

Mikrosatelliten-Instabilität

Grundlagen und neue klinische Anwendungen eines etablierten Biomarkers

DNA-Reparaturmechanismen gewährleisten die Integrität des zellulären Genoms. Ein Ausfall der sogenannten DNA-Mismatchreparatur (MMR) ist ein wesentlicher Mechanismus der Tumorentstehung, vor allem bei kolorektalen Karzinomen und Endometriumkarzinomen. Eine gestörte MMR manifestiert sich als Mikrosatelliten-Instabilität (MSI) im Tumorzellgenom. Während bisher die MSI-Testung von Tumoren vor allem zum Screening auf Lynch-Syndrom durchgeführt wurde, steht derzeit die Vorhersage eines Therapieansprechens auf Immuncheckpoint-Inhibitoren im Vordergrund der klinischen Anwendung.

MARLENE ZIPPL, WOLFRAM JOCHUM

SZO 2019; 4: 19–25.



Marlene Zippl



Wolfram Jochum

Als Mikrosatelliten werden kurze repetitive Basenabfolgen im Genom bezeichnet. Die sich wiederholenden Nukleotidmotive bestehen aus einer einzelnen Base (Mononukleotid-Mikrosatelliten) oder aus einer einfachen Abfolge von mehreren (bis zu 10) Basen. Basenfehlpaarungen und kleine nicht gepaarte DNA-Schleifen, die bei der DNA-Replikation entstehen, werden durch den zellulären MMR-Mechanismus korrigiert (1). Bei Ausfall der MMR entstehen neben zahlreichen somatischen Mutationen im Tumorzellgenom auch Längenveränderungen der Mikrosatelliten, die als Mikrosatelliteninstabilität (MSI) bezeichnet werden. Der nachfolgende Beitrag beschreibt die Grundlagen und die aktuellen Anwendungen der MSI-Testung in der klinischen Tumordiagnostik.

Grundlagen

Die Hauptakteure der MMR sind fünf Proteine, die heterodimere Komplexe bilden: MSH2, MSH3, MSH6, MLH1 und PMS2 (1). Das MSH2/MSH6-Heterodimer bindet bevorzugt an einzelne fehlgepaarte Basen und kleine DNA-Schleifen (loops) von 1 bis 2 Basen. Loops aus 2 bis 10 Basen werden eher vom

MSH2/MSH3-Dimer erkannt. Nach Bindung an ein fehlerhaftes DNA-Molekül lagert sich das MLH1/PMS2-Dimer an das MSH2/MSH6- bzw. MSH2/MSH3-Dimer an, so dass der funktionale Proteinkomplex für die DNA-Reparatur entsteht. Zu einem Ausfall der MMR-Funktion kommt es bei Fehlen des MSH2-, MSH6-, MLH1- oder PMS2-Proteins. Während ein Expressionsverlust von MSH2, MSH6 und PMS2 in der Regel durch biallelische Mutationen des jeweiligen MMR-Gens verursacht wird, ist der MLH1-Verlust häufiger auf eine epigenetische Inaktivierung des MLH1-Gens zurückzuführen (2). Tumorzellen mit mangelhafter (defizienter) MMR (dMMR) sind durch eine hohe Mutationslast gekennzeichnet und werden als hypermutiert bezeichnet (3). Kolorektale Karzinome (KRK) mit dMMR haben bis zu 100-mal mehr somatische Mutationen im Genom als Tumoren mit intakter MMR (4). Weiterhin unterscheiden sich MMR-defiziente und MMR-intakte Karzinome bezüglich der mutierten Gene (Mutationssignatur), sodass von unterschiedlichen molekularen Mechanismen der Tumorentstehung und Progression ausgegangen werden kann. Abzugrenzen von der Hypermutation bei dMMR ist die Hypermutation infolge von somatischen Mutationen in replikativen DNA-Polymerasen (POLE) (4). POLE-Mutationen führen jedoch nicht zu einer MSI.

MMR-/MSI-Testverfahren in der klinischen Diagnostik

Ein Funktionsausfall der MMR führt zu Längenveränderungen der Mikrosatelliten im Zellgenom. Mikrosatelliten mit Längenveränderungen werden als instabil bezeichnet. Die Länge eines Mikrosatelliten kann durch selektive Amplifikation mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit nachfolgender Längenanalyse des PCR-Produkts (meistens mittels Kapillar-

ABSTRACT

Microsatellite instability

Impaired DNA mismatch repair (MMR) leads to high mutational load and microsatellite instability (MSI) in tumor cell genomes. MMR function can be assessed by MMR protein immunohistochemistry and microsatellite length analysis using polymerase chain reaction with fragment length analysis. In the past, both loss of MMR protein expression and microsatellite instability were primarily used as a diagnostic marker for Lynch syndrome. A more recent application is the selection of patients for immune checkpoint inhibitor therapy. This article reviews key aspects related to clinical MMR testing.

Keywords: DNA mismatch repair, microsatellite instability, Lynch syndrome, immune checkpoint inhibition

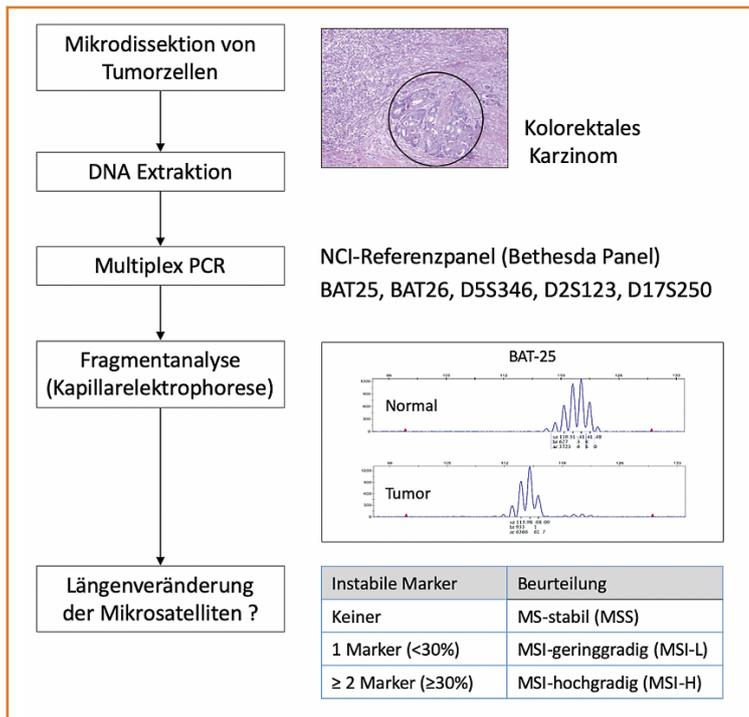


Abbildung 1: Mikrosatellitenanalyse. Darstellung der wesentlichen Arbeitsschritte einer Testung mit dem NCI-Referenzpanel (Bethesda-Panel).

elektrophorese) ermittelt werden (Abbildung 1). In der klinischen Diagnostik werden zur MMR-/MSI-Testung eines Tumors in der Regel mindestens fünf Mikrosatelliten untersucht. Das NCI-Referenzpanel (Bethesda-Panel) umfasst zwei Mononukleotid-Mikrosatelliten (BAT-25, BAT-26) und drei Dinukleotid-Mikrosatelliten (D2S123, D5S346, D7S250). Eine hochgradige Mikrosatelliten-Instabilität (MSI-H) liegt vor, wenn mehr als 30% der untersuchten Mikrosatelliten eine Instabilität aufweisen. Meistens liegt eine Verkürzung (Deletion) um 4 bis 12 Basen vor. Minimale Längenvariationen (1–3 Basen) können die Beurteilung erschweren (5). Bei Endometriumkarzinomen fällt die Längenvariation häufig geringer aus als bei KRK (6).

Andere Panel zur MSI-Analyse verwenden ausschliesslich (quasi-)monomorphe Mononukleotid-Marker (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, MONO-27; Promega MSI Analysis System 1.2) und/oder eine grössere Anzahl von Markern (7 Loci; Idylla™ MSI Assay). Mononukleotid-Marker zeigen eine grössere Empfindlichkeit als Dinukleotid-Marker für Längenveränderungen bei Vorliegen einer dMMR. Da monomorphe Mikrosatelliten keine Längenvariabilität zwischen Individuen einer Population zeigen, kann bei ihrer Verwendung auf die vergleichende Untersuchung von Tumor- und Normalgewebe eines Patienten verzichtet werden.

Ein alternativer Ansatz zur Testung auf dMMR ist der mittels Immunhistochemie nachgewiesene Expres-

sionsverlust von MMR-Proteinen in Tumorzellkernen. Hierbei werden je nach molekularem Entstehungsmechanismus einer MSI verschiedene Ausfallmuster beobachtet. So zeigen die meisten KRK mit MSI-H einen kombinierten Expressionsverlust von MLH1/PMS2 oder MSH2/MSH6, selten einen Ausfall von MSH6 oder PMS2 allein. Bei KRK besteht eine hohe Konkordanz (98%) zwischen MMR- und MSI-Testergebnis (7). Für Endometriumkarzinome wurde eine geringere Konkordanzrate (94%) dokumentiert (8). Daten für andere Tumortypen fehlen bis jetzt. Diskordante Testergebnisse können teilweise durch intratumorale Heterogenität und technische Aspekte der verwendeten Testverfahren erklärt werden (8).

Die MSI-Testung kann an Gewebeproben und zytologischem Probenmaterial durchgeführt werden. Je nach verwendeten Mikrosatelliten-Markern sind neben Tumorzellen auch Normalzellen zum direkten Vergleich zu untersuchen. Vor der DNA-Gewinnung ist ein ausreichender Tumorzellgehalt des Probenmaterials sicherzustellen oder eine gezielte Tumorzellanreicherung durchzuführen (z.B. durch Mikrodissektion).

Am häufigsten findet sich eine dMMR/MSI-H bei Karzinomen des Endometriums (30%), des Kolons (20%) und des Magens (20%) (9–11). Eine dMMR/MSI-H wird jedoch auch bei vielen anderen histologischen Tumortypen beobachtet, bei den meisten Tumortypen jedoch nur mit sehr geringer Frequenz.

Klinische Anwendungen der MMR-/MSI-Testung

Im klinischen Kontext wird der Ausfall der MMR in Tumorzellen als diagnostischer, prognostischer und prädiktiver Biomarker verwendet.

Molekulare Tumorklassifikation und Prognose

Bei mehreren histologischen Tumortypen (v.a. bei Adenokarzinomen des Ösophagus, des Magens, des Kolons und des Endometriums) definiert der Ausfall der MMR eine molekulare Subgruppe von Tumoren mit charakteristischen pathologischen und klinischen Merkmalen (12–15). So sind KRK mit dMMR/MSI-H durch eine proximale Lokalisation im Kolon, muzinöse Differenzierung und zahlreiche tumorinfiltrierende Lymphozyten charakterisiert (16). Endometriumkarzinome mit dMMR/MSI-H zeigen häufiger als mikrosatellitenstabile Karzinome die folgenden pathologischen Merkmale: Lokalisation im unteren Uterussegment, endometroider Typ, muzinöse Differenzierung sowie zahlreiche tumorinfiltrierende und peritumorale Lymphozyten (17).

Lokal fortgeschrittene KRK haben eine bessere Prognose und ein signifikant geringeres Rezidivrisiko nach Resektion, wenn eine dMMR/MSI-H in den Karzinomzellen vorliegt (18, 19). Daher empfehlen verschiedene Guidelines (AWMF, ESMO, NCCN) bei

KRK mit dMMR/MSI-H im Stadium II, auf eine adjuvante Chemotherapie nach kurativer Resektion zu verzichten. Allerdings verschlechtert das Vorliegen einer BRAF-V600E-Mutation die günstige Prognose der KRK mit dMMR (19). Während rund 15% aller KRK eine dMMR/MSI-H zeigen, findet sich eine dMMR/MSI-H nur in etwa 5% der KRK im Stadium IV und ist in diesem Erkrankungsstadium mit einer schlechteren Prognose assoziiert (20).

Die prognostische Bedeutung der dMMR bei Magenkarzinom wurde in Rahmen der MAGIC-Studie untersucht (21). Während das Vorliegen einer dMMR bei Patienten, bei denen nur eine Resektion durchgeführt wurde, mit einem besseren Überleben assoziiert war, hatten Patienten, bei denen die Resektion mit einer perioperativen Chemotherapie kombiniert wurde, eine deutlich schlechtere Prognose bei Vorliegen einer dMMR.

Die prognostische Signifikanz des MSI-Status bei Endometriumkarzinom ist nicht abschliessend geklärt. In einer aktuellen Studie zeigten Karzinome mit erblich bedingter dMMR/MSI-H eine günstigere Prognose, während sporadische Karzinome mit MSI-H schlechter als mikrosatellitenstabile Tumoren verliefen (22).

Es wird angenommen, dass die bessere Prognose von Tumoren mit dMMR/MSI-H auf einer starken gegen die Tumorzellen gerichteten Immunantwort beruht (23). Unabhängig vom histologischen Typ haben Tumoren mit dMMR/MSI-H bis zu 100-mal mehr Mutationen als mikrosatellitenstabile Tumoren und exprimieren Neoantigene, die eine antitumorale Immunantwort verstärken können.

Screening auf Lynch-Syndrom

Das autosomal-dominant vererbte Lynch-Syndrom ist das häufigste erbliche Tumordispositionssyndrom und manifestiert sich vor allem durch ein KRK (Lebenszeitrisiko 30–70%) oder ein Endometriumkarzinom (Lebenszeitrisiko 30–60%) (24). Der Phänotyp des Lynch-Syndroms umfasst auch Karzinome von Ovar, Magen, Pankreas, Harntrakt und Dünndarm sowie Talgdrüsentumoren der Haut mit je einem Lebenszeitrisiko von bis zu 20%. Das Lebenszeitrisiko der verschiedenen Tumortypen wird durch das betroffene Gen und die Art der ursächlichen Mutation beeinflusst. Insgesamt sind 1 bis 3% aller KRK und rund 1% aller Endometriumkarzinome mit einem Lynch-Syndrom assoziiert.

Das Lynch-Syndrom wird durch inaktivierende Keimbahnmutationen in einem der MMR-Gene (meistens MLH1 und MSH2, selten MSH6 und PMS2) oder eine Deletion des EPCAM-Gens verursacht. Bei der Tumorentstehung wird durch somatische Mutation auch das zweite Allel inaktiviert, sodass ein Funktionsverlust des mutierten MMR-Proteins und als Folge eine MSI-H im Tumorzellgenom entstehen.

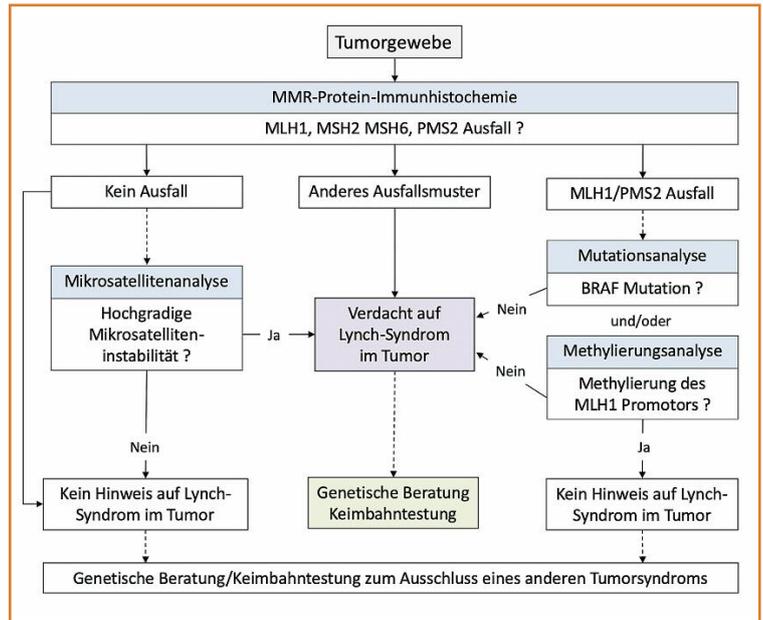


Abbildung 2: Universelles Tumorscreening auf Lynch-Syndrom. Testalgorithmen zur Identifikation von Patienten für genetische Beratung und Keimbahntestung.

Daher können immunhistochemische Expressionsanalyse und molekulare MSI-Testung der Tumorzellen als Screeningverfahren für Lynch-Syndrom eingesetzt werden (Abbildung 2).

Ein universelles Tumorscreening (d.h. unabhängig von Erkrankungsalter, histologischen Tumormerkmalen, Familienanamnese, klinisch-pathologischen Prädiktionsmodellen) auf Lynch-Syndrom wird von verschiedenen Fachgesellschaften (u.a. NCCN, ESMO) bei Erstdiagnose eines KRK oder eines Endometriumkarzinoms empfohlen, da sowohl die Amsterdam-II-Kriterien als auch die revidierten Bethesda-Kriterien nur geringe Spezifität und Sensitivität für die Identifikation von Patienten mit Lynch-Syndrom haben. Das Screening verfolgt das Ziel, Patienten für genetische Beratung und Keimbahntestung zu identifizieren (Abbildung 2). Bei KRK liegen Sensitivität und Spezifität eines MMR-Proteinausfalls für das Vorliegen eines Lynch-Syndroms bei 94% und 88% (25). Sensitivität und Spezifität des MSI-Status liegen bei 85% und 90% (26). Im direkten Vergleich zeigen beide am Tumorgewebe durchgeführten Screeninguntersuchungen eine deutlich bessere Performance als die Amsterdam-II- und die revidierten Bethesda-Kriterien (26).

Abzugrenzen von Lynch-assoziierten KRK sind sporadische Karzinome mit MSH-H infolge MLH1-Expressionsverlust durch Methylierung des MLH1-Genpromoters. Dieser erworbene MLH1-Verlust ist häufig (40–80%) mit einer somatischen BRAF-V600E-Mutation assoziiert und kann durch eine BRAF-Mutationsanalyse und/oder die direkte Untersuchung der MLH1-Promotermethylierung identifiziert werden.

Ansprechen auf 5-Fluoruracil-basierte Chemotherapien

Der Antimetabolit 5-Fluoruracil (5-FU) wird allein oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen zur chemotherapeutischen Behandlung bei verschiedenen *Tumorerkrankungen* eingesetzt (u.a. in den FOLFOX- und FOLFIRI-Schemata). Mehrere präklinische und klinische Studien deuten darauf hin, dass der MSI-Status ein prädiktiver Biomarker für Chemosensitivität (5-FU-Resistenz und Irinotecan-Sensitivität) bei KRK ist. In kürzlich veröffentlichten Metaanalysen konnte jedoch keine eindeutige Assoziation zwischen einem Ansprechen auf 5-FU und dem MSI-Status nachgewiesen werden (27, 28).

Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibitoren

Derzeit werden antagonistische Antikörper gegen drei Zielmoleküle (PD-1, PD-L1, CTLA-4) zur therapeutischen Immuncheckpoint-Inhibition bei onkologischen Erkrankungen eingesetzt (29). Bei rund 20% der Patienten mit einem fortgeschrittenen Tumorleiden ist mit einem Therapieansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibitoren zu rechnen. Zuverlässige Biomarker für die Vorhersage eines Therapieansprechens fehlen jedoch bisher (30).

Eine Assoziation zwischen dMMR/MSI-H und Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibition ist derzeit am besten für das KRK belegt (31–33). Bei Vorliegen einer dMMR/MSI-H induzierte eine Pembrolizumab-Monotherapie bei 40% der Patienten mit metastasiertem KRK (Stadium IV) ein objektives Ansprechen, während es bei keinem Patienten mit mikrosatellitenstabilem Karzinom zu einem Ansprechen kam (31). Mit Nivolumab, einem weiteren PD-1-Inhibitor, wurde bei therapierefraktärem metastasiertem KRK mit dMMR/MSI-H eine objektive Ansprechrate (ORR) von 31% beobachtet (33). Die ORR konnte durch Kombination von Nivolumab mit Ipilimumab, einem CTLA-4 Inhibitor, auf 55% gesteigert werden (32). Eine Assoziation zwischen dMMR/MSI-H und Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibition wurde unter anderem auch für Karzinome der Prostata, des Magens und des gastroösophagealen Übergangs beobachtet (11, 34).

Im Zusammenhang mit durch die Swissmedic zugelassenen Anwendungen von Immuncheckpoint-Inhibitoren ist der Nachweis einer dMMR/MSI-H zurzeit nur in Hinblick auf eine Nivolumab-Monotherapie für die Behandlung von Patienten mit metastasiertem KRK von Bedeutung.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Testung von Tumoren auf dMMR/MSI-H wurde bisher vor allem als Screeningverfahren auf Lynch-Syndrom durchgeführt. Seit der Einführung von Immuncheckpoint-Inhibitoren in die onkologische Therapie kommt dMMR und MSI-H auch die Bedeutung von prädiktiven Biomarkern zu.

Zurzeit werden Immunfärbungen für MMR-Proteine und direkte Mikrosatellitenanalyse zum Nachweis einer dMMR/MSI-H eingesetzt. Technologische Weiterentwicklungen der Hochdurchsatz-Sequenzierung (NGS) werden zukünftig eine Kombination von MSI-Testung und anderen molekularpathologischen Tumoruntersuchungen wie Mutationsprofilierung und Analyse der Tumormutationslast ermöglichen. Für die klinische Anwendung einer NGS-basierten MSI-Testung ist zuvor noch eine Standardisierung der Methode bezüglich Auswahl und Anzahl der untersuchten Mikrosatelliten sowie der Auswertekriterien und -algorithmen erforderlich. ■

Marlene Zippl
(Erstautorin)

Prof. Dr. med. Wolfram Jochum
(Korrespondenzadresse)

Institut für Pathologie
Kantonsspital St. Gallen
9007 St. Gallen
E-Mail: wolfram.jochum@kssg.ch

Interessenkonflikte: keine.

Quellen:

1. Curtin NJ: DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 801–817.
2. Geurts-Giele WR, Leenen CH, Dubbink HJ, Meijssen IC, Post E, Sleddens HF, Kuipers EJ, et al.: Somatic aberrations of mismatch repair genes as a cause of microsatellite-unstable cancers. *J Pathol* 2014; 234: 548–559.
3. Campbell BB, Light N, Fabrizio D, Zatzman M, Fuligni F, de Borja R, Davidson S, et al.: Comprehensive Analysis of Hypermutation in Human Cancer. *Cell* 2017; 171: 1042–1056.
4. Cancer Genome Atlas N: Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012; 487: 330–337.
5. Wu X, Snir O, Rottmann D, Wong S, Buza N, Hui P: Minimal microsatellite shift in microsatellite instability high endometrial cancer: a significant pitfall in diagnostic interpretation. *Mod Pathol* 2019; 32: 650–658.
6. Wang Y, Shi C, Eisenberg R, Vnencak-Jones CL: Differences in Microsatellite Instability Profiles between Endometrioid and Colorectal Cancers: A Potential Cause for False-Negative Results? *J Mol Diagn* 2017; 19: 57–64.
7. Engel C, Forberg J, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Plaschke J, Kloor M, Poremba C, et al.: Novel strategy for optimal sequential application of clinical criteria, immunohistochemistry and microsatellite analysis in the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer* 2006; 118: 115–122.
8. Stelloo E, Jansen AML, Osse EM, Nout RA, Creutzberg CL, Ruano D, Church DN, et al.: Practical guidance for mismatch repair-deficiency testing in endometrial cancer. *Ann Oncol* 2017; 28: 96–102.
9. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, Salipante SJ.: Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nat Med* 2016; 22: 1342–1350.
10. Bonneville R, Krook MA, Kautto EA, Miya J, Wing MR, Chen HZ, Reeser JW, et al.: Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis Oncol* 2017; 2017.

Merkpunkte

- **Der Ausfall der DNA-Mismatchreparatur (MMR)**, einem zellulären DNA-Reparaturmechanismus, führt zu zahlreichen somatischen Mutationen (Hypermutation) und zur Entstehung einer Mikrosatelliteninstabilität (MSI) im Tumorzellgenom.
- **Die immunhistochemische Expressionsanalyse** der MMR-Proteine in Tumorzellen ist ein einfaches und verlässliches Screeningverfahren für einen Ausfall der MMR.
- **Der Ausfall der MMR** kann auf eine erbliche Tumordisposition (Lynch-Syndrom) hindeuten. Die prognostische Bedeutung einer gestörten MMR wird durch Tumortyp, Erkrankungsstadium und durchgeführte Therapie bestimmt.
- **Der Ausfall der DNA-MMR** ist mit einem Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibitoren bei onkologischen Erkrankungen assoziiert.

11. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, Lu S, et al.: Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 2017; 357: 409–413.
12. Dienstmann R, Vermeulen L, Guinney J, Kopetz S, Tejpar S, Tabernero J.: Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2017; 17: 79–92.
13. Cancer Genome Atlas Research N, Analysis Working Group: Asan U, Agency BCC, Brigham, Women's H, Broad I, Brown U, et al.: Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma. *Nature* 2017; 541: 169–175.
14. Cancer Genome Atlas Research N: Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014; 513: 202–209.
15. Cancer Genome Atlas Research N, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, et al.: Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497: 67–73.
16. Jenkins MA, Hayashi S, O'Shea AM, Burgart LJ, Smyrk TC, Shimizu D, Waring PM, et al.: Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology* 2007; 133: 48–56.
17. Murali R, Grisham RN, Soslow RA: The roles of pathology in targeted therapy of women with gynecologic cancers. *Gynecol Oncol* 2018; 148: 213–221.
18. Popat S, Hubner R, Houlston RS: Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005; 23: 609–618.
19. Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, Liao X, Yamauchi M, Nishihara R, Qian ZR, et al.: Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 1151–1156.
20. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, Kaplan R, et al.: Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 5322–5330.
21. Smyth EC, Wotherspoon A, Peckitt C, Gonzalez D, Hulkki-Wilson S, Eltahir Z, Fassin M, et al.: Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial. *JAMA Oncol* 2017; 3: 1197–1203.
22. Nagle CM, O'Mara TA, Tan Y, Buchanan DD, Obermair A, Blomfield P, Quinn MA, et al.: Endometrial cancer risk and survival by tumor MMR status. *J Gynecol Oncol* 2018; 29: e39.
23. Dudley JC, Lin MT, Le DT, Eshleman JR: Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 813–820.
24. Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, Heinen CD, Hitchins MP: Milestones of Lynch syndrome: 1895–2015. *Nat Rev Cancer* 2015; 15: 181–194.
25. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, et al.: Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5783–5788.
26. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, Church JM, et al.: Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the US Multi-society Task Force on colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1159–1179.
27. Webber EM, Kauffman TL, O'Connor E, Goddard KA: Systematic review of the predictive effect of MSI status in colorectal cancer patients undergoing 5FU-based chemotherapy. *BMC Cancer* 2015; 15: 156.
28. Copija A, Waniczek D, Witkos A, Walkiewicz K, Nowakowska-Zajdel E: Clinical Significance and Prognostic Relevance of Microsatellite Instability in Sporadic Colorectal Cancer Patients. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 107.
29. Overman MJ, Ernstoff MS, Morse MA: Where We Stand With Immunotherapy in Colorectal Cancer: Deficient Mismatch Repair, Proficient Mismatch Repair, and Toxicity Management. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2018; 38: 239–247.
30. Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB: Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol* 2016; 17: e542–e551.
31. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, Skora AD, et al.: PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 2015; 372: 2509–2520.
32. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz HJ, Gelsomino F, Aglietta M, Morse MA, et al.: Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36: 773–779.
33. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz HJ, Morse MA, Desai J, et al.: Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017; 18: 1182–1191.
34. Abida W, Cheng ML, Armenia J, Middha S, Autio KA, Vargas HA, Rathkopf D, et al.: Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade. *JAMA Oncol* 2019; 5: 471–478.