

CANCER DU CÔLON - RECHERCHE DE MUTATIONS GERMINALES DES GÈNES *MSH6* ET *PMS2* PAR LE TEST DE LA PROTÉINE TRONQUÉE (TPT) (CODES 50023 ET 50022)

Avis d'évaluation

1 INFORMATIONS GÉNÉRALES

1.1 Demandeur : Hôpital général juif.

1.2 Date de demande d'examen : 22 août 2012.

1.3 Date de transmission de l'avis au ministre : 12 avril 2013.

Mise en garde :

Le présent avis est fondé sur les informations scientifiques et commerciales [déposées par le(s) demandeur(s) ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire] selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE(S)

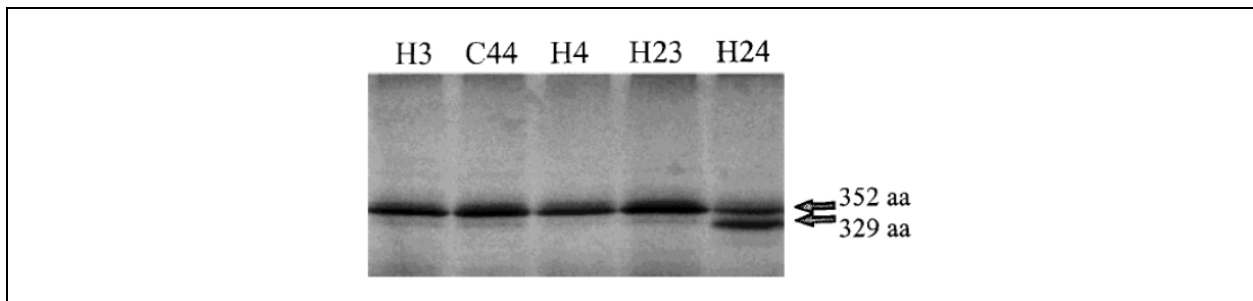
2.1 Nom de la technologie : test de la protéine tronquée (TPT).

2.2 Description brève de la technologie

Le TPT est une méthode développée par Roest et ses collaborateurs [1993] qui permet de mettre en évidence la présence d'une mutation causant la troncation d'une protéine¹. La technique comporte les quatre étapes suivantes : i) isolation de l'ARN total (tissu, tumeur, sang), ii) transcription inverse des ARN messagers et amplification de la région d'intérêt au moyen de la RT-PCR, iii) production de protéines *in vitro* à partir de l'ADN complémentaire amplifié en y incorporant de la méthionine marquée au soufre 35 et iv) analyse des protéines produites sur SDS-PAGE et autoradiographie (voir la figure 1).

¹ Le test permet de mettre en évidence les variations de poids moléculaire causées par les mutations non-sens (insertion prématurée d'un codon stop), les délétions et les modifications qui changent le cadre de lecture [Pasternak, 2005].

Figure 1 Analyse de *MSH6* par TPT



Adapté de Planck *et al.* [1999]. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

2.3 Société ou développeur

Protocole maison tiré de Papadopoulos et ses collaborateurs [1995] (*MSH6*) et de Nicolaides et ses collègues [1994] (*PMS2*)².

Trousses d'essai :

- Trizol reagent kit (Invitrogen);
- SuperScript First-Strand Synthesis System (Invitrogen);
- TNT Quick-Coupled Transcription/Translation kit (Promega).

2.4 Licence(s) : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (*Santé Canada, FDA*)

Ne s'applique pas; les trousse mentionnées ne sont pas homologuées par Santé Canada.

2.7 Valeur pondérée

460,0 (*MSH6*) et 491,0 (*PMS2*). Des analyses similaires ont été repérées dans le Répertoire 2012-2013, soit 50035 (*MLH1/MSH2/MSH6*, recherche d'une mutation par TTP, VP : 267,0), 50272 (*APC*, mutation inconnue par TTP, VP : 606,0) et 50274 (*APC*, mutation individuelle connue par TTP, VP : 267,0).

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEUX DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Les personnes susceptibles d'être atteintes du syndrome de Lynch.

3.2 Description de la ou des maladies visée(s)

Le syndrome de Lynch³ (SL) est caractérisé par la présence de mutations germinales (transmissibles) causant la dysfonction du système de réparation des erreurs d'appariement de l'ADN insérées durant la réplication, communément appelé système

² Communication électronique personnelle avec M. Georges Chong, codirecteur, Laboratoire de diagnostic moléculaire, Hôpital général juif de Montréal (6 février 2013).

³ Le syndrome de Lynch est également appelé syndrome HNPCC (*hereditary non-polyposis colorectal cancer*).

MMR (*mismatch repair*) [Peltomaki, 2001]. Le système MMR est principalement composé des gènes : mutL homolog 1 (*MLH1*); mutS homolog 2 (*MSH2*); mutS homolog 6 (*MSH6*) et postmeiotic segregation increased 2 (*PMS2*). Le SL prédispose à l'apparition précoce de divers cancers dont principalement le cancer colorectal (CCR) et le cancer de l'endomètre (CDE) [Lynch et de la Chapelle, 2003]. Le risque à vie de développer un CCR pour les personnes atteintes du SL est de 80 % [Lynch et de la Chapelle, 2003]. Les mutations touchant les gènes MMR *MLH1* et *MSH2* comptent pour 70 % ou plus des CCR associés au SL, alors que *MSH6* et *PMS2* comptent pour environ 14 % et 15 %, respectivement [Palomaki *et al.*, 2009]. L'identification des personnes atteintes du SL et de leurs parents assure une meilleure gestion du risque et la surveillance clinique adéquate permet de réduire le risque de mortalité globale de 65 % [Jarvinen *et al.*, 2000].

3.3 Nombre de patients visés

Relativement aux volumes effectués en 2010-2011 et 2011-2012, le nombre d'analyses est de 44 et 86 analyses pour *MSH6* de même que 40 et 94 analyses pour *PMS2*, respectivement.

3.4 Spécialités médicales concernées (et autres professionnels, le cas échéant)

Génétique, gastroentérologie, chirurgie, oncologie, obstétrique et gynécologie, soins infirmiers et toutes les autres spécialités professionnelles impliqués dans l'évaluation d'un SL.

3.5 Modalités d'administration du test

Counseling génétique en raison d'une histoire personnelle ou familiale de CCR. Le test est effectué à partir de l'ARN isolé d'un prélèvement de lymphocytes périphériques.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : complémentaire.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

La présence d'un SL est suspectée lorsque les critères cliniques Amsterdam II ou Bethesda révisés (voir en annexe) sont présents et (ou) lorsque l'évaluation de la tumeur des cas index révèle une instabilité des microsatellites⁴ (MSI) et une perte d'expression d'un ou de plusieurs gènes MMR en immunohistochimie (IHC). Dans ces cas, la recherche de mutations pathogéniques au moyen des analyses génétiques est recommandée [NCCN, 2012]. La combinaison MSI et IHC est considérée comme la stratégie de dépistage standard [Halvarsson *et al.*, 2004] et affiche une sensibilité de 82 % et une spécificité de 98 % relativement à l'identification de mutations des gènes MMR [Pino et Chung, 2011]. Ces informations permettent de faire une recherche plus ciblée de la mutation responsable du SL. Le séquençage direct et l'analyse des réarrangements par la MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*)⁵ [Gille *et al.*, 2002] constituent l'approche standard relativement à la détection de mutations germinales. La recherche de mutations par

⁴ Les tumeurs déficientes en système MMR se caractérisent par une fréquence élevée d'erreurs de réplication concentrées sur de courtes séquences répétitives nommées microsatellites. Une instabilité élevée des MSI ne constitue pas en soi un critère propre au SL [Aaltonen *et al.*, 1994].

⁵ Certaines mutations sont indétectables par le séquençage direct comme les délétions, les réarrangements ou les duplications génomiques larges.

séquençage direct complet du gène suspecté peut s'avérer une tâche ardue et coûteuse étant donné l'absence de points chauds ou de patrons mutationnels précis; le ou les gènes suspectés doivent être criblés en entier [Rowley, 2005]. Des techniques sont donc utilisées pour pré-identifier les régions les plus à risque de contenir des mutations par l'analyse conformationnelle de l'ADN. Parmi ces techniques, on note l'analyse de polymorphismes conformationnels simple-brin (SSCP), l'électrophorèse sensible à la conformation (CSGE), l'électrophorèse sur gel gradient en condition dénaturante (DGGE) et la chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante (DHPLC) [Silva *et al.*, 2009; Rowley, 2005]. Le test de la protéine tronquée (TPT) permet également de pré-identifier le gène responsable du SL en vérifiant le poids moléculaire de la protéine produite *in vitro*. Effectivement, dans 50 % à 70 % des cas de SL, la mutation pathogénique génère la troncation de la protéine.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Le demandeur utilise le TPT pour vérifier la présence de mutations provoquant la troncation d'une protéine MMR avant de procéder au séquençage direct ciblé. Cette approche permet de réduire le temps et les coûts liés au séquençage à l'aveugle, et ce, surtout lorsque les informations issues d'une tumeur index ne sont pas disponibles⁶. En effet, *MSH6* est un gène qui contient plusieurs séquences codantes à analyser (18 exons), alors que relativement à *PMS2*, la recherche de mutations par séquençage direct est compliquée par la présence de plusieurs pseudogènes très homologues à ce dernier [Senter *et al.*, 2008].

4.4 Le coût de la technologie et des options : aucune information pertinente n'a été repérée.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 La pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test : MSI et IHC en absence de tissus tumoraux.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

La revue de la littérature a permis de recenser cinq articles scientifiques sur l'utilisation du TPT relativement au criblage préalable de mutations pathogéniques associées au SL visant précisément les gènes *MSH6* et (ou) *PMS2*. Le tableau 1 présente un résumé de l'algorithme diagnostique des cinq études repérées. Toutes ces études ont été publiées avant 2001; elles ont inclus un maximum de 90 cas index suspectés d'un SL et aucune d'entre elles n'a eu recours à l'IHC. Dépendamment des études, le TPT a permis de mettre en évidence la troncation de *MSH6* ou de *PMS2* dans 50 % à 100 % des cas. Afin d'apprécier le rôle global du TPT relativement au diagnostic du SL, la revue de la littérature a permis d'identifier cinq études supplémentaires ayant utilisé le TPT comme technique de pré-identification de mutations pathogéniques pour les gènes *MLH1* et *MSH2* (tableau 2). Concernant ces deux gènes, responsables de la très grande majorité des mutations associées au SL, des observations semblables ont été faites relativement aux dates de publication, aux nombres de personnes incluses et à l'absence de données sur l'expression

⁶ Communication électronique personnelle avec M. Georges Chong, codirecteur, Laboratoire de diagnostic moléculaire, Hôpital général juif de Montréal (12 février 2013).

des protéines en IHC. Quelques-unes des études ayant utilisé le TPT ont également utilisé le DGGE ou le SSCP comme analyses génétiques complémentaires.

À la lumière de ces informations, il semble que le TPT ne soit pas un test largement utilisé pour le diagnostic du SL, et ce, même en absence de tissus tumoraux. Dans ce sens, Zhao et ses collaborateurs ont publié en 2009 une revue systématique avec méta-analyse, dont l'objectif principal était de déterminer la fréquence de mutation de *MSH6* parmi tous les cas de CCR et de CDE répertoriés dans 27 études (de 1999 à 2008). Parmi celles-ci, 20 études ont utilisé le séquençage direct alors que les 7 autres ont opté pour une technique de pré-identification comme le DGGE, le DHPLC, le SSCP ou le TPT [Zhao *et al.*, 2009]. Le tableau 3 présente l'ensemble des études ayant dépisté le SL en utilisant des techniques complémentaires au séquençage direct des gènes *MSH6* et *PMS2*. Enfin, la revue de littérature a permis de répertorier 25 études utilisant le TPT relativement au diagnostic d'un autre syndrome héréditaire associé au CCR, la polypose adénomateuse familiale (FAP). Concernant le dépistage du FAP, le TPT est une technique standard [Necker *et al.*, 2011].

Bref, l'utilisation du TPT dans la pré-identification de mutations chez les personnes suspectées d'être atteintes du SL causé par une mutation germinale des gènes *MSH6* et *PMS2* est peu documentée, mais bien décrite dans le cas du FAP. De nos jours, il semble que cette technique ait été remplacée par d'autres approches de pré-identification comme le DHPLC, le DGGE ou le SSCP.

5.1.3 Valeur thérapeutique : ne s'applique pas.

Tableau 1 Valeur diagnostique du test de la protéine tronquée relativement au dépistage de mutations pathogéniques des gènes *MSH6* et *PMS2* associées au syndrome de Lynch⁷.

ÉTUDES	STATUT DE LA TUMEUR (CAS INDEX SUSPECTÉS)		PRÉ-IDENTIFICATION DE MUTATIONS	DIAGNOSTIC TERMINAL DU SL		
	MSI	MMR ABSENT EN IHC		MUTATIONS CONFIRMÉES	EFFET SUR LA PROTÉINE (N CAS)	N CAS
Huang <i>et al.</i> , 2001 90 familles suspectées SL, sans mutations <i>MLH1/MSH2</i>	S+L : 51 H : 17 NA : 12	NA	<i>MSH6</i> : TPT	<i>MSH6</i> : 1	Troncation (1)	1 (1 %)
Planck <i>et al.</i> , 1999 Cancers associés au syndrome de Lynch (n=17)	H : 16	NA	<i>MLH1/MSH2/MSH6</i> : DGGE + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 7 <i>MSH6</i> : 1	Troncation (8)	8 (47 %)
Percesepe <i>et al.</i> , 1998 CCR (n=48)	L : 15 H : 33	NA	<i>MSH6</i> : RT-PCR + TPT	<i>MSH6</i> : 4	ND	4 (8 %)
Liu <i>et al.</i> , 1996 Parents suspectés de SL (n=74)	Positif : 68	NA	4 MMR : RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 15 <i>MSH6/PMS2</i> : 0	Troncation (10) CDL altéré (2) Faux-sens (3)	15 (20 %)
Nicolaides <i>et al.</i> , 1994 CCR (n=22, sans mutations <i>MLH1/MSH2</i>)	NA	NA	<i>PMS2</i> : TPT	<i>PMS2</i> : 1	Troncation (1)	1 (4,5 %)

Abréviations : CCR : cancer colorectal; CDL : cadre de lecture; DGGE : électrophorèse sur gel gradient en condition dénaturante; H (MSI-H) : MSI élevée; IHC : immunohistochimie; L (MSI-L) : MSI faible; MMR : *Mismatch repair*; MSI : instabilité des microsatellites; N : nombre; NA : non analysé; ND : non disponible; S (MSI-S) : MSI stable; SL : syndrome de Lynch; TPT : test de la protéine tronquée.

⁷ Les tableaux sont présentés sous forme d'algorithme diagnostique. La première colonne montre le nombre de cas ou de familles dépistés. Dans la majorité des études, les cohortes incluent des personnes atteintes d'un cancer associé au SL et leurs parents rapprochés. La deuxième colonne (statut de la tumeur) montre les données recueillies concernant le statut MSI et l'expression des MMR en IHC. Ces informations, lorsque disponibles, proviennent uniquement des cas index atteints d'un cancer associé au SL. La troisième colonne (pré-identification de mutations) montre les techniques employées pour pré-identifier les gènes potentiellement mutés. La dernière colonne montre le nombre de mutations pathogéniques confirmées (séquençage direct et dans certains cas, une recherche de réarrangements par la MLPA ou le *Southern blot*) et de leur effet sur l'expression des gènes MMR.

Tableau 2 Valeur diagnostique du test de la protéine tronquée relativement au dépistage de mutations pathogéniques des gènes *MLH1* et *MSH2* associées au syndrome de Lynch.

ÉTUDES	STATUT DE LA TUMEUR (CAS ATTEINTS D'UN CANCER)		PRÉ-IDENTIFICATION DE MUTATIONS	DIAGNOSTIC TERMINAL DU SL		
	MSI	MMR ABSENT EN IHC		MUTATIONS CONFIRMÉES	EFFETS SUR LA PROTÉINE (N CAS)	N CAS
McVety <i>et al.</i> , 2006 3 familles suspectées SL	NA	NA	<i>MLH1/MSH2</i> : RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 3	Troncation (3)	3 (100 %)
Fidalgo <i>et al.</i> , 2000 20 familles suspectées SL	NA	NA	<i>MLH1/MSH2</i> : DGGE + SSCP + RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 10	Troncation (6) Faux-sens (4)	10 (50 %)
Wahlberg <i>et al.</i> , 1999 131 familles suspectées de SL	NA	NA	<i>MLH1/MSH2</i> : DGGE + RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 10	Troncation (5) Faux-sens (5)	10 (8 %)
Froggatt <i>et al.</i> , 1996 17 individus suspectés de SL	Positif : 9	NA	<i>MLH1/MSH2</i> : RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 8	Troncation (6) Faux-sens (2)	8 (47 %)
Kohonen-Corish <i>et al.</i> , 1996 12 familles suspectées de SL	NA	NA	<i>MLH1/MSH2</i> : DGGE + RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 6	Troncation (5) Faux-sens (1)	6 (35 %)
Luce <i>et al.</i> , 1995 19 familles suspectées de SL	NA	NA	<i>MLH1/MSH2</i> : SSCP + RT-PCR + TPT	<i>MLH1/MSH2</i> : 6	Troncation (6)	6 (32 %)

Abréviations : CCR : cancer colorectal; CDL : cadre de lecture; DGGE : électrophorèse sur gel gradient en condition dénaturante; IHC : immunohistochimie; MMR : *Mismatch repair*; MSI : instabilité des microsatellites; N : nombre; NA : non analysé; ND : non disponible; S (MSI-S) : MSI stable; SL : syndrome de Lynch; TPT : test de la protéine tronquée. SSCP : analyse de polymorphismes conformationnels simple-brin.

Tableau 3 Dépistage de mutations pathogéniques des gènes *MSH6* et *PMS2* associées au syndrome de Lynch au moyen d'une méthode de pré-identification autre que le TPT

ÉTUDES	STATUT DE LA TUMEUR (CAS INDEX SEULEMENT)		PRÉ-IDENTIFICATION DE MUTATIONS	DIAGNOSTIC TERMINAL DU SL		
	MSI	MMR ABSENT EN IHC		MUTATIONS CONFIRMÉES	EFFETS SUR LA PROTÉINE (N CAS)	N CAS
Overbeek <i>et al.</i> , 2007 Cancers associés au syndrome de Lynch (n=614)	Pos : 103 NA : 40	NA	4 MMR : SSCP et DGGE	<i>MLH1/MSH2</i> : 56 <i>MSH6</i> : 18 <i>PMS2</i> : 2	Troncation (28) Délétions larges (5) CDL altéré (14)	76 (12 %)
Hendriks <i>et al.</i> , 2006 CCR (n=120, sans mutations <i>MLH1/MSH2/MSH6</i>)	NA	NA	<i>PMS2</i> : DGGE	<i>PMS2</i> : 7	Troncation (3) Réarrangements (4)	7 (5,8 %)
Southey <i>et al.</i> , 2005 CCR ≤ 45 ans (n=105).	L : 16 H : 18	<i>MLH1</i> : 13 (12 %) <i>MSH2</i> : 7 (6,7 %) <i>MSH6</i> : 11 (11 %) <i>PMS2</i> : 15 (14 %)	<i>MSH6/PMS2</i> : DHPLC	<i>MLH1/MSH2</i> : 13 <i>MSH6</i> : 4 <i>PMS2</i> : 1	Troncation (17) Faux-sens (1)	18 (17 %)
Shia <i>et al.</i> , 2005 110 individus suspectés SL	L+H : 41	<i>MLH1</i> : 6 (5,5 %) <i>MSH2</i> : 29 (27 %) <i>MSH6</i> : 25 (24 %)	<i>MLH1/MSH2/MSH6</i> : DHPLC	<i>MLH1/MSH2</i> : 34 <i>MSH6</i> : 4	ND	38 (35 %)
Nakagawa <i>et al.</i> , 2004 Cancers associés au syndrome de Lynch (n=103)	Pos. : 103	<i>PMS2</i> : 24 (14 %)	<i>PMS2</i> : Séquençage haploïde	<i>MLH1</i> : 1 <i>PMS2</i> : 2	Troncation (2) Faux-sens (1)	3 (35 %)
Plaschke <i>et al.</i> , 2004 706 familles suspectées SL	L : 4 H : 19	<i>MSH6</i> : 18	<i>MSH6</i> : DHPLC + RT-PCR	<i>MLH1/MSH2</i> : 0 <i>MSH6</i> : 27	Troncation (25) Faux-sens (5) Réarrangements (2)	32 (4,5 %)

Abréviations : CCR : cancer colorectal; CDL : cadre de lecture; DGGE : électrophorèse sur gel gradient en condition dénaturante; H (MSI-H) : MSI élevée; IHC : immunohistochimie; L (MSI-L) : MSI faible; MMR : *Mismatch repair*; MSI : instabilité des microsatellites; N : nombre; NA : non analysé; ND : non disponible; S (MSI-S) : MSI stable; SL : syndrome de Lynch; TPT : test de la protéine tronquée. SSCP : analyse de polymorphismes conformationnels simple-brin.

5.2 Validité clinique

TERMES	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité		x	
Valeur prédictive positive (VPP)		x	
Valeur prédictive négative (VPN)		x	
Rapport de vraisemblance (LR)		x	
Courbe ROC		x	
Exactitude		x	

Très peu d'informations pertinentes ont été repérées concernant précisément les gènes *MSH6* et *PMS2*.

Sensibilité

Fidalgo et ses collaborateurs ont comparé plusieurs techniques différentes dans la mise en évidence de mutations pathogéniques pour les gènes *MLH1* et *MSH2*. Parmi les 20 familles dépistées, les techniques DGGE, SSCP et TPT ont permis de mettre en évidence, respectivement, 94 %, 88 % et 50 % des mutations. Concernant le TPT, la stabilité des ARNm aberrants est mise en cause par les auteurs [Fidalgo *et al.*, 2000].

American Gastroenterological Association : le TPT possède une sensibilité de 50 % à 65 % relativement au dépistage du SL (voir le tableau 4) [Giardiello *et al.*, 2001].

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERMES	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	x		
Reproductibilité		x	
Sensibilité analytique		x	
Spécificité analytique		x	
Effet de matrice		x	
Concordance		x	
Corrélation entre test et comparateur		x	

Très peu d'informations pertinentes ont été repérées concernant précisément les gènes *MSH6* et *PMS2*.

Répétabilité

Selon Bateman et ses collaborateurs [1999], les mutations responsables de la production d'un transcrit aberrant ont une demi-vie très courte, ce qui peut altérer la répétabilité de la technique. En ajoutant de la cycloheximide, les auteurs ont conclu que le transcrit mutant est stabilisé et augmente ainsi sa capacité à produire une protéine visible sur gel.

5.4 Les recommandations favorables d'introduction dans les autres juridictions

En 2003, les membres de l'International Collaborative Group for Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer ont été invités à répondre à un questionnaire concernant leurs pratiques cliniques relativement au dépistage du SL [Chow *et al.*, 2005]. En tout, 18 centres internationaux ont répondu : Australie (3), R.-U. (9), É.-U. (2), Danemark (2), Canada (1) et Israël (1). À la question : « Quelle est la stratégie d'analyse mutationnelle mise en place dans votre laboratoire? », la majorité des centres ont répondu faire du séquençage direct. Cinq centres utilisaient le DHPLC et deux centres utilisaient le TPT comme méthode de pré-identification.

Selon Baglietto et ses collaborateurs, la plupart des laboratoires des Pays-Bas utilisent une technique indirecte comme le DGGE ou le TPT relativement à la pré-identification des mutations du gène *MSH6* [Baglietto *et al.*, 2010].

6 RÉPERCUSSIONS À ANTICIPER DE L'INTRODUCTION ÉVENTUELLE DE L'ANALYSE

6.1 Impact sur les ressources matérielles et humaines

Réduction du temps d'analyse et des coûts de séquençage.

6.2 Conséquences économiques d'une introduction dans le système de santé et de services sociaux québécois

Étude coût-efficacité comparant sept méthodes relativement à la détection de mutations du gène *BRCA1*, dont le séquençage direct (étalon-or), le SSCP, le DGGE et le TPT [Sevilla *et al.*, 2002]. En analysant l'impact sur les réactifs de laboratoire, l'équipement et le personnel technique selon 20 modèles de dépistage différents, les auteurs concluent à une économie de 70 % attribuable à l'unique ajout du TPT lorsque comparé au séquençage direct (29 € par rapport à 9 € par fragment séquencé; à titre d'exemple pour le séquençage du gène *MSH6*, 18 fragments doivent être générés, alors que le TPT requiert l'analyse et le séquençage de 3 fragments⁸).

⁸ Communication électronique personnelle avec M. Georges Chong, codirecteur, Laboratoire de diagnostic moléculaire, Hôpital général juif de Montréal (12 février 2013).

Tableau 4 Tests disponibles commercialement relevés en 2001 par l’American Gastroenterological Association concernant le dépistage du SL (adapté de Giardiello *et al.*, 2001)

GÈNES	MÉTHODE	SENSIBILITÉ/ PRÉCISION	COÛT	
			MUTATION CONNUE	MUTATION INCONNUE
MLH1/MSH2	Séquençage direct	90 %	200 \$ - 500 \$	800 \$ - 3 000 \$
	CSGE + séquençage	90 %	260 \$	1 540 \$
	SSCP	95 %-100 %	250 \$	800 \$
	TPT	50 %-65 %	500 \$	750 \$

Abréviations : CSGE : électrophorèse sensible à la conformation; MLH1 : mutL homolog 1; MSH2 : mutS homolog 2; SSCP : analyse de polymorphismes conformationnels simple-brin; TPT : test de la protéine tronquée.

Nota : le lecteur doit garder en tête que les écarts de prix relativement à la recherche directe de mutations par séquençage ou indirecte par TPT pour *MLH1* et *MSH2* ne peuvent pas nécessairement être transposés aux gènes *MSH6* et *PMS2* en raison des particularités de ces gènes, mentionnées plus haut.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)

L’identification des personnes atteintes du SL est importante en raison du risque de développer un CCR (80 %) et de l’âge précoce du diagnostic. La création d’un registre sur la parenté des personnes atteintes du SL unique aux cas de CCR aurait un impact significatif sur l’identification et la surveillance des personnes à risque [INSPQ, 2008]. En effet, les personnes atteintes du SL auront à subir une surveillance accrue au moyen de la coloscopie [Palomaki *et al.*, 2009].

7 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Cancer du côlon - Recherche de mutations germinales des gènes *MSH6* et *PMS2* par le test de la protéine tronquée (TPT) (codes 50023 et 50022)

Le statut de la technologie diagnostique :

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie : _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS :

- ☒ Avis de recommandation de maintien
- ☐ Avis de refus de maintien
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle :

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs, dans le cas d'un besoin de vigilance

ANNEXE A

Critères cliniques relativement au diagnostic du syndrome de Lynch (SL).

AMSTERDAM II (tous les critères sont requis)

1. Au moins 3 sujets atteints de cancers associés au SL.
2. Au moins 1 sujet est parent au 1^{er} degré avec les 2 autres.
3. Au moins 2 générations successives.
4. Au moins 1 cas < 50 ans.
5. Syndrome FAP exclu.

BETHESDA RÉVISÉS (au moins un critère requis)

1. CCR < 50 ans.
2. Deuxième CCR synchrone ou métachrone.
3. Deuxième cancer associé au SL
4. Anatomopathologie évocatrice et MSI élevée, < 60 ans.
5. CCR avec au moins 1 parent au 1^{er} degré présentant un cancer associé au SL < 50 ans.
6. CCR avec au moins 2 parents au 1^{er} ou 2^e degré présentant un cancer associé au SL, indépendamment de l'âge.

RÉFÉRENCES

- Aaltonen LA, Peltomäki P, Mecklin JP, Jarvinen H, Jass JR, Green JS, et al. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res* 1994;54(7):1645-8.
- Baglietto L, Lindor NM, Dowty JG, White DM, Wagner A, Gomez Garcia EB, et al. Risks of Lynch syndrome cancers for MSH6 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(3):193-201.
- Bateman JF, Freddi S, Lamande SR, Byers P, Nasioulas S, Douglas J, et al. Reliable and sensitive detection of premature termination mutations using a protein truncation test designed to overcome problems of nonsense-mediated mRNA instability. *Hum Mutat* 1999;13(4):311-7.
- Chow E, Macrae F, Burn J. Survey of HNPCC management: Analysis of responses from 18 international cancer centres. *Hered Cancer Clin Pract* 2005;3(4):137-46.
- Fidalgo P, Almeida MR, West S, Gaspar C, Maia L, Wijnen J, et al. Detection of mutations in mismatch repair genes in Portuguese families with hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) by a multi-method approach. *Eur J Hum Genet* 2000;8(1):49-53.
- Froggatt NJ, Brassett C, Koch DJ, Evans DG, Hodgson SV, Ponder BA, Maher ER. Mutation screening of MSH2 and MLH1 mRNA in hereditary non-polyposis colon cancer syndrome. *J Med Genet* 1996;33(9):726-30.
- Giardiello FM, Brensinger JD, Petersen GM. AGA technical review on hereditary colorectal cancer and genetic testing. *Gastroenterology* 2001;121(1):198-213.
- Gille JJ, Hogervorst FB, Pals G, Wijnen JT, van Schooten RJ, Dommering CJ, et al. Genomic deletions of MSH2 and MLH1 in colorectal cancer families detected by a novel mutation detection approach. *Br J Cancer* 2002;87(8):892-7.
- Halvarsson B, Lindblom A, Rambech E, Lagerstedt K, Nilbert M. Microsatellite instability analysis and/or immunostaining for the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer? *Virchows Arch* 2004;444(2):135-41.
- Hendriks YM, Jagmohan-Changur S, van der Klift HM, Morreau H, van Puijenbroek M, Tops C, et al. Heterozygous mutations in PMS2 cause hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (Lynch syndrome). *Gastroenterology* 2006;130(2):312-22.
- Huang J, Kuismanen SA, Liu T, Chadwick RB, Johnson CK, Stevens MW, et al. MSH6 and MSH3 are rarely involved in genetic predisposition to nonpolyposis colon cancer. *Cancer Res* 2001;61(4):1619-23.
- Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Pertinence et faisabilité d'un programme de dépistage du cancer colorectal au Québec : rapport du comité scientifique constitué par l'Institut national de santé publique du Québec [Président du comité : Anthony Miller]. Québec, Qc : INSPQ; 2008. Disponible à : http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/882_PertinFaisPrograCcColo.pdf.

- Jarvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, Aktan-Collan K, Aaltonen LA, Peltomaki P, et al. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 2000;118(5):829-34.
- Kohonen-Corish M, Ross VL, Doe WF, Kool DA, Edkins E, Faragher I, et al. RNA-based mutation screening in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Am J Hum Genet* 1996;59(4):818-24.
- Liu B, Parsons R, Papadopoulos N, Nicolaides NC, Lynch HT, Watson P, et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat Med* 1996;2(2):169-74.
- Luce MC, Marra G, Chauhan DP, Laghi L, Carethers JM, Cherian SP, et al. In vitro transcription/translation assay for the screening of hMLH1 and hMSH2 mutations in familial colon cancer. *Gastroenterology* 1995;109(4):1368-74.
- Lynch HT et de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348(10):919-32.
- McVety S, Li L, Thiffault I, Gordon PH, Macnamara E, Wong N, et al. The value of multi-modal gene screening in HNPCC in Quebec: Three mutations in mismatch repair genes that would have not been correctly identified by genomic DNA sequencing alone. *Fam Cancer* 2006;5(1):21-8.
- Nakagawa H, Lockman JC, Frankel WL, Hampel H, Steenblock K, Burgart LJ, et al. Mismatch repair gene PMS2: Disease-causing germline mutations are frequent in patients whose tumors stain negative for PMS2 protein, but paralogous genes obscure mutation detection and interpretation. *Cancer Res* 2004;64(14):4721-7.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Clinical practice guidelines in oncology – v.2.2012: Colorectal cancer screening. Fort Washington, PA : NCCN; 2012. Disponible à : <http://www.nccn.org/index.asp> (consulté le 21 février 2013).
- Necker J, Kovac M, Attenhofer M, Reichlin B, Heinimann K. Detection of APC germ line mosaicism in patients with de novo familial adenomatous polyposis: A plea for the protein truncation test. *J Med Genet* 2011;48(8):526-9.
- Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Wei YF, Carter KC, Ruben SM, et al. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 1994;371(6492):75-80.
- Overbeek LI, Kets CM, Hebeda KM, Bodmer D, van der Looij E, Willems R, et al. Patients with an unexplained microsatellite instable tumour have a low risk of familial cancer. *Br J Cancer* 2007;96(10):1605-12.
- Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet Med* 2009;11(1):42-65.
- Papadopoulos N, Nicolaides NC, Liu B, Parsons R, Lengauer C, Palombo F, et al. Mutations of GTBP in genetically unstable cells. *Science* 1995;268(5219):1915-7.
- Pasternak JJ. An introduction to human molecular genetics: Mechanisms of inherited diseases. 2^e éd. Hoboken, NJ : Wiley-Liss; 2005.
- Peltomaki P. DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res* 2001;488(1):77-85.

- Percesepe A, Kristo P, Aaltonen LA, Ponz de Leon M, de la Chapelle A, Peltomaki P. Mismatch repair genes and mononucleotide tracts as mutation targets in colorectal tumors with different degrees of microsatellite instability. *Oncogene* 1998;17(2):157-63.
- Pino MS et Chung DC. Microsatellite instability in the management of colorectal cancer. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;5(3):385-99.
- Planck M, Koul A, Fernebro E, Borg A, Kristoffersson U, Olsson H, et al. hMLH1, hMSH2 and hMSH6 mutations in hereditary non-polyposis colorectal cancer families from southern Sweden. *Int J Cancer* 1999;83(2):197-202.
- Plaschke J, Engel C, Kruger S, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Mangold E, et al. Lower incidence of colorectal cancer and later age of disease onset in 27 families with pathogenic MSH6 germline mutations compared with families with MLH1 or MSH2 mutations: The German Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Consortium. *J Clin Oncol* 2004;22(22):4486-94.
- Roest PA, Roberts RG, Sugino S, van Ommen GJ, den Dunnen JT. Protein truncation test (PTT) for rapid detection of translation-terminating mutations. *Hum Mol Genet* 1993;2(10):1719-21.
- Rowley PT. Inherited susceptibility to colorectal cancer. *Annu Rev Med* 2005;56:539-54.
- Senter L, Clendenning M, Sotamaa K, Hampel H, Green J, Potter JD, et al. The clinical phenotype of Lynch syndrome due to germ-line PMS2 mutations. *Gastroenterology* 2008;135(2):419-28.
- Sevilla C, Moatti JP, Julian-Reynier C, Eisinger F, Stoppa-Lyonnet D, Bressac-de Paillerets B, Sobol H. Testing for BRCA1 mutations: A cost-effectiveness analysis. *Eur J Hum Genet* 2002;10(10):599-606.
- Shia J, Klimstra DS, Nafa K, Offit K, Guillem JG, Markowitz AJ, et al. Value of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair proteins in predicting germline mutation in hereditary colorectal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2005;29(1):96-104.
- Silva FC, Valentin MD, Ferreira FO, Carraro DM, Rossi BM. Mismatch repair genes in Lynch syndrome: A review. *Sao Paulo Med J* 2009;127(1):46-51.
- Southey MC, Jenkins MA, Mead L, Whitty J, Trivett M, Tesoriero AA, et al. Use of molecular tumor characteristics to prioritize mismatch repair gene testing in early-onset colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005;23(27):6524-32.
- Wahlberg S, Liu T, Lindblom P, Lindblom A. Various mutation screening techniques in the DNA mismatch repair genes hMSH2 and hMLH1. *Genet Test* 1999;3(3):259-64.
- Zhao YS, Hu FL, Wang F, Han B, Li DD, Li XW, Zhu S. Meta-analysis of MSH6 gene mutation frequency in colorectal and endometrial cancers. *J Toxicol Environ Health A* 2009;72(11-12):690-7.