



# PD-L1 тестирование рака мочевого пузыря

Вяльцева Ю.Ю.  
ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УДП РФ  
2021

- Мысль, что иммунная система человека может сама эффективно бороться с раком, далеко не нова. В медицинской практике известны не единичные случаи, когда раковые опухоли полностью регрессировали.
- Изучение фундаментальных принципов и механизмов работы иммунной системы привело к пониманию главенствующей роли ее в борьбе с опухолями, которую ведет сам организм. Как известно, в органах и тканях постоянно возникают десятки и сотни мутаций, приводящих к злокачественному перерождению клеток. Однако клетки иммунной системы (Т- и В- лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки) с ними успешно справляются.
- В 2018 г. американский профессор Джеймс Эллисон из Андерсоновского онкологического центра при Университете Техаса и японец Тасуку Хондзё из Университета Киото получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине за создание принципиально нового подхода в онкологии – иммунотерапии рака

- Действие иммунной системы в организме человека основано на различных иммунокомпетентных клетках (макрофаги, Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки) и специфических белках – иммуноглобулинах .
- Белок PD-1 - это рецептор, который представлен на поверхности мембран активированных лимфоцитов, макрофагов и других иммунокомпетентных клеток. В норме он увеличивает невосприимчивость лимфоцитов к собственным клеткам и белкам организма.
- PD-L1 – трансмембранный белок, лиганд к рецептору PD-1, который блокирует цитотоксическую активность лимфоцитов.

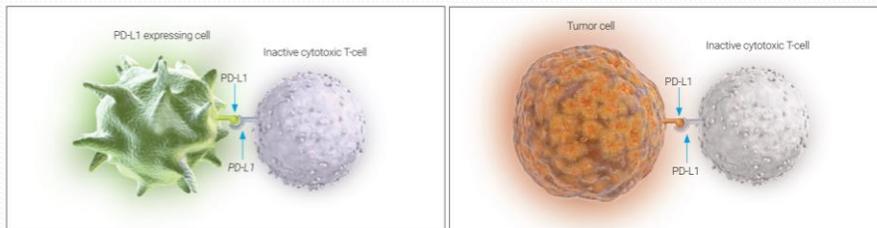
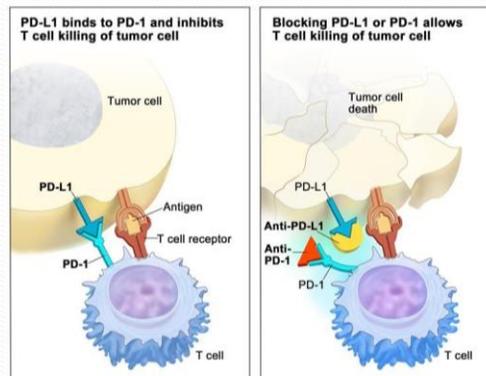


Figure 1: Inactivation of T-cells limits damage to normal tissue

Figure 2: Inactivation of T-cells reduces tumor cell death and elimination.

- Молекула PD-L1 (PD-L1) преимущественно локализуется на макрофагах, дендритных и других клетках, которые презентуют (показывают) чужеродный антиген Т-лимфоцитам.
- Вместе с PD-1 белок PD-L1 образует своеобразный комплекс PD-1/PD-L1, что приводит к подавлению активности Т-лимфоцитов, снижению образования цитокинов и усилению невосприимчивости лимфоцитов к антигенам.



Рецептор Т-лимфоцита PD-1 связывается со своим лигандом PD-L1 на клетке опухоли, что тормозит работу иммунной клетки (слева). Если заблокировать PD-L-1 или PD-1, то лимфоцит уничтожит раковую клетку.

- Опухолевые клетки также могут вырабатывать белок PD-L1 и ускользать от иммунной защиты;
- Появилась новая мишень для лечения онкологических заболеваний моноклональными антителами против белков PD-L1 и PD-1 (пембролизумаб, ниволумаб, атезолизумаб, авелумаб и др.);
- Их применение связано с хорошим терапевтическим ответом и достижением длительных ремиссий;
- Наиболее детально изучено у пациентов с злокачественными новообразованиями:
  - немелкоклеточный рак легких;
  - **рак мочевого пузыря, почек;**
  - рак толстой кишки, поджелудочной железы;
  - рак молочной железы, яичников;
  - меланома, глиобластома.

## Методы оценки PD-L1

Локализация	Препарат	Линия терапии	Антитело (платформа)	Методика определения	Cut-off
Немелкоклеточный рак легкого	Пембролизумаб	Любая	Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako Link 48) или аналогичные <sup>1</sup>	TPS	≥1%
	Атезолизумаб	Вторая	Без определения		
	Ниволумаб	Вторая	Без определения		
Неплоскоклеточный, немелкоклеточный метастатический рак легкого	Атезолизумаб	Первая (в комбинации)	Без определения		
Меланома	Пембролизумаб	Первая	Без определения		
	Ниволумаб	Первая	Без определения		
Рак головы и шеи	Пембролизумаб	Вторая	Без определения		
Классическая лимфома Ходжкина	Пембролизумаб	Четвертая	Без определения		
Гепатоцеллюлярная карцинома	Пембролизумаб	Вторая	Без определения		
Уротелиальная карцинома	Пембролизумаб	Первая	Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako Link 48) или аналогичные	CPS	≥10
	Атезолизумаб	Первая	VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (Ventana)	IC	≥5%
Рак желудка	Пембролизумаб	Вторая	Без определения		
	Пембролизумаб	Третья	Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako Link 48) или аналогичные	CPS	≥1
Рак шейки матки	Пембролизумаб	Вторая	Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako Link 48) или аналогичные	CPS	≥1
Рак почки	Ниволумаб	Вторая	Без определения		
Мелкоклеточный рак легкого.	Атезолизумаб	Первая (в комбинации)	Без определения		
	Атезолизумаб	Первая (в комбинации)	VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (Ventana)	IC	≥1%

Локализация	Линия терапии	Методика определения	Cut-off
Меланома	После хирургического лечения	Без определения	
Рак головы и шеи	Вторая	Без определения	
Классическая лимфома Ходжкина	Четвертая	Без определения	
Гепатоцеллюлярная карцинома	Вторая	Без определения	
Немелкоклеточный рак легкого	Любая	TPS	≥1%
Уротелиальная карцинома	Первая	CPS	≥10
Рак желудка	Третья	CPS	≥1
Рак шейки матки	Вторая	CPS	≥1
Рак почки		Ожидается регистрация	
Мелкоклеточный рак легкого.		Ожидается регистрация	

$$TPS = \frac{\text{Количество окрашенных опухолевых клеток}}{\text{Общее количество (окрашенных и не окрашенных) опухолевых клеток}} \times 100\%$$

$$CPS = \frac{\text{Количество окрашенных клеток (опухолевых, лимфоцитов, макрофагов)}}{\text{Общее количество (окрашенных и не окрашенных) опухолевых клеток}} \times 100$$

- CPS при вычислении может оказаться более 100, но *максимальное значение этого показателя равняется 100*
- CPS – *целое число*, при подсчете округляется согласно законам математики

Образец может иметь положительную экспрессию:

Только опухолевых клеток

Только иммунных клеток

И опухолевых и иммунных клеток

## Уротелиальный рак

- Рак мочевого пузыря является десятым по распространенности онкологическим заболеванием в мире. Доля рака мочевого пузыря в общей структуре онкологической заболеваемости составляет 4,9 %.
- В Европе ежегодно он диагностируется почти у 20000 человек и более 6000 умирают несмотря на доступные методы лечения.
- Для пациентов на поздней стадии 5-летняя выживаемость составляет 5%, причем 4% случаев диагностируются именно на поздней стадии.
- В России в 2019 г. зарегистрировано 13314 новых случая РМП (Каприн А.Д., Старинский В.В., 2020)

## Эволюция иммунотерапии рака мочевого пузыря

- Первым методом иммунотерапии рака мочевого пузыря, который является стандартом лечения НМИРМП начиная с 1990 г., являлась живая, аттенуированная вакцина БЦЖ (*Bacillus Calmette-Guérin*)
- Современная иммунотерапия направлена на ингибиторы контрольных путей, которые препятствуют работе лимфоцитов и других клеток иммунной системы, что приводит к неконтролируемой пролиферации злокачественных клеток.
- Ингибиторы контрольных путей применяются для лечения злокачественных заболеваний с 2012 г., однако первый доклад об эффективности их применения с целью лечения мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (МИРМП) был опубликован лишь в 2014 г.

## Эволюция иммунотерапии рака мочевого пузыря

- Стандартом терапии 1 линии продолжают быть схемы химиотерапии на основе цисплатина. Однако до 50% больных не подходят для назначения данной терапии.
- Ситуация с лечением изменилась с появлением иммунотерапевтических анти-PD-L1 препаратов (**пембролизумаб, атезолизумаб**).
- Сейчас для назначения иммунотерапии в первой линии с местно распространенным или метастатическим уротелиальным раком пациентам, которым невозможно провести химиотерапию любыми препаратами платины, рекомендовано проведение PD-L1 диагностики.
- 20/08/2021 Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило **Opdivo (ниволумаб)** для адъювантного лечения пациентов с УК высокого риска, что позволило вдвое увеличить выживаемость пациентов.

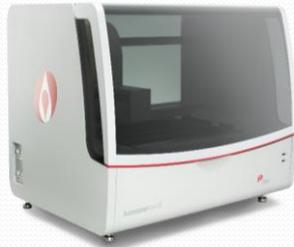
- Тест для определения экспрессии PD-L1 позволяет выделить группу пациентов с наибольшей вероятностью ответа на терапию ингибиторами иммунных контрольных точек.
- **Для различных иммунных препаратов и показаний существуют отличия в методике проведения PD-L1 тестирования.**

## Требования к образцу

- Экспрессия PD-L1 определяется методом иммуногистохимии.
- Обязательным является наличие внешнего ( ткань миндалина) и внутреннего позитивного контроля.
- Используется ткань опухоли, фиксированная в нейтральном забуференном формалине в течение 12-72 часов и залитая в парафиновый блок.
- Толщина среза на стекле 4-5  $\mu\text{м}$ . Срезы должны быть высушены в течение 1 часа при  $T=58^{\circ}\text{C}$
- Препараты должны быть окрашены в течение 6 месяцев после изготовления среза
- Для достоверной оценки должно быть не менее 100 жизнеспособных опухолевых клеток

## Диагностические наборы, зарегистрированные в РФ:

- Ventana PD-L1 (SP142) Assay (Ventana Medical Systems, Inc.)
- DAKO Agilent ( PD-L1 IHC 22C3 pharmDx).



Autostainer Link 48



PD-L1 IHC 22C3 pharmDx



Ventana BenchMark ULTRA

## Оценка уровня экспрессии PD-L1 при различных типах карцином на базе платформы ДАКО

Tumor Indication	PD-L1 Expression Level	Intended Use
NSCLC	TPS $\geq$ 1%	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying NSCLC patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).**
Gastric or GEJ Adenocarcinoma	CPS $\geq$ 1	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying gastric or GEJ adenocarcinoma patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).
ESCC	CPS $\geq$ 10	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying ESCC patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).
Cervical Cancer	CPS $\geq$ 1	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying cervical cancer patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).
Urothelial Carcinoma	CPS $\geq$ 10	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying urothelial carcinoma patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).**
HNSCC	CPS $\geq$ 1	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying HNSCC patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).**
TNBC	CPS $\geq$ 10	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx is indicated as an aid in identifying TNBC patients for treatment with KEYTRUDA® (pembrolizumab).

\*\* See the KEYTRUDA® product label for specific clinical circumstances guiding PD-L1 testing.

- Стандартом терапии 1 линии для пациентов с раком уротелия продолжают быть химиотерапевтические режимы на основе цисплатина . Однако по данным литературы до 50% больных не подходят для назначения данной терапии.
- Ситуация с лечением изменилась с появлением иммуно-терапевтических анти-PD-L1 препаратов и для назначения иммунотерапии в первой линии распространенного уротелиального рака пациентам, которые не могут перенести цисплатин, рекомендовано проведение PD-L1 диагностики.
- Для остальных групп пациентов диагностика PD-L1 не требуется (при невозможности проведения любой платиносодержащей химиотерапии и у пациентов с прогрессированием заболевания в ходе или после окончания любой платиносодержащей химиотерапии или в течение 12 месяцев после неоадьювантной или адьювантной химиотерапии).

## Значение экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках

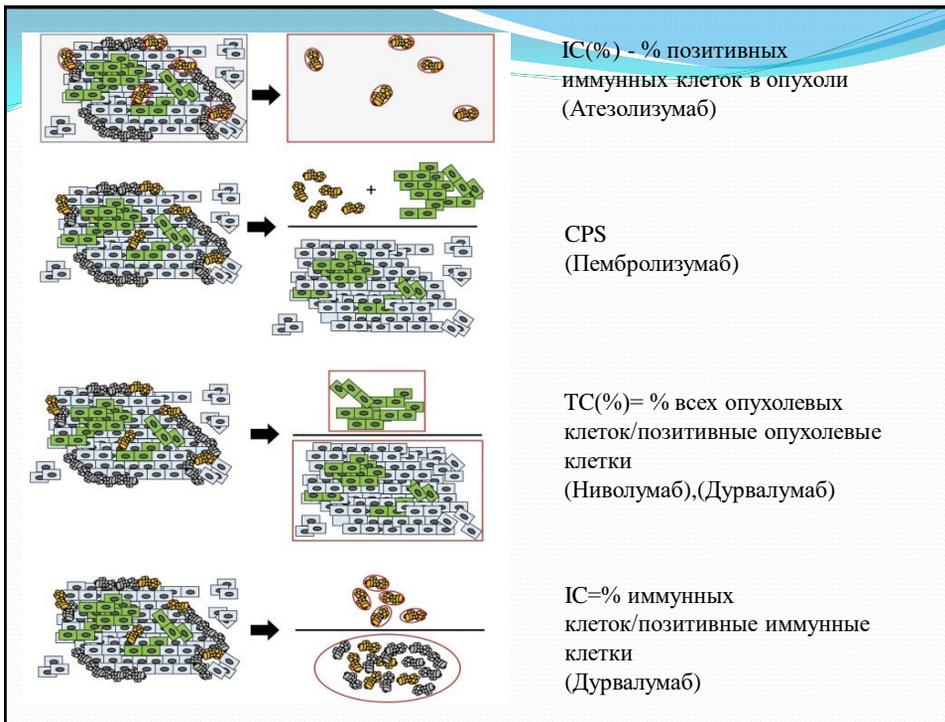
- Способствует усиленному бесконтрольному росту опухоли
- Характеризует более высокую степень злокачественности
- Признак неблагоприятного прогноза заболевания.

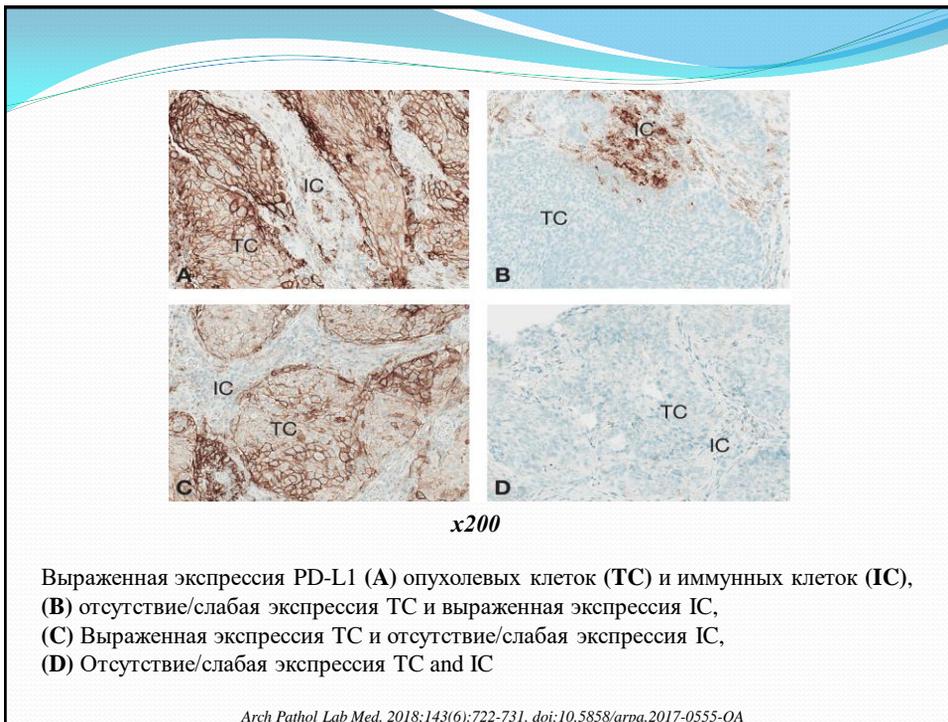
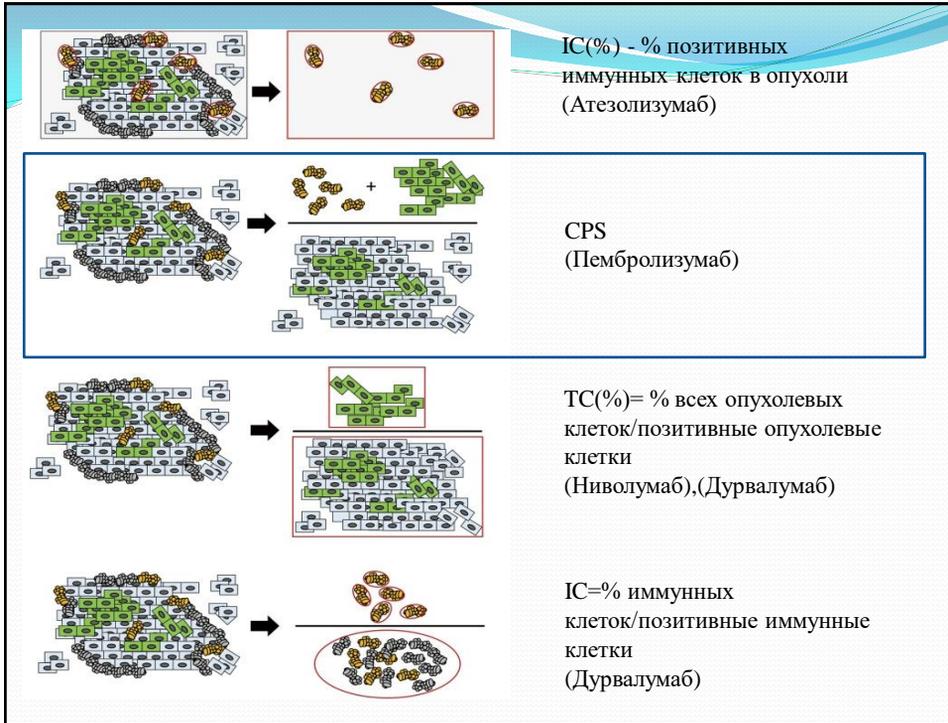
**Методика подсчета CPS в уротелиальном раке: Числитель**

Элементы ткани	Включаемые в числитель	Исключаемые из числителя
Опухолевые клетки	Жизнеспособные инвазивные клетки уротелиального рака с частичным или полным мембранным окрашиванием любой интенсивности <i>Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, high-grade</i> <i>Карцинома in situ</i> Клетки метастаза	<i>Неокрашенные</i> опухолевые клетки Опухолевые клетки с окрашиванием цитоплазмы, без окрашивания мембраны <i>Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, low-grade</i>
Иммунные клетки	Полное или частичное, мембранное или цитоплазматическое окрашивание любой интенсивности моноуклеарных иммунных клеток ( <i>лимфоциты и макрофаги</i> ), вовлеченных в опухолевый процесс	Неокрашенные иммунные клетки Моноуклеарные клеток, ассоциированные с нормальными тканями, зонами карциномы in situ, дисплазией или неопухолевыми процессами Нейтрофилы, эозинофилы, плазмиды Гранулемы, сформировавшиеся на фоне проводимой БЦЖ терапии
Другие структуры	Не включаются	Нормальные ткани Стромальные клетки (включая фибробласты) Некрот, детрит

**Методика подсчета CPS в уротелиальном раке: Знаменатель**

Элементы ткани	Включаемые в знаменатель	Исключаемые из знаменателя
Опухолевые клетки	Все жизнеспособные ( <i>окрашенные и не окрашенные</i> ) опухолевые клетки: Инвазивный уротелиальный рак <i>Неинвазивная папиллярная уротелиальная карцинома, high-grade</i> <i>Карцинома in situ</i> Клетки метастаза	Некрот, детрит
Другие структуры	Не включаются	Нормальные ткани Стромальные клетки (включая фибробласты)





## Различия уровня экспрессии PD-L1

Рис. 1. Экспрессия PD-L1 на мембранах опухолевых клеток умеренно дифференцированной уротелиальной карциномы, G2 (ув.  $\times 10$ , ИГХа с PD-L1)

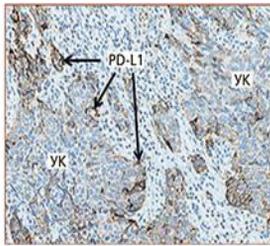


Рис. 2. Выраженная экспрессия PD-L1 в клетках низкодифференцированной уротелиальной карциномы, G3 (ув.  $\times 10$ , ИГХа с PD-L1)

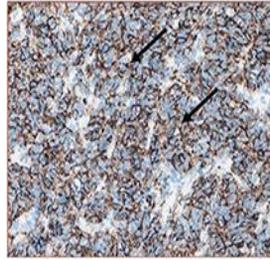
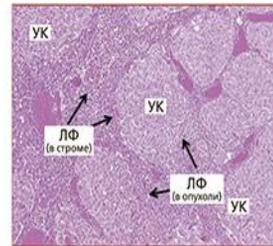


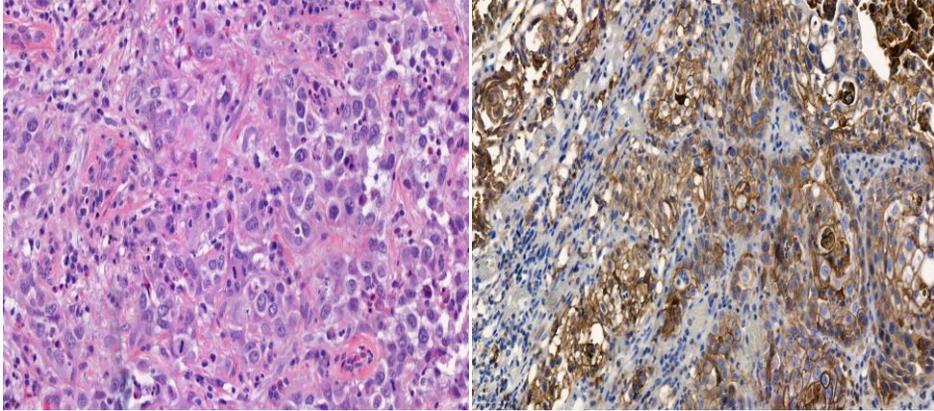
Рис. 3. Лимфоидная инфильтрация (ЛФ) в строме и ткани опухоли (УК), (ув.  $\times 10$ , окраска гематоксилин-эозин)



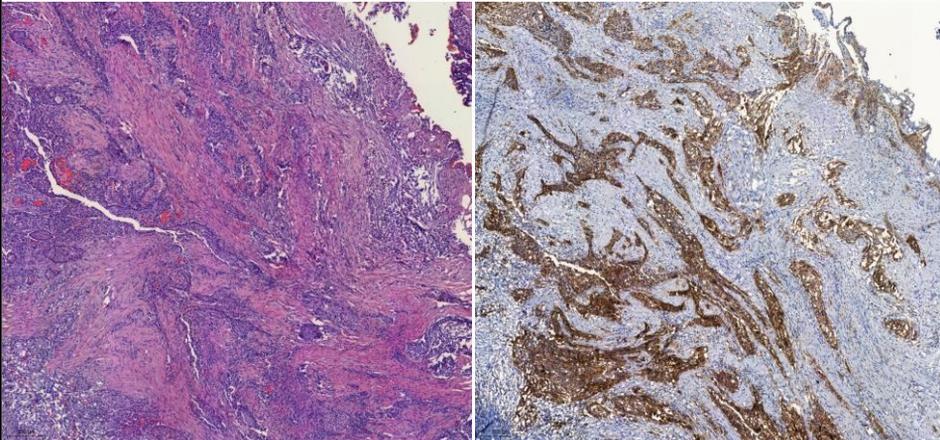
## Методы оценки

*PD-L1 статус у пациентов с уротелиальной карциномой* определяется как часть площади опухоли, занятая PD-L1 экспрессирующими иммунными клетками, инфильтрирующими опухоль, любой интенсивности окрашивания и скоплениями окрашенных опухолевых клеток к общему количеству опухолевых клеток (окрашенных и неокрашенных) в препарате.

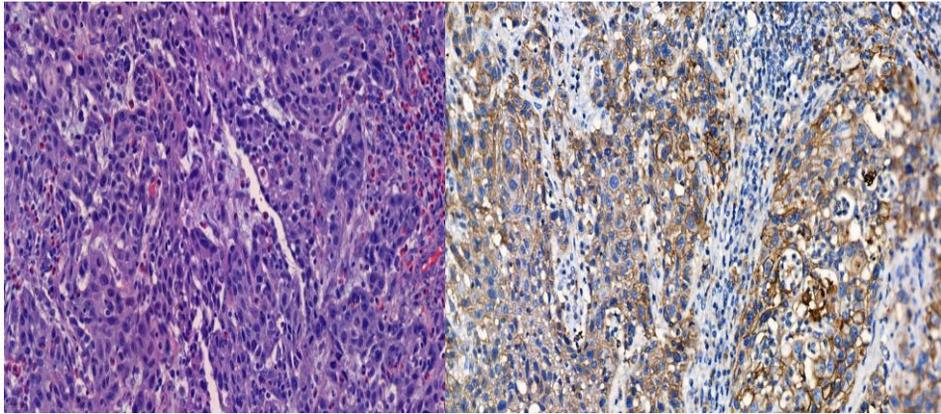
Инвазивная уротелиальная карцинома,  
позитивная по экспрессии PD-L1 (CPS>10)



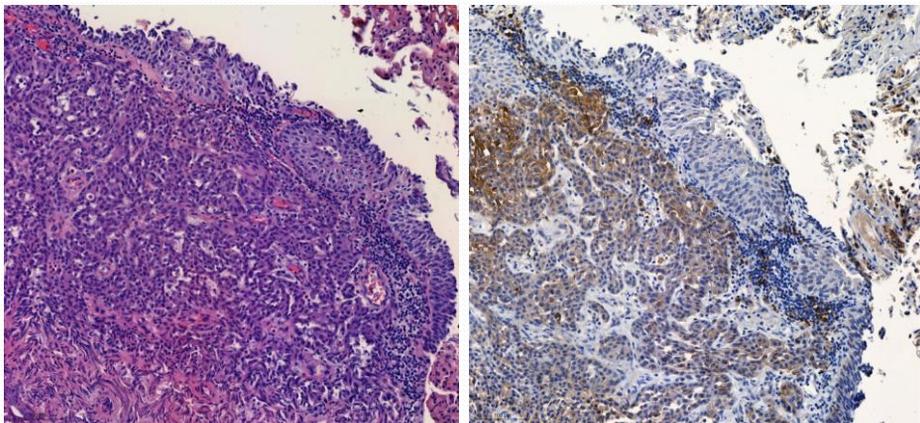
Инвазивная уротелиальная карцинома, G3,  
PD-L1-позитивная (CPS>10)



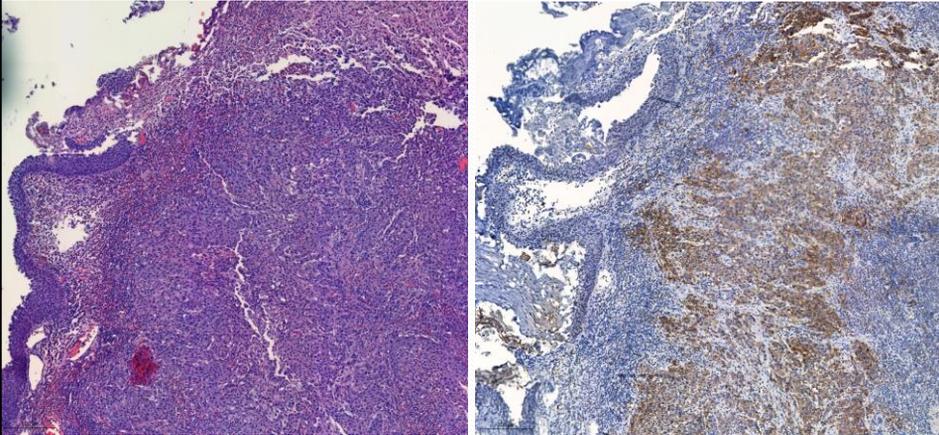
Инвазивная уротелиальная карцинома,  
PD-L1-позитивная (CPS $\geq$ 10%)



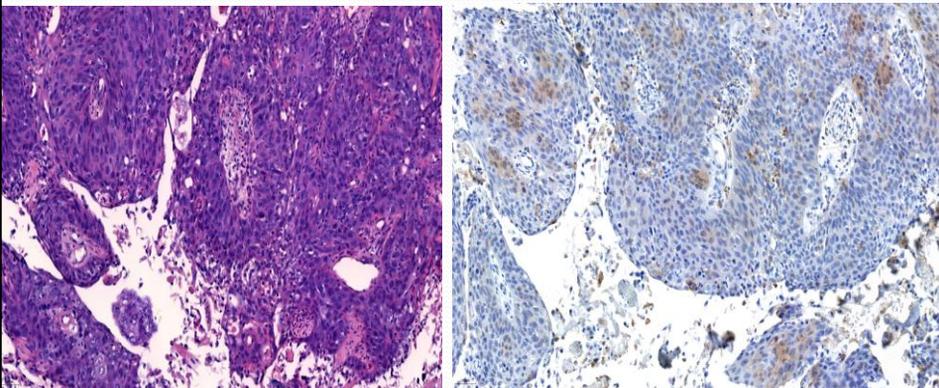
Инвазивная уротелиальная карцинома, G3,  
PD-L1-позитивная (CPS $\geq$ 10%)



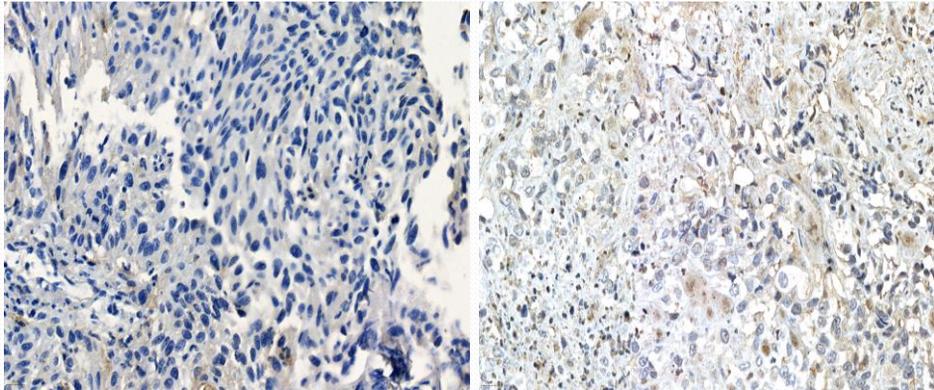
Инвазивная уротелиальная карцинома, G3,  
PD-L1-позитивная (CPS $\geq$ 10%)



Папиллярная уротелиальная карцинома,  
PD-L1- негативная (CPS=2)



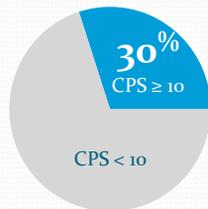
## Папиллярная уротелиальная карцинома, PD-L1- негативная (CPS=0)



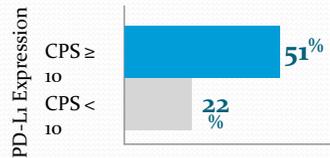
- Решение об одобрении пембролизумаба в качестве терапии первой линии было принято более года назад на основе результатов 2 фазы клинического исследования KEYNOTE-052 .
- В нём участвовали 370 пациентов, которым невозможно было назначить лечение на основе цисплатина. Все пациенты получали пембролизумаб (200 мг, внутривенное введение каждые 3 недели).
- PD-L1 в сочетании с положительной оценкой в 10 % и более ассоциировался с более высокой частотой ответов (47,3 %) и лучшей общей выживаемостью (18,5 месяцев). Частота ответов была существенно выше у пациентов с экспрессией PD-L1 и составила 39 %.

## Результаты клинического исследования экспрессии PD-L1 (клон 22C3 pharmDx ) в уротелиальной карциноме для назначения препарата KEYTRUDA (пембролизумаб)

Опытная группа пациентов с уротелиальной карциномой, принявших участие в клиническом исследовании (N=370)



Результаты исследования пациентов, принимавших пембролизумаб



\* Review the PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Instructions for Use for more information regarding the KEYNOTE clinical trials

† 9 patients had unknown PD-L1 status

‡ Excludes patients with unknown PD-L1 status

References: 1. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx [Instructions for Use]. Carpinteria, CA: Dako, Agilent Pathology Solutions; 2020. 2. Keytruda [package insert]. Kenilworth, NJ: Merck & Co., Inc.; 2020.

- Замена химиотерапии ингибиторами контрольных точек ( пембролизумаб) прошла всесторонне успешно.
- В исследованиях KEYNOTE-052 лишь 5 % пациентов прекратили лечение из-за неприемлемой токсичности.
- Применение пембролизумаба позволило повысить эффективность за счет увеличения скорости ответа в два раза по сравнению с химиотерапией у всех больных, а у пациентов с позитивным PD-L1 статус опухоли — в 3 раза.
- Результаты этих исследований показали, что больные, которые ранее не могли получать лечение, теперь получили эффективную терапию.

## Значение экспрессии PD-L1 при уротелиальном раке

- Опухоль, экспрессирующая PD-L1
  - чаще низкодифференцированная
  - высокий риск рецидива после операции
  - низкая выживаемость
- Уровень экспрессии PD-L1 ассоциирован с
  - тяжестью течения РМП
  - устойчивостью к БЦЖ-терапии
  - ответом на таргетную терапию
- Определение уровня экспрессии PD-L1 иммуногистохимическим методом позволяет выделить группу пациентов для назначения анти-PD-L1 терапии.
- При позитивном статусе PD-L1 (CPS  $\geq 10\%$ ) уротелиальной карциномы, по данным клинических исследований, отмечается увеличение частоты объективного ответа на иммунную терапию, что влияет на общую выживаемость у пациентов с отдаленными метастазами после химиотерапии.
- Применение иммунопрепаратов во многих случаях связано с хорошим терапевтическим ответом и достижением длительных ремиссий.
- На сегодняшний день интерес к иммунотерапии РМП возрастает.

## Спасибо за внимание!

**Медицина так быстро шагает  
вперёд, что здоровье  
за ней  
не поспевает.**

**КРОКОДИЛ**  
<http://vk.com/j.crocodile>

