57 % 1 AS MSS (perte MSH6 isolée) 3 AS-MSI-L (perte MSH6 isolée)	1 ^{er} set : Bat 25, Bat 26, D2S123, D5S346, D17S250 2 ^e set : Bat 25, Bat 26, NR21, NR24, MONO-27, Penta C, Penta D	
Pagin A (Br J Cancer 2013)	7 T	5 T (71 %)	0 %*	Bat 25, Bat 26, Bat 40, NR 21, NR 22, NR 27, D3S1260	*1 faux positif BM si utilisation de l'hexaplex

ANNEXES

Références	Nombre de tumeurs testées et types histologiques	Nombre de Tumeurs MSI (%)	Discordances IHC/BM	Type de panel utilisé	Commentaire
Ponti G (Cancer 2005)	128 T (120P) 23 AS 5 S 10 CS 90 KA	5 T (3,9 %)	0 %	Bat 25, Bat 26, Bat 40, D2S123, D5S346	7 patients suspects de SMT-SL : 5 MSI, 2 non connus 103 témoins
Ponti G (J Invest Dermatol 2006)	5 T (5P) 1 SA 1 S 2 SC 1 KA	5 T (100 %)	0 %	Bat 25, Bat 26, D2S123, D5S346, D17S250	5 patients avec SMT connu
Ponti G (Fam Cancer 2014)	15P	13P (87 %)	0 %	Bat 25, Bat 26, Bat 40, D2S123, D5S346	
Rajan KD (Am J Ophthalmol 2014)	7 T (7P) 7 CS périoculaires)	1 T (14 %)	0 %	Bat 25, Bat 26, NR-21, NR-24, MONO-27, Penta C, Penta D	Patient avec SMT clinique



52, avenue André Morizet
92100 Boulogne-Billancourt
France

Tél. : +33 (1) 41 10 50 00
diffusion@institutcancer.fr

Édité par l'Institut national du cancer
Tous droits réservés - Siren 185 512 777

Conception : INCa

Réalisation : INCa

ISBN : 978-2-37219-814-1

ISBN net : 978-2-37219-815-8

DEPÔT LÉGAL NOVEMBRE 2021

Pour plus d'informations
e-cancer.fr

Institut national du cancer
52, avenue André Morizet
92100 Boulogne-Billancourt
France

Tél. : +33 (1) 41 10 50 00
diffusion@institutcancer.fr