

# KLINISK VEJLEDNING DCCG.DK

Mismatch Repair defekt (dMMR)



## DOKUMENTHISTORIK

### VERSION

Version	Dato	Ændringer	Ansvarlig
1.0	1.6.2016	Nyt dokument	Louise Klarskov Jan Lindebjerg
2.0	1.4.2024	Opdatering og ændring af layout	Anne-Marie Kanstrup Fiehn Louise Klarskov Jan Lindebjerg

### REVISION

**Planlagt revision:** 1.4.2026

## 1. ANBEFALINGER

- Alle tilfælde af KRC bør undersøges for defekter i mismatch repair systemet
- Ved tab af ekspresion af MLH1 og PMS2 eller MSI-H suppleres med undersøgelse for BRAF mutation og/eller methylering af MLH1-promotoren
- Ved ikke-sporadisk dMMR bør tilbydes henvisning til genetisk rådgivning

## 2. BAGGRUND

Ca. 10-15% af kolorektalcancere (KRC) er karakteriseret ved et defekt mismatch repair (dMMR) system og dermed manglende evne til at reparere visse typer af fejl i DNA. Dette resulterer i cancere med mange mutationer og mikrosatellit instabilitet.

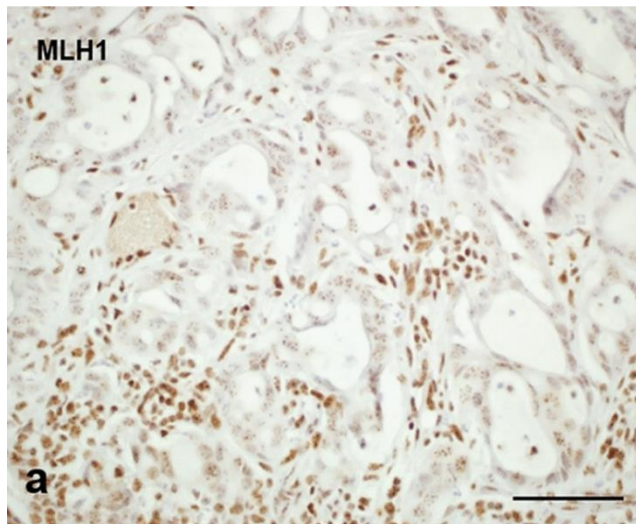
Påvisning af defekter i MMR-systemet har betydning for identifikation af stærkt arvelig cancer, Lynch syndrom (1).

Derudover har dMMR positiv prognostisk værdi i st. I-III KRC (2,3). Mht. MMR status' rolle i forhold til vurdering af risikofaktorer og behandlingsindikationer henvises til retningslinjerne for onkologisk behandling.

## 3. METODE

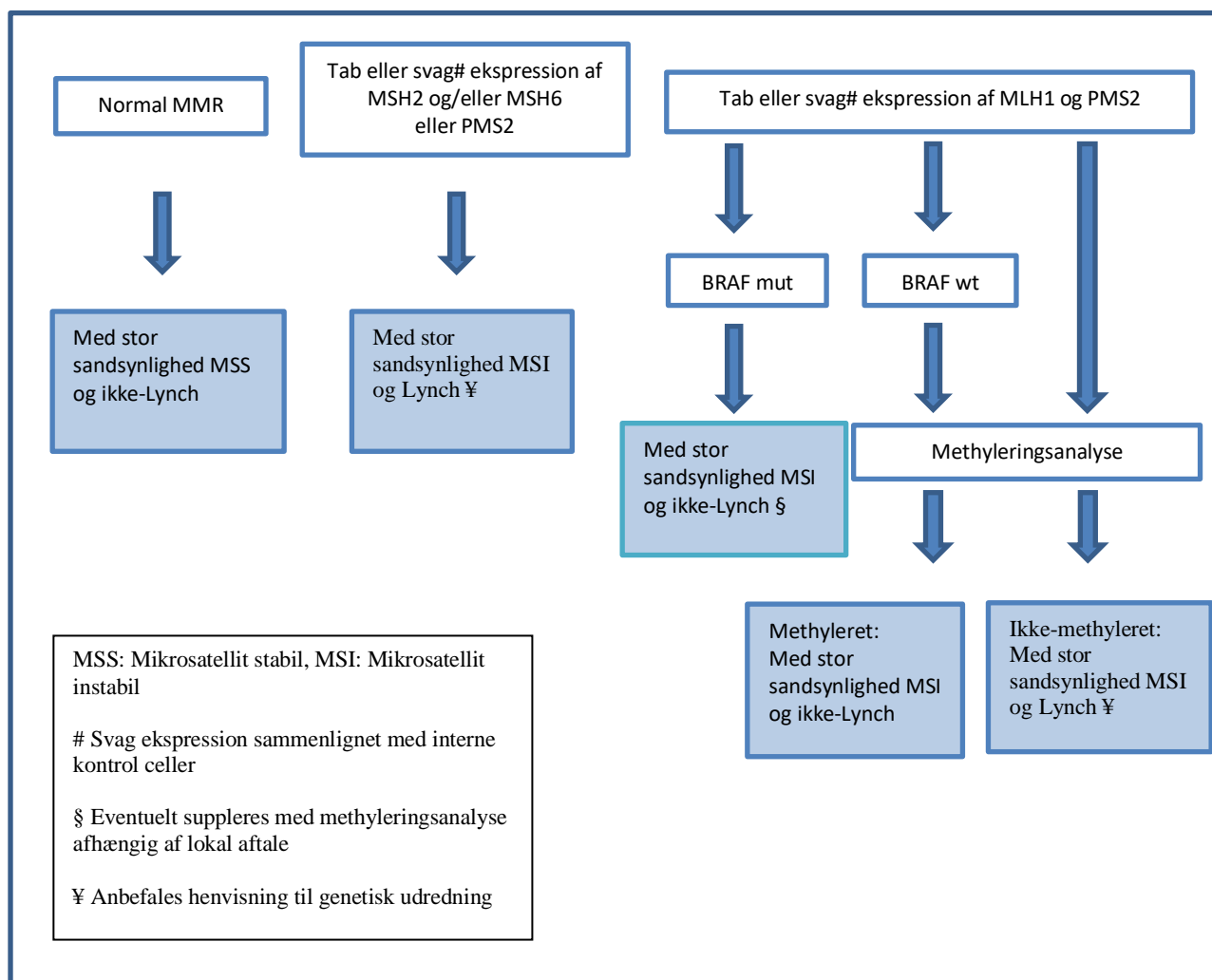
### IMMUNHISTOKEMI

Defekter i MMR systemet kan påvises ved immunhistokemisk undersøgelse af ekspresionen af de 4 mismatch repair proteiner. Manglende ekspresion eller svag ekspresion sammenlignet med lymfocytter og stromale celler i tumorcellernes nærhed registreres som tab (4, billedet er også her fra). Ved tab af



ekspresion af MSH2 og/eller MSH6 eller PMS2 alene er der med stor sandsynlighed tale om en Lynch syndrom betinget cancer. Ved manglende ekspresion af MLH1 og PMS2 samtidig kan der enten være tale om en Lynch cancer eller en sporadisk cancer forårsaget af hypermethylering af MLH1 genets promotorregion. For at skille de arvelige fra de sporadiske cancere kan man enten supplere med en methyleringsanalyse direkte, eller man kan lade sig vejlede af en BRAF mutationsanalyse, idet BRAF V600E mutationer findes hos ca. 50% af de sporadiske cancere, men stort set ikke ses i tilfælde af Lynch syndrom, dog har et enkelt studie peget på at BRAF mutationer kan forekomme i tumorer hos Lynch patienter under 50 år (5).

Flowdiagram og fortolkning af immunhistokemisk ekspressionsmønster:



## AFVIGENDE EKSPRESSION AF MMR PROTEINER

Ved afvigende ekspression forstås her immunhistokemisk reaktionsmønster som ikke kan klassificeres som

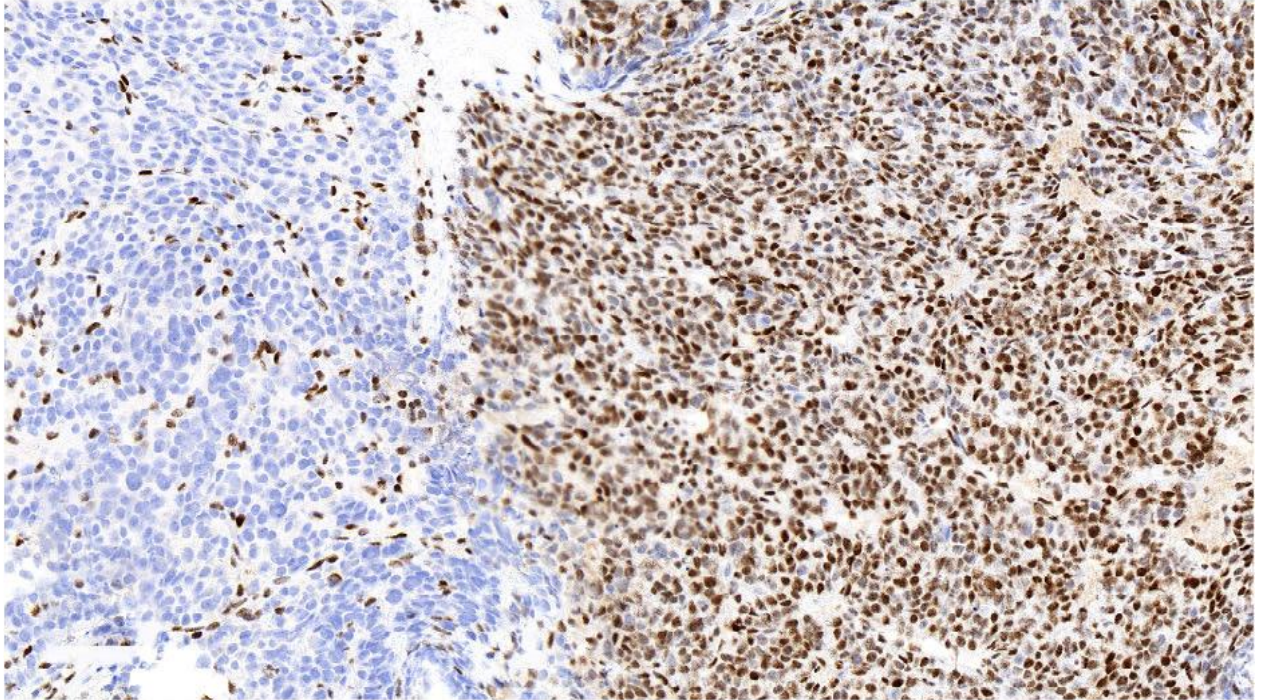
- A) Entydigt komplet manglende eller relativt svag ekspression af et eller flere MMR proteiner i samtlige tumorceller med bevaret ekspression i normale stromale celler/lymfocytter.
- B) Entydigt normal ekspression af samtlige MMR proteiner. Herunder også intensitetsvarierende/svag ekspression med tilsvarende intensitet i intratumorale stromale celler og lymfocytter.

I det efterfølgende gennemgås de hyppigst forekommende eksempler på afvigende ekspression, baseret på et review fra 2021(6), hvorfra illustrationerne stammer.

### SUBKLONAL MANGLENDE EKSPRESSION

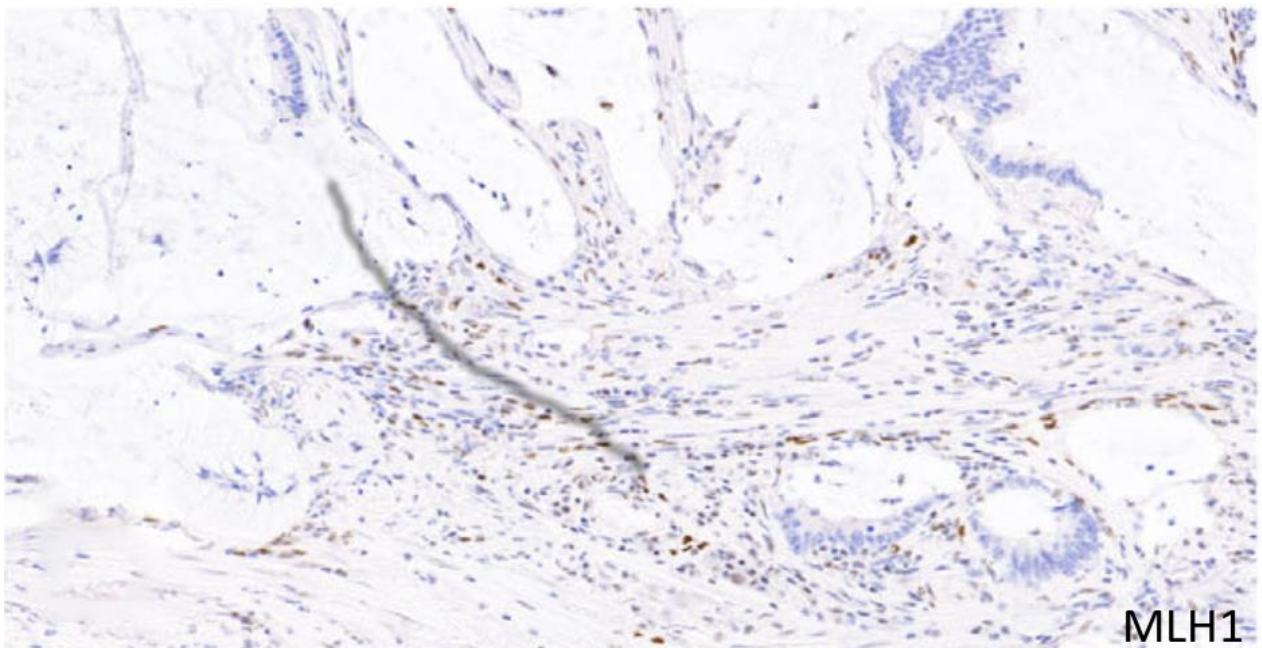
Undertiden kan man i samme tumor observere en komponent med entydigt normal ekspression og en komponent med entydigt manglende ekspression i tumorcellerne og normal ekspression i den interne kontrol (intratumorale stromaceller/lymfocytter).



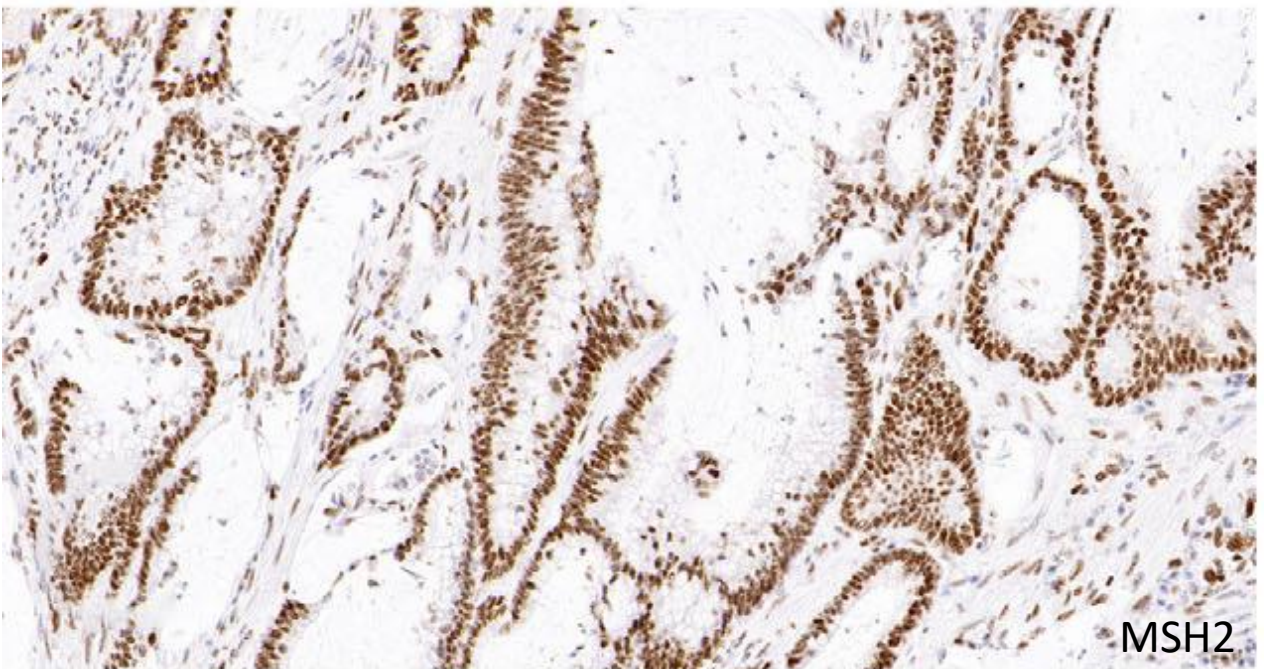
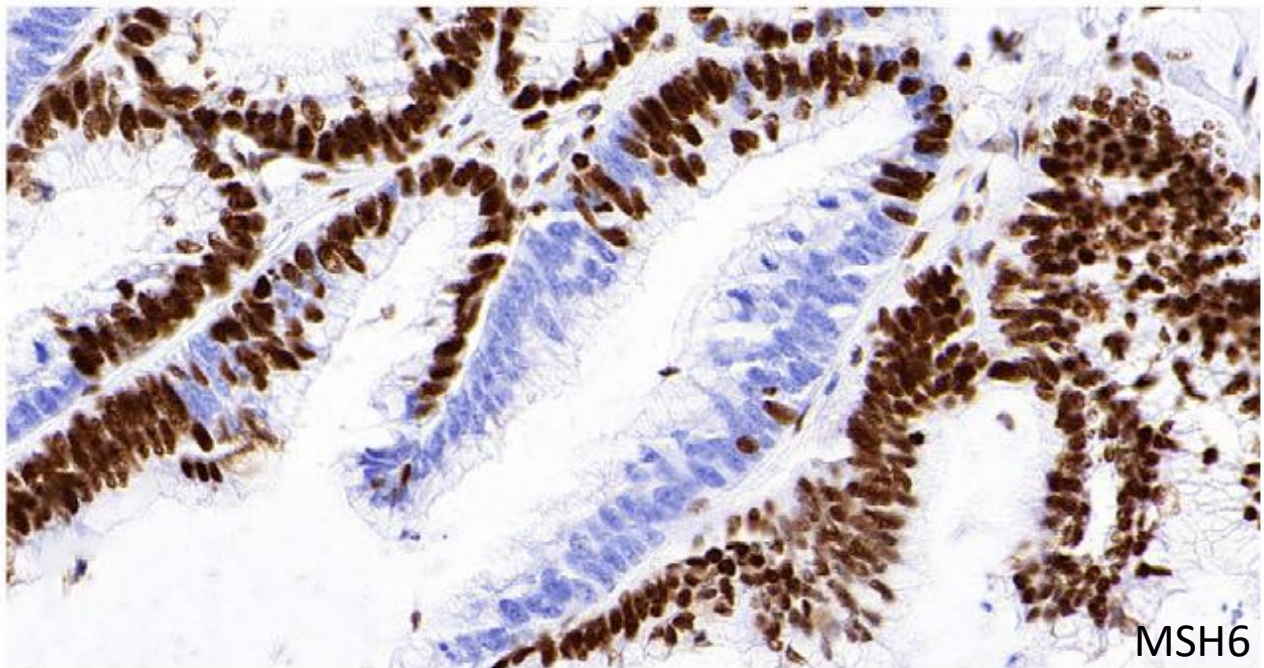


Fortolkning: Subklonalt tab af MMR protein, som følge af en somatisk mutation. Henvisning til genetisk rådgivning er ikke indiceret. Ved metastatisk sygdom bør evt. molekylærpatologisk undersøgelse (herunder undersøgelse af MMR systemet) foretages på en metastase, idet man ikke på primærtumor kan afgøre, hvilken komponent som er metastaseret.

KOMPLET TAB AF MLH1/PMS2 + SUBKLONALT TAB AF MSH6 + NORMAL EKSPRESSION AF MSH2







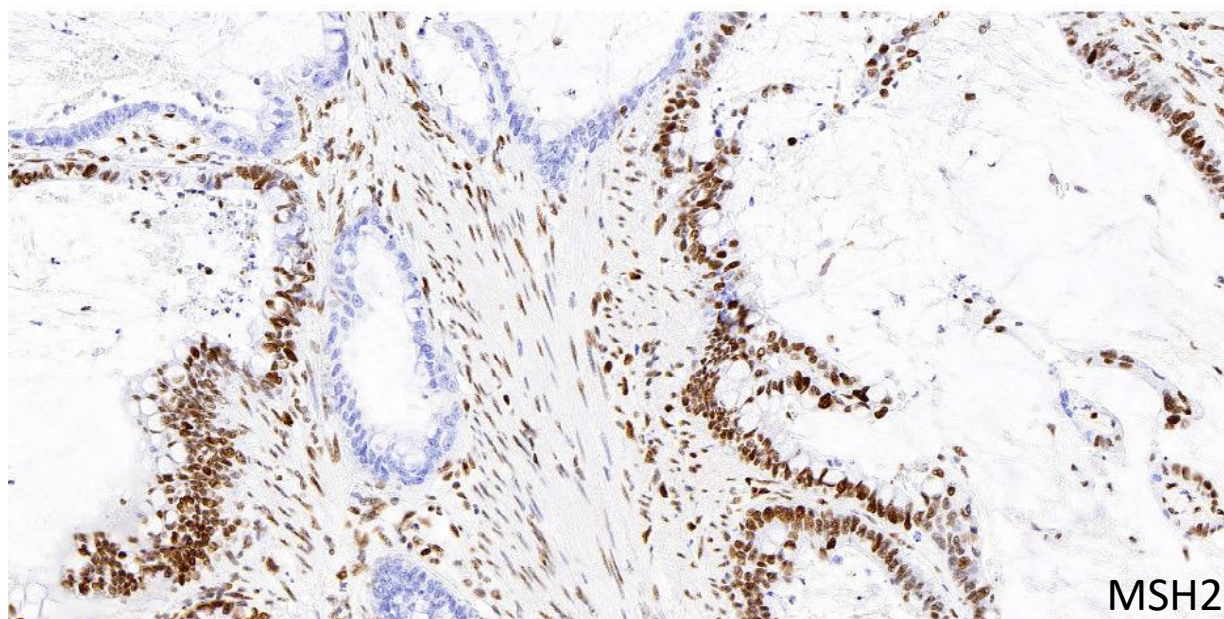
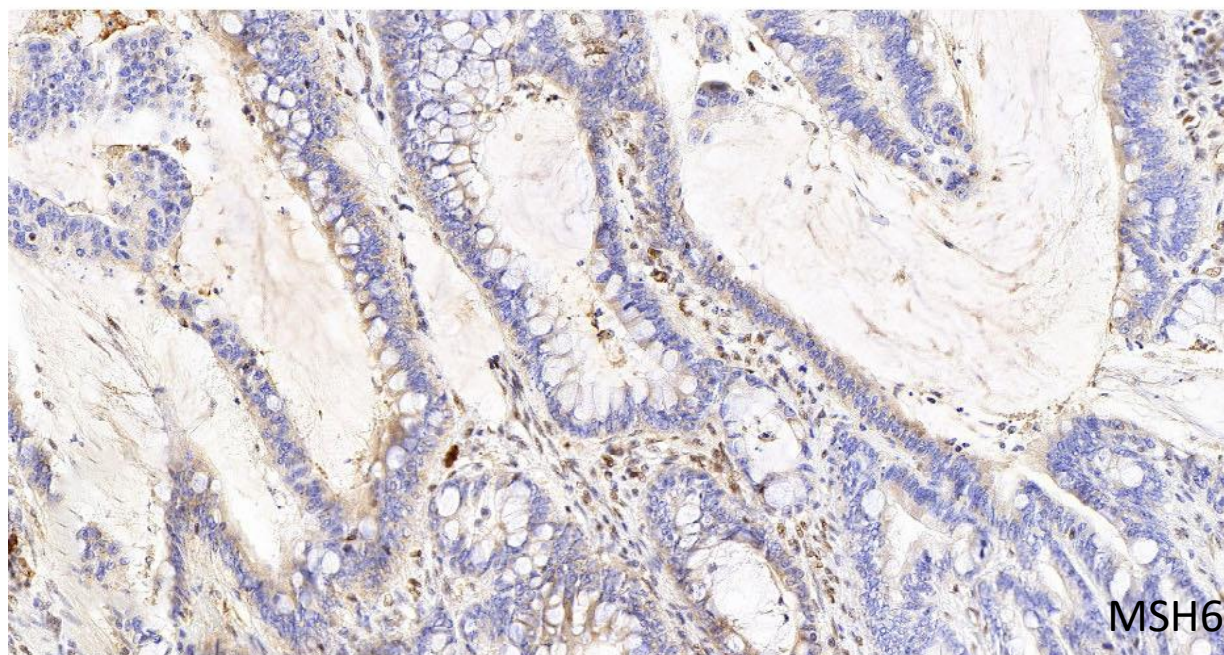
Fortolkning: Tab af MLH1/PMS2 kan være somatisk eller hereditært betinget, og udredes i henhold hertil. MSH6 defekten tolkes som lokal somatisk defekt, og indikerer ikke i sig selv henvisning til genetisk rådgivning.

#### KOMPLET TAB AF MLH1/PMS2 OG MSH6

Fortolkning: Betydningen af komplet tab af MLH1, PMS2 og MSH6 er uvis. Man bør undersøge for BRAF variant /methyleringsstatus som vanligt ved MLH1/PMS2 tab, men uanset udfaldet af disse supplerende analyser bør patienten for en sikkerheds skyld anbefales henvisning til genetisk udredning, indtil der foreligger mere evidens på området, idet vi ikke med sikkerhed kender betydningen af MSH6-tabet.



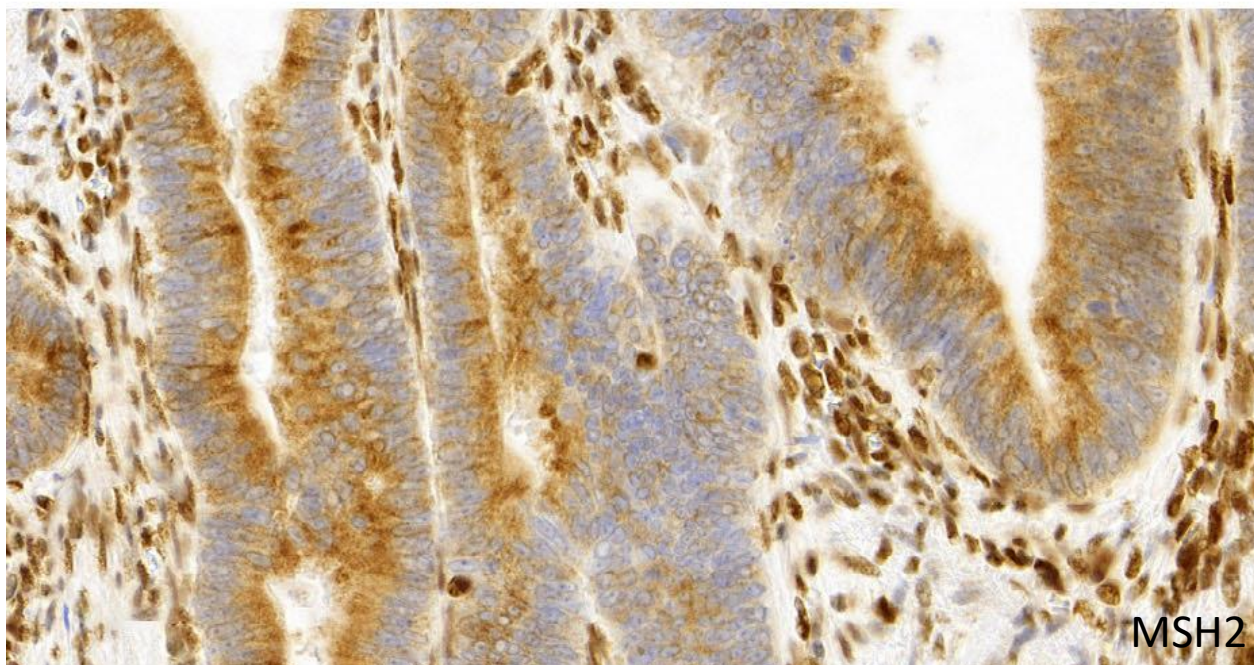
TAB AF MSH6 + SUBKLONAL EKSPRESSION AF MSH2 + NORMAL EKSPRESSION AF MLH1/PMS2



Fortolkning: Mulig mutation af MSH2 eller MSH6. Der er indikation for henvisning til genetisk rådgivning.

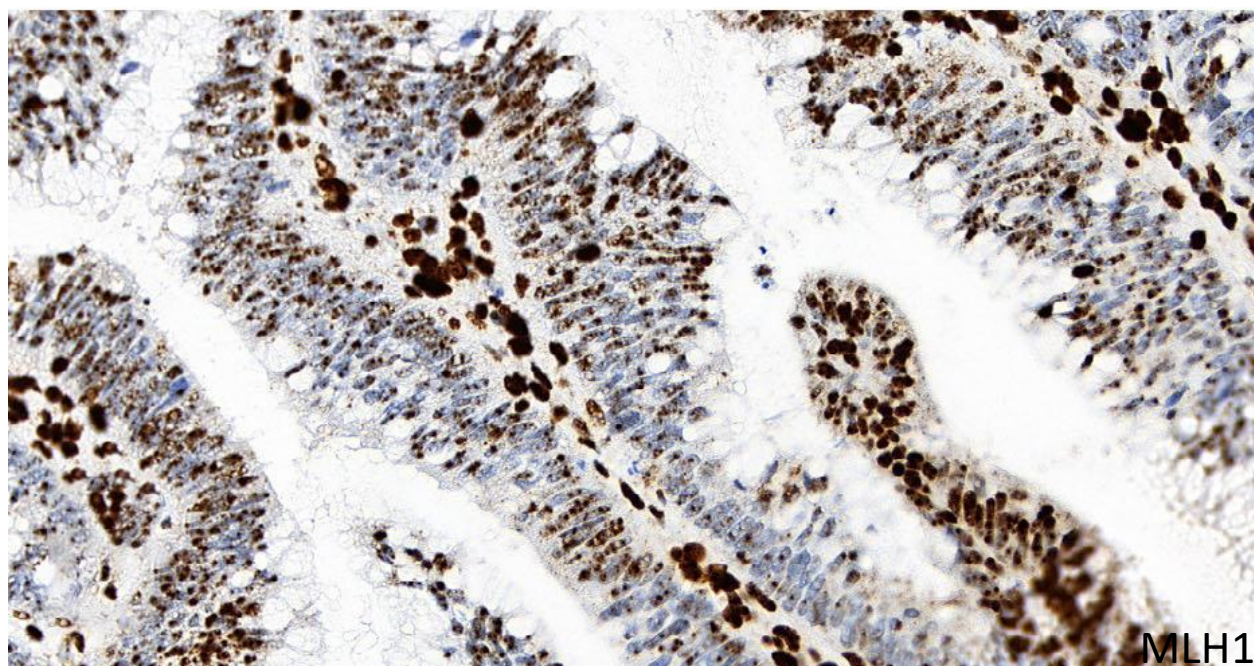


CYTOPLASMATISK EKSPRESSION AF MSH2 + TAB AF MSH6

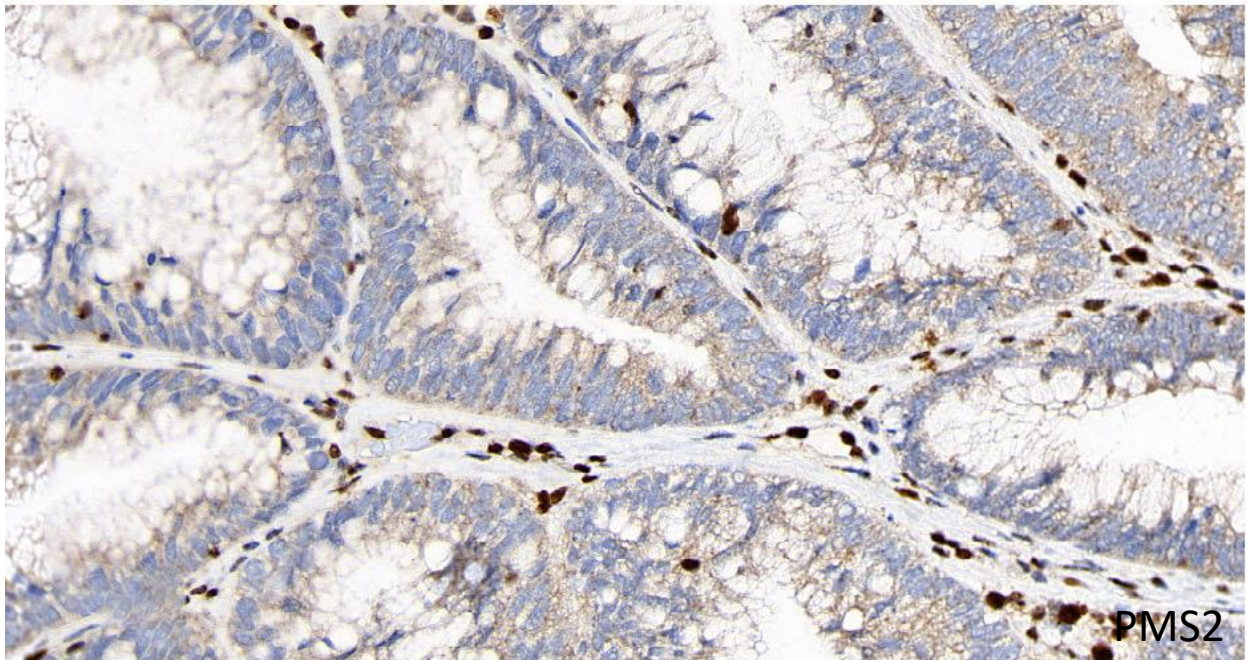


Fortolkning: Abnorm ekspression af MSH2. Der er indikation for henvisning til genetisk rådgivning.

PUNKTFORMET MLH1 FARVNING I KERNER SAMT TAB AF PMS2

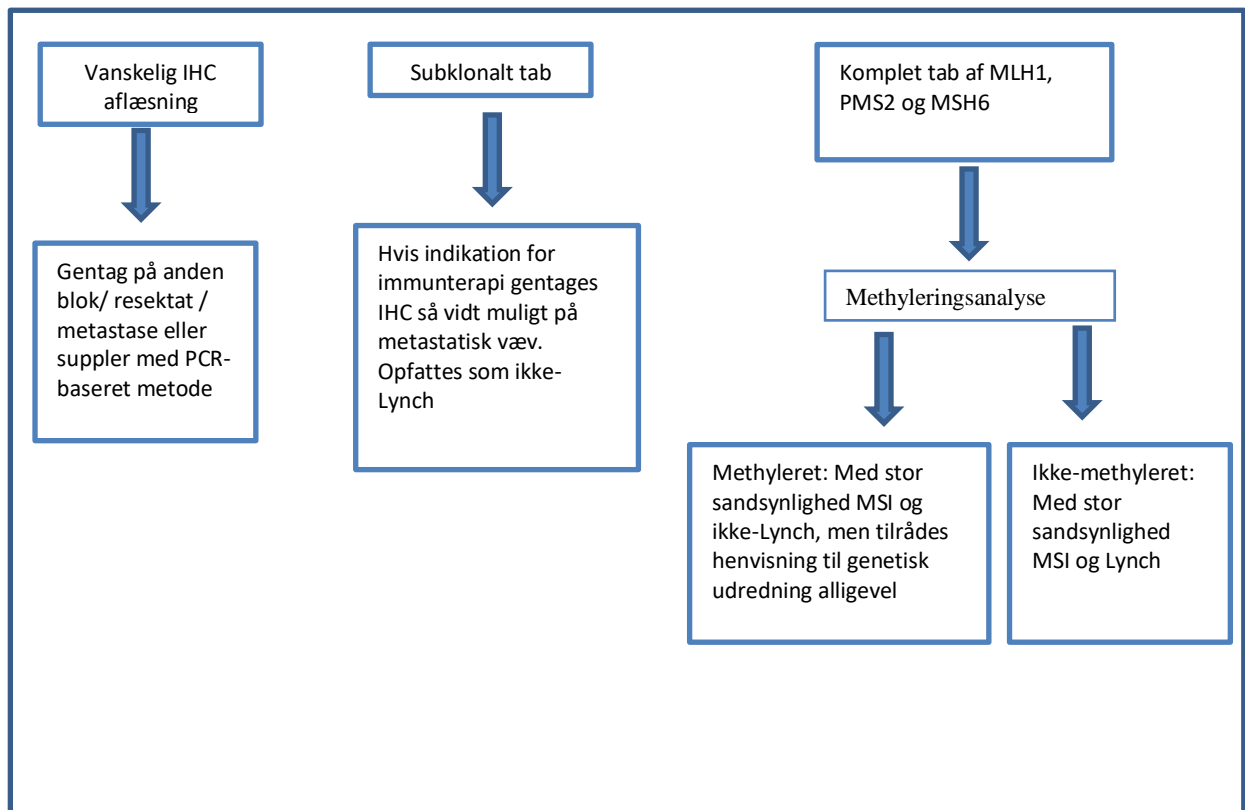






Fortolkning: Håndteres som klassisk tab af MLH1/PMS2.

### Håndtering af vanskelige cases



## MSI-ANALYSE

Alternativt til den immunhistokemiske undersøgelse kan man påvise mikrosatellit instabilitet ved en PCR-baseret metode. Ulempen ved denne metode er, at man ikke får klarlagt, hvilket gen der er defekt, og dermed ikke kan tage stilling til behov for evt. metyleringsanalyse og arvelighed (7). Derfor bør et MSI-H resultat følges op af IHC og/eller metyleringsanalyse for at kunne tage stilling til om patienten bør tilbydes henvisning til genetisk udredning. MSI-low opfattes klinisk som MSS.

## 4. TEST STRATEGI

Konkordansen mellem MMR-IHC og MSI-PCR er høj for kolorektal cancer. Et populationsstudie som inkluderede omkring 600 patienter med coloncancer (stadie II og III) fandt kun få uoverensstemmelser (8). Det er her væsentligt at være opmærksom på at MSI-analysen kræver en tilstrækkelig mængde tumorceller og normale celler for at undgå et falsk negativt resultat, hvor fordelingen afhænger af testmetoden og må afklares lokalt. For IHC skal man kende til de ovenfor beskrevne pitfalls med afvigende ekspressionsmønstre (6).

Kriterierne for inklusion i immun checkpoint studier er oftest baseret på vurdering af MMR status ved anvendelse af kun en af de nævnte metoder. ESMO anbefaler at man applicerer både IHC og MSI-analyse før tilbud om immunterapi (9), mens andre internationale retningslinjer ikke anbefaler dobbelttestning med mindre der er tvivl om testresultatet (7,10). I Danmark mener vi indtil videre ikke at dobbelttestning er nødvendig, så længe man er opmærksom på ovenstående udfordringer, men der er indtil videre få data på dette område.

Undersøgelse af MMR status kan udmærket laves på den diagnostiske biopsi, hvilket fremmer hurtig diagnostik herunder inddragelse af resultatet på MDT-konference og sikrer et resultat også hos de mange patienter, der ikke efterfølgende resekeres. Et mindre antal studier har undersøgt og fundet høj konkordans mellem dMMR status i primær tumor og metastatisk væv (11,12). I et enkelt studie tilskrives uoverensstemmelse subklonalt tab (13).

Ved usikkerhed i forbindelse med tolkningen bør man gentage analysen, anvende en anden metode, eller udvælge en anden tumorblok. Ved uafklarede tilfælde på det primært undersøgte væv bør undersøgelsen gentages på resektat eller metastatisk væv.

## 5. KODNING

SNOMED-kodning af resultatet er obligatorisk og registreres i DCCG databasen. Af hensyn til dataopsamling bør undersøgelse foretaget på arkivmateriale tilføjes SNOMED-koden for 'Supplerende undersøgelse af tidligere materiale' (P30755).

Der findes følgende kodemuligheder for det immunhistokemiske resultat:

- Normal ekspression
- Manglende ekspression
- afvigende ekspression, se tekst (kan anvendes ved f.eks subklonalt tab, det skal af teksten fremgå hvordan det tolkes)
- Nedsat ekspression (Anbefales ikke anvendt inden for kolorektal cancer)

Der findes følgende kodemuligheder for resultat af MSI-analyse:

- MSS
- MSS/MSI-low
- MSI

Hvis resultaterne af ovenstående undersøgelser peger i retning af en Lynch syndrom betinget cancer, bør dette kommunikeres eksplicit til klinikerne, således at der ikke kan herske tvivl om, at patienten bør tilbydes henvisning til genetisk rådgivning.



## 6. REFERENCER

- 1: Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med*. 2005 May 5;352(18):1851-60
- 2: Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2005 Jan 20;23(3):609-18
- 3: Sinicrope FA, Foster NR, Thibodeau SN, Marsoni S, Monges G, Labianca R, et al. DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst*. 2011 Jun 8;103(11):863-75.
- 4: Grillo F, Paudice M, Gambella A, Bozzano S, Sciallero S, Puccini A, et al. Evaluating mismatch repair deficiency in colorectal cancer biopsy specimens. *Histochem Cell Biol*. 2023 Aug;160(2):113-125.
- 5: Bläker H, Haupt S, Morak M, Holinski-Feder E, Arnold A, Horst D, et al. Age-dependent performance of BRAF mutation testing in Lynch syndrome diagnostics. *Int J Cancer*. 2020 Nov 15;147(10):2801-2810.
- 6: Bateman AC. DNA mismatch repair protein immunohistochemistry - an illustrated guide. *Histopathology*. 2021 Aug;79(2):128-138.
- 7: Bartley A N, Mills A M, Konnick E, Overman M, Ventura C B, Souter L, et al. Mismatch Repair and Microsatellite Instability Testing for Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: Guideline From the College of American Pathologists in Collaboration With the Association for Molecular Pathology and Fight Colorectal Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2022 Oct 1;146(10):1194-1210.
- 8: Loughrey MB, McGrath J, Coleman HG, Bankhead P, Maxwell P, McGready C, et al. Identifying mismatch repair-deficient colon cancer: near-perfect concordance between immunohistochemistry and microsatellite instability testing in a large, population-based series. *Histopathology* 2021; 78:401–13.
- 9: Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: A systematic review-based approach. *Ann Oncol* 2019; 30:1232–43.
- 10: Loughrey MB, Quirke P, Shepherd NA. Dataset for histopathological reporting of colorectal cancer. The Royal College of Pathologists. April 2023. <https://www.rcpath.org/static/c8b61ba0-ae3f-43f1-85ffd3ab9f17cfe6/c19a5cd7-3485-44c2-b5e1c87154830582/G049-Dataset-for-histopathological-reporting-of-colorectal-cancer.pdf>
- 11: Evrard C, Messina S, Sefrioui D, Frouin É, Auriault ML, Chautard R, et al. Heterogeneity of Mismatch Repair Status and Microsatellite Instability between Primary Tumour and Metastasis and Its Implications for Immunotherapy in Colorectal Cancers. *Int J Mol Sci* 2022;23.
- 12: Haraldsdottir S, Roth R, Pearlman R, Hampel H, Arnold CA, Frankel WL. Mismatch repair deficiency concordance between primary colorectal cancer and corresponding metastasis. *Fam Cancer* 2016;15:253–60.
- 13: Larsen NB, Heiberg Engel PJ, Rasmussen M, Rasmussen LJ. Differential expression of hMLH1 in sporadic human colorectal cancer tumors and distant metastases. *Apmis* 2009;117:839–48.