



OUTILS POUR LA PRATIQUE

# TESTS SOMATIQUES RECHERCHANT UNE DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR AU SEIN DES TUMEURS DU SPECTRE DU SYNDROME DE LYNCH

[e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)





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 Plan cancer 2014-2019 a pour ambitions de donner à chacun, partout en France, les mêmes chances de guérir et de mettre plus rapidement encore les innovations au service des malades.

Il comprend 17 objectifs regroupés autour de quatre grandes priorités de santé :

- Guérir plus de personnes malades
- Préserver la continuité et la qualité de vie
- Investir dans la prévention et la recherche
- Optimiser le pilotage et les organisations

Le Plan cancer s'inscrit dans la mise en œuvre de la Stratégie nationale de santé et de l'Agenda stratégique pour la recherche,

le transfert et l'innovation « France-Europe 2020 ».

Ce guide répond à **l'action 6.1 :**

Faire évoluer le dispositif d'oncogénétique et améliorer son accès

Pour en savoir plus et télécharger le Plan cancer : [e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)

Ce document doit être cité comme suit : © *Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch*, collection Outils pour la pratique, INCa, juin 2016.

Du fait de la détention, par des tiers, de droits de propriété intellectuelle, toute reproduction intégrale ou partielle, traduction, adaptation des contenus provenant de ce document (à l'exception des cas prévus par l'article L122-5 du code de la propriété intellectuelle) doit faire l'objet d'une demande préalable et écrite auprès de la direction de la communication de l'INCa.

Ce document est téléchargeable sur [e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)

# SOMMAIRE

---

<b>1</b>	<b>Objectifs et méthodologie</b>	<b>04</b>
<b>2</b>	<b>Contexte</b>	<b>05</b>
<b>3</b>	<b>La prescription</b>	<b>07</b>
<b>4</b>	<b>La phase préanalytique</b>	<b>09</b>
<b>5</b>	<b>La phase analytique</b>	<b>11</b>
<b>6</b>	<b>Le résultat</b>	<b>14</b>
<b>7</b>	<b>Les arbres décisionnels</b>	<b>17</b>
	<b>Rédaction et bibliographie</b>	<b>19</b>

# 1

## OBJECTIFS ET MÉTHODOLOGIE

Le diagnostic des prédispositions génétiques est mis en œuvre dans le cadre du dispositif national d'oncogénétique qui s'organise autour de 130 sites de consultation, se répartissant dans 90 villes sur l'ensemble du territoire, et de 25 laboratoires d'oncogénétique, en charge de la réalisation des tests génétiques prescrits au décours d'une consultation. Cette structuration, adossant des laboratoires aux consultations d'oncogénétique, a pour objectif d'identifier les personnes prédisposées héréditairement au cancer, qu'il s'agisse de malades (cas index) ou de membres non malades de leur famille (apparentés). Elle s'adresse ainsi aux personnes dont les antécédents médicaux, personnels et/ou familiaux, sont évocateurs d'une forme héréditaire de cancer.

Si le nombre de consultations réalisées, de tests génétiques mis en œuvre par les laboratoires et, par voie de conséquence, de personnes prédisposées héréditairement à un cancer identifiées progresse continuellement depuis 2003, l'identification des personnes porteuses d'une mutation les prédisposant à une pathologie digestive n'est pas encore optimale, particulièrement concernant le syndrome de Lynch. Pourtant, en cas de suspicion d'un syndrome de Lynch, des critères cliniques (agrégation de cancers du spectre

du syndrome de Lynch au sein d'une même branche familiale, âge précoce de survenue du cancer, cancers multiples) et biologiques (recherche d'une déficience du système MMR) permettent de favoriser l'orientation des personnes vers une consultation d'oncogénétique.

Dans ce contexte, ce guide de bonnes pratiques, dédié aux tests somatiques recherchant une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch (immunohistochimie et biologie moléculaire), constitue un cadre institutionnel qui a pour objectif, sur le plan national, d'harmoniser les pratiques et de contribuer à une qualité optimale des examens. S'adressant au personnel des laboratoires réalisant tout ou partie de ces tests, il s'intéresse à toutes les étapes de cette recherche, de la prescription jusqu'au rendu d'un résultat complet, en passant par la phase préanalytique et, bien entendu, la phase analytique. Il intègre des préconisations lorsque nécessaire.

Ce document a été rédigé en collaboration avec un groupe d'experts dans le domaine concerné. Il se base sur l'analyse d'un corpus bibliographique et sur un partage d'expériences avec les laboratoires réalisant ces tests somatiques en France.

# 2

## CONTEXTE

Le syndrome de Lynch est une forme héréditaire non polyposique de cancers colorectaux responsable d'environ 2 à 3 % de l'ensemble des cancers colorectaux. Il s'agit d'une prédisposition génétique à transmission autosomique dominante liée à une altération génétique constitutionnelle d'un gène impliqué dans le système d'identification et de réparation des mésappariements de l'ADN : le système MMR pour Mismatch Repair. Quatre gènes sont essentiellement touchés : MLH1 et MSH2, responsables d'au moins deux tiers des cas, MSH6 et PMS2, plus rarement impliqués. À l'origine d'un risque accru de cancer colorectal, avec un risque cumulé de 30-48 % avant l'âge de 70 ans, les mutations constitutionnelles des gènes MMR peuvent également jouer un rôle dans la genèse de toute une série d'autres cancers touchant un grand nombre d'organes :

- endomètre principalement (risque cumulé de 30-54 % avant 70 ans) ;
- voies biliaires, voies excrétrices urinaires (bassin et uretère essentiellement), ovaires et intestin grêle ensuite ;
- estomac, tumeurs sébacées (adénomes et carcinomes), tumeurs cérébrales et pancréas dans une moindre mesure.

Les caractéristiques de ces tumeurs ainsi que les données endoscopiques (dans le cas des cancers colorectaux) n'étant pas spécifiquement évocatrices d'un syndrome de Lynch, le diagnostic est évoqué devant :

- une agrégation de cancers colorectaux et/ou de cancers du spectre du syndrome de Lynch au sein d'une même branche familiale,
- la précocité de la survenue du cancer,
- la présence des cancers multiples, synchrones ou métachrones.

Outre ces critères cliniques individuels et familiaux, les tumeurs développées dans le cadre du syndrome de Lynch présentent quasiment toujours une défi-

cience du système MMR révélée par une instabilité microsatellitaire (MSI pour MicroSatellite Instability) et une perte d'expression d'une ou deux protéines MMR. La recherche de cette déficience permet donc d'identifier des 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.

La défaillance du système MMR se traduit en effet par une perte d'expression d'une ou deux protéines MMR et par une augmentation des erreurs lors de la réplication de l'ADN. Celles-ci touchent plus particulièrement les microsatellites, séquences d'ADN mono, di ou trinuécléotides répétées en tandem au sein du génome. Lors du fonctionnement cellulaire normal, les mésappariements engendrés lors de la réplication de l'ADN sont réparés par les protéines du système MMR (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) et les séquences microsatellites sont correctement répliquées. À l'inverse, en cas de perte de fonction de l'une de ces protéines du fait d'une altération de l'un des gènes MMR, des erreurs s'accumulent particulièrement au sein des séquences microsatellites sous la forme d'allèles de taille variable et peuvent donc être détectées.

Certains cancers sporadiques présentent également une instabilité des microsatellites. Cependant, celle-ci n'est pas due à une mutation d'un gène MMR, contrairement à ce qui est observé dans les formes héréditaires, mais à une répression épigénétique de l'expression du gène MLH1 par hyperméthylation de son promoteur. En complément des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR, il est donc nécessaire dans certains cas de mettre en œuvre une recherche de méthylation du promoteur du gène MLH1, précédée éventuellement d'une recherche de mutation du gène BRAF lorsqu'il s'agit d'un cancer colorectal, avant de préconiser l'orientation vers une consultation d'oncogénétique.

### Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR dans un contexte de suspicion de syndrome de Lynch: CONTEXTE

Ce guide concerne les personnes atteintes d'un cancer du spectre du syndrome de Lynch et présentant des critères individuels et/ou familiaux les rendant éligibles à une recherche de déficience du système MMR au sein de leur tumeur, recherche dont le résultat doit favoriser leur orientation vers une consultation d'oncogénétique.

Il est à noter que ces tests somatiques doivent servir à identifier davantage de personnes atteintes d'un syndrome de Lynch. Néanmoins, en l'absence d'une déficience du système MMR mais dans un contexte clinique et/ou familial très évocateur d'une prédisposition génétique à une pathologie autre que le syndrome de Lynch, une consultation d'oncogénétique doit être proposée.

## 3 DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR ET SYNDROME DE LYNCH LA PRESCRIPTION

### » RAPPEL DES CRITÈRES DE PRESCRIPTION

#### Personne avec un cancer colorectal

En France, au-delà des contextes personnels et/ou familiaux très évocateurs d'un syndrome de Lynch, les tests somatiques recherchant une déficience du système MMR doivent être réalisés systématiquement chez toute personne de moins de 60 ans avec un cancer colorectal [Thésaurus national de cancérologie digestive].

#### Personne avec un cancer de l'endomètre

En France, au-delà des contextes personnels et/ou familiaux très évocateurs d'un syndrome de Lynch, les tests somatiques recherchant une déficience du système MMR doivent être réalisés systématiquement chez toute personne de moins de 50 ans avec un cancer de l'endomètre. Cette recherche peut se discuter entre 50 et 60 ans<sup>1</sup>.

#### Personne avec un autre cancer du spectre du syndrome de Lynch ou avec des lésions précancéreuses

Outre les cancers colorectaux et les cancers de l'endomètre, les mutations constitutionnelles des gènes MMR à l'origine du syndrome de Lynch et de son équivalent, le syndrome de Muir Torre, peuvent jouer un rôle dans la genèse d'autres cancers touchant de nombreux organes: voies biliaires, voies excrétrices urinaires (bassin et uretère essentiellement), ovaires, intestin grêle, estomac, tumeurs sébacées (adénomes et carcinomes), tumeurs cérébrales et pancréas.

La recherche d'une déficience du système MMR au sein de ces tumeurs doit être demandée sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un syndrome de Lynch.

Il en est de même pour toute demande de recherche d'une déficience du système MMR sur des lésions précancéreuses (adénomes coliques « avancés » par exemple) qui doit se faire sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur ou bien par une consultation d'oncogénétique.

#### Personne avec un cancer n'appartenant pas au spectre du syndrome de Lynch

Dans ce contexte, la recherche d'une déficience du système MMR ne se justifie pas.

### Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR dans un contexte de suspicion de syndrome de Lynch: POUR QUI?

- Personne avec un cancer colorectal, diagnostiquée à un âge inférieur à 60 ans ou présentant, quel que soit son âge, des antécédents personnels ou familiaux (au premier degré) de cancer colorectal ou de cancer(s) du spectre du syndrome de Lynch.
- Personne avec un cancer de l'endomètre, diagnostiquée à un âge inférieur à 50 ans (recherche pouvant se discuter entre 50 et 60 ans) ou présentant, quel que soit son âge, des antécédents personnels ou familiaux (au premier degré) de cancer colorectal ou de cancer(s) du spectre du syndrome de Lynch.
- Personne avec un cancer du spectre du syndrome de Lynch, autre qu'un cancer colorectal ou qu'un cancer de l'endomètre, sur justification d'un contexte personnel et/ou familial évocateur d'un syndrome de Lynch.

1. Guide ALD n° 30 Cancer de l'endomètre – HAS et INCa – décembre 2010

### FEUILLE DE PRESCRIPTION

La demande d'une recherche de déficience du système MMR doit être accompagnée d'une feuille de prescrip-

tion (volet clinicien) et d'une feuille de transmission pour la plateforme de génétique moléculaire des cancers (volet pathologiste) comprenant les données ci-après.

**TABLEAU 1. ÉLÉMENTS DEVANT FIGURER SUR LA FEUILLE DE PRESCRIPTION (VOLET CLINICIEN) ET LA FICHE DE TRANSMISSION (VOLET PATHOLOGISTE) DANS LE CADRE D'UNE RECHERCHE DE DÉFICIENCE MMR**

VOLET CLINICIEN : FEUILLE DE PRESCRIPTION	PATIENT	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Nom, prénom, sexe, date de naissance</li> <li>■ Identifiant hospitalier éventuel</li> </ul>
	MÉDECIN (en charge du patient)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Nom, prénom</li> <li>■ Spécialité</li> <li>■ Établissement</li> <li>■ Coordonnées</li> </ul>
	RENSEIGNEMENTS CLINICOBIOLOGIQUES	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Organe</li> <li>■ Date de prélèvement</li> <li>■ Type de prélèvement (pièce opératoire ou biopsie)</li> <li>■ État tumoral (tumeur primitive ou métastase)</li> <li>■ Indication(s) de la demande (âge, antécédents personnels ou familiaux, autres)</li> <li>■ Date de prescription</li> </ul>

VOLET PATHOLOGISTE : FICHE DE TRANSMISSION	PATHOLOGISTE	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Nom, prénom</li> <li>■ Établissement ou structure</li> <li>■ Coordonnées</li> </ul>
	PRÉLÈVEMENT(S)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Numéro d'identification du bloc</li> <li>■ Fixateur utilisé</li> <li>■ Type histologique</li> </ul>
	QUALIFICATION ANATOMOPATHOLOGIQUE	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Réalisation ou non d'une macrodissection</li> <li>■ Pourcentage de cellules tumorales</li> <li>■ Type d'échantillon(s) transmis (copeaux en paraffine ou lames blanches ou blocs)</li> <li>■ Tissu sain associé : OUI (bloc ou zone saine)/NON</li> </ul>



## 4 DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR ET SYNDROME DE LYNCH LA PHASE PRÉANALYTIQUE

### TYPE DE PRÉLÈVEMENT

La recherche d'une déficience du système MMR d'un cancer du spectre du syndrome de Lynch est effectuée à partir d'une pièce opératoire ou d'une biopsie. Le prélèvement est généralement réalisé au moment du diagnostic initial, préférentiellement avant traitement néoadjuvant par radiothérapie, radiochimiothérapie ou chimiothérapie.

### FIXATION/CONGÉLATION, ÉCHANTILLONNAGE

Le matériel analysé est généralement celui qui a servi pour le diagnostic de routine. La prise en charge de l'échantillon tumoral doit donc suivre les règles de bonne pratique des laboratoires d'anatomie pathologique avec une attention particulière pour les étapes de fixation et d'inclusion en paraffine comme pour tout échantillon destiné à un examen moléculaire.

- Pour les biopsies : fixation sur place, immédiatement après la ponction.
- Pour les pièces opératoires : l'échantillonnage d'un fragment de tumeur puis l'immersion dans le fixateur peuvent être réalisés sur place, par le clinicien, après prélèvement. La pièce opératoire peut également être acheminée entière, fraîche, pour un échantillonnage par le pathologiste. Le temps de transport doit alors être court, compris entre 30 minutes et 2 heures en fonction des examens ultérieurs prévus. Le fait de placer la pièce opératoire dans une atmosphère froide (4 °C) permet de doubler ces délais. Si un transfert rapide à l'état frais ne peut être réalisé, la pièce opératoire doit être ouverte (ou tranchée) avant immersion rapide dans le fixateur, puis transmise au laboratoire.

Les préleveurs (endoscopistes, radiologues...) doivent être incités à réaliser un nombre suffisant de biopsies parmi lesquelles une, voire plusieurs, peuvent être spécifiquement dédiées à la biologie moléculaire lorsque possible.

La durée de fixation doit être d'au moins 6 heures pour une biopsie (6 heures à 8 heures) et, de préférence, ne pas excéder 48 heures pour une pièce opératoire (24 heures à 48 heures). La méthode préconisée en vue des examens moléculaires est la fixation en formol tamponné 4 % qui préserve en outre une bonne qualité morphologique pour les examens immunohistochimiques. La température d'inclusion en paraffine ne doit pas excéder 58 °C. Tous les autres fixateurs, qui peuvent interférer avec les examens moléculaires notamment, sont à proscrire :

- liquide de Bouin et autres fixateurs contenant de l'acide picrique ;
- fixateurs contenant des dérivés mercuriels ;
- fixateurs à base d'alcool ;
- substituts de formol (type Excell Plus, FineFix) ;
- AFA (alcool/formol/acide acétique).

Le pourcentage d'échec des examens moléculaires à partir des prélèvements provenant d'un laboratoire de pathologie donné ou d'un établissement donné est un indicateur qui peut être utilisé pour améliorer la qualité des pratiques.

L'utilisation de tissu congelé puis cryopréservé n'est possible qu'en biologie moléculaire, l'examen immunohistochimique ne pouvant être réalisé que sur tissu fixé au formol et inclus en paraffine. Dans ce cas, si le laboratoire d'anatomopathologie en charge de préparer le prélèvement puis de congeler les échantillons obtenus se trouve à proximité du service ayant prélevé la personne, alors l'acheminement peut s'effectuer à température ambiante. Le délai entre le recueil du prélèvement et la congélation des échantillons obtenus doit être connu et le plus court possible, n'excédant pas 1 heure. À l'inverse, si les deux sites sont éloignés, une congélation sur place, directement au sein du service prélevant la personne, doit être mise en place. Après congélation, tout transport doit respecter scrupuleusement la chaîne du froid.

### ESTIMATION DU POURCENTAGE DE CELLULES TUMORALES, PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le pourcentage de cellules tumorales correspond à l'estimation de la proportion de cellules tumorales sur l'ensemble des cellules présentes sur la coupe ou sur la zone qui a été sélectionnée.

Après avoir établi le diagnostic histologique, le pathologiste doit sélectionner, par un contrôle morphologique microscopique sur lame après coloration standard (Hématoxyline, Eosine +/- Safran), un bloc représentatif et suffisamment riche en matériel tumoral afin de permettre une extraction optimale d'ADN tumoral en vue de la réalisation du test MSI en biologie moléculaire. Les zones riches en cellules inflammatoires, mucus, nécrose tumorale sont à éviter. Si le pourcentage de cellules tumorales est inférieur à 50 % sur la coupe entière, il est préférable de délimiter une zone d'intérêt afin d'effectuer une macrodissection.

L'extraction d'ADN peut se faire à partir de lames blanches, d'épaisseur comprise entre 4 µm et 20 µm, ou de copeaux. Ces conditions, qui permettent difficilement la sélection de zones d'intérêt et la macrodis-

section, nécessitent une richesse tumorale élevée et une densité homogène en cellules tumorales. L'idéal est un prélèvement directement au trocart dans le bloc de paraffine, surtout lorsque celui-ci est très hétérogène. Quoi qu'il en soit, le choix de la procédure doit toujours être fait après appréciation de la proportion de cellules tumorales.

Afin d'éviter les échanges interprélèvements par des micro-fragments tissulaires au cours de l'ensemble des étapes de la préparation de l'échantillon, il est préconisé d'utiliser un poste de travail dédié. Le microtome doit être nettoyé soigneusement entre chaque utilisation et la lame changée régulièrement. Les coupes doivent être déposées directement sur les lames en utilisant un liquide renouvelé quotidiennement et n'ayant en aucun cas été en contact avec d'autres prélèvements.

En vue de la réalisation de l'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR (MLH1, MLH2, MSH6, PMS2), des lames blanches de 3 à 5 µm d'épaisseur seront par ailleurs préparées. Les lames doivent être conservées à 4 °C si l'examen n'est pas réalisé dans les 7 jours.



## 5 DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR ET SYNDROME DE LYNCH LA PHASE ANALYTIQUE

### Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR dans un contexte de suspicion de syndrome de Lynch : COMMENT ?

La recherche d'une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch comprend :

- L'étude de l'expression des protéines MMR en immunohistochimie
- ET/OU l'examen des marqueurs microsatellites 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 analysée (cancer colorectal, cancer de l'endomètre ou autre) ainsi que du résultat obtenu à chacune des étapes.

doit de ce fait déterminer ses propres conditions d'immunohistochimie, en particulier concernant le démasquage antigénique, la dilution optimale des anticorps, la durée d'incubation et la technique de révélation. Des contrôles qualité réguliers sont à mettre en place et un apprentissage de lecture est nécessaire [OVERBEEK2008]. L'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR doit ainsi s'inscrire dans le cadre d'une politique d'assurance qualité telle que préconisée par l'AFAQAP (Association française pour l'assurance qualité en anatomie pathologique)

Plusieurs anticorps dirigés contre les protéines MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 sont commercialisés. Les clones G168-15 pour MLH1, FE11 pour MSH2, 44 pour MSH6 et A16-4 pour PMS2 sont les plus couramment utilisés. Les protéines du système MMR forment des hétérodimères fonctionnels : MLH1 et PMS2 forment l'hétérodimère MutLα; MSH2 et MSH6, l'hétérodimère MutSα. Comme MLH1 et MSH2 sont des partenaires obligatoires au sein de leurs complexes respectifs, des anomalies de leur expression entraînent nécessairement une dégradation de leurs partenaires protéiques. Ainsi, l'extinction de MLH1 va de pair avec une perte d'expression de PMS2 et celle de MSH2 avec une perte d'expression de MSH6. Il existe cependant de rares cas de perte d'expression isolée de MSH6 ou de PMS2, cas typiquement associés à la présence de la mutation constitutionnelle du gène correspondant.

### ÉTUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DE L'EXPRESSION DES PROTÉINES MMR

L'immunohistochimie est une technique rapide, peu coûteuse et disponible dans tous les laboratoires d'anatomie pathologique. Elle a en outre l'avantage de cibler la protéine défaillante et d'orienter d'emblée la recherche de mutation constitutionnelle vers le gène correspondant à la protéine non exprimée. Il s'agit de la technique de choix lorsque l'échantillon est de petite taille et/ou pauvre en cellules tumorales. Elle est cependant moins robuste que l'examen moléculaire, car dépendante de la qualité de l'échantillon, de l'anticorps choisi, de l'automate et du système de révélation utilisés. Chaque laboratoire d'anatomie pathologique

Les protéines MMR sont des protéines ubiquitaires exprimées dans la majorité des tissus normaux et tumoraux. La technique d'immunohistochimie doit donc être calibrée grâce à l'utilisation de cas témoins : tissu normal d'une part, tumeurs de personnes porteuses d'une mutation constitutionnelle de l'un des gènes MMR d'autre part. Seul le marquage nucléaire doit être pris en compte. Dans la pratique, cette expression nucléaire des protéines MMR répond très souvent à la loi du tout ou rien : en cas d'inactivation des deux allèles du gène, la totalité des cellules tumorales n'expriment pas la protéine correspondante. Cependant, certaines conditions de fixation peuvent rendre l'in-

interprétation délicate. Une expression protéique hétérogène doit être considérée comme positive et seule l'extinction complète du signal immunohistochimique sur la totalité des cellules tumorales permet de conclure à une perte d'expression. À ce titre les immunomarquages anti-MSH6 sont très souvent hétérogènes. La négativité du signal ne doit donc être prise en compte qu'en présence de témoins internes validés.

**En immunohistochimie, cinq résultats sont possibles:**

- Expression des quatre protéines MMR OU
- Perte d'expression couplée des protéines MSH2 et MSH6 OU
- Perte d'expression couplée des protéines MLH1 et PMS2 OU
- Perte d'expression isolée de la protéine MSH6 OU
- Perte d'expression isolée de la protéine PMS2

**TEST MOLÉCULAIRE MSI**

La recherche d'instabilité microsatellitaire en biologie moléculaire est une technique robuste et standardisée, basée sur l'utilisation de panels de microsatellites définis par des recommandations [UMAR2004]. Plus longue et plus coûteuse que l'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR, elle ne cible pas directement le gène délétère, mais rend compte des conséquences génomiques de la perte de fonction des protéines MMR.

Réalisé sur un échantillon d'ADN extrait à partir de la tumeur, le test moléculaire MSI consiste, grâce à des troupes commerciales ou à une technique mise au point en interne, en une amplification par PCR d'au minimum cinq marqueurs mononucléotidiques parmi les sept suivants: Bat25, Bat26, Bat40, NR21, NR22, NR24 et NR27. L'étude des produits d'amplification est ensuite réalisée par migration en électrophorèse capillaire sur un séquenceur permettant une discrimination au nucléotide près, chaque marqueur ayant été marqué avec un fluorophore différent afin de les distinguer. Cet examen permet donc de déterminer la taille de chacune des séquences microsatellites testées: l'instabilité microsatellitaire est la présence dans l'échantillon d'allèles de tailles différentes de celle de l'allèle normal, traduisant l'absence de réparation des erreurs de réplication dans le génome.

Ces microsatellites quasiment monomorphes se caractérisent par un nombre de répétitions et donc une taille très homogène dans une population donnée, que ce soit entre différents individus ou bien

entre les deux allèles d'un même individu. Ceci permet, pour les tumeurs colorectales, de s'affranchir de l'examen en parallèle de tissu sain [XICOLA2007]. Pour les autres tumeurs du spectre du syndrome de Lynch, il est préconisé de réaliser en parallèle le test moléculaire MSI sur de l'ADN extrait à partir d'un bloc de tissu sain ou bien d'une zone saine délimitée par macrodissection car les profils microsatellites sont souvent plus difficiles à analyser [WONG2006]. Les polymorphismes ne sont en effet pas exclus, en particulier pour les marqueurs Bat25 et NR21, se caractérisant par la présence de deux pics distincts après amplification. L'analyse comparative entre cet ADN et l'ADN tumoral permet donc d'écarter une instabilité microsatellitaire sur le plan tumoral si les profils d'amplification mis en évidence sont identiques.

**En biologie moléculaire, quel que soit le nombre des marqueurs mononucléotidiques testés (5, 6 ou 7), trois résultats sont possibles:**

- 1. Absence d'instabilité microsatellitaire, c'est-à-dire phénotype MSS, lorsque tous les marqueurs sont stables dans la tumeur
- 2. Présence d'instabilité microsatellitaire, c'est-à-dire phénotype MSI, lorsqu'au moins deux marqueurs sont instables par comparaison au tissu sain ou lorsqu'au moins trois marqueurs sont instables en l'absence de tissu sain
- 3. Comparaison indispensable avec les résultats de l'étude immunohistochimique des protéines MMR lorsqu'un seul marqueur est instable sur la tumeur (après avoir éliminé un polymorphisme en comparant avec le tissu sain) ou lorsqu'un ou deux marqueurs sont instables sur la tumeur (en l'absence de tissu sain)

Si une stratégie d'analyse séquentielle peut être adoptée pour les tumeurs colorectales (réalisation de l'un des deux examens en première intention puis lancement du deuxième qu'en cas de résultat en faveur du diagnostic potentiel de syndrome de Lynch), les résultats de l'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR et du test moléculaire MSI sont plus difficiles d'interprétation pour le cancer de l'endomètre et les autres tumeurs du spectre du syndrome de Lynch. Dans ce cas, les deux examens doivent donc être lancés en parallèle pour que les résultats puissent être comparés.

**Arbres décisionnels, pages 21 et 22**

**EXAMENS COMPLÉMENTAIRES :  
HYPERMÉTHYLATION DU PROMOTEUR  
DU GÈNE MLH1 ET MUTATION BRAF**

L'association d'une instabilité microsatellitaire (phénotype MSI) avec un défaut d'expression des protéines MSH2 et MSH6 (perte d'expression couplée), MSH6 seule ou PMS2 seule (pertes d'expression isolées) est fortement évocatrice d'un syndrome de Lynch. En revanche, l'identification d'une instabilité microsatellitaire associée à l'extinction couplée des protéines MLH1 et PMS2 pose la question du diagnostic différentiel entre:

- un syndrome de Lynch lié à une mutation constitutionnelle du gène MLH1 (ou très exceptionnellement PSM2),
- et
- une tumeur sporadique présentant une hyperméthylation acquise du promoteur du gène MLH1, modification épigénétique liée à la sénescence, responsable d'un défaut d'expression du gène.

Certains cancers sporadiques (12 à 15 % de l'ensemble des cancers colorectaux sporadiques notamment) présentent en effet une déficience du système MMR due à cette hyperméthylation du promoteur du gène MLH1. En complément du test MSI en biologie moléculaire et de l'étude des protéines MMR en immunohistochimie, il apparaît donc nécessaire de réaliser une recherche de méthylation du promoteur du gène MLH1 chez les personnes dont la tumeur se caractérise par une extinction de l'hétérodimère MLH1-PMS2.

Ce test peut être effectué par une technique de PCR spécifique de méthylation (MS-PCR). Après traitement de l'ADN par bisulfite, permettant de transformer les cytosines non méthylées en uraciles, tout en conservant les cytosines méthylées intactes, elle consiste à

appliquer deux couples d'amorces marquées par des fluorochromes: le premier spécifique du promoteur non méthylé, le second du promoteur méthylé. Après amplification de l'ADN puis migration sur séquenceur capillaire, deux amplicons de taille différente sont détectés, l'un correspondant à la séquence promotrice méthylée, l'autre à la séquence non méthylée. Le ratio entre ces deux types de séquences permet de conclure ou non à une hyperméthylation du promoteur du gène MLH1. Il existe d'autres alternatives à cette technique telles que la MS-MLPA (Methylation Specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) ou le pyroséquençage, techniques qui ont l'avantage d'être quantitatives. Aucune recommandation ne précise la technique à utiliser mais celle-ci doit faire l'objet de contrôles qualité internes et externes.

La recherche de cette hyperméthylation constitue l'examen complémentaire de référence en cas d'instabilité microsatellitaire associée à une extinction couplée des protéines MLH1 et PMS2. Dans le cas particulier du cancer colorectal, l'hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 est fréquemment associée à la mutation V600E du gène BRAF. Ainsi, la recherche de cette mutation, simple à mettre en œuvre via de nombreuses techniques utilisées en routine (séquençage ou pyroséquençage, précédés éventuellement d'une HRM (High Resolution Melting), discrimination allélique, PCR spécifique d'allèle, SNaPshot®), peut être réalisée en première intention, permettant de s'affranchir d'une recherche d'hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 en cas d'identification de la mutation.

Enfin, si la sensibilité de ces examens complémentaires et leur signification sont maintenant bien connues pour les cancers du côlon et de l'endomètre, il est à noter qu'elles ont été beaucoup moins étudiées dans les autres tumeurs du spectre du syndrome de Lynch.



Pour en savoir plus  
sur le syndrome  
de Lynch,  
[e-cancer.fr](http://e-cancer.fr),  
rubrique  
oncogénétique

# 6

## DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR ET SYNDROME DE LYNCH : LE RÉSULTAT

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

D'une manière générale, en fonction des résultats des différentes étapes de la recherche d'une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch, **l'une des trois interprétations/conclusions suivantes doit figurer sur le compte rendu** :

- « Les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR sont fortement évocateurs d'un syndrome de Lynch. Dans ce contexte, une consultation d'oncogénétique doit être proposée. Vous trouverez ci-après les coordonnées des sites de consultation de la région et des régions limitrophes. »
- « Les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR ne sont pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch. Ces résultats doivent néanmoins être interprétés en fonction des données cliniques de la personne et de ses antécédents familiaux. Si le contexte clinique et/ou familial est très évocateur d'une prédisposition génétique à une pathologie autre que le syndrome de Lynch, une consultation d'oncogénétique est conseillée. »
- « Les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR ne permettent pas d'émettre une conclusion précise en faveur ou défaveur d'un diagnostic potentiel de syndrome de Lynch. »

Concernant le test moléculaire MSI à proprement parler, quel que soit le nombre de marqueurs mononucléotidiques testés (5 généralement, 6 ou 7 plus rarement), une « faible instabilité microsatellitaire » est définie par la mise en évidence d'un ou deux

profils d'amplification instables : un ou deux en l'absence d'analyse comparative possible avec de l'ADN extrait de tissu sain, un lorsque cette analyse comparative est entreprise (permettant d'éliminer un polymorphisme par comparaison avec le tissu sain). Dans un tel contexte, la comparaison de ce résultat avec celui obtenu en immunohistochimie doit permettre de trancher en faveur ou en défaveur d'un diagnostic potentiel de syndrome de Lynch.

En cas « d'instabilité microsatellitaire faible » en biologie moléculaire et en l'absence d'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR, il sera indiqué dans le compte rendu que les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR ne permettent pas d'émettre une conclusion précise en faveur ou défaveur d'un diagnostic potentiel de syndrome de Lynch.

Les discordances potentielles entre test moléculaire MSI et immunohistochimie, de l'ordre de 4 à 5 %, doivent être examinées au cas par cas par le biologiste et le pathologiste [LINDOR2002]. Il faut, si possible, réaliser de nouveau les tests avec d'autres techniques, notamment immunohistochimiques, ou en sélectionnant une nouvelle zone tumorale. Si la discordance est confirmée, il pourra être indiqué que les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR sont fortement évocateurs d'un syndrome de Lynch et une consultation d'oncogénétique pourra être proposée.

**Dans tous les cas, les termes « faible instabilité microsatellitaire » et « phénotype MSI-L » sont à proscrire de l'interprétation finale et/ou de la conclusion de la recherche d'une déficience du système MMR au sein des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch.**

### COMPTE RENDU UNIQUE

Il est préconisé d'élaborer un compte rendu unique comprenant :

- le résultat des tests moléculaires (MSI voire hyperméthylation du promoteur MLH1 et/ou mutation BRAF) et de l'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR;
- une interprétation/conclusion finale;
- les coordonnées des sites de consultations d'oncogénétique de la région et des régions limitrophes si une consultation d'oncogénétique est conseillée;
- les autres éléments figurant au sein du tableau 2.

PATIENT		<ul style="list-style-type: none"> <li>Nom, prénom, sexe, date de naissance</li> <li>Identifiant hospitalier éventuel</li> </ul>
MÉDECIN (en charge du patient)		<ul style="list-style-type: none"> <li>Nom, prénom</li> <li>Spécialité</li> <li>Établissement</li> <li>Coordonnées</li> </ul>
PATHOLOGISTE(S) (diagnostic initial et qualification anatomopathologique)		<ul style="list-style-type: none"> <li>Nom(s), prénom(s)</li> <li>Établissement(s) ou structure(s)</li> <li>Coordonnées</li> </ul>
BIOLOGISTE		<ul style="list-style-type: none"> <li>Nom, prénom</li> <li>Établissement</li> <li>Coordonnées</li> </ul>
RENSEIGNEMENTS ANATOMO-PATHOLOGIQUES	RENSEIGNEMENTS CLINICOBIOLOGIQUES	<ul style="list-style-type: none"> <li>Organe</li> <li>Date de prélèvement</li> <li>Type de prélèvement (pièce opératoire ou biopsie)</li> <li>État tumoral (tumeur primitive ou métastase)</li> </ul>
	PRÉLÈVEMENT(S)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Numéro d'identification du bloc</li> <li>Fixateur utilisé</li> <li>Type histologique</li> <li>Réalisation ou non d'une macrodissection</li> <li>Pourcentage de cellules tumorales</li> <li>Type d'échantillon(s) transmis (copeaux en paraffine ou lames blanches)</li> <li>Tissu sain associé : OUI (bloc ou zone saine) NON</li> </ul>
RÉSULTATS DE L'ANALYSE SOMATIQUE DU SYSTÈME MMR	IMMUNOHISTOCHIMIE	<ul style="list-style-type: none"> <li>Expression des quatre protéines MMR</li> <li>Perte d'expression couplée des protéines MSH2 et MSH6</li> <li>Perte d'expression couplée des protéines MLH1 et PMS2</li> <li>Perte d'expression isolée de la protéine MSH6</li> <li>Perte d'expression isolée de la protéine PMS2</li> </ul>
	TEST MOLÉCULAIRE MSI	<ul style="list-style-type: none"> <li>0 profil d'amplification instable sur la tumeur : <ul style="list-style-type: none"> <li>phénotype MSS/ absence d'instabilité microsatellitaire</li> </ul> </li> <li>≥ 2 profils d'amplification instables sur la tumeur (quand comparaison possible avec du tissu sain) ou ≥ 3 profils d'amplification instables sur la tumeur (en l'absence de tissu sain) : <ul style="list-style-type: none"> <li>phénotype MSI/ instabilité microsatellitaire</li> </ul> </li> <li>1 profil d'amplification instable sur la tumeur (après avoir éliminé un polymorphisme en comparant avec le tissu sain) ou 1 à 2 profils d'amplification instables sur la tumeur (en l'absence de tissu sain) : <ul style="list-style-type: none"> <li>Comparaison indispensable avec les résultats d'IHC</li> </ul> </li> </ul>
	EXAMENS COMPLÉMENTAIRES (perte d'expression MLH1-PMS2)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hyperméthylation du promoteur MLH1 : OUI/NON/NA</li> <li>Mutation BRAF V600E : OUI/NON/NA</li> </ul>

**TABLEAU 2. ÉLÉMENTS DEVANT FIGURER AU SEIN DU COMPTE RENDU UNIQUE (SUITE)**

<p>INTERPRÉTATIONS CONCLUSIONS</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR sont fortement évocateurs d'un syndrome de Lynch. Dans ce contexte, une consultation d'oncogénétique doit être proposée. Vous trouverez ci-dessous les coordonnées des sites de consultation de la région et des régions limitrophes.</li> <li>Les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR ne sont pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch. Ces résultats doivent néanmoins être interprétés en fonction des données cliniques de la personne et de ses antécédents familiaux. Si le contexte clinique et/ou familial est très évocateur d'une prédisposition génétique à une pathologie autre que le syndrome de Lynch, une consultation d'oncogénétique est conseillée.</li> <li>Les résultats des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR ne permettent pas d'émettre une conclusion précise en faveur ou défaveur d'un diagnostic potentiel de syndrome de Lynch.</li> </ul>
<p>MÉTHODE</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Description de la méthode adoptée pour réaliser chacun des tests. Concernant notamment les examens de biologie moléculaire, le compte rendu doit indiquer la méthode d'extraction de l'ADN, la méthode d'analyse, sa sensibilité, la liste des microsatellites examinés ou des mutations recherchées<sup>2</sup></li> </ul>

**» DÉLAI DE RÉPONSE**

Dans la mesure du possible, afin d'améliorer l'appropriation des tests somatiques recherchant une déficience du système MMR par les médecins en charge des patients concernés, le service d'anatomopathologie (immunohistochimie sur les protéines MMR) et la plateforme de génétique moléculaire des cancers (test moléculaire MSI voire hyperméthylation du promoteur MLH1 et/ou mutation BRAF) doivent tendre vers un délai de réponse de 20 à 30 jours, entre la réception de l'ensemble des éléments nécessaires (prélèvement(s) et feuille de prescription complète) et l'envoi du compte rendu complet signé.

**» CIRCUIT DES RÉSULTATS**

Le compte rendu unique est adressé au pathologiste en charge du diagnostic initial ainsi qu'au médecin en charge du patient dont les coordonnées figurent sur la feuille de prescription initiale.

Afin d'améliorer l'information des professionnels concernés au sein des régions et de fluidifier les circuits de prescriptions, de rendu des résultats et d'orientation des personnes vers le dispositif d'oncogénétique, des fonctionnements coordonnés doivent être trouvés entre cliniciens, pathologistes et biologistes et oncogénéticiens.

2. Modèle de compte rendu de génétique moléculaire pour la recherche de mutations somatiques dans les tumeurs solides – INCa – octobre 2012

**Tests somatiques recherchant une déficience du système MMR dans un contexte de suspicion de syndrome de Lynch : LE RÉSULTAT**

**COMPTE RENDU UNIQUE ET COMPLET incluant, notamment :**

- l'ensemble des résultats des tests moléculaires (MSI voire hyperméthylation du promoteur MLH1 et/ou mutation BRAF) et de l'étude immunohistochimique de l'expression des protéines MMR

- une interprétation/conclusion finale avec proposition d'orientation de la personne vers une consultation d'oncogénétique en cas de résultats fortement évocateurs d'un syndrome de Lynch

- le cas échéant, les coordonnées des sites de consultation de la région et des régions limitrophes

**DÉLAI DE RÉPONSE préconisé : 20-30 jours**

**CIRCUIT DES RÉSULTATS :**

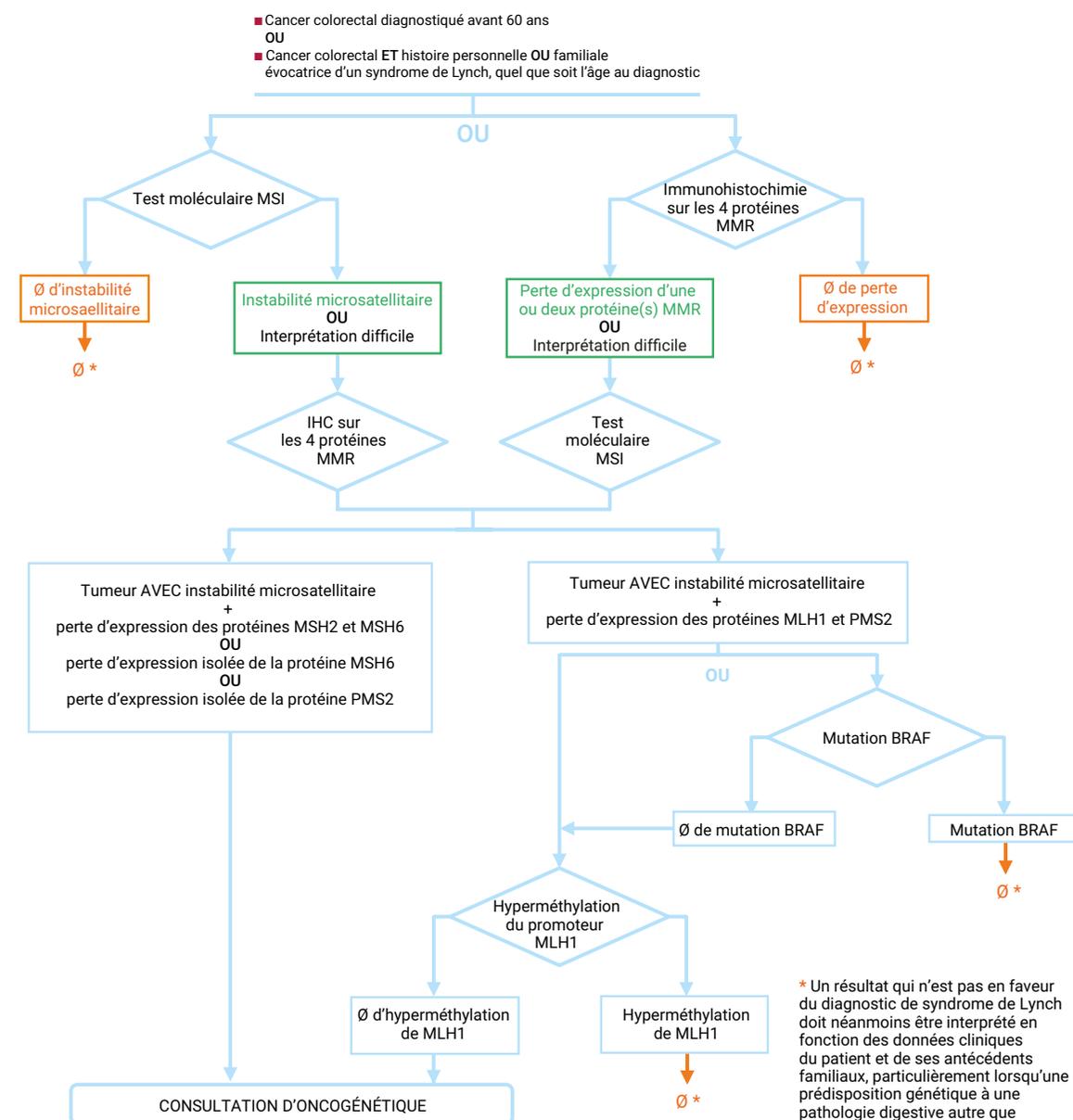
- Pathologiste en charge du diagnostic initial

- Médecin en charge du patient

**7 DÉFICIENCE DU SYSTÈME MMR ET SYNDROME DE LYNCH : LES ARBRES DÉCISIONNELS**

**» CANCER COLORECTAL**

Dans un contexte de suspicion de syndrome de Lynch, le cancer colorectal se conformera à l'arbre décisionnel la recherche d'une déficience du système MMR d'un suivant :

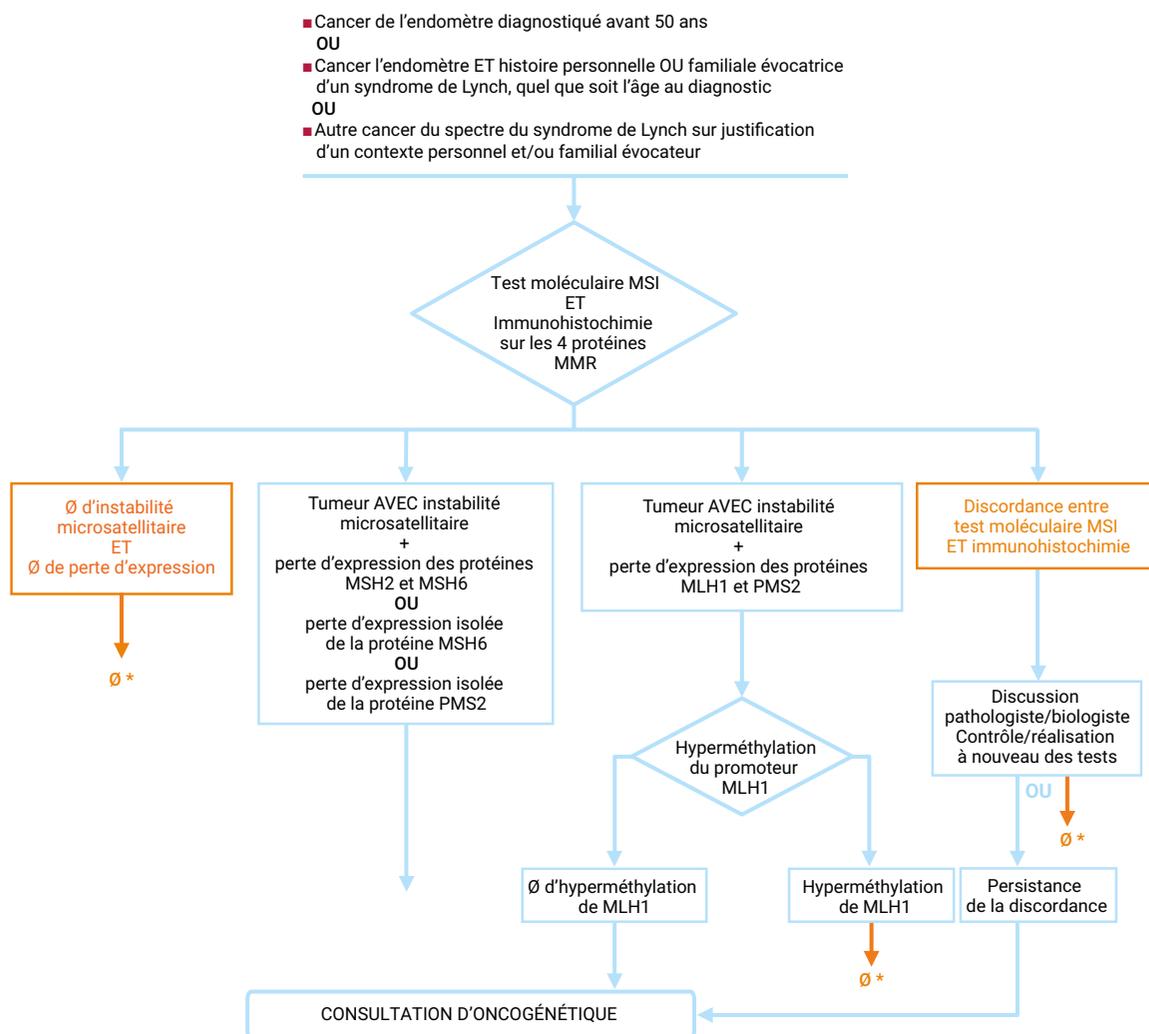


\* Un résultat qui n'est pas en faveur du diagnostic de syndrome de Lynch doit néanmoins être interprété en fonction des données cliniques du patient et de ses antécédents familiaux, particulièrement lorsqu'une prédisposition génétique à une pathologie digestive autre que le syndrome de Lynch est suspectée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

## CANCER DE L'ENDOMÈTRE ET AUTRE CANCER DU SPECTRE DE SYNDROME DE LYNCH

Dans un contexte de suspicion de syndrome de Lynch,  
la recherche d'une déficience du système MMR d'un

cancer de l'endomètre ou d'un autre cancer du spectre  
du syndrome de Lynch (hors cancer colorectal) se  
conformeront à l'arbre décisionnel suivant:



\* 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.



## RÉDACTION ET BIBLIOGRAPHIE

### GRUPE DE TRAVAIL

- Dr **Pascaline Berthet**, Centre François Baclesse, Caen
- **Caroline Chapusot**, CHU de Dijon
- Dr **Chrystelle Colas**, APHP Pitié-Salpêtrière, Paris
- Dr **Sophie Grandjouan**, APHP Cochin, Paris
- Dr **Olivier Ingster**, CHU d'Angers
- Pr **Yann Parc**, APHP Saint-Antoine, Paris
- Dr **Etienne Rouleau**, Gustave Roussy, Villejuif
- Pr **Jean-Christophe Saurin**, Hospices Civils de Lyon
- Pr **Janick Selves**, CHU de Toulouse
- Dr **Isabelle Soubeyran**, Institut Bergonié, Bordeaux

Chaque expert du groupe de travail a renseigné une déclaration d'intérêts, publiée sur le site de l'Institut national du cancer. L'analyse des liens d'intérêts réalisée par l'Institut n'a pas mis en évidence de risque de conflits d'intérêts.

### COORDINATION INCA

- **Julien BLIN**, chef de projets, Département Biologie, Transfert et Innovations, Pôle Recherche et Innovation
- **Frédérique NOWAK**, responsable du Département Biologie, Transfert et Innovations, Pôle Recherche et Innovation

### BIBLIOGRAPHIE

<http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/L-organisation-de-l-offre-de-soins/Oncogenetique/Les-predispositions-genetiques>

- **[BEAMER2012]** Beamer LC, Grant ML, Espenschied CR, Blazer KR, Hampel HL, Weitzel JN, MacDonald DJ. Reflex immunohistochemistry and microsatellite instability testing of colorectal tumors for Lynch syndrome among US cancer programs and follow-up of abnormal results. J Clin Oncol. 2012 Apr 1; 30(10):1058-63.
- **[BONADONA2011]** Bonadona V, Bonaïti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, Guimbaud R, Buecher B, Bignon YJ, Caron O, Colas C, Noguès C, Lejeune-Dumoulin S, Olivier-Faivre L, Polycarpe-Osaer F, Nguyen TD, Desseigne F, Saurin JC, Berthet P, Leroux D, Duffour J, Manouvrier S, Frébourg T, Sobol H, Lasset C, Bonaïti-Pellié C; French Cancer Genetics Network. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. JAMA. 2011 Jun 8; 305(22):2304-10.
- **[BUCHANAN2014]** Buchanan DD, Tan YY, Walsh MD, Clendenning M, Metcalf AM, Ferguson K, Arnold ST, Thompson BA, Lose FA, Parsons MT, Walters RJ, Pearson SA, Cummings M, Oehler MK, Blomfield PB, Quinn MA, Kirk JA, Stewart CJ, Obermair A, Young JP, Webb PM, Spurdle AB. 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. 2014 Jan 10; 32(2):90-100.
- **[DANJOUX2006]** Danjoux M, Guimbaud R, Al Saati T, Meggetto F, Carrère N, Portier G, Delsol G, Selves J. Contribution of microdissection for the detection of microsatellite instability in colorectal cancer. Hum Pathol. 2006 Mar; 37(3):361-8.
- **[EVERETT2014]** Everett JN, Raymond VM, Dandapani M, Marvin M, Kohlmann W, Chittenden A, Koeppel E, Gustafson SL, Else T, Fullen DR, Johnson TM, Syngal S, Gruber SB, Stoffel EM. Screening for germline mismatch repair mutations following diagnosis of sebaceous neoplasm. JAMA Dermatol. 2014 Dec; 150(12):1315-21.
- **[FUNKHOUSER2012]** Funkhouser WK Jr, Lubin IM, Monzon FA, Zehnbauser BA, Evans JP, Ogino S, Nowak JA. Relevance, pathogenesis, and testing algorithm for mismatch repair-defective colorectal carcinomas: a report of the association for molecular pathology. J Mol Diagn. 2012 Mar-Apr; 14(2):91-103.

- **[GAUSACHS2012]** Gausachs M, Mur P, Corral J, Pineda M, González S, Benito L, Menéndez M, Espinàs JA, Brunet J, Iniesta MD, Gruber SB, Lázaro C, Blanco I, Capellá G. MLH1 promoter hypermethylation in the analytical algorithm of Lynch syndrome: a cost-effectiveness study. *Eur J Hum Genet.* 2012 Jul; 20(7):762-8.
- **[GOEL2010]** Goel A, Nagasaka T, Hamelin R, Boland CR. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. *PLoS One.* 2010 Feb 24; 5(2):e9393.
- **[HAMPEL2005]** Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Nakagawa H, Sotamaa K, Prior TW, Westman J, Panescu J, Fix D, Lockman J, Comeras I, de la Chapelle A. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med.* 2005 May 5; 352(18):1851-60.
- **[HAMPEL2008]** Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, Sotamaa K, Prior T, Westman JA, Panescu J, Fix D, Lockman J, LaJeunesse J, Comeras I, de la Chapelle A. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008 Dec 10; 26(35):5783-8.
- **[HEALD2013]** Heald B, Plesec T, Liu X, Pai R, Patil D, Moline J, Sharp RR, Burke CA, Kalady MF, Church J, Eng C. Implementation of universal microsatellite instability and immunohistochemistry screening for diagnosing lynch syndrome in a large academic medical center. *J Clin Oncol.* 2013 Apr 1; 31(10):1336-40.
- **[HEGDE2014]** Hegde M, Ferber M, Mao R, Samowitz W, Ganguly A; Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Genet Med.* 2014 Jan; 16(1):101-16.
- **[KALLOGER2012]** Kalloger SE, Allo G, Mulligan AM, Pollett A, Aronson M, Gallinger S, Torlakovic EE, Clarke BA. Use of mismatch repair immunohistochemistry and microsatellite instability testing: exploring Canadian practices. *Am J Surg Pathol.* 2012 Apr; 36(4):560-9.
- **[LINDOR2002]** Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, Walsh-Vockley C, Petersen GM, Walsh MD, Leggett BA, Young JP, Barker MA, Jass JR, Hopper J, Gallinger S, Bapat B, Redston M, Thibodeau SN. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J Clin Oncol.* 2002 Feb 15; 20(4):1043-8.
- **[METCALF2014]** Metcalf AM, Spurdle AB. Endometrial tumour BRAF mutations and MLH1 promoter methylation as predictors of germline mismatch repair gene mutation status: a literature review. *Fam Cancer.* 2014 Mar; 13(1):1-12.
- **[OLSCHWANG2008]** Olschwang S, Bonaiti C, Feingold J, Frébourg T, Grandjouan S, Lasset C, Laurent-Puig P, Lecuru F, Millat B, Sobol H, Thomas G, Eisinger F. Identification and management of HNPCC syndrome (hereditary non polyposis colon cancer), hereditary predisposition to colorectal and endometrial adenocarcinomas. *Bull Cancer.* 2004 Apr; 91(4):303-15.
- **[OVERBEEK2008]** Overbeek LI, Ligtenberg MJ, Willems RW, Hermens RP, Blokx WA, Dubois SV, van der Linden H, Meijer JW, Mlynek-Kersjes ML, Hoogerbrugge N, Hebeda KM, van Krieken JH. Interpretation of immunohistochemistry for mismatch repair proteins is only reliable in a specialized setting. *Am J Surg Pathol.* 2008 Aug; 32(8):1246-51.
- **[PARSONS2012]** Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. 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.* 2012 Mar; 49(3):151-7.
- **[PEREZCARBONELL2010]** Pérez-Carbonell L, Alenda C, Payá A, Castillejo A, Barberá VM, Guillén C, Rojas E, Acame N, Gutiérrez-Aviñó FJ, Castells A, Llor X, Andreu M, Soto JL, Jover R. Methylation analysis of MLH1 improves the selection of patients for genetic testing in Lynch syndrome. *J Mol Diagn.* 2010 Jul; 12(4):498-504.
- **[RUBENSTEIN2015]** Rubenstein JH, Enns R, Heidelbaugh J, Barkun A; Clinical Guidelines Committee. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Diagnosis and Management of Lynch Syndrome. *Gastroenterology.* 2015 Sep; 149(3):777-82; quiz e16-7.
- **[SURAWEEERA2002]** Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vaury C, Furlan D, Leroy K, Seruca R, Iacopetta B, Hamelin R. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology.* 2002 Dec; 123(6):1804-11.

- **[THIEL2013]** Thiel A, Heinonen M, Kantonen J, Gylling A, Lahtinen L, Korhonen M, Kytölä S, Mecklin JP, Orpana A, Peltomäki P, Ristimäki A. BRAF mutation in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Virchows Arch.* 2013 Nov; 463(5):613-21.
- **[UMAR2004]** Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomäki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004 Feb 18; 96(4):261-8.
- **[VASEN2013]** Vasen HF, Blanco I, Aktan-Collan K, Gopie JP, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, Burn J, Capella G, Colas C, Engel C, Frayling IM, Genuardi M, Heinimann K, Hes FJ, Hodgson SV, Karagiannis JA, Lalloo F, Lindblom A, Mecklin JP, Møller P, Myrholm T, Nagengast FM, Parc Y, Ponz de Leon M, Renkonen-Sinisalo L, Sampson JR, Stormorken A, Sijmons RH, Tejpar S, Thomas HJ, Rahner N, Wijnen JT, Järvinen HJ, Möslein G; Mallorca group. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut.* 2013 Jun; 62(6):812-23.
- **[WONG2006]** Wong YF, Cheung TH, Lo KW, Yim SF, Chan LK, Buhard O, Duval A, Chung TK, Hamelin R. Detection of microsatellite instability in endometrial cancer: advantages of a panel of five mononucleotide repeats over the National Cancer Institute panel of markers. *Carcinogenesis.* 2006 May; 27(5):951-5.
- **[XICOLA2007]** Xicola RM, Llor X, Pons E, Castells A, Alenda C, Piñol V, Andreu M, Castellví-Bel S, Payá A, Jover R, Bessa X, Girós A, Duque JM, Nicolás-Pérez D, García AM, Rigau J, Gassull MA; 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.* 2007 Feb 7; 99(3):244-52.





Édité par l'Institut national du cancer (INCa)  
Tous droits réservés - Siren 185 512 777  
Conception : INCa  
Réalisation : INCa  
Illustrations : INCa

ISBN : 978-2-37219-206-4  
ISBN net : 978-2-37219-207-1

DEPÔT LÉGAL JUIN 2016



Le syndrome de Lynch est une forme héréditaire non polyposique de cancers colorectaux responsable d'environ 2 à 3 % de l'ensemble des cancers colorectaux. Il s'agit d'une prédisposition génétique liée à une altération constitutionnelle d'un gène MMR (MLH1, MSH2, MSH6 ou PMS2) impliqué dans le système d'identification et de réparation des mésappariements de l'ADN : le système MMR pour MisMatch Repair. À l'origine d'un risque accru de cancer colorectal, les mutations constitutionnelles des gènes MMR peuvent également jouer un rôle dans la genèse de toute une série d'autres cancers touchant un grand nombre d'organes : endomètre principalement ; voies biliaires, voies excrétrices urinaires, ovaires et intestin grêle ensuite ; estomac, tumeurs sébacées, tumeurs cérébrales et pancréas dans une moindre mesure.

Outre des critères cliniques évocateurs (agrégation de cancers au sein d'une même branche familiale, âge précoce de survenue du cancer, cancers multiples), il existe des tests somatiques (sur les tumeurs) permettant de favoriser l'orientation des personnes susceptibles d'être atteintes d'un syndrome de Lynch vers une consultation d'oncogénétique : on parle de recherche d'une déficience du système MMR en immunohistochimie (IHC) et biologie moléculaire (test MSI).

Ce guide, dédié à la réalisation de ces tests, constitue un cadre institutionnel qui a pour objectif, sur le plan national, d'harmoniser les pratiques et de contribuer à une qualité optimale des examens. S'adressant au personnel des laboratoires réalisant tout ou partie de ces tests, il s'intéresse à toutes les étapes de cette recherche, de la prescription jusqu'au rendu d'un résultat complet, en passant par la phase pré-analytique et, bien entendu, la phase analytique. Il intègre des préconisations lorsque nécessaire.

