



Российский научный центр
радиологии и хирургических технологий
имени академика А.М. Гранова



МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
имени БЕРЕЗИНА СЕРГЕЯ

Тестирование биомаркеров при раке легкого методом ИГХ: возможности и ограничения

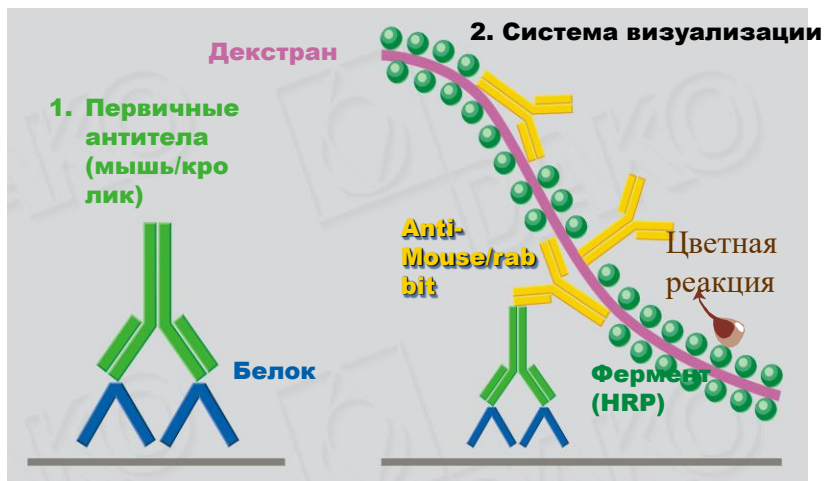
Раскин Г.А.

Руководитель лаборатории иммуногистохимии ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова»,
зав. отделением патологической анатомии МИБС,
д.м.н., проф. кафедры онкологии СПбГУ

15.11.2019

Москва

Иммуногистохимия



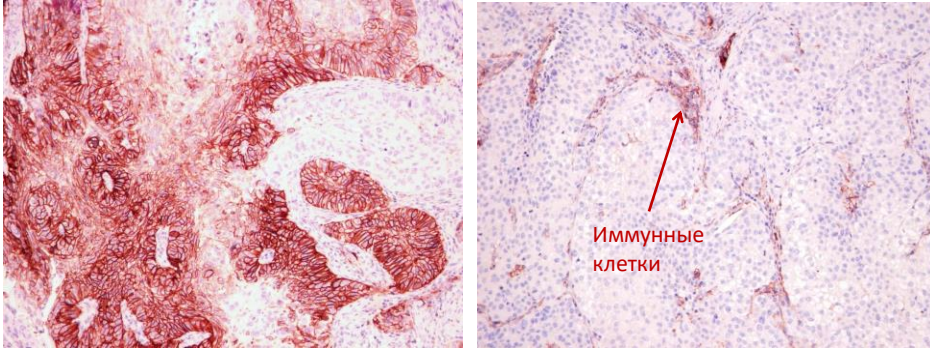
Предиктивные маркеры, определяемые ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИ

- Эстрогеновые рецепторы (РМЖ).
- Прогестероновые рецепторы (РМЖ).
- HER2/neu (РМЖ, РЖ, РЛ, РТК).
- Ki-67 (РМЖ, НЭО).
- ALK, ROS1 (РЛ).
- MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 (все солидные опухоли).
- PD-L1 (рак легкого, меланома, рак желудка, рак шейки матки).
- NTRK? (все солидные опухоли).

Преимущества ИММУНОГИСТОХИМИИ

- Врач-патологоанатом видит то, что он оценивает.
- Оценка экспрессии HER2/neu, PD-L1, эстрогеновых рецепторов, прогестероновых рецепторов, Ki-67 может проводиться только морфологическими методами.
- Быстрота, доступность, высокая достоверность и дешевизна исследований.

PD-L1 при НМРЛ



Собственные данные

Антитела для оценки экспрессии PDL1

Тест	Вентана SP263*	ДАКО 22C3*	ДАКО 28-8	ДАКО 73-10	Вентана SP142	Биокад BCDdx10 20*
Компания, развивающая тест	АстраЗенек а	MSD	BMS	Пфайзер	РОШ	Биокад
ИО препарат	Дурвалума б	Пембро лизума б	Ниволума б	Авелума б	Атезолизум аб	BCD-100
Порог детекции	≥25% опухолевых клеток	≥1%; ≥50% опухолевых клеток	≥1%; ≥5%; ≥10% опухолевых клеток	≥1% опухолевых клеток	≥1%; ≥5%; ≥50% опухолевых клеток ≥1%; ≥5%; ≥10% иммунных клеток	Предварительно CPS=1

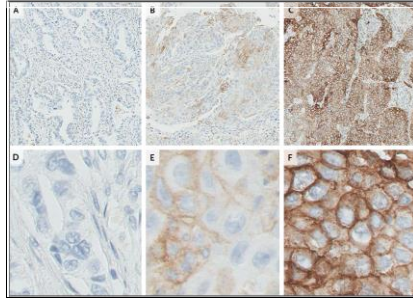
* Зарегистрированы в России

Критерии оценки DAKO 22C3 (MSD).

Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание образцов НМРЛ

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

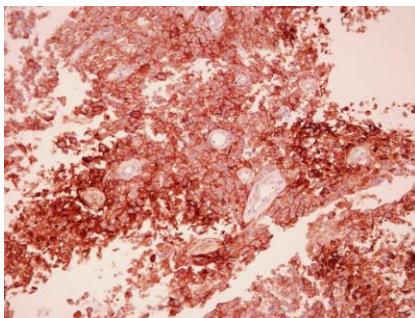
Tumour Proportion Score (TPS) = % живых PD-L1(+) опухолевых клеток с полным или частичным окрашиванием мембраны любой интенсивности



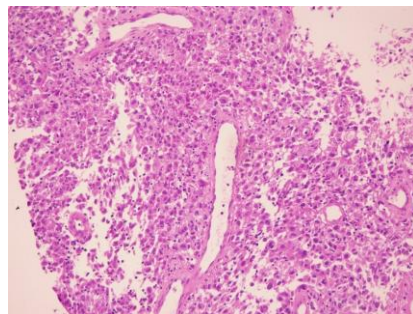
TPS<1%, TPS 1-49%, TPS≥50%,
негативный слабопозитивн высокая
ый экспрессия

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

- В 10 из 15 случаев была выявлена экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках >50% (TC3).

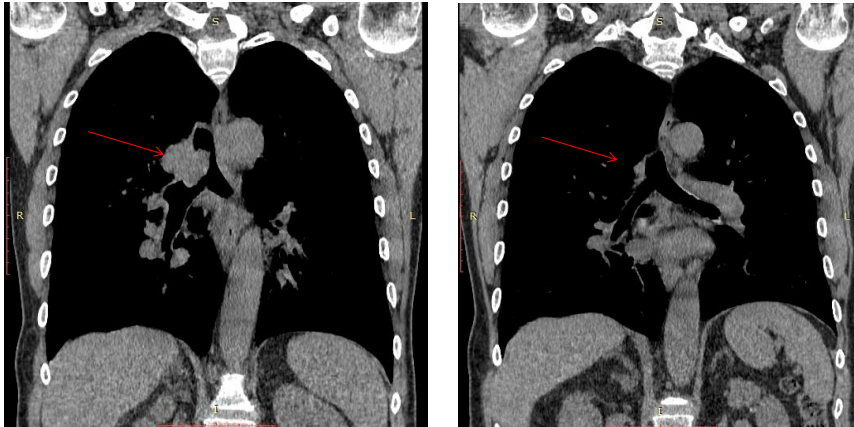


PD-L1



Собственные данные

Анти-PD1 терапия при саркоматоидном раке



До лечения

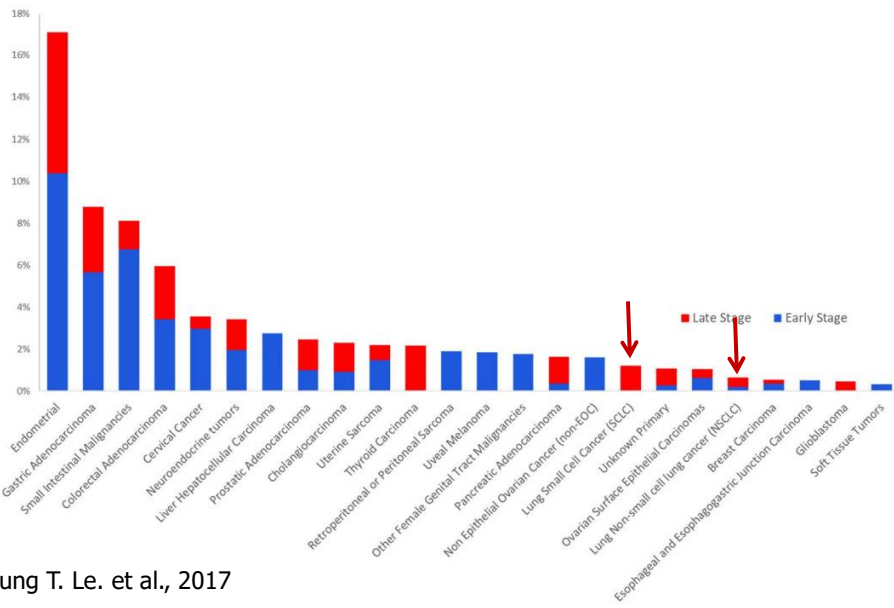
Собственные данные

После лечения

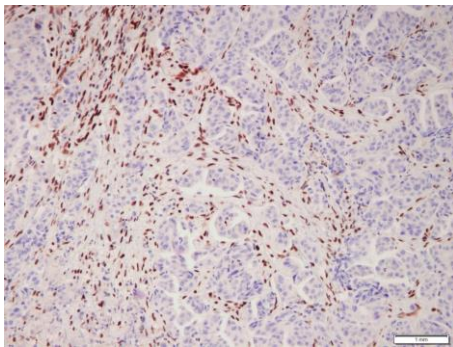
MMR/MSI

- 23 мая 2017 года FDA зарегистрировала показание к анти-PD1 терапии: любая солидная опухоль с нарушением MMR или с микросателлитной нестабильностью высокой степени.
- 1 марта 2019 г.: анти-PD1 терапия показана для лечения пациентов с распространенными злокачественными новообразованиями с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (MSI-H), включая нарушение системы репарации ДНК (dMMR), которые ранее получали терапию.

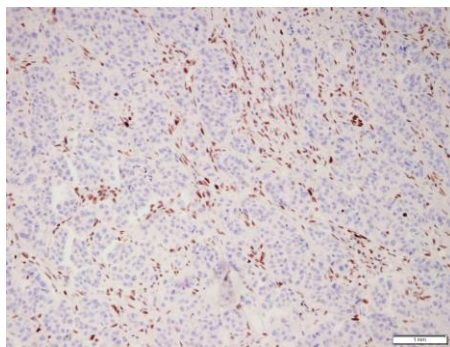
Исследование MMR в 12019 опухолях



dMMR при НМРЛ



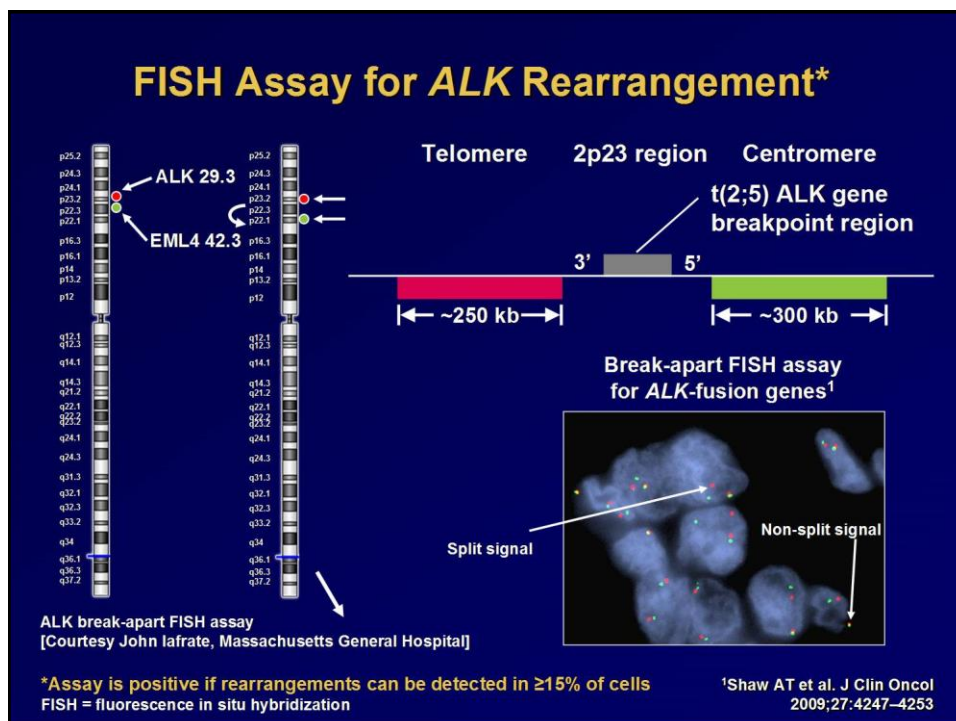
MSH2



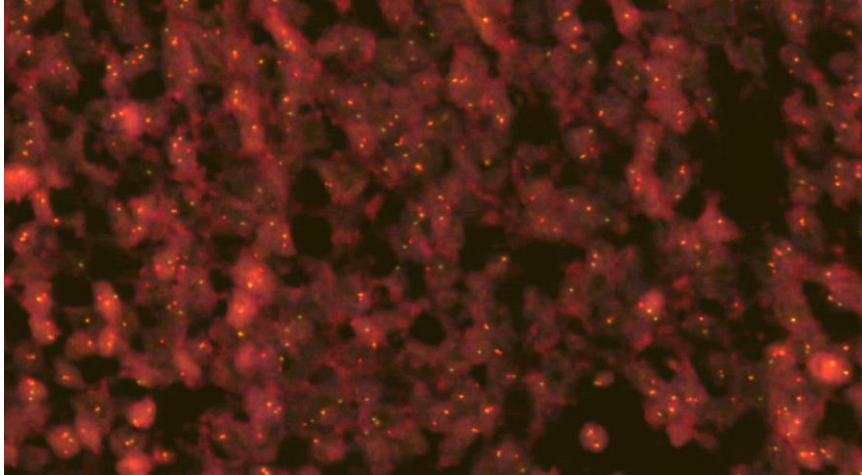
MSH6

Анти-ALK терапия

- Реанжировка гена ALK имеется в 5% случаев аденокарциномы легкого (Sholl L.M. et al., J Thorac Oncol., 2013).
- Иммуногистохимически – определение экспрессии ALK
- **FISH – определение амплификации ALK**
- ПЦР – определение амплификации ALK



FISH ALK



Корреляция ИГХ и FISH ALK

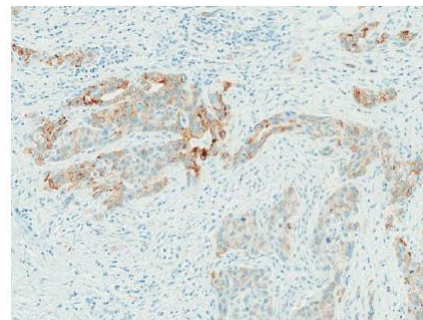
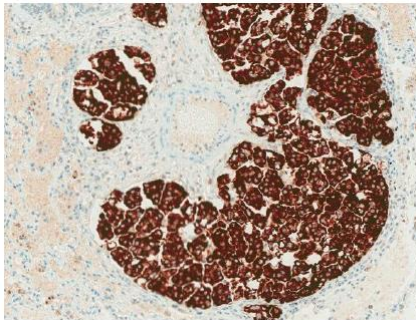
		<i>ALK FISH</i>		
		Positive	Negative	Total
ALK Immunohistochemistry	Negative	1	162	163
	Low (1+)	4	0	4
	High (2+)	9	0	9
	Total Positive	13	0	13
	Total	14	162	176

Sholl L.M. et al., J Thorac Oncol., 2013

Рекомендации оценки Вентаны анти-ALK (D5F3).

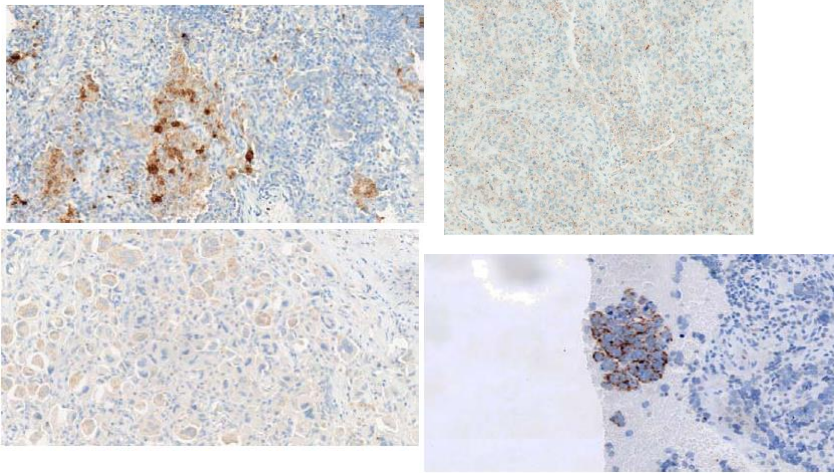
Clinical Interpretation	Staining Description
Positive for ALK	<p>Presence of strong granular cytoplasmic staining in tumor cells (any percentage of positive tumor cells). Known staining elements should be excluded, including:</p> <ul style="list-style-type: none"> • light cytoplasmic stippling in alveolar macrophages, • cells of neural origin (nerve and ganglion cells), • glandular epithelial staining, and • cells within lymphocytic infiltrate. <p>Some background staining also may be observed within normal mucosa in NSCLC (including mucin) and in necrotic tumor areas, which also should be excluded from the clinical evaluation.</p>
Negative for ALK	Absence of strong granular cytoplasmic staining in tumor cells.

ALK-ПОЗИТИВ



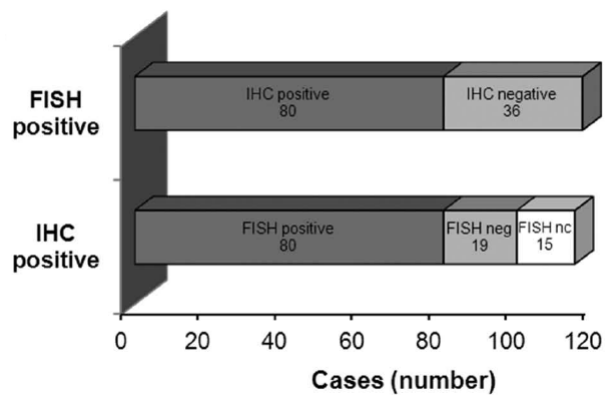
[VENTANA ALK Scoring Interpretation Guide for non-small cell lung carcinoma \(NSCLC\)](#)

ALK-негатив



VENTANA ALK Scoring Interpretation Guide
for non-small cell lung carcinoma (NSCLC)

Дискордантность исследования ALK FISH и ИГХ.



Cabillic F. et al. J Thorac Oncol. 2014

Оценка ALK: iScore.

	ALK iScore 3	ALK iScore 2	ALK iScore 1	ALK iScore 0
Критерии	>80% позитивных клеток	Позитивных клеток менее или равно 80%, но больше 50%	Позитивных клеток менее или равно 50%, но больше 0	Позитивных клеток нет.
Интерпретация	Аденокарцинома ALK (фузия)-позитивна. НЭР (МК и КК) могут экспрессировать ALK без транслокации.	Может быть либо экспрессия ALK без транслокации клетками с НЭ дифференцировкой, либо снижение экспрессии ALK (фузия) клетками с плоскоклет. диф.	Вызвано преимущественно экспрессией ALK без транслокации.	Негатив
Необходимость FISH исследования	Не требуется в случае аденокарциномы, нужно при остальных гистотипах.	Требуется	Требуется	Не требуется

Takeuchi K. et al. Ann Oncol., 2016

INSM1 в диагностике НЭО легких

Marker	TP (n)	FP (n)	TN (n)	FN (n)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Cytology								
INSM1	36	0	15	3	92.3	100	100	78.9
CD56	38	1	14	1	97.4	93.3	97.4	93.3
Syn	34	0	15	5	89.7	100	100	75
CGA	26	0	15	13	66.7	100	100	53.6
Surgical and TMA specimens								
INSM1	44	10	504	5	89.8	98.1	81.5	99
CD56	46	33	481	3	93.9	93.6	58.2	99.4
Syn	46	45	469	3	93.4	91.2	50.5	99.4
CGA	37	7	507	12	75.5	98.6	84.1	97.7

Kartik Viswanathan, Momin T.Siddiqui, Alain C.Borczuk Journal of the American Society of Cytopathology, 2019

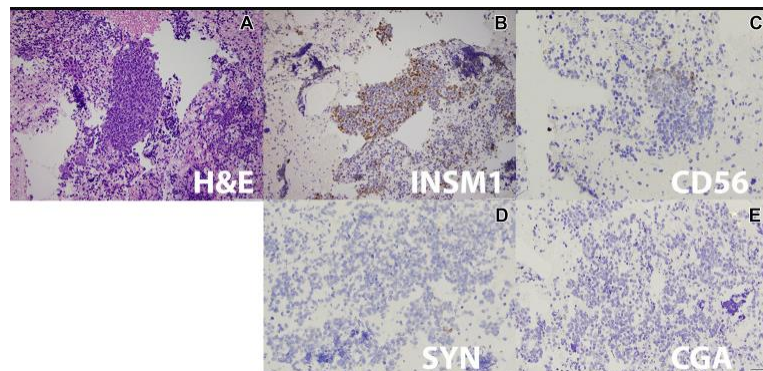
INSM1 в диагностике НЭО легких

Table 6 Sensitivity and specificity of INSM1, synaptophysin, chromogranin and CD56 for neuroendocrine lung neoplasms

	Positive/total (%)				
	INSM1	Synaptophysin	Chromogranin	CD56	Any traditional neuroendocrine marker ^a
Sensitivity	144/152 (95)	147/150 (98)	125/149 (84)	141/146 (97)	152/152 (100)
Specificity	188/193 (97)	38/42 (90)	119/121 (98)	106/122 (87)	28/46 (61)
Positive predictive value	144/149 (97)	147/151 (97)	125/127 (98)	141/157 (90)	152/170 (89)
Negative predictive value	188/196 (96)	38/41 (93)	119/143 (83)	106/111 (95)	28/28 (100)

Sanjay Mukhopadhyay , Josephine K. Dermawan, Christopher P. Lanigan, Carol F. Farver. Modern Pathology, 2018.

INSM1 в диагностике НЭО легких



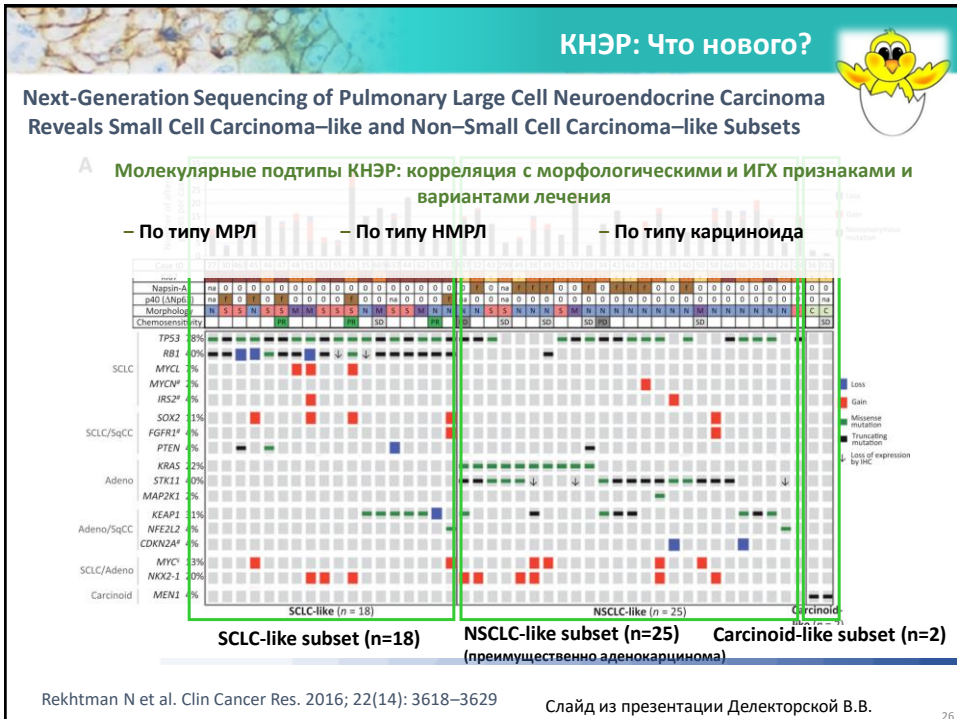
Kartik Viswanathan, Momin T.Siddiqui, Alain C.Borczuk Journal of the American Society of Cytopathology, 2019

Воспроизводимость диагнозов крупноклеточный нейроэндокринный рак и мелкоклеточного рака

- Крупноклеточный рак – 40%.
- Мелкоклеточный рак – 70%.

Исследование на резекционном материале.

Travis WD, Gal AA, Colby TV, et al. Reproducibility of neuroendocrine lung tumor classification. Hum Pathol 1998;

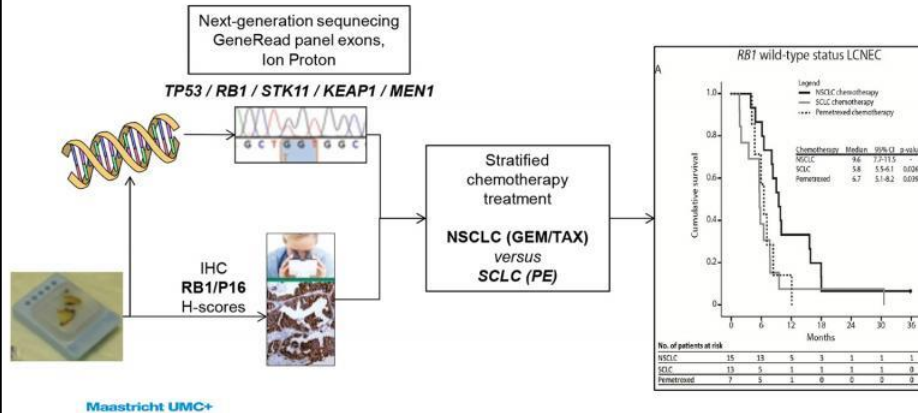


Крупноклеточный НЭР – неоднородная нозология

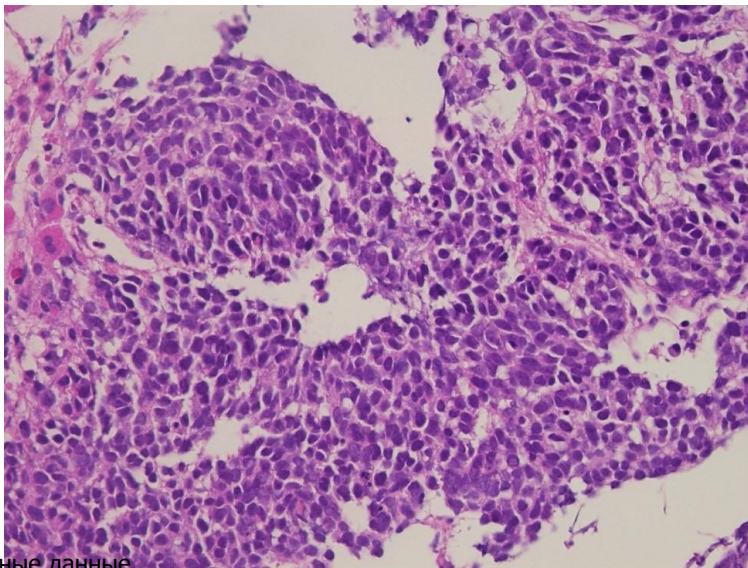
A.-M.C. Dingemans, 10-09-2017 (4310)

MUMC+, GROW School for Oncology and Developmental Biology

“Improved Survival Demonstrated with NSCLC-chemotherapy in Pulmonary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma with *RB1* wildtype”



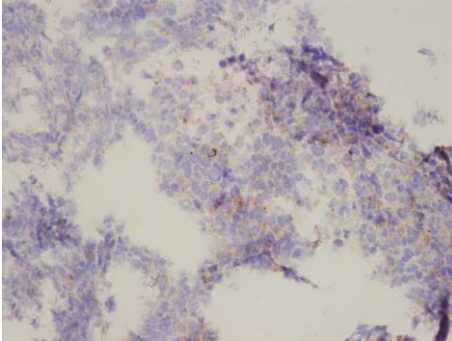
Крупноклеточный Vs. Мелкоклеточный нейроэндокринный рак



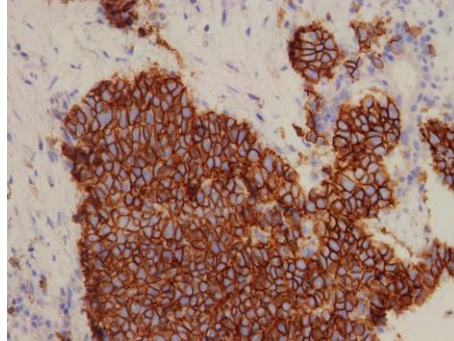
Собственные данные

28

Крупноклеточный Vs. Мелкоклеточный нейроэндокринный рак



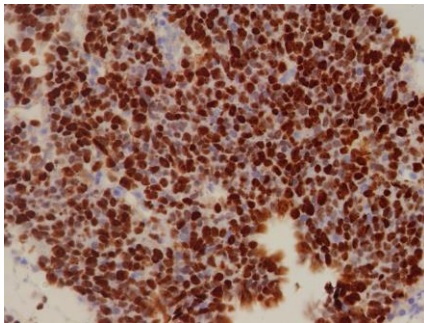
Синаптофизин



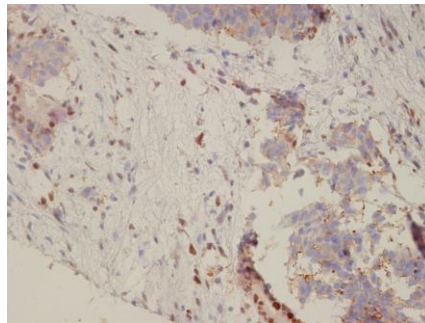
CD56

Собственные данные

Крупноклеточный Vs. Мелкоклеточный нейроэндокринный рак



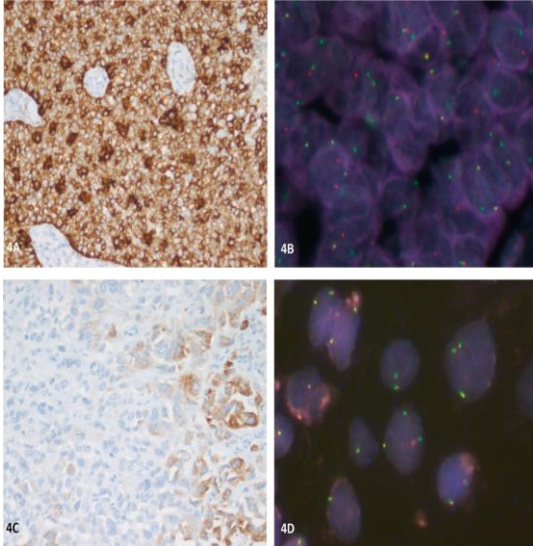
Ki-67



Rb1

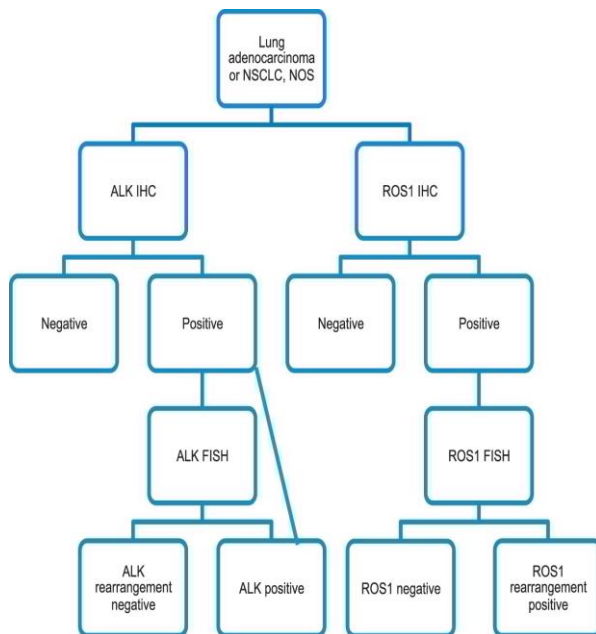
Собственные данные

ROS1 при раке легкого



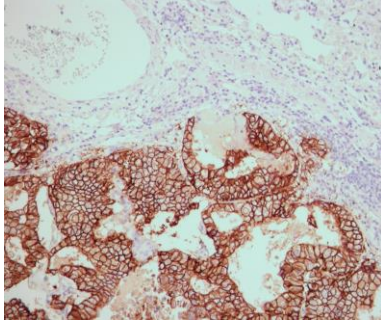
В 2% НМРЛ,
преимуществен
но у молодых,
некурящих.

Luk P.P., Selinger C.I., Mahar A.,
Cooper W.A. Archives of Pathology &
Laboratory Medicine. 2018



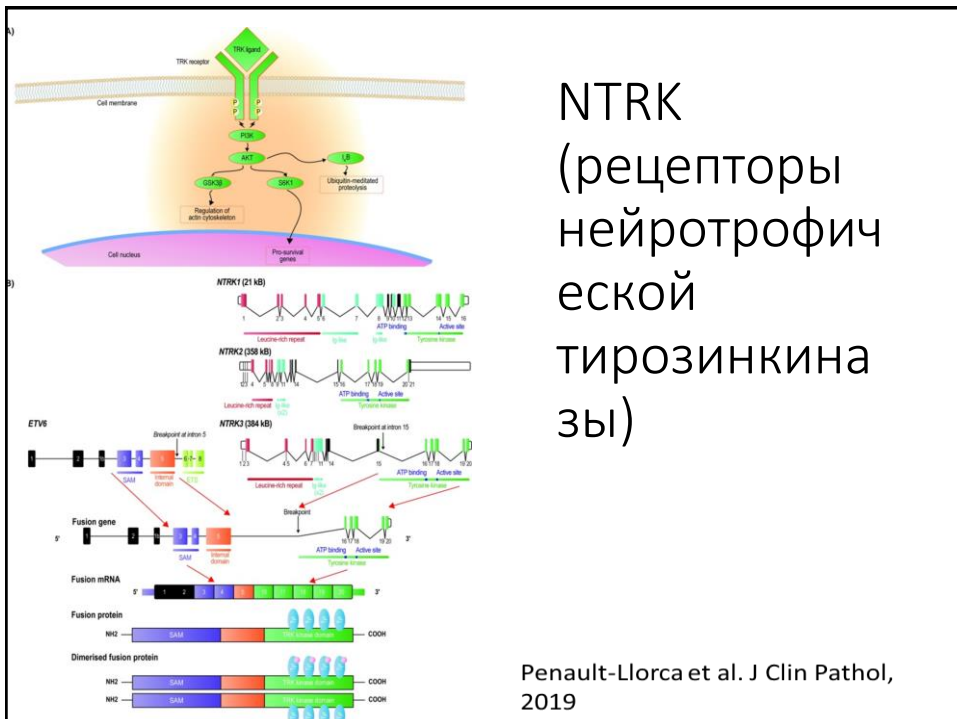
Luk P.P., Selinger C.I., Mahar A.,
Cooper W.A. Archives of Pathology &
Laboratory Medicine. 2018

HER2 при НМРЛ

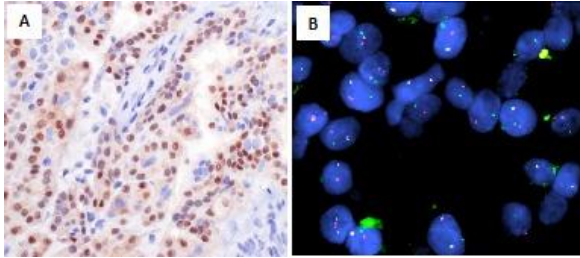


Аденокарцинома легкого

- Сверхэкспрессия в 1-4% аденокарциномы легкого (Peters S. et al. Transl Lung Cancer Res., 2014).
- Может быть механизмом резистентности к анти-EGFR-терапии.
- Чувствительность к таргетной терапии преимущественно показывает мутантный вариант HER2 (1-2% рака легкого), который не обязательно будет гиперэкспрессирован (Y Wang, T Jiang, Z Qin et al. Annals of Oncology, 2019).



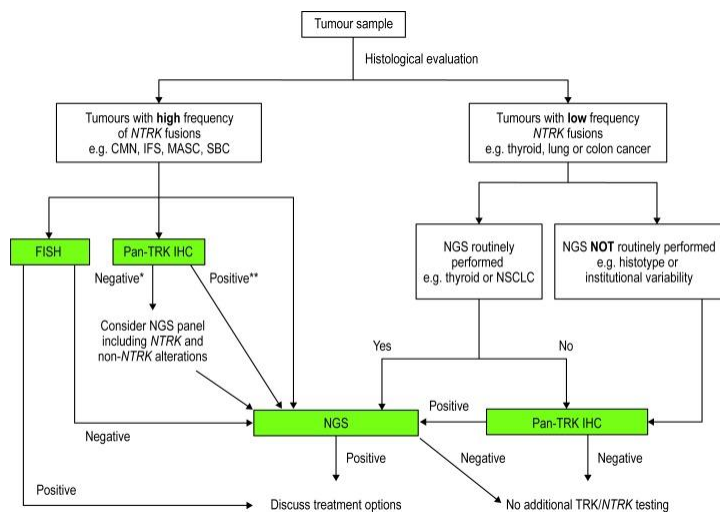
Иммуногистохимия в определении NTRK-фузий.



- 0,2 -2,2% НМРЛ имеют фузию NTRK.
- Чувствительность ИГХ 75-90%.

Penault-Llorca et al. J Clin Pathol, 2019

Алгоритм тестирования NTRK



*If histology typical, then confirmation by NGS recommended
**Treatment may be considered concurrently with confirmatory NGS testing

Penault-Llorca et al. J Clin Pathol, 2019

Заключение:

Иммуногистохимия – доступный, эффективный, «fast track» метод в определении предиктивных маркеров.



Российский научный центр
радиологии и хирургических технологий
имени академика А.М. Гранова

СПАСИБО ЗА

ВНИМАНИЕ!

МИБС МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
имени **БЕРЕЗИНА СЕРГЕЯ**