

PD-L1 тестирование при немелкоклеточном раке легкого

Раскин Г.А.

*Руководитель отдела патологической
анатомии РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова,
руководитель патоморфологической
службы МИБС, д.м.н.*

10 ноября 2017 года

Санкт-Петербург

Эта информация предоставлена в качестве информационной и образовательной поддержки врачей и отражает мнение докладчиков, которое не обязательно отражает точку зрения Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA, и других подразделений компании.

В связи с различиями в требованиях регулирующих инстанций в разных странах, зарегистрированные показания и способы применения препаратов, упоминающихся в данной презентации, могут варьировать.

Перед назначением любых препаратов, пожалуйста, ознакомьтесь с локальными инструкциями по медицинскому применению, предоставляемыми компаниями-производителями.

Полные инструкции по медицинскому применению доступны по запросу.

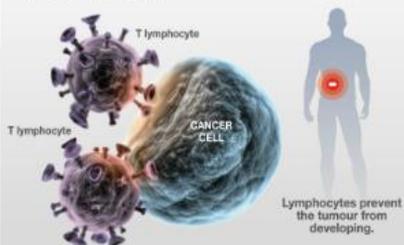
Настоящим лектор подтверждает, что он получает гонорары за консультационные услуги в области научной и педагогической деятельности (образовательные услуги, научные статьи, участие в экспертных советах, участие в исследованиях и др.) от следующих компаний: MSD.

Данная презентация поддерживается компанией MSD.

Иммунотерапия

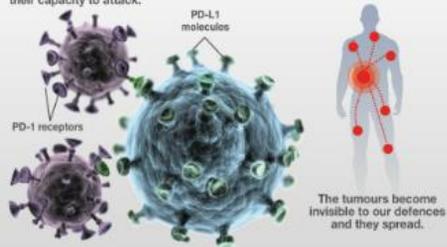
1. Normal work of the immune system

T lymphocytes are the cells of the immune system that identify tumour cells and destroy them.



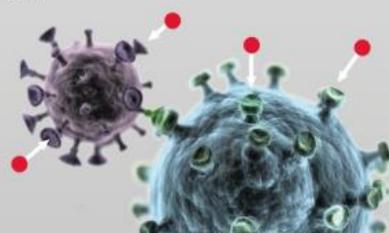
2. Camouflage of tumour cells

Some tumour cells arm themselves with a shield of molecules called PD-L1. Lymphocytes possess PD-1 receptors which, by bonding to these traps, destroy their capacity to attack.



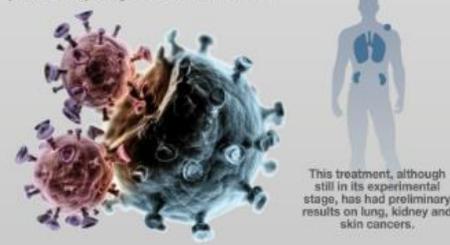
3. Action of the new inhibitor drugs

The new drugs based on antibodies block PD-1 from the cells of the immune system and PD-L1 from tumour cells to prevent their fatal action.



4. Result of immunotherapy

Lymphocytes, once freed from their blindness by the drug, regain their defence potential. They recognise cancer and reduce it.



J. Mendez., 2014.

Предиктивные факторы при иммунотерапии

Используемые в клинической практике:

- Экспрессия PD-L1.
- Микросателлитная нестабильность и состояние MMR.

Исследуемые:

- Мутационная нагрузка опухоли.

Активация экспрессии PDL1 в опухолевых клетках

- 1) Постоянная активация экспрессии, вследствие альтерации киназных каскадов: PI3K/Akt, Erk/MAPK, ALK/ STAT3, JAK2/STAT, EGFR.
- 2) Динамическая активация вследствие воздействия цитокинов, в особенности IFN- γ , чаще всего наблюдается в зоне инфильтрации Т-лимфоцитами в инвазивном крае. Второй механизм чаще реализуется в опухолевых клетках.

Ilie M. et al. Virchows Arch., 2016.

Антитела для оценки экспрессии PDL1

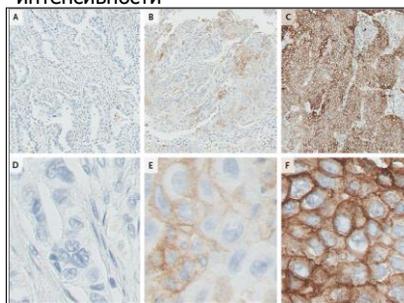
Тест	Вентана SP263	ДАКО 22C3	ДАКО 28-8	Вентана SP142	Биокад BCDdx1020
Компания, развивающая тест	АстраЗенека	МСД	BMS	РОШ	Биокад
ИО препарат	Дурвалумаб	Пембролизу маб	Ниволумаб	Атезолизумаб	BCD-100
Порог детекции	≥25% опухолевых клеток	≥1%; ≥50% опухолевых клеток	≥1%; ≥5%; ≥10% опухолевых клеток	≥1%; ≥5%; ≥50% опухолевых клеток ≥1%; ≥5%; ≥10% иммунных клеток	Не определен

Критерии оценки DAKO 22C3 (MSD).

Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание образцов НМРЛ

- Операционный материал
- Срезы с фиксированных забуференным формалином парафиновых блоков
- Толщина срезов 3-4 мкм
- *Наличие 100 и более опухолевых клеток в исследуемом образце*
- Полное или частичное окрашивание PD-L1 на мембране опухолевых клеток
- TPS>1%: PD-L1(+) образец

Tumour Proportion Score (TPS) =
% живых PD-L1(+) опухолевых клеток с полным или частичным окрашиванием мембраны любой интенсивности



TPS<1%,
негативный

TPS 1-49%,
слабопозитивный

TPS≥50%,
высокая экспрессия

Критерии оценки SP142 Вентана (РОШ)

ТС	% позитивных клеток	IC	% площади позитивных клеток относительно площади области опухоли
0	<1%	0	<1%
1	1-5%	1	1-5%
2	5-50%	2	5-10%
3	≥50%	3	≥10%

Данная система разработана для немелкоклеточного рака легкого и мочевого пузыря.

При раке мочевого пузыря учитывается только IC.

Иммуногистохимия PDL1: контрольные ткани

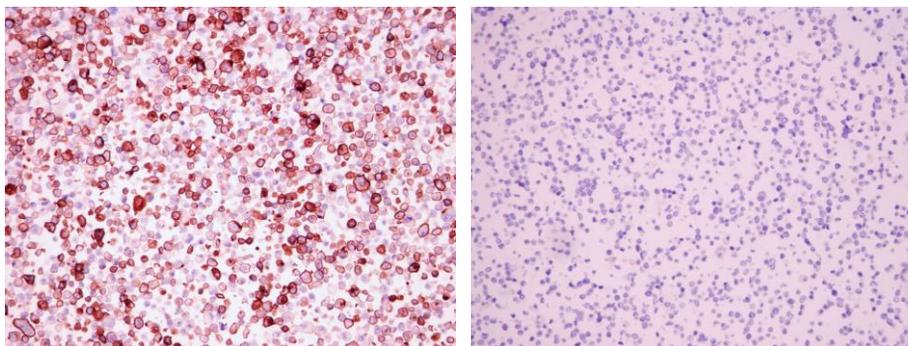
1. Рекомендации ДАКО:

• Контрольные клеточные линии:

- NCI-H226 (умеренно позитивная реакция)
- MCF-7 (негативная реакция)

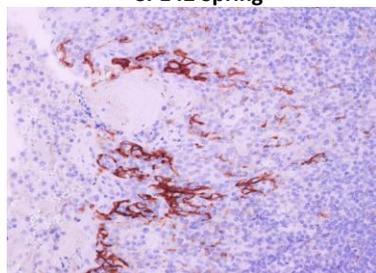
• Ткань миндалина: сильно-позитивная реакция эпителия крипт, от слабой до умеренной позитивная реакция в макрофагах герминативных центров. Негативная реакция в эндотелии, фибробластах и поверхностном эпителии.

Культура тканей ДАКО, SP263

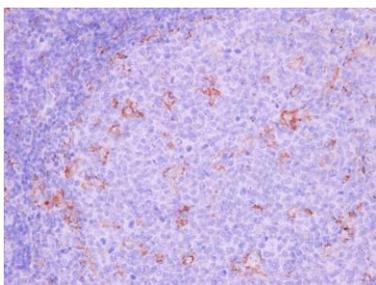
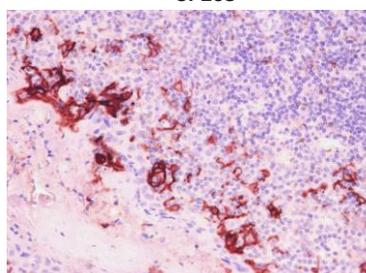


Крипты миндалин – окрашивание PD-L1

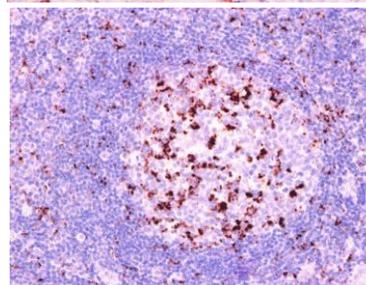
SP142 Spring



SP263



SP142 + Reveal Spring



SP142 + Ventana OptiView с амплификатором

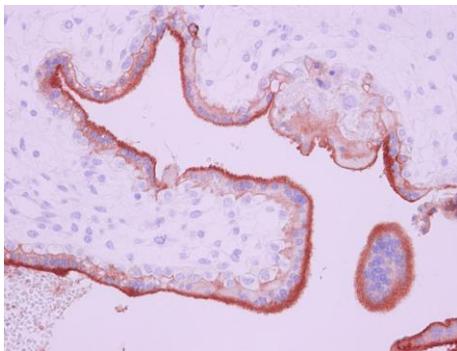
Иммуногистохимия PDL1: контрольные ткани

2. Рекомендации Вентаны:

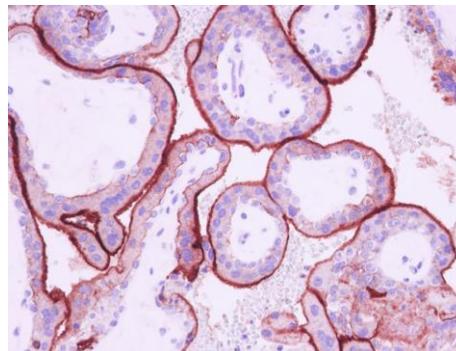
- Ткань плаценты: умеренное-сильное мембранное, слабо-сильное цитоплазматическое окрашивание клеток трофобласта. Негативная реакция в стромальных клетках и сосудах.

Плацента PDL1

SP142 Spring



SP263

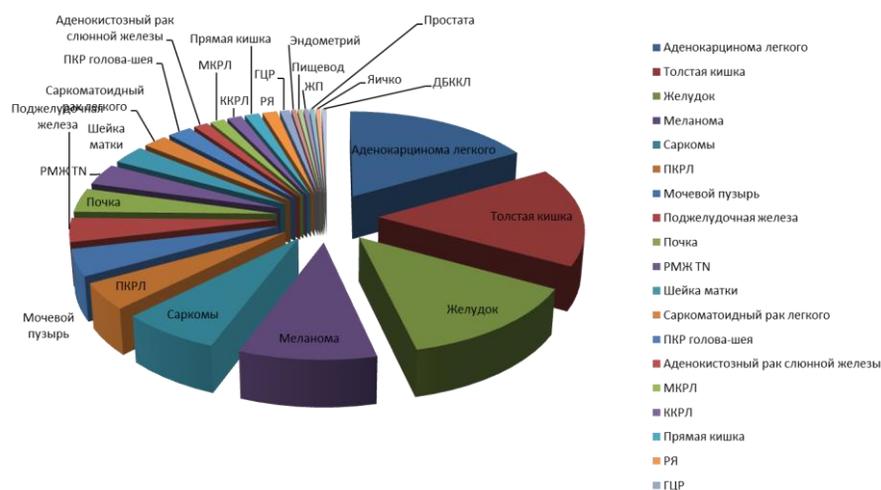


Окрашивание PD-L1 в контрольных тканях разными антителами

– выводы:

Все клоны антител показали схожую реакцию на PD-L1 в контрольных тканях, кроме SP142 Ventana, при котором была более яркая реакция в макрофагах миндалин

PD-L1 тестирование в РНЦРХТ за 2017 г. (n=231)



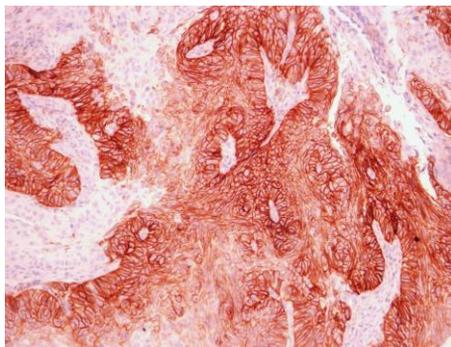
ИГХ PD-L1 при аденокарциноме легкого (n=71)

- 33 (46%) из 71 случая экспрессировали PD-L1 в опухоли (>1% клеток).
- 11 (15%) из 71 случая были ТСЗ (>50% опухолевых клеток).
- 35 (49%) из 71 случая экспрессировали PD-L1 в иммунных клетках (>1% клеток).
- 52 (73%) из 71 случая экспрессировали PD-L1 в опухолевых и/или иммунных клетках.

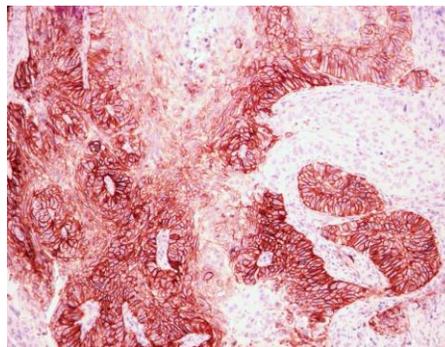
Результаты собственных исследований. Данные не опубликованы.

Аденокарцинома легкого: SP142 Spring, SP263

SP142 Spring



SP263



Результаты собственных исследований. Данные не опубликованы.

Различные клоны PD-L1 при аденокарциноме легкого (n=15)

Интерпретация	Вентана SP263	ДАКО 22C3	SP142 Spring	Вентана SP142	Биокад BCDdx1020
>50% опухолевых клеток (ТСЗ)	0	0	7%	0	0
>1% опухолевых клеток	20%	20%	33%	6%	27%
>1% иммунных клеток	13%	0	33%	27%	27%
>1% опухолевых и/или иммунных клеток	33%	20%	60%	27%	47%

Результаты собственных исследований. Данные не опубликованы.

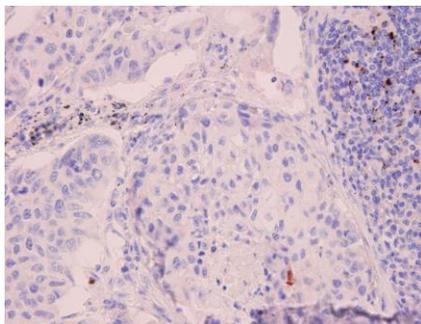
ИГХ PD-L1 при ПКР легкого (n=20)

- 15 (75%) из 20 случаев экспрессировали PD-L1 в опухоли (>1% клеток).
- 1 (5%) из 20 случаев были ТСЗ (>50% опухолевых клеток).
- 13 (65%) из 20 случая экспрессировали PD-L1 в иммунных клетках (>1% клеток).
- 16 (80%) из 20 случаев экспрессировали PD-L1 в опухолевых и/или иммунных клетках.

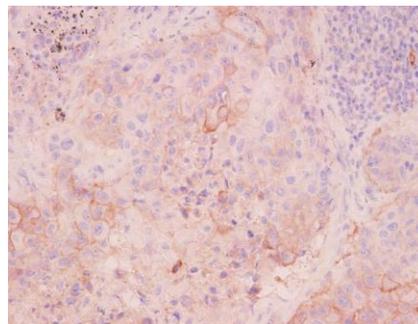
Результаты собственных исследований. Данные не опубликованы.

Плоскоклеточный рак легкого

SP142 Ventana



SP142 Spring



Результаты собственных исследований. Данные не опубликованы.

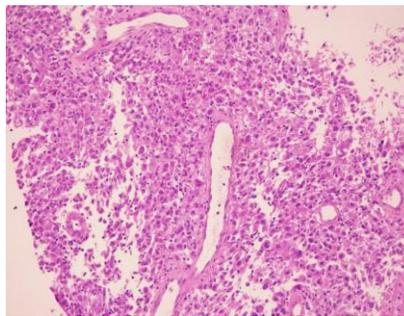
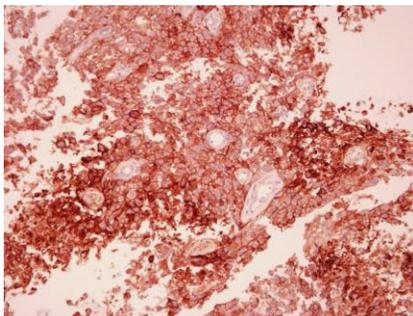
Различные клоны PD-L1 при плоскоклеточном раке легкого (n=10)

Интерпретация	Вентана SP263	ДАКО 22C3	SP142 Spring	Вентана SP142	Биокад BCDdx1020
>50% опухолевых клеток (ТС3)	0	0	0	0	0
>1% опухолевых клеток	50%	50%	50%	20%	40%
>1% иммунных клеток	100%	100%	100%	100%	100%
>1% опухолевых клеток и/или иммунных клеток	100%	100%	100%	100%	100%

Результаты собственных исследований. Данные не опубликованы.

ИГХ PD-L1 при саркоматоидном раке легкого (n=5)

- В 4 из 5 случаев была выявлена экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках >50% (TC3).

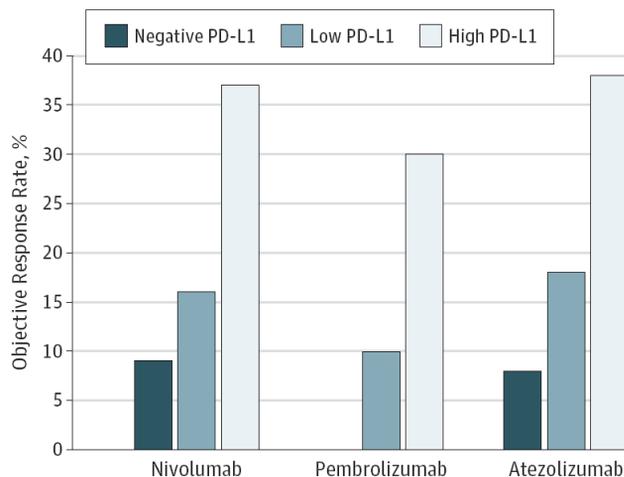


PD-L1

PDL1 в немелкоклеточном раке легкого

- *Mu C.Y. et al. Med Oncol., 2011*: экспрессия выявлялась в 53% случаев НМРЛ: в аденокарциноме в 65%, в плоскоклеточном раке в 44%
- *Viera T. et al. Lung Cancer, 2016* (экспрессия PDL1 \geq 5% раковых клеток.): экспрессия выявлялась в 20% случаев: в аденокарциноме в 25%, в плоскоклеточном раке в 16%, в крупноклеточном раке в 20%. В саркоматоидном раке экспрессия PDL1 была выявлена в 53% случаев.
- Дискордантность результатов оценки экспрессии PDL1 на биопсийном материале и операционном материале достигала 45% (опухолевыми и иммунными клетками) и 19% (оценивалась только экспрессия опухолевыми клетками) (*Ilie M. et al. Annals Of Oncol., 2015*).

Предиктивное значение PD-L1 в НМРЛ



Sacher A.G., Gandhi A.G. JAMA Oncology, 2016

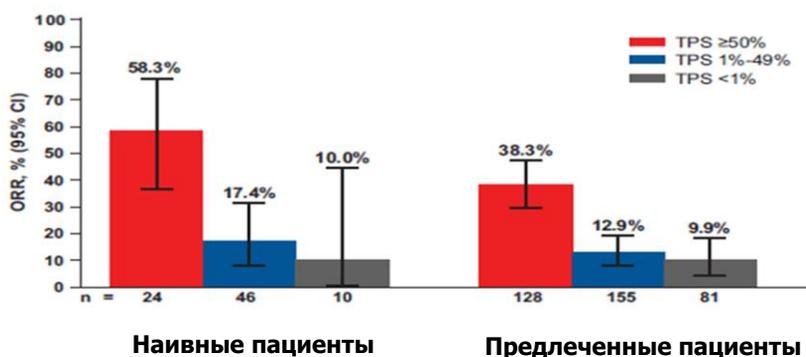
Распространенность экспрессии PD-L1 у различных групп пациентов с НМРЛ



- Эпидемиологическая картина распространения экспрессии PD-L1 не меняется в зависимости от:
 - **Линии терапии:** наивные и предлеченные пациенты
 - **Типа образца:** архивный материал или свежая биопсия
 - **Типа опухолевого очага:** первичный очаг или метастазы
 - **Гистологического типа опухоли:** плоскоклеточный и неплоскоклеточный субтипы

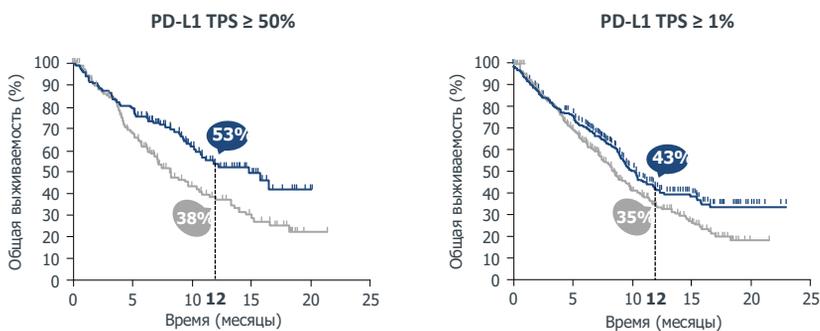
KEYNOTE-001: ВБП в зависимости от уровня экспрессии PDL-1

ИГХ определение PD-L1 ИHC может быть проведено как на свежих, так и на архивных образцах



Hui et al. ASCO 2016. Abstract 9026.

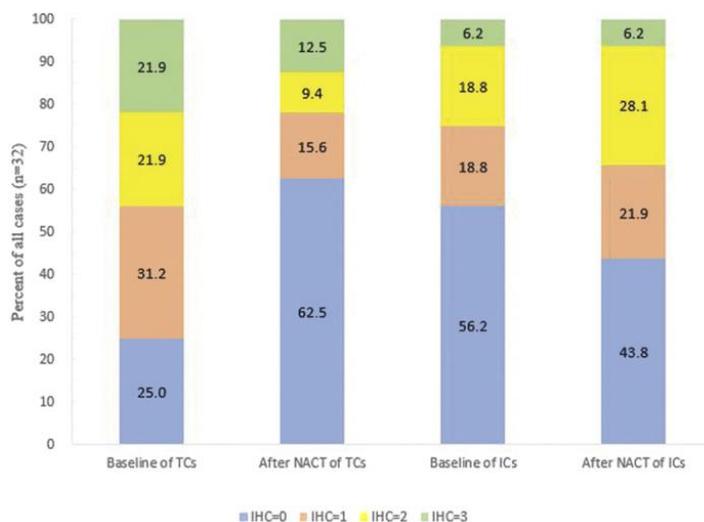
Оценка общей выживаемости при TPS ≥ 1% и TPS ≥ 50% у пациентов с распространенным НМРЛ при лечении пембролизумабом



По данным исследования KEYNOTE-010

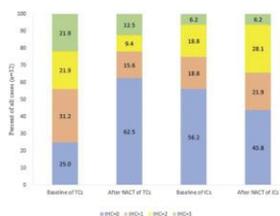
Изображение адаптировано у Herbst RS et al. *Lancet*. 2016;387(10027):1540–1550. Перепечатано с разрешения Elsevier.

Эффект НАПХТ на экспрессию PD-L1



Sheng J. et al. Sci Rep. 2016

Недостатки работы



Sheng J. et al. Sci Rep. 2016

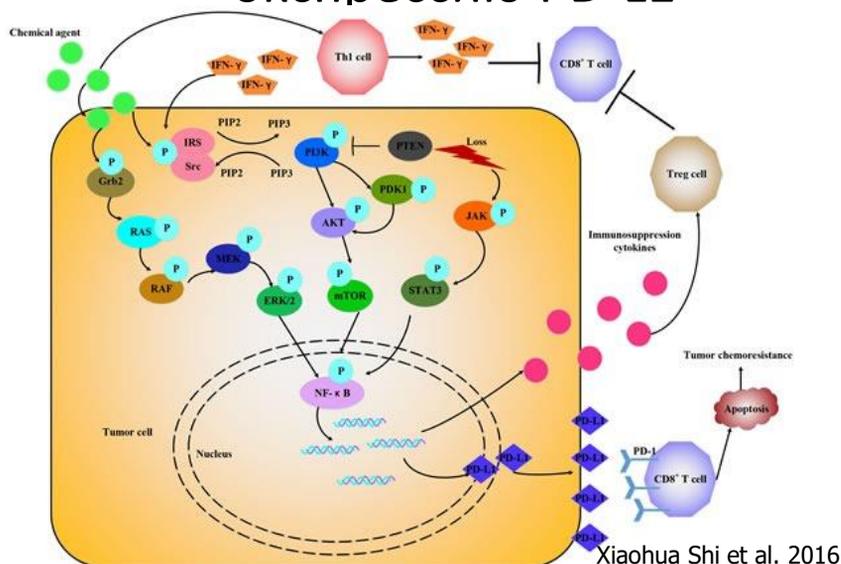
- Клон антитела E1L3N.
- Малая выборка: 32 пациента.
- Сравнивалась экспрессия PD-L1 на биопсийном и операционном материале.

Эффект НАПХТ на экспрессию PD-L1

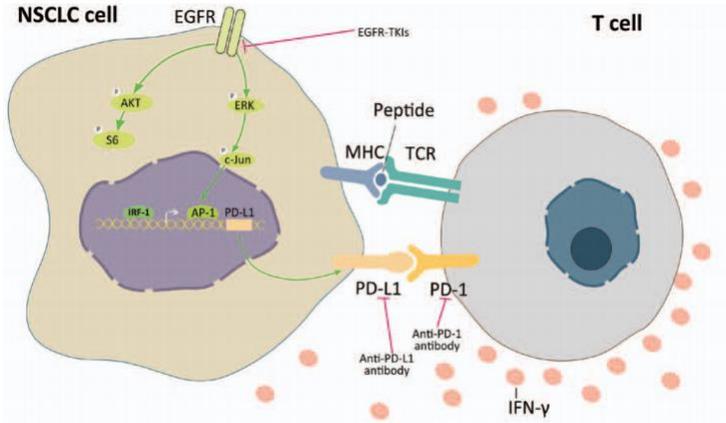
- Применяя пороги экспрессии PDL1 5 %, 10 %, 20 %: 65.4 % (17/26), 53.8 % (14/26), 42.3 % (11/26) были позитивны до НАПХТ и 92.3 % (24/26), 80.8 % (21/26), 69.2 % (18/26) после НАПХТ при НМРЛ.
- Использование порогов экспрессии в 30% и 50% приводило к одинаковым результатам уровня экспрессии до и после НАПХТ.

Sun W et al., 2016

Эффект химиопрепаратов на экспрессию PD-L1



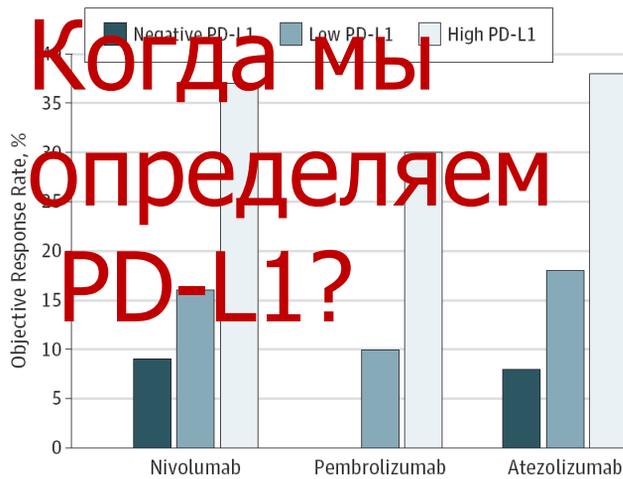
Эффект EGFR/анти-EGFR на PD-L1



Chem N. et al., 2015

Анти-EGFR препараты подавляют экспрессию PD-L1 на клеточных линиях.

Предиктивное значение PD-L1 в НМРЛ



Sacher A.G., Gandhi A.G. JAMA Oncology, 2016

Диагностика PD-L1 – уже в рекомендациях NCCN и ESMO

Printed by Maria Zavadzko on 11/07/2016 12:17:00 PM. For personal use only. Not approved for distribution. Copyright © 2016 National Comprehensive Cancer Network, Inc. All Rights Reserved.



NCCN
National
Comprehensive
Cancer
Network®

NCCN Guidelines Version 2.2017
Non-Small Cell Lung Cancer

NCCN Guidelines Index
Table of Contents
Discussion

Non-Small Cell Lung Cancer
Version 3.2017 — October 26, 2016
NCCN.org
NCCN Guidelines for Patients® available at www.nccn.org/patients

CLINICAL PRESENTATION

Metastatic Disease

- Establish histologic subtype^a with adequate tissue for molecular testing (consider rebiopsy^b if appropriate)
- Smoking cessation counseling
- Integrate palliative care^c (See NCCN Guidelines for Palliative Care)

HISTOLOGIC SUBTYPE

- Adenocarcinoma
- Large Cell
- NSCLC not otherwise specified (NOS)
- Squamous cell carcinoma

TESTING^a

- Molecular testing
 - EGFR mutation testing (category 1)
 - ALK testing (category 1)
 - ROS1 testing^d
 - Testing should be conducted as part of broad molecular profiling^e
 - PD-L1 testing^{kk}
- Molecular testing
 - Consider EGFR mutation and ALK testing^{mm} in never smokers or small biopsy specimens, or mixed histologyⁿ
 - Consider ROS1 testing^d
 - Testing should be conducted as part of broad molecular profiling^e
 - PD-L1 testing^{kk}

TESTING RESULTS^a

- Sensitizing EGFR mutation positive → See First-Line Therapy (NSCL-18)
- ALK positive → See First-Line Therapy (NSCL-20)
- ROS1 positive → See First-Line Therapy (NSCL-22)
- PD-L1 positive^{kk} and EGFR, ALK, ROS1 negative or unknown → See First-Line Therapy (NSCL-23)
- EGFR, ALK, ROS1, PD-L1 are negative or unknown → See First-Line Therapy (NSCL-24)
- Sensitizing EGFR mutation positive → See First-Line Therapy (NSCL-18)
- ALK positive → See First-Line Therapy (NSCL-20)
- ROS1 positive → See First-Line Therapy (NSCL-22)
- PD-L1 positive^{kk} and EGFR, ALK, ROS1 negative or unknown → See First-Line Therapy (NSCL-23)
- EGFR, ALK, ROS1, PD-L1 are negative or unknown → See First-Line Therapy (NSCL-25)

^aSee Principles of Diagnostic Review (NCCN-4).

^bTami J, Greer JA, Muzikansky A, et al. Early palliative care for patients with metastatic non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010;363:733-742.

^cRepeat biopsy is not feasible, plasma biopsy should be considered.

^dThe NCCN NSCLC Guidelines Panel strongly advises broader molecular profiling with the goal of identifying rare driver mutations for which effective drugs may already be available, or to appropriately counsel patients regarding the availability of clinical trials. Broad molecular profiling is a key component of the improvement of care of patients with NSCLC. See [Supplement 1](#).

^eThe patients with squamous cell carcinoma, the observed incidence of EGFR mutations is 2.7% with a confidence that the true incidence of mutations is less than 3.6%. This frequency of EGFR mutations does not justify routine testing of all tumor specimens. Forde SA, Blumens G, Bamford S, et al. The catalogue of somatic mutations in cancer (COSMIC). *Curr Protoc Hum Genet* 2008;chapter 10 unit 10.11.

^fRiik PH, Varghese AK, Gira CC, et al. Response to erlotinib in patients with EGFR mutant advanced non-small cell lung cancers with a squamous or squamous-like component. *Mol Cancer Ther* 2012;11:2533-2540.

^gShaw AT, Ou D-H, Bang Y-J, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;371:1963-1971.

^hPD-L1 expression levels of ≥50% are a positive test result for first-line pembrolizumab therapy.

is indicated.
any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

^kRevised: The NCCN Guidelines® and the illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

NSCL-17

Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up¹

S. Novello¹, F. Barlesi², R. Califano^{3,4}, T. Cuteri⁵, S. Ekman⁶, M. Gaj Leva⁷, K. Kerr⁸, S. Popat⁹, M. Reck¹⁰, S. Senan¹¹, G. V. Simo¹², J. Vansteenkiste¹³ & S. Peters¹⁴ on behalf of the ESMO Guidelines Committee²

Тестирование PD-L1 в России: перспективы осуществления диагностики

Pembrolizumab **22C3** Dako

Dako Link 48 EnVision FLEX



+

Pembrolizumab **SP263** Ventana

Ventana Benchmark Ultra OptiView



SP263
Ventana

Резюме:

1. Экспрессия PD-L1 – предиктор эффективности анти-PD-1 и анти PD-L1 терапии
2. Экспрессию PD-L1 необходимо оценивать перед назначением анти PD1/PD-L1 терапии в 1 и 2 линиях, так как при высоком уровне экспрессии ответ на нее более выраженный.
3. Гармонизация позволит широко применять тестирование PD-L1 в практике
4. Полихимиотерапия оказывает эффект на экспрессию PD-L1, преимущественно приводя к ее увеличению.



***СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!***