

# Université de Poitiers

## Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2021

### **THESE**

#### **POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

#### **(décret du 25 novembre 2016)**

présentée et soutenue publiquement  
le 28, Septembre, 2021 à Poitiers  
par **Monsieur Paul Franques**

Description et fréquence des seconds cancers chez des patients atteints d'un cancer colorectal avec une déficience du système *Mismatch Repair* (MMR) et/ou une instabilité microsatellitaire

#### **COMPOSITION DU JURY**

**Président** : Monsieur le professeur Nicolas ISAMBERT

**Membres** :

Madame le professeur Lucie KARAYAN-TAPON

Madame le docteur Camille EVRARD

Monsieur le docteur Gregory BLANC

**Directeur de thèse** :

Monsieur le professeur David TOUGERON







# Université de Poitiers

## Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2021

### **THESE**

#### **POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

#### **(décret du 25 novembre 2016)**

présentée et soutenue publiquement  
le 28, Septembre, 2021 à Poitiers  
par **Monsieur Paul Franques**

Description et fréquence des seconds cancers chez des patients atteints d'un cancer colorectal avec une déficience du système *Mismatch Repair* (MMR) et/ou une instabilité microsatellitaire

#### **COMPOSITION DU JURY**

**Président** : Monsieur le professeur Nicolas ISAMBERT

**Membres** :

Madame le professeur Lucie KARAYAN-TAPON

Madame le docteur Camille EVRARD

Monsieur le docteur Gregory BLANC

**Directeur de thèse** :

Monsieur le professeur David TOUGERON



## LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

### Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- BOULETI Claire, cardiologie
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie – virologie
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie
- DROUOT Xavier, physiologie
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRASCA Denis, anesthésiologie-réanimation
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GILBERT Brigitte, génétique
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
- ISAMBERT Nicolas, cancérologie
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation (**en disponibilité**)
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
- LECLERE Franck, chirurgie plastique, reconstructrice
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- MACCHI Laurent, hématologie
- MCHEIK Jiad, chirurgie infantile
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie
- PERAULT-POCHAT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
- PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBERT René, réanimation

- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie (**retraite 01/03/2021**)
- SAULNIER Pierre-Jean, thérapeutique
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- SILVAIN Christine, hépato-gastro- entérologie
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie
- THILLE Arnaud, réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie
- XAVIER Jean, pédopsychiatrie

### Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY-LLATY Marion, santé publique (**en mission 2020/21**)
- ALLAIN Géraldine, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie (**en cours d'intégration PH**)
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail (**en détachement**)
- BILAN Frédéric, génétique
- BOISSON Matthieu, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire (**en mission 1 an à/c nov.2020**)
- CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène
- CAYSSIALS Emilie, hématologie
- COUDROY Rémy, réanimation
- CREMNITER Julie, bactériologie – virologie
- DIAZ Véronique, physiologie
- FROUIN Eric, anatomie et cytologie pathologiques
- GACHON Bertrand, gynécologie-obstétrique
- GARCIA Magali, bactériologie-virologie
- JAVAUGUE Vincent, néphrologie
- KERFORNE Thomas, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- LAFAY-CHEBASSIER Claire, pharmacologie clinique
- LIUU Evelyne, gériatrie
- MARTIN Mickaël, médecine interne
- PALAZZO Paola, neurologie (**en dispo 1 an**)
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie
- SAPANET Michel, médecine légale
- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

### Professeur des universités

- PELLERIN Luc, biochimie et biologie moléculaire

### Professeur des universités de médecine générale

- BINDER Philippe

---

**Professeurs associés de médecine générale**

- BIRAULT François
- FRECHE Bernard
- MIGNOT Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VALETTE Thierry
- VICTOR-CHAPLET Valérie

**Maîtres de Conférences associés de médecine générale**

- AUDIER Pascal
- ARCHAMBAULT Pierrick
- BRABANT Yann
- JEDAT Vincent

**Enseignants d'Anglais**

- DEBAIL Didier, professeur certifié

**Professeurs émérites**

- CARRETIER Michel, chirurgie générale (08/2021)
- GIL Roger, neurologie (08/2023)
- GOMES DA CUNHA José, médecine générale (08/2021)
- GUILHOT-GAUDEFROY François, hématologie et transfusion (08/2023)
- HERPIN Daniel, cardiologie (08/2023)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (16/02/2021)
- MARECHAUD Richard, médecine interne (24/11/2023)
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (08/2021)
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire (08/2022)
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (08/2023)
- TOUCHARD Guy, néphrologie (08/2021)

**Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires**

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ALLAL Joseph, thérapeutique (ex-émérite)
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOT Catherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, oncologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- DORE Bertrand, urologie (ex-émérite)
- EUGENE Michel, physiologie (ex-émérite)
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- GUILLET Gérard, dermatologie
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (ex-émérite)
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (ex-émérite)
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- PAQUEREAU Joël, physiologie
- POINTREAU Philippe, biochimie
- POURRAT Olivier, médecine interne (ex-émérite)
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOURANI Jean-Marc, oncologie
- VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

# Remerciements

A notre maître et président du jury

**Monsieur le Professeur Nicolas ISAMBERT**

Nous mesurons l'avantage de pouvoir bénéficier de l'étendue de votre savoir, de la rigueur de votre éthique, de la hauteur de votre approche médicale dans cette discipline noble, exigeante et riche de sens qu'est l'oncologie. Nous savons le privilège de poursuivre notre formation à vos côtés. Vous nous faites l'honneur de présider notre jury de thèse et de juger notre travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

A notre maître et directeur de thèse

**Monsieur le Professeur David TOUGERON**

Vous êtes l'initiateur de ce travail et nous mesurons la faveur que vous nous avez faites en acceptant de nous le confier. Votre compétence, votre disponibilité, vos conseils et votre aide nous ont été très précieuses. Soyez assuré de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A nos maîtres et juges

**Madame le Professeur Lucie KARYAN-TAPON**

Vous nous avez accueilli dans votre service avec bienveillance et vous nous avez permis de découvrir une autre approche de l'oncologie. Vous avez fait progresser nos connaissances, indispensables, dans cette discipline. Soyez assurée de notre reconnaissance et de notre profond respect.

## A nos juges

### **Madame le Docteur Camille EVRARD**

Tu m'as donné l'opportunité de faire ce travail et je t'en remercie très sincèrement. Auprès de toi, j'ai beaucoup appris et progressé dans notre spécialité. J'ai apprécié ta compétence et ta disponibilité. Sois assurée de ma reconnaissance et de mes sentiments cordiaux.

### **Monsieur le Docteur Grégory BLANC**

J'ai énormément appris à tes côtés, ton savoir, ta patience et ta pédagogie m'ont permis de m'améliorer tant sur le plan médical que sur le côté humain, caractéristiques indispensables dans notre discipline. J'aborde maintenant plus sereinement la prise en charge de nos patients. Je suis fier et reconnaissant d'avoir progressé à tes côtés.

## A nos maîtres

### **Monsieur le Professeur Jean-Marc TOURANI**

Vous nous avez accompagné et guidé dans notre démarche initiale en oncologie médicale. Par votre grande compétence, votre expérience, la pertinence de votre abord de la pratique médicale, vos conseils éclairés, vous avez tracé une voie que nous nous efforçons de suivre et que nous poursuivons dans notre exercice futur. Nous avons été très sensible à votre aide et votre soutien. Que ce travail soit le témoignage de notre sincère gratitude. Soyez assuré de notre profond respect.

### **Monsieur le Professeur Xavier LELEU**

Vous avez éclairé nos premiers pas d'interne. Nous avons pu profiter de votre éminente compétence en hématologie et de votre sens de la pédagogie si singulier et si efficace. Nous avons apprécié votre rigueur empreinte de cordialité. Nous vous assurons de notre reconnaissance et de notre profond respect.

## **Monsieur le Professeur Thierry ANDRE**

Vous nous avez accueilli chaleureusement dans votre service à l'hôpital Saint-Antoine à Paris. Nous avons été très sensible à l'honneur que vous nous faites en nous permettant de participer à l'une de vos études qui sera publiée. Nous vous assurons de notre gratitude et de notre profond respect.

### A ma famille

Je tiens à remercier ma mère, Joëlle. Je ne peux plus compter le nombre de fois où ton aide, ta protection et tes conseils ont facilité mon parcours tout au long de mes études mais aussi et surtout, tout au long de ma vie. Ta réactivité, ta générosité et ton amour sans limite ont créé, et créent toujours, un réconfort qui me permet d'avancer sans crainte dans tous mes choix.

Mon père, Jean-Marie. Tu m'as toujours épaulé, conseillé et jamais tu n'as hésité pour m'assister. Tu es celui que j'écoute le plus, dont j'apprends le plus ; ton savoir comme ton amour me paraissent infinis, peut-être le sont-ils vraiment. Jamais je ne me lasserai d'écouter tes leçons. Tu es mon plus grand Professeur.

Merci à mon grand frère, François. Parmi les hommes tu es celui qui m'inspire le plus, dans la vie ou dans le travail, tu es l'exemple que j'ai toujours suivi. Si personne n'est parfait sur cette Terre, tu es celui qui s'en rapproche le plus. Je veux continuer à grandir en suivant tes traces, car je sais que les chemins que tu empruntes sont les plus fiables, les plus sûrs. Il nous reste encore des régions du monde à explorer ensemble, tu n'as qu'à me donner l'heure et l'endroit.

A mes beaux-parents, votre présence et votre soutien sont devenus indispensables, vous m'avez fait découvrir deux belles régions (où l'herbe est bien verte), dans lesquelles j'ai pu me reposer et me ressourcer de nombreuses fois durant ces années d'internat. Bien évidemment, je n'oublie pas Loya.

### A mes amis

Antoine, Aurélien, Guilhem, Mathias, Mathieu et Olivier, nous avons grandi ensemble dans notre belle ville d'Albi qui nous est si cher. Si je suis aussi fier d'être albigeois, c'est parce que vous l'êtes aussi. Aujourd'hui nous ne pouvons plus nous réunir à toutes les récréations, pourtant, nous sommes indissociables, notre lien est indéfectible. Vous êtes une part de moi.

Les toulousains, ensemble nous avons débuté dans la médecine, voyager à travers le monde, mais aussi écumés les bars de la ville rose et d'ailleurs. Nous sommes aujourd'hui répartis aux quatre coins de la France (littéralement) mais malgré tout, nous restons en contact et maintenons notre amitié sincère. Je sais que la matriarche du groupe nous dégoutera toujours une villa pour nous retrouver.

Ceux que j'ai rencontré plus récemment à Poitiers et La Rochelle, vous avez grandement contribué aux meilleurs moments de mon internat. Mes grands basques, mes bordelais et mon picard, vous êtes de vrais amis, vous comptez pour moi.

### A mes co-internes

Que ce soit au CHU de Poitiers, au CH de La Rochelle ou encore à l'hôpital Saint-Antoine à Paris, nous avons partagé des moments fabuleux tout au long de l'apprentissage de notre discipline. Quelle aventure passée à vos côtés.

### A ma compagne

Je voulais conclure ces remerciements par ton nom. Durant ces dernières années, tu m'as fait avancer, tu m'as fait grandir, tu m'as soutenu dans tous mes choix. Ta présence, ta douceur, mais aussi tes coups de gueule sont dorénavant indispensables. Je n' imagine plus mon avenir sans toi, Agathe.





# SOMMAIRE

1 – GENERALITES .....	1
2 – ÉPIDEMIOLOGIE DU CANCER COLORECTAL .....	2
<i>a – Incidence</i> .....	2
<i>b – Mortalité</i> .....	3
<i>c – Survie</i> .....	3
<i>d – Facteurs de risque</i> .....	4
3 – STRUCTURE, SYNTHÈSE ET MÉCANISMES DE RÉPARATION DE L'ADN .....	4
<i>a – Structure de l'ADN</i> .....	4
<i>b – Synthèse de l'ADN</i> .....	6
<i>c – Les mécanismes de réparation de l'ADN</i> .....	7
4 – L'INSTABILITÉ MICROSATELLITAIRE .....	8
<i>a – Les microsatellites</i> .....	8
<i>b – L'instabilité microsatellitaire (MSI)</i> .....	10
<i>c – La réparation des mésappariements</i> .....	11
<i>d – Étologie du dysfonctionnement du système MMR</i> .....	15
5 – CARCINOGENÈSE SECONDAIRE À L'INSTABILITÉ MICROSATELLITAIRE .....	17
<i>a – Les gènes cibles</i> .....	17
<i>b – Les voies de signalisation</i> .....	19
6 – LES CANCERS DE PHÉNOTYPE MSI .....	21
<i>a – Les cancers héréditaires</i> .....	22
<i>b – Les cancers sporadiques</i> .....	25
<i>d – Les autres syndromes</i> .....	25
<i>c – Particularités cliniques et histologiques</i> .....	26
<i>d – Méthodes de détection biologique</i> .....	30
7 – IMPACT PRONOSTIC ET THÉRAPEUTIQUE DU STATUT MSI SUR LES CANCERS COLORECTAUX .....	33
<i>a – Impact pronostic</i> .....	34
<i>b – Réponse à la chimiothérapie</i> .....	35
<i>B – Réponse à l'immunothérapie</i> .....	36
8 – LES SECONDS CANCERS .....	39
<i>a – Risque de second cancer après un premier cancer colorectal</i> .....	40
<i>b – Risque de second cancer colorectal après un premier cancer colorectal MSI</i> .....	41



# LISTE DES ABREVIATIONS

**5FU** : 5-Fluoro-Uracile

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**APAF1** : *Apoptotic Peptidase-activating Factor 1*

**APC** : *Adenomatous Polyposis Coli*

**ARID1A** : *AT-Rich Interaction domain 1A*

**ATP** : Adénosine triphosphate

**ATU** : Autorisation temporaire d'utilisation

**AXIN2** : *Axin-related Protein 2 or Axis Inhibition Protein 2*

**BAX** : *BCL2-associated X*

**BCL10** : *BCL10 Immune Signaling Adaptor*

**BER** : Base Excision Repair

**BRCA** : *Breast And Ovarian Cancer Susceptibility*

**BRAF** : *V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B*

**CASP5** : *Caspase 5*

**CCR** : Cancer colorectal

**CDX** : *Caudal-Type Homebox*

**CE** : Carcinome endométriode

**CIMP** : *CpG Island Methylator Phenotype*

**CMMRD** : *Constitutional mismatch repair deficiency* ou déficit consitutionnel du système MMR

**CTLA-4** : *Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*

**CTNNB1** : *Catenenin beta 1*

**EMAST** : Altérations des Microsatellites à Répétitions de Tétranucléotides Sélectionnés ou *Elevated Microsatellites Alterations at Selected Tetranucleotides repeats*

**EpCAM** : *Epithelial Cell Adhesion Molecule*

**FAS** : *Fas Cell Surface Death Receptor*

**FCCTX** : *Familial colorectal cancer type X syndrome*

**HDCA2** : *Histone Deacetylase 2*

**HNPCC** : *Hereditary non-polyposis colorectal cancer*

**HR** : Hazard ratio

**ICKi** : Inhibiteur de point de contrôle immunitaire

**IGFR2R** : *Insulin-like Growth Factor 2 Receptor*

**IHC** : Immunohistochimie

**INCa** : Institut national du cancer

**KRAS** : *V-Ki-ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog*

**(h)MLH** : *(human)MutL Homolog*

**MMR** : *Mismatch repair* ou réparation des mésappariements

**MRE11** : *Meiotic Recombination 11 Homolog*

**MS2-MS6** : *Minisatellite 2 – Minisatellite 6*

**(h)MSH** : *(human)MutS Homolog*

**MSI** : *Microsatellite instability* ou instabilité microsatellitaire

**MSS** : Microsatellite stable

**MUC2** : *Mucin 2*

**MYH** : *Myosin Heavy Chain*

**NER** : *Nucleotide excision repair* ou réparation par excision de nucléotides

**NGS** : *Next Generation Sequencing*

**PAF** : Polypose adénomateuse familiale

**pb** : Paire de base

**PCNA** : Poliferating cellular nuclear antigen

**PCR** : Polymerase chain reaction ou réaction de polymérisation en chaîne

**PD-1** : *Programmed cell death-1*

**PD-L1** : *Programmed cell death-1 ligand*

**PI3K (PIK3CA)** : *Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase (catalytic subunit  $\alpha$ )*

**PMS2** : *Postmeiotic Segregation Increased 2*

**PPAP** : Polymerase proofreading associated polyposis syndrome

**PTEN** : *Phosphatase and tensin homolog*

**RAD50** : *RAD50 Double Strand Break Repair*

**RIZ** : *Retinoblastoma Protein-Binding Zinc Finger Protein*

**RPL22** : *Ribosomal Protein L22*

**SCP** : Second cancer primitif

**SEER** : Surveillance, Epidemiology, and End Results database

**SG** : Survie globale

**SL** : Syndrome de Lynch

**SSB** : Single-stranded binding proteins

**SSR** : Survie sans récurrence

**STK11** : *Serine/Threonine Kinase 11*

**TARBP2** : *Trans-activation Responsive RNA-binding protein*

**TCF4** : *Transcription factor 4*

**TGFBR2(3)** : *transforming growth factor beta receptor 2(3)*

**TSM** : Taux de mortalité standardisé sur la population mondiale

**VNTR** : Variable number of tandem repeats ou mini-satellite

**XPO5** : *Exportin-5*



# LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

1. **Figure 1** : Evolution de la survie nette standardisée à 5 ans par localisation de 1989 à 1993 et 2005 à 2010
2. **Figure 2** : Taux d'incidence et de mortalité de cancers colorectaux selon l'année de diagnostic
3. **Tableau 1** : Survie nette (en %) de 1, 5, 10, 15 et 20 ans pour différents âges
4. **Figure 3** : Schéma des liaisons phosphodiester entre 4 bases adjacentes
5. **Tableau 2** : Principales lésions de l'ADN et mécanismes de réparation associés
6. **Figure 4** : Fonctions et effets potentiels des microsatellites dans le génome
7. **Figure 5** : Fonctionnement du système MMR
8. **Tableau 3** : Les protéines du système MMR et leurs fonctions
9. **Tableau 4** : Mécanismes héréditaires et sporadiques d'instabilité microsatellitaire
10. **Figure 6** : Etapes de la cancérogénèse des cellules MMR déficientes
11. **Figure 7** : Représentation de gènes cibles d'instabilité microsatellitaire potentiellement impliqués dans la carcinogénèse colique
12. **Figure 8** : Voies de signalisation Wnt/APC/ $\beta$ -caténine
13. **Figure 9** : Voie de signalisation RAS/RAF/MAPK et PI3K/AKT/mTOR
14. **Figure 10** : Adénocarcinome à différenciation mucineuse colique
15. **Figure 11** : Réaction lymphoïde Crohn-like
16. **Tableau 5** : Critères d'Amsterdam II et de Bethesda révisés
17. **Figure 12** : Exemple de recherche d'expression des protéines MMR par IHC
18. **Figure 13** : Exemple d'électrophorégramme présentant une tumeur instable sur les 5 marqueurs
19. **Tableau 6** : Résultats de la méta-analyse ACCENT
20. **Figure 14** : Courbes de survie globale en fonction des statuts BRAF et MSI
21. **Figure 15** : Présentations des différents co-stimulateurs et co-inhibiteurs des lymphocytes T dans le microenvironnement tumoral
22. **Tableau 7** : Synthèse des études ayant évalué le risque moyen de seconds cancers primitifs toutes localisations confondues

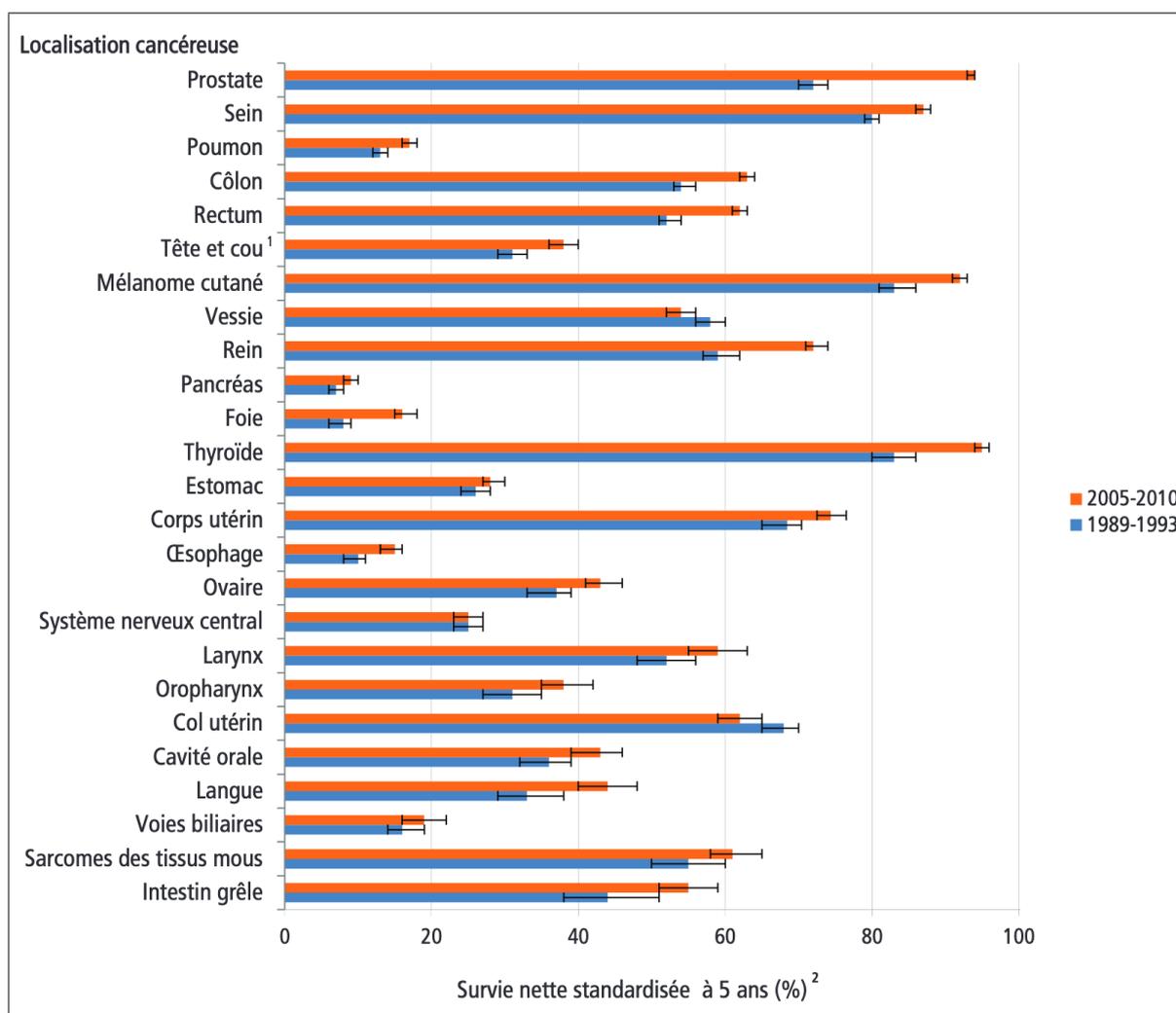


# INTRODUCTION

## 1 – Généralités

Durant ces 20 dernières années, la prise en charge des patients atteints de cancer a progressé de manière significative avec une diminution de la mortalité par cancer de 1,5% par an chez l'homme et de 0,7% par an chez la femme depuis 1989 (1). Un autre paramètre va dans ce sens, l'amélioration de la survie nette à 5 ans toutes localisations confondues (Figure 1) (2).

Figure 1 : Évolution de la survie nette standardisée à 5 ans par localisation de 1989 à 1993 et 2005 à 2010 (Source : Santé Publique France (2))



Il s'agit de chiffres globaux qui recouvrent tout de même de grandes disparités entre les deux cents types de cancers différents. Les raisons de cette amélioration sont notamment : optimisation des mesures

d'hygiène individuelles et collectives, progression du dépistage et précocité du diagnostic, avancées des connaissances de la maladie notamment en biologie moléculaire et progrès thérapeutique.

Le cancer est une maladie du génome (3). Divers facteurs, intrinsèques ou extrinsèques, sont de nature à entraîner des altérations du génome à effet cancérogène. Les mutations impactent certains gènes favorisant la survie et la prolifération cellulaires ainsi que la structure des chromosomes mais, dans un certain nombre de cas (notamment 10 à 15% des tumeurs épithéliales), elles affectent des séquences particulières du génome, appelés microsatellites, qui sont des régions de l'ADN où l'on retrouve une répétition continue d'un motif de 1 à 10 paires de bases. Nous y reviendrons plus en détail dans le chapitre 4-a. L'atteinte des microsatellites définit alors l'instabilité microsatellitaire (MSI, pour *microsatellite instability*) (4). Les cancers avec instabilité microsatellitaire concernent de nombreux organes mais la localisation la plus fréquente est l'appareil digestif et particulièrement le côlon et l'estomac.

## 2 – Épidémiologie du cancer colorectal

Notre travail se basant sur l'analyse d'une cohorte de patients atteints de cancer colorectaux, il convient d'en rappeler les principales notions épidémiologiques.

### a – Incidence

En France, en 2018, le nombre de nouveaux cas de cancers colorectaux répertoriés est de 43 336 dont une majorité chez les hommes (54%). Ainsi, le cancer colorectal (CCR) est respectivement le 3<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent chez l'homme (après les cancers de la prostate et du poumon) et le 2<sup>ème</sup> chez la femme (après le cancer du sein).

L'incidence augmente avec l'âge ; en effet, 75% des diagnostics surviennent après 65 ans. L'âge médian au diagnostic est de 71 ans chez l'homme et de 73 ans chez la femme.

Chez l'homme, le taux d'incidence a tendance à diminuer depuis 1990 (-0,6% par an) alors que chez la femme, ce taux est stable depuis 1990 (Figure 1) (5).

## b – Mortalité

Dans notre pays en 2018, on dénombrait 17 117 décès, dont 54% chez l'homme, liés à un CCR, le classant ainsi au 2<sup>ème</sup> rang des décès par cancer chez l'homme avec 9 209 décès (après les cancers du poumon 22 761 décès) et au 3<sup>ème</sup> rang chez la femme avec 7 908 décès (contre 12 146 et 10 356 décès respectivement pour les cancers du sein et du poumon) selon les données du réseau FRANCIM (5).

Chez l'homme, la mortalité ne cesse de diminuer, en moyenne de -1,6% par an entre 1990 et 2018. La mortalité chez les femmes suit la même tendance (Figure 2) (5).

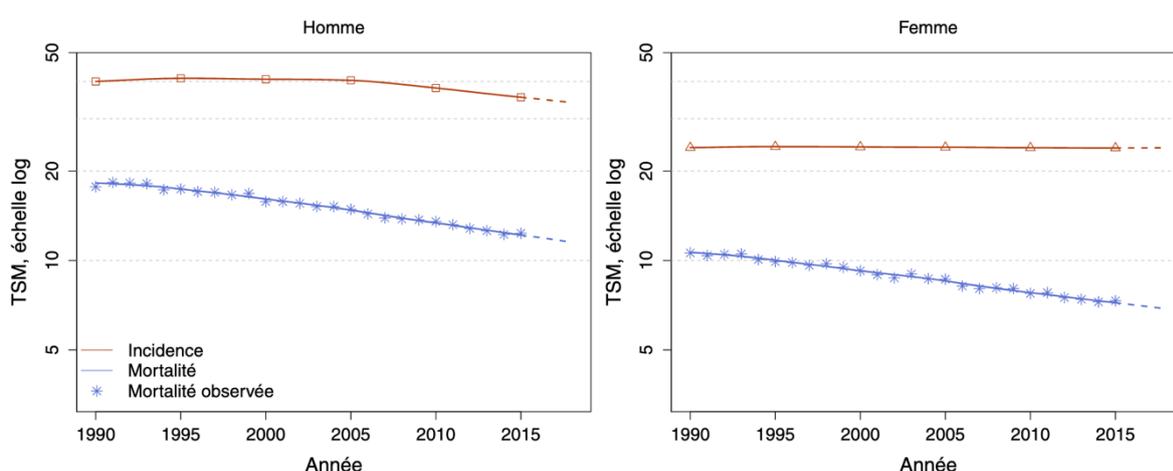


Figure 2 : Taux d'incidence et de mortalité de cancers colorectaux selon l'année de diagnostic (Source : Santé publique France (5))

Sur le Figure 1, on peut voir la diminution du taux d'incidence et de mortalité standardisé sur la population mondiale (TSM)

## c – Survie

Tous sexes confondus, la survie nette standardisée à 1 an est de 84% et elle est de 63% à 5 ans. La survie nette standardisée à 5 ans est de 62% chez l'homme et de 65% chez la femme pour les cas de CCR diagnostiqués entre 2010 et 2015. Ces taux ont augmenté de 12% entre 1990 et 2015 avec une tendance plus marquée chez les patients les plus jeunes.

La survie nette diminue avec l'âge au diagnostic ; en effet, on retrouve à 5 ans une survie nette passant de 72% à 57% entre 50 et 80 ans (Tableau 1) (6).

Tableau 1 : Survie nette (en %) de 1, 5, 10, 15 et 20 ans pour différents âges (Source : e-cancer (6))

Age	1 an	5 ans	10 ans	15 ans	20 ans
50 ans	87 [86 ; 88]	62 [61 ; 63]	55 [54 ; 57]	54 [52 ; 55]	52 [51 ; 53]
60 ans	84 [84 ; 85]	60 [59 ; 60]	53 [52 ; 54]	51 [50 ; 52]	49 [48 ; 50]
70 ans	81 [80 ; 81]	56 [56 ; 57]	50 [49 ; 51]	47 [46 ; 49]	46 [44 ; 47]

#### d – Facteurs de risque

Le risque de développer un CCR est défini par 3 niveaux de risques, à savoir les risques moyen, élevé et très élevé. Chacun des trois risques bénéficie de recommandations de suivi et de dépistage spécifiques.

Les personnes à **risque moyen** sont représentées par la population de plus de 50 ans n'appartenant pas aux groupes à risque élevé ou très élevé. Un dépistage national organisé par test immunologique fécal (TIF) est recommandé tous les 2 ans, complété par une coloscopie en cas de positivité.

Les personnes présentant des antécédents personnels de CCR ou de polypes, des antécédents familiaux de CCR avant 65 ans, dont les deux parents ont été atteints d'un CCR quel que soit l'âge ou les patients suivis pour une maladie inflammatoire chronique de l'intestin depuis plus de 10 ans sont considérés à **risque élevée**. Un dépistage individuel par coloscopie est recommandé.

Le **risque très élevé** comprend les personnes atteintes d'un syndrome génétique comme la polypose adénomateuse familiale (PAF) ou le syndrome de Lynch. Le suivi repose sur la réalisation de coloscopies ou chromocoloscopies régulières. Le syndrome de Lynch est la conséquence de la perte d'expression de protéines de réparation de l'ADN, identifiable notamment par l'analyse de régions spécifiques de l'ADN, les microsatellites. Après un rappel sur la structure et la synthèse de l'ADN, nous détaillerons les mécanismes de la réparation de l'ADN et les conséquences de l'instabilité microsatellitaire.

### 3 – Structure, synthèse et mécanismes de réparation de l'ADN

#### a – Structure de l'ADN

L'ADN est une macromolécule bicaténaire constituée d'une succession de monomères nucléotidiques. Les brins sont de sens opposé ; ils sont dits anti-parallèles. Le brin sens 5'-3' (par convention) débute par un

groupement phosphate libre et se termine par un radical OH libre, il en est l'inverse pour le brin complémentaire 3'-5'.

Chaque brin est formé d'une succession de nucléotides, formés d'une base nucléique, d'un pentose, le 2'-désoxyribose, et d'un groupement phosphate. Les nucléotides sont liés entre eux par une liaison phosphodiester stable et résistante. Cette liaison se situe entre le groupe phosphate 5' et le groupe hydroxyle 3' de deux nucléotides adjacents (Figure 3).

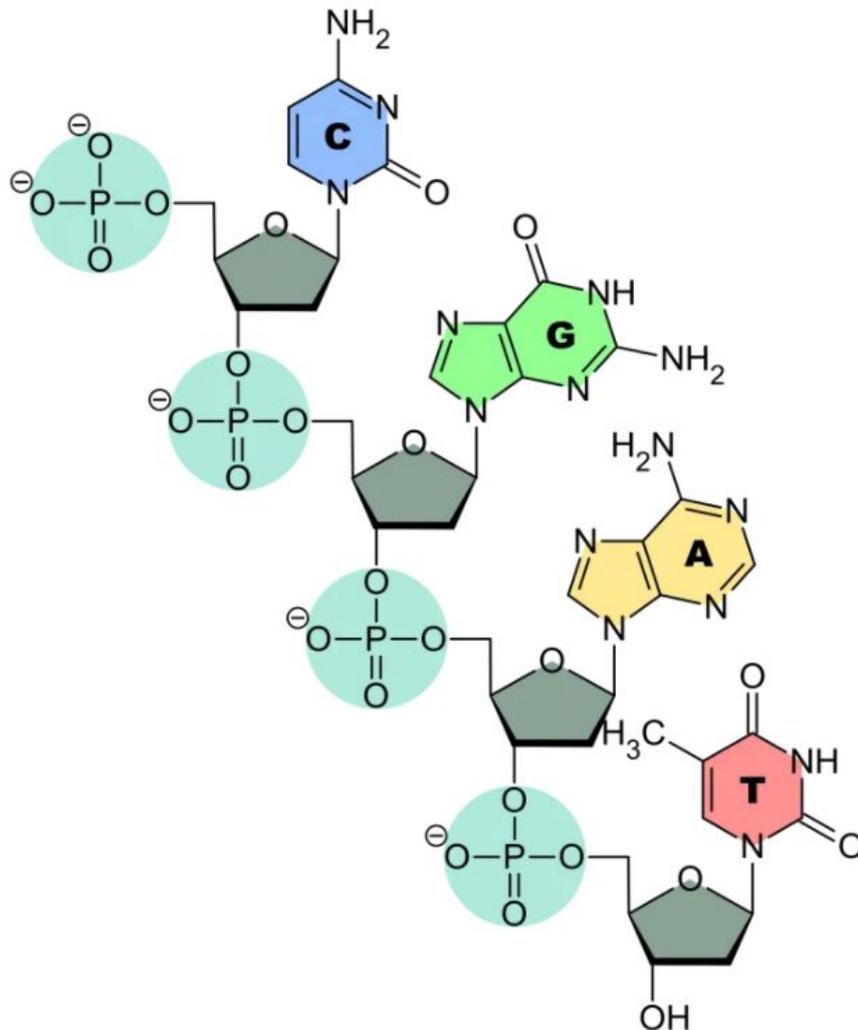


Figure 3 : Schéma des liaisons phosphodiester entre 4 bases adjacentes (7)

Les brins sont solidarisés entre eux par des liaisons hydrogène reliant 2 bases complémentaires, l'une purique et l'autre pyrimidique. Les bases *adénine* et *thymine* ont 2 liaisons hydrogène, les bases *guanine* et *cytosine* en ont 3. Dans toutes les cellules, le ratio purine/pyrimidine vaut 1, il s'agit de la règle de Chargaff.

L'une des propriétés remarquables de l'ADN est la possibilité de séparation réversible des deux brins, nécessaire pour la réplication et la transcription. Cette séparation peut être induite de manière expérimentale en chauffant l'ADN ; c'est la dénaturation, étape indispensable pour l'analyse des séquences d'ADN en biologie moléculaire (8)

### b – Synthèse de l'ADN

Le génome humain contient environ 3 milliards de paires de bases (pb), représentant environ 20 000 gènes codant, chacun, pour une protéine.

Lors de la division cellulaire, pour la conservation du génome, l'ADN est répliqué. La réplication est bidirectionnelle et semi-conservative, elle permet donc d'obtenir 2 brins-fils appariés chacun à un brin-matrice. Elle se déroule en plusieurs étapes et implique différentes enzymes.

L'**initiation** débute à plusieurs endroits précis où les séquences d'origine de réplication sont riches en nucléotides AT car la liaison est plus faible rendant la séparation des brins plus facile. L'hélicase sépare les deux brins, la structure est stabilisée par un groupe de protéines SSB (*Single-stranded binding proteins*).

L'**élongation** implique les topoisomérases qui permettent le déroulement de l'hélice d'ADN. Une fois les brins d'ADN séparés et stabilisés, l'ADN-polymérase  $\alpha$  se fixe sur un *primer* d'ARN synthétisé par une primase et ajoute une vingtaine de nucléotides complémentaires. Les nucléotides suivants sont ajoutés par l'ADN-polymérase  $\epsilon$  sur le brin précoce (ou brin primaire) et par l'ADN-polymérase  $\delta$  sur le brin retardé (ou brin secondaire). Ces polymérases ne synthétisant que dans le sens 5'→3', la polymérase  $\delta$  synthétise plusieurs fragments de manière discontinue, les fragments d'Okazaki. Ces fragments sont liés dans un second temps par l'intermédiaire d'une ADN-ligase.

La **terminaison** a lieu quand les fourches de réplication atteignent la région des télomères. Il s'agit d'une région située à l'extrémité des chromosomes comprenant des séquences répétitives TTAGGG. Le raccourcissement des télomères est associé au vieillissement.

La réplication de l'ADN n'est pas parfaite, 1 erreur se produit toutes les  $10^5$  pb, soit entre 30 000 et 50 000 erreurs sur tout le génome humain à chaque réplication mais il existe différents mécanismes de réparation de l'ADN (9).

### c – Les mécanismes de réparation de l'ADN

Les lésions de l'ADN peuvent être d'origine endogène ou exogène et sont de différente nature comme le mésappariement, la méthylation ou encore la cassure double brin.

La lésion doit être repérée, puis analysée, enclenchant un mécanisme de réparation de l'ADN voire un programme de mort cellulaire si la lésion est irréparable (apoptose). L'impossibilité de réparer des lésions de l'ADN conduit normalement à la mort cellulaire ; le fait de tolérer des lésions de l'ADN caractérise l'instabilité génomique des cellules cancéreuses et participe aux mécanismes de l'oncogénèse, notamment en activant de proto-oncogènes et/ou inactivant des gènes suppresseurs de tumeur.

A chaque type de lésion correspond un mécanisme de réparation (Tableau 2) (10).

*Tableau 2 Principales lésions de l'ADN et mécanismes de réparation associés (Source : Présentation générale des mécanismes de réparation de l'ADN, Bulletin du Cancer (10))*

<b>Lésions</b>	<b>Mécanisme de réparation</b>
O <sup>6</sup> -méthylguanine	Réparation par réversion directe
Mésappariement de base	Réparation des mésappariements (MMR)
Sites abasiques 8-oxoguanine N <sup>3</sup> -méthyladénine N <sup>7</sup> -méthylguanine	Réparation par excision de base (BER)
Lésions occasionnées par les UV (Dimères de thymine) Cassures simple brin N <sup>3</sup> -méthyladénine N <sup>7</sup> -méthylguanine Adduits de cisplatine Adduits de dichloroéthyle (moutardes à l'azote) Adduits de cancérogènes (benzopyrène)	Réparation par excision de nucléotide (NER)
Lésions occasionnées par les radiations ionisantes Cassures double brin	Recombinaison homologue (HRR) Recombinaison non homologue (NHEJ)

La réparation des mésappariements corrige les erreurs commises lors de la synthèse de l'ADN par les polymérase  $\delta$  et  $\epsilon$ . Ces erreurs sont particulièrement fréquentes dans des régions difficiles à reproduire en raison de la répétition des nucléotides uniques ou unis en courtes séquences ; les microsatellites.

## 4 – L'instabilité microsatellitaire

### a – Les microsatellites

La chaîne d'ADN comporte des fractions particulières formées par des séquences en tandem hautement répétées de motifs identiques de paires de bases appelées « séquences satellites ». Les satellites comptent pour environ 10 % du génome. Le nom « satellite » provient du fait que, en raison de leur densité, les séquences d'ADN microsatellitaire sédimentent en ultracentrifugation différemment de l'ADN classique et forment une bande secondaire, dite satellite. On distingue 3 catégories d'ADN satellite : les grands blocs d'ADN satellite, les minisatellites et les microsatellites (11).

Les mini-satellites (ou VNTR : *variable number of tandem repeats*) sont constitués de 10 à 100 pb, répétées 1 000 à 2 000 fois ; de par leur mutation, ils sont impliqués dans un certain nombre de maladies dont les cancers (gène *MUC2-MS2* et cancer gastrique, gène *MUC2-MS6* et cancer du poumon, gène *STK11* et cancer de l'ovaire) (12).

Les microsatellites, appelés aussi *simple sequences repeats* (motif mononucléotidique) ou *short tandem repeats* (motif oligonucléotidique), sont des séquences d'ADN simples et courtes, composées d'un motif répété plusieurs fois. La longueur du motif répété varie essentiellement de 1 à 10 bases répétées en tandem (en fonction des définitions) ; les tandems les plus fréquents, chez l'homme, sont mononucléotidiques et, à un degré moindre, dinucléotidiques ; les penta-nucléotides sont rares et les hexa-nucléotides, encore moins fréquents. Les motifs les plus répandus en fonction de leur longueur sont : le mono-nucléotide A et, à un degré moindre, le mononucléotide T, le di-nucléotide CA, le tétra-nucléotide CAGT, l'hexa-nucléotide CTGTCA ; il n'a pas été identifié de tri-nucléotide préférentiel.

La taille des microsatellites est variable ; elle est fonction du nombre des répétitions du motif, lequel varie de 5 à 100 d'un individu à l'autre et d'une génération à l'autre, d'un allèle à l'autre chez un individu et même d'une cellule à l'autre en cas de mutation ; on parle de polymorphisme de taille. Toutefois, certains microsatellites ont une taille commune entre les individus ; cette caractéristique permet, par exemple, de qualifier la stabilité d'un microsatellite dont on connaît la taille. Il existe aussi un polymorphisme de structure : les microsatellites sus-définis, caractérisés par un motif unique, sont des microsatellites parfaits mais on trouve des microsatellites imparfaits, qui sont de 2 types : les microsatellites interrompus, caractérisés par un changement d'une seule base (exemple CACACTCACA), et les microsatellites composés, correspondant à un changement localisé de plusieurs bases (exemple : CACTCTCGCGCTCTCACACACACA).

Ces polymorphismes sont la conséquence de mutations. Les mutations par changement de taille sont de l'ordre de 1/1 000 par génération et par locus alors que les mutations par changement de structure sont 1 million de fois plus rares (13).

Les microsatellites sont nombreux chez les eucaryotes ; un microsatellite peut être présent en des milliers d'exemplaires dans le génome, ils sont plus fréquents dans les zones non codantes mais 20 % des gènes humains contiennent une répétition microsatellitaire de taille supérieure à 7 pb dans leur séquence codante. Les microsatellites représentent environ 1,6 % du génome humain. Les di-nucléotides en constituent le tiers (dont 50 % sont des CA et 35 % des AT). Ils sont répartis aléatoirement dans le génome. Ils sont présents le plus souvent au sein des introns et, à un degré sensiblement moindre, dans les exons.

Le rôle physiologique des microsatellites n'est pas complètement élucidé mais 3 champs d'action ont été déterminés : régulation des processus métaboliques de l'ADN, régulation de l'activité des gènes et organisation de la chromatine (13).

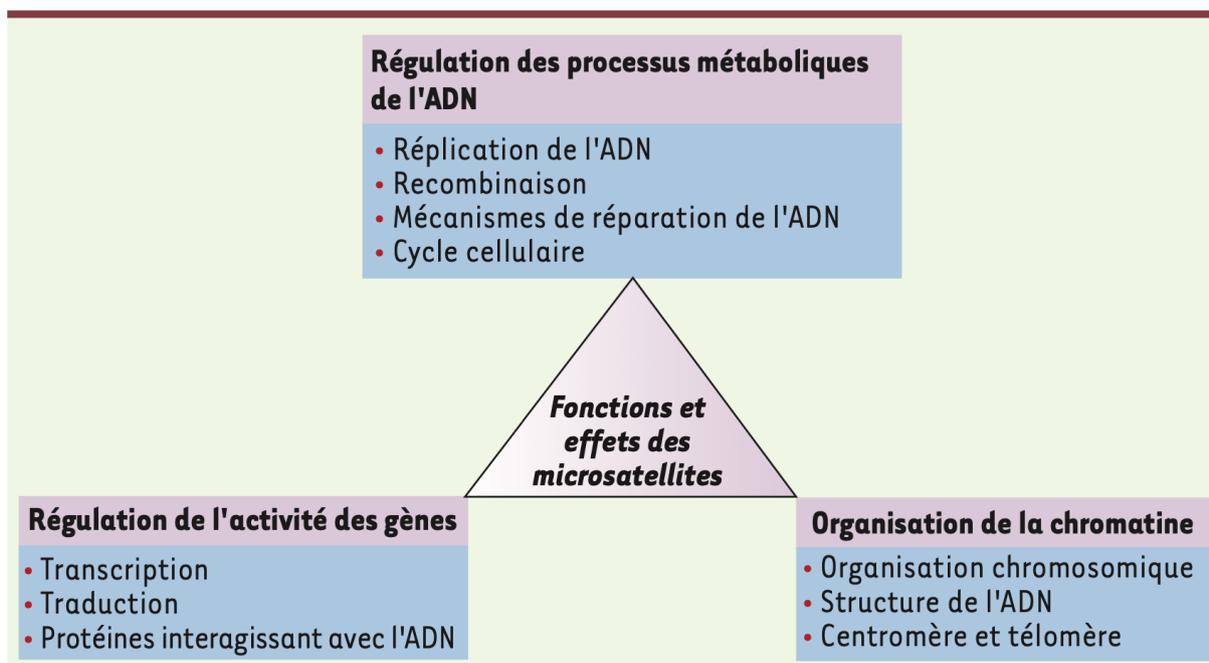


Figure 4 Fonctions et effets potentiels des microsatellites dans le génome (Source : MedecineSciences.org, P.Balaresque 2007)

Les microsatellites sont un siège relativement fréquent de mutations. Le principal mécanisme de mutation est le glissement de la polymérase ou *slippage*, lequel est responsable de perte ou gain d'unités au sein des séquences répétées. Les autres types de mutation sont la substitution, l'insertion ou la délétion, la contraction ou l'amplification ou bien un crossing-over inégal. L'ensemble des mécanismes mutationnels

impliqués dans les changements de structure ou de longueur des microsatellites est réparé par différents mécanismes de réparation, lesquels corrigent la plupart du temps ces mutations, notamment le système MMR de réparation des mésappariements de l'ADN. Ainsi, l'apparition d'un nouvel allèle à un locus donné d'un microsatellite est le résultat d'une mutation et la non-réparation de cette erreur (14).

#### b – L'instabilité microsatellitaire (MSI)

L'instabilité des microsatellites provient d'une défaillance dans le système de réparation des mésappariements (MMR) qui est le système de correction d'erreurs d'appariements de bases nucléiques lors de la réplication de l'ADN.

Les microsatellites sont propices à la survenue d'erreurs, en raison de la répétitivité des motifs de paires de base en tandem ; en effet, l'ADN-polymérase peut « glisser » lors de la réplication ; il s'en suit des mésappariements ou la constitution de boucles, puis un changement du cadre de lecture (excepté en cas de perte ou gain de 3pb). L'absence de correction par le système MMR aboutit à la constitution de microsatellites différents des microsatellites parents et différents entre eux et ceci en grand nombre, d'où le nom d'instabilité microsatellitaire.

La fréquence des erreurs commises par l'ADN-polymérase est dépendante de plusieurs facteurs structuraux :

- elle augmente avec la longueur du microsatellite
- elle est influencée par la composition en bases du microsatellite : les microsatellites composés de C ou G sont plus instables que ceux composés de A ou T
- la longueur du motif élémentaire joue aussi un rôle important : plus le motif est court (mononucléotide), plus le taux de mutation est important
- il en est de même de la composition des séquences adjacentes au microsatellite ; en effet, certaines s'avèrent plus sensibles au *slippage*.

D'autre part, une erreur survenant dans un domaine d'euchromatine ou dans un exon est plus mutagène (14).

Les séquences de microsatellites sont très nombreuses dans la chaîne d'ADN et la présence d'une mutation dans un gène n'a pas nécessairement une conséquence sur l'oncogenèse, cela dépend du rôle du gène atteint ; simplement, elle participe au bruit de fond de l'instabilité microsatellitaire.

### c – La réparation des mésappariements

Le processus de réplication de l'ADN par les ADN-polymérase, permet la transmission fidèle de l'information génétique de la cellule-mère aux 2 cellules-filles, par conséquent, la préservation de l'intégrité du génome. Il est soumis à la survenue d'erreurs de réplication. En contrepartie, il existe des systèmes hiérarchisés de réparation de l'ADN mais ceux-ci peuvent être aussi le siège d'anomalies dans leur fonctionnement, et susceptibles de générer des pathologies, cancéreuses ou non.

On peut citer comme exemples la mutation de gènes *BRCA* qui interviennent dans la réparation par recombinaison homologue, à l'origine de cancer du sein, ou la mutation de gènes intervenant dans la réparation par excision de nucléotide (NER), à l'origine du *xeroderma pigmentosum* (15).

Avant de détailler le fonctionnement du système MMR, il convient de citer le système primaire de réparation de l'ADN qui est la capacité de relecture (*proof-reading*) de l'ADN-polymérase elle-même ; ce système permet de corriger les mésappariements d'une unique paire de bases mais il peut être pris en défaut. Le système MMR intervient alors mais aussi lorsque les erreurs de réplication concernent des mésappariements de courtes séquences de nucléotides (jusqu'à 6 pb) ou de boucles d'insertion-délétion (IDL) (16).

Le système MMR assure la surveillance de la chaîne nucléotidique du brin d'ADN néo-formé, la reconnaissance des mésappariements et leur réparation. Il est essentiel à la préservation de l'intégrité du génome et il s'avère très efficace puisqu'il permet de diminuer le taux d'erreur à  $1/10^9$  pb.

Il a été initialement bien identifié chez *E. Coli* où il constitue le système MutHLS et l'homologie entre les gènes bactériens et leurs orthologues eucaryotes a pu être établie, à l'exception de celle du gène *MutH* ; parallèlement, les protéines issues de ces gènes et/ou intervenant dans le processus de réparation MMR ont été déterminées. Il s'agit d'un processus hautement conservé au cours de l'évolution (17).

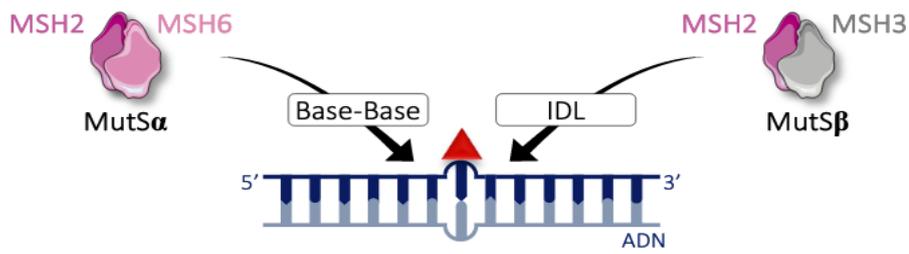
Le mode de fonctionnement du système MMR est le suivant : une erreur de réplication conduit à l'incorporation d'un ou plusieurs nucléotides incorrects ou à la disparition d'un ou plusieurs nucléotides

dans le brin-fils, ce qui entraîne la présence en vis-à-vis de deux bases (ou courtes séquences de bases) non complémentaires appelé mésappariement. Cette anomalie doit être réparée de manière à éviter la transmission d'une information inexacte à une des cellules-filles et, s'il s'agit d'une cellule germinale, la transmission d'une mutation aux générations suivantes.

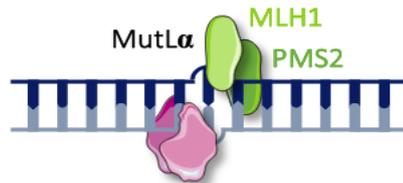
Alors intervient le système MMR et celui-ci agit en plusieurs étapes (Figure 5) :

- il reconnaît les mésappariements de base de petite taille (1 ou 2 nucléotides) par l'hétérodimère MSH2-MSH6 (homologue de MutS $\alpha$ ) ; ce complexe protéique se dispose alors en forme de pince coulissante sur le brin d'ADN ; MSH2 a un effet de stabilisation de MSH6 et aussi un rôle ATPasique. MSH6 est le composant actif de la reconnaissance de l'anomalie.
- sur ce complexe protéique, vient se fixer l'hétérodimère MLH1-PMS2 (homologue de MutL $\alpha$ ) ; MLH1 est impliqué dans l'initiation de la réparation ; PMS2 a une activité endonucléasique, qui permet la réalisation, aléatoire, d'une coupure sur un site voisin de la lésion.
- MutL $\alpha$  va interagir avec la protéine PCNA (*proliferating cellular nuclear antigen*) et une exonucléase1 ; PCNA est une protéine en anneau, de la famille des clamps glissants, qui va faciliter le cheminement de l'exonucléase sur le brin d'ADN ; cette nucléase va exciser les nucléotides jusqu'au mésappariement.
- le complexe d'élimination de la séquence pathologique va alors être détaché du brin d'ADN et une ADN-polymérase  $\delta$  va reprendre la synthèse.
- le nouveau fragment va être scellé au brin en cours de synthèse par une ligase.
- s'il s'agit d'un mésappariement plus long ou d'une boucle plus grande, le processus est identique, à la différence près que MSH6 est remplacé par MSH3 pour former l'hétérodimère MSH2-MSH3 (MutS $\beta$ ) et que PMS2 est remplacé par MLH3 pour former le complexe MLH1-MLH3 (MutL $\gamma$ ).

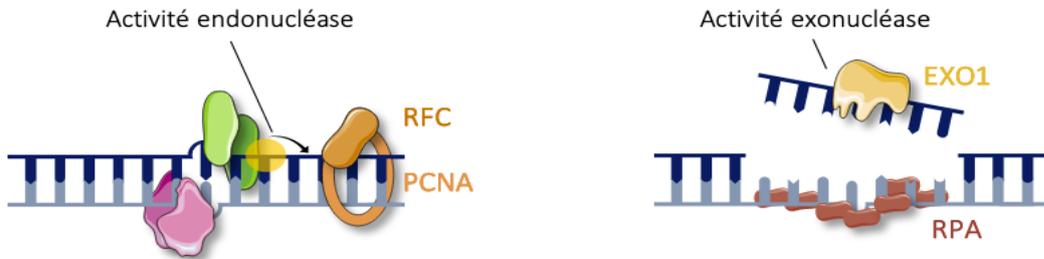
1 Reconnaissance du mésappariement par MutS



2 Recrutement de MutL



3 Excision



4 Resynthèse et ligation



Figure 5 Fonctionnement du système MMR (Jiricny et al., 2013 & Li et al., 2016)

Les fonctions des différentes protéines des système MutHLS (de E.coli) et MMR (humain) sont reprises dans le Tableau 3 (18,19).

Tableau 3 Les protéines du système MMR et leurs fonctions (Source : Cell Research, Guo-Min Li, 2008)

E.coli	Humain	Fonction
(MutS)2	hMutS $\alpha$ (MSH2-MSH6) hMutS $\beta$ (MSH2-MSH3)	Reconnaissance des dommages et des mésappariements
(MutL)2	hMutL $\alpha$ (MLH1-PMS2) hMutL $\beta$ (MLH1-PMS1) hMutL $\gamma$ (MLH1-MLH3)	Appariement moléculaire, endonucléase
MutH	Pas encore identifié	Discrimination du brin
UvrD	Pas encore identifié	Hélicase
ExoI, ExoVII, ExoX, RecJ	ExoI	Excision des bases et des mésappariements
Pol III holoenzyme	Pol $\delta$ PCNA	Synthèse d'ADN Initiation du <i>Mismatch repair</i> , synthèse d'ADN
SSB	RPA HMGBA RFC	Liaison et protection de l'ADN, participe et termine l'excision des bases, promoteur de la synthèse d'ADN Excision des mésappariements Participe à l'adhésion de PCNA, active l'endonucléase MutL $\alpha$
DNA ligase	DNA ligase I	Liaison des brins

#### d- Étiologie du dysfonctionnement du système MMR

La déficience du système MMR peut être d'origine héréditaire et transmise de manière autosomique dominant. Il s'agit d'une atteinte structurale des gènes du système MMR (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*), intéressant les cellules germinales que l'on retrouve notamment dans le syndrome de Lynch (qui sera détaillé dans les paragraphes suivants).

Le gène *MSH2* peut subir une inactivation épigénétique par hyperméthylation de son promoteur, secondaire à une délétion constitutionnelle de l'extrémité 3' du gène *EPCAM* (molécule d'adhésion cellulaire épithéliale) qui est situé en aval (20).

Il existe aussi d'autres mécanismes d'inactivation des gènes du système MMR comme la répression épigénétique de l'expression du gène *MLH1* par hyperméthylation de son promoteur au niveau des îlots CpG ainsi que les altérations des microsatellites à répétitions de tétranucléotides sélectionnés (*EMAST*) secondaires au dysfonctionnement de la protéine MSH3 (Tableau 4) (21).

Tableau 4 Mécanismes héréditaires et sporadiques d'instabilité microsatellitaire

	Mécanismes héréditaires		Mécanismes sporadiques		
	Syndrome de Lynch	CMMRD	Syndrome apparenté au syndrome de Lynch	CRC MSI sporadiques	EMAST
<b>Représentation parmi les CRC</b>	3%	Très rare	1%	12-15%	50%
<b>Mutation germinale</b>	1 allèle d'un des gènes MMR	2 allèles d'un des gènes MMR	Non connu	Non connu	Non connu
<b>Mutation somatique</b>	2 <sup>ème</sup> allèle du gène MMR	Non connu	2 allèles d'un gène MMR	BRAF	Non connu
<b>Phénotype tumoral</b>	MMRd (MSI)	MMRd (MSI)	MMRd (MSI)	MMRd (MSI)	MMRd (EMAST)
<b>Epigenétique</b>				Hyperméthylation somatique du promoteur de MLH1	

## 5 - Carcinogénèse secondaire à l'instabilité microsatellitaire

Les altérations génétiques ont des répercussions sur de nombreux gènes. Il s'agit certes de modifications des gènes impliqués dans l'oncogénèse mais aussi de gènes à l'origine de diverses affections non néoplasiques.

L'instabilité des microsatellites entraîne des anomalies de transcription, des décalages du cadre de lecture (*frameshift*) susceptibles de générer diverses anomalies :

- l'apparition prématurée d'un codon STOP dans le transcrit
- le décalage du cadre de lecture et la modification de la chaîne d'ARN messenger et donc de la séquence protéique

Il s'en suit en particulier des variants faux-sens dans les oncogènes-clés (proto-oncogènes et gènes suppresseurs de tumeur), ce qui génère notamment :

- une inactivation de gènes suppresseurs de tumeur
- la perte du contrôle des gènes activateurs de la prolifération cellulaire
- l'activation non contrôlée de la réponse aux facteurs de croissance cellulaire
- l'altération du processus d'apoptose, conduisant à l'échappement à la mort cellulaire

### a – Les gènes cibles

Il s'agit des gènes majeurs du processus transformant. En cas de défaillance du système MMR, leur atteinte est fréquente. Parmi les gènes les plus souvent atteints figurent : *BRAF*, *KRAS*, *PIK3CA*, *CTNNB1*.

Dans les régions codantes, les erreurs dans ces gènes sont principalement des délétions et accessoirement des insertions. De nombreux gènes sont impactés.

On retrouve dans ces gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire :

- des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire et la prolifération cellulaire, dont *TGFBR2*, *IGF2R*, *ACVR2A*, *CDX*, *AXIN2*, *TCF-4*, *PTEN*, *RIZ* ; le gène *TGF $\beta$ -RII* est le premier à avoir été identifié (il a un effet suppresseur de tumeur et sa mutation favorise la progression tumorale dans les stades précoces du développement des carcinomes)
- des gènes responsables de l'apoptose, dont *CASP5*, *BAX*, *BCL10*, *APAF1*, *FAS*

- des gènes du maintien de l'intégrité génomique dont *RAD50*, *ATR* et *MRE11*, *BLM*, *MBD-4*, *CHK1*, les gènes du système MMR (sauf *MLH1*)
- des gènes de la régulation épigénétique, comme *ARID1A* et *HDCA2* ; et les gènes de la machinerie des micro-ARN, tels que *TARBP2*, *XPO5* (22).

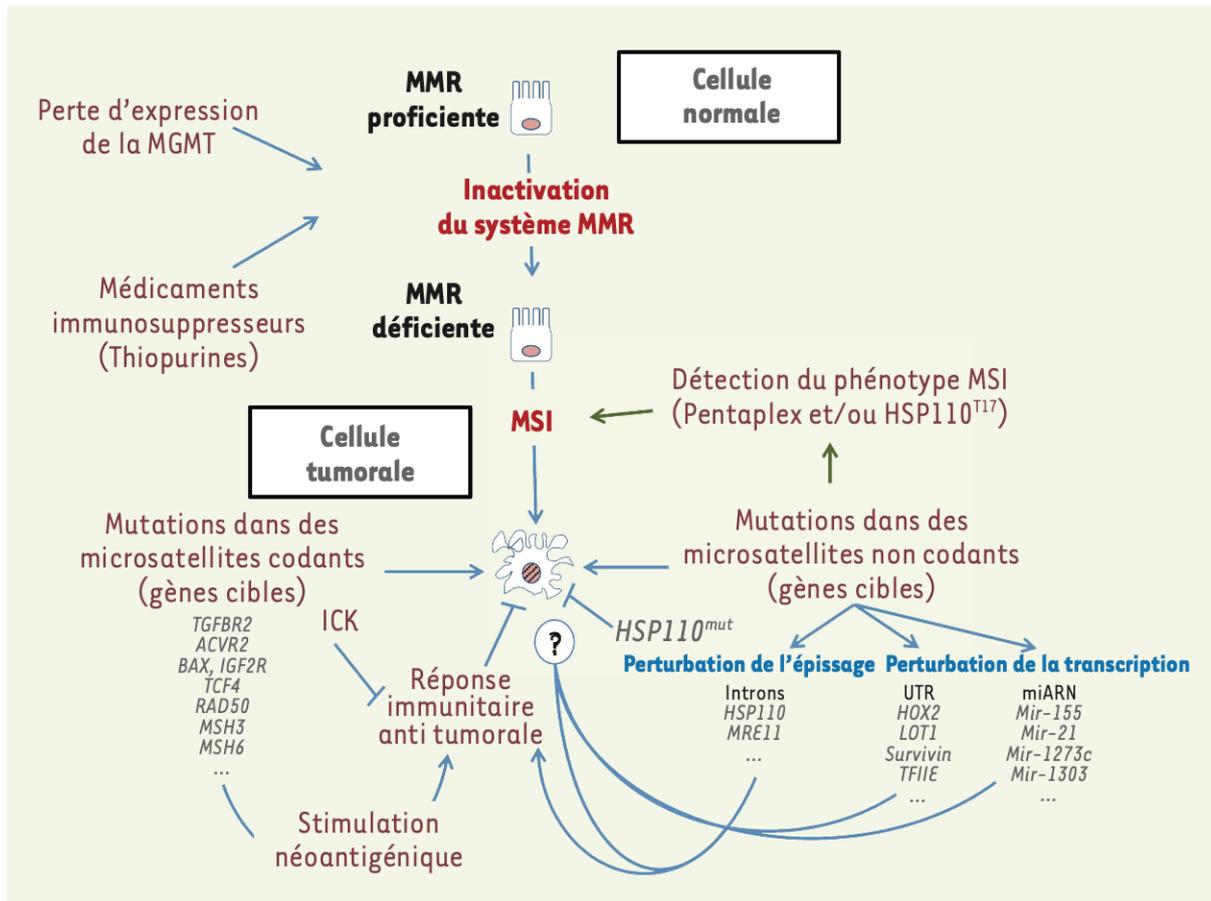


Figure 1 Étapes de la cancérogénèse des cellules MMR déficientes (Source : Médecine/Sciences, 2019, A.Collura)

Certains gènes cibles sont préférentiellement atteints selon la localisation du cancer comme le montre la Figure 7 dans le CCR. Dans le cancer urothélial MSI, les gènes cibles préférentiels sont *MSH3*, *BAX*, *RAD50* et *MRE11* (23) alors que, dans le cancer de l'endomètre MSI, on retrouvera plus fréquemment une implication des gènes *RPL22*, *PTEN* et *ARID1A* (24).

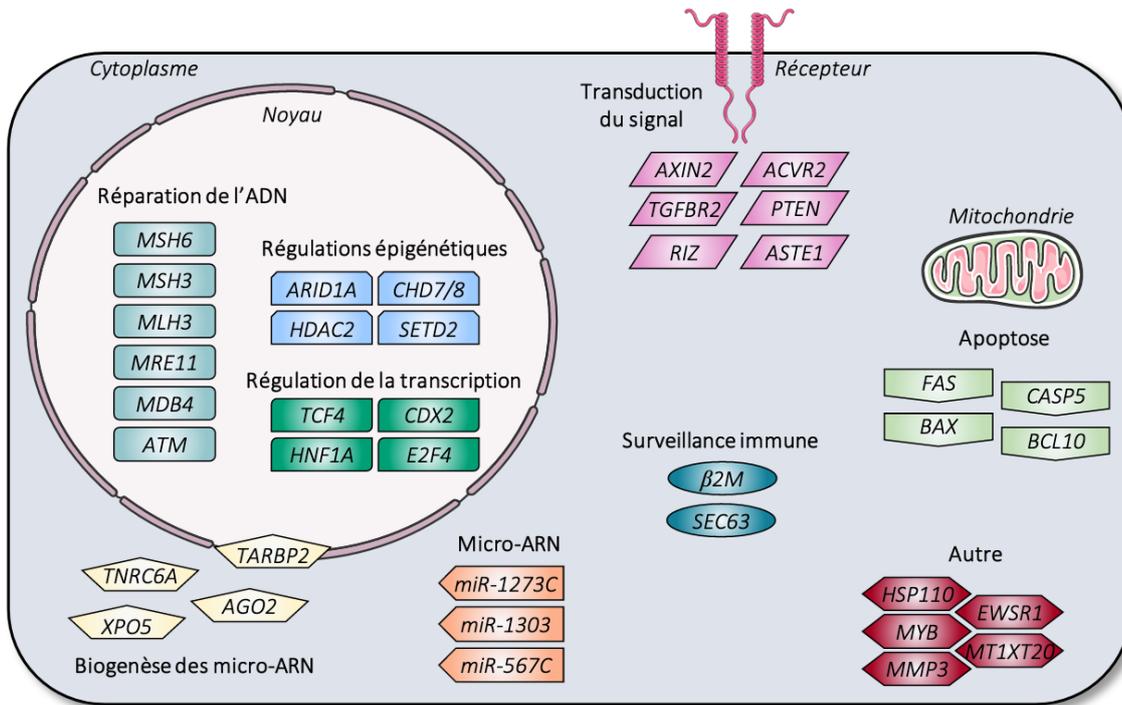
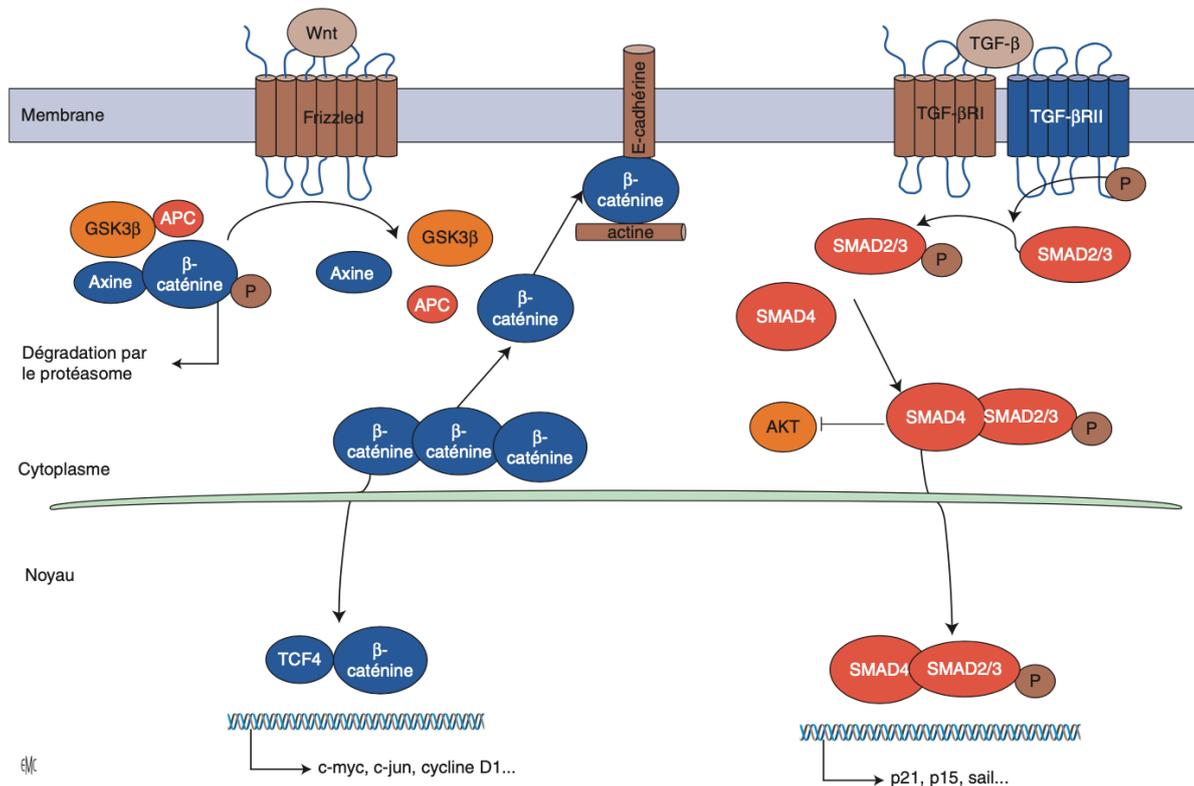


Figure 2 Représentation de gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire potentiellement impliqués dans la carcinogenèse colique (Source : Archives of Toxicology, 2015, H.Yamamoto) (25)

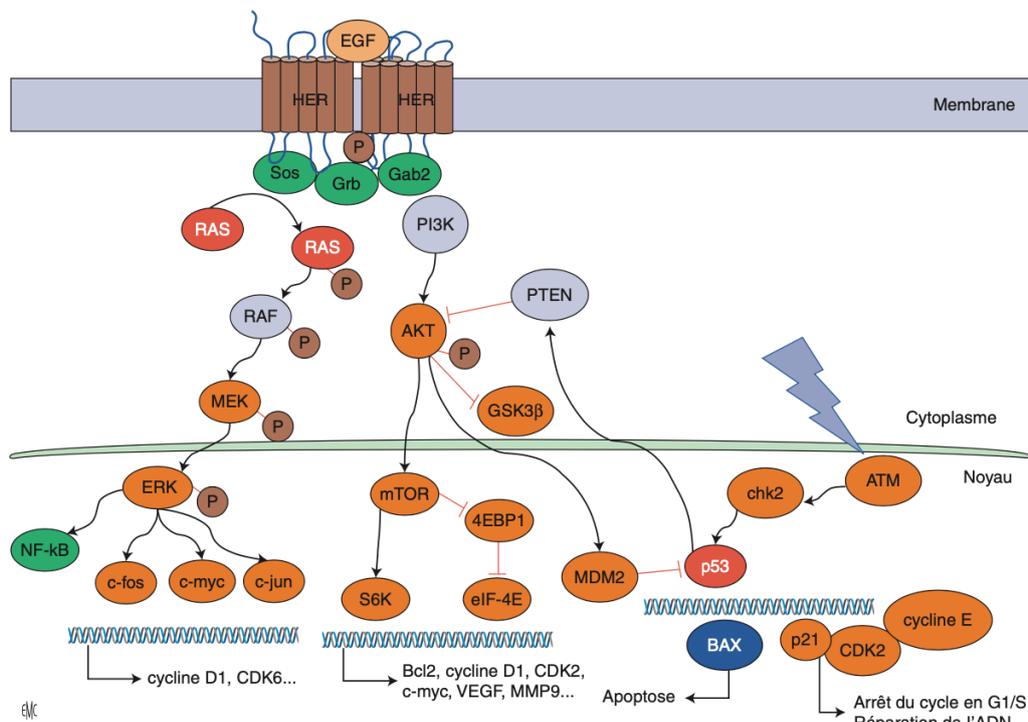
### b – Les voies de signalisation

Etant donné les gènes affectés par l'instabilité microsatellitaire, les principales voies de signalisation altérées par l'instabilité microsatellitaire sont : la voie de la  $\beta$ -caténine, la voie du TGF- $\beta$ , la voie RAS-RAK-MAPK, la voie PI3K-AKT-mTOR et la voie p53 (uniquement en cas de mutation de BAX) comme présenté sur les Figures 8 et 9 (26).



**Figure 5.** Voies Wnt/APC/β-caténine et du *transforming growth factor beta* (TGF-β). *Adenomatous polyposis coli* (APC), en lien avec l'axine et la glycogène synthase kinase 3β (GSK3β), favorise la phosphorylation de la β-caténine et sa dégradation par le protéasome. Les altérations de la voie Wnt/APC/β-caténine conduisent à un excès de β-caténine qui active le facteur de transcription TCF4 et stimule alors de façon inappropriée la transcription de proto-oncogènes. La β-caténine intervient aussi dans l'adhésion cellulaire via E-cadherine et l'actine. Les ligands de la famille du TGF se fixent sur les récepteurs au TGF de types I, II et III sous forme d'hétérodimères. SMAD2/3 et SMAD4 participent à la transduction du signal et activent la transcription de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire et l'apoptose. Les gènes mutés dans l'instabilité chromosomique sont représentés en rouge. Les gènes mutés dans l'instabilité microsatellitaire sont représentés en violet.

Figure 3 Voies de signalisation Wnt/APC/β-caténine (Source : EMC Gastro-entérologie, 2020, C.Evrard)



**Figure 6.** Voies P53, RAS/RAF/MAPK et PI3K/AKT/mTOR. La famille des *human epidermal growth factor receptor* (HER) comprend des récepteurs à activité tyrosine kinase qui sont activés par homo- ou hétérodimérisation après liaison aux différents ligands. Grb2 active la voie RAS (via SOS) et la voie PI3K (via GAB2). La protéine KRAS existe normalement dans la cellule sous deux configurations : l'une active fixée au guanosine triphosphate (GTP) et l'autre inactive fixée au guanosine diphosphate (GDP). L'activation de KRAS entraîne l'activation de BRAF, puis de MEK, puis de ERK. ERK active des facteurs de transcription (c-fos, c-myc, c-jun, ELK1) intervenant dans le cycle cellulaire (cycline D1 et CDK6). La PI3K active AKT puis mTOR et le facteur de transduction eIF-4E, favorisant aussi la transcription de nombreux gènes. La voie PI3K/AKT est régulée négativement par *phosphatase and tensin homolog* (PTEN). Dans les conditions physiologiques, p53 est régulée négativement par MDM2 qui favorise sa dégradation par ubiquitination. En cas de lésions à l'ADN, p53 est activée par ATM et induit un blocage du cycle cellulaire en phase G1/S (cycline E et CDK2 via p21) pour permettre la réparation de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Si les lésions sont trop importantes, l'apoptose est induite (via BAX). Les gènes mutés dans l'instabilité chromosomique sont représentés en rouge. Les gènes mutés dans l'instabilité microsatellitaire sont représentés en bleu. EGF : *epidermal growth factor* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor*.

Figure 4 Voie de signalisation RAS/RAF/MAPK et PI3K/AKT/mTOR (Source : EMC Gastro-enterologie, 2020, C.Evrard)

## 6 – Les cancers de phénotype MSI

Les erreurs de réplication conduisent à des mutations géniques et, *in fine*, à la synthèse de protéines anormales, de nature à générer une altération des voies de signalisation ; il en résulte des perturbations de la physiologie cellulaire et, parfois à la transformation en une cellule cancéreuse. Les cancers MSI sont associés à des taux de mutations 100 à 1 000 fois plus élevés que les tumeurs à microsatellites stables (MSS).

Les cancers MSI sporadiques sont les plus fréquents (12 à 14% des cancers colorectaux). Ils sont essentiellement secondaires à une altération épigénétique, l'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* (26).

Les cancers héréditaires correspondent à une mutation germinale et/ou une inactivation constitutionnelle d'un des quatre gènes du système MMR (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) et constitue le syndrome de Lynch présent dans 2 à 3% des CCR. Le phénotype MSI tumoral présente des caractéristiques spécifiques et constitue un critère fondamental dans la recherche d'autres localisations tumorales.

#### a – Les cancers héréditaires

##### *a-1 – Le syndrome de Lynch*

Il se caractérise par une susceptibilité aux cancers accrue pouvant atteindre plusieurs organes et une apparition plus précoce que les formes sporadiques ou MSS. Le cancer colorectal est une des localisations les plus fréquentes avec les tumeurs de l'endomètre et de l'estomac. Par conséquent, les cancers colorectaux sont l'objet principal de cette thèse et des études sur le sujet.

L'histoire du syndrome de Lynch (SL) (27) a débuté en 1895 (d'autres articles placent la date en 1905) avec Alfred Warthin, professeur d'Anatomie Pathologique à l'Université américaine de Michigan. Warthin s'est ému des confidences de sa couturière dépressive qui attribuait son état psychologique aux nombreux décès par cancer (en particulier du côlon, de l'estomac et de l'utérus) dans l'ensemble de sa famille. Warthin a commencé par documenter les antécédents médicaux de sa famille, ainsi que les résultats pathologiques des cancers chez ladite famille et a appelé leur *pedigree* « family G ». Après avoir récupéré dans les registres de l'Université de Michigan deux autres arbres généalogiques de familles aux nombreux cancers, il a publié ses premiers résultats en 1913. Il a également noté que la transmission de la susceptibilité au cancer au sein de ces familles était compatible avec la proposition de Mendel d'hérédité autosomique dominante (Lynch 2015). En 1962, au cours de son internat en médecine interne, Henry Lynch a rencontré un patient avec une histoire familiale similaire à celle de la couturière de Warthin ; il a donc colligé l'ensemble des cancers observés dans cette famille et a retrouvé plusieurs patients atteints de CCR et de cancer de l'endomètre sur plusieurs générations. Il a appelé cette famille la « famille N » (pour Nebraska). En 1966 il publie son premier article en utilisant les données des deux familles (N et M, pour Michigan) (28). Malgré l'intérêt que cet article a suscité, les agences de financement n'ont pas accepté tout de suite l'étiologie génétique préférant privilégier une origine environnementale. En 1971, Lynch a complété la description des antécédents familiaux et a initié la terminologie : le syndrome des cancers familiaux (« *cancer family syndrome* ») (29). C'est Boland et Troncale qui sont à l'origine de l'éponyme « Lynch syndrome » apparu pour la première fois dans leur article de 1984. Cet article a confirmé, à travers l'analyse de ségrégation des familles, le mode de transmission autosomique dominant (30). Durant cette

même année, le terme HNPCC (*Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*) a été utilisé pour la première fois (31) pour le différencier de la polypose adénomateuse familiale. L'acronyme HNPCC a été utilisé jusqu'à très récemment. Cependant ce terme, trop réducteur, ne doit pas être utilisé car d'autres cancers non-colorectaux ont été associés à ce syndrome et les patients atteints de SL présentent des polypes (32). De nos jours, la suspicion de SL est basée sur l'histoire familiale, la présence d'un phénotype clinique compatible, l'examen anatomo-pathologique et le statut dMMR/MSI. Il est confirmé par l'analyse génétique.

Le SL est donc une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante en lien avec une mutation monoallélique germinale d'un des gènes du système MMR (*MLH1* ou *PMS2* dans 60 à 80% des cas) (33) et prédisposant au cancer. Plusieurs centaines de mutations différentes ont été observées.

D'autre part, il a été mis en évidence deux types de syndrome de Lynch sans mutation germinale des gènes MMR, constituant chacun un mécanisme étiopathogénique alternatif aboutissant au même résultat (25) :

- l'un présentant une épimutation constitutionnelle germinale par hyperméthylation hémi-allélique des promoteurs de *MLH1* ou *MSH2*
- l'autre en lien avec une altération du gène *EpCAM* (localisé en amont du gène *MSH2*), par large délétion de sa région 3', dont la mutation germinale entraîne une inactivation épigénétique du gène *MSH2*, responsable d'un silence transcriptionnel

On décrit deux spectres de localisation dans le syndrome de Lynch. Le spectre étroit comprenant les CCR, les tumeurs de l'endomètre, de l'estomac, de l'intestin grêle et des voies excrétrices urinaires. Le spectre large, quant à lui, comprend en plus les tumeurs ovariennes, les cancers des voies biliaires, les glioblastomes, des tumeurs cutanées et les tumeurs pancréatiques

#### *a-2 – Le syndrome de Muir-Torre*

Il est considéré comme un variant du syndrome de Lynch à tropisme dermatologique. Il concerne surtout des hommes (sex ratio à 3.2) avec un âge médian au diagnostic de l'ordre de 50 ans.

Les lésions dermatologiques sont à type d'adénome sébacé, de carcinome sébacé, d'épithélioma à différenciation sébacé et de kérato-acanthome.

Elles sont associées à des cancers viscéraux, le plus souvent digestifs (60 % des cas) et, à un degré moindre uro-génitaux (20 % des cas). Des cancers du sein, du larynx et des hémopathies (lymphomes non hodgkiniens) ont également été rapportés.

Dans la majorité des cas (65%), on retrouve une atteinte du système MMR, mais il existe aussi des cas secondaires à la perte d'expression du gène *MYH* qui code pour une autre protéine de réparation de l'ADN de type BER (pour *base excision repair*).

La mise en évidence des lésions dermatologiques caractéristiques doit conduire à rechercher une déficience du système MMR et des antécédents de cancers pour ne pas méconnaître un syndrome de Lynch (34,35)

#### *a-3 – Le syndrome de Turcot de type 1*

Il s'agit d'un autre variant du syndrome de Lynch, rare, qui associe un cancer colorectal et une tumeur du système nerveux central (glioblastome, astrocytome). Il est lié le plus souvent à une mutation de *PMS2* ou *MLH1*.

Pour mémoire, le syndrome de Turcot de type 2, plus fréquent, est quant à lui lié à une mutation du gène *APC*. On retrouve aussi des tumeurs du système nerveux central et coliques mais dont les microsatellites sont stables (36).

#### *a-4 – Déficit constitutionnel du système MMR*

Une place à part est à réserver au déficit constitutionnel du système MMR (CMMRD). C'est une prédisposition héréditaire au cancer, sévère et précoce ; elle est la conséquence de la transmission d'une mutation bi-allélique d'un des gènes MMR, le gène *PMS2* dans 60 % des cas, le gène *MSH6* dans 20 % des cas, les autres plus rarement.

Elle entraîne chez les enfants, les adolescents ou les adultes jeunes des tumeurs du système nerveux central, des hémopathies malignes (leucémies, lymphomes), des cancers de l'appareil digestif et aussi des cancers uro-génitaux ; y sont associées des signes cutanés similaires à la neurofibromatose de type 1 (comme les taches café au lait) (37).

### b – Les cancers sporadiques

Les cancers colorectaux MSI d'origine sporadique proviennent de l'inactivation d'un des gènes du système MMR, *MLH1* notamment. Cette inactivation est le plus souvent secondaire à un mécanisme épigénétique, transmissible au cours de la mitose. Il s'agit de l'hyperméthylation de régions riches en dinucléotides cytosine-guanine, les îlots CpG, situées sur le promoteur d'un gène.

Ce mécanisme peut être physiologique lors du vieillissement ou dû à l'inactivation d'un chromosome X chez la femme ; il peut être pathologique et oncogénique lorsqu'il inhibe l'expression d'un gène suppresseur de tumeur.

Ce phénotype méthylateur (CIMP) se développe majoritairement à partir de lésions dysplasiques coliques, les adénomes festonnés, qui évoluent secondairement en CCR (26).

Ces tumeurs dMMR CIMP-positives présentent en général des mutations activatrices de l'oncogène *BRAF*, impliqué dans la voie RAS/RAF/MAPK, alors qu'elles sont très rares dans les cancers héréditaires. Ainsi, un CCR MSI avec mutation de *BRAF* est en général d'origine sporadique et associé à une hyperméthylation du promoteur de *MLH1*.

### d – Les autres syndromes

Dans la majorité des cas où un syndrome de Lynch est suspecté, on ne retrouve pas de mutation dans les gènes des protéines du système MMR. Ces patients, dont l'histoire oncologique est sensiblement identique aux patients atteints d'un syndrome de Lynch, sont classés comme Lynch-like. L'analyse des tumeurs retrouve aussi une instabilité microsatellitaire avec une perte d'expression de protéines du système MMR. Aussi, on peut constater une perte d'expression de *MLH1* sans hyperperméthylation du promoteur de son gène.

Il est intéressant de citer deux autres syndromes avec des histoires familiales de cancer du côlon dont les analyses biologiques tumorales ne retrouvent d'instabilité microsatellitaire, il s'agit du *Polymerase Proofreading associated polyposis syndrome* (PPAP) et du *Familial colorectal cancer type X syndrome* (FCCTX).

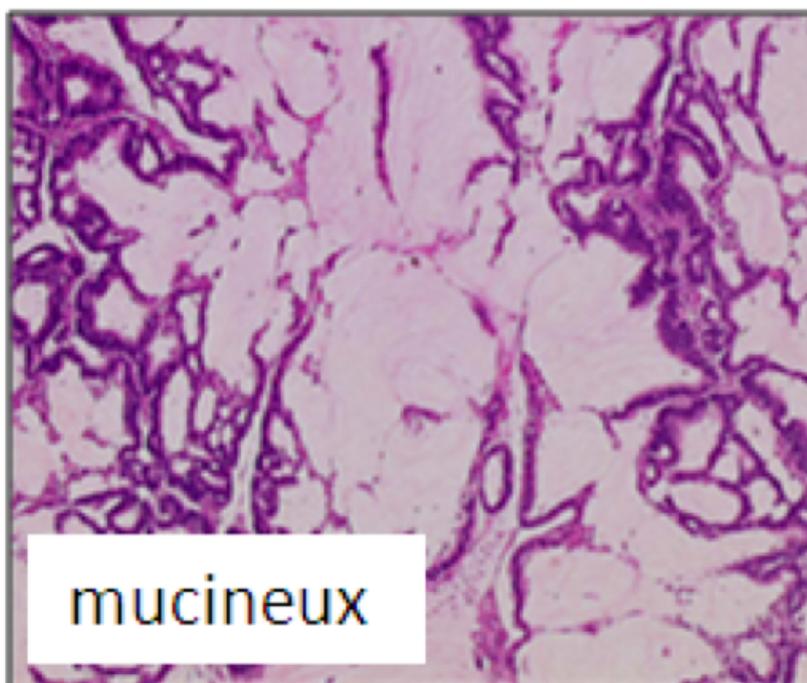
Le PPAP syndrome est une maladie héréditaire autosomique dominante rare secondaire à une mutation germinale du gène *POLE* ou *POLD1*, les patients atteints par ce syndrome présentent une polypose colique et un risque de CCR.

Le syndrome FCCTX comprend des patients remplissant les critères d'Amsterdam mais où l'on ne retrouve pas de mutation des gènes du système MMR (38).

### c – Particularités cliniques et histologiques

Dans ce paragraphe, nous allons développer les caractéristiques des CCR MSI, car il s'agit du sujet principal de cette thèse, dont les particularités histologiques sont plus marquées. Nous aborderons également aussi les tumeurs endométriales et urothéliales.

Les CCR MSI présentent plutôt une différenciation mucineuse ou à cellules indépendantes, un stroma tumoral riche en lymphocytes avec réaction lymphoïde Crohn-like ; les cellules sont peu différenciées et on retrouve un aspect de nécrose tumorale basophile. On peut retrouver aussi parfois un aspect de carcinome médullaire.



*Figure 5 Adénocarcinome à différenciation mucineuse colique*

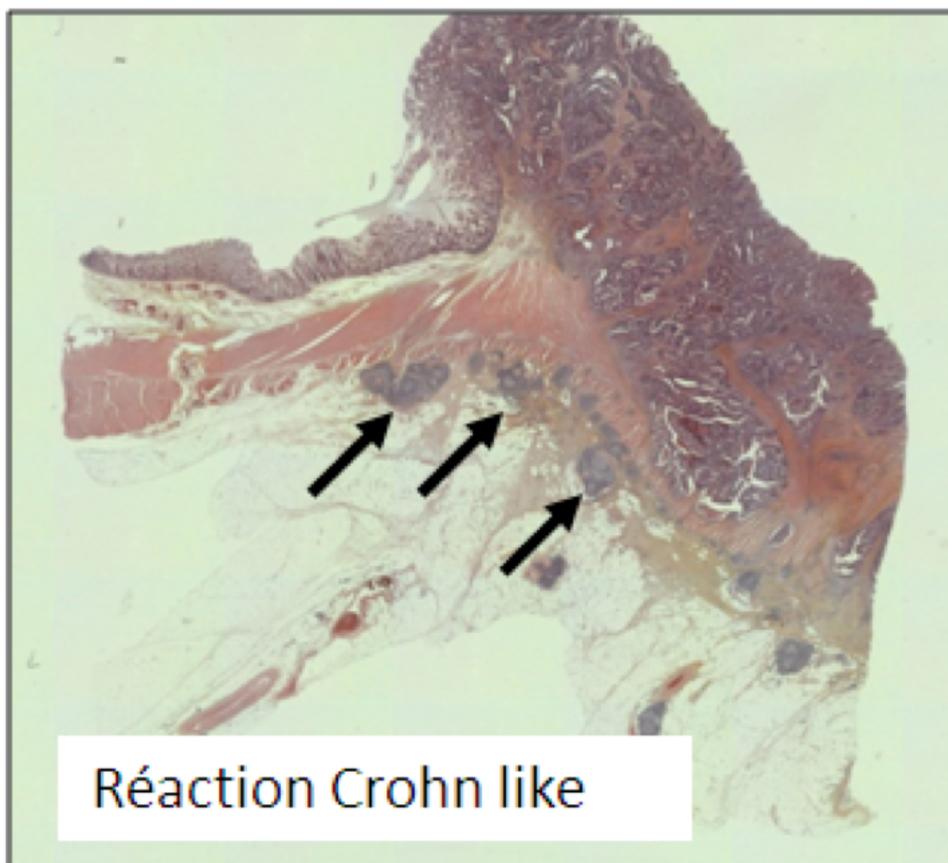


Figure 6 Réaction lymphoïde Crohn-like

Les tumeurs coliques sont préférentiellement localisées au niveau du côlon proximal (26). Cela concerne des patients souvent jeunes et l'on retrouve fréquemment des tumeurs synchrones et métachrones quand il s'agit d'un contexte de syndrome de Lynch.

Le diagnostic des CCR dMMR se fait à un stade souvent plus précoce que celui des tumeurs pMMR. En effet, celles-ci représentent 15 à 20% des cancers colorectaux de stade II et III mais seulement 5% des CCR métastatiques (39). En cas de maladie non métastatique, le pronostic est meilleur que celui des tumeurs pMMR. Plusieurs études ont analysé l'impact pronostique du statut MSI sur la survie globale, on peut citer notamment la méta-analyse de Popat *et al.* (40) décrivant un Hazard Ratio pour la survie globale (HR) poolé à 0,65 (IC95% : 0,59 à 0,71). Plus précisément, l'essai de Ribic *et al.* a montré une amélioration significative de la survie globale à 5ans dans les CCR dMMR/MSI traité par chirurgie seule (40). On peut aussi citer l'étude QUASAR qui montre un taux de rechute ou de décès à 10 ans de 10% pour les CCR dMMR/MSI contre 27% dans les CCR pMMR dans les stades II (41).

La présentation clinique des CCR dMMR/MSI est aussi différente ; en effet, on diagnostique plus souvent des tumeurs avec un envahissement local plus important (plus souvent T4 au diagnostic) mais avec moins de métastases ganglionnaires au stade localisé. Au stade métastatique, on retrouve plus souvent des lésions péritonéales ou ganglionnaires, alors que les CCR pMMR feront préférentiellement des lésions secondaires hépatiques. D'autre part, il est évident que les CCR dMMR/MSI sont diagnostiqués à des stades plus précoces lorsqu'il s'agit d'une tumeur secondaire à un syndrome de Lynch du fait de la surveillance endoscopique accrue de ces patients.

Le deuxième cancer le plus fréquent du syndrome de Lynch est le carcinome endométrioïde (CE) de l'utérus (9%). En effet, le risque de cancer de l'endomètre est multiplié par 39 par rapport à la population générale. Il est dans 50% des cas le premier cancer à se manifester chez les femmes atteintes d'un syndrome de Lynch. Les lésions semblent être plus fréquemment localisées au niveau de l'isthme utérin, elles présentent un stade FIGO plus élevé, c'est-à-dire un envahissement local plus important et on retrouve plus fréquemment des atteintes ovariennes synchrones (42). La fréquence des carcinomes endométrioïdes dMMR/MSI varient entre 17 et 30% selon les études (43). Des mutations germinales du système MMR sont retrouvées dans 2% des cas des CE. Comme dans les CCR, on retrouve un infiltrat inflammatoire et lymphocytaire (44).

Le cancer urothélial représente, en terme de fréquence, la quatrième pathologie maligne chez les patients atteints d'un SL (soit 5%). Les lésions sont volontiers localisées au niveau des voies urinaires excrétrices supérieures mais on retrouve aussi des lésions vésicales. La mutation du système MMR la plus souvent retrouvée est celle du gène *MSH2*. Contrairement aux carcinomes urothéliaux MSS, les cancers urothéliaux MSI concernent des patients plutôt jeunes, plus souvent des femmes, et ils sont plus fréquemment bilatéraux (45).

Le diagnostic de syndrome de Lynch peut être orienté grâce à des critères validés que sont les critères d'Amsterdam II et Bethesda révisés dans le Tableau 5 ci-dessous (45,46).

Tableau 5 : Critères d'Amsterdam II et de Bethesda révisés

<b>Critères d'Amsterdam II</b>
Au moins trois cas de cancers colorectaux ou de cancers du spectre de Lynch
Chez des apparentés au 1 <sup>er</sup> degré
Sur au moins deux générations successives
Dont au moins un cas diagnostiqué avant 50 ans
Une polypose adénomateuse familiale ayant été exclue
<b>Critères de Bethesda révisés</b>
Cancer colorectal diagnostiqué avant 50 ans
Cancer colorectal diagnostiqué entre 50 et 60 ans avec histologie évocatrice
Cancers multiples (synchrones ou métachrones) du spectre du syndrome de Lynch chez un même patient, quel que soit son âge
Cancer colorectal chez un patient avec antécédents familiaux de cancer(s) du spectre de Lynch chez au moins un apparenté au 1 <sup>er</sup> degré diagnostiqué avant 50 ans ou chez au moins deux apparentés, au 1 <sup>er</sup> ou 2 <sup>nd</sup> degré quels que soient les âges

#### d – Méthodes de détection biologique

La connaissance du statut MSI de la tumeur est primordiale pour le diagnostic de syndrome de Lynch mais aussi pour les orientations de prise en charge thérapeutique des cancers MSI.

La recherche du phénotype MSI est indiquée en cas de :

- découverte d'un cancer colorectal
- découverte d'un cancer de l'endomètre avant 60 ans ou en cas de contexte personnel ou familial évocateur d'un SL
- découverte d'un cancer du spectre du SL avec un contexte personnel ou familial évocateurs d'un SL

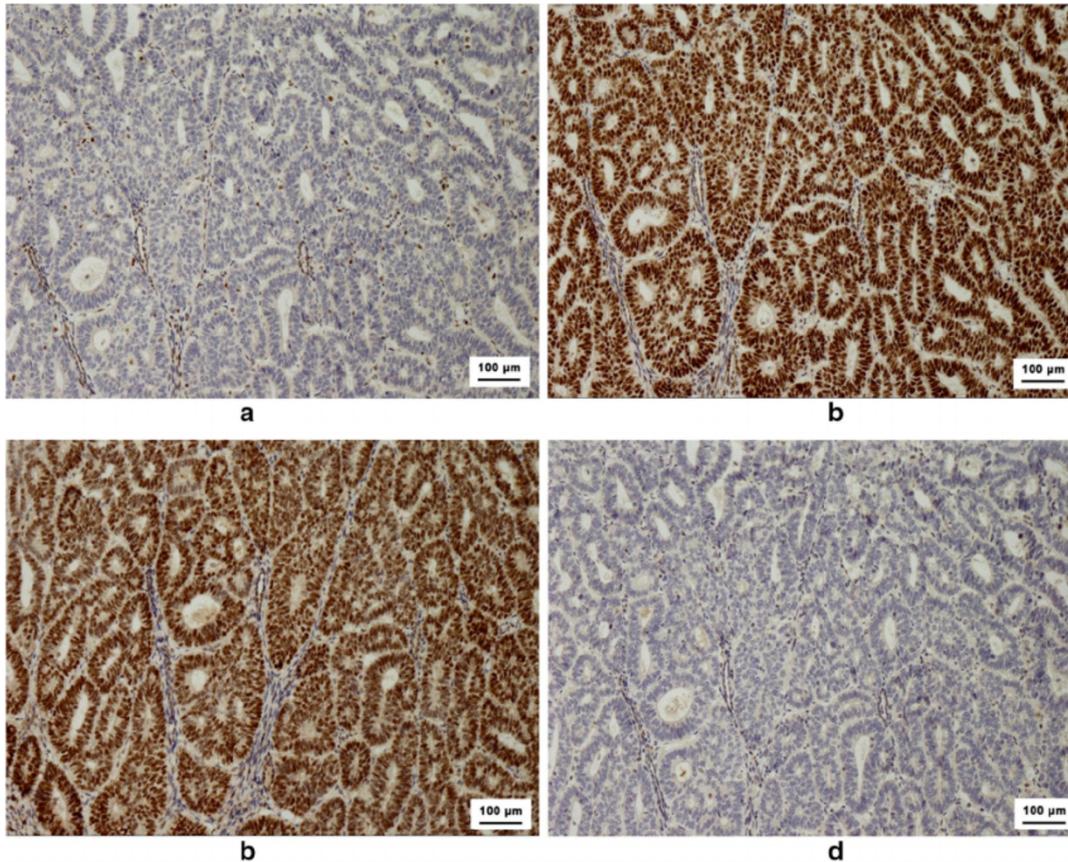
L'analyse peut être réalisée par immunohistochimie et/ou par des techniques de biologie moléculaire. Elle s'effectue à partir d'un prélèvement biopsique ou d'une pièce opératoire fixés préalablement par du formol tamponné 4%, puis inclus en paraffine avec une température qui ne doit pas excéder les 58°C. Une analyse sur du tissu congelé peut aussi être possible avec les techniques de biologie moléculaire (47).

L'**immunohistochimie** (IHC) est une technique réalisable en routine dans les laboratoires d'anatomopathologie, elle est rapide et peu coûteuse. Cette technique consiste à révéler l'absence d'expression des protéines du système MMR en utilisant des anticorps spécifiques dirigés contre les protéines MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6. La technique doit être calibrée et donc être réalisée en parallèle sur des cas témoins, c'est-à-dire sur un tissu sain. Un témoin positif interne est aussi nécessaire s'appuyant sur l'analyse des cellules du stroma.

On peut donc retrouver : une absence de perte d'expression des 4 protéines du système MMR, une perte d'expression du couple de protéine MLH1-PMS2, une perte d'expression du couple de protéine MSH2-MSH6, une perte d'expression isolée de la protéine MSH6 ou une perte d'expression isolée de la protéine PMS2. En effet, les protéines MLH1 et MSH2 peuvent former des hétéro-dimères avec d'autres protéines du système MMR différentes du partenaire courant, ce qui n'est pas le cas pour MSH2 et MSH6 (48). Ces protéines sont ubiquitaires et de localisation nucléaire. Le marquage nucléaire, même faible, conclut au maintien de l'expression de la protéine.

On peut noter toutefois des exceptions à ces généralités. Il existe des pertes atypiques avec des pertes d'expression de deux protéines différentes de l'hétérodimère fonctionnel, des pertes d'expression de 3 ou

4 protéines ; on peut retrouver aussi un marquage de la protéine positif malgré une perte de fonction secondaire à une mutation.



**Fig. 2** An example of immunohistochemistry (IHC) of mismatch repair (MMR) proteins from Case 4 in Table 2. This patient was 53 years at diagnosis and was confirmed to have grade 1 stage IA uterine endometrioid carcinoma. Two years before the diagnosis of endometrial cancer, she was diagnosed with early-stage colon cancer. Her father and daughter had a history of colon cancer and small intestine cancer, respectively. **a** Deficient expression of MutL homolog 1 (MLH1) protein in tumor tissues. The cytoplasm of almost all cancer cells had no staining in brown. **b** Normal expression of MutS homolog 2 (MSH2) protein in tumor tissues. The cytoplasm of cancer cells had homogeneous brown staining. **c** Normal expression of MutS homolog 6 (MSH6) protein in tumor tissues. The cytoplasm of cancer cells had homogeneous brown staining. **d** Deficient expression of PMS1 homolog 2 (PMS2) protein in tumor tissues. The cytoplasm of all cancer cells had no staining in brown

*Figure 7 Exemple de recherche d'expression des protéines MMR par IHC (49)*

L'autre moyen de rechercher un statut MSI consiste en l'utilisation des techniques de **biologie moléculaire**. Après extraction, l'ADN tumoral est amplifié par des techniques de réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

Initialement, il était analysé la taille de certaines répétitions microsatellitaires de l'ADN tumoral et de les comparer à l'ADN non tumoral du même patient. Il s'agissait de 5 microsatellites, 2 mononucléotidiques

(BAT-25 et BAT-26) et 3 dinucléotidiques (D5S346, D2S123, et D17S25). Ce *panel de Bethesda* a été recommandé à partir de 1998 (50).

Actuellement, il existe un second panel, développé par l'équipe de Richard Hamelin de l'hôpital Saint-Antoine, est constitué de 5 microsatellites de répétition mononucléotidique quasimonomorphe (BAT-26, BAT-25, NR-21, NR-22 et NR-24) (51).

Ce panel dit *Pentaplex* est plus sensible que le précédent et permet de conclure à une instabilité microsatellitaire sans avoir à comparer avec une analyse de tissu sain systématique. En routine, le kit commercial Promega® est fréquemment utilisé comprenant les marqueurs BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 et MONO-27.

Les produits d'amplification sont analysés après une électrophorèse capillaire, l'ensemble des marqueurs étant marqués par fluorescence permettant d'étudier la taille des fragments au nucléotide près. Ainsi, la présence d'allèles différents de la taille normale (plus petits ou plus grands), traduira une instabilité microsatellitaire à la condition que 3 marqueurs au moins sont instables.

L'analyse peut être effectuée sur un échantillon exclusivement tumoral (comprenant plus de 20% de cellules tumorales) s'il s'agit d'un cancer colorectal (52). Dans le cas d'un autre cancer, il est préférable que l'analyse soit faite en comparaison avec un échantillon de tissu sain du même patient pour appréhender le risque de polymorphisme et améliorer la sensibilité du test (53).

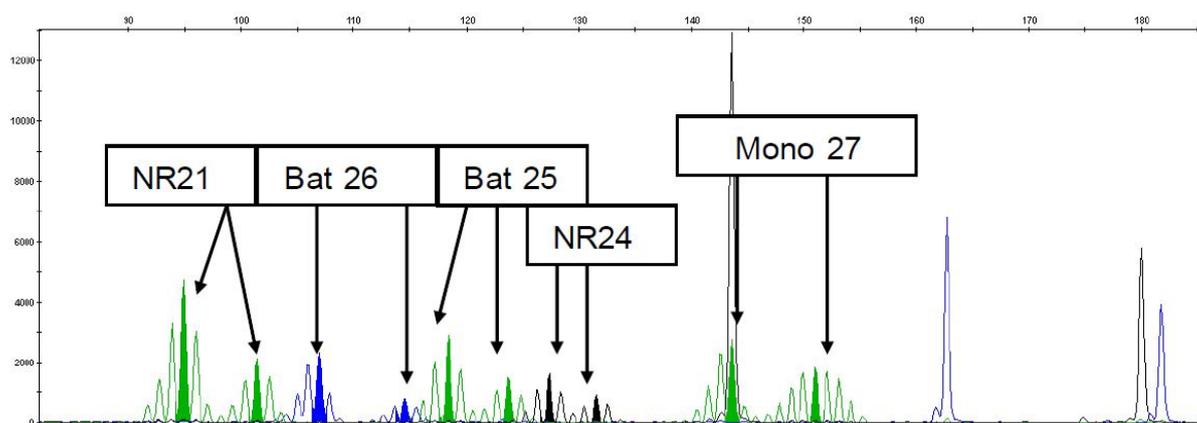


Figure 8 Exemple d'électrophorégramme présentant une tumeur instable sur les 5 marqueurs (crédit image CHU Poitiers – Pr Lucie Karayan-Tapon)

Enfin, en cas d'instabilité microsatellitaire et de perte d'expression du couple de protéines MLH1-PMS2, il est possible de déterminer l'hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1* afin de discriminer l'étiologie de l'instabilité microsatellitaire, à savoir, SL ou cas sporadique. Il existe plusieurs techniques de **biologie moléculaire** qualitatives ou quantitatives, qui se réalisent après traitement de l'ADN par bisulfite permettant de transformer les cytosines non méthylées en uraciles. L'analyse permet alors de quantifier ou de qualifier la méthylation des cytosines de régions spécifiques, les îlots CpG.

La concordance entre les résultats de la détermination du phénotype soit par analyse immunohistochimique ou soit par analyse moléculaire dépend du tissu tumoral étudié. En effet, dans le CCR, la concordance est très bonne, aux alentours de 99% (54). Pour l'endomètre, l'utilisation des deux techniques permet d'améliorer la sensibilité de l'analyse, on retrouve fréquemment des IHC équivoques et l'analyse PCR-Pentaplex est parfois d'interprétation difficile si elle n'est pas associée à l'analyse du tissu sain (55). Pour les autres cancers digestifs, il n'y a pas beaucoup de données, mais pour les cancers du pancréas par exemple, il semblerait que l'IHC soit supérieure à la biologie moléculaire.

La détermination future du statut MSI repose sur le *Next Generation Sequencing* (NGS). Celui-ci permet d'analyser un nombre indéterminé de marqueurs, voire d'adapter le panel au type tumoral ; cette technique permet d'analyser aussi la charge mutationnelle, qui sera peut-être l'un des marqueurs de demain déterminant dans la prise en charge des cancers (56).

## 7 – Impact pronostic et thérapeutique du statut MSI sur les cancers colorectaux

La recherche du statut MMR/MSI est devenue indispensable lors d'un diagnostic de cancer colorectal et plus largement dans les cancers du spectre du syndrome de Lynch. En effet, il détermine la prise en charge thérapeutique aussi bien en situation adjuvante qu'au stade métastatique.

De nombreuses études et méta-analyses ont analysé l'influence du statut dMMR/MSI sur le pronostic et la réponse aux traitements cytotoxique dans les CCR. Nous allons aborder certaines d'entre elles et mettre en avant leurs résultats.

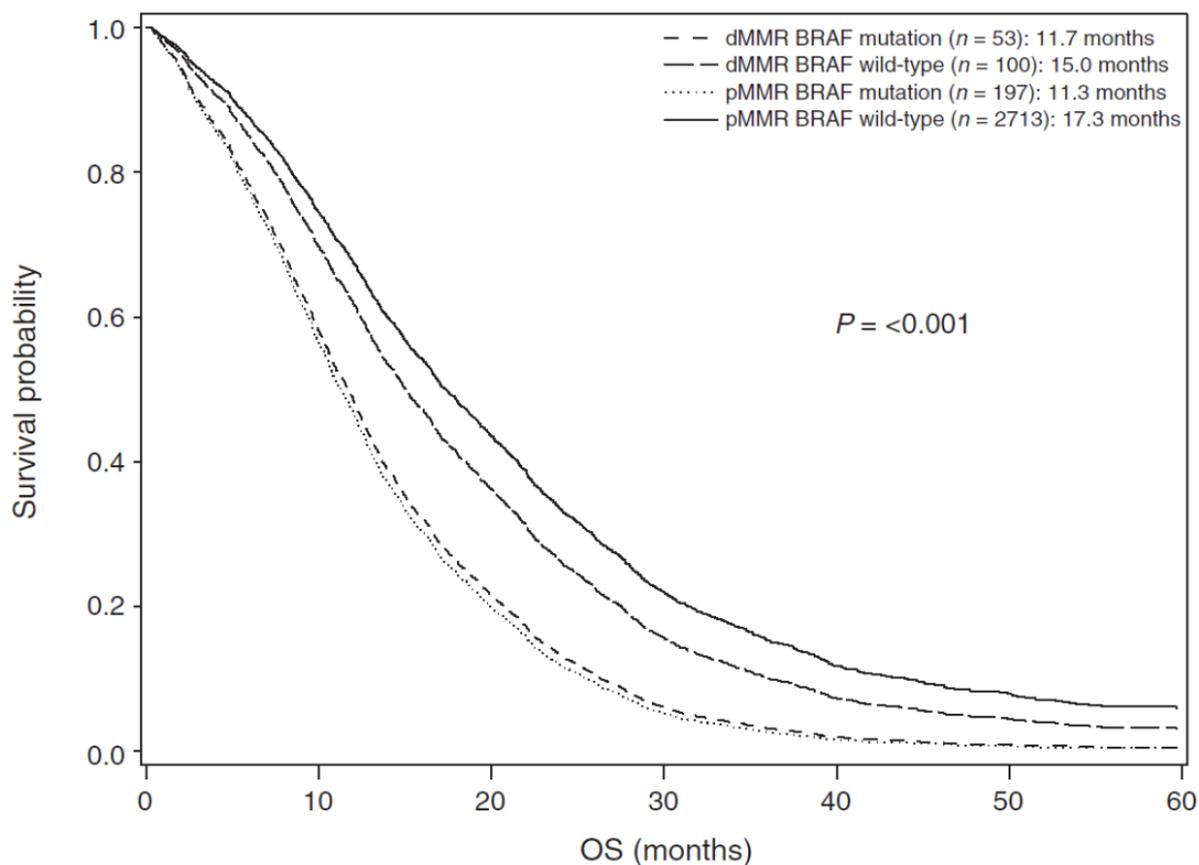
### a – Impact pronostique

L'impact pronostique est différent entre les stades localisés et le stade métastatique. Les CCR dMMR/MSI sont de meilleur pronostic par rapport aux CCR pMMR/MSS dans les stades localisés. L'étude de 2004 de Ribic et al. montre une amélioration de la survie globale (SG) en faveur du statut pMMR/MSI avec un hazard ratio (HR) à 0.31 (p=0.004) chez les patients traités par chirurgie seule (57). On peut citer aussi l'étude PETACC-3 confirmant l'impact positif du statut dMMR/MSI dans les CCR de stade II et III. L'avantage pronostique est plus marqué pour les tumeurs de stades II sur la survie sans récurrence (SSR) et la SG, avec un HR respectivement à 0.26 (IC95 0.10-0.65) et 0.16 (0.004-0.64) ; pour les stades III seule la différence sur la SSR est significative avec un HR à 0.67 (IC95 0.46-0.99) (58). La méta-analyse du groupe ACCENT confirme que les patients avec des tumeurs dMMR/MSI traitées par chirurgie seule ont un avantage en SSR et en SG. Cet avantage est plus important pour les tumeurs de stades II que celles de stade III (59). Les résultats de la méta-analyse sont présentés dans le tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6 Résultats de la méta-analyse ACCENT

		N	Survie sans récurrence à 5 ans			Survie globale à 5 ans		
			MSI	MSS	Hazard ratio	MSI	MSS	Hazard ratio
Stade II	Chirurgie	307	89%	74%	0.27	90%	78%	0.27
					<i>P</i> =.012			<i>P</i> =.011
	5FU	1155	88%	83%	0.81	88%	87%	0.87
					<i>P</i> =.28			<i>P</i> =.47
Stade III	Chirurgie	264	60%	47%	0.59	59%	54%	0.69
					<i>P</i> =.16			<i>P</i> =.28
	5FU	2723	72%	64%	0.80	77%	71%	0.79
					<i>P</i> =.025			<i>P</i> =.097

L'avantage que confère le statut dMMR/MSI diminue donc selon l'avancée de la maladie et semble même s'inverser au stade métastatique. L'analyse poolée des 4 études de phase III CAIRO, CAIRO2, COIN et FOCUS a montré une diminution de la survie sans progression et de la survie globale chez les patients présentant une tumeur dMMR/MSI comparé aux tumeurs pMMR/MSS (HR 1.33 IC95 1.12-1.57 et HR 1.35 IC95 1.13-1.61 respectivement) (60). Toutefois, ces valeurs sont à mettre en perspective avec le statut BRAF qui est régulièrement associé au statut MSI (34% dans cette étude) et qui grève un pronostic péjoratif. Les différentes courbes de survie globale en fonction des statuts BRAF et MSI sont présentées ci-dessous dans la Figure 14.



dMMR : MMR-déficient ; pMMR : MMR-proficient ; OS : survie globale (mois)

d'après Venderbosch et collègues, Clin. Can. Res. (2014)

Figure 9 Courbes de survie globale en fonction des statuts BRAF et MSI

### b – Réponse à la chimiothérapie

Chronologiquement, l'étude de Ribic et al (40,57) a exposé qu'il n'y avait pas de gain en survie à un traitement adjuvant par 5-Fluoro-uracile (5FU) chez les patients atteints d'un CCR dMMR/MSI de stade II ou III contrairement à ceux atteints d'un CCR pMMR/MSS (HR 2.17 p=0.010 contre 0.69 p=0.002 respectivement). On retrouve cette absence d'efficacité de la chimiothérapie adjuvante par fluoropyrimidine seule dans les stades II, dans la méta-analyse du groupe ACCENT. Une méta-analyse confirme cette inefficacité dans les stades II (61). Cette chimiorésistance, s'ajoutant au bon pronostic des CCR dMMR/MSI de stade II, confirme l'absence d'indication à une chimiothérapie adjuvante par 5FU dans ce cas, exception faite des tumeurs de grande taille T4 ou comprenant des facteurs de mauvais pronostic histologique.

Dans le cadre des tumeurs de stade III, les études ont montré un impact différent de la chimiothérapie, notamment par le fait que dans ce contexte, c'est une association Oxaliplatine-5FU qui est le traitement de référence. L'étude rétrospective menée par Tougeron *et al* (62) comprenant 433 patients atteints d'un CCR MSI/dMMR de stade II (56,8%) et III (43%), montre un bénéfice sur la survie sans récurrence de cette association de chimiothérapie contre le 5FU (HR = 0.29 p=0.003), notamment dans les stades III (HR = 0.39 p=0.0014). L'étude MOSAIC (63) prouve la supériorité du FOLFOX4 sur le LV5FU2 pour les CCR de stade II et III. On compte seulement 95 cas de tumeurs MSI sur 1008 patients mais les analyses retrouvent tout de même un bénéfice sur la SSR et la SG (HR 0.48 IC95 0.207-1.16 et HR 0.41 IC95 0.16-1.07). D'autres études vont en ce sens comme les études C-07 et C-08 du NSABP (64). Il semble donc nécessaire de proposer un traitement adjuvant comprenant de l'Oxaliplatine en cas de CCR MSI de stade III pour une durée de 3 à 6 mois.

### B – Réponse à l'immunothérapie

Ces dernières années, le traitement des cancers par immunothérapie s'est largement étendu en oncologie. Différents traitements et mécanismes d'action ont prouvé leur efficacité dans la prise en charge de plusieurs types de tumeurs solides. Ces thérapies permettent d'agir sur l'interaction entre le système immunitaire et les cellules cancéreuses. En effet, via plusieurs mécanismes, les cellules cancéreuses vont échapper à la surveillance du système immunitaire.

Tout d'abord, les CCR dMMR/MSI sont particulièrement immunogènes. Les descriptions anatomopathologiques retrouvent une réaction inflammatoire forte avec des nodules lymphoïdes péri-tumoraux, réaction dite « Crohn's-like », associée à des infiltrations lymphocytaires T denses intra-tumorales (65). Il s'agit de lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) activés de type Th1. Cette particularité s'explique par la synthèse de multiples néo-antigènes aberrants due au décalage du cadre de lecture par les mutations des microsatellites (66). On constate alors un phénotype hypermutateur ; les analyses du génome des CCR dMMR/MSI ont révélé un taux supérieur à 12 mutations/Mb et un millier de mutations non-synonymes (à comparer au 50 à 100 mutations non-synonymes dans les CCR MSS) (67). La probabilité de formation de néo-peptides et donc de néo-antigènes est alors très élevée.

Paradoxalement, on constate un échappement progressif au contrôle immunitaire, avec une sélection de cellules tumorales capable de s'adapter et de bloquer la réponse immunitaire. Cette régulation négative de l'environnement tumoral est provoquée par une altération du processus de présentation antigénique

secondaire à des mutations de certains gènes impliqués dans la formation ou dans le transport du complexe peptide antigénique – complexe majeur d’histocompatibilité. Le gène codant pour la protéine bêta-2-microglobuline, particulièrement impliqué dans ce mécanisme, est fréquemment retrouvé muté dans les tumeurs colorectales dMMR/MSI (64). En outre, les cellules tumorales MSI sur-expriment des points de contrôle immunitaire provoquant un « assourdissement » de la réponse immunitaire et un arrêt de l’activité cytotoxique des lymphocytes T ; parmi les points de contrôle fréquemment surexprimés et cliniquement pertinents, on peut citer : PD-1, PD-L1, LAG-3 et IDO (68).

Actuellement, dans le cadre de la prise en charge thérapeutique des tumeurs MSI, plusieurs inhibiteurs de point de contrôle immunitaire (*immune checkpoint inhibitor*, ICKi), aux mécanismes d’action différents, sont utilisés afin de lever ce frein à la prolifération et à l’activité cytotoxique des lymphocytes T infiltrant la tumeur. On peut citer les « anti-CTLA-4 » (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) comme l’Ipilimumab. Ils agissent en inhibant la liaison entre le récepteur CTLA-4 présent sur le lymphocyte T et son ligand, la molécule B7, exprimé à la surface des cellules dendritiques présentatrices d’antigène. La liaison B7-CTLA-4 a pour effet d’inactiver le lymphocyte T. En levant cette inhibition, cela favorise donc l’activité lymphocytaire T cytotoxique. Un deuxième mécanisme important d’inhibition des lymphocytes T est celui impliquant le récepteur lymphocytaire PD-1 (*Programmed death 1*) et son ligand tumoral PD-L1 (*Programmed death ligand 1*). Le blocage de cette liaison par des ICKi, comme par exemple le Pembrolizumab, favorise la prolifération et l’infiltration tumorale des lymphocytes T cytotoxiques (69).

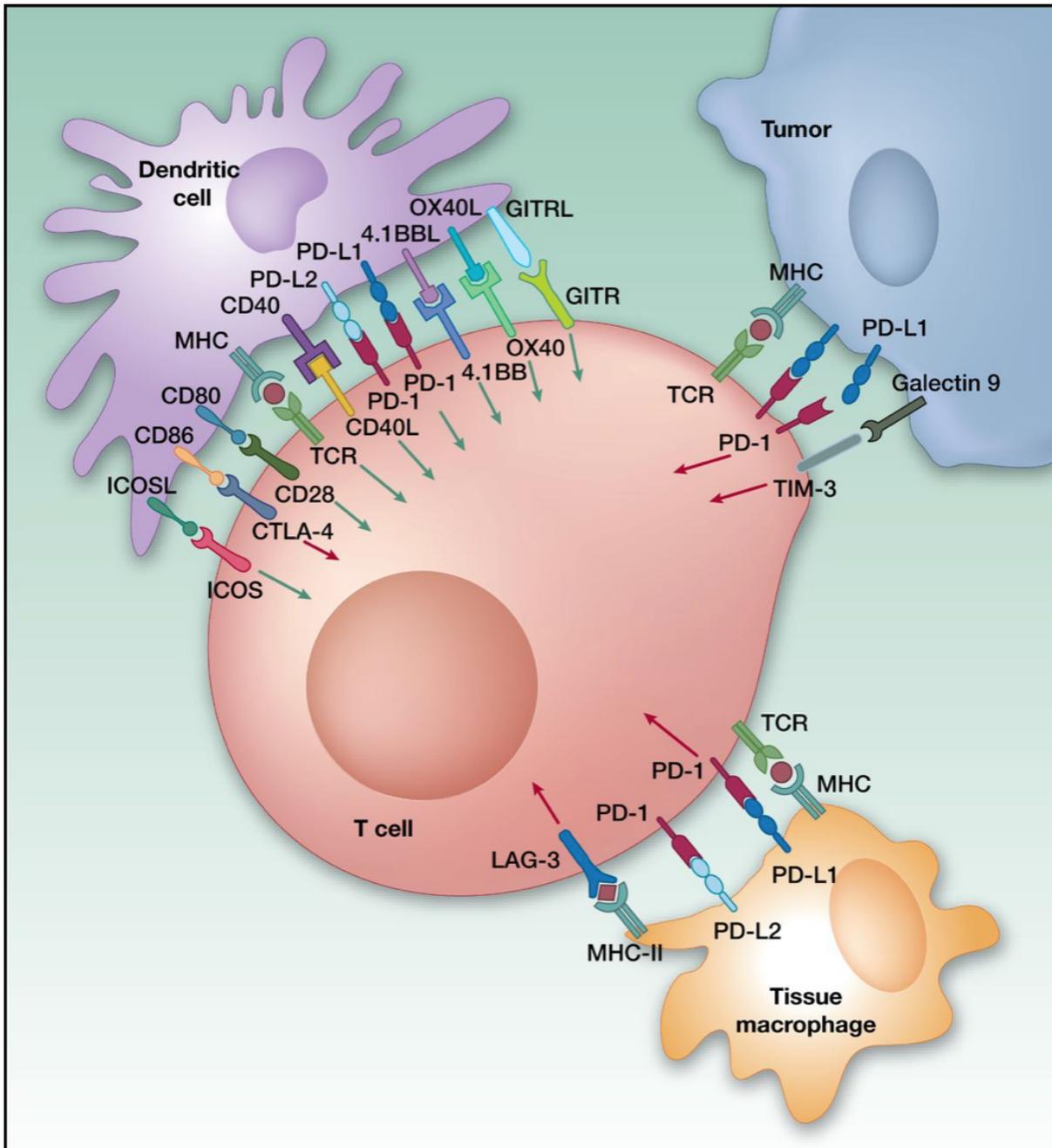


Figure 10 Présentations des différents co-stimulateurs et co-inhibiteurs des lymphocytes T dans le microenvironnement tumoral (69)

L'apport de cette approche thérapeutique dans la prise en charge des CCR dMMR/MSI est considérable. De nombreuses études avec des résultats souvent positifs ont été menées.

Parmi ces nombreux essais, on peut citer l'étude de phase II **CheckMate-142** (70) qui a évalué 3 stratégies de traitement : l'association Nivolumab-Ipilimumab chez les patients ayant reçu au moins une ligne de chimiothérapie palliative, Nivolumab-Ipilimumab chez les patients n'ayant pas encore reçu de traitement

au stade métastatique et Nivolumab seul chez les patients ayant reçu au moins une ligne de chimiothérapie palliative. Pour les bras comprenant l'association d'ICKi, on retrouve un taux de survie globale à 2 ans de 74% pour le bras des patients ayant reçu des lignes de chimiothérapie et 79% pour le bras sans traitement préalable. L'étude **KeyNote-177** (71) démontre l'efficacité du Pembrolizumab par rapport à une chimiothérapie de type FOLFOX6m ou FOLFIRI, avec ou sans Bevacizumab ou Cetuximab, en traitement de première ligne métastatique. Cette étude a démontré une amélioration significative de la SSP, la médiane était de 16.5 mois pour l'immunothérapie contre 8.2 mois pour la chimiothérapie. Cette supériorité est retrouvée dans tous les sous-groupes. Le Pembrolizumab a par la suite été approuvé dans cette indication par l'agence européenne des médicaments. Enfin, nous pouvons citer l'étude de phase II **PRODIGE 54-SAMCO** (72) encore en cours qui compare l'efficacité de l'Avelumab (anti-PD-L1) à la chimiothérapie standard en 2<sup>ème</sup> ligne de traitement.

Même si les résultats des différentes études sur l'immunothérapie dans les CCR dMMR/MSI sont très significatifs, il existe des mécanismes de résistances primaires ou acquises à ces traitements. Ces résistances peuvent dépendre de plusieurs voies, de la surexpression d'autres ICK que ceux ciblés par le traitement, de mutations intrinsèques à la tumeur avec une perte d'expression de néo-antigène, de la sécrétion de cytokines inhibitrices. De nombreuses études sont en cours afin de trouver des moyens pour lever ces mécanismes de résistances qui restent encore à explorer.

## 8 – Les seconds cancers

L'incidence des cancers augmente chaque année de même que la durée de survie des patients. La population ayant un antécédent de cancer est donc de plus en plus importante.

En 2013, l'INCa a publié une étude avec le réseau Francim sur les seconds cancers primitifs (SCP) chez l'adulte (73), évaluant les risques et recherchant les facteurs de risque en fonction du type de primitif initial. Les études portées sur ce risque montrent, pour la plupart, un risque supérieur à 1, toutes localisations confondues, comme présenté dans le tableau 7.

Tableau 7 Synthèse des études ayant évalué le risque moyen de seconds cancers primitifs toutes localisations confondues

Références	Source des données	SIR de SCP	N°ref.
Storm <i>et al.</i> 1986	Registre du Danemark	1,24	(10)
Boice <i>et al.</i> 1986	Registre du Connecticut (États-Unis)	1,31 (IC : 1,29-1,33)	(5)
Coleman <i>et al.</i> 1986	Registre d'Angleterre et du Pays de Galles	0,77 (hommes) 0,80 (femmes)	(6)
Levi <i>et al.</i> 1993	Registre du Canton de Vaud (Suisse)	1,2 (p < 0,001)	(7)
Sankila <i>et al.</i> 1995	Registre de la Finlande	1,1 (hommes) 1,25 (femmes)	(9)
Buiatti <i>et al.</i> 1997	3 registres italiens	0,87 (p < 0,001)*	(11)
Crocetti <i>et al.</i> 2001	11 registres italiens	0,93 (IC : 0,90-0,96)	(12)
Dong <i>et al.</i> 2001	Registre national suédois	1,3 (IC : 1,2 - 1,3) (hommes) 1,6 (IC : 1,5 - 1,6) (femmes)	(8)
Curtis <i>et al.</i> 2006	Programme SEER (USA)	1,14 (IC : 1,14-1,15)	(1)
Youlden <i>et al.</i> 2011	Registre de Queensland (Australie)	1,22 (IC : 1,20-1,24) (femmes) 1,36 (IC : 1,33-1,39) (hommes)	(14)
Tabuchi <i>et al.</i> 2012	Registre d'Osaka (Japon)	1,21 (IC : 1,19-1,23)	(15)

\*analyse limitée aux cancers du sein, côlon, rectum, poumon, estomac

a – Risque de second cancer après une premier cancer colorectal

L'étude de l'INCa publiée en 2013 (73) décrit un sur-risque faible de SCP par rapport à la population générale après un premier CCR. Le *standard incidence ratio* est évalué entre 1,07 à 1,20 selon les études. Les facteurs de risque de SCP identifiés sont la survenue du CCR initial avant 60 ans (risque multiplié par 20 si le diagnostic est fait avant 40 ans), la prédisposition génétique (SL, syndrome de Peutz-Jeghers ou la polypose adénomateuse familiale) et le traitement par radiothérapie. Les localisations préférentielles sont l'appareil digestif (colon-rectum, intestin grêle et estomac), l'uretère, l'oropharynx et l'endomètre.

Ces analyses sont critiquables sur la présence d'un biais majeur qui est la non-distinction des cancers d'origine héréditaire pour évaluer et comparer le sur-risque de second cancer, favorisant bien évidemment la survenue d'un CCR à un âge jeune et d'un SCP du spectre du SL.

Une étude chinoise publiée en 2020 (74), menée sur une base de données américaine (*Surveillance, Epidemiology, and End Results database* (SEER)), ayant pour objectif de décrire des patients avec un SCP après un premier CCR, de les comparer à une population de patients avec un CCR qui n'ont pas eu de second cancer afin d'identifier des facteurs de risque de développer un SCP. Les auteurs décrivent qu'un patient sur 10 ayant survécu à un premier CCR développe un nouveau cancer dans les 18 ans qui suivent et qu'il y a un taux de mortalité élevé après le diagnostic de second cancer. Les SCP les plus fréquents dans cette cohorte sont les cancers pulmonaires (16%), les cancers prostatiques chez l'homme (15%) et les cancers mammaires chez la femme (9%). Les patients avec des SCP sont des patients dont le diagnostic du

CRC initial était localisé au colon plutôt qu'au rectum, à un âge supérieur à 65 ans, avec une maladie localisée, bien différenciée et initialement traitée par chirurgie.

On retrouve comme facteur favorisant la survenue de SCP, les tumeurs localisées de bon pronostic. En effet, dans le cas inverse les patients décèdent plus rapidement limitant le temps d'intervalle libre. Les localisations préférentielles sont les cancers fréquents dans la population générale (poumon, prostate et sein), avec un risque qui augmente classiquement avec l'âge, expliquant pourquoi l'âge supérieur à 65ans est un facteur favorisant. Toutefois, l'étude montre un taux élevé (10%) de patients avec un SCP.

Un autre article chinois publié en 2018 s'appuyant sur la même base de données américaine SEER (75) cherche à décrire l'impact des caractéristiques d'un premier CCR sur la survenue d'un second CCR. Les résultats montrent que le risque de développer un second CCR est significativement plus élevé par rapport à la population générale pendant les 8 années qui suivent le diagnostic du premier CCR avec un Standard incidence ratio à 1,73 et avec un excès de risque sur la cohorte de 15,38 pour 100 000, ce risque ne dépendant pas de la localisation du premier CCR.

Les caractéristiques décrites augmentant le risque de second CCR sont : cancer du côlon gauche, bien différencié, opéré, âge au diagnostic supérieur à 60 ans, ethnie noire, patient masculin. Autrement dit, le risque de second CCR se retrouven avec un CCR initial dont la localisation la plus fréquente, avec un risque faible de métastase traité chirurgicalement, chez des patients plus âgés dont, de fait, la fréquence des cancers augmente avec l'âge. L'ethnie noire est expliquée dans l'article par une augmentation du risque de rupture du suivi chez des patients de catégorie socio-économique souvent plus faible.

#### b – Risque de second cancer colorectal après un premier cancer colorectal MSI

La grande majorité des études sur le sujet ont portés sur les patients atteints du syndrome de Lynch.

D'abord, dans le cadre du SL, le risque de cancer, notamment colorectal, dépend de plusieurs facteurs dont le sexe, l'âge mais aussi du gène muté du système MMR. Par exemple, l'âge au diagnostic d'un premier CCR chez les patients porteurs d'une mutation du gène *MSH6* est supérieur de 10 ans par rapport aux patients porteurs d'une mutation du gène *MLH1* selon l'étude de Plaschke *et al.* (76).

Les patients suivis pour un SL nécessitent une surveillance endoscopique renforcée, il a été décrit que malgré cette surveillance, on retrouve une grande incidence des cancers d'intervalle, c'est-à-dire entre les endoscopies digestives, en effet, 10% à 45% des patients développent des CCR d'intervalle (77, 78).

De plus, il a été déterminé un taux d'incidence cumulative de cancer variant de 52% à 73% selon le gène MMR muté après un premier cancer, sur une cohorte de 1273 patients avec un SL provenant de 10 pays européens. Parmi ces patients, 1161 présentaient un antécédent de CCR. Le taux d'incidence cumulative de nouveau cancer à localisation colorectale variait de 23% à 48% (79).

Ensuite, on peut citer l'étude de 2017 de Anele *et al.* (80) étudiant le risque de cancer métachrone après une colectomie segmentaire ou élargie, retrouvant après un suivi de 91.2 mois 22,8% et 6% de nouveaux cancers, respectivement dans les groupes colectomie segmentaire et élargie.

Après une colectomie segmentaire, le risque cumulé de CCR métachrone était de 8,4 % après 5 ans et de 20,4 % après 10 ans d'après l'étude coréenne de Kim *et al.* (81). Précisons que ces deux études, publiées respectivement en 2016 et 2017, se basent sur des données pouvant aller jusqu'à 1950, il y a bien évidemment eu une amélioration des pratiques au cours du temps sur la prise en charge des patients atteints de SL.

Une étude observationnelle multicentrique (Australie, Canada, États-Unis et Nouvelle-Zélande) publiée en 2011 (82) montre que sur 332 patients MMR-mutés, initialement traités par colectomie segmentaire, 22% ont eu un diagnostic de CCR métachrone avec un suivi médian de 9 ans. Le risque cumulé de CCR métachrone était de 16% à 10 ans, 41% à 20 ans et 62% à 30 ans après une colectomie segmentaire. Toutefois il est précisé que dans de nombreux cas, il y a eu un défaut de surveillance endoscopique.

On peut aussi référencer une étude prospective française (83), publiée en 2018. Cette dernière a inclus 121 patients atteints de syndrome de Lynch, dont 48% présentaient un premier CCR classé pT3 et la majorité pN0 (64,4%), 1 patient présentait une maladie métastatique et 7 avaient plus d'une tumeur au diagnostic. Trente-neuf patients, soit 32,2%, ont développé au moins un autre cancer après le diagnostic du CCR initial, avec une médiane de suivi à 52,9 mois, une médiane d'intervalle de diagnostic de 67 mois et un âge médian au diagnostic du second cancer de 52 ans. Parmi ces seconds cancers, la majorité sont des cancers colorectaux (71,8%), mais on retrouve d'autres localisations du spectre de Lynch et aussi des cancers fréquents dans la population générale, à savoir : 71,8% de tumeurs colorectales métachrones, 15,4% de tumeurs de l'endomètre, 15,4% de tumeurs du tractus urinaire mais aussi 10,6% de tumeurs mammaires et 7,7% de tumeurs cutanées. D'autre part, dans cette étude, la présence d'une mutation du gène *MSH2*

est significativement ( $p = 0.001$ ) associé à une fréquence plus élevée de second cancer. L'incidence de second retrouvée est de 12,9% à 5 ans et 18,3% à 10 ans.

En 2012, une publication explore le risque de SCP extra-colique après un premier CCR chez les patients atteints de syndrome de Lynch. Les résultats montrent un risque cumulé sur 10 ans de 1,9% de tumeur du rein, 1,6% de cancer de la vessie, 0,66% de cancer de l'estomac, 0,92% de cancer de l'intestin grêle. Pour les hommes, 2,74% de cancer de la prostate et, pour les femmes, 12,12% et 1,94% de cancer de l'endomètre et de cancer du sein respectivement (84).

Au vu de ce sur-risque, des études de prévention primaire et secondaire médicamenteuses ont été montées, l'aspirine notamment semble être efficace dans la prévention de la survenue du risque de cancer colorectal chez les patients atteints d'un SL (85).

Enfin, récemment, en 2021, un abstract d'une équipe australienne présenté à l'ASCO 2021 (86) a porté sur l'analyse rétrospective d'une base de données des hôpitaux de Melbourne. Les objectifs étaient de comparer l'incidence et le délai d'apparition de seconds cancers colorectaux chez des patients traités pour un premier cancer colorectal dMMR sporadique par rapport à des patients traités pour un premier CCR pMMR. Les premiers cancers dMMR étaient considérés comme sporadiques si l'on retrouvait une mutation *BRAF* V600E, une hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*, une analyse germinale négative ou un âge > 60 ans. Toutefois, cette définition reste imparfaite, en cause notamment, car il existe de rares cas de tumeur *BRAF* mutée chez les patients atteints de syndrome de Lynch mais surtout car l'absence de mutation germinale retrouvée ne doit pas exclure une origine génétique.

Les données ont été relevées sur 15 ans, incluant 7442 patients avec un CCR de stade non métastatique (I à III) ; parmi eux, 714 patients présentaient un CCR dMMR (17,4%) dont 575 (14,6%) un CCR dMMR sporadiques. Un second CCR a été diagnostiqué chez 11 des 575 patients CCR dMMR sporadique, soit 1,91% (contre 0,83% chez les patients présentant un CCR pMMR), avec un délai médian de 1,13 ans (contre 2,38 ans). Le second CRC était dMMR dans 72,7% des cas chez les patients sporadiques (contre 25,9% chez les patients présentant une tumeur pMMR initiale). Il n'y avait pas de différence de stade au diagnostic du second CCR entre les groupes dMMR et pMMR.

Ces résultats semblent surprenants ; en effet, au vu de la délai médian d'apparition très court et du nombre important de tumeurs secondaires dMMR, il est probable que, parmi les patients classés comme sporadiques l'on retrouve des tumeurs en lien avec un syndrome de Lynch non identifié. L'autre hypothèse est que les patients avec un CCR dMMR/MSI sporadique par hyperméthylation du promoteur de *MLH1*

soient plus à risque de faire un second CCR dMMR/MSI également par hyperméthylation de *MLH1*. Cette hypothèse très intéressante mériterait d'être étudiée. Dans cette étude, il n'y avait hélas pas d'analyse des autres cancers hors CCR.

A ce jour, aucune étude sur la comparaison du risque de second cancer entre les patients atteints d'une tumeur du colon dMMR/MSI d'origine sporadique et les patients dont le cancer est lié à un syndrome de Lynch n'a été rapportée ou publiée.

Notre travail a consisté en l'exploitation des données d'une cohorte de patients provenant de l'ancienne région Poitou-Charentes atteints de cancer colorectal dMMR/MSI. Il repose sur l'hypothèse que, même en l'absence d'un syndrome de Lynch, les patients avec un CCR dMMR/MSI sporadique sont peut-être plus à risque de faire un autre cancer également par inactivation également du système MMR. Dans notre étude, nous nous sommes attachés à déterminer la fréquence des seconds cancers et à les décrire ces derniers, l'objectif étant d'ajouter une donnée quantitative à la connaissance du risque de second cancer en fonction du statut syndrome de Lynch versus origine sporadique.

## Bibliographie

1. Hill C, Doyon F, Mousannif A, Institut de veille sanitaire (France). Évolution de la mortalité par cancer en France de 1950 à 2006. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2009. ISBN : 978-2-11-098486-9.
2. Anne Cowppli-Bony, Zoé Uhry, Laurent Remontet, Anne-Valérie Guizard, Nicolas Voirin, Alain Monnereau, Anne-Marie Bouvier, Marc Colonna, Nadine Bossard, Anne-Sophie Woronoff, Pascale Grosclaude *Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine, 1989-2013. Partie 1 – Tumeurs solides* Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire ; 2016. 274 p. ISBN : 979-10-289-0207-0.
3. Robert J. Polymorphismes génétiques [Gene polymorphisms]. Bull Cancer. 2010 Nov;97(11):1253-64. French. doi: 10.1684/bdc.2010.1203. PMID: 21115419.
4. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, Salipante SJ. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. Nat Med 2016 ; 22 : 1342-50
5. Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 – Tumeurs solides. Saint-Maurice (Fra) : Santé publique France, 2019. 372 p. ISBN : 979-10-289-0555-2.
6. Launoy G, Cariou M, Bouvier A-M, Bouvier V, Lecoffre C, Lafay L et al. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 – Côlon et rectum. Boulogne-Billancourt : Institut national du cancer, septembre 2020, 12 p. ISBN : 978-2-37219-566-9.
7. Ayoub Bensakhria. Structure et organisation de l'ADN, magazinescience.com.
8. Ghannam JY, Wang J, Jan A. Biochemistry, DNA Structure. 2021 Jul 22. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 30855829.
9. Chaudhry R, Khaddour K. Biochemistry, DNA Replication. 2021 May 9. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 29489296.
10. Pourquier P, Robert J. Présentation générale des mécanismes de réparation de l'ADN [General overview on DNA repair]. Bull Cancer. 2011 Mar;98(3):229-37. French. doi: 10.1684/bdc.2011.1323. PMID: 21414892.
11. Jeong YH, Kim MC, Ahn EK, Seol SY, Do EJ, Choi HJ, Chu IS, Kim WJ, Kim WJ, Sunwoo Y, Leem SH. Rare exonic minisatellite alleles in MUC2 influence susceptibility to gastric carcinoma. PLoS One. 2007 Nov 14;2(11):e1163. doi: 10.1371/journal.pone.0001163. PMID: 18000536; PMCID: PMC2065792.
12. Seol SY, Yang GE, Cho Y, Kim MC, Choi HJ, Choi YH, Leem SH. Rare minisatellite alleles of MUC2-MS8 influence susceptibility to rectal carcinoma. Genes Genomics. 2021 Aug 26. doi: 10.1007/s13258-021-01158-0. Epub ahead of print. PMID: 34436741.
13. Balaresque P. Les microsatellites des génomes eucaryotes : de leur cycle de vie et de leur neutralité [Microsatellites or the eukaryotic genome: life cycle concept and neutrality issues]. Med Sci (Paris). 2007 Aug-Sep;23(8-9):729-34. French. doi: 10.1051/medsci/20072389729. PMID: 17875291.
14. Levinson G, Gutman GA. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. Mol Biol Evol. 1987 May;4(3):203-21. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040442. PMID: 3328815.
15. Sarasin, Alain. (2013). Les gènes humains de la réparation de l'ADN. médecine/sciences. 10. 43. doi : 10.4267/10608/2479.
16. Reha-Krantz LJ. DNA polymerase proofreading: Multiple roles maintain genome stability. Biochim Biophys Acta. 2010 May;1804(5):1049-63. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.06.012. Epub 2009 Jun 21. PMID: 19545649

17. Fishel R. Mismatch repair. *J Biol Chem.* 2015 Oct 30;290(44):26395-403. doi: 10.1074/jbc.R115.660142. Epub 2015 Sep 9. PMID: 26354434; PMCID: PMC4646297.
18. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res.* 2008 Jan;18(1):85-98. doi: 10.1038/cr.2007.115. PMID: 18157157.
19. Tamura K, Kaneda M, Futagawa M, Takeshita M, Kim S, Nakama M, Kawashita N, Tatsumi-Miyajima J. Genetic and genomic basis of the mismatch repair system involved in Lynch syndrome. *Int J Clin Oncol.* 2019 Sep;24(9):999-1011. doi: 10.1007/s10147-019-01494-y. Epub 2019 Jul 4. Erratum in: *Int J Clin Oncol.* 2019 Jul 31;: PMID: 31273487.
20. Lynch HT, Riegert-Johnson DL, Snyder C, Lynch JF, Hagenkord J, Boland CR, Rhees J, Thibodeau SN, Boardman LA, Davies J, Kuiper RP, Hoogerbrugge N, Ligtenberg MJ. Lynch syndrome-associated extracolonic tumors are rare in two extended families with the same EPCAM deletion. *Am J Gastroenterol.* 2011 Oct;106(10):1829-36. doi: 10.1038/ajg.2011.203. Epub 2011 Jul 19. PMID: 21769135; PMCID: PMC3805505.
21. Carethers JM. Microsatellite Instability Pathway and EMAST in Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep.* 2017 Feb;13(1):73-80. doi: 10.1007/s11888-017-0352-y. Epub 2017 Feb 2. PMID: 28367107; PMCID: PMC5373103.
22. Collura A, Lefevre JH, Svrcek M, Tougeron D, Zaanani A, Duval A. Instabilité des microsatellites et cancer - De l'instabilité du génome à la médecine personnalisée [Microsatellite instability and cancer: from genomic instability to personalized medicine]. *Med Sci (Paris).* 2019 Jun-Jul;35(6-7):535-543. French. doi: 10.1051/medsci/2019093. Epub 2019 Jul 5. PMID: 31274083.
23. Mongiat-Artus P, Miquel C, Van der Aa M, Buhard O, Hamelin R, Soliman H, Bangma C, Janin A, Teillac P, van der Kwast T, Praz F. Microsatellite instability and mutation analysis of candidate genes in urothelial cell carcinomas of upper urinary tract. *Oncogene.* 2006 Mar 30;25(14):2113-8. doi: 10.1038/sj.onc.1209229. PMID: 16288216.
24. López-Reig R, Fernández-Serra A, Romero I, Zorrero C, Illueca C, García-Casado Z, Poveda A, López-Guerrero JA. Prognostic classification of endometrial cancer using a molecular approach based on a twelve-gene NGS panel. *Sci Rep.* 2019 Dec 2;9(1):18093. doi: 10.1038/s41598-019-54624-x. PMID: 31792358; PMCID: PMC6889294.
25. Yamamoto H, Imai K. Microsatellite instability: an update. *Arch Toxicol.* 2015 Jun;89(6):899-921. doi: 10.1007/s00204-015-1474-0. Epub 2015 Feb 22. PMID: 25701956.
26. Evrard C, Tachon G, Tougeron D. Carcinogénèse colorectale, données fondamentales. *EMC - Gastro-entérologie* 2020;0(0):1-19 [Article 9-000-E-20].
27. Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, Heinen CD, Hitchins MP. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer.* 2015 Mar;15(3):181-94. doi: 10.1038/nrc3878. Epub 2015 Feb 12. PMID: 25673086.
28. Lynch, H. T., Shaw, M. W., Magnuson, C. W., Larsen, A. L. & Krush, A. J. Hereditary factors in cancer: study of two large Midwestern kindreds. *Arch. Intern. Med.* 117, 206–212 (1966).
29. Lynch, H. T. & Krush, A. J. Cancer family "G" revisited: 1895–1970. *Cancer* 27, 1505–1511 (1971).
30. Boland, C. R. & Troncale, F. J. Familial colonic cancer without antecedent polyposis. *Ann. Intern. Med.* 100, 700–701 (1984).
31. Tempero, M. A., Jacobs, M. M., Lynch, H. T., Graham, C. L. & Blotcky, A. J. Serum and hair selenium levels in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Biol. Trace Element Res.* 6, 51–55 (1984).
32. Kalady, M. F., Kravochuck, S., LaGuardia, L., O'Malley, M. & Church, J. M. Adenomas in Lynch syndrome: don't be fooled by the "non" in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Fam Cancer* 12(Suppl. 2), 53 (2013).
33. Pellat A, Netter J, Perkins G, Cohen R, Coulet F, Parc Y, Svrcek M, Duval A, André T. Syndrome de Lynch : quoi de neuf ? [Lynch syndrome: What is new?]. *Bull Cancer.* 2019 Jul-Aug;106(7-8):647-655. French. doi: 10.1016/j.bulcan.2018.10.009. Epub 2018 Dec 4. PMID: 30527816.

34. Bhaijee F, Brown AS. Muir-Torre syndrome. *Arch Pathol Lab Med*. 2014 Dec;138(12):1685-9. doi: 10.5858/arpa.2013-0301-RS. PMID: 25427047.
35. Gay JT, Troxell T, Gross GP. Muir-Torre Syndrome. 2021 Jul 6. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 30020643.
36. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, Krush AJ, Berk T, Cohen Z, Tetu B, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med*. 1995 Mar 30;332(13):839-47. doi: 10.1056/NEJM199503303321302. PMID: 7661930.
37. Buecher B, Le Mentec M, Doz F, Bourdeaut F, Gauthier-Villars M, Stoppa-Lyonnet D, Colas C. Syndrome CMMRD (déficience constitutionnelle des gènes MMR) : bases génétiques et aspects cliniques [Constitutional MMR deficiency: Genetic bases and clinical implications]. *Bull Cancer*. 2019 Feb;106(2):162-172. French. doi: 10.1016/j.bulcan.2018.10.008. Epub 2018 Dec 11. PMID: 30551794.
38. Carethers JM, Stoffel EM. Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer. *World J Gastroenterol*. 2015 Aug 21;21(31):9253-61. doi: 10.3748/wjg.v21.i31.9253. PMID: 26309352; PMCID: PMC4541378.
39. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2005 Jan 20;23(3):609-18. doi: 10.1200/JCO.2005.01.086. PMID: 15659508.
40. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al: Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 349:247-257, 2003.
41. Hutchins G, Southward K, Handley K, et al: Value of Mismatch Repair, KRAS, and BRAF Mutations in Predicting Recurrence and Benefits From Chemotherapy in Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 29:1261–1270, 2011.
42. Bats AS, Rossi L, Le Frere-Belda MA, Narjoz C, Cournou C, Gosset M, Ngo C, Delomenie M, Nos C, Blons H, Laurent-Puig P, Lecuru F. Syndrome de Lynch et cancer de l'endomètre [Lynch syndrome and endometrial cancer]. *Bull Cancer*. 2017 Dec;104(12):1013-1021. French. doi: 10.1016/j.bulcan.2017.06.018. Epub 2017 Oct 21. PMID: 29061399.
43. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, Di Giacomo AM, De Jesus-Acosta A, Delord JP, Geva R, Gottfried M, Penel N, Hansen AR, Piha-Paul SA, Doi T, Gao B, Chung HC, Lopez-Martin J, Bang YJ, Frommer RS, Shah M, Ghorri R, Joe AK, Pruitt SK, Diaz LA Jr. 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*. 2020 Jan 1;38(1):1-10. doi: 10.1200/JCO.19.02105. Epub 2019 Nov 4. PMID: 31682550; PMCID: PMC8184060.
44. Willvonseder B, Stögbauer F, Steiger K, Jesinghaus M, Kuhn PH, Brambs C, Engel J, Bronger H, Schmidt GP, Haller B, Weichert W, Keller G, Noske A, Pfarr N, Boxberg M. The immunologic tumor microenvironment in endometrioid endometrial cancer in the morphomolecular context: mutual correlations and prognostic impact depending on molecular alterations. *Cancer Immunol Immunother*. 2021 Jun;70(6):1679-1689. doi: 10.1007/s00262-020-02813-3. Epub 2020 Dec 19. PMID: 33340331; PMCID: PMC8139910.
45. Lindner AK, Schachtner G, Tulchiner G, Thurnher M, Untergasser G, Obrist P, Pipp I, Steinkohl F, Horninger W, Culig Z, Pichler R. Lynch Syndrome: Its Impact on Urothelial Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 7;22(2):531. doi: 10.3390/ijms22020531. PMID: 33430305; PMCID: PMC7825811.
46. Sinicrope FA. Lynch Syndrome-Associated Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Aug 23;379(8):764-773. doi: 10.1056/NEJMcp1714533. PMID: 30134129.
47. 47. © 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.
48. 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. doi: 10.1097/pas.0b013e31816401bb. PMID: 18677806.
49. Chao X, Li L, Wu M, Ma S, Tan X, Zhong S, Bi Y, Lang J. Comparison of screening strategies for Lynch syndrome in patients with newly diagnosed endometrial cancer: a prospective cohort study in China. *Cancer Commun (Lond)*. 2019 Jul 15;39(1):42. doi: 10.1186/s40880-019-0388-2. PMID: 31307542; PMCID: PMC6628486.
  50. 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, Peltomaki 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. doi: 10.1093/jnci/djh034. PMID: 14970275; PMCID: PMC2933058.
  51. 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. doi: 10.1053/gast.2002.37070. PMID: 12454837.
  52. 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, Garcia 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. doi: 10.1093/jnci/djk033. PMID: 17284719.
  53. 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. doi: 10.1093/carcin/bgi333. Epub 2006 Feb 20. PMID: 16490738.
  54. Bibeau F, Léger A, Bazille C, Selves J. Les cancers colorectaux héréditaires vus par le pathologiste. *Ann Pathol*. 2020 Apr;40(2):105-113. French. doi: 10.1016/j.annpat.2020.02.017. Epub 2020 Apr 2. PMID: 32249104.
  55. Sari A, Pollett A, Eiriksson LR, Lumsden-Johanson B, Van de Laar E, Kazerouni H, Salehi A, Sur M, Lytwyn A, Ferguson SE. Interobserver Agreement for Mismatch Repair Protein Immunohistochemistry in Endometrial and Nonserous, Nonmucinous Ovarian Carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2019 May;43(5):591-600. doi: 10.1097/PAS.0000000000001220. PMID: 30864976.
  56. Chan TA, Yarchoan M, Jaffee E, Swanton C, Quezada SA, Stenzinger A, Peters S. Development of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: utility for the oncology clinic. *Ann Oncol*. 2019 Jan 1;30(1):44-56. doi: 10.1093/annonc/mdy495. PMID: 30395155; PMCID: PMC6336005.
  57. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, French AJ, Kabat B, Foster NR, Torri V, Ribic C, Grothey A, Moore M, Zaniboni A, Seitz JF, Sinicrope F, Gallinger S. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Jul 10;28(20):3219-26. doi: 10.1200/JCO.2009.27.1825. Epub 2010 May 24. Erratum in: *J Clin Oncol*. 2010 Oct 20;28(30):4664. PMID: 20498393; PMCID: PMC2903323.
  58. Klingbiel D, Saridaki Z, Roth AD, Bosman FT, Delorenzi M, Tejpar S. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil or FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann Oncol*. 2015 Jan;26(1):126-132. doi: 10.1093/annonc/mdy499. Epub 2014 Oct 30. PMID: 25361982.
  59. Prognostic impact of deficient mismatch repair (dMMR) in 7,803 stage II/III colon cancer (CC) patients (pts): A pooled individual pt data analysis of 17 adjuvant trials in the ACCENT database. Daniel J. Sargent, Qian Shi, Greg Yothers, Sabine Tejpar, Monica M. Bertagnolli, Stephen N.

- Thibodeau, Thierry Andre, Roberto Labianca, Steven Gallinger, Stanley R. Hamilton, Genevieve Monges, Katherine L. Pogue-Geile, Soonmyung Paik, Dirk Klingbiel, Arnaud Roth, Emily S Pavey, George P. Kim, Frank A. Sinicrope, and ACCENT Collaborative Group *Journal of Clinical Oncology* 2014 32:15\_suppl, 3507-3507.
60. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, Kaplan R, Quirke P, Seymour MT, Richman SD, Meijer GA, Ylstra B, Heideman DA, de Haan AF, Punt CJ, Koopman M. 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.* 2014 Oct 15;20(20):5322-30. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0332. Epub 2014 Aug 19. PMID: 25139339; PMCID: PMC4201568.
  61. Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, et al. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009;45: 1890-6 / 7. Tougeron D, Sickersen G, Lecomte T, 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 :5s (suppl abstr 3508).
  62. Tougeron D, Mouillet G, Trouilloud I, Lecomte T, Coriat R, Aparicio T, Des Guetz G, Lécaille C, Artru P, Sickersen G, Cauchin E, Sefrioui D, Boussaha T, Ferru A, Matysiak-Budnik T, Silvain C, Karayan-Tapon L, Pagès JC, Vernerey D, Bonnetain F, Michel P, Taïeb J, Zaanani A. Efficacy of Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer With Microsatellite Instability: A Large Multicenter AGEO Study. *J Natl Cancer Inst.* 2016 Feb 1;108(7). doi: 10.1093/jnci/djv438. PMID: 26839356.
  63. André T, Boni C, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, Bonetti A, Clingan P, Bridgewater J, Rivera F, de Gramont A. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol.* 2009 Jul 1;27(19):3109-16. doi: 10.1200/JCO.2008.20.6771. Epub 2009 May 18. PMID: 19451431.
  64. Gavin PG, Colangelo LH, Fumagalli D, Tanaka N, Remillard MY, Yothers G, Kim C, Taniyama Y, Kim SI, Choi HJ, Blackmon NL, Lipchik C, Petrelli NJ, O'Connell MJ, Wolmark N, Paik S, Pogue-Geile KL. Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: an assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value. *Clin Cancer Res.* 2012 Dec 1;18(23):6531-41. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0605. Epub 2012 Oct 8. PMID: 23045248; PMCID: PMC4273673.
  65. Kloor M, Michel S, von Knebel Doeberitz M. Immune evasion of microsatellite unstable colorectal cancers. *Int J Cancer.* 2010 Sep 1;127(5):1001-10. doi: 10.1002/ijc.25283. PMID: 20198617.
  66. Germano G, Lamba S, Rospo G, Barault L, Magrì A, Maione F, Russo M, Crisafulli G, Bartolini A, Lerda G, Siravegna G, Mussolin B, Frapolli R, Montone M, Morano F, de Braud F, Amirouchene-Angelozzi N, Marsoni S, D'Incalci M, Orlandi A, Giraudo E, Sartore-Bianchi A, Siena S, Pietrantonio F, Di Nicolantonio F, Bardelli A. Inactivation of DNA repair triggers neoantigen generation and impairs tumour growth. *Nature.* 2017 Dec 7;552(7683):116-120. doi: 10.1038/nature24673. Epub 2017 Nov 29. PMID: 29186113.
  67. Timmermann B, Kerick M, Roehr C, Fischer A, Isau M, Boerno ST, Wunderlich A, Barmeyer C, Seemann P, Koenig J, Lappe M, Kuss AW, Garshasbi M, Bertram L, Trappe K, Werber M, Herrmann BG, Zatloukal K, Lehrach H, Schweiger MR. Somatic mutation profiles of MSI and MSS colorectal cancer identified by whole exome next generation sequencing and bioinformatics analysis. *PLoS One.* 2010 Dec 22;5(12):e15661. doi: 10.1371/journal.pone.0015661. PMID: 21203531; PMCID: PMC3008745.
  68. Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM, Blosser RL, Fan H, Wang H, Lubber BS, Zhang M, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Sears CL, Anders RA, Pardoll DM, Housseau F. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is

- balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. *Cancer Discov.* 2015 Jan;5(1):43-51. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0863. Epub 2014 Oct 30. PMID: 25358689; PMCID: PMC4293246.
69. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science.* 2018 Mar 23;359(6382):1350-1355. doi: 10.1126/science.aar4060. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29567705; PMCID: PMC7391259.
70. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz HJ, Morse MA, Desai J, Hill A, Axelson M, Moss RA, Goldberg MV, Cao ZA, Ledezne JM, Maglinte GA, Kopetz S, André T. 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.* 2017 Sep;18(9):1182-1191. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30422-9. Epub 2017 Jul 19. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2017 Sep;18(9):e510. PMID: 28734759; PMCID: PMC6207072.
71. André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, Smith D, Garcia-Carbonero R, Benavides M, Gibbs P, de la Fouchardiere C, Rivera F, Elez E, Bendell J, Le DT, Yoshino T, Van Cutsem E, Yang P, Farooqui MZH, Marinello P, Diaz LA Jr; KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med.* 2020 Dec 3;383(23):2207-2218. doi: 10.1056/NEJMoa2017699. PMID: 33264544.
72. Taïeb J, André T, El Hajbi F, Barbier E, Toullec C, Kim S, Bouche O, Di Fiore F, Chauvenet M, Perrier H, Evesque L, Laurent-Puig P, Emile JF, Bez J, Lepage C, Tougeron D. Avelumab versus standard second line treatment chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients with microsatellite instability: The SAMCO-PRODIGE 54 randomised phase II trial. *Dig Liver Dis.* 2021 Mar;53(3):318-323. doi: 10.1016/j.dld.2020.11.031. Epub 2020 Dec 25. PMID: 33359404.
73. © Identifier et prévenir les risques de second cancer primitif chez l'adulte, collection état des lieux et des connaissances ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, décembre 2013.
74. Jia H, Li Q, Yuan J, Sun X, Wu Z. Second Primary Malignancies in Patients with Colorectal Cancer: A Population-Based Analysis. *Oncologist.* 2020 Apr;25(4):e644-e650. doi: 10.1634/theoncologist.2019-0266. Epub 2020 Jan 14. PMID: 31943509; PMCID: PMC7160402.
75. Yang L, Xiong Z, Xie QK, He W, Liu S, Kong P, Jiang C, Xia X, Xia L. Second primary colorectal cancer after the initial primary colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2018 Sep 27;18(1):931. doi: 10.1186/s12885-018-4823-6. PMID: 30261873; PMCID: PMC6161401.
76. Plaschke J, Engel C, Krüger S, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Mangold E, Moeslein G, Schulmann K, Gebert J, von Knebel Doeberitz M, Rüschoff J, Loeffler M, Schackert HK. Lower incidence of colorectal cancer and later age of disease onset in 27 families with pathogenic MSH6 germline mutations compared with families with MLH1 or MSH2 mutations: the German Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Consortium. *J Clin Oncol.* 2004 Nov 15;22(22):4486-94. doi: 10.1200/JCO.2004.02.033. Epub 2004 Oct 13. PMID: 15483016.
77. Engel C., Vasen H.F., Seppälä T., Aretz S., Bigirwamungu-Bargeman M., de Boer S.Y., Bucksch K., Büttner R., Holinski-Feder E., Holzapfel S., et al. No Difference in Colorectal Cancer Incidence or Stage at Detection by Colonoscopy among 3 Countries with Different Lynch Syndrome Surveillance Policies. *Gastroenterology.* 2018;155:1400–1409.e2. doi: 10.1053/j.gastro.2018.07.030.
78. Møller P, Seppälä T, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, Lindblom A, Macrae F, Blanco I, Sijmons R, Jeffries J, Vasen H, Burn J, Nakken S, Hovig E, Rødland EA, Tharmaratnam K, de Vos Tot Nederveen Cappel WH, Hill J, Wijnen J, Green K, Lalloo F, Sunde L, Mints M, Bertario L, Pineda M, Navarro M, Morak M, Renkonen-Sinisalo L, Frayling IM, Plazzer JP, Pylvanainen K, Sampson JR, Capella G, Mecklin JP, Möslein G; Mallorca Group (<http://mallorca-group.eu>). Cancer incidence and survival in Lynch syndrome patients receiving colonoscopic and gynaecological surveillance: first report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut.*

2017 Mar;66(3):464-472. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309675. Epub 2015 Dec 9. PMID: 26657901; PMCID: PMC5534760.

79. Møller P, Seppälä T, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, Lindblom A, Macrae F, Blanco I, Sijmons R, Jeffries J, Vasen H, Burn J, Nakken S, Hovig E, Rødland EA, Tharmaratnam K, de Vos Tot Nederveen Cappel WH, Hill J, Wijnen J, Jenkins M, Green K, Lalloo F, Sunde L, Mints M, Bertario L, Pineda M, Navarro M, Morak M, Renkonen-Sinisalo L, Frayling IM, Plazzer JP, Pylvanainen K, Genuardi M, Mecklin JP, Möslin G, Sampson JR, Capella G; Mallorca Group (<http://mallorca-group.org>). Incidence of and survival after subsequent cancers in carriers of pathogenic MMR variants with previous cancer: a report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut*. 2017 Sep;66(9):1657-1664. doi: 10.1136/gutjnl-2016-311403. Epub 2016 Jun 3. PMID: 27261338; PMCID: PMC5561364.
80. Anele, C.C., Adegbola, S.O., Askari, A., Rajendran, A., Clark, S.K., Latchford, A. and Faiz, O.D. (2017), Risk of metachronous colorectal cancer following colectomy in Lynch syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis*, 19: 528-536. <https://doi.org/10.1111/codi.13679>.
81. Kim TJ, Kim ER, Hong SN, Kim YH, Huh JW, Park YA, Cho YB, Yun SH, Kim HC, Lee WY, Kim K, Kim K, Chang DK. Survival Outcome and Risk of Metachronous Colorectal Cancer After Surgery in Lynch Syndrome. *Ann Surg Oncol*. 2017 Apr;24(4):1085-1092. doi: 10.1245/s10434-016-5633-1. Epub 2016 Oct 20. PMID: 27766559).
82. Parry S, Win AK, Parry B, Macrae FA, Gurrin LC, Church JM, Baron JA, Giles GG, Leggett BA, Winship I, Lipton L, Young GP, Young JP, Lodge CJ, Southey MC, Newcomb PA, Le Marchand L, Haile RW, Lindor NM, Gallinger S, Hopper JL, Jenkins MA. Metachronous colorectal cancer risk for mismatch repair gene mutation carriers: the advantage of more extensive colon surgery. *Gut*. 2011 Jul;60(7):950-7. doi: 10.1136/gut.2010.228056. Epub 2010 Dec 30. PMID: 21193451; PMCID: PMC3848416.
83. Anyla M, Lefevre JH, Creavin B, Colas C, Svrcek M, Lascols O, Debove C, Chafai N, Tiret E, Parc Y. Metachronous colorectal cancer risk in Lynch syndrome patients-should the endoscopic surveillance be more intensive? *Int J Colorectal Dis*. 2018 Jun;33(6):703-708. doi: 10.1007/s00384-018-3004-z. Epub 2018 Mar 12. PMID: 29532206.
84. Win AK, Lindor NM, Young JP, Macrae FA, Young GP, Williamson E, Parry S, Goldblatt J, Lipton L, Winship I, Leggett B, Tucker KM, Giles GG, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, Arnold J, Levine AJ, Haile RW, Gallinger S, Le Marchand L, Newcomb PA, Hopper JL, Jenkins MA. Risks of primary extracolonic cancers following colorectal cancer in lynch syndrome. *J Natl Cancer Inst*. 2012 Sep 19;104(18):1363-72. doi: 10.1093/jnci/djs351. Epub 2012 Aug 28. PMID: 22933731; PMCID: PMC3529597).
85. Tougeron D, Sha D, Manthravadi S, Sinicrope FA. Aspirin and colorectal cancer: back to the future. *Clin Cancer Res*. 2014 Mar 1;20(5):1087-94. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2563. Epub 2013 Dec 10. PMID: 24327271; PMCID: PMC3947439.
86. Ayman Alidina, Lara Rachel Lipton, Lucy Gately, Iain Skinner, Shehara Ramyalini Mendis, Wei Hong, Catherine Dunn, Jin Cho, Yat Hang To, Malcolm Steel, Ian Jones, Margaret Lee, Jeanne Tie, Suzanne Kosmider, Rachel Wong, Justin Yeung, and Peter Gibbs. Second primary cancers in patients with sporadic deficient mismatch repair (dMMR) colorectal cancer (CRC). *Journal of Clinical Oncology* 2021 39:3\_suppl, 45-45



## Description and frequency of others primary malignancies in patients with deficient mismatch repair system or/and with microsatellite instability colorectal cancer

Paul Franques<sup>1,8</sup>, Arnaud Chong-Si-Tsaon<sup>4</sup>, Éric Frouin<sup>1,4</sup>, Marie-Luce Auriault<sup>12</sup>, Valérie Moulin<sup>11</sup>, Audelaure Junca<sup>4</sup>, Julie Godet<sup>4</sup>, Gaëlle Tachon<sup>1,2,3</sup>, Camille Evrard<sup>1,2,8</sup>, Violaine Randrian<sup>1,9</sup>, Lucie Karayan-Tapon<sup>1,2,3</sup>, David Tougeron<sup>1,2,9</sup>

<sup>1</sup>Université de Poitiers, Faculté de Médecine, 86021, Poitiers, France

<sup>2</sup>INSERM 1084, Laboratoire des neurosciences expérimentales et cliniques Université de Poitiers, 86073, Poitiers, France

<sup>3</sup>Laboratoire de cancérologie biologique, Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers, 86021, Poitiers, France

<sup>4</sup>Service d'anatomopathologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers, 86021, Poitiers, France

<sup>5</sup>Inserm UMR 1069, Nutrition, Croissance et Cancer, Université de Tours

<sup>6</sup>Service de gastroentérologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Tours, 37170, Tours, France

<sup>7</sup>Service d'anatomopathologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Tours, 37170, Tours, France

<sup>8</sup>Service d'oncologie médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers, 86021, Poitiers, France

<sup>9</sup>Service de gastroentérologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers, 86021, Poitiers, France

<sup>10</sup>Service de gastroentérologie, Centre Hospitalier de La Rochelle, 17019, La Rochelle, France

<sup>11</sup>Service d'oncologie médicale, Centre Hospitalier de La Rochelle, 17019, La Rochelle, France

<sup>12</sup>Service d'anatomopathologie, Centre Hospitalier de La Rochelle, 17019, La Rochelle, France

### \* Correspondence:

David Tougeron, MD, PhD

Department of gastroenterology, Poitiers University Hospital, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers Cedex, France

Tel: (33) 5 49 44 37 51; Fax: (33) 5 49 44 38 35

e-mail: [davidtougeron@hotmail.fr](mailto:davidtougeron@hotmail.fr) / [david.tougeron@chu-poitiers.fr](mailto:david.tougeron@chu-poitiers.fr).

Twitter: @david\_tougeron

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8065-9635>

**Keywords:** colorectal cancer, microsatellite instability, deficient mismatch repair, second primary cancer, lynch syndrome

**List abbreviations:**

5FU: 5-fluorouracil

APC: (an)other primary cancer

CCR: colorectal cancer

EGFR: epidermal growth factor receptor

ICKi: immune checkpoint inhibitor

INCa: Institut national du cancer

IHC: immunochemistry

LS: Lynch syndrome

MLH: MutL Homolog

(d/p)MMR: (deficient/proficient) mismatch repair system

MSH: MutS Homolog

MSI: microsatellite instability

MSS: microsatellite stable

PFS: progression-free survival

PMS2: Postmeiotic Segregation Increased 2

SIR: Standard incidence ratio

## **ABSTRACT**

### **Introduction**

Colorectal cancers (CRC) with *Mismatch Repair* deficiency and/or microsatellite instability (dMMR/MSI) represent about 15% of localized CRC and 3% of metastatic CRC. dMMR/MSI CRC can be due to a Lynch syndrome or an age-related epigenetic mechanism mostly by hypermethylation of *MLH1* promoter. It is well recognized that patients with Lynch syndrome have a high lifetime risk of cancers but on the other hand there is no data concerning the risk of a second cancer in sporadic dMMR/MSI CRC.

### **Patients and methods**

We described the risk to have another cancer in a prospective cohort of well-characterized 484 patients with a dMMR/MSI CRC. We evaluated the incidence of another cancer (previous or second cancers), whatever the stage or the tumor site.

### **Results**

We identified 116 patients with a previous or a second primary cancers (24.0%) with an average of 1.3 cancers per patient with another cancers. The most represented tumor sites were skin (19.6%) and breast (19.6%) tumors. Moreover, we found a slight difference of number of patients with another cancer between patients with Lynch syndrome related dMMR/MSI CRC (26.1%) and patients with a sporadic dMMR/MSI CRC (24.3%). No risk factor seems evident to identify the risk of a second cancer among our cohort, the populations with and without other cancers are quite comparable, as well when analyzing the subpopulations of patients with Lynch syndrome or with a sporadic tumor.

### **Discussion**

It is therefore important to carefully follow patients with a history of dMMR/MSI CRC, even if it is a sporadic case given this high number of second cancers. Next step is to analyze these other cancers to determine the MMR/MSI status to understand the high rate of this other tumors and guide future management and follow-up of this population of dMMR/MSI CRC.

## INTRODUCTION

Colorectal cancers (CRC) represent the third most frequent cancer in France with more than 43.000 cases each year and nearly 2 millions new cases each year worldwide (1). Among all of these new cases, approximately 15% have a microsatellite instability (MSI) and/or deficient mismatch repair system status (dMMR) (2). Nowadays, determination of dMMR/MSI status is recommended for all CRC cases (3). dMMR/MSI is associated with germline mutation of a MMR gene (Lynch syndrome) or a somatic inactivation of one MMR gene, mostly *MLH1* by hypermethylation of its promoter (sporadic cases). Determination of MSI or MSS (microsatellite stable) status is performed by evaluation of microsatellite instability using molecular test and MMR status using immunohistochemistry (IHC) of the four MMR proteins (MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6).

dMMR/MSI can allow screening of Lynch syndrome (LS). Moreover dMMR/MSI status is associated with a good prognosis in non-metastatic CRC but also chemoresistance to adjuvant 5-fluorouracil (5FU) in stage II colon cancer (4). Indeed, it is recommended not to treat by adjuvant chemotherapy patients with a stage II dMMR/MSI CRC, based on several studies and a meta-analysis due to the good prognosis of these tumors (5). Nevertheless, in young patients with a T4 tumor, adjuvant chemotherapy with 5FU plus oxaliplatin remains as option. Patients with a stage III dMMR/MSI CRC should received an adjuvant chemotherapy with a doublet of fluoropyrimidine plus oxaliplatin since it decrease the risk of recurrence between 15 to 20% (6). In addition, management of dMMR/MSI CRC is evolving since these tumors have a high sensitivity to immune checkpoint inhibitors (ICKi) due to a high rate of tumor mutation burden (TMB) leading to several immunogenic neoantigens (7). Several studies have shown high response rates and significant improvement in progression-free survival (PFS) in metastatic dMMR/MSI CRC patients treated with ICKi. Indeed, the KEYNOTE-177 trial showed a doubling of PFS compared to standard of care by chemotherapy alone or combined plus targeted therapy (16.5 months versus 8.2 months) (8).

With the improvement in the cancer management, the survival of CRC patient's increases with a higher risk to develop another primary cancer (APC). Indeed, the incidence of second primary cancers (SPC) has been analyzed in several studies in various countries and concluded that patients with a history of cancer have a higher risk of developing APC than the general population. This increased risk is range between 14% and 15% compared to general population, according to a large study analyzing more than 2 millions patients in American registers (9). It is in part explain by risk factors like overweight, alcohol and tobacco but also impairment of DNA repair machinery is also involved. Nevertheless, there are some contradictory results. Indeed, the study by Coleman *et al* (1986) (10) in England found a decrease risk of SPC with a standard incidence ratio (SIR) between 0.77 and 0.88, but this is an old study in which diagnosis and therapeutic management of cancers were more limited. More recent studies showed an excess risk of

SPC form 1.21 to 1.36 (Youlden *et al* (2011) (11), Tabuchi *et al* (2012)) (12). In France, a large study was conducted by the INCa network (Institut National du Cancer) and published in 2013 (13). The risk of SPC is variable according to the site of the first cancer. All locations combined, the SIR is 1.14, but very high for primary ear-nose-throat (ENT) cancers (2.45). Concerning colon cancer, the SIR of SCP ranged from 1.07 to 1.20. The most common SCP are colorectal, endometrial and small bowel cancers. In these studies, the hereditary diseases predisposing to cancer (Lynch syndrome, Peutz-Jagger syndrome or familial adenomatous polyposis) were not taken into account that induces a major bias on the estimation of the risk of SPC.

Møller P *et al.* (14) analyzed the cumulative incidence of SPC in patients with Lynch syndrome (LS) after a first diagnosis of cancer. Patients could have a prior cancer in any site and the average number of SPC per patient was 1.4. with a majority of CRC (63.0%). During the follow-up, 318 patients (25.7%) have developed a SPC. CRC was the most frequent location of subsequent malignancies in this study (43.0%). It should be noted that all patients in this cohort have a proven MMR mutation. Previous received treatments, including surgery (e.g. hysterectomy and total colectomy) could impact the occurrence of a new Lynch-related SPC. In addition, it is not studied whether cancers diagnosed during follow-up are dMMR/MSI or not. Aarnio *et al*, showing a cumulative risk of any metachronous cancer of 90% at 40 years after the treatment of the first CRC in a Finnish LS population but the series is old (1995) (15). A cohort study has evaluated the risk of extra-colonic SPC after a first LS-related CRC and showed a 10 years-cumulative risk of 1.9% of kidney tumor, 1.6% of bladder cancer, 0.66% of stomach cancer, 0.92% of small intestine cancer. For men, 2.74% of prostate cancer and 12.12% and 1.94% of endometrium and breast cancer for women, respectively (16).

Finally, only on unpublished series analyzed the risk of a second CRC after a first localized sporadic dMMR CRC compared to a group with a pMMR CRC. Only MMR status by IHC was used in this study, there is no mention of molecular analysis. A second CRC was identified in 1.91% of the sporadic dMMR/MSI CRC group versus 0.83% of the pMMR CRC group. The median time of appearance of the second CRC was shorter in the sporadic dMMR CRC group, 1.13 years versus 2.38 years (17). There is no other data in sporadic dMMR CRC, neither comparing with Lynch syndrome related dMMR CRC and evaluating all other tumor sites.

Taking into account of these data, there is possibly an excess risk of SPC among patients diagnosed with a dMMR/MSI CRC, whether germline or sporadic origin. The aim of our study is to determine, in a well-characterized large cohort of dMMR/MSI CRC, the frequency of other cancers.

## PATIENTS AND METHODS

### Population

From 2003 to 2019, all patients with a CRC classified MSI by molecular testing (Pentaplex panel) by the cancer biology departments of Poitiers (France) were included in this multicenter prospective cohort. The study has been approved by the ethic committee of Poitiers University Hospital (Comité de protection des personnes Ouest III, n°DC-2008-565). It was performed according to the Declaration of Helsinki.

Tumor DNA was extracted in clinical routine practice from formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue using the KAPA Express Extract<sup>®</sup> kit (ROCHE, Basel, Switzerland). The same tumor DNA was also used to determine *KRAS*, *NRAS* and *BRAF* mutations using Next-Generation Sequencing. MSI phenotype was assessed by analyzing microsatellite loci consisted of 5 mononucleotide markers BAT-25, BAT-26, NR21, NR24 and NR27 (Kit PROMEGA, ref MD1641, Madison, Wisconsin, US), as previously described (Pentaplex panel) (18,19). MSI was defined by the presence of instability affecting at least 3 of the 5 markers.

MMR status was initially determined or secondarily performed for all patients using MMR IHC of the 4 MMR proteins. Most MMR IHCs were carried out in routine clinical practice from formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue using antibodies directed against MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 proteins (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, US), as previously described (19,20). A tumor was considered dMMR if it presented loss of nuclear staining of at least one of the four MMR proteins.

All dMMR/MSI CRC cases were included in the study whatever the tumor stage (stage 0 to IV). Discordant cases with a pMMR/MSI were excluded.

### Patient and colorectal cancer characteristics

Main characteristics of patients are described including gender and age at CRC diagnosis. Main characteristics of the first dMMR/MSI CRC were collected including tumor site, TNM stage at diagnosis, VELIPI criteria (vascular emboli, lymphatic invasion or perineural invasion), tumor grade and size of the tumor. Treatments including surgery, chemotherapy and/or immune checkpoint inhibitor were also described. Moreover, we collected data about the survival and cause of death.

Germline Lynch syndrome versus sporadic dMMR/MSI cases was determined. Proven Lynch syndrome (LS) was defined as the presence of a MMR gene germline mutation. Suspected LS was defined as 1/ loss of MSH6 or MSH2 protein expression, 2/ loss of PMS2 protein expression with no loss of MLH1 protein expression, 3/ loss of MLH1 protein expression with no *BRAF* mutation and no *MLH1* promoter hypermethylation or 4/ loss of MLH1 protein expression with no *BRAF* mutation and unknown *MLH1* promoter methylation status but met the Amsterdam II criteria. Patients were considered as sporadic dMMR CRC if 1/ loss of MLH1 protein expression and *BRAF* mutation or 2/ loss of MLH1 protein expression

and *MLH1* promoter hypermethylation. All others patients were considered as unclassified, concerning the molecular mechanism underlying the MMR deficiency, versus LS and sporadic cases.

We determined the number of patients with history of cancer, meaning with a diagnosis of cancer before the inclusion in the cohort, and the number of patients with a new diagnosis of cancer, meaning diagnosis of subsequent cancer after inclusion. Previous or second primary cancers are described as another or others primary cancer (APC). APC were identified through computerized medical records, the Poitiers University Hospital databases, and the cancer regional multidisciplinary meeting.

### **Statistical analysis**

All data have been reviewed and updated in May 2021. Follow-up was calculated by reverse Kaplan-Meier estimation.

Continuous variables were described with median and range and qualitative variables with frequency and percentages. We compared two populations, one with history of another primary cancer or diagnosis of SPC and one with no history of another cancer. Comparison of characteristics between the two groups was performed with the Mann Withney test for continuous variables and the chi-square test or Fisher's exact test for qualitative variables.

A p-value of less than .05 was considered statistically significant. All analyses were performed using Statview<sup>®</sup> software (SAS Institute, Cary, NC).

## RESULTS

### Patient and tumor characteristics

This cohort included 484 patients with a dMMR/MSI CRC, including 273 females (56.4%) and 211 males (43.6%). The mean age at inclusion was  $68.1 \pm 14.2$  years. Most patients had moderately differentiated (46.7%), ascending (80.0%), stage II or III (respectively 42.9% and 29.0%) CRC (**Table 1**). *RAS* and *BRAF* mutations were observed in 16.3% and 52.5%, respectively.

**Table 1 : Patient and tumor characteristics**

Characteristics	All patients (n=484)	Patients without APC (n=368)	Patients with APC (n=116)	p-value
<b>Age (mean)</b>	68.1	67.9	68.7	0.81
<b>Gender</b>				0.34
Male	211 (43.6%)	156 (42.4%)	55 (47.4%)	
Female	273 (56.4%)	212 (57.6%)	61 (52.6%)	
<b>Stage of CRC at diagnosis</b>				0.11
0	2 (0.4%)	0	2 (1.8%)	
I	40 (8.6%)	28 (7.9%)	12 (10.7%)	
II	200 (42.9%)	152 (42.9%)	48 (42.9%)	
III	135 (29.0%)	106 (29.9%)	29 (25.9%)	
IV	89 (18.4%)	68 (18.5%)	21 (18.1%)	
Missing values	18	14	4	
<b>Tumor site</b>				0.52
Ascending	379 (80.0%)	291 (81.1%)	88 (76.5%)	
Descending	83 (17.5%)	60 (16.7%)	23 (20.0%)	
Rectum	12 (2.5%)	8 (2.2%)	4 (3.5%)	
Missing values	10	9	1	
<b>Tumor grade</b>				0.65
Well differentiated	72 (17.1%)	57 (17.7%)	15 (14.9%)	
Moderately differentiated	197 (46.7%)	146 (45.5%)	51 (50.5%)	
Poorly differentiated	153 (36.3%)	118 (36.8%)	35 (34.6%)	
Missing values	62	47	15	
<b>RAS mutation</b>				0.96
Yes	65 (16.3%)	50 (16.2%)	15 (16.5%)	
No	334 (83.7%)	258 (83.8%)	76 (83.5%)	
Missing values	85	60	25	
<b>BRAF mutation</b>				0.24
Yes	243 (52.5%)	189 (53.8%)	54 (48.2%)	
No	220 (47.5%)	162 (46.2%)	58 (51.8%)	
Missing values	21	17	4	

APC : (an)other primary cancer ; *BRAF* : V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B ; CRC : colorectal cancer ; *RAS* : rat sarcoma virus

## Mechanism of MMR deficiency

Among the 484 patients, 30.0% had a proven or suspected LS and 70.0% had a sporadic tumor (Table 2).

**Table 2 : Mechanism of MMR deficiency of dMMR/MSI colorectal tumor at inclusion**

Tumor classification	All patients (n=484)	Patients without APC (n=368)	Patients with APC (n=116)	p-value
Proven LS	21 (4.7%)	17 (5.1%)	4 (3.6%)	0.66
Suspected LS	113 (25.3%)	82 (24.4%)	31 (27.9%)	
Sporadic tumor	313 (70.0%)	237 (70.5%)	76 (68.5%)	
Undetermined	37	32	5	

APC : (an)other primary cancer ; LS : Lynch syndrome ; MMR : mismatch repair

Most tumors had a loss of MLH1 and PMS2 proteins (82.6%) mostly due to hypermethylation of the *MLH1* gene promoter (84.1%) (Table 3).

**Table 3 : IHC analysis of CRC**

Lost proteins	All patients (n=484)	Patients without APC (n=368)	Patients with APC (n=116)	p-value
MLH1+PMS2	371 (82.6%)	283 (83.7%)	88 (79.3%)	0.09
MSH2+MSH6	54 (12.0%)	35 (10.3%)	19 (17.1%)	
PMS2 alone	13 (2.9%)	13 (3.9%)	0	
MSH6 alone	11 (2.5%)	7 (2.1%)	4 (3.6%)	
Other	35	30	5	
MLH1 promoter hypermethylation	(n=371)	(n=283)	(n=88)	0.97
Yes	195 (84.1%)	142 (85.0%)	53 (81.5%)	
No	37 (15.9%)	25 (15.0%)	12 (18.5%)	
Missing data	139	116	23	

APC : (an)other primary cancer ; IHC : immunohistochemistry ; LS : Lynch syndrome ; MLH : MutL Homolog ; MMR : mismatch repair ; MSH : MutS Homolog ; PMS2 : Postmeiotic Segregation Increased 2 ;

## Treatment and outcomes

A surgical resection of the primary tumor was performed in 93.6% of the cases (n=453). All patients with stage II tumors had a primary tumor resection and only one patient with stage III tumor did not benefit from surgical resection (local advanced unresectable T4 tumor).

Among patients with stage II (n=200), 194 patients (97.0%) had a R0 resection. Among patients with a resected R0 tumor, a large majority did not received adjuvant chemotherapy. Patients who received adjuvant chemotherapy were mostly treated with a doublet combining a fluoropyrimidine (5-fluorouracil or capecitabine) plus oxaliplatin (**Table 4**).

**Table 4 : Adjuvant chemotherapy in stage II with curative surgery**

Stage II R0	All patients (n=194)	Patients without APC (n=147)	Patients with APC (n=47)
<b>Adjuvant chemotherapy</b>			
Yes	38 (21.6%)	31 (22.6%)	7 (16.3%)
No	138 (78.4%)	102 (74.4%)	36 (83.7%)
Missing values	18	14	4
<b>Type of chemotherapy</b>	(n=38)	(n=31)	(n=7)
Fluoropyrimidine plus oxaliplatin	29 (82.8%)	23 (82.1%)	1 (14.3%)
Fluoropyrimidine alone	6 (17.4%)	5 (17.9%)	6 (85.7%)
Missing values	3	3	

APC : (an)other primary cancer ; R0 : absence of microscopic tumor invasion of the resection margin

Patients with stage III MSI/dMMR CRC represent 135 patients. A curative surgery with a R0 resection was performed in 120 patients, and, among them 77.1% received a adjuvant chemotherapy. Most patients were treated with a doublet of a fluoropyrimidine with oxaliplatin (**Table 5**).

**Table 5 : Adjuvant chemotherapy in stage III with curative surgery**

Stage III R0	All patients (n=120)	Patients without APC (n=93)	Patients with APC (n=27)
<b>Adjuvant chemotherapy</b>			
Yes	84 (77.1%)	68 (78.2%)	16 (72.7%)
No	25 (22.9%)	19 (21.8%)	6 (22.2%)
Missing values	11	6	5
<b>Type of chemotherapy</b>			
	(n=84)	(n=68)	(n=16)
Fluoropyrimidine plus oxaliplatin	66 (84.6%)	51 (82.3%)	15 (93.8%)
Fluoropyrimidine alone	11 (14.1%)	11 (17.7%)	0
Other	1 (1.3%)	0	1 (6.2%)
Missing value	6	6	0

APC : (an)other primary cancer ; R0 : absence of microscopic tumor invasion of the resection margin

#### Analysis of others primary tumors

This cohort includes 116 patients with at least one another primary cancer (APC). Overall, it represents a total of 148 other tumors and an average of 1.3 cancers per patient. Of these patients, 78.5% had one previous or subsequent cancer, 15.0% had two and 6.0% had three (**Table 6**). Most of the patients had a diagnosis of another primary cancer before the diagnosis of the dMMR/MSI CRC (61.6%), 31.7% after the dMMR/MSI CRC and 6.7% both before and after the diagnosis of the dMMR/MSI CRC.

**Table 6 : Number of second primary malignancies**

	Patients with APC (n=116)
<b>APC</b>	
1	91 (78.5%)
2	18 (15.5%)
3	7 (6.0%)

APC : (an)other primary cancer

The characteristics of the patients without and with APC were not different (**Table 1**).

We compared patients with a dMMR/MSI CRC related to a LS (patients with a proven or suspected Lynch syndrome) and patients with a sporadic dMMR/MSI CRC (**Table 7**). Between LS and sporadic groups, we can note several differences, women were more represented in the sporadic group, patients were

older in the LS group. A large majority of *BRAF* mutations were found in the sporadic group. Half of the other cancers were found after the diagnosis of CRC in the LS group (50.0%) while in the sporadic group it was only 25.3%.

**Table 7 : Characteristics of subgroups and sequence malignancy in APC population**

<b>APC population</b>	<b>All (n=116)</b>	<b>LS (n=35)</b>	<b>Sporadic (n=76)</b>
<b>Age (mean)</b>	68.7	58.4	73.6
<b>Sex</b>			
Male	55 (47.4%)	19 (54.2%)	34 (44.7%)
Female	61 (52.6%)	16 (45.7%)	42 (55.3%)
<b>Stage of CRC at diagnosis</b>			
0	2 (1.8%)	2 (6.1%)	0
I	12 (10.7%)	6 (18.2%)	5 (6.8%)
II	48 (42.9%)	14 (42.4%)	33 (44.6%)
III	29 (25.9%)	6 (18.2%)	20 (27.0%)
IV	21 (18.1%)	5 (15.1%)	16 (21.6%)
Missing values	5	2	2
<b>Tumor site</b>			
Ascending	88 (76.5%)	18 (52.9%)	66 (86.8%)
Descending	23 (20.0%)	14 (41.2%)	9 (11.9%)
Rectum	5 (3.5%)	2 (5.9%)	1 (1.3%)
Missing values	1	1	0
<b>Tumor grade</b>			
Well differentiated	15 (14.9%)	5 (17.9%)	9 (13.2%)
Moderately differentiated	51 (50.5%)	18 (64.3%)	30 (44.1%)
Poorly differentiated	35 (34.6%)	5 (17.8%)	29 (42.6%)
Missing values	15	7	8
<b>RAS mutation</b>			
Yes	15 (16.5%)	6 (22.2%)	7 (10.3%)
No	76 (83.5%)	21 (77.8%)	61 (89.7%)
Missing values	25	8	8
<b>BRAF mutation</b>			
Yes	54 (48.2%)	3 (9.4%)	51 (67.1%)
No	58 (51.8%)	29 (90.6%)	25 (32.9%)
Missing values	4	3	0
<b>Sequence of APC</b>			
Before	64 (61.6%)	14 (43.8%)	45 (67.2%)
After	33 (31.7%)	16 (50.0%)	17 (25.3%)
Both	7 (6.7%)	2 (6.2%)	5 (7.5%)
Missing values	12	3	9

APC : (an)other primary cancer ; *BRAF* : V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B ; CRC : colorectal cancer ; *RAS* : rat sarcoma virus

The proportion of men among the sporadic group with APC is higher than in the group without APC (**Table 8**). The *BRAF* mutation is significantly less frequent in the patients with APC as compared patients

with no SPC (p=0.007). Moreover, hypermethylation of *MLH1* promoter is also less frequent in the patients with APC.

**Table 8 : Characteristics of patients in sporadic group**

<b>Sporadic population</b>	<b>All sporadic (n=313)</b>	<b>Sporadic without APC (n=237)</b>	<b>Sporadic with APC (n=76)</b>	<b>p-value</b>
<b>Age (mean)</b>	74.3	74.5	73.8	0.44
<b>Sex</b>				
Male	111 (35.5%)	77 (32.5%)	34 (44.7%)	
Female	202 (64.5%)	160 (67.5%)	42 (55.3%)	
<b>Stage of CRC at diagnosis</b>				0.05
0	0	0	0	
I	21 (7.0%)	16 (7.1%)	5 (6.8%)	
II	135(45.0%)	102 (45.1%)	33 (44.6%)	
III	91 (30.3%)	71 (31.4%)	20 (27.0%)	
IV	53 (17.7%)	37 (16.4%)	16 (21.6%)	
Missing values	13	11	2	
<b>Tumor site</b>				0.80
Ascending	268 (87.9%)	202 (88.2%)	66 (86.9%)	
Descending	36 (11.8%)	27 (11.8%)	9 (11.8%)	
Rectum	1 (0.3%)	0	1 (1.3%)	
Missing values	8	8	0	
<b>Tumor grade</b>				0.22
Well differentiated	42 (15.2%)	33 (15.9%)	9 (13.2%)	
Moderately differentiated	118 (42.8%)	88 (42.3%)	30 (44.2%)	
Poorly differentiated	116 (42.0%)	87 (41.8%)	29 (42.6%)	
Missing values	37	29	8	
<b>RAS mutation</b>				0.10
Yes	17 (6.2%)	10 (4.9%)	7 (10.3%)	
No	256 (93.8%)	195 (95.1%)	61 (89.7%)	
Missing values	40	32	8	
<b>BRAF mutation</b>				0.007
Yes	235 (77.6%)	184 (81.1%)	51 (67.1%)	
No	68 (22.4%)	43 (18.9%)	25 (32.9%)	
Missing values	10	10	0	
<b>IHC analysis</b>				0.63
MLH1+PMS2	301 (96.2%)	228 (96.2%)	73 (96.1%)	
MSH2+MSH6	0	0	0	
PMS2 alone	0	0	0	
MSH6 alone	0	0	0	
Other	12 (3.8%)	9 (3.8%)	3 (3.9%)	
<b>MLH1 promoter methylation</b>	n=301	n=228	n=73	0.02
Yes	190 (98.4%)	139 (99.3%)	51 (96.2%)	
No	3 (1.6%)	1 (0.7%)	2 (3.8%)	
Missing data	108	88	20	

APC : (an)other primary cancer ; *BRAF* : V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B ; CRC : colorectal cancer ; IHC : immunochemistry ; LS : Lynch syndrome ; MLH : MutL Homolog ; MMR : mismatch repair ; MSH : MutS Homolog ; PMS2 : Postmeiotic Segregation Increased 2 ; *RAS* : rat sarcoma virus

There was no statistically difference among LS patients with and without other primary tumor (Table 9). There was a trend of more advanced primary CRC in the LS patients with no other primary tumor.

**Table 9 : Characteristics of patients in LS group**

LS population	All LS (n=134)	Lynch without APC (n=99)	Lynch with APC (n=35)	p-value
<b>Age (mean)</b>	56.1	56.3	58.4	0.10
<b>Sex</b>				0.39
Male	81 (60.4%)	62 (62.6%)	19 (54.3%)	
Female	53 (39.6%)	37 (37.3%)	16 (45.7%)	
<b>Stage of CRC at diagnosis</b>				0.06
0	2 (1.5%)	0	2 (6.1%)	
I	17 (13.0%)	11 (11.2%)	6 (18.2%)	
II	50 (38.1%)	36 (36.7%)	14 (42.4%)	
III	31 (23.7%)	25 (25.5%)	6 (18.2%)	
IV	31 (23.7%)	26 (26.5%)	5 (15.1%)	
Missing values	3	1	2	
<b>Tumor site</b>				0.31
Ascending	84 (63.6%)	66 (67.3%)	18 (52.9%)	
Descending	41 (31.1%)	27 (27.5%)	14 (41.2%)	
Rectum	7 (5.3%)	5 (5.1%)	2 (5.9%)	
Missing values	2	1	1	
<b>Tumor grade</b>				0.48
Well differentiated	27 (23.5%)	22 (25.3%)	5 (17.8%)	
Moderately differentiated	62 (53.9%)	44 (50.6%)	18 (64.3%)	
Poorly differentiated	26 (22.6%)	21 (24.1%)	5 (17.9%)	
Missing values	19	12	7	
<b>RAS mutation</b>				0.83
Yes	37 (33.3%)	31 (36.9%)	6 (22.2%)	
No	74 (66.6%)	53 (63.1%)	21 (77.8%)	
Missing values	23	15	8	
<b>BRAF mutation</b>				0.27
Yes	8 (6.4%)	5 (5.4%)	3 (9.4%)	
No	117 (93.6%)	88 (94.6%)	29 (90.6%)	
Missing values	9	6	3	

<b>IHC analysis</b>				<b>0.14</b>
MLH1+PMS2	51 (38.1%)	38 (38.4%)	13 (37.1%)	
MSH2+MSH6	51 (38.1%)	34 (34.3%)	17 (48.6%)	
PMS2 alone	11 (8.2%)	11 (11.1%)	0	
MSH6 alone	11 (8.2%)	7 (7.1%)	4 (11.4%)	
Other	10 (7.5%)	9 (9.1%)	1 (2.9%)	

APC : (an)other primary cancer ; *BRAF* : V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B ; CRC : colorectal cancer ; IHC : immunochemistry ; LS : Lynch syndrome ; MLH : MutL Homolog ; MMR : mismatch repair ; MSH : MutS Homolog ; PMS2 : Postmeiotic Segregation Increased 2 ; *RAS* : rat sarcoma virus ;

The same mean number of second cancers was found in LS group versus sporadic group (**Table 10**). Site of other primary tumors were not different in these both groups.

**Table 10 : Location of second primary tumors in each population of CRC**

<b>APC population</b>	<b>LS (n=35)</b>	<b>Sporadic (n=76)</b>	<b>All (n=116)</b>
<b>Number of other cancers</b>	47	96	148
<b>Site of the cancer</b>			
Biliary tract	0	1 (1.0%)	1 (0.7%)
Brain	2 (4.3%)	0	2 (1.3%)
Breast	7 (14.8%)	21 (21.9%)	29 (19.6%)
Cervix	1 (2.1%)	1 (1.0%)	2 (1.3%)
Colon	3 (6.4%)	8 (8.3%)	11 (7.4%)
Duodenum	0	2 (2.1%)	2 (1.3%)
Endometrium	3 (6.4%)	3 (3.1%)	6 (4.1%)
ENT	1 (2.1%)	2 (2.1%)	3 (2.0%)
HCC	0	2 (2.1%)	2 (1.3%)
Kidney	2 (4.3%)	3 (3.1%)	5 (3.4%)
Lung	1 (2.1%)	4 (4.2%)	5 (3.4%)
Lymphoma	2 (4.3%)	3 (3.1%)	5 (3.4%)
Myeloma	0	3 (3.1%)	3 (2.0%)
Oesophagus	1 (2.1%)	1 (1.0%)	2 (1.3%)
Ovarian	0	1 (1.0%)	1 (0.7%)
Pheochromocytoma	1 (2.1%)	0	1 (0.7%)
Prostate	0	12 (12.5%)	13 (8.8%)
Rectum	4 (8.5%)	2 (2.1%)	6 (4.1%)
Sarcoma	0	2 (2.1%)	3 (2.0%)
Skin	9 (19.1%)	20 (20.8%)	29 (19.6%)
Stomach	1 (2.1%)	0	2 (1.3%)
Testis	1 (2.1%)	2 (2.1%)	3 (2.0%)
Thyroid	1 (2.1%)	0	1 (0.7%)
Urothelial	6 (12.6%)	3 (3.1%)	10 (6.8%)
Vulva	1 (2.1%)	0	1 (0.6%)

APC : (an)other primary cancer ; CRC : colorectal cancer ; ENT : Ears-Nose-Throat ; HCC : hepatocellular carcinoma

The most represented cancers in all cohort were breast and skin cancers (19.6%). Skin cancers were described in **Table 11**.

**Table 11 Histology of skin cancer**

<b>APC population</b>	<b>LS (n=35)</b>	<b>Sporadic (n=76)</b>	<b>All (n=116)</b>
<b>Skin cancer</b>	n=9	n=20	n=29
Basal cell carcinoma	2 (22.2%)	10 (50.0%)	12 (41.4%)
Squamous cell carcinoma	4 (44.4%)	6 (30.0%)	10 (34.5%)
Melanoma	0	4 (20.0%)	4 (13.8%)
Other	3 (33.3%)	0	3 (10.3%)

APC : (an)other primary cancer

## DISCUSSION

Our study concerns a particular population of dMMR/MSI CRC including sporadic cases and Lynch syndrome patients. We identified a high risk of 24.0% to have another cancer. In addition, we aimed to identify predictive factors of another cancer especially no *BRAF* mutation and no *MLH1* promoter hypermethylation in sporadic dMMR/MSI CRC.

Our series of dMMR/MSI CRC is in accordance with the characteristics of other dMMR/MSI CRC series. Therefore, the mean age of patients is lower than the mean age at CRC diagnosis in France (68.1 years vs 72 years, respectively) (21). We also found a majority of women in our cohort (56.4%). The ratio of patients with Lynch syndrome as compared sporadic cancer, respectively 27.6% versus 64.7%, is comparable to data in literature (22). By contrast, population of our study shows a high rate of *BRAF* mutation of 52.5%, whereas in the literature 35% of dMMR/MSI are *BRAF* mutated tumors (23).

In our study, we found an average number of tumors of 1.3 per patient among patients with another primary cancer. Among the 116 patients with at least one another primary tumor, 25 patients had 2 or 3 SPCs. Of these 25 patients, 9 (36%) were from the LS group and 16 (64%) from the sporadic group. Even if it exists a significant excess risk of cancer in patients with Lynch syndrome, there is not a large difference in the distribution of patients with another primary cancer among LS versus sporadic cases (26.1% versus 24.3%). This point is probably explained by the good cancer prevention in patient with Lynch syndrome (chromoendoscopy and prophylactic hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy). When analyzing the sequence of SPC, we have noticed that in the sporadic group, more than two thirds (66.7%) of the second tumors were diagnosed before the dMMR/MSI CRC, while the distribution is more homogeneous in the LS group (43.8% before, 50.0% after). This is quite understandable since the patients in the sporadic group are older (73.6 years versus 58.4 years). It is also consistent with the fact that there were some prostate cancers in the sporadic group and none in the LS group.

Even if there was no statistically difference, the distribution of tumor locations between the sporadic and LS groups was as expected. The cancers related to the Lynch syndrome were more frequent in the LS group compared to the sporadic group, namely: stomach cancers (2.1% versus 0), urothelial cancers (12.6% versus 3.1%), endometrial cancers (6.4% versus 3.1%) and CRCs (14.9% versus 10.4%). Although, there was one case of duodenal cancer and one case of biliary tract cancer among the sporadic group, compared to none in the LS group. The analysis of the histological subtypes of the skin tumors has revealed two major differences between both groups. There was a majority of basal cell carcinomas in the sporadic group (50.0%) whereas in the LS group, they were predominantly squamous cell carcinomas. In addition, there were 2 sebaceous carcinomas in the LS group versus none in the sporadic group. This reveals a particular

and rare syndrome associating digestive and cutaneous dMMR/MSI tumors, the Muir-Torre syndrome, a subgroup of LS patients (24).

Despite an extensive search in all patients medical records we could have missed some other primary cancers. The strength of our work is a rigorous classification of LS versus sporadic cases using accurate criteria. Nevertheless, 37 patients (7.6%) had insufficient information to determine the sporadic versus germline origin of the primary CRC. Finally, the second cancers are classified by location (lung, brain...) but in each location, there are different histological subtypes with different risk factors, oncogenesis and prognosis.

Our work investigates unknown data concerning the risk of second cancers in patients with a sporadic dMMR/MSI CRC. We have found that 24.3% of patients with a sporadic dMMR/MSI CRC had at least one other primary malignancy. Therefore, the excess risk of second cancer is not limited to Lynch syndrome but also in sporadic dMMR/MSI CRC. Indeed, this risk is higher as compared to all comers CRCs, with a mean risk of 7.0% to have another primary cancer (9). However, our study does not take into account other cancer risk factors such as smoking or alcohol consumption. Nevertheless, there is no data suggesting that sporadic dMMR/MSI CRC are strongly associated to other cancer risk factor like tobacco.

The analysis of our study raises some major questions. Given the high frequency of second cancers in the population of patients with dMMR/MSI CRC, whether sporadic or in the context of Lynch syndrome, do they also have a dMMR/MSI phenotype ? This question is important for tumors outside of the Lynch syndrome spectrum. Indeed, the presence of microsatellite instability also exists in other tumor locations outside the Lynch spectrum (25). More importantly, is the other tumors in patients with sporadic dMMR/MSI CRC are also dMMR/MSI and if it is the case it is also by the case mechanism, i.e. *MLH1* promoter hypermethylation? Finally, sporadic dMMR/MSI CRC patients, with curative treatment, need perhaps a more intensive cancer screening to prevent SCP. Our results need large confirmatory prospective studies for changing clinical routine practice.

## **CONCLUSION**

In our cohort, patients with microsatellite instability and/or mismatch repair deficiency colorectal cancer have a risk of second cancer, even if it is a Lynch syndrome or a sporadic case. The next step is to determine if these second cancers associated with sporadic dMMR/MSI CRC are dMMR/MSI or not and to obtain exhaustive data using cancer registry.

## REFERENCES

- 1 Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol.* 2019;14(2):89-103. doi: 10.5114/pg.2018.81072. Epub 2019 Jan 6. PMID: 31616522; PMCID: PMC6791134.
- 2 Evrard C, Tachon G, Randrian V, Karayan-Tapon L, Tougeron D. Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel).* 15 oct 2019;11.
- 3 Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology.* août 2016;27(8):1386-422.
- 4 Tougeron D, Mouillet G, Trouilloud I, Lecomte T, Coriat R, Aparicio T, et al. Efficacy of Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer With Microsatellite Instability: A Large Multicenter AGEO Study. *J Natl Cancer Inst.* juill 2016;108(7).
- 5 Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, et al. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009;45: 1890-6 / 7. Tougeron D, Sickersen G, Lecomte T, 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* 32:5s (suppl abstr 3508
- 6 André T, Gramont A de, Vernerey D, Chibaudel B, Bonnetain F, Tijeras-Raballand A, et al. Adjuvant Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin in Stage II to III Colon Cancer: Updated 10-Year Survival and Outcomes According to BRAF Mutation and Mismatch Repair Status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol* 2015;33:4176-87. doi: 10.1200/JCO.2015.63.4238.
- 7 Timmermann B, Kerick M, Roehr C, Fischer A, Isau M, Boerno ST, et al. Somatic mutation profiles of MSI and MSS colorectal cancer identified by whole exome next generation sequencing and bioinformatics analysis. *PLoS One.* 22 déc 2010;5:e15661(1).
- 8 André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, Smith D, Garcia-Carbonero R, Benavides M, Gibbs P, de la Fouchardiere C, Rivera F, Elez E, Bendell J, Le DT, Yoshino T, Van Cutsem E, Yang P, Farooqui MZH, Marinello P, Diaz LA Jr; KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med.* 2020 Dec 3;383(23):2207-2218. doi: 10.1056/NEJMoa2017699. PMID: 33264544(1).
- 9 Curtis RE, Freedman DM, Ron E, Ries LAG, Hacker DG, Edwards BK, Tucker MA, Fraumeni JF Jr. (eds). *New Malignancies Among Cancer Survivors: SEER Cancer Registries, 1973-2000.* National Cancer Institute, NIH Publ. No. 05-5302. Bethesda, MD, 2006(1).
- 10 Coleman MP. Multiple primary malignant neoplasms in England and Wales, 1971-1981. *Yale J Biol Med.* 1986 Sep-Oct;59(5):517-31. PMID: 3798971; PMCID: PMC2590182.
- 11 Youlden DR, Baade PD. The relative risk of second primary cancers in Queensland, Australia: a retrospective cohort study. *BMC Cancer.* 2011 Feb 23;11:83. doi: 10.1186/1471-2407-11-83. PMID: 21342533; PMCID: PMC3052198.
- 12 Tabuchi T, Ito Y, Ioka A, Miyashiro I, Tsukuma H. Incidence of metachronous second primary cancers in Osaka, Japan: update of analyses using population-based cancer registry data. *Cancer Sci.* 2012 Jun;103(6):1111-20. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02254.x. Epub 2012 Apr 11. PMID: 22364479; PMCID: PMC7685084.
- 13 © Identifier et prévenir les risques de second cancer primitif chez l'adulte, collection état des lieux et des connaissances ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, décembre 2013.
- 14 Møller P, Seppälä T, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, et al. Incidence of and survival after subsequent cancers in carriers of pathogenic MMR variants with previous cancer: a report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut.* sept 2017;66(9):1657-64.

- 15 Aarnio M, Mecklin J-P, Aaltonen LA, et al. Life-time risk of different cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome. *Int J Cancer* 1995;64:430–3.
- 16 Win AK, Lindor NM, Young JP, Macrae FA, Young GP, Williamson E, Parry S, Goldblatt J, Lipton L, Winship I, Leggett B, Tucker KM, Giles GG, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, Arnold J, Levine AJ, Haile RW, Gallinger S, Le Marchand L, Newcomb PA, Hopper JL, Jenkins MA. Risks of primary extracolonic cancers following colorectal cancer in lynch syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 2012 Sep 19;104(18):1363-72. doi: 10.1093/jnci/djs351. Epub 2012 Aug 28. PMID: 22933731; PMCID: PMC3529597).
- 17 Second primary cancers in patients with sporadic deficient mismatch repair (dMMR) colorectal cancer (CRC). Ayman Alidina, Lara Rachel Lipton, Lucy Gately, Iain Skinner, Shehara Ramyalini Mendis, Wei Hong, Catherine Dunn, Jin Cho, Yat Hang To, Malcolm Steel, Ian Jones, Margaret Lee, Jeanne Tie, Suzanne Kosmider, Rachel Wong, Justin Yeung, and Peter Gibbs. *Journal of Clinical Oncology* 2021 39:3\_suppl, 45-45.
- 18 Buhard O, Cattaneo F, Wong YF, Yim SF, Friedman E, Flejou JF, Duval A, Hamelin R. Multipopulation analysis of polymorphisms in five mononucleotide repeats used to determine the microsatellite instability status of human tumors. *J Clin Oncol.* 2006 Jan 10;24(2):241-51. doi: 10.1200/JCO.2005.02.7227. Epub 2005 Dec 5. PMID: 16330668.
- 19 Tachon G, Frouin E, Karayan-Tapon L, Auriault ML, Godet J, Moulin V, Wang Q, Tougeron D. Heterogeneity of mismatch repair defect in colorectal cancer and its implications in clinical practice. *Eur J Cancer.* 2018 May;95:112-116. doi: 10.1016/j.ejca.2018.01.087. Epub 2018 Mar 5. PMID: 29519639.
- 20 Singh H, Li YY, Spurr LF, Shinagare AB, Abhyankar R, Reilly E, Brais LK, Nag A, Ducar MD, Thorner AR, Shapiro GI, Keller RB, Siletti C, Clark JW, Farago AF, Lin JJ, Demetri GD, Gujrathi R, Kulke MH, MacConaill LE, Ligon AH, Sicinska E, Meyerson ML, Meyerhardt JA, Cherniack AD, Wolpin BM, Ng K, Giannakis M, Hornick JL, Cleary JM. Molecular Characterization and Therapeutic Targeting of Colorectal Cancers Harboring Receptor Tyrosine Kinase Fusions. *Clin Cancer Res.* 2021 Mar 15;27(6):1695-1705. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4073. Epub 2021 Jan 7. PMID: 33414136.
- 21 ISBN : 979 10 289 0555 2 Defossez G, Le Guyader Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 – Tumeurs solides. Saint Maurice (Fra) : Santé publique France, 2019. 372.
- 22 Colle R, Cohen R. Épidémiologie des tumeurs MSI : fréquence des tumeurs MSI en fonction de la localisation du cancer et de son stade [Epidemiology of microsatellite instability across solid neoplasms]. *Bull Cancer.* 2019 Feb;106(2):114-118. French. doi: 10.1016/j.bulcan.2018.07.019. Epub 2018 Nov 5. PMID: 30409467.
- 23 Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, Kang GH, Widschwendter M, Weener D, Buchanan D, Koh H, Simms L, Barker M, Leggett B, Levine J, Kim M, French AJ, Thibodeau SN, Jass J, Haile R, Laird PW. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* 2006 Jul;38(7):787-93. doi: 10.1038/ng1834. Epub 2006 Jun 25. PMID: 16804544.
- 24 Gay JT, Troxell T, Gross GP. Muir-Torre Syndrome. 2021 Jul 6. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan–. PMID: 30020643.
- 25 Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, Salipante SJ. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nat Med.* 2016 Nov;22(11):1342-1350. doi: 10.1038/nm.4191. Epub 2016 Oct 3. Erratum in: *Nat Med.* 2017 Oct 6;23(10):1241. Erratum in: *Nat Med.* 2018 Apr 10;24(4):525. PMID: 27694933.





## Résumé

**Introduction :** Les cancers colorectaux (CCR) présentant un déficit de la réparation des mésappariements de l'ADN et/ou une instabilité microsatellitaire (dMMR/MSI) représentent environ 15% des CCR localisés et 3% des CCR métastatiques. Les CCR dMMR/MSI peuvent être dus à un syndrome de Lynch (SL) ou à un mécanisme épigénétique lié à l'âge, principalement par hyperméthylation du promoteur du gène *MLH1*. Il est bien établi que les patients atteints de SL ont un risque élevé de cancer, mais il n'y a pas de données concernant le risque d'un second cancer dans les CCR dMMR/MSI sporadiques.

**Patients et méthodes :** Nous avons étudié le risque de présenter un autre cancer dans une cohorte prospective de 484 patients avec un CCR dMMR/MSI. Nous avons évalué l'incidence d'un autre cancer (antérieur ou ultérieur au diagnostic du CCR dMMR/MSI), quel que soit le stade ou le site tumoral.

**Résultats :** Nous avons identifié 116 patients avec un cancer antérieur ou ultérieur (24,0%) avec une moyenne de 1,3 cancers par patient avec au moins une autre tumeur. Les sites tumoraux les plus représentés étaient les tumeurs de la peau (19,6%) et les cancers du sein (19,6%). Il n'existait pas de différence du nombre de patients ayant un autre cancer entre les patients ayant un CCR dMMR/MSI lié au SL (26,1%) et les patients ayant un CCR dMMR/MSI sporadique (24,3%). Aucun facteur de risque ne semble évident pour identifier le risque d'un autre cancer dans notre cohorte, les populations avec et sans autres cancers sont tout à fait comparables. En revanche dans le groupe de patients avec un CCR dMMR/MSI sporadique les patients avec un autre cancer avaient plus souvent un CCR *BRAF* sauvage dMMR/MSI (32,9%) que les patients sans autre cancer (18,9%).

**Discussion :** Il semble donc important de surveiller les patients ayant des antécédents de CCR dMMR/MSI, même s'il s'agit d'un cas sporadique étant donné le nombre élevé d'autres cancers. Nous allons analyser ces autres cancers pour déterminer le statut MMR/MSI afin, d'une part comprendre le taux élevé d'autres cancers, et d'autre part adapter le suivi voire la prise en charge thérapeutique de cette population atteinte de CCR dMMR/MSI.

**Mots-clés :** cancer colorectal, instabilité microsatellitaire, déficit de réparation des mésappariements de l'ADN, second cancer primitif, syndrome de Lynch