

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE MEDECINE

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 135092 0



THESE N° 157/1

ANNEE 2005

EXPRESSION DE LA PROTEINE PMS2 DANS LES CANCERS

COLORECTAUX DU SUJET DE MOINS DE 40 ANS

THESE

POUR LE

DIPLÔME D'ETAT

DE DOCTEUR EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement le 25 octobre 2005

par

JULIEN PALASSE

Né le 21 mai 1975 à Toulouse (Haute-Garonne)

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 143930 4

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur François PARAF..... PRESIDENT
Monsieur le Professeur Denis VALLEIX..... JUGE
Madame le Professeur Elisabeth VIDAL..... JUGE
Madame le Docteur Barbara PETIT..... JUGE

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTÉ DE MÉDECINE



ANNEE 2005

THESE N° 157

**EXPRESSION DE LA PROTEINE PMS2 DANS LES CANCERS
COLORECTAUX DU SUJET DE MOINS DE 40 ANS**

THESE

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

présentée et soutenue publiquement le 25 octobre 2005

par

JULIEN PALASSE

Né le 21 mai 1975 à Toulouse (Haute-Garonne)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur François PARAF..... PRESIDENT
Monsieur le Professeur Denis VALLEIX..... JUGE
Madame le Professeur Elisabeth VIDAL..... JUGE
Madame le Docteur Barbara PETIT..... JUGE

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE MEDECINE**

DOYEN DE LA FACULTE:

Monsieur le Professeur VANDROUX Jean-Claude

ASSESEURS:

Monsieur le Professeur LASKAR Marc
Monsieur le Professeur VALLEIX Denis
Monsieur le Professeur COGNE Michel

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

ROCHE Doriane

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS:

* C.S = Chef de Service

ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
ADENIS Jean-Paul * (C.S)	OPHTALMOLOGIE
ALAIN Jean-Luc	CHIRURGIE INFANTILE
ALDIGIER Jean-Claude (C.S)	NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD-MOUVEROUX Françoise (C.S)	MEDECINE INTERNE
ARNAUD Jean-Paul (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
AUBARD Yves (C.S)	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
BEDANE Christophe (C.S)	DERMATOLOGIE
BERTIN Philippe	THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BONNAUD François (C.S)	PNEUMOLOGIE
BONNETBLANC Jean-Marie	DERMATOLOGIE
BORDESSOULE Dominique (C.S)	HEMATOLOGIE ET TRANSFUSION
CHAPOT René	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
CHARISSOUX Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
CLAVERE Pierre (C.S)	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre (C.S)	PSYCHIATRIE ADULTES
COGNE Michel (C.S)	IMMUNOLOGIE
COLOMBEAU Pierre	UROLOGIE
CORNU Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE
CUBERTAFOND Pierre	CLINIQUE DE CHIRURGIE DIGESTIVE
DANTOINE Thierry	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
DARDE Marie-Laure (C.S)	PARASITOLOGIE
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel (C.S)	PEDIATRIE
DENIS François (C.S)	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE-HYGIENE
DESCOTTES Bernard (C.S)	CHIRURGIE DIGESTIVE
DUDOGNON Pierre (C.S)	REEDUCATION FONCTIONNELLE
DUMAS Jean-Philippe (C.S)	CHIRURGIE UROLOGIQUE ET ANDROLOGIE
DUMONT Daniel (C.S)	MEDECINE DU TRAVAIL
FEISS Pierre (C.S)	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
FEUILLARD Jean (C.S)	HEMATOLOGIE
GAINANT Alain (C.S)	CHIRURGIE DIGESTIVE
GAROUX Roger (C.S)	PEDOPSYCHIATRIE
GASTINNE Hervé (C.S)	REANIMATION MEDICALE
JAUBERTEAU-MARCHAN Marie-Odile	IMMUNOLOGIE
LABROUSSE François (C.S)	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LASKAR Marc (C.S)	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
LE MEUR Yannick	NEPHROLOGIE
LE ROUX-ROBERT Claude (surnombre)	NEPHROLOGIE
LIENHARDT-ROUSSIE Anne	PEDIATRIE
MABIT Christian	ANATOMIE-CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
MARQUET Pierre	PHARMACOLOGIE ET TOXICOLOGIE

MAUBON Antoine (C.S)
MELLONI Boris
MENIER Robert (surnombre)
MERLE Louis
MOREAU Jean-Jacques (C.S)
MOULIES Dominique (C.S)
NATHAN-DENIZOT Nathalie
PARAF François
PILLEGAND Bernard
PIVA Claude (C.S)
PREUX Pierre-Marie
RIGAUD Michel (C.S)
SALLE Jean-Yves
SAUTEREAU Denis (C.S)
SAUVAGE Jean-Pierre (C.S)
STURTZ Franck
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre
TREVES Richard (C.S)
TUBIANA-MATHIEU Nicole (C.S)
VALLAT Jean-Michel (C.S)
VALLEIX Denis
VANDROUX Jean-Claude (C.S)
VERGNENEGRE Alain (C.S)
VIDAL Elisabeth (C.S)
VIGNON Philippe
VIROT Patrice (C.S)
WEINBRECK Pierre (C.S)
YARDIN Catherine (C.S)

RADIOLOGIE
PNEUMOLOGIE
PHYSIOLOGIE
PHARMACOLOGIE
NEUROCHIRURGIE
CHIRURGIE INFANTILE
ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
ANATOMIE PATHOLOGIQUE
HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE
MEDECINE LEGALE
INFORMATION MEDICALE ET EVALUATION
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION
HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE
OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES
RHUMATOLOGIE
CANCEROLOGIE
NEUROLOGIE
ANATOMIE – CHIRURGIE GENERALE
BIOPHYSIQUE ET TRAITEMENT DE L'IMAGE
EPIDEMIOLOGIE-ECONOMIE DE LA SANTE-PREVENTION
MEDECINE INTERNE
REANIMATION MEDICALE
CARDIOLOGIE
MALADIES INFECTIEUSES
HISTOLOGIE-CYTOLOGIE, CYTOGENETIQUE ET BIOLOGIE
CELLULAIRE ET DE LA REPRODUCTION

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

ALAIN Sophie
ANTONINI Marie-Thérèse
BOUTEILLE Bernard
CHABLE Hélène
DAVIET Jean-Christophe
DRUET-CABANAC Michel
DURAND-FONTANIER Sylvaine
ESCLAIRE Françoise

JULIA Annie
LAPLAUD Paul
MOUNIER Marcelle
PETIT Barbara
PLOY Marie-Cécile
RONDELAUD Daniel

VERGNE-SALLE Pascale

Bactériologie – virologie – hygiène hospitalière
Explorations Fonctionnelles Physiologiques
Parasitologie - mycologie
Biochimie et génétique moléculaire, chimie des explorations fonctionnelles
Médecine physique et réadaptation
Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Anatomie – Chirurgie Digestive
Laboratoire d'histologie-cytologie, cytogénétique et de
Biologie cellulaire et de la reproduction
laboratoire d'hématologie
Biochimie et génétique moléculaire, chimie des explorations fonctionnelles
Bactériologie – virologie – hygiène hospitalière
Anatomie et cytologie pathologiques
Bactériologie – virologie – hygiène hospitalière
Laboratoire d'histologie-cytologie, cytogénétique et de
Biologie cellulaire et de la reproduction
Rhumatologie

PROFESSEUR ASSOCIE A MI-TEMPS

BUCHON Daniel

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

BUISSON Jean-Gabriel

MEDECINE GENERALE

MEDECINE GENERALE

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE MEDECINE**

TITRES DES PROFESSEURS POUR LA REDACTION DES DEDICACES

PROFESSEUR DES UNIVERSITES de ou d'... + mention des titres dans l'ordre dans lequel ils apparaissent ci-dessous:

ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE PROFESSEUR DES UNIVERSITES
ADENIS Jean-Paul	OPHTALMOLOGIE OPHTALMOLOGISTE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
ALAIN Luc	CHIRURGIE INFANTILE CHIRURGIEN DES HOPITAUX
ALDIGIER Jean-Claude	NEPHROLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
ARCHAMBEAUD Françoise	MEDECINE INTERNE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
ARNAUD Jean-Paul	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE CHIRURGIEN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
AUBARD Yves	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE PROFESSEUR DES UNIVERSITES CHIRURGIEN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
BEDANE Christophe	DERMATOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
BERTIN Philippe	DOCTEUR EN MEDECINE DOCTEUR ES SCIENCES RHUMATOLOGUE DES HOPITAUX THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX
BONNAUD François	PNEUMOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE DOYEN HONORAIRE
BONNETBLANC Jean-Marie	DERMATOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX
BORDESSOULE Dominique	HEMATOLOGIE ET TRANSFUSION MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
BOUTROS-TONI Fernand	BIOSTATISTIQUES ET INFORMATIQUE MEDICALE BIOLOGISTE DES HOPITAUX DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES DOCTEUR EN BIOLOGIE HUMAINE: MATHEMATIQUES ET STATISTIQUES LAUREAT DE L'ACADEMIE NATIONALE DE MEDECINE
CHAPOT René	RADIOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX
CHARISSOUX Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
CLAVERE Pierre	CANCEROLOGIE RADIOTHERAPIE PRATICIEN HOSPITALIER CHEF DE SERVICE
CLEMENT Jean-Pierre	PROFESSEUR DES UNIVERSITES. PSYCHIATRIE D'ADULTES PSYCHIATRE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
COGNE Michel	IMMUNOLOGIE CHEF DE SERVICE

COLOMBEAU Pierre	UROLOGIE CHIRURGIEN DES HOPITAUX
CORNU Elisabeth	PROFESSEUR DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE PROFESSEUR DES UNIVERSITES PRATICIEN HOSPITALIER
CUBERTAFOND Pierre	CLINIQUE DE CHIRURGIE DIGESTIVE CHIRURGIEN DES HOPITAUX
DANTOINE Thierry	MEDECINE INTERNE GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECIN DES HOPITAUX
DARDE Marie-Laure	PARASITOLOGIE PRATICIEN HOSPITALIER CHEF DE SERVICE
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel	PEDIATRIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
DENIS François	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE HYGIENE BIOLOGISTE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
DESCOTTES Bernard	CHIRURGIE DIGESTIVE CHIRURGIEN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
DUDOGNON Pierre	REEDUCATION FONCTIONNELLE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
DUMAS Jean-Philippe	UROLOGIE CHIRURGIEN DES HOPITAUX
DUMAS Michel	NEUROLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX
DUMONT Daniel	MEDECINE DU TRAVAIL MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
DUPUY Jean-Paul	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE ELECTRORADIOLOGISTE DES HOPITAUX
FEISS Pierre	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ANESTHESIOLOGISTE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
FEUILLARD Jean	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE PROFESSEUR DES UNIVERSITES PRATICIEN HOSPITALIER CHEF DE SERVICE
GAINANT Alain	CHIRURGIE DIGESTIVE PRATICIEN HOSPITALIER CHEF DE SERVICE
GAROUX Roger	PEDOPSYCHIATRIE PSYCHIATRE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
GASTINNE Hervé	REANIMATION MEDICALE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile	IMMUNOLOGIE CLINIQUE PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECIN DES HOPITAUX
LABROUSSE François	ANATOMIE PATHOLOGIQUE PRATICIEN HOSPITALIER CHEF DE SERVICE
LACROIX Philippe	PROFESSEUR DES UNIVERSITES – PRATICIEN HOSPITALIER MEDECINE VASCULAIRE
LASKAR Marc	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE CHIRURGIEN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE

LE MEUR Yannick	NEPHROLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX
LEROUX-ROBERT Claude	NEPHROLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DES HOPITAUX
LIENHARDT-ROUSSIE Anne	PEDIATRIE PEDIATRE DES HOPITAUX
MABIT Christian	ORTHOPEDIE-TRAUMATOLOGIE CHIRURGIEN DES HOPITAUX
MARQUET Pierre	PROFESSEUR DES UNIVERSITES PRATICIEN HOSPITALIER PHARMACOLOGIE
MAUBON Antoine	PROFESSEUR DES UNIVERSITES RADIOLOGIE CHEF DE SERVICE
MELLONI Boris	PNEUMOLOGIE
MENIER Robert	PHYSIOLOGIE BIOLOGISTE DES HOPITAUX
MERLE Louis	PHARMACOLOGIE CLINIQUE MEDECIN DES HOPITAUX
MOREAU Jean-Jacques	NEUROCHIRURGIE NEUROCHIRURGIEN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
MOULIES Dominique	CHIRURGIE INFANTILE CHIRURGIEN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
NATHAN-DENIZOT Nathalie	ANESTHESIE REANIMATION CHIRURGICALE MEDECIN DES HOPITAUX
PARAF François	ANATOMIE PATHOLOGIQUE PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECIN DES HOPITAUX
PILLEGAND Bernard	HEPATOLOGIE-GASTRO-ENTEROLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
PIVA Claude	MEDECINE LEGALE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
PREUX Pierre-Marie	PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE SANTE PUBLIQUE PRATICIEN HOSPITALIER
RIGAUD Michel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE BIOLOGISTE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
SALLE Jean-Yves	MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECIN DES HOPITAUX
SAUTEREAU Denis	HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE PRATICIEN HOSPITALIER
SAUVAGE Jean-Pierre	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE OTO-RHINO-LARYNGOLOGISTE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
STURTZ Franck	PROFESSEUR DES UNIVERSITES PRATICIEN HOSPITALIER
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre	ENDOCRINOLOGIE DIABETOLOGIE MALADIE METABOLIQUES MEDECINE DE LA REPRODUCTION PROFESSEUR DES UNIVERSITES PRATICIEN HOSPITALIER
TREVES Richard	RHUMATOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
TUBIANA-MATHIEU Nicole	PRATICIEN HOSPITALIER CHEF DE SERVICE

VALLAT Jean-Michel	NEUROLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
VALLEIX Denis	ANATOMIE – CHIRURGIE GENERALE CHIRURGIEN DES HOPITAUX
VANDROUX Jean-Claude	BIOPHYSIQUE ET TRAITEMENT DE L'IMAGE BIOLOGISTE DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE DOYEN DE LA FACULTE DE MEDECINE
VERGNEGRE Alain	EPIDEMIOLOGIE, SANTE PUBLIQUE (EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE SANTE, PREVENTION) PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
VIDAL Elisabeth	MEDECINE INTERNE CHEF DE SERVICE
VIGNON Philippe	REANIMATION MEDICALE MEDECIN DES HOPITAUX
VIROT Patrice	CARDIOLOGIE MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
WEINBRECK Pierre	MALADIES INFECTIEUSES MEDECIN DES HOPITAUX CHEF DE SERVICE
YARDIN Catherine	Praticien Hospitalier CHEF DE SERVICE
BUCHON Daniel	MEDECINE GENERALE PROFESSEUR ASSOCIE A MI-TEMPS

A Isabelle

A NOTRE PRESIDENT ET DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur PARAF

Professeur des Universités d'Anatomie Pathologique

Praticien hospitalier

Pour m'avoir confié ce travail, pour ta patience et ton implication, pour la qualité de tes conseils, et les bons moments passés à la faculté,
Trouves ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur VALLEIX

Professeur des universités d'Anatomie

Chirurgien des Hôpitaux

Vous nous faites l'honneur de juger cette thèse et nous vous en remercions, nous avons pu apprécier votre grande expérience de la chirurgie colorectale au travers du grand nombre de vos patients concernés par cette étude.

Veillez trouver ici l'expression de notre estime et de notre profond respect.

A NOS JUGES

Madame le Professeur VIDAL

Professeur des Universités de médecine interne

Praticien hospitalier

Chef de service

Vous avez accepté avec spontanéité de juger notre travail et nous sommes très heureux de vous le présenter.

Pour tous les bons souvenirs encore très présents.

Veillez trouver ici l'expression de notre estime et de notre profond respect.

A NOS JUGES

Madame le Docteur PETIT

Maître de conférence Universitaire

Praticien hospitalier

Pour avoir accepté de juger ce travail, pour ta patience, pour tes conseils synthétiques et la disponibilité dont tu as toujours fait preuve.

Trouves ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

Merci...

A mes parents

A ma famille

A Hélène

A Aurélie, Julien B&V

A tous mes amis et ceux que j'aime

Au Professeur Labrousse pour m'avoir accueilli et formé

Aux médecins du service : la discrète Isabelle, Véronique qui m'a toujours fait confiance, Manuela qui m'a souvent réveillé au microscope le mercredi matin et qui est toujours prête à rendre service.

A Véronique et tous mes anciens co-internes qui m'ont supporté.

A tous les médecins du service d'Anatomie Pathologique de Rangueil, surtout Anne dont j'ai envahi le bureau quelques mois.

A toutes les techniciennes et assimilées d'Anatomie Pathologique : compétence, classe, distinction, humour, blondeur, ragots, sport, régime, blagues, migraine et attention sont les mots qui vous définissent le mieux.

Aux techniciens, heureusement que vous êtes là pour calmer les précédentes.

Aux secrétaires qui sont tout au fond du labo, mais que l'on n'oublie pas.

Aux jeunes du laboratoire d'Hématologie et même Jean-Luc.

Et tous ceux que j'ai oubliés.....

I. INTRODUCTION	2
II. CANCER COLORECTAL HEREDITAIRE NON POLYPOSIQUE	4
II.1. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE	4
II.2. ASPECTS CLINIQUES	12
II.3. ASPECTS HISTOPATHOLOGIQUES	14
II.4. CRITÈRES DU DIAGNOSTIC	15
III. MATERIEL ET METHODES	20
III.1. EFFECTIF	20
III.2. ETUDE ANATOMOPATHOLOGIQUE STANDARD	21
III.3. IMMUNOHISTOCHIMIE	22
III.4. ETUDE DES MICROSATELLITES	27
III.5. LECTURE DES RÉSULTATS	29
III.6. ETUDE STATISTIQUE	29
IV. RESULTATS	30
IV.1. DONNÉES CLINIQUES	30
IV.2. DONNÉES MACROSCOPIQUES	30
IV.3. DONNÉES MICROSCOPIQUES	31
IV.3.1. EXTENSION TUMORALE ET FACTEURS APPARENTÉS	31
IV.3.2. DIFFÉRENCIATION	32
IV.3.3. AUTRES CRITÈRES	32
IV.4. RÉSULTATS IMMUNOHISTOCHIMIQUES	33
IV.5. INSTABILITÉ DES MICROSATELLITES	36
IV.6. RÉSULTATS COMPARATIFS	38
V. DISCUSSION	41
VI. CONCLUSION	48
VII. BIBLIOGRAPHIE	49

I. INTRODUCTION

Le cancer colorectal représente en France 15 % de l'ensemble des cancers. Il se situe en terme d'incidence, au troisième rang de tous les cancers, après le cancer du sein et de la prostate. L'incidence nationale est estimée à environ 36 200 nouveaux cas par an (1). Le cancer colorectal est un cancer grave, responsable en France de 16 000 décès annuels, et dont le taux de survie à 5 ans dans les études de population est d'environ 55 %, toutes formes confondues (2).

Deux situations bien différentes doivent être considérées au plan génétique.

Les formes sporadiques représentent plus de 90 % des cancers colorectaux et surviennent en dehors de tout contexte familial ou héréditaire. Ces cancers se développent le plus souvent à partir de polypes adénomateux, lésions précancéreuses qui représentent une étape de la cancérogenèse colorectale. Le dépistage de ces malades et la surveillance après traitement sont bien codifiés, en particulier depuis la Conférence Française de Consensus de 1998 sur la prévention, le dépistage et la prise en charge des cancers du côlon (3).

Les formes héréditaires sont liées à deux grands syndromes à transmission autosomique dominante : la polypose adénomateuse familiale et le cancer colorectal héréditaire non polyposique encore appelé syndrome de Lynch ou HNPCC pour "Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer". Les malades atteints de ces formes héréditaires ont un risque cumulé au cours de la vie de développer un cancer colorectal supérieur à 80 %. Le diagnostic est fait dans plus de la moitié des cas avant l'âge de 50 ans, alors que l'âge moyen de survenue du cancer colorectal dans la population générale se situe entre 65 et 70 ans (4, 5).

Les cancers colorectaux développés sur une polypose adénomateuse familiale représentent environ 1 % des cancers colorectaux (5). Cette maladie se caractérise par le développement précoce dans le côlon et le rectum de plusieurs centaines à plusieurs milliers de polypes adénomateux. L'âge moyen de découverte des adénomes colorectaux est de 25 ans

et celui du cancer colorectal, de 42 ans (5). La polypose adénomateuse familiale est transmise selon un mode autosomique dominant et sa pénétrance est estimée entre 80 et 100 %. Elle est due à des mutations du gène APC (Adenomatous Polyposis Coli) localisé en 5q21, qui aboutissent le plus souvent à la synthèse d'une protéine tronquée (5). En France, la majorité des familles et des malades atteints de polypose adénomateuse familiale est connue, répertoriée, explorée sur le plan génétique, et suivie de manière adaptée sur un plan clinique et endoscopique (6).

En revanche, les malades atteints d'un syndrome HNPCC représentent environ 5 % de l'ensemble des cas de cancer colorectal et de nombreux cas sont méconnus du fait de l'absence de signes cliniques ou endoscopiques évocateurs.

II. CANCER COLORECTAL HEREDITAIRE NON POLYPOSIQUE

II.1. Biologie moléculaire

Le syndrome HNPCC est caractérisé par des altérations constitutionnelles de gènes de réparation de mésappariements de l'ADN appelés MLH1 (human Mutl homolog 1), MSH2 (human MutS homolog 2), MSH6 (human MutS homolog 6), PMS1 (human postmeiotic segregation 1) et PMS2 (human postmeiotic segregation 2). Ces gènes détectent et remplacent les bases mal appariées lors de la synthèse de l'ADN. Ils appartiennent au groupe des « gènes gardiens » (caretaker) qui interviennent dans le maintien de l'intégrité du génome, par opposition aux gènes dits « garde barrière » (gatekeeper) tels que p53 et Ki-ras qui régulent la prolifération cellulaire et la croissance tumorale (7).

Ces protéines détectent et remplacent les bases mal appariées lors de la synthèse d'ADN. En effet, lors de la réplication, des mésappariements de nucléotides résultant d'un dérapage répliatif de l'ADN polymérase peuvent survenir au niveau de séquences répétitives (8). Ces erreurs de réplication peuvent échapper à l'activité dite de relecture d'épreuve de l'ADN polymérase et sont alors corrigées par le système de réparation des mésappariements post-répliatifs. Chez la bactérie *Escherichia coli*, il s'agit du système MutHLS, qui reconnaît l'erreur de réplication sur le brin d'ADN nouvellement synthétisé grâce à son absence de méthylation. En effet, chez les procaryotes, les résidus adénine des sites GATC sont méthylés par un enzyme du gène Dam. Au cours de la réplication de l'ADN, le brin nouvellement synthétisé reste non méthylé pendant une période transitoire ce qui permet sa reconnaissance par le système de réparation des mésappariements de l'ADN. On assiste alors à une cascade de réactions.

- La protéine Mut S se lie au mésappariement.
- La protéine Mut L se lie au complexe MutS ADN, déclenchant l'activité endonucléasique latente de la protéine Mut H.
- On assiste alors à l'excision des nucléotides non conformes par action d'une hélicase et d'une exonucléase, puis à une nouvelle synthèse d'ADN par l'ADN polymérase III, et la SSB (single-strand DNA-binding protein).
- Une ADN ligase termine la réparation.

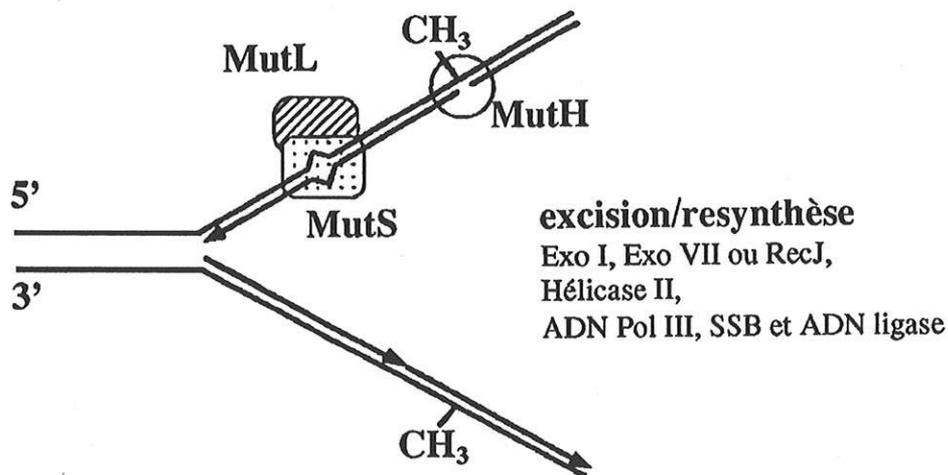


Figure 1. Action du système de réparation MutHLS de *E. coli* sur un mésappariement au niveau de la fourche de réplication de l'ADN.

Ce système de réparation est plus complexe chez les eucaryotes. En effet, chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, le mésappariement est reconnu par un hétérodimère homologue de Mut S, formé des protéines MSH2/MSH6 dans le cas de mésappariements liés à la substitution ou à l'insertion/délétion d'une base, ou formé des protéines MSH2/MSH3 dans le cas de mésappariements liés à l'insertion/délétion d'une ou plusieurs paires de bases.

ou de séquences plus longues (9, 10). Puis un second hétérodimère, homologue de Mut L, constitué par les protéines MLH1 et PMS1 (MLH1 et PMS2 chez l'homme) ou les protéines MLH1 et MLH3 (MLH1 et PMS2 chez l'homme), va se complexer au premier pour former un complexe tétramérique et ainsi réaliser la réparation de l'ADN par des étapes d'excision, de synthèse et de ligation (8).

Reconnaissance d'un mésappariement par substitution d'une seule base



Reconnaissance d'un mésappariement par insertion/délétion

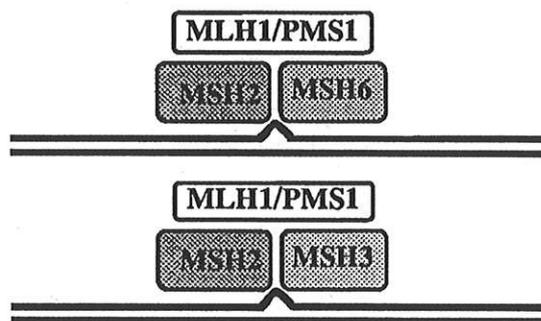


Figure 2. Modélisation de la reconnaissance des mésappariements de l'ADN chez *S.cerevisiae*.

Il est à noter que les gènes MSH2, MSH3, MSH6, MLH1 et PMS1 identifiés chez la levure sont respectivement les homologues des gènes humains MSH2, MSH3, MSH6, MLH1 et PMS2. Des études par immunoprécipitation et spectrométrie de masse ont montré la présence des protéines MLH1, MSH2 et MSH6 dans le complexe BASC (BRCA1-associated genome surveillance complex), qui associe à la protéine BRCA1 un ensemble de plusieurs sous-unités protéiques et pourrait jouer un rôle de détecteur des anomalies de l'ADN (7).

Gène MLH1

Le gène MLH1 humain a été localisé en 1994 par hybridation in situ fluorescente sur le bras court du chromosome 3 (3p21.3) (11). Il est constitué de 19 exons étendus sur environ 100 kb et comporte dans les exons 1 à 7 une région hautement conservée dans les gènes MLH1 et PMS1 de la levure (12). Son ADN complémentaire comporte 2 268 paires de bases et la protéine 726 acides aminés (13). La protéine siège dans le noyau cellulaire pendant toute la durée du cycle cellulaire avec une diminution d'expression de 50 % en fin de phase G1 et pendant la phase S (14). La protéine MLH1 est exprimée dans de nombreux tissus normaux : côlon, rectum, sein, poumon, rate, ganglions lymphatiques, testicule, prostate, thyroïde, vésicule biliaire, myocarde, lymphocytes. Dans les ganglions lymphatiques, la protéine MLH1 est exprimée par les cellules des centres germinatifs des follicules lymphoïdes et dans l'épithélium digestif par les cellules épithéliales du tiers inférieur des glandes (14). Des ARN messagers variants dus à des phénomènes d'épissage alternatif aboutissant à la perte d'un ou plusieurs exons ont été observés dans différents tissus (15).

Gène MSH2

Le gène MSH2 humain a été localisé en 1993 sur le bras court du chromosome 2 (2p22-p21) par étude d'hybrides somatiques (16). Il est constitué de 73 kb, contient 16 exons, et son ADN complémentaire comporte 2727 paires de bases (17). La protéine comporte 934 acides aminés (16, 17) et a une expression tissulaire similaire à celle de la protéine MLH1 (14, 18, 19). Le niveau d'expression de l'ARN messager et de la protéine MSH2 ne varie pas pendant le cycle cellulaire (13). Comme pour MLH1, des ARN messagers variants dus à des phénomènes d'épissage alternatif aboutissant à une perte d'un ou plusieurs exons ont été

observés dans différents tissus (15). La protéine MSH2 agit sous la forme d'un hétérodimère formé avec la protéine MSH6 ou la protéine MSH3.

Gène MSH6

Le gène MSH6 humain, encore appelé GTBP pour « G/T binding protein », a été localisé en 1995 sur le bras court du chromosome 2 (2p16), à une distance maximale de 0.5 Mb du gène MSH2 (9). On pense ainsi que MSH2 et MSH6 pourraient résulter de la duplication d'un gène Mut S primitif. Le gène MSH6 comporte 10 exons et la protéine correspondante 1 360 acides aminés. Elle a pour fonction essentielle de corriger les mésappariements liés à la substitution ou à l'insertion/délétion d'une seule base, sous la forme d'un hétérodimère MSH2-MSH6 (9). Il a été montré que l'extrémité N-terminale des protéines MSH6 et MSH3 contient un site de liaison au « proliferating cell nuclear antigen » (PCNA), suggérant ainsi que MSH6 et MSH3 pourraient intervenir dans le processus de réparation de l'ADN par l'intermédiaire d'une interaction avec le PCNA (20).

Gène MSH3

Le gène MSH3 humain, localisé en 1989 sur le bras long du chromosome 5 (5q11-q12) en amont du gène de la dihydrofolate réductase, a été identifié grâce à une homologie de séquence de plus de 50 % de la partie C-terminale de la protéine correspondante avec la protéine MutS de *Escherichia coli* et la protéine MSH3 de la levure (21). Il comporte 24 exons étendus sur 160 kb (22). La protéine MSH3, constituée de 1 128 acides aminés, forme un hétérodimère avec la protéine MSH2 qui corrige les mésappariements liés à l'insertion/délétion de plusieurs paires de bases ou de séquences plus longues (8, 9).

Gènes PMS1 et PMS2

Les gènes humains PMS1 et PMS2 ont été respectivement localisés en 1994 par hybridation in situ fluorescente sur le bras long du chromosome 7 (2q31-q33) et sur le bras court du chromosome 7 (7q22) (23). Ces deux gènes ont été appelés PMS1 et PMS2 car ils possèdent une grande homologie de séquence avec le gène PMS1 de la levure. En effet, la protéine PMS1 de la levure a une homologie de 27% avec une protéine de 932 acides aminés codée par un cadre ouvert de lecture de 2795 pb contenu dans l'ADN complémentaire du gène PMS1 humain, et une homologie de 32% avec une protéine de 862 acides aminés contenu dans l'ADN du gène complémentaire du gène PMS2 humain (10). Le gène PMS2 comporte 15 exons répartis sur 16 kb (24). On lui rattache une famille de gènes localisés sur le bras long du chromosome 7 qui partagent avec PMS2 un degré élevé d'homologie de séquence des exons 1 à 5 (24). Les protéines PMS1 et PMS2 comportent respectivement 932 et 862 acides aminés et agissent sous la forme d'un hétérodimère avec la protéine MLH1 (23).

De la mutation constitutionnelle au cancer

Les anomalies des gènes de réparation de l'ADN entraînent des erreurs de réplication et une instabilité génomique (25). Contrairement à l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur ou à l'activation d'un oncogène, l'inactivation d'un gène de réparation des mésappariements de l'ADN n'intervient pas directement au cours de la transformation maligne mais facilite les événements de cette transformation. En effet, l'inactivation somatique du second allèle d'un gène de la réparation a pour conséquence une instabilité des

séquences répétitives présentes dans le génome. Cette instabilité a deux conséquences principales :

- une mutation du récepteur du TGF bêta de type II, qui contient dans sa région codante une séquence répétée de 10 résidus adénines. La délétion d'une ou de deux adénines conduit à l'inactivation de ce récepteur qui permet normalement la transmission d'un signal inhibiteur de la prolifération cellulaire. La distribution cellulaire du récepteur du TGF bêta de type II au niveau des cellules épithéliales, en particulier coliques, pourrait expliquer le spectre des cancers s'intégrant au syndrome HNPCC (26, 27).

- une mutation du gène Bax qui est un promoteur de l'apoptose. Ainsi, une délétion ou une insertion d'une guanine dans une séquence de 8 guanines au sein du gène Bax est retrouvée dans 50 % des cancers coliques ayant une mutation d'un gène de réparation de l'ADN. Ainsi, une cellule avec un phénotype mutateur, contenant de multiples mésappariements de l'ADN, ne pourra pas évoluer vers l'apoptose ce qui favorisera l'émergence d'un cancer (28).

L'altération des gènes de réparation de l'ADN est responsable du syndrome HNPCC qui entraîne le développement accéléré des cancers colorectaux. Les individus atteints héritent de l'allèle muté d'un des gènes de réparation de l'ADN du parent atteint, et de l'allèle sauvage du parent non atteint. L'activité de réparation de l'ADN est maintenue dans les tissus normaux grâce à l'expression de la protéine produite par l'allèle sauvage (14, 19). Pendant la croissance tumorale, l'allèle sauvage présent dans les cellules tumorales est inactivé par mutation, délétion ou hyperméthylation, ce qui entraîne une perte de l'expression de la protéine et une déficience de réparation des mésappariements de l'ADN conduisant à une

augmentation du taux de mutations spontanées des loci microsatellites (10, 29-32). Cette anomalie qui a été appelée initialement phénotype RER (pour « replication error »), puis actuellement instabilité des microsatellites, correspond à une augmentation du taux de mutations dénommée phénotype mutateur (25). Une instabilité des microsatellites est présente dans presque tous les adénocarcinomes colorectaux, ainsi que dans la majorité des adénomes associés au syndrome HNPCC (29, 32-36). Une instabilité des microsatellites est également présente dans 10 à 15 % des cancers colorectaux sporadiques, soit par inactivation somatique des deux allèles d'un gène de réparation de l'ADN, soit par méthylation de résidus cytosine situés sur le promoteur du gène MLH1. Dans ce cas la séquence des deux allèles est normale, mais la méthylation du promoteur entraîne une inactivation des deux allèles et l'absence de synthèse de la protéine MLH1 dans les cellules tumorales (37, 38).

Les mutations germinales des gènes de réparation de l'ADN responsables du syndrome HNPCC concernent dans environ 90 % des cas les gènes MLH1 et MSH2, plus rarement les gènes MSH6, PMS1 et PMS2. Le nombre de mutations pathogènes différentes rapportées est de plus de 332, concernant le gène MLH1 dans 49 % des cas, le gène MSH2 dans 38 % des cas, le gène MSH6 dans 9 % des cas, les gènes PMS2 et MLH3 dans 2 % des cas chacun et enfin le gène PMS1 avec une seule mutation germinale rapportée (39). Aucune mutation constitutionnelle du gène MSH3 responsable de syndrome HNPCC n'a été signalée chez l'homme.

II.2. Aspects cliniques

La première observation de cancers du côlon et de l'endomètre survenant dans une même famille date de la fin du XIX^e siècle. En 1895, la couturière du docteur Alfred Whartin lui déclara qu'elle devrait mourir jeune d'un cancer colique ou gynécologique, car « la plupart des membres de sa famille mourraient de ces cancers ». Conformément à cette prédiction, elle mourut d'un cancer de l'endomètre (40). Cette famille, connue désormais sous le nom de famille G, fut étudiée par Whartin (41-43) puis par d'autres (44, 45). Ce n'est qu'une soixantaine d'années plus tard que fut reconnue la valeur de l'agrégation, dans la famille G, de cancers du côlon, de l'endomètre et de l'estomac à la suite de la publication par Henry Lynch de la généalogie détaillée de deux familles à cancers sous l'appellation de syndrome du cancer familial (« cancer family syndrome ») (46). En 1984, ce syndrome fut appelé cancer colorectal héréditaire non polyposique (« hereditary nonpolyposis colorectal cancer » : HNPCC) ou syndrome de Lynch (47). Son mode de transmission autosomique dominant fut établi par analyse de ségrégation en 1986 (48).

On distingue deux formes cliniques du syndrome HNPCC en fonction de la présence ou de l'absence de cancers extra-coliques (40, 49).

Le type I (syndrome de Lynch I) ou syndrome HNPCC site spécifique, se caractérise par une susceptibilité héréditaire au cancer colorectal dans une même famille avec une transmission autosomique dominante, un âge moyen de survenue du cancer situé entre 41 et 44 ans, soit environ 20 ans plus tôt que dans la population générale, une localisation préférentielle au côlon droit, et un excès de cancer colorectaux synchrones et métachrones (40, 50).

Le type II (syndrome de Lynch II) associé au cancer colorectal, des tumeurs extra-coliques dites du spectre HNPCC, dont la famille G décrite par Whartin est un exemple (45). Cette association à d'autres tumeurs est possible chez le proposant ou d'autres membres de sa famille. Les cancers qui ont été observés dans les familles atteintes du syndrome de Lynch II, sont, outre les adénocarcinomes de l'endomètre (51, 52), des adénocarcinomes de l'estomac (30, 19), des carcinomes urothéliaux de l'uretère et du bassinet (53, 54), des adénocarcinomes de l'intestin grêle (55), du pancréas (56), des voies biliaires (57, 58), de l'ovaire (59), du sein (57, 60), des cancers cutanés (61, 62), du larynx (63), des tumeurs cérébrales (64, 65, 66), et des hémopathies malignes (67, 68). On distingue parmi les syndromes de Lynch II deux syndromes particuliers :

- l'association à des tumeurs cutanées des glandes sébacées qui porte le nom de syndrome de Muir-Torre (61, 62, 69-73).

- l'association à des tumeurs cérébrales qui porte le nom de syndrome de Turcot (74, 75). Ce syndrome est en fait hétérogène et comporte des entités distinctes :

- la première se caractérise par des malades présentant un cancer colorectal, un petit nombre d'adénomes colorectaux (moins de 100) et une tumeur cérébrale astrocytaire à un âge jeune. Les tumeurs de ces malades présentent une instabilité des microsatellites, et des mutations constitutionnelles ont été identifiées au sein des gènes de réparation de mésappariements de l'ADN. Cette première entité s'apparente donc au syndrome HNPCC.

- la deuxième se caractérise par la survenue de tumeurs du système nerveux central, le plus souvent de type médulloblastome, dans un contexte de polypose adénomateuse familiale colique. Des mutations constitutionnelles du gène APC ayant été identifiées chez de tels malades, il s'agit donc d'une vraie polypose adénomateuse familiale avec

manifestations tumorales extra-coliques, entrant dans le cadre de ce qui était anciennement appelé le syndrome de Gardner.

II.3. Aspects histopathologiques

Certaines particularités tumorales ont été retrouvées avec une plus grande fréquence dans les syndromes HNPCC que dans les cancers colorectaux sporadiques (76). Certaines sont bien connues ; il s'agit d'un siège préférentiel au niveau du côlon droit, d'une faible différenciation ou d'une différenciation mucineuse (77-80), la présence d'un front d'extension de type expansif (81). D'autres, consistant en une réaction lymphocytaire intra-tumorale importante et une réaction inflammatoire lymphoïde péri-tumorale, ont été moins étudiés (80).

Bien que le syndrome HNPCC ne soit pas associé à une polypose colique, les cancers colorectaux présents dans ce syndrome peuvent être le résultat de la transformation d'adénomes (82, 83). Ces adénomes sont souvent multiples, de grande taille, de morphologie le plus souvent villositaire et semblent se transformer plus vite que dans la population générale (49, 84). De plus, les polypes adénomateux sont plus nombreux chez les malades ayant un cancer colorectal dans le cadre d'un syndrome HNPCC que chez les malades ayant un cancer colorectal sporadique (50, 83).

Le terme de cancer colorectal héréditaire non polyposique semble donc mal adapté à ce syndrome, du fait de la présence possible de polypes adénomateux et de cancers extra-coliques, ce qui fait proposer la dénomination de syndrome de déficience héréditaire des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN ou HMRDS pour « hereditary mismatch repair deficiency syndrom » (85).

II.4. Critères du diagnostic

Comme il n'existe pas de phénotype caractéristique de la maladie, tant clinique qu'anatomopathologique chez un individu donné, des critères, dits critères d'Amsterdam I, ont été définis lors d'une conférence internationale en 1990 afin de collecter des familles de cancers colorectaux héréditaires pour identifier les différents gènes en cause (86-89).

En pratique courante, ces critères cliniques sont restrictifs et difficiles à réunir, et de plus sont incomplets pour permettre l'identification de tous les malades (85, 90-92). C'est pourquoi des critères moins stricts ont été ultérieurement proposés, les critères de Bethesda, en 1998, les critères d'Amsterdam II et en 2004 les critères de Bethesda modifiés (tableaux 1 et 2). Cependant de nombreux sujets susceptibles d'avoir un gène de prédisposition héréditaire au syndrome HNPCC sont probablement méconnus (93) : il s'agit de malades sans antécédents présentant un cancer colorectal avant l'âge de 50 ans ou bien de malades qui, quel que soit leur âge, ont déjà une histoire personnelle ou familiale de cancers colorectaux ou d'autres cancers du spectre HNPCC.

Les conséquences de cette méconnaissance sont graves pour le suivi du malade lui-même et de ses apparentés. En effet, les recommandations internationales prévoient pour la surveillance des membres de la famille ayant un syndrome HNPCC (94-96) :

- une coloscopie dès l'âge de 25 ans ou 5 ans avant l'âge d'apparition de premier cas de cancer dans la famille s'il survient plus tôt. Cet examen doit être répété tous les deux ans, et sans limite d'âge de fin
- une fibroscopie gastrique tous les ans ou tous les 2 ans

- chez les femmes, un examen gynécologique annuel avec échographie endovaginale éventuellement complétée d'un frottis aspiratif après l'âge de 30 ans ainsi qu'une échographie ovarienne

- une échographie rénale annuelle dans le cas de familles où des membres sont atteints de tumeurs urothéliales des voies urinaires supérieures.

Cette surveillance a fait la preuve de son efficacité avec une diminution de la mortalité par cancer colorectal dans le groupe dépisté par rapport à un groupe de malades atteints du syndrome HNPCC ayant refusé d'être suivis régulièrement (97-99).

Lorsque la maladie est exprimée, en particulier en cas de découverte d'adénomes, une colectomie prophylactique peut être proposée. De même, en raison du risque important de survenue de cancers métachrones (40 % à 10 ans), une colectomie totale avec anastomose iléo-rectale est proposée chez les malades appartenant à une famille HNPCC, porteurs d'une mutation et opérés pour un cancer colorectal (100).

A l'occasion de la colectomie, une hystérectomie et une ovariectomie peuvent être proposées aux femmes ménopausées ou aux femmes âgées de plus de 40 ans ne désirant plus d'enfants.

Tableau 1.

Critères d'Amsterdam du cancer colorectal héréditaire non polyposique (88, 89).

Nom	Critères
<u>Amsterdam I</u> 1990	<ul style="list-style-type: none"> - 3 membres de la famille atteints d'un cancer colique ou rectal prouvé histologiquement - 2 sujets unis par un lien de parenté au premier degré - au moins deux générations sont affectées - Un des cancers au moins découvert avant l'âge de 50 ans - Absence de polypose adénomateuse familiale
<u>Amsterdam II</u> 1998	<ul style="list-style-type: none"> - Au moins 3 sujets atteints d'un cancer du spectre HNPCC prouvé histologiquement (adénocarcinome colorectal, de l'endomètre, de l'intestin ou tumeur urothéliale des voies urinaires supérieures) - 2 sujets unis par un lien de parenté au premier degré - Au moins deux générations successives affectées - Un des cancers au moins découvert avant l'âge de 50 ans - Absence de polypose adénomateuse familiale si présence de cancers colorectaux

Tableau 2.

Critères cliniques de Bethesda du cancer colorectal héréditaire non polyposique (86,92).

Nom	Critères
<u>Bethesda</u> 1996	<ul style="list-style-type: none"> - Malade avec critères d'Amsterdam I. - Malade avec 2 cancers du spectre HNPCC incluant cancers synchrones ou métachrones. - Malade avec cancer colorectal et apparenté au premier degré ayant un cancer colorectal ou un adénome ou un cancer apparenté HNPCC avec âge de découverte d'un des cancers inférieur à 45 ans ou d'un adénome inférieur à 40 ans. - Malade âgé de moins de 45 ans avec cancer colorectal touchant le côlon droit et histologie peu différenciée ou en bague à chaton.
<u>Bethesda modifié</u> 2004	<ul style="list-style-type: none"> - Présence de tumeurs synchrones ou métachrones colorectales ou du spectre HNPCC, âge indifférent. - Cancer colorectal diagnostiqué chez un patient de moins de 50 ans. - Cancer colorectal avec caractéristiques histologiques de type MSI élevé diagnostiqué chez un patient de moins de 60 ans. - Cancer colorectal diagnostiqué chez 2 personnes ou plus, de la famille au premier ou deuxième degrés, en association avec un cancer du spectre HNPCC, quelque soit leur âge.

Ainsi, un syndrome HNPCC peut être évoqué à partir de critères familiaux, de critères cliniques et de critères histologiques. Cette détection peut être affinée par des éléments ne faisant pas partie des systèmes de critères diagnostiques :

- par biologie moléculaire en recherchant une instabilité génomique ou phénotypique RER positif (101-103).
- par méthode immunohistochimique en détectant une perte de l'expression normale des protéines de réparation de l'ADN (101,104-106).

Le but de ce travail a été de rechercher de manière rétrospective par immunohistochimie l'existence d'une perte d'expression des protéines MSH2, MLH1, MSH6 et PMS2, et de la comparer à l'existence d'une instabilité des séquences microsatellite recherchée par biologie moléculaire. Nous avons étudié une population de malades âgés de moins de 40 ans, car l'âge moyen des malades opérés d'un cancer colorectal se situant entre 65 et 70 ans, la probabilité d'avoir une forme héréditaire est plus élevée lorsqu'il survient chez des malades jeunes (107, 108).

III. MATERIEL ET METHODES

III.1. Effectif

Il s'agit d'une étude rétrospective, à partir des pièces de colectomie pour cancer colorectal analysées dans le laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHRU de Limoges, associées à 15 cas communiqués par des laboratoires extérieurs (tableau 3).

Les critères d'inclusion des malades ont été :

- âge inférieur ou égal à 40 ans lors de l'intervention chirurgicale
- adénocarcinome colorectal vérifié histologiquement.

Tableau 3. Origine des prélèvements

Origine	Nombre
Chirurgie A	14
Chirurgie B	22
Chirurgie Pédiatrique	1
Clinique Chénieux	2
Clinique des Emailleurs	1
Cabinet de pathologie et Centre Hospitalier d'Angoulême	5
Hôpital Le Kremlin Bicêtre	1
Cabinet de pathologie de Brive	2
Hôpital de Guéret	4
Cabinet de pathologie de Montauban	1
Service de Génétique CHU de Poitiers	1
Hôpital de Saint-Junien	2

III.2. Etude anatomopathologique standard

Toutes les pièces de colectomie ont suivi le même processus afin d'arriver à l'examen histologique.

- Etude macroscopique

Elle est réalisée sur pièce opératoire fraîche.

Elle comporte :

- la localisation tumorale. La classification retenue a été celle utilisée dans les études épidémiologiques où le côlon droit est défini comme étant situé en amont de l'angle colique gauche suivi du côlon gauche et du rectum. Cette classification a été retenue en raison de sa plus grande fréquence dans les études publiées (109)
- la longueur de la pièce opératoire
- la taille tumorale (hauteur, largeur, épaisseur)
- le pourcentage d'envahissement par rapport à la circonférence (1/4, 1/2, 3/4, 4/4)
- la distance entre le pôle de la tumeur et la limite de résection la plus proche
- la distance par rapport à la marge anale pour les cancers du rectum
- l'aspect macroscopique (bourgeonnant, ulcérant, infiltrant, plan)
- la présence ou l'absence de perforation
- la présence de polypes associés et leurs types
- le nombre de ganglions lymphatiques présents sur la pièce opératoire après fixation.

Si leur nombre était inférieur à 12, nombre nécessaire pour conclure de manière fiable à l'absence d'atteinte ganglionnaire depuis la révision 1997 de la classification TNM, une post-fixation du mésocôlon dans le liquide de Bouin était effectuée afin d'obtenir un nombre supérieur de ganglions lymphatiques (110).

- Préparation histologique

Après l'examen macroscopique, les pièces ont été fixées 24 heures dans du formol à 10 % puis un échantillonnage représentatif a été fait comportant au moins trois blocs de tumeur et un bloc de tissu sain.

Les prélèvements ont été inclus en paraffine après déshydratation dans un appareil automatique (Shandon, Cheshire, UK).

Des coupes de 5 μ m ont été réalisées et colorées par l'hématéine éosine safran (HES).

III.3. Immunohistochimie

L'étude immunohistochimique a été réalisée sur la première tumeur en cas de tumeurs métachrones ou sur la tumeur de stade le plus avancé en cas de tumeurs synchrones.

Anticorps utilisés

Les différents anticorps utilisés et leurs caractéristiques principales sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4. Anticorps utilisés

Anticorps	Localisation	Espèce d'origine	Nature	Dilution	Fournisseur
MLH1	Nucléaire	Souris	Monoclonal IgG1	1/20	Calbiochem clone FE11
MSH2	Nucléaire	Souris	Monoclonal IgG1	1/30	Pharmingen clone G-168-15
MSH6	Nucléaire	Souris	Monoclonal IgG1	1/125	Becton Dickinson clone 44
PMS2	Nucléaire	Souris	Monoclonal IgG1	1/150	BD Pharmingen clone A16-4

Anticorps anti MLH1

Le clone G168-15 produit des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre la protéine humaine MLH1. L'isotype des anticorps est IgG1.

L'anticorps a été utilisé à une concentration de 1/20.

Les centres clairs des follicules lymphoïdes et l'épithélium colique non tumoral ont servi de témoin interne positif pour l'anticorps anti MLH1.

Anticorps anti MSH2

Le clone FE11 a été obtenu en immunisant une souris BALB/c avec le fragment carboxy-terminal de la protéine humaine MSH2 puis en les fusionnant avec la lignée cellulaire de myélome murin SP2/0. Ce clone produit donc des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre une protéine humaine. L'isotype des anticorps est IgG1 κ .

L'anticorps a été utilisé à une concentration de 1/30.

Les centres clairs des follicules lymphoïdes et l'épithélium colique non tumoral ont servi de témoin interne positif pour l'anticorps anti MSH2.

Anticorps anti MSH6

Le clone 44 produit des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre la protéine humaine MSH6. L'isotype des anticorps est IgG1.

L'anticorps a été utilisé à une concentration de 1/125.

Dans ce travail, les centres clairs des follicules lymphoïdes et l'épithélium colique non tumoral ont servi de témoin interne positif pour l'anticorps anti MSH6.

Anticorps antiPMS2

Le clone A16-4 produit des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre la protéine humaine PMS2. L'isotype des anticorps est IgG1 κ .

L'anticorps a été utilisé à une concentration de 1/50.

Les centres clairs des follicules lymphoïdes et l'épithélium colique non tumoral ont servi de témoin interne positif pour l'anticorps anti PMS2.

Technique

Pour les anticorps MLH1, MSH2 et MSH6 et PMS2 il a été utilisé une technique automatisée sur BenchMark XT (Ventana).

A partir des blocs, des coupes de 5µm sont réalisées. Les coupes sur lame sont placées directement dans la machine où elles subissent les étapes suivantes :

- Pour MSH2 et MSH6

→ déparaffinage à l'EZ Prep® (Ventana)

→ application du tampon CC1 (Cell Conditioner 1 Ventana), solution tampon de démasquage à pH8, pendant 60 minutes

→ rinçage avec le Reaction Buffer (Ventana), solution tampon à pH 7,5-7,6

→ application du I-view Inhibitor (Ventana), produit inhibant les peroxydases endogènes

→ rinçage avec le Reaction Buffer (Ventana), solution tampon à pH 7,5-7,6

→ application de l'anticorps et incubation 32 minutes

→ application de I-view Biotin Ig (Ventana), réactif servant à visualiser le signal antigénique, et incubation 8 minutes

→ application de I-view SA-HRP (Ventana), réactif servant à visualiser le signal antigénique, et incubation 8 minutes

→ application de I-view DAB (Ventana) chromogène, et de I-VIEW H2O2 (Ventana) eau oxygénée servant à activer le chromogène, incubation 8 minutes

→ application de I-view Copper (Ventana), réactif servant à fixer la réaction immunologique, et incubation 4 minutes

→ contre coloration à l'Hemotoxylin II (Ventana) et incubation 8 minutes

→ post contre coloration au Bluing Reagent (Ventana) et incubation 4 minutes

→ rinçage de la lame au Reaction buffer (Ventana)

Les lames sont ensuite montées à l'Eukitt (Prolabo, Paris).

- Spécificités du cycle concernant MLH1

Après incubation de l'anticorps anti MLH1 :

→ application de Amplifier A (Ventana), kit d'amplification du signal immunologique, et incubation 8 minutes

→ application de Amplifier B (Ventana), kit d'amplification du signal immunologique, et incubation 8 minutes

Puis reprise du protocole commun aux anticorps MSH2 et MSH6 à l'étape application de I-view Biotin Ig.

- Spécificités du cycle concernant PMS2

Application du tampon CC1 pendant 90 minutes.

Après incubation de l'anticorps anti PMS2 :

→ application de Amplifier A (Ventana), kit d'amplification du signal immunologique, et incubation 8 minutes

→ application de Amplifier B (Ventana), kit d'amplification du signal immunologique, et incubation 8 minutes

→ application de Blocker A (Ventana), réactif servant à bloquer les biotines endogènes, et incubation 4 minutes

→ application de Blocker B (Ventana), réactif servant à bloquer les biotines endogènes, et incubation 4 minutes

Puis reprise du protocole commun aux anticorps MSH2 et MSH6 à l'étape application de I-view Biotin Ig.

III.4. Etude des microsatellites

L'étude de l'instabilité des microsatellites a été réalisée pour 23 cas dans le laboratoire du docteur Michel Longy de l'Institut Bergonié à Bordeaux

Pour les 16 premiers cas, l'ADN a été extrait sur place à partir de tissu normal et de tissu tumoral obtenus de blocs d'inclusion en paraffine différents selon un protocole précédemment décrit (111). En bref, une coupe tissulaire de 10 µm d'épaisseur a été déparaffinée et incubée pendant 3 h à 60°C avec 250 µl de tampon TNE (Tris pH 8, 10 mM ; EDTA pH 8, 1 mM ; NaCl pH 8, 100 mM) et de la protéinase K à la concentration de 10 µg/100 µl. L'ADN était ensuite purifié dans une colonne (Wizard DNA clean up system, Promega, Madison, WI, USA), rincé à travers une minimembrane (Ultrafree MC 30, Millipore SA, Saint-Quentin en Yvelines, France), et repris dans 50 µl de tampon TE (Tris pH 8, 10 mM ; EDTA pH 8, 1 mM).

Pour les 7 autres cas, l'ADN a été extrait dans le service d'Anatomie Pathologique à Limoges selon le protocole QIAamp DNA mini kit (Qiagen S.A., Courtaboeuf, France) en suivant les recommandations du fabricant, à l'exception de la digestion par la protéinase K qui était effectuée pendant 18 heures. Le tissu utilisé provenait de blocs de paraffine dans 3 cas, et de matériel congelé dans 4 cas. Le produit d'extraction étant ensuite envoyé à l'Institut Bergonié de Bordeaux

Cinq microlitres du produit final d'extraction ont été utilisés comme matrice pour l'amplification par PCR de six microsatellites : BAT25, BAT26, BAT40, L-mycVpA, D16S512 et D16S515 à l'aide d'amorces fluorescentes. Les produits d'amplification ont été séquencés sur un séquenceur ABI Prism 377 (Perkin Elmer/Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) et analysés avec le logiciel Genescan 6712 (Perkin Elmer/Applied Biosystems, Courtaboeuf, France).

La recherche d'une instabilité des microsatellites a ensuite été réalisée pour 10 cas à Limoges. L'ADN a été extrait à partir de blocs de tumeurs et de tissu sains inclus en paraffine, selon le protocole QIAamp DNA mini kit (Qiagen S.A., Courtaboeuf, France) comme précédemment. Entre 100 et 200 ng d'ADN extrait a été utilisé comme matrice pour l'amplification par PCR de 5 microsatellites : BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27. Le protocole d'amplification suivi est celui mis au point par le docteur Richard Hamelin de l'INSERM U434, du Centre d'Etude du Polymorphisme Humain à Paris (112). Les produits d'amplification ont été séquencés sur un séquenceur ABI Prism 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) et analysé avec le logiciel Gen scan 3.1 (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France).

Pour le cas provenant de Montauban, le pathologiste qui a fait parvenir le prélèvement a fait réaliser la recherche d'instabilité par le docteur Janick Selves du centre hospitalier de Toulouse Purpan.

L'instabilité des microsatellites était définie par la présence d'allèles de taille anormale des produits amplifiés à partir de l'ADN tumoral par rapport aux produits amplifiés à partir de l'ADN non tumoral correspondant. Les tumeurs ayant une instabilité microsatellitaire de type élevée (MSI-H pour "MSI high") étaient définies comme ayant une instabilité d'au moins 30 % des marqueurs étudiés, les tumeurs ayant une instabilité microsatellitaire de type faible (MSI-L pour "MSI low") étaient définies comme ayant une instabilité de moins 30 % des marqueurs étudiés, et les tumeurs sans instabilité microsatellitaire étaient définies comme n'ayant aucun marqueur instable (113).

III.5. Lecture des résultats

Toutes les coupes histologiques et immunohistochimiques ont été analysées par deux anatomopathologistes.

L'interprétation a été bimodale, présence ou absence de perte d'expression au niveau des noyaux des cellules tumorales, les centres clairs des follicules lymphoïdes et l'épithélium colique non tumoral servant de témoin positif interne.

III.6. Etude statistique

Les données ont été saisies sur le logiciel Exel 5 (Microsoft) puis exportées et analysées sur le logiciel Statwiev 4.5 (Abacus concept Inc.)

IV. RESULTATS

IV.1. Données cliniques

56 patients d'âge inférieur ou égal à 40 ans ont été inclus.

L'âge moyen de ces 55 malades à la date de leur intervention chirurgicale était de 34,3 \pm 5,8 ans (extrêmes 14,6 - 40,9 ans).

Il y avait 25 femmes et 30 hommes, respectivement 46,4 % et 53,6 %, soit un sexe ratio de 1,15.

IV.2. Données macroscopiques

Le siège des tumeurs était le suivant : côlon droit 26,8 %, côlon gauche 44,6 %, rectum 28,6 %.

La taille de la tumeur était en moyenne de 5,0 \pm 2,4 cm.

La distance moyenne par rapport à la section chirurgicale la plus proche était de 8 \pm 8,3 cm.

Le nombre moyen de ganglions par pièce opératoire était de 12,6 \pm 8,6.

IV.3. Données microscopiques

IV.3.1. Extension tumorale et facteurs apparentés

• Le degré d'envahissement en profondeur était, selon la classification TNM, réparti ainsi :

pTis (intra muqueux)	1,8 %
pT1 (limité à la sous muqueuse)	0,0 %
pT2 (limité à la musculieuse)	14,2 %
pT3 (envahissement sous séreux)	55,4 %
pT4 (envahissement du revêtement séreux ou des organes de voisinage)	28,6 %

• Le nombre moyen de ganglions lymphatiques envahis par pièce opératoire était de $2,7 \pm 3,8$. Leur répartition, suivant la classification TNM, était la suivante :

pN0 (absence de ganglions atteints)	41,0 %
pN1 (de 1 à 3 ganglions atteints)	25,0 %
pN2 (plus de 3 ganglions atteints)	34,0 %

La présence d'une effraction capsulaire n'est pas prise en compte dans cette classification, mais était présente dans 20 % des cas.

• La présence d'une métastase synchrone était retrouvée dans 20 % des cas ; 80 % des patients ne présentaient pas de métastase au moment de l'exérèse tumorale. Les métastases étaient situées au niveau : du péritoine dans 3 cas, du foie dans 10 cas, des

poumons dans 2 cas, de l'estomac dans 1 cas et du duodénum dans 1 cas. Les métastases ont été examinées en histologie dans 10 cas sur 11.

- Des embols tumoraux vasculaires étaient présents dans 59 % des tumeurs.
- La présence d'engainements tumoraux péri-nerveux était mise en évidence dans 25,0 % des cas.
- Une des marges chirurgicale proximale ou distale était le siège d'un envahissement tumoral dans 1,8 % des cas.

IV.3.2. Différenciation

Dans 64,3 % des cas, la tumeur correspondait à un adénocarcinome bien ou moyennement différencié, et dans 21,4 % des cas à un adénocarcinome mucineux.

IV.3.3. Autres critères

- La présence d'une composante adénomateuse en périphérie de la tumeur était mise en évidence dans 14,5 % des cas.
- Le front d'expansion tumoral, situé à la partie la plus profonde de la tumeur, était dans 55,4 % des cas de type expansif et dans 44,6 % des cas de type infiltrant.
- La présence d'une réaction lymphoïde péri-tumorale de niveau 2, comprenant au moins 2 follicules lymphoïdes, était retrouvée dans 26,8 % des cas.

IV.4. Résultats immunohistochimiques

- La perte d'expression d'au moins une protéine était trouvée dans 19 cas soit 34,0 %.

- Une perte d'expression de la protéine MLH1 était trouvée dans 8 cas, soit dans 14,2 % des cas. La perte n'était jamais isolée, elle était associée à une perte d'expression de PMS2 dans 7 cas et associée à une perte d'expression de PMS2 et de MSH6 dans 1 cas.

- Une perte d'expression de la protéine MSH2 était trouvée dans 8 cas, soit dans 14,2 % des cas. La perte était isolée dans 1 cas et associée à une perte d'expression de MSH6 dans 7 cas.

- Une perte d'expression de la protéine MSH6 était trouvée dans 10 cas, soit 18,0 % des cas. Cette perte était isolée dans 2 cas soit 3,6 %, associée à une perte d'expression de MSH2 dans 7 cas et associée à une double perte MLH1/PMS2 dans 1 cas.

- Une perte d'expression de la protéine PMS2 était retrouvée dans 9 cas, soit 16,0% des cas. Cette perte était isolée dans 1 cas soit 1,8% des cas de la série, associée à une perte d'expression de MLH1 dans 7 cas, et associée à une perte d'expression de MLH1 et de MSH6 dans 1 cas (figures 3 et 4).

Tous les cas présentant une perte d'expression sont détaillés dans le tableau 5.

Tableau 5. Profils des pertes d'expression en immunohistochimie et instabilités microsatellites correspondantes.

Cas	Sexe	Age	Siège	MSI	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2
87001948	M	28	Côlon droit	Elevé	Perte	Normal	Normal	Perte
92009603	M	28,8	Côlon gauche	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
96014417	M	36,1	Côlon gauche	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
97008394	M	38	Côlon droit	Elevé	Perte	Normal	Normal	Perte
98000728	M	30,1	Côlon gauche	Faible	Perte	Normal	Normal	Perte
98008569	M	31,7	Côlon gauche	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
98009090	F	22,2	Côlon gauche	Elevé	Perte	Normal	Normal	Perte
98009294	M	26,2	Côlon droit	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
99001160	F	23,9	Côlon droit	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
99011892	M	37,5	Rectum	Non fait	Perte	Normal	Normal	Perte
00012010	M	39,8	Côlon gauche	Elevé	Normal	Normal	Normal	Perte
01007142	F	39,4	Côlon droite	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
02004260	F	38	Côlon gauche	Elevé	Normal	Perte	Normal	Normal
02005724	M	26,6	Côlon droit	Elevé	Normal	Normal	Perte	Normal
02005980	M	39,2	Côlon gauche	Elevé	Perte	Normal	Normal	Perte
03003114	F	37,3	Côlon droit	Elevé	Perte	Normal	Perte	Perte
03004090	M	33,1	Côlon droit	Elevé	Normal	Perte	Perte	Normal
04008017	M	35,7	Côlon droit	Non fait	Normal	Normal	Perte	Normal
05001640	M	36,5	Côlon droit	Elevé	Perte	Normal	Normal	Perte

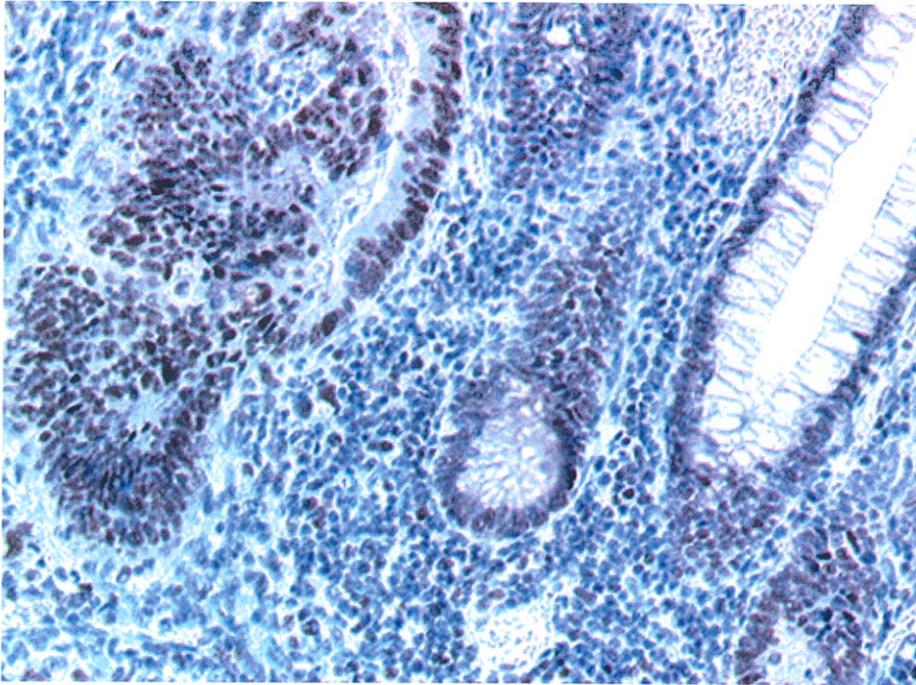


Figure 3. Adénocarcinome moyennement différencié colique gauche
chez une femme de 39,9 ans (x100).

Expression normale de la protéine PMS2 par la muqueuse normale et la tumeur.

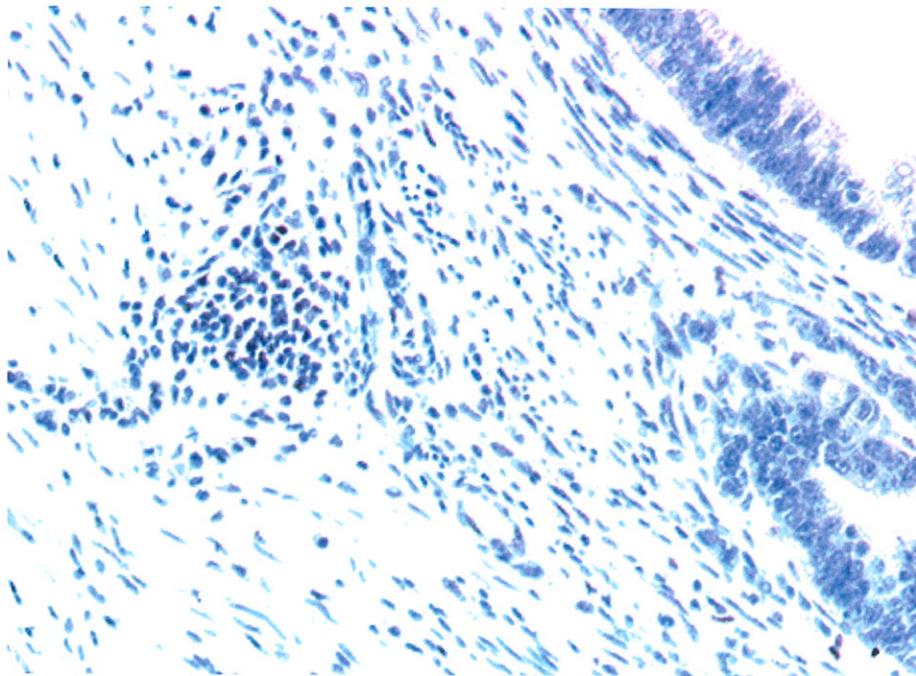


Figure 4. Adénocarcinome mucineux de siège colique gauche
chez un homme de 39,8 ans (x100).

Expression normale de la protéine PMS2 par les lymphocytes
et perte d'expression par la tumeur.

IV.5. Instabilité des microsatellites

Sur les 56 malades concernés, 34 ont bénéficié d'une étude de l'instabilité des microsatellites, 16 avaient une tumeur de phénotype stable, 1 une tumeur de phénotype MSI faible et 17 une tumeur de phénotype MSI élevé.

Tous les patients présentant une perte d'expression en immunohistochimie avaient un phénotype MSI élevé ou MSI faible, aucun d'entre eux un phénotype MSI stable (tableaux 5 et 6).

Un cas présentait une instabilité microsatellite de type élevée, mais sans perte d'expression des protéines de réparation.

A noter, 14 tumeurs fixées au liquide de Bouin et non congelées, ainsi que 3 cas présentant de trop rares cellules tumorales secondairement à une radiothérapie pré-opératoire, n'ont pas pu être étudiés.

Cinq cas récents n'ont pas encore été étudiés.

Tableau 6. Phénotypes des microsatellites de la série.

Statut microsatellites	Statut IHC normal	Perte en IHC	Total
MSI élevé	1	16	17
MSI faible	0	1	1
Stable	16	0	16
Non fait	20	2	22

Dans cette série, la sensibilité de l'examen immunohistochimique par rapport à la recherche d'instabilité est de 94,4 %, avec une spécificité de 100 %.

La valeur prédictive positive de l'examen immunohistochimique par rapport à la recherche d'instabilité est de 100 %.

La valeur prédictive négative de l'examen immunohistochimique par rapport à la recherche d'instabilité est de 94,4 %. (tableau 7)

Tableau 7. Phénotypes des microsatellites selon leur statut en immunohistochimie.

	MSI élevé ou faible	MSI stable
Perte d'expression en IHC	17	0
Pas de perte d'expression en IHC	1	16
Total	18	16

IV.6. Consultation d'oncogénétique

Parmi tous les cas, à notre connaissance, 10 ont bénéficié d'une consultation génétique soit 17,8 % des cas (tableau 8).

Dans ce groupe, 9 présentent une perte d'expression d'au moins une protéine, parmi eux 8 étaient de phénotype MSI élevé et le dernier n'a pas pu bénéficier d'une étude de l'instabilité en raison d'un très faible reliquat tumoral après radiothérapie pré-opératoire. La consultation d'oncogénétique a été suivie d'une recherche de mutation des gènes de MLH1 et MSH2 dans 7 cas, 3 présentaient une mutation de MSH2 dont 2 personnes de la même famille. Les 4 autres ne présentaient pas de mutation décelée.

Un cas ne présentait pas de perte protéique, mais son statut MSI n'a pu être déterminé en raison d'un très faible reliquat tumoral après une radiothérapie pré-opératoire.

Tableau 8. Répartition des cas ayant bénéficié d'une consultation d'oncogénétique.

	Perte d'expression	Absence de perte
Consultation d'oncogénétique	9	1
Statut MSI élevé	8	0
Statut MSI impossible	1	1
Recherche de mutation MLH1, MSH2	7	0
Mutation détectée	3	0

IV.7. Résultats comparatifs

Le groupe des cancers colorectaux présentant une perte d'expression d'au moins une protéine de réparation a été comparé au groupe ne présentant pas de perte d'expression (tableau 9).

Le groupe présentant une perte d'expression avait les caractéristiques suivantes :

- Prépondérance masculine avec 73,7 % versus 43,2 % ($p = 0,0306$)
- Siège principalement au côlon droit ($p = 0,0018$)
- Taille supérieure de la tumeur avec $6 \pm 3,2$ cm versus $4,6 \pm 1,8$ cm ($p = 0,0474$)
- Absence de ganglions envahis, statut N0 ($p = 0,0425$)
- Mode d'extension principalement expansif ($p = 0,048$)
- Présence d'une réaction lymphoïde péri tumorale de grade 2 ($p = 0,0002$)
- Présence d'une instabilité des microsatellites de type élevé ou faible avec respectivement 94,1 % et 5,9 % versus 5,9 % et 0 % ($p < 0,0001$).

Le groupe présentant une perte n'était pas différent de l'autre concernant les points suivants :

- L'âge moyen d'apparition était de 33 ans versus 35,2 ans ($p = 0,2356$)
- L'infiltration de la paroi colique du stade Tis à T4 présentait une répartition quasi identique dans les 2 groupes ($p = 0,6765$)
- La présence de métastases au moment du diagnostic était identique dans les 2 groupes ($p = 0,8491$)
- Les types de différenciation selon l'OMS présentaient une répartition équivalente dans les 2 groupes ($p = 0,9738$), avec 63,2 % de bien à moyennement différencié dans le groupe avec perte versus 64,9 %, 15,8 % de peu différencié versus 13,5 % et 21 % de mucineux versus 21,6 %.

Tableau 9. Corrélations clinico-pathologiques. Résultats exprimés en pourcentages

Caractéristiques anatomo-cliniques	Perte en IHC N=19	Statut IHC normal N=37	p
Age moyen (ans)	33,0 ± 5,7	35,2 ± 5,8	0,2356 NS
Sexe			
- hommes	73,7	43,2	0.0306
- femmes	26,3	56,8	
Siège			
- droit	52,6	13,5	0,0018
- gauche	42,1	46,0	
- rectum	5,3	40,5	

Taille (en cm)		6 ± 3,2	4,6 ± 1,8	0,474
T				
-	Tis	0	2,7	0,6765 NS
-	T2	10,5	16,2	
-	T3	52,6	56,8	
-	T4	36,9	24,3	
N				
-	N0	63,2	29,7	0,0425
-	N1	10,5	32,4	
-	N2	26,3	37,9	
M				
-	M0	79	81	0,8491 NS
-	M1	21	19	
Différenciation				
-	bien-moyen	63,2	64,9	0,9738 NS
-	peu	15,8	13,5	
-	mucineux	21	21,6	
Mode d'extension				
-	infiltrant	26,3	54	0,048
-	expansif	73,7	46	
Réaction lymphoïde péri-tumorale de grade 2		57,9	10,8	0,0002
Statut microsatellite				
-	stable	0	94,1	<0,0001
-	faible	5,9	0	
-	élevé	94,1	5,9	

V. DISCUSSION

Les critères d'Amsterdam sont souvent considérés comme trop restrictifs pour la recherche de syndrome de type HNPCC, environ 17 % des patients porteurs de mutations répondent aux critères d'Amsterdam stricts. Nous avons étudié l'expression des 3 principales protéines de réparation de l'ADN MLH1, MSH2, MSH6, associée à celle de PMS2 dans un groupe de tumeurs à haut risque de perte d'expression des protéines de réparation de l'ADN (111, 113). En effet cette population d'âge inférieur à 40 ans représente seulement 1 % des cancers colorectaux diagnostiqués, mais cette précocité au diagnostic est plus fréquemment retrouvée dans un contexte d'HNPCC que dans les cancers sporadiques.

La présence d'une instabilité des microsatellites est la marque des cancers de type HNPCC, mais elle nécessite le recours à un laboratoire de biologie moléculaire, et semble difficile à effectuer en routine pour tous les cancers colorectaux. En revanche, les techniques d'immunohistochimie sont simples, rapides, moins coûteuses et largement répandues dans les laboratoires d'anatomie pathologique. La recherche d'une perte d'expression des protéines de réparation de l'ADN en immunohistochimie semble être la première étape à réaliser dans la détection de cancers pouvant appartenir au syndrome HNPCC (114, 115-117).

La perte d'expression d'une protéine de réparation de l'ADN est retrouvée dans notre série dans 34 % des cas. Cette proportion est nettement supérieure à la fréquence du syndrome HNPCC qui est estimé à moins de 5 % de tous les cancers colorectaux et à la fréquence des cancers colorectaux avec instabilité microsatellitaire de type élevée dans les cancers colorectaux sporadiques qui est de 10 à 15 % (115). Sur l'effectif étudié, la perte d'une

protéine de réparation de l'ADN concernait la protéine MLH1 dans 14,2 % des cas, la protéine MSH2 dans 14,2 % des cas, la protéine MSH6 dans 3,6 % des cas et la protéine PMS2 dans 1,8 % des cas. La perte d'une protéine que ce soit MLH1 ou MSH2 était constatée dans 16 cas sur 19, ce qui se conforme aux données de la littérature pour lesquelles, plus de 80 % des mutations présentes dans le syndrome HNPCC, sont retrouvées sur les gènes de MLH1 et MSH2 (118).

Le fait que les patients soient très jeunes permet de penser que la perte de MLH1 n'est pas due à une hyperméthylation du promoteur du gène MLH1, mais à une mutation du gène. Cette méthylation est retrouvée dans la majorité des cancers colorectaux sporadiques avec instabilité microsatellitaire et perte d'expression de MLH1, dont la fréquence augmente avec l'âge (119).

Il existe deux couples de double perte déjà connus : celui de la paire MSH2/MSH6 et celui de la paire MLH1/PMS2. Dans notre série, la double perte MSH2/MSH6 est présente 7 fois. Elle a déjà été rapportée dans des cancers colorectaux provenant de familles atteintes de syndrome HNPCC par mutation germinale de MSH2 (120-123). Les protéines MSH2 et MSH6 agissent ensemble sous la forme d'un hétérodimère homologue de MutS. Des études *in vivo* chez la souris et *in vitro* sur cellules humaines ont montré que la protéine MSH6 est instable en l'absence de son partenaire la protéine MSH2 (124, 125). Ce phénomène est causé par une dégradation rapide de la protéine MSH6 lorsqu'elle ne peut former des hétérodimères fonctionnels avec MSH2. Ainsi, une mutation germinale du gène MSH2 responsable d'une perte d'expression de la protéine MSH2 pourrait expliquer la perte d'expression simultanée de la protéine MSH6.

Seuls 2 cas avaient une perte d'expression isolée de la protéine MSH6, il s'agissait de 2 hommes, l'un âgé de 26,6 ans opéré d'un adénocarcinome du côlon droit de stade pT3N2

présentant une instabilité microsatellite de type élevée, l'autre âgé de 35,7 ans opéré d'un adénocarcinome du côlon droit de stade pT3N0, dont le statut des microsatellites n'a pas été déterminé, en raison d'une fixation de la pièce au liquide de Bouin. Cela est en accord avec les 5 % de mutations germinales de MSH6 retrouvés sur l'ensemble des mutations des protéines de réparation de l'ADN dans les cancers de type HNPCC (126). Sur ces 2 cas, un seul a bénéficié d'une recherche d'instabilité des microsatellites, elle s'est révélée être de statut MSI élevé. On ne peut préjuger du statut MSI du deuxième cas. Le gène MSH2 présente une activité de réparation de l'ADN dans la sous-unité MutS en association avec MSH6 ou MSH3. Or il existe une redondance d'activité partielle entre MSH3 et MSH6 dans leur fonction de réparation, de ce fait la perte de MSH6 n'est pas forcément liée à un statut MSI élevé, et se présente cliniquement de manière différente. La perte de MSH6 est souvent associée à des cancers du côlon ou de l'endomètre, dans des familles ne répondant pas aux critères d'Amsterdam (127). De plus, il a été montré que MSH6 était rarement impliqué dans le développement d'une instabilité microsatellitaire dans les cancers du côlon sporadiques (128).

Toutes les tumeurs avec perte d'expression de MLH1 avaient également une perte d'expression de la protéine PMS2. Cette double perte a déjà été rapportée dans la littérature (121-123). Ces deux protéines forment un hétérodimère, et correspondent à MutL α chez la bactérie. Une perte de MLH1 due à une mutation peut par conséquent entraîner une perte secondaire de PMS2 par absence de formation du complexe. En effet, l'absence de ligation induirait une dégradation de PMS2, car les ARNm de PMS2 sont toujours retrouvés dans le cytoplasme des cellules tumorales même en l'absence de ce dernier (122).

On remarque aussi qu'une de nos tumeurs présentait une perte isolée d'expression de la protéine PMS2, associée à un phénotype MSI élevé. Il s'agit d'un homme de 39,8 ans ayant

un adénocarcinome de type mucineux localisé au côlon gauche avec des métastases hépatiques synchrones, décédé 5 mois après l'intervention chirurgicale avant que ne puisse être réalisée une enquête familiale. Ce type de perte isolée associée à un tel phénotype a déjà été décrit dans la littérature (129). Cette absence d'expression de PMS2 peut être expliquée de deux façons :

- soit l'anomalie est située au niveau de PMS2, aboutissant à une perte et un phénotype MSI-H. En effet, il est admis par certains que PMS2 peut être responsable d'une faible proportion de syndromes HNPCC selon un mode autosomique dominant, bien que la pénétrance d'une mutation germinale de PMS2 soit très inférieure aux mutations des gènes des autres protéines de réparation de l'ADN (123, 127, 130).

- soit l'anomalie est située au niveau de MLH1. Dans ce cas, il peut s'agir d'une mutation germinale de MLH1 non mise en évidence par le marquage immunohistochimique ou bien d'une mutation somatique de MLH1 ne permettant pas la formation du complexe MLH1/PMS2 (129).

Selon les équipes, la nécessité d'inclure PMS2 dans le panel des anticorps utilisés pour la recherche de perte d'expression des protéines de réparation de l'ADN est discuté. Pour Rigau *et al.* (121) cela n'est pas nécessaire. En effet, ils ont observé dans leur série seulement 4 cas de pertes isolées de PMS2 et toutes avaient des séquences microsatellites stables. En revanche selon de Jong *et al.* (123) l'usage de PMS2 leur a permis de trouver de vraies pertes de PMS2 et d'accroître significativement l'identification de porteurs d'une mutation germinale de MLH1 (116, 127).

Pour que la fonction de réparation de l'ADN soit effective, l'hétérodimère MLH1/PMS2 doit être importé du cytoplasme vers le noyau. Pour pouvoir se lier et être importés dans le noyau MLH1 et PMS2 doivent avoir des séquences C-terminales conservées. Si la mutation concerne PMS2, celui-ci ne peut se lier à MLH1, mais MLH1 peut être présent

au niveau du noyau. L'hétérodimère MLH1/PMS2 constitue MutL α , mais il ne faut pas oublier que MLH1 peut aussi se lier à MLH3 et PMS1 pour constituer MutL. Ainsi l'absence de PMS2 n'induit pas forcément l'absence de MLH1 (128), mais elle peut aussi révéler des mutations de MLH1 non détectées par l'immunohistochimie. Certaines mutations comme des mutations non sens, certaines délétions et certaines variantes non identifiées peuvent inactiver la fonction d'une protéine, mais pas son expression. L'expression de MLH1 en immunohistochimie peut alors être normale, dans cette situation, la mutation ne sera révélée que par la perte de PMS2. L'étude de l'expression de PMS2 affine celle de MLH1, car la détection de la perte de MLH1 semble liée dans certains cas aussi bien au type d'anticorps utilisé, qu'au pré-traitement réalisé. Cette utilité est renforcée dans le cas de sujets jeunes, car il est moins probable que la perte de MLH1 soit secondaire à une hyperméthylation du promoteur, comme chez les sujets âgés, qu'à une mutation germinale délétère. Ainsi, Rigau *et al.* (121) n'ont pas jugé bon d'inclure PMS2 dans les protéines à rechercher, car ils considéraient que la majorité des tumeurs de statut MSI élevé associée à une perte de MLH1 devaient présenter une hyperméthylation du promoteur (122, 123, 127, 131).

L'immunohistochimie est efficace dans la recherche de mutations produisant une protéine tronquée ou rapidement dégradée, mais elle est moins sensible vis-à-vis de mutations inactivant la fonction sans aboutir à une dégradation de la protéine.

Dans notre série, seul un cas présentait une perte isolée de PMS2. Il s'agissait d'un homme de 39,8 ans opéré d'une adénocarcinome mucineux du colon gauche. Une précédente étude avait montré une expression clinique identique aux autres cancers avec perte d'une protéine de réparation, à l'exception d'une prépondérance masculine (127, 132). Dans ce cas, le sexe et le caractère peu différencié du cancer correspondent. Cependant, il ne représente que 1,8 % des cancers de cette série de cas de moins de 40 ans, soit à peu près le même

pourcentage que dans la population générale, seule une étude portant sur un nombre supérieur de cas pourrait rechercher l'importance de l'âge (127).

Le rôle de la protéine PMS2 paraît encore très sous-évalué dans le cancer colorectal, car elle a été peu étudiée dans les séries, étant considérée comme mineure. D'autre part, il est parfois difficile de mettre en évidence une mutation du gène, du fait de la présence de nombreuses séquences homologues sur le même chromosome. Ces séquences, parfois situées dans un locus proche de celui de PMS2, interfèrent avec la détection des mutations. Il en résulte un sous diagnostic des mutations de PMS2 (132).

La recherche d'une instabilité des microsatellite est toujours considérée comme le « gold standard » pour le dépistage des cancers de type HNPCC, mais l'examen immunohistochimique tend à avoir une place de plus en plus importante.

D'un point de vue technique, la recherche d'instabilité des microsatellites nécessite d'avoir de la tumeur et du tissu sain, soit congelés, soit fixés au formol et inclus en paraffine. Cependant, seuls les prélèvements fixés au formol sont utilisables, la fixation par le liquide de Bouin détériorant l'ADN ainsi que les protéines. Cela limite les études rétrospectives, le liquide de Bouin étant encore fréquemment utilisé comme fixateur il y a quelques années (133).

Dans le cas de tumeurs ayant subi une radiothérapie pré-opératoire, le nombre de cellules tumorales présentes sur les coupes histologiques est souvent très réduit. Cela rend impossible la recherche d'une instabilité des microsatellites par PCR, mais il reste parfois possible d'étudier l'expression des protéines de réparation. Dans ces cas, seul l'immunohistochimie peut orienter le diagnostic vers un cancer de type HNPCC. Pour certains, l'immunohistochimie doit être utilisée en premier et en routine pour dépister les patients ayant

une perte d'expression des protéines de réparation de l'ADN (115, 116). L'étude de la protéine PMS2, associée à celle des autres protéines de réparation, se justifie en première intention car elle est détectée dans 1,5 % des cas de cancers colorectaux, car elle permet une détection plus sensible des anomalies de MLH1, surtout chez un sujet jeune. De plus, l'étude groupée des protéines est plus rationnelle d'un point de vue coût et gain de temps. L'examen immunohistochimique devient même indispensable car au-delà du diagnostic de cancer de type HNPCC, il permet d'orienter la recherche de mutation vers une ou plusieurs protéines (134,135).

Dans notre série, à notre connaissance, seules 10 personnes ont bénéficié d'une consultation d'oncogénétique. Selon les recommandations du Plan cancer lancé en mars 2003, tous les patients de moins de 40 atteints d'un cancer colorectal doivent y être adressés, car la probabilité de cancer de type MSI est supérieure à 50 % (136). Cependant une étude menée aux Etats-Unis s'est heurtée à la réticence des patients comme de leur famille. Les principales raisons évoquées étaient : le manque d'intérêt, l'absence de personne à risque dans la famille, l'absence d'envie d'engager la famille et le risque d'augmentation de la prime d'assurance (127).

VI. CONCLUSION

La recherche d'une perte d'expression des protéines de réparation de l'ADN en immunohistochimie est un moyen de détection efficace des cancers de type HNPCC. Dans cette série l'étude de l'expression de PMS2 a révélé sa perte isolée dans un seul cas. Cela revient à 1,8 % des cas, soit la même fréquence que dans l'ensemble des cancers colorectaux. Il faudra des cohortes de patients plus importantes afin de définir si la perte de PMS2 induit un phénotype particulier. Cependant, l'association de PMS2 aux trois autres protéines habituellement étudiées permet un gain de temps et d'efficacité dans le diagnostic. En effet, l'immunohistochimie oriente la recherche de mutation germinale vers le gène de la protéine atteinte. Le diagnostic de cancer de type HNPCC dû à une perte de PMS2 a des retombées pour le patient : surveillance accentuée, modification des chimiothérapies (la perte de PMS2 induit une certaine résistance aux agents alkylants). Et des retombées pour sa famille avec la possibilité d'une enquête génétique à la recherche de la mutation, suivie d'une surveillance accentuée en présence de la mutation.

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Remontet L, Esteve J, Bouvier AM, Grosclaude P, Launoy G, Menegoz F, Exbrayat C, Tretare B, Carli PM, Guizard AV, Troussard X, Berceili P, Colonna M, Halna JM, Hedelin G, Mace-Lesec'h J, Peng J, Buemi A, Velten M, Jouglu E, Arveux P, Le Bodic L, Michel E, Sauvage M, Schwartz C, Faivre J. Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2003;51:3-30.
2. Faivre-Finn C, Bouvier-Benhamiche AM, Phelip JM, Manfredi S, Dancourt V, Faivre J. Colon cancer in France : evidence for improvement in management and survival. *Gut* 2002;51:60-64.
3. Conférence de consensus. Conclusions et recommandations du jury. Texte du consensus. Texte long. Prévention, dépistage et prise en charge des cancers du côlon. *Gastroenterol Clin Biol* 1998;22:S275-S288.
4. Lin KM, Shashidharan M, Ternent CA, Thorson AG, Blatchford GJ, Christensen MA, Lanspa SJ, Lemon SJ, Watson P, Lynch HT. Colorectal and extracolonic cancer variations in MLH1/MSH2 hereditary non polyposis colorectal cancer kindreds and the general population. *Dis Colon Rectum* 1998;41:428-433.
5. Rustgi AK. Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Eng J Med* 1994 ;331:1694-16702.
6. Olschwang S, Laurent-Puig P. Stratégie de surveillance des sujets à risque élevé ou très élevé de cancer colorectal. *Gastroenterol Clin Biol* 1998;22:1071-1080.
7. Wang Y, Cortez D, Yazdi P, Neff N, Elledge SJ, Qin J. BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures. *Genes Dev* 2000;14:927-929.

8. Kolodner R. Biochemistry and genetics of eukaryotic mismatch repair. *Genes Dev* 1996;10:1433-42.
9. Acharya S, Wilson T, Gradia S, Kane MF, Guerette S, Marsischky GT, Kolodner R, Fishel R. MSH2 forms specific mispair-binding complexes with MSH3 and MSH6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:13629-13634.
10. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Liu B, Parsons R, Lengauer C, Palombo F, D'Arrigo A, Markowitz S, Willson JKV, Kinzler KW, Jiricny J, Vogelstein B. Mutation of GTBP in genetically unstable cells. *Science* 1995;268:1915-1917.
11. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei YF, Ruben SM, Carter KC, Rosen CA, Haseltine WA, Fleischmann RD, Fraser CM, Adams MD, Venter JC, Hamilton SR, Petersen GM, Watson P, Lynch HT, Peltomäki P, Mecklin JP, de la Chapelle A, Kinzler KW, Vogelstein B. Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994;263:1625-1629.
12. Han HJ, Maruyama M, Baba S, Park JG, Nakamura Y. Genomic structure of human mismatch repair gene, MLH1, and its mutation analysis in patients with hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC). *Hum Mol Genet* 1995;4:237-242.
13. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, Warren G, Smith LG, Lescoe MK, Kane M, Earibino C, Lipford J, Lindblom A, Tannergaard P, Bollag RJ, Godwin AR, Ward DC, Nordenskjöld M, Fishel R, Kolodner RD, Liskay RM. Mutation in the DANN mismatch repair gene homologue MLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* 1994;368:258-261.
14. Meyers M, Theodosiou M, Acharya S, Odegaard E, Wilson T, Lewis JE, Davis TW, Swilson-Van Patten C, Fishel R, Boothman DA. Cell cycle regulation of the human DNA mismatch repair gene MSH2, MLH1, and PMS2. *Cancer Res* 1997;57:206-208.

15. Fink D, Nebel S, Aebi S, Zeng H, Kim HK, Christen RD, Howell SB. Expression of the DNA mismatch repair proteins MLH1 and PMS2 in normal human tissues. *Br J Cancer* 1997;76:890-893.
16. Genuardi M, Viel A, Bonora D, Capozzi E, Bellacosa A, Leonardi F, Valle R, Ventura A, Pedroni M, Boiocchi M, Neri G. Characterization of MLH1 and MSH2 alternative and splicing and its relevance to molecular testing of colorectal cancer susceptibility. *Hum Genet* 1998;102:15-20.
17. Fishel L, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer [erratum]. *Cell* 1994;77:167. *Cell* 1993;75:1027-1038.
18. Kolodner RD, Hall NR, Lipford J, Kane MF, Rao MR, Morrison P, Wirth L, Finan PJ, Burn J, Chapman P. Structure of the human MSH2 locus and analysis of two Muir-Torre kindreds for msh2 mutations [erratum] *Genomics* 1995;28:613. *Genomics* 1994;24:516-526.
19. Wilson TM, Ewel A, Duguid JR, Elbe JN, Lescoe MK, Fishel R, Kelley MR. Differential cellular expression of the human MSH2 repair enzyme in small and large intestine. *Cancer Res* 1995;55:5146-5150.
19. Leach FS, Polyak K, Burrell M, Johnson KA, Hill D, Dunlop MG, Wyllie AH, Peltomäki P, de la Chapelle A, Hamilton SR, Kinzler KW, Vogelstein B. Expression of the human mismatch repair gene MSH2 in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res* 1996;56:235-240.
20. Clark AB, Valle F, Drotschmann K, Gary RK, Kunkel TA. Functional interaction of proliferating cell nuclear antigen with MSH2-MSH6 and MSH2-MSH3 complexes. *J Biol Chem* 2000;275:36498-36501.
21. Fujii H, Shimada T. Isolation and characterization of cDNA clones derived from divergently transcribed gene in the region upstream from the human dihydrofolate reductase gene. *J Biol Chem* 1989;264:10057-10064.

22. Watanabe A, Ikejima M, Suzuki N, Shimada T. Genomic organisation and expression of the human MSH3 gene. *Genomics* 1996;31:311-318.
23. Nicolaides N, Papadopoulos N, Liu B, Wei YF, Cater KC, Ruben SM, Rosen CA, Haseltine WA, Fleishmann RD, Fraser CM, Adams MD, Venter JC, Dunlop MG, Hamilton SR, Petersen GM, de la Chapelle A, Vogelstein B, Kinzler KW. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 1994;371:75-80.
24. Nicolaides N, Cater KC, Shell BK, Papadopoulos N, Vogelstein B, Kinzler KW. Genomic organization of the human PMS2 gene family. *Genomics* 1995;30:295-206.
25. de la Chapelle A, Peltomäki P. Genetics of hereditary colon cancer. *Annu Rev Genet* 1995;29:329-348.
26. Lu SL, Akiyama Y, Nagasaki H, Saitoh K, Yuasa Y. Mutations of the transforming growth factor b type II receptor gene and genome instability in hereditary non polyposis colorectal cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;2:452-457.
27. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutter K, Fan RS, Zborowska E. Inactivation of the II TGF beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995;268:1336-1338.
28. Rampino N, Yamamoto H, Ionov V, Li Y, Sarvai H, Reed JC, Perucho M. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 1997;275:967-969.
29. Aaltonen LA, Peltomäki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkanen L, Mecklin JP, Järvinen H, Powell SM, Jen J, Hamilton SR, Petersen G, Kinzler Kw, Vogelstein B, de la Chapelle A. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993;260:812-816.

30. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Jen J, Parsons R, Peltomäki P, Sistonen P, Aaltonen LA, Nyström-Lahti M, Guan XY, Zhang J, Meltzer PS, Yu JW, Kao FT, Chen D, Cerosaletti KM, Fournier REK, Todd S, Lewis T, Leach RJ, Nalor SL, Weissenbach J, Mecklin JP, Järvinen H, Petersen GM, Hamilton SR, Green J, Jass J, Watson P, Lynch HT, Trent JM, de la Chapelle A, Kinzler KW, Vogelstein B. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993;75:1215-1225.
31. Peltomäki P, Lothe RA, Aaltonen LA, Pylkkänen L, Nyström-lahti M, Seruca R, David L, Holm R, Ryberg D, Haugen A, Brogger A, Borresen AL, de la Chapelle A. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non polyposis colorectal carcinoma syndrome. *Cancer Res* 1993;53:5853-5855.
32. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-819.
33. Aaltonen LA, Peltomäki P, Mecklin JP, Järvinen H, Jass JR, Green JS, Lynch HT, Watson P, Tallqvist G, Juhola M, Sistonen P, Hamilton SR, Kinler KW, Vogelstein B, de la Chapelle A. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary non polyposis colorectal cancer patients *Cancer Res* 1994;54:1645-1648.
34. Jothy S, Flanders TY, Nowacki P. New developments in the molecular pathology of human colon cancer : relevance to pathogenesis and diagnosis. *Adv Anat Pathol* 1996;3:343-350.
35. Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, Tester D, Burgart LJ, Roche PC, McDonnell SK, Schaid DJ, Vockley Cw, Michels VV, Farr GH Jr., O'Connell MJ. Microsatellite instability in colorectal cancer : different mutator phenotypes and the principal involvement of MLH1. *Cancer Res* 1998;58:1713-1718.

36. Lothe RA, Peltomäki P, Meling GI, Aaltonen LA, Nyström-Lahti M, Pylkkänen L, Heimdal K, Andersen TI, Moller P, Rognum TO, Fossa SD, Haldorsen T, Langmark F, Brogger A, de la Chapelle A, Borresen AL. Genomic instability in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables and family history. *Cancer Res* 1993;53:5849-5852.
37. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, Jessup JM, Kolodner R. Methylation of the MLH1 promoter correlates with lack of expression of MLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997;57:808-811.
38. Laurent-Puig P, Paraf P, Flejou JF, Olschwang S. Pathologie et génétique moléculaires. In: Olschwang S, Eisinger F. *Prédisposition héréditaire aux cancers: côlon, rectum, utérus*. Paris: John Libbey Eurotext, 2005:43-51.
39. Peltomäki P. Deficient DNA mismatch repair: a common etiologic factor for colon cancer. *Hum Mol Genet* 2001;10:735-740.
40. Lynch HT, Smyrk TC, Watson P, Lanspa SJ, Lynch JF, Lynch PM, Cavalieri RJ, Boland R. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary non polyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterology* 1993;104:1535-1549.
41. Whartin AS. Heredity of carcinoma in man. *Ann Intern Med* 1931;4:681-696.
42. Whartin AS. Heredity with reference to carcinoma. *Arch Intern Med* 1913;12:546-555.
43. Whartin AS. The further study of a cancer family. *J Cancer Res* 1925;9:279-286.
44. Hauser IJ, Weller CV. A further report on the cancer family of Whartin. *Am J Cancer* 1936;27:434-444.
45. Lynch HT, Krush AJ. Cancer family "G" revisited: 1895-1970. *Cancer* 1971;27:1505-1511.

46. Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ. Hereditary factors in two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 1966;117:206-212.
47. Boland CR, Troncale FJ. Familial colonic cancer in the absence of antecedent polyposis. *Ann Intern Med* 1984;100:700-701.
48. Bailey-Wilson JE, Elston RC, Schuelke GS, Kimberling WJ, Albano WA, Lynch JF, Lynch HT. Segregation analysis of hereditary non polyposis colorectal cancer. *Genet Epidemiol* 1986;3:27-38.
49. Lynch HT, Smyrk TC. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). An updated review. *Cancer* 1996;78:1149-1167.
50. Meclin JP, Järvinen HJ. Clinical features of colorectal carcinoma in cancer family syndrome. *Dis Colon Rectum* 1986;29:160-164.
51. Hakala T, Meclin JP, Foras M, Järvinen HJ, Lehtovirta P. Endometrial carcinoma in the cancer family syndrome. *Cancer* 1991;68:1656-1659.
52. Mecklin JP, Järvinen HJ. Tumor spectrum in cancer family syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Cancer* 1991;68:1109-1112.
53. Lynch HT, Ens JA, Lynch JF. Lynch syndrome II and urologic manifestations. *J Urol* 1990;143:24-28.
54. Sijmons RH, Kiemeneij LA, Witjes JA, Vasen HF. Urinary tract cancer and hereditary nonpolyposis colorectal cancer: risks and screening options. *J Urol* 1998;160:466-470.
55. Lynch HT, Smyrk TC, Lynch PM, Lanspa SJ, Boman BM, Ens J, Lynch JF, Strayhorn P, Carmody T, Cristofaro G. Adenocarcinoma of the small bowel in Lynch syndrome II. *Cancer* 1989;64:2178-2183.
57. Lynch HT, Voorhees GJ, Lanspa SJ, McGreevy PS, Lynch JF. Pancreatic carcinoma in hereditary non polyposis colorectal cancer: a family study. *Br J Cancer* 1985;52:271-273.

57. Lynch HT, Ens J, Lynch JF, Watson P. Tumor variation in three extended Lynch syndrome II kindreds. *Am J Gastroenterol* 1988;83:741-747.
59. Mecklin JP, Järvinen HJ, Virolainen M. The association between cholangiocarcinoma and hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma. *Cancer* 1992;69:1112-1114.
59. Lynch HT, Lynch PM. Tumor variation in the cancer family syndrome: ovarian cancer. *Am J Surg* 1979;138:439-442.
60. Risinger JL, Barret JC, Watson P, Lynch HAT, Boyd J. Molecular genetic evidence of the occurrence of breast cancer as an intergral tumor in patients with the hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma syndrome. *Cancer* 1996;77:1836-1843.
61. Lynch HT, Fusaro RM, Roberts L, Voorhees GJ, Lynch JF. Muir-Torre syndrome in several members of a family with a variant of the family cancer syndrome. *Br J Dermatol* 1985;113:295-301.
62. Lynch HT, Lynch PM, Pester J, Fusaro RM. The cancer family syndrome. Rare cutaneous phenotypic linkage of Torre's syndrome. *Arch Intern Med* 1981;141:607-611.
63. Lynch HT, Kriegler M, Christiansen TA, Smyrk T, Lynch JF, Watson P. Laryngeal carcinoma in a Lynch syndrome II kindred. *Cancer* 1988;62:1007-1013.
64. Buerstedde JM, Alday P, Torhorst J, Weber W, Müller H, Scott R. Detection of the new mutations in six out of 10 Swiss HNPCC families by genomic sequencing of the MSH2 and MLH1 genes. *J Med Genet* 1995;32:909-912.
65. Heinimann K, Müller H, Weber W, Scott RJ. Disease expression in Swiss hereditary nonpolyposis colorectal cancer(HNPCC) kindreds. *Int J Cancer* 1997;74:281-285.
66. Vasen HF, Sanders EA, Taal BG, Nagengast FM, Griffioen G, Menko FH, Kleibeuker JH, Houwing-Duistermaat JJ, Meera Khan P. The risk of brain tumors in hereditary non polyposis colorectal cancer (HNPCC). *Int J Cancer* 1996;65:422-425.

67. Law IP, Hollinshead AC, Whang-Peng J, Dean JH, Oldham RK, Heberman RB, Rhode MC. Familial occurrence of colon and uterine carcinoma and of lymphoproliferative malignancies. II. Chromosomal and immunologic abnormalities. *Cancer* 1977;39:1229-1236.
68. Love RR. Small bowel cancers, B-cell lymphatic leukaemia, and six primary cancers with metastase and prolonged survival in the cancer family syndrome of Lynch. *Cancer* 1985;55:499-502.
69. Hall NR, Williams MA, Murday VA, Newton JA, Bishop DT. Muir-Torre syndrome: a variant of the cancer family syndrome. *J Med Genet* 1994;31:627-631.
70. Kruse R, Rutten A, Lamberti C, Hosseiny-Malayeri HR, Wang Y, Ruelfs C, Jungck M, Mathiak M, Ruzicka T, Hartschuh W, Bisceglia M, Friedl W, Propping P. Muir-Torre phenotype has a frequency of DNA mismatch-repair-gene mutations similar to that in hereditary nonpolyposis colorectal cancer families defined by the Amsterdam criteria. *Am J Hum Genet* 1998;63:63-70.
71. Lynch HT, Leibowitz R, Smyrk T, Fusaro RM, Lynch JF, Smith A, Franklin B, Stella A, Liu B. Colorectal cancer and the Muir-Torre syndrome in a Gypsy family: a review. *Am J Gastroenterol* 1999;575-580.
72. Paraf F, Sasseville D, Watters AK, Narod S, Ginsburg O, Shibata H, Jothy S. Clinicopathological relevance of the association between gastrointestinal and sebaceous neoplasms: the Muir-Torre syndrome. *Hum Pathol* 1995;26:422-427.
73. Suspiro A, Fidalgo P, Cravo M, Albuquerque C, Ramalho E, Leitao CN, Costa Mira F. The Muir-Torre syndrome: a rare variant of hereditary nonpolyposis colorectal cancer associated with MSH2 mutation. *Am J Gastroenterol* 1998;93:1572-1574.

74. Miyaki M, Nishio J, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Muraoka M, Nagato M, Chong JM, Koike M, Terada T, Kawahara Y, Fukutome A, Tomiyama J, Chuganji Y, Momoi M, Utsunomiya J. Drastic genetic instability of tumors and normal tissues in Turcot syndrome. *Oncogene* 1997;15:2877-2881.
75. Paraf F, Jothy S, Van Meir EG. Brain tumor-polyposis syndrome: two genetic diseases? *J Clin Oncol* 1997;15:2744-2758.
76. Capozzi E, Della Puppa L, Fornasarig M, Pedroni M, Boiocchi M, Viel A. Evaluation of the replication error phenotype in relation to molecular and clinicopathological features in hereditary and early onset colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1999;35:289-295.
77. Cravo M, Lage P, Albuquerque C, Chaves P, Claro I, Gomes T, Gaspar C, Fidalgo P, Soares J. BAT-26 identifies sporadic colorectal cancers with mutator phenotype : a correlative study with clinico-pathological features and mutations. *J Pathol* 1999;188:252-257.
78. Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1994;145:148-156.
79. Lin KM, Shashidharan M, Ternent CA, Thorson AG, Blatchford GJ, Christensen MA, Lanspa SJ, Lemon SJ, Watson P, Lynch HT. Colorectal and extracolonic cancer variations in MLH1/MSH2 hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindreds and the general population. *Dis Colon Rectum* 1998;41:428-433.
80. Dolcetti R, Viel A, Doglioni C, Russo A, Guidoboni M, Capozzi E, Vecchiato N, Macri E, Fornasarig M, Boiocchi M. High prevalence of activated intraepithelial cytotoxic T lymphocytes and increased neoplastic cell apoptosis in colorectal carcinomas with microsatellite instability. *Am J Pathol* 1999;154:1805-1813.

81. Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1994;145:148-156.
82. Lanspa SJ, Lynch HT, Smyrk TC, Strayhorn P, Watson P, Lynch JF, Jenkins J, Appelman H. Colorectal adenomas in the Lynch syndromes. Results of a colonoscopy screening program. *Gastroenterology* 1990;98:1117-1722.
83. Mecklin JP, Sistonen P, Järvinen HJ. Histopathology of colorectal carcinomas and adenomas in cancer family syndrome. *Dis Colon Rectum* 1986;29:846-853.
84. Jass JR, Stewart SM, Stewart J, Lane MR. Hereditary non-polyposis colorectal cancer--morphologies, genes and mutations. *Mutat Res* 1994;310:125-133.
85. Jass JR. Diagnosis of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Histopathology* 1998;32:491-497.
86. Cravo ML, Fidalgo PO, Lage PA, Albuquerque CM, Chaves PP, Claro I, Gomes T, Gaspar C, Soares JO, Nobre-Leitao C. Validation and simplification of Bethesda guidelines for identifying apparently sporadic forms of colorectal carcinoma with microsatellite instability. *Cancer* 1999;85:779-785.
87. Syngal S, Fox EA, Li C, Dovidio M, Eng C, Kolodner RD, Garber JE. Interpretation of genetic test results for hereditary non polyposis colorectal cancer: implications for clinical predisposition testing. *JAMA* 1999;282:247-253.
88. Vasen HF, Mecklin JP, Meera Khan P, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991;34:424-425.
89. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT, and the ICG-HNPCC. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the international collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999;116:1453-1456.

90. Genuardi M, Anti M, Capozzi E, Leonardi F, fornasarig M, Novella E, Bellacosa A, Valenti A, Gasbarrini GB, Roncucci L, Benatti P, Percesepe A, Ponz de Leon M, Coco C, de Paoli A, Valentini M, Boiocchi M, Neri G, Viel A. MLH1 and MSH2 consitutional mutations in colorectal cancer families not meeting the standard criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer* 1998;75:835-839.
91. Wang Q, Desseigne F, Lasset C, Saurin JC, Navarro C, Yagci T, Keser I, Bagci H, Luleci G, Gelen T, Chayvialle JA, Puisieux A, Ozturk M. Germline MSH2 and MLH1 gene mutations in incomplete HNPCC families. *Int J Cancer* 1997;73:831-836.
92. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff 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;96:261-8.
93. de la Chapelle A. Genetic testing may prevent hereditary non polyposis colorectal cancer. Hamilton Fairley Lecture, held at the EMSO Congress, Vienna, November 2-5, 1996. *Ann Oncol* 1996;7:883-885.
94. Burke W, Petersen G, Lynch P, Botkin J, Daly M, Garber J, Kahn MJ, McTiernan A, Offit K, Thomson E, Varrichio C. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. I. Hereditary nonpolyposis colon cancer Cancer Genetics Studies Consortium; *JAMA* 1997;277:915-919.
95. Lynch HT, Smyrk T, Lynch JF. Overview of natural history, pathology molecular genetics and managements of HNPCC (Lynch syndrome). *Int J Cancer* 1996;69:38-43.
96. Park JG, Yuan Y. Genetic identification and management of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Oncol* 1998;12:947-955.

97. Jarvinen HJ, Mecklin JP, Sistonen P. Screening reduces colorectal cancer rate in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 1995;108:1405-1411.
98. Vasen HF, Mecklin JP, Watson P, Utsunomiya J, Bertario L, Lynch P, Svendsen LB, Cristofaro G, Muller H, Kahn PM, et al. Surveillance in hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an international cooperative study of 165 families. The International Collaborative Group on HNPCC. *Dis Colon Rectum* 1993;36:1-4.
99. Vasen HF, Taal BG, Nagengast FM, Griffioen G, Menko FH, Kliebenker JH, Offerhans GJ, Mecklin JP, Meera Kahn P. Hereditary non-polyposis colorectal cancer: Result of a long term surveillance in 50 families. *Eur J Cancer* 1995;31A:1145-1148.
100. Crawkwell L, Gray S, Murgatroyd H, Sutherland F, Haine L, Longfellow M, O'Loughlin S, Cross D, Kronborg O, Fenger C, Mapstone N, Dixon M, Quirke P. Choice of management strategy for colorectal cancer based on a diagnostic immunohistochemical test for defective mismatch repair. *Gut* 1999;49:409-415.
101. Dietmaier W, Wallinger S, Bocker T, Kullmann F, Fishel R, Ruschoff J. Diagnostic microsatellite instability: definition and correlation with mismatch repair protein expression. *Cancer Res* 1997;57:4749-4756.
102. Fujiwara T, Stolker JM, Wanatabe T, Rashid A, Longo P, Eshleman JR, Booker S, Lynch HT, Jass JR, Green JS, Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Accumulated clonal genetic alterations in familial and sporadic colorectal carcinomas with widespread instability in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1998;153:1063-1078.
103. Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, Tester DJ, Lindor NM, Moslein G, Baker SM, Liskay Rm, Burgart LJ, Honchel R, Halling KC. Altered expression of HSMH2 and MLH1 in tumors with microsatellite instability and genetic alterations in mismatch repair genes. *Cancer Res* 1996;56:4836-4840.

104. Bapat BV, Madlensky L, Temple LK, Hiruki T, Redston M, Baron DL, Xia L, Marcus VA, Soravia C, Mitri A, Shen W, Gryfe R, Berk T, Chrodirker BN, Cohen Z, Gallinger S. Family history characteristics, tumor microsatellite instability germline MSH2 and MLH1 mutations in hereditary colorectal cancer. *Hum Genet* 1999;104:167-176.
105. Brown SR, Finan PJ, Cawkwell L, Quirke P, Bishop DT. Frequency of replication errors in colorectal cancer and their association with family history. *Gut* 1998;43:553-557.
106. Furlan D, Tibiletti MG, Taborelli M, Albarello L, Cornaggia M, Capella C. The value of microstellite instability in the detection of HNPCC families and sporadic colorectal cancers with special biological features: an investigation on a series of 100 consecutives cases. *Ann Oncol* 1998;9:901-906.
107. Liu B, Farrington SM, Petersen GM, Hamilton SR, Parsons R, Papadopoulos N, Fujiwara T, Jen J, Kinzler KW, Wyllie AH. Genetic instability occurs the majority of young patients with colorectal cancer. *Nat Med* 1995;1:348-352.
108. Paraf F. Cancer colorectal avant 40 ans : quoi de neuf en 1991 ? *Gastroenterol Clin Biol* 1991;15:869-871.
109. Courtois B, Hillon P, Boutron MC, Bedenne L, Milan C, Faivre J, Klepping C, Les cancers rectocoliques du sujet jeune. Etude de population (Côte-d'Or : 1976-1983). *Gastroenterol Clin Biol* 1988;12:624-628.
110. Paraf F, Sabourin JC. Nombre optimal de ganglions lymphatiques et métastases ganglionnaires occultes dans les cancers colorectaux : point de vue du pathologiste. *Gastroenterol Clin Biol* 2000;24:423-429.
111. Ikenaga M, Tomita N, Sekimoto M, Ohue M, Yamamoto H, Miyake Y, Mishima H, Nishisho I, Kikkawa N, Monden M. Use of microsatellite analysis in young patients with colorectal cancer to identify those with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2002;79:157-165.

112. 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;123:1804-11.
113. Salovaara R, Loukola A, Kristo P, Kaarianen H, Ahtola H, Eskelinen M, Harkonen M, Julkunen R, Kangas E, Ojala S, Tulikoura J, Valkamo E, Jarvinen H, Mecklin JP, Aaltonen LA, de la Chapelle A. Population -based molecular detection of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2193-2200.
114. Halvarsson B, Lindblom A, Rambech E, Lagersedt K, Nilbert M. Microsatellite instability analysis and/or immunostaining for the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Virchows Arch* 2004;444:135-141.
115. Chai SM, Zeps N, Shearwood AM, Grieu F, Charles A, Harvey J, Goldblatt J, Joseph D, Iacopetta B. Screening for defective DNA mismatch repair in stage II and III colorectal cancer patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:1017-1025.
116. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Nakagawa H, Sotamaa K, Prior TW, Westman J, Panescu J, Fix D, Lockman J, Comeras I, de la Chapelle A. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med*. 2005;352:1851-1860.
117. Paraf F, Gilquin M, Longy M, Gilbert B, Gorry P, Petit B, Labrousse F. MLH1 and MSH2 protein immunohistochemistry is useful for detection of hereditary non-polyposis colorectal cancer in young patients. *Histopathology*. 2001;39:250-258.
118. Lucci-Cordisco E, Zito I, Gensini F, Genuardi M. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer and related conditions. *Am J Med Genet* 2003;122A:325-334.
119. Kuismanen SA, Holmberg MT, Salovaara R, de la Chapelle A, Peltomaki P. Genetic and epigenetic modification of MLH1 accounts for a major share of microsatellite-unstable colorectal cancers. *Am J Pathol* 2000;156:1052-1053.

120. Schweizer P, Mosio AL, Kuismanen SA, Truninger K, Vierumaki R, Salovaara R, Arola J, Butzow R, Jiricny J, Peltomäki P, Nyström-Lahti M. Lack of MSH2 and MSH6 characterizes endometrial but not colon carcinomas in hereditary non polyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 2001;61:2813-2815.
121. Rigau V, Sebbagh N, Olschwang S, Paraf F, Mourra N, Parc Y, Flejou JF. Microsatellite instability in colorectal carcinoma. The comparison of immunohistochemistry and molecular biology suggest a role for MSH6 immunostaining. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:694-700.
122. Young J, Simms LA, Biden KG, Wynter C, Whitehall V, Karamatic R, George J, Goldblatt J, Walepole I, Robin SA, Borten MM, Stitz R, Searle J, McKeone D, Fraser L, Purdie DR, Podger K, Price R, Buttenshaw R, Walsh MD, Barker M, Legett BA, Jass JR. Features of colorectal cancers with high-level microsatellite instability occurring in familial and sporadic settings: parallel pathways of tumorigenesis. *Am J Pathol* 2001;159:2107-2116.
123. de Jong AE, van Puijenbroek M, Hendriks Y, Tops C, Wijnen J, Ausems MG, van Os TA, Bröcker-Vriends AH, Vasen HF, Morreau H. Microsatellite instability, immunohistochemistry, and additional PMS2 staining in suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:972-980.
124. Chang DK, Ricciardiello L, Goel A, Chang CL, Boland R. Steady-state regulation of the human DNA mismatch repair system. *J Biol Chem* 2000;275:18424-18431.
125. de Wind N, Dekker M, Claij N, Jansen L, van Klink Y, Radman M, Riggins G, van der Valk M, van't Wout K, te Riele H. HNPCC-like cancer predisposition in mice through simultaneous loss of MSH3 and MSH6 mismatch repair protein functions. *Nat Genet* 1999;23:359-362.

126. Wijnen J, de Leeuw W, Vasen H, van der Klift H, Moller P, Stormorken A, Meijers Heijboer H, Lindhout D, Menko F, Vossen S, Moslein G, Tops C, Brocker-Vriends A, Wu Y, Hofstra R, Sijmons R, Cornelisse C, Morreau H, Fodde R. Familial endometrial cancer in female carriers of MSH6 germline mutations. *Nat Genet* 1999;23:142-144.
127. Truninger K, Menigatti M, Luz J, Russell A, Haider R, Gebbers JO, Bannwart F, Yurtsever H, Neuweiler J, Riehle HM, Cattaruzza MS, Heinemann K, Schar P, Jiricny J, Marra G. Immunohistochemical analysis reveals high frequency of PMS2 defects in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005;128:1160-1171.
128. Plaschke J, Kruger S, Pistorius S, Theissig F, Saegger HD, Schackert HK. Involvement of MSH6 in the development of hereditary and sporadic colorectal cancer revealed by immunostaining is based on germline mutations, but rarely on somatic inactivation. *Int J Cancer* 2002;97:643-648.
129. Peltomaki P, Vasen HF. Mutations predisposing to hereditary non polyposis colorectal cancer: database and results of a collaborative study. The International Collaborative Group on Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 1997;113:1146-1158
130. Worthley DL, Wlasko MD, Barker M, Ruzkiewicz A, Bennett G, Phillips K, Suthers G. Familial mutations in PMS2 can cause autosomal dominant hereditary nonpolyposis cancer. *Gastroenterology* 2005;128:1431-1436.
131. Muller W, Burgart LJ, Krause-Paulus R, Thibodeau SN, Almeida M, Edmonston TB, Boland CR, Sutter C, Jass JR, Lindblom A, Lubinski J, MacDermot K, Sanders DS, Morreau H, Muller A, Oliani C, Orntoft T, Ponz De Leon M, Rosty C, Rodriguez-Bigas M, Ruschoff J, Ruzkiewicz A, Sabourin J, Salovaara R, Moslein G; ICG-HNPCC (International Collaborative Group). The reliability of immunohistochemistry as a prescreening method for the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC)--results of an international collaborative study. *Fam Cancer* 2001;1:87-92.

132. Nakagawa H, Lockman JC, Franckel WL, Hampel H, Steenblock K, Burgart LJ, Thibeau SN, de la Chapelle A. Mismatch repair gene PMS2: disease-causing germline mutations are frequent in patients whose tumor stain negative for PMS2, but paralogous genes obscure mutation detection and interpretation. *Cancer Res* 2004;64:4721-4727.
133. Becouarn Y, Rullier A, Gorry P, Smith D, Richard-Molard B, Echinard E, Texereau P, Beyssac R, Legoux JL, Lamouliatte H, Frebourg T, Olschwang S, Gilbert B, Venat L, Picot V, Paraf F, Longy M. Value of microsatellite instability typing in detecting hereditary non-polyposis colorectal cancer. A prospective multicentric study by the Association Aquitaine Gastro. *Gastroenterol Clin Biol* 2005;29:667-675.
134. Engel C, Forberg J, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Plaschke J, Kloor M, Poremba C, Pox CP, Ruschoff J, Keller G, Dietmaier W, Rummele P, Friedrichs N, Mangold E, Buettner R, Schackert HK, Kienle P, Stemmler S, Moeslein G, Loeffler M. Novel strategy for optimal sequential application of clinical criteria, immunohistochemistry and microsatellite analysis in the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer *Int J Cancer* 2005;Epub ahead of print.
135. Southey MC, Jenkins MA, Mead L, Whitty J, Trivett M, Tesoriero AA, Smith LD, Jennings K, Grubb G, Royce SG, Walsh MD, Barker MA, Young JP, Jass JR, St John DJ, Macrae FA, Giles GG, Hopper JL. Use of molecular tumor characteristics to prioritize mismatch repair gene testing in early-onset colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:6524-32.
136. Olschwang S, Eisinger F. Les consultations. In: Olschwang S, Eisinger F. *Prédisposition héréditaire aux cancers: côlon, rectum, utérus*. Paris: John Libbey Eurotext, 2005:31-42.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

RESUME :

Le cancer colorectal héréditaire non polyposique (HNPCC) est lié à une mutation dans les gènes des protéines de réparation de l'ADN. La présence d'une mutation peut être révélée par l'étude de l'instabilité des microsatellites, ou par la perte d'expression de protéines de réparation en immunohistochimie.

L'expression de protéines de réparation MLH1, MSH2, MSH6 et celle de PMS2 ont été étudiées en immunohistochimie sur une série de 56 cas de cancers colorectaux chez des sujets âgés de moins de 40 ans. Cette étude était couplée à la recherche d'une instabilité des microsatellites par PCR.

Parmi les 19 cas présentant une perte d'expression, tous avaient une instabilité des microsatellites, 8 présentaient une double perte MLH1/PMS2, 8 une double perte MSH2/MSH6, 2 une perte isolée de MSH6 et 1 une perte isolée de PMS2. L'ajout de PMS2 au panel d'anticorps a permis de détecter un cas supplémentaire d'instabilité, mais permet aussi de sensibiliser la recherche de celle de MLH1 et d'aider à identifier le gène sur lequel on pourra rechercher une mutation.

La perte d'expression de la protéine PMS2 est présente dans 1,5 % des cas de cancers du colorectaux. Son étude couplée à celles des protéines MLH1, MSH2 et MSH6 est une méthode sensible pour détecter l'instabilités des microsatellites en vue d'un diagnostic de syndrome HNPCC.

TITRE ANGLAIS

Expression of PMS2 protein in colorectal cancer before 40 years of age.

MOTS CLES :

- Adénocarcinome colorectal.
- HNPCC.
- Instabilité des microsatellites.
- MLH1, MSH2, MSH6, PMS2.
- immunohistochimie.