

Možnosti vyšetrenia PD-L1 expresie v onkológii

Anna Farkašová

MBC, s.r.o.

Vyhlásenie o konflikte záujmov autora

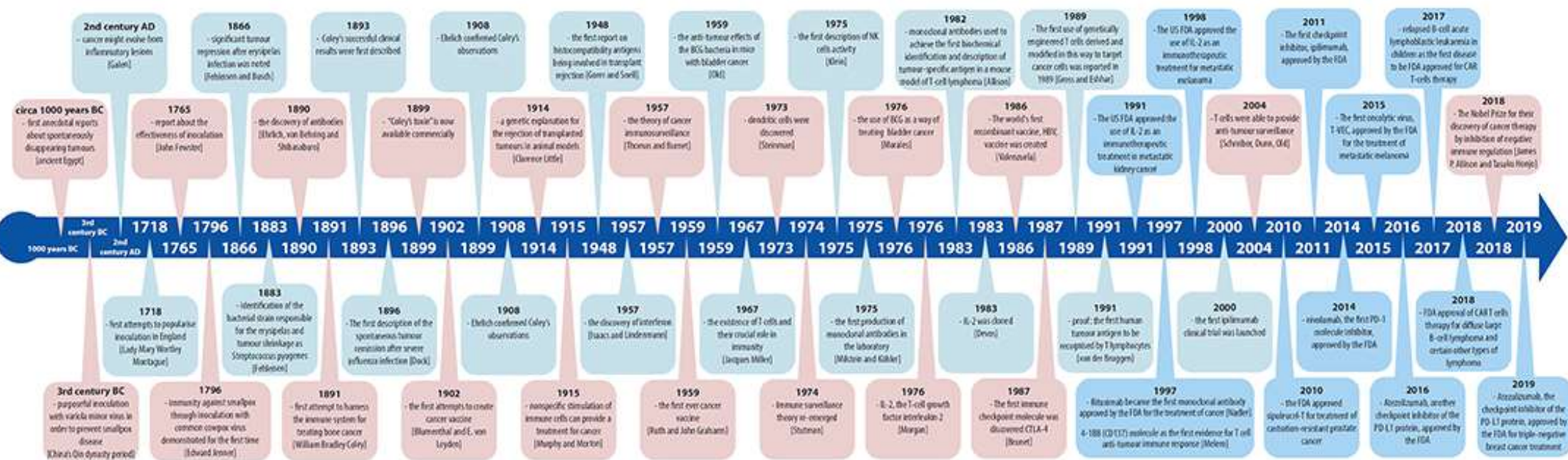
- Nemám potenciálny konflikt záujmov
- Deklarujem nasledujúci konflikt záujmov

Forma finančného prepojenia	Spoločnosť
Participácia na klinických štúdiách/firemnom grante	Merck, AstraZeneca, Novartis
Nepeňažné plnenie (v zmysle zákona)	MSD, Roche
Prednášajúci	MSD, Roche
Akcionár	-
Konzultant/odborný poradca	-
Ostatné príjmy (špecifikovať)	EÚ projekt LISPER, Bioford

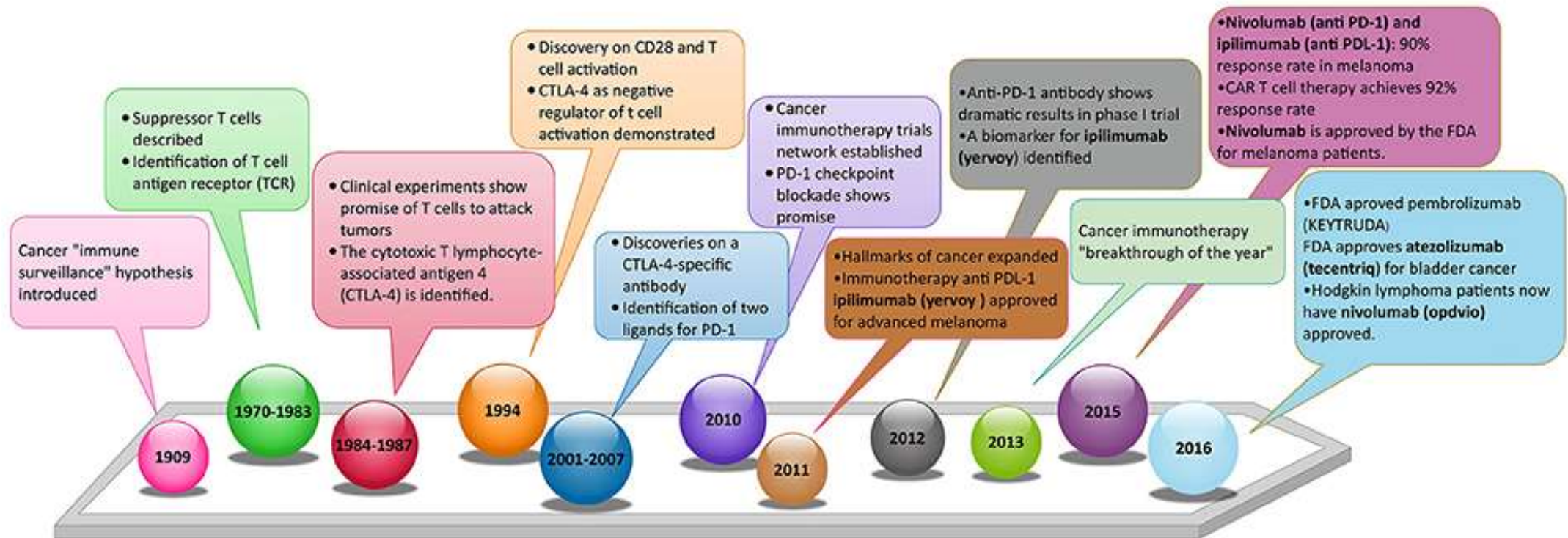
Podľa UEMS (upravené v zmysle slovenskej legislatívy)

Prednášku podporila spoločnosť
Merck Sharp & Dohme, s.r.o. –
MSD Slovensko

Evolution of Immunotherapy



Immune checkpoint inhibitors Drug Discovery Timeline (Immunotherapy)



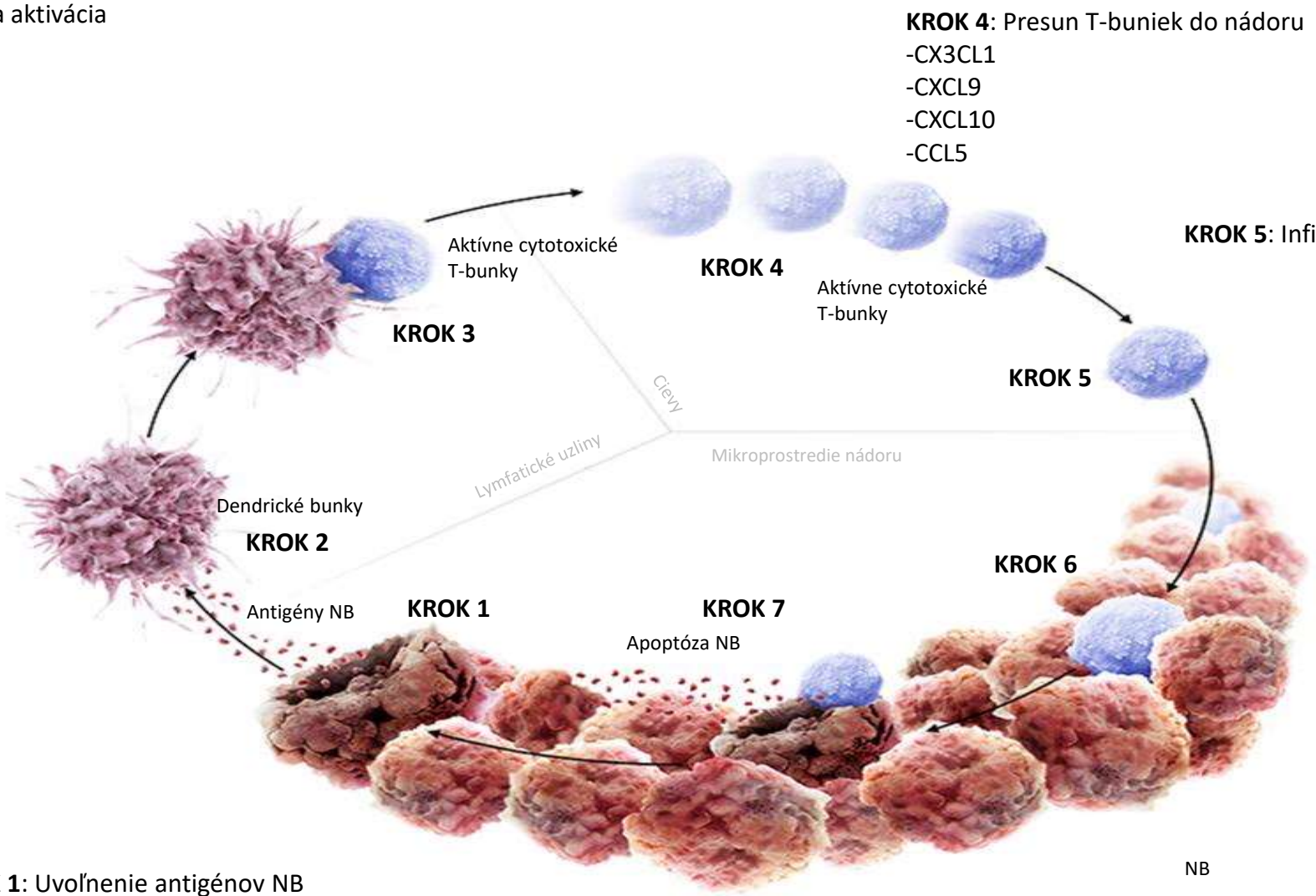
KROK 3: Naviazanie a aktivácia

- CD28/B7.1
- CD137/CD137L
- OX40/OX40L
- CD27/CD70
- HVEM
- GITR
- IL-2
- IL-12
- CTLA4/B7.1
- PD-L1/B7.1
- PD-L1/PD-1
- Prostaglandíny

KROK 2:

- Prítomnosť antigénov NB
- TNF α
- IL-1
- INF α
- CD40L/CD40*
- CDN
- ATP
- HMGB1
- TLR
- IL-10
- IL-4
- IL-13

Upravené podľa
Chen a Mellman Immunity 2013



KROK 4: Presun T-buniek do nádoru

- CX3CL1
- CXCL9
- CXCL10
- CCL5

KROK 5: Infiltrácia T-buniek do nádoru

- LFA1/ICAM1
- Selektíny
- VEGF
- Endoteliálny B receptor

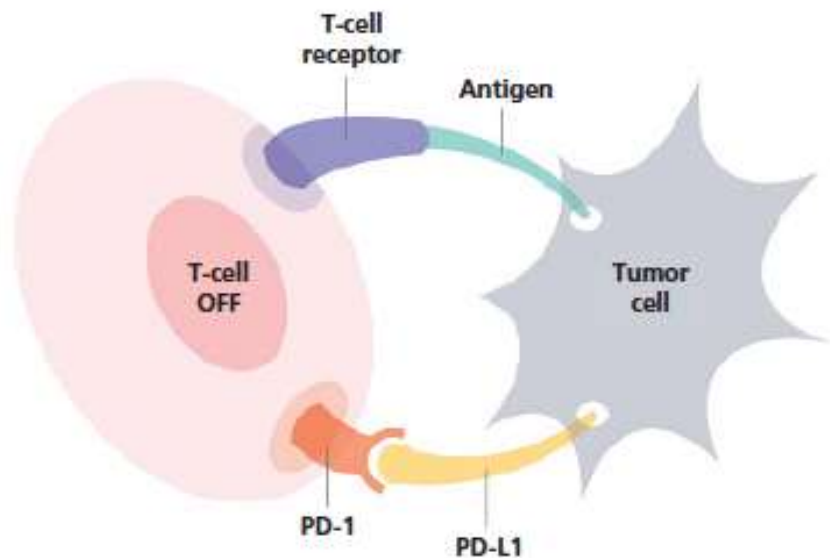
KROK 6:

- Rozpoznanie NB T-bunkami
- T-bunkový receptor
- Redukovaný pMHC na NB

KROK 7: Zánik NB

- IFN γ
- Granulovaný obsah T-buniek
- IDO
- TGF β
- argináza
- LAG-3
- BTLA
- TIM-3/fosfolipidy
- VISTA
- MICA-MICB
- PD-L1/B7.1
- PD-L1/PD-1
- B7-H4

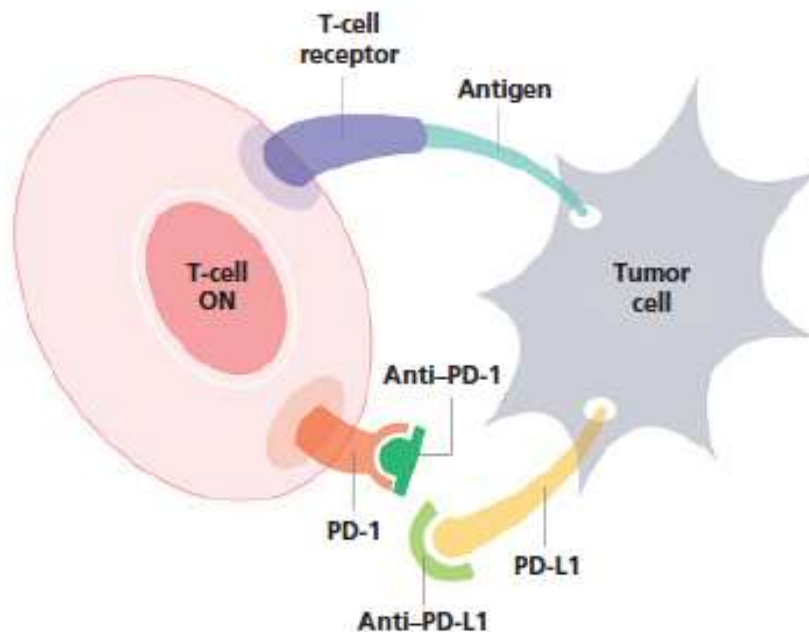
Inhibícia T-bunkovej odpovede a únik pred imunitnými bunkami po väzbe PD-1 na PD-L1



Inhibícia

Inhibícia imunitnej odpovede
vedúca k rastu tumoru

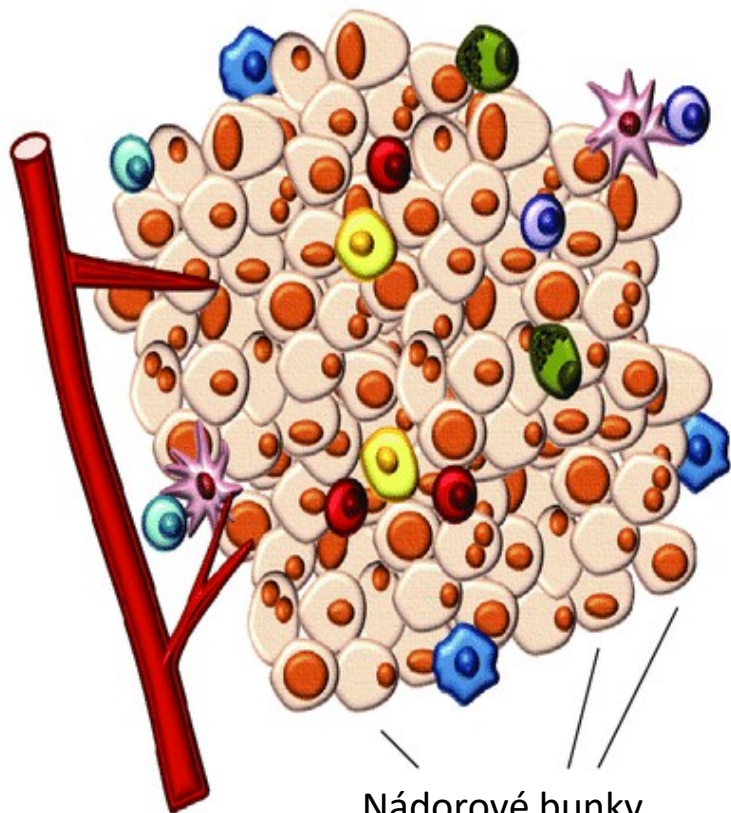
Aktivácia T-bunkami sprostredkovanej imunitnej odpovede s použitím anti-PD-1 alebo anti-PD-L1 monoklonálnych protilátok (tzv. inhibítorov imunitných kontrolných bodov) na prevenciu väzby PD-1 na PD-L1



Aktivácia

Aktivovaná anti-tumorová
imunitná odpoveď







Imunitná infiltrácia nádoru



Nádorové bunky

Anti-tumorogénne

Pro-tumorogénne

Imunitné bunky		Úloha v tumore
	Dendrické bunky (DC)	Uvoľňujú cytotoxické cytokíny Prezentujú antigén T-bunkám
		Potláčajú funkcie T-buniek Podporujú rast a progresiu nádoru
	T-bunky (CD8+, CD4+)	Priamo lyzujú nádorové bunky Uvoľňujú cytotoxické cytokíny
		Uvoľňujú cytokíny podporujúce nádor
	Treg	Obnovujú homeostázu na redukciu chronického zápalu
		Potláčajú protirakovinové imunitné reakcie Stimulujú produkciu zápalových cytokínov
	Makrofágy	Uvoľňujú cytotoxické cytokíny Prezentujú antigén T-bunkám
		Podporujú angiogénezu, nádorovú proliferáciu, chemotaxiu, invazívnosť a metastázovanie
	Myeloidné supresorové bunky (MDSC)	Limitovaný
		Potláčajú funkcie T-buniek Naberajú imunosupresívne imunitné bunky
	NK bunky	Uvoľňujú cytotoxické cytokíny Priamo cytotoxické pre nádorové bunky
		Limitovaný

Diagnostika

Terapia	Pembrolizumab (MSD)	Nivolumab (BMS)	Atezolizumab (Roche/Genentech)	Durvalumab (AZ)
Cieľ	PD-L1	PD-L1	PD-L1	PD-L1
Klon	DAKO 22C3	DAKO 28-8	ROCHE SP142	ROCHE SP263
Expresia	NSCLC – NB UBC – NB/IB	NSCLC – NB	NSCLC – NB/IB UBC – IB	NSCLC – NB
Kritériá positivity	NB \geq 1 % alebo \geq 50 % expresie	NB \geq 1 % expresie	NB: \geq 1 %, \geq 5 % alebo \geq 50 % IB: \geq 1 %, \geq 5 % alebo \geq 10 %	NB \geq 25 % expresie

Diagnostika – zjednodušenie

Terapia	Pembrolizumab (MSD) Nivolumab (BMS) Durvalumab (AZ)	Atezolizumab (Roche/Genentech)
Cieľ	PD-L1	PD-L1
Detekcia	DAKO 22C3 DAKO 28-8 ROCHE SP263	ROCHE SP142
Expresia	NSCLC – NB UBC – NB/IB	NSCLC – NB/IB UBC – IB
Kritériá positivity	Variabilný cut-off $\geq 1\%$ alebo $\geq 50\%$ expresie podľa terapie	NB: $\geq 1\%$, $\geq 5\%$ alebo $\geq 50\%$ IB: $\geq 1\%$, $\geq 5\%$ alebo $\geq 10\%$

Diagnostika – súčasný stav v MBC

Terapia	Pembrolizumab (MSD) Nivolumab (BMS) Durvalumab (AZ)				Atezolizumab (Roche/Genentech)
Cieľ	PD-L1				PD-L1
Detekcia	DAKO 22C3				ROCHE SP142
Hist. dg.	NSCLC	UC, GEJ a TNBC	Karcinóm krčka maternice	HNSCC	TNBC
Kritériá pozitivity	TPS \geq 1 %, resp. \geq 50 %	CPS viac ako 10	CPS viac ako 1	TPS \geq 50 % a CPS viac ako 1	IC viac ako 1 %

Pozn.:

TPS - je vyjadrené ako percento viabilných nádorových buniek, ktoré vykazujú čiastočné alebo kompletne membránové farbenie akejkoľvek intenzity.

CPS - je vyjadrené ako počet buniek exprimujúcich PD-L1 proteín (nádorové bunky, lymfocyty, makrofágy) delené celkovým počtom viabilných nádorových buniek, vynásobené 100

IC – určenie percenta plochy nádoru, ktoré je infiltrované PD-L1 pozitívnymi zápalovými, t.j. imunitnými bunkami, čo sú imunitné bunky prítomné v intratumorálnej a príľahlej peritumorálnej stróme, ktoré zahŕňajú lymfocyty, makrofágy a bunky s dendrickou alebo retikulárnou morfológiou.

Diagnostika – súčasný stav v MBC

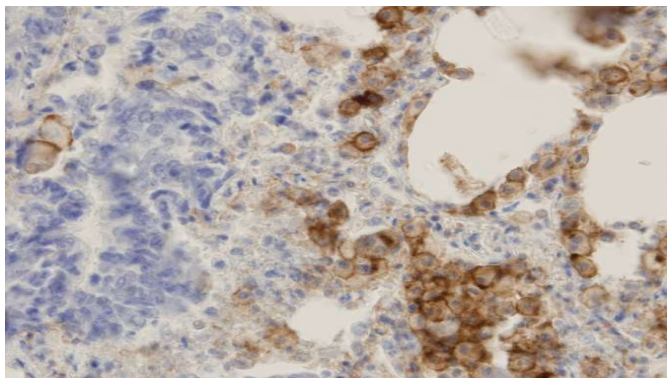
Terapia	Pembrolizumab (MSD) Nivolumab (BMS) Durvalumab (AZ)				Atezolizumab (Roche/Genentech)
Cieľ	PD-L1				PD-L1
Detekcia	DAKO 22C3				ROCHE SP142
Hist. dg.	NSCLC	UC, GEJ a TNBC	Karcinóm krčka maternice	HNSCC	TNBC
Kritériá pozitivity	TPS \geq 1 %, resp. \geq 50 %	CPS viac ako 10	CPS viac ako 1	TPS \geq 50 % a CPS viac ako 1	IC viac ako 1 %

TNBC – použitie protilátky na základe informácie od onkológa ohľadne zvažovanej terapie

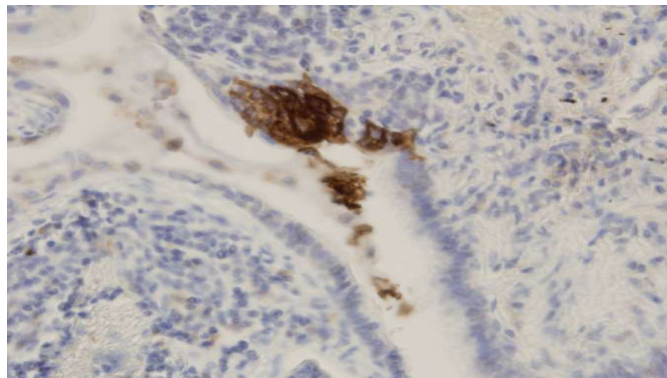
Pozn.: Iné hist. dg. nevyšetrujeme z dôvodu nespĺnenie indikačných kritérií (melanóm, klasický Hodgkinov lymfóm, karcinóm z renálnych buniek, endometriálny karcinóm), kolorektálny karcinóm (nutné vyšetrenie MSI, nie PDL1)

IHC analýza expresie PD-L1 proteínu

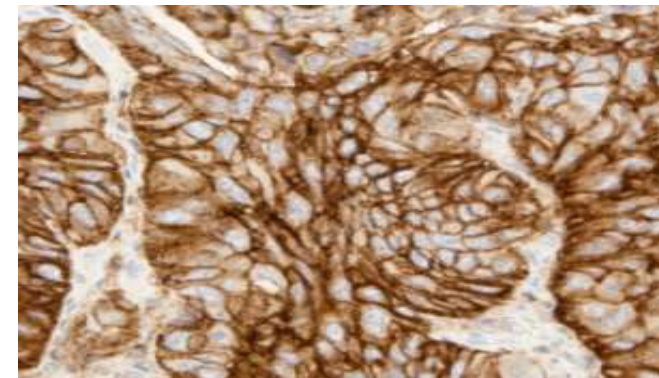
- Monoklonálna protilátka anti-PD-L1, klon **22C3** (DAKO/Agilent)
- platforma Omnis (DAKO)
- TPS cut off: negatívny (0 - < 1 %), nízko/stredne pozitívny (1 - 49 %), vysoko pozitívny (≥ 50 %)



PD-L1 negatívny

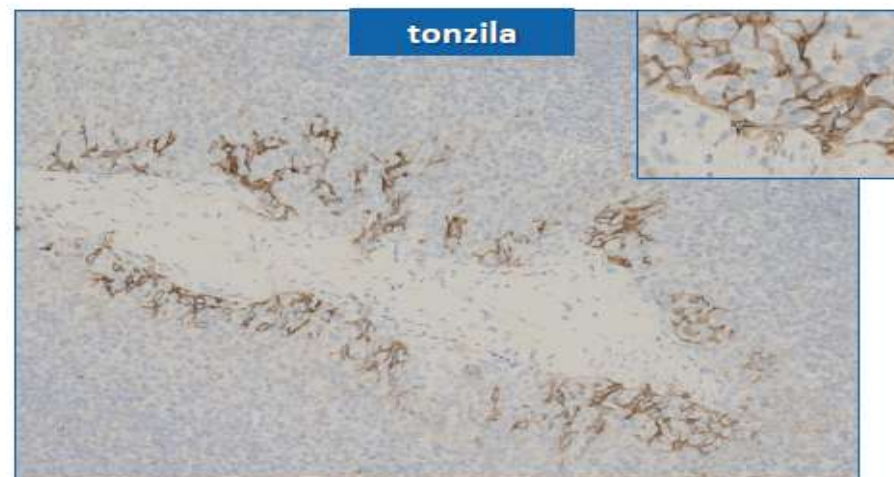
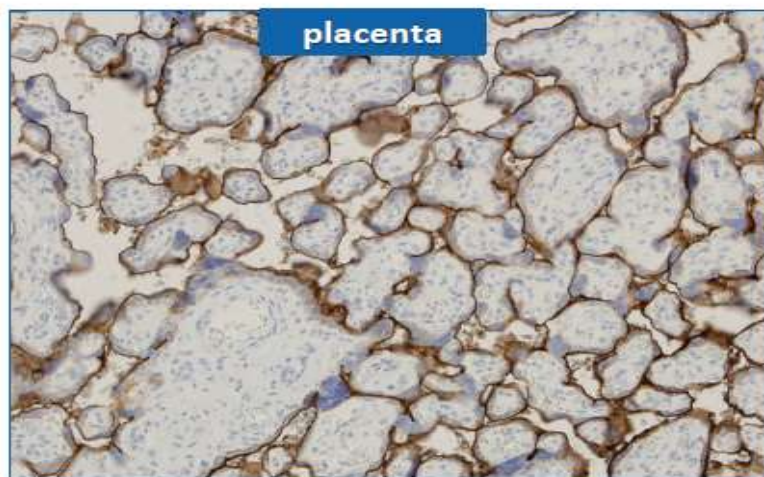
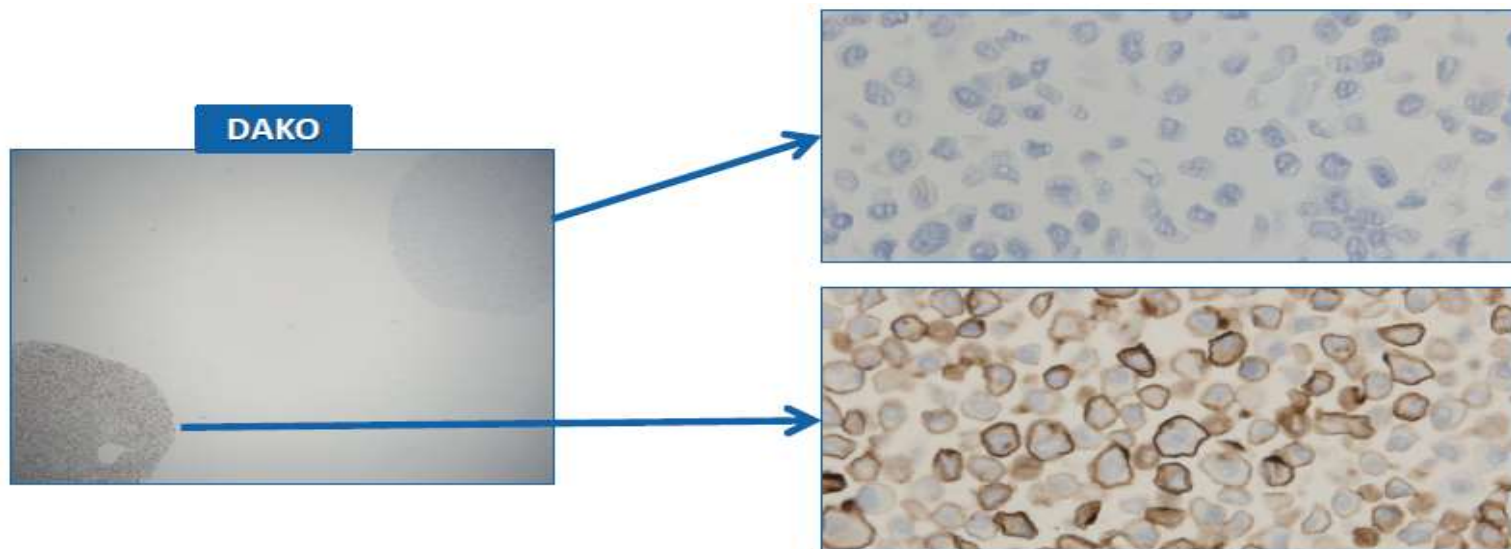


PD-L1 pozitívny (1 – 49 %)



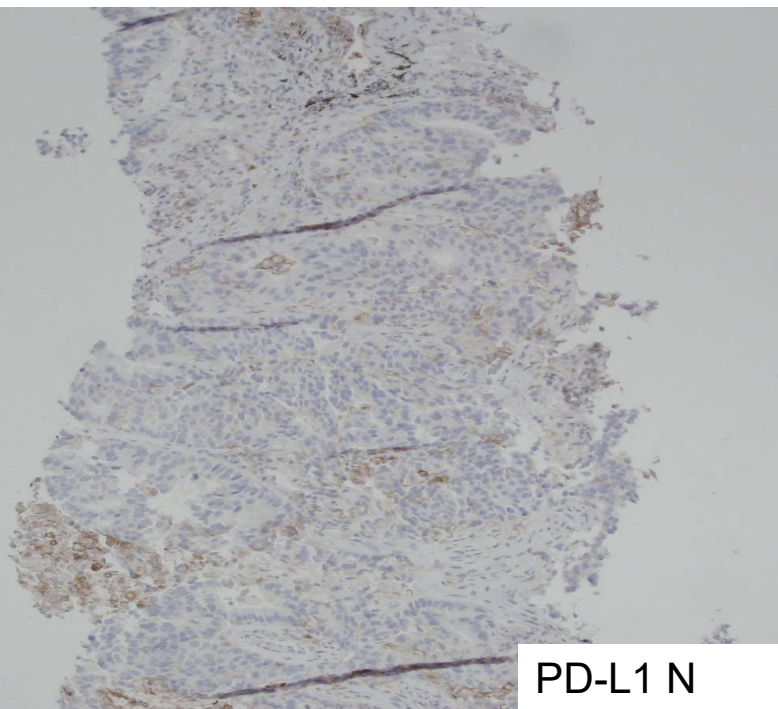
PD-L1 pozitívny (≥ 50 %)

Vnútroňá kontrola na skle klon 22C3 (Dako/Agilent)

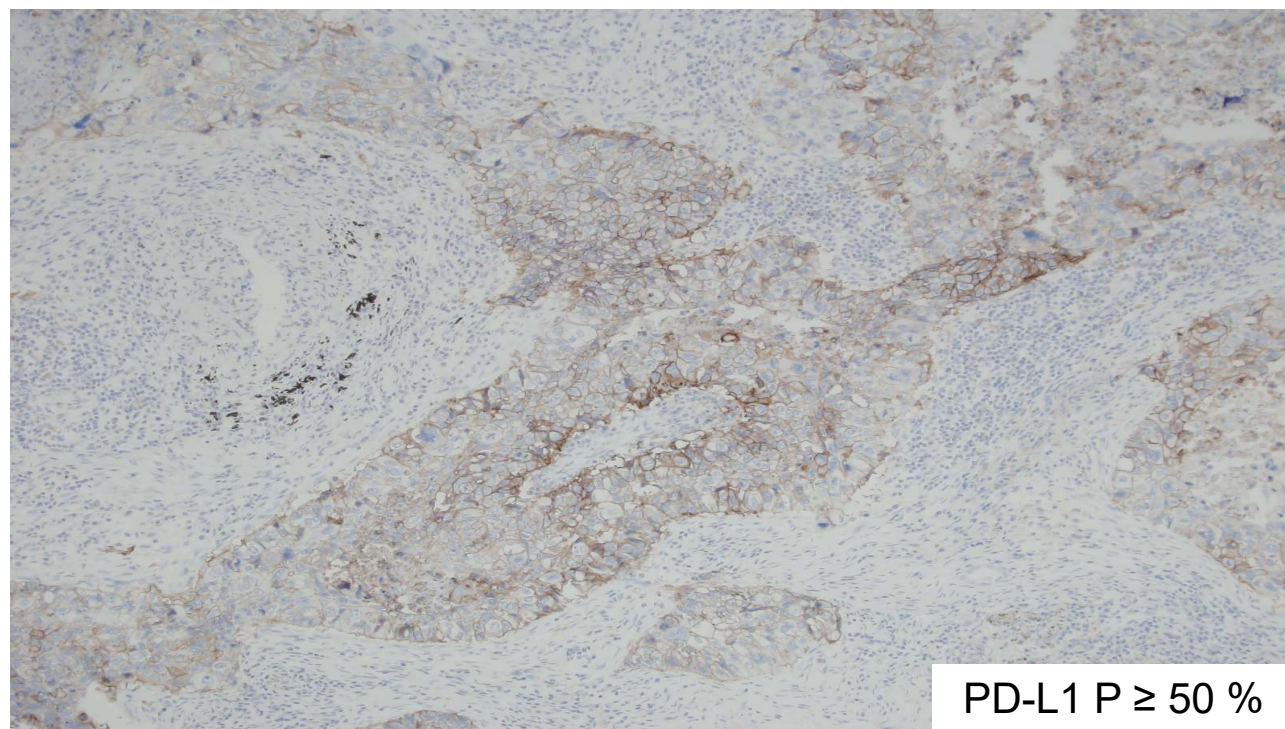


IHC analýza expresie PD-L1 proteínu

Malá biopsia negat. vz. veľká biopsia pozit.



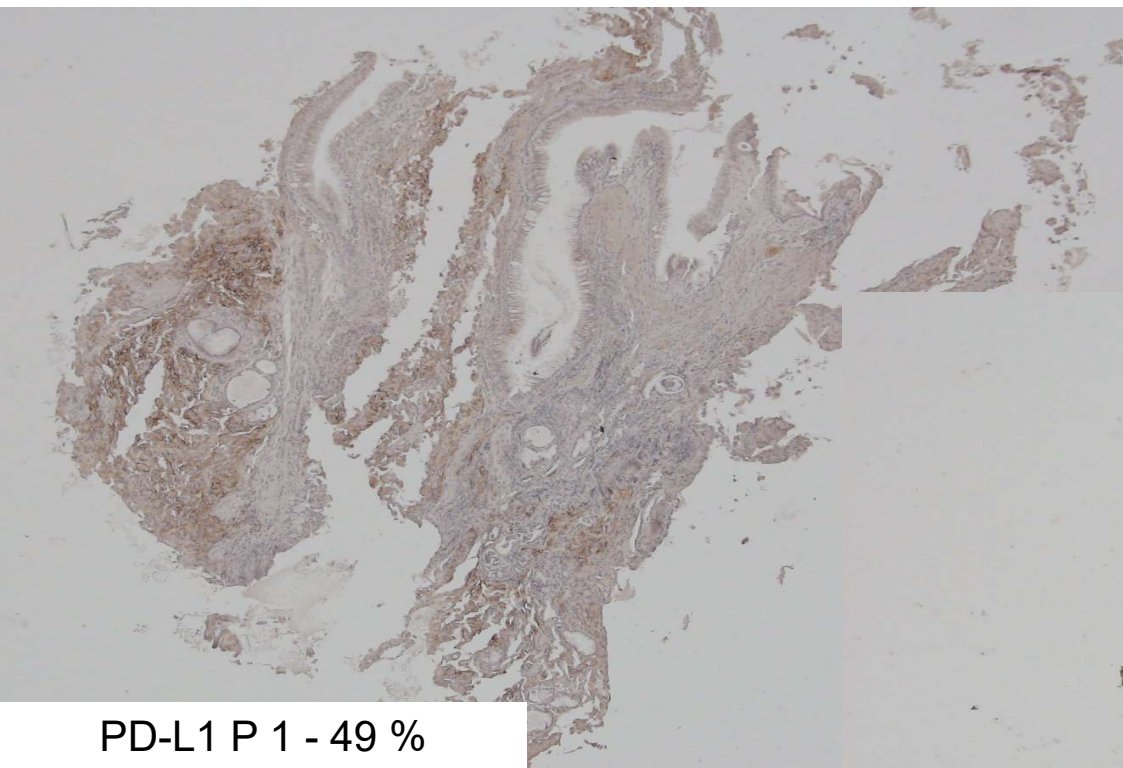
PD-L1 N



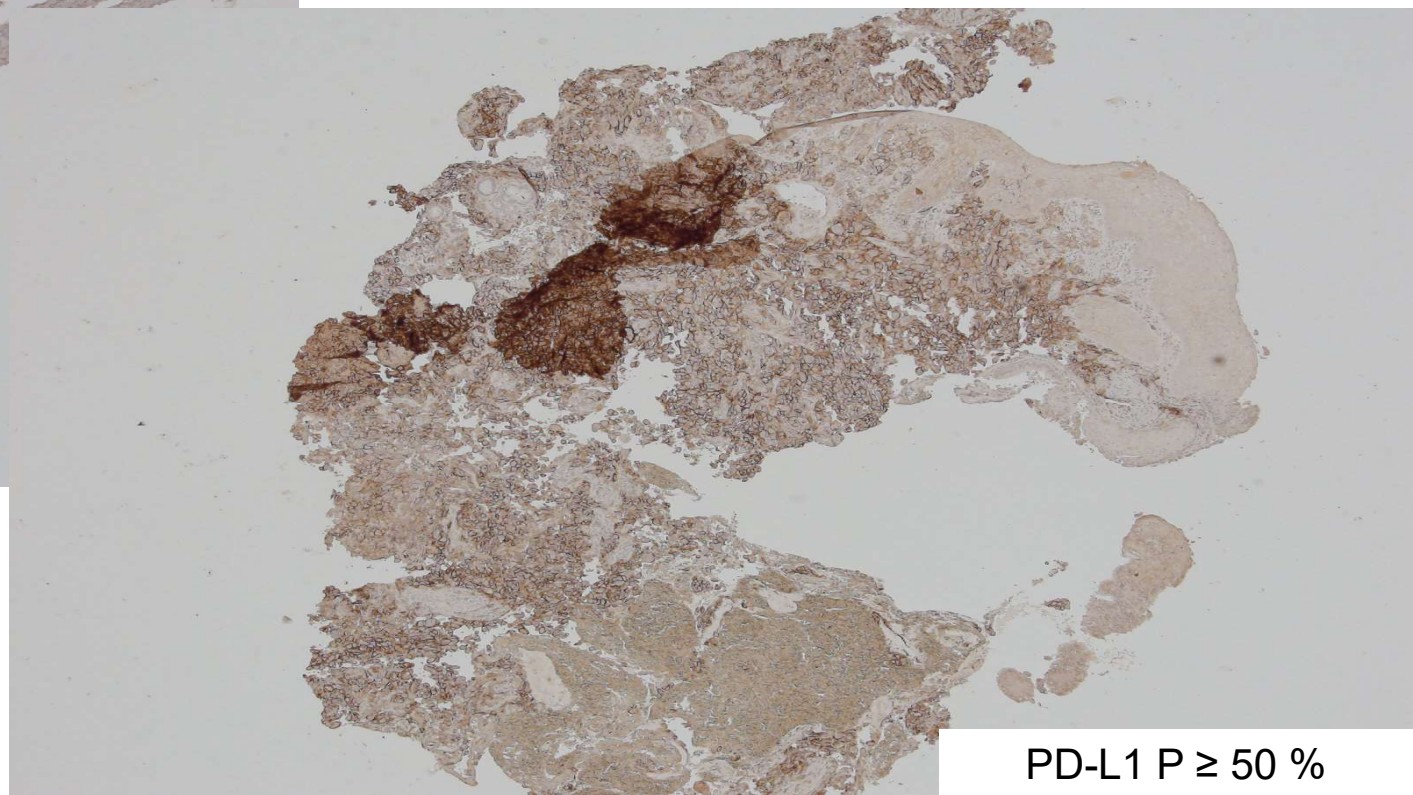
PD-L1 P \geq 50 %

IHC analýza expresie PD-L1 proteínu

2 malé biopsie s rozdielnou expresiou PD-L1



PD-L1 P 1 - 49 %



PD-L1 P \geq 50 %

Nemalobunkový karcinóm pľúc (NSCLC) Súčasné možnosti testovania expresie PD-L1 v biopťicky vyšetřovanom tkanive NSCLC

| Lukáš Plank

Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského
a Univerzitnej nemocnice v Martine

Súhrn:

Prezentovaná práca predstavuje stručnú sumarizáciu možnosti a limitov vyšetřenia imunohistochemickej expresie proteínov PD-1/PD-L1 v biopťicky vyšetřovanom tkanive NSCLC ako potenciálneho biomarkera terapeutickje odpovede cielenej anti-PD-1/anti-PD-L1 liečby pacientov s týmto karcinómom. Diskutuje aj o význame aplikácie jednotlivých diagnostických esejí, o potrebe dodržiavania validovaných technologických postupov pre tieto vyšetřenia a stručne uvádza aj potenciál rozvoja nových komplexnejších diagnostických aj molekulo-geenetických analýz, ktoré predstavujú moderné biomarkery očakávané v klinickej praxi v blízkej budúcnosti.

Kľúčové slová: NSCLC, PD-L1 a PD-1, 1 inhibitory strážnych bodov imunity, celená inhibičná liečba

Summary:

The presented paper represents a concise review focused on possibilities and limitations of the immunohistochemical analyses of PD-1/PD-L1 protein expression in the biopťically examined specimens, which represent a potential biomarker of a therapeutical response of the anti-PD-1/anti-PD-L1 targeted inhibitory treatment of NSCLC patients. The review briefly covers also questions related to the importance of different companion and complementary diagnostic assays, to the principles of already validated and certified methods and technologies, as well as comments on the recent developments of more complex diagnostic analyses including the molecular-genetical ones representing new promising biomarkers for the next clinical practice.

Key words: NSCLC, PD-1 and PD-L1, immune checkpoint inhibitors, targeted inhibitory therapy

Úvod

Identifikácia stromálnej zápalovej reakcie, ktorá je lokálnym prejavom protinádorovej imunity postihnutého pacienta – „hostiteľa“ nádoru –, je tradičnou súčasťou analýzy biopťicky vyšetřovaného tkaniva mnohých zhubných nádorových ochorení. Doteraz však okrem prípadného diagnostického (napr. tzv. lymfoepitelový karcinóm), prognostického (napr. prognostická stratifikácia pacientov s malígnym melanómom) či štádiovacieho významu tejto identifikácie (najnovšie vývoj tzv. imunitného (I-) TNM skóre1) bola výpovedná hodnota analýzy mikroprostredia nádoru a protizápalovej reakcie relatívne limitovaná. V posledných rokoch však došlo k prudkému nárastu informácií o význame hlbšieho poznania mikroprostredia nádoru, o význame v tkanive nádoru bližšie identifikovateľnej protinádorovej zápalovej reakcie, o schopnostiach nádorových buniek adaptovať sa na túto reakciu, a znefunkčniť tak protinádorovú obranu hostiteľa, ako aj o možnosti odblokovania tejto adaptácie tzv. cielelou imunoterapiou nádorov vrátane pacientov s NSCLC. V recentnej aj domácej odbornej literatúre sú k dispozícii prehľadné články, ktoré túto problematiku detailne vysvetľujú z teoretického pohľadu aj z hľadiska jej potenciálneho využitia pre klinickú prax.2

V snahe prispieť k vysvetleniu niektorých otázok o možnej predikcii terapeutickje odpovede pacientov s NSCLC na cielelou inhibičnú anti-PD-1/PD-L1 liečbu sme sa v tu predloženom texte pokúsili vysvetliť možnosti, limity a nástrahy testovania jedného z tzv. strážnych bodov imunitnej (protinádorovej) odpovede – stavu PD-L1 v tkanivových vzorkách biopťicky vyšetřovaného NSCLC – a upozorniť na zložitosti uvedeného vyšetřenia a interpretácie získaných výsledkov, a to podľa jednotlivých nasledujúcich okruhov problémov.

Nemalobunkový karcinóm pľúc (NSCLC) Súčasné možnosti testovania expresie PD-L1 v biopícky vyšetřovanom tkanive NSCLC

Lukáš Plank

Ústav patologickéj anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského
a Univerzitnej nemocnice v Martine

Súhrn:

Prezentovaná práca predstavuje stručnú sumarizáciu možnosti a limitov vyšetřenia imunohistochemickej expresie proteínov PD-1/PD-L1 v biopícky vyšetřovanom tkanive NSCLC ako potenciálneho biomarkera terapeutickéj odpovede cieľenej anti-PD-1/anti-PD-L1 liečby pacientov s týmto karcinómom. Diskutuje aj o význame aplikácie jednotlivých diagnostických esejí, o potrebe dodržiavania validovaných technologických postupov pre tieto vyšetřenia a stručne uvádza aj potenciál rozvoja nových komplexnejších diagnostických aj molekulo-geenetických analýz, ktoré predstavujú moderné biomarkery očakávané v klinickej praxi v blízkej budúcnosti.

Kľúčové slová: NSCLC, PD-1 a PD-L1, inhibitory strážnych bodov imunity, cieľená inhibičná liečba

Summary:

The presented paper represents a concise review focused on possibilities and limitations of the immunohistochemical analyses of PD-1/PD-L1 protein expression in the biopically examined specimens, which represent a potential biomarker of a therapeutic response of the anti-PD-1/anti-PD-L1 targeted inhibitory treatment of NSCLC patients. The review briefly covers also questions related to the importance of different companion and complementary diagnostic assays, to the principles of already validated and certified methods and technologies, as well as comments on the recent developments of more complex diagnostic analyses including the molecular-genetical ones representing new promising biomarkers for the next clinical practice.

Key words: NSCLC, PD-1 and PD-L1, immune checkpoint inhibitors, targeted inhibitory therapy

Úvod

Identifikácia stromálnej zápalovej reakcie, ktorá je lokálnym prejavom protinádorovej imunity postihnutého pacienta – „hostiteľa“ nádoru –, je tradičnou súčasťou analýzy biopícky vyšetřovaného tkaniva mnohých zhubných nádorových ochorení. Doteraz však okrem prípadného diagnostického (napr. tzv. lymfocytového karcinómu), prognostického (napr. prognostická stratifikácia pacientov s maligným melanómom) či štádiovacieho významu tejto identifikácie (najnovšie vývoj tzv. imunného (+/-) TNM skóre) bola výpovedná hodnota analýzy mikroprostredia nádoru a protizápalovej reakcie relatívne limitovaná. V posledných rokoch však došlo k prudkému nárastu informácií o význame hlbšieho poznania mikroprostredia nádoru, o význame v tkanive nádoru bližšie identifikovateľnej protinádorovej zápalovej reakcie, o schopnostiach nádorových buniek adaptovať sa na túto reakciu, a znefunkčniť tak protinádorovú obranu hostiteľa, ako aj o možnosti odblokovania tejto adaptácie tzv. cieľenou imunoterapiou nádorov vrátane pacientov s NSCLC. V recentnej aj domácej odbornej literatúre sú k dispozícii prehľadné články, ktoré túto problematiku detailne vysvetľujú z teoretického pohľadu aj z hľadiska jej potenciálneho využitia pre klinickú prax.²

V snahe prispieť k vysvetleniu niektorých otázok o možnej predikcii terapeutickéj odpovede pacientov s NSCLC na cieľenú inhibičnú anti-PD-1/PD-L1 liečbu sme sa v tu predloženom texte pokúsili vysvetliť možnosti, limity a nástrahy testovania jedného z tzv. strážnych bodov imunitnej (protinádorovej) odpovede – stavu PD-L1 v tkanivových vzorkách biopícky vyšetřovaného NSCLC – a upozorniť na zložitosti uvedeného vyšetřenia a interpretácie získaných výsledkov, a to podľa jednotlivých nasledujúcich okruhov problémov.

Klinicko-patologická analýza dôkazu ligandy proteínu 1 programovanej smrti v nádorových bunkách 325 pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc: Prediktívny a potenciálny prognostický význam

Anna Farkašová¹, Vladimír Tancoš², Zuzana Kviatková¹, Zdenko Hutka^{1,2}, Jozef Mičák², Karla Scheerová¹, Peter Szépe^{1,2}, Lukáš Plank^{1,2}

¹ Martinské biopické centrum, s.r.o. v Martine

² Ústav patologickéj anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice v Martine

SÚHRN

Úvod: Vzhľadom k liečbe inhibítorami imunitných strážnych bodov, ktorá zlepšuje prognózu pacientov s pokročilým nemalobunkovým karcinómom pľúc začína stúpať význam imunohistochemickej analýzy na dôkaz proteínového receptora programovanej smrti a jeho liganda, tzv. PD-L1 proteínu.

Materiál a metódy: V našej práci prezentujeme výsledky analýzy imunohistochemickej expresie proteínu PD-L1 s použitím klónu 22C3 (na imunostaineri DAKO Link 48) na nádorových bunkách biopsii 325 pacientov s pľúcny karcinómom. Hodnotenie expresie pomocou tzv. TPS skóre umožnilo rozdeliť súbor na negatívne prípady (žiadna pozitívita alebo menej ako 1 % pozitívnych buniek nádoru) verus pozitívne, a to v kategóriách 1-9 %, 10-49 % a ≥ 50 % nádorových buniek.

Výsledky: Pri porovnaní klinicko-patologických charakteristík podľa stupňa expresie sme zistili porovnateľnú pozitívnu expresiu u pacientov s adenokarcinómom (47,4 % prípadov) a so skvamocelulárnym karcinómom (44,4 %), pričom expresia sa nelíšila v závislosti od veľkosti vzorky pri delení na tzv. malé verus veľké biopsie. U pacientov s adenokarcinómom sme pozorovali rozdiely expresie PD-L1 proteínu v podskupinách podľa predominantného histopatologického typu. V prípadoch s prevažou lepidického rastu sa pozitívna expresia vyskytla v 18,8 % prípadov, pri prevahe acinárneho a papilárneho rastu v 40,8 % a pri prevahe mikropapilárneho a solídneho rastu až v 74,1 % prípadov. Rohovatejúce skvamocelulárne karcinómy boli pozitívne v 38,5 % a nerohovatejúce v 53,8 % prípadov. Najčastejšia pozitívna vysokého stupňa bola pozorovaná v podskupine pacientov so sarkomatoidným karcinómom.

Diskusia a záver: Imunohistochemicky verifikovaná expresia PD-L1 proteínu sa stala akceptovaným prediktívnym biomarkerom pre imunoterapiu pacientov s NSCLC. Naznačené rozdiely expresie podľa jednotlivých podtypov NSCLC vyžadujú verifikáciu vo väčších súboroch v korelácií s klinickými parametrami ochorenia v zmysle overenia jej použiteľnosti aj ako potenciálneho negatívneho prognostického faktora.

Kľúčové slova: liganda proteínu 1 programovanej smrti – nemalobunkový karcinóm pľúc – imunoterapia – prognostický ukazovateľ

Clinicopathological analysis of programmed death-ligand 1 testing in tumor cells of 325 patients with non-small cell lung cancer: Its predictive and potential prognostic value

SUMMARY

Introduction: Recent studies on check-point inhibitor therapy, which seems to improve the prognosis of patients with advanced non-small cell lung carcinoma increase the importance of immunohistochemical analyses of the programmed-death receptor and of its ligand, PD-L1 protein.

Material and methods: In our study we present results of PD-L1 immunohistochemical tumor cell expression in a series of 325 lung carcinoma patients biopsies, using the clone 22C3 (and DAKO Link 48 immunostainer). Evaluation of the expression using tissue proportion scoring system allowed to distinguish negative cases (either 0 % or < 1 % of positive tumor cells) versus positive cases in the categories 1-9 %, 10-49 % and ≥ 50 % of positive tumor cells.

Results: In association to histopathologic parameters we observed similar rates of positive expression in patients with adenocarcinoma types (47,8 % of all the cases) as well as with squamous cell carcinomas (44,4 %). Within these histological categories, the rates of positivity were similar also in patients with small versus large (resectional) biopsies. In the biopsies of patients with adenocarcinoma we identified differences in the PD-L1 protein expression associated with its histological subtype. In the cases with predominant lepidic pattern the PD-L1 positivity was present in 18,8 %, with predominant acinar or papillary pattern in 40,8 % and in cases with predominant solid or micropapillary component in 74,1 % of the cases resp. Keratinizing squamous cell carcinomas were positive in 38,5 % and non-keratinizing in 53,8 % of all the cases. The highest incidence of an extensive positivity was observed in sarcomatoid carcinoma type.

Discussion and conclusion: Immunohistochemically verified PD-L1 protein expression represents a broadly accepted predictive biomarker for immunotherapy of NSCLC patients. The indicated differences of the expression among various NSCLC types and subtypes require to be verified in larger cohorts of patients in relation with clinical parameters to demonstrate whether it could be plausible to use the PD-L1 expression in a role of a negative prognostic parameter.

Keywords: programmed death-ligand 1 – non-small cell lung cancer – immunotherapy – prognostic marker

Cesk Patol 2018; 54(3): xx-xx

Nemalobun- ká rakovina Súčasné vyšetrenie v biopťickom

Lukáš Plank

Ústav patologického
anatomického
a Univerzitnej nemocnice

Súhrn:

Prezentovaná práca predstavuje možnosti a limitov vyšetrenia proteínov PD-1/PD-L1 v NSCLC ako potenciálnych cieľov. Vede cieľenej anti-PD-1 karcinómom. Diskutuje sa o diagnostických esejách, technologických postupech, uvádza aj potenciál diagnostických aj molekuly stavujú moderné bio v blízkej budúcnosti.

Kľúčové slová: NSCLC, bodov imunity, cieľové

Summary:

The presented paper discusses possibilities and limitations of analyses of PD-1/PD-L1 in examined specimens, as well as the role of a therapeutic targeted inhibitory treatment. The view briefly covers all aspects of different competitive assays, the principles, methods and technological developments of the most promising biomarker.

Key words: NSCLC, PD-1 inhibitors, targeted im-

Imunohistochemická expresia PD-L1 v biopťicky vyšetřovanom tkanive: ako a prečo vyšetřovať?

Prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.^{1,2}

¹Martinské biopťické centrum, s. r. o., v Martine

²Ústav patologickej anatomie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice v Martine

V práci sa uvádza z pohľadu patológa dôležitý prehľad údajov o vyšetřovaní a hodnotení imunohistochemickej expresie proteínu PD-L1, ktorá sa v súčasnosti používa ako prediktívne významný biomarker na indikovanie anti-PD-1/anti-PD-L1 imuniterapie pacientov s rôznymi zhubnými nádorovými ochoreniami. Komentuje sa prehľad certifikovaných diagnostických imunohistochemických esejí a pre ich vyšetřenie požadovaných platforiem imunostainera, ako aj otázky možnej aplikácie iných tzv. laboratorne vyvinutých testov. Vysvetľuje sa hodnotenie expresie na nádorových verzus imunitných bunkách, hodnotenie pomocou tkanivového proporčného skóre, ako aj novými skórovacími systémami vyvinutými pre testy s esejou obsahujúcou protilátku 22C3 – tzv. kombinované pozitívne skóre a melanómové skóre. Súčasne autor v súlade s medzinárodnými akceptovanými odporúčaniami upozorňuje na potrebu dodržania certifikovaného a validovaného postupu testovania v klinickej praxi a potrebu správnej interpretácie jeho výsledkov pre onkológa podľa príslušnej prahovej hodnoty.

Kľúčové slová: receptor PD-1, PD-L1 liganda, imunohistochemická expresia, prediktívne testovanie, tkanivové proporčné skóre, kombinované pozitívne skóre, melanómové skóre

Immunohistochemical expression of PD-L1 in biopsy specimen: how and why to examine?

The article describes, from the pathologist's point of view, a summary of the data on examination and evaluation of the immunohistochemical expression of PD-L1 protein, which recently became to be used as an accepted predictive biomarker for the anti-PD-1/anti-PD-L1 immunotherapy of patients with different malignancies. Further follows an overview of the CE-IVD diagnostic immunohistochemical assays and the immunostainers required for the tests, as well as comment on limits of the application of other laboratory developed assays. The author explains the significance of the PD-L1 expression on tumor versus immune cells, the evaluation of the expression using tissue proportion score, as well as new scoring systems developed recently for assays with 22C3 – the combined positive and melanoma score. Finally, the article in agreement with the internationally accepted regulations comments the appropriateness of the certified methods of the PD-L1 testing for the real clinical practice and the correct interpretation of the results for the oncologist respecting the individual cut-off positivity values.

Key words: PD-1 receptor, PD-L1 ligand, immunohistochemical expression, predictive tests, tissue proportion score, combined positive score, melanoma score

Onkológia (Bratisl.), 2018;13(6):400-406

PD-1 ligandy nádorových novým karcinómom biopťický význam

Prof. MUDr. Lukáš Plank,
MUDr. Karla Scheerová¹,

Univerzitnej nemocnice v Martine

očným nemalobunčovým karcinómom pľúc začína
liganda, tzv. PD-L1 proteínu.

PD-L1 s použitím klónu 22C3 (na imunostaineri
pomocou tzv. TPS skóre umožnilo rozdeliť súbor na
v kategóriách 1-9 %, 10-49 % a ≥ 50 % nádorových

ú pozitívnu expresiu u pacientov s adenokarcinó-
mi od veľkosti vzorky pri delení na tzv. malé verzus
nách podľa predominantného histopatologického
the acinárneho a papilárneho rastu v 40,8 % a pri
y boli pozitívne v 38,5 % a nerohovatejúce v 53,8 %
ným karcinómom.

tvým biomarkerom pre imuniterapiu pacientov
šboroch v korelácií s klinickými parametrami och-

rognostický ukazovateľ

PD-1 ligandy in tumor cells potential prognostic value

ents with advanced non-small cell lung carcinoma
and, PD-L1 protein.

in a series of 325 lung carcinoma patients biopsies,
on scoring system allowed to distinguish negative
≥ 50 % of positive tumor cells.

ients with adenocarcinoma types (47,8 % of all the
positivity were similar also in patients with small
s in the PD-L1 protein expression associated with
1,8 %, with predominant acinar or papillary pattern
tizing squamous cell carcinomas were positive in
served in sarcomatoid carcinoma type.

cepted predictive biomarker for immunotherapy
quire to be verified in larger cohorts of patients in
n a role of a negative prognostic parameter.

Cesk Patol 2018; 54(3): xx-xx

Anti-PD-1/PD-L1 imunoterapia z pohľadu patológa – bioptika: tkanivové proporčné a celkové kombinované skóre, ďalšie prediktívne faktory, biomarkery a imunogramy

Lukáš Plank^{1,2}

¹Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice v Martine

²Martinské bioptické centrum, s.r.o.

Súhrn

Prehľadný článok, v ktorom sa uvádza stručná sumarizácia súčasných poznatkov o prediktívnych faktoroch – biomarkeroch imunoterapie onkologických ochorení, zameranej na inhibíciu strážneho bodu imunity programovanej smrti PD-1 a jeho ligandu, proteínu PD-L1. Medzi najdôležitejšie biomarkery patrí: a) imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 na nádorových, respektive imunitných bunkách hodnotená patológom – bioptikom buď tkanivovým proporčným, alebo kombinovaným celkovým skóre, b) imunogenita nádoru určená analýzou jeho genetického profilu vrátane určenia tzv. mutačnej nálože, c) parametre zápalového mikroprostredia nádoru zohľadňujúce humorálne a bunkové faktory vrátane nádoru infiltrujúcich CD8+ T-lymfocytov a d) niektoré iné faktory, ako sú vek, pohlavie, mikrobióm a podobne. Samostatne sa uvádza tvorba nádorových imunogramov, v ktorých sa komplexne a pritom synchronne zhodnocujú výsledky analýz viacerých relevantných biomarkerov. Výsledkom je grafické znázornenie preferovanej modality imunoterapie nádorového ochorenia.

Vyhlasenie:

Autor práce vyhlasuje, že v súvislosti s témou práce, vznikom a publikáciou tohto článku nie je v konflikte záujmov a vznik ani publikácia článku neboli podporené žiadnou farmaceutickou či diagnostickou firmou.

Úvod

Imunoterapia onkologických ochorení s použitím inhibítorov strážnych bodov imunity je liečebná modalita, ktorá využíva schopnosť rôznych súčastí prirodzenej imunitnej odpovede reagovať na cudzosť – prítomnosť cudzorodých antigénov ako výsledku bunkových a genetických alterácií „rakoviny“. (1) Prediktívne faktory tejto liečby ako súčasť precíznej medicíny zahŕňajú identifikáciu vybraných parametrov ochorenia, tzv. biomarkerov, ktoré by mali predpovedať benefit individuálneho pacienta z imunoterapie. Táto problematika je v neustálom vývoji, je komplikovaná a pre nezainteresovaného neprehľadná. Nie všetky faktory sú „univerzálne“ platné, odpoveď na imunoterapiu je individuálne rozdielna, pokiaľ ide o pacientov aj o rôzne typy nádorov, pričom dlhodobé dobré výsledky sa dosahujú len v istých podskupinách pacientov. (2) Pokúsili sme sa (pri nevyhnutnom zjednodušení tejto komplexnej problematiky) zhromaždiť stručný prehľad prediktívneho potenciálu biomarkerov anti-PD-1/PD-L1 (ale nie iných druhov imunoterapie a sústrediť pozornosť na niekoľko nasledujúcich oblastí.

1. Stav imunitných strážnych bodov programovanej smrti PD-1 a jeho ligandu, PD-L1 proteínu.

PD-L1 (CD274) proteín môže byť exprimovaný v rôznych solidných aj hematologických nádoroch a jeho prítomnosť vyjadruje schopnosť nádoru uniknúť z imúnne regulova-

v biopticky šetrovať?

Univerzitnej nemocnice v Martine

munohistochemickej expresie proteínu PD-L1, 'D-1/anti-PD-L1 imunoterapie pacientov s rôznymi tkanivovými proporčnými a celkovými kombinovanými skóre, ako aj novými faktormi, ktoré ovplyvňujú výsledky imunoterapie. Cieľom je vyhodnotiť vhodnosť použitia týchto testov v klinickej praxi a porovnať ich s výsledkami imunohistochemických esejí a pre ich použitie v laboratórnych testoch. Vysvetľuje význam tkanivového proporčného skóre, ako aj novými faktormi, ktoré ovplyvňujú výsledky imunoterapie. Cieľom je vyhodnotiť vhodnosť použitia týchto testov v klinickej praxi a porovnať ich s výsledkami imunohistochemických esejí a pre ich použitie v laboratórnych testoch.

Ustanovenie prahových hodnôt pre jednotlivé parametre, tkanivové proporčné skóre, kombinované

Why to examine?

Importance of immunohistochemical evaluation of the immunohistochemical biomarker for the anti-PD-1/anti-PD-L1 CE-IVD diagnostic immunohistochemical assays compared to other laboratory developed assays. The importance of the expression using tissue proportion score, combined positive score, and the appropriateness of the certified methods for the oncologist respecting the individual

issue proportion score, combined positive score,

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Karla Scheerová¹,

Univerzitnej nemocnice v Martine

Cieľom je vyhodnotiť vhodnosť použitia týchto testov v klinickej praxi a porovnať ich s výsledkami imunohistochemických esejí a pre ich použitie v laboratórnych testoch.

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

Imunohistochemická expresia proteínu PD-L1 a jeho ligandy v nádorových tkanivách: význam karcinómu a jeho prognostický význam

ISV
123456789101112131415161718192021222324252627282930313233343536373839404142434445464748495051525354555657585960616263646566676869707172737475767778798081828384858687888990919293949596979899100

Klí
bo

Su
Th
po
an
exi
tar
vie
ce
ast
me
cel
inc
pr

Kej
inh

Anti-PD-1/PD-1 z pohľadu pat tkanivové pro kombinované faktory, biom

Lukáš Plank^{1,2}
¹Ústav patologickej anatómie Jes
a Univerzitnej nemocnice v Marti
²Martinské biopoptické centrum, s.r.

Súhrn
Prehľadný článok, v ktorom sa uvádza stru
súčasných poznatkov o prediktívnych faktor
roch imunoterapie onkologických ochorení,
hibicito strážneho bodu imunity programov
a jeho ligandu, proteínu PD-L1. Medzi najdôle
kery patrí: a) imunohistochemická expresia
na nádorových, respektíve imunitných buní
patológom – biopoptikom buď tkanivovým pr
kombinovaným celkovým skóre, b) imunogen
čená analýza jeho genetického profilu vrát
mutačnej nálože, c) parametre zápalového
nádoru zohľadňujúce humorálne a bunkové
nádor infiltrujúcich CD8+ T-lymfocytov a d)
tory, ako sú vek, pohlavie, mikrobióm a pod
ne sa uvádza tvorba nádorových imunogri
sa komplexne a pritom synchronne zhodi
analýz viacerých relevantných biomarkero
grafické znázornenie preferovanej modalit
nádorového ochorenia.

Vyhlasenie:
Autor práce vyhlasuje, že v súvislosti s tým
kom a publikáciou tohto článku nie je v ko
a vznik ani publikácia článku neboli podpo
maceutickou či diagnostickou firmou.

Immuno-oncotherapy
ročník 1 | číslo

Expresia ligandu receptora programovanej bunkovej smrti 1 v biopsii nemalobunkového karcinómu pľúc a jej asociácia s tumor infiltrujúcimi lymfocytmi a stupňom dezmozplázie

Programmed Death-Ligand 1 Expression in Non-Small Cell Lung
Carcinoma Biopsies and Its Association with Tumor Infiltrating
Lymphocytes and the Degree of Desmoplasia

Tancoš V.¹, Grendár M.², Farkašová A.³, Hutka Z.¹, Kviatková Z.¹, Plank L.^{1,3}

¹ Ústav patologickej anatómie JLF UK a UN Martin, Slovenská republika
² Ústav bioinformatiky, Martinské centrum pre biomedicínu, JLF v Martine, UK v Bratislave, Slovenská republika
³ Martinské biopoptické centrum, s.r.o., Martin, Slovenská republika

Súhrn
Východiská: Imunoterapia blokujúca signálnu dráhu PD-1/PD-L1 sa za posledné roky stala do
minantnou liečebnou modalitou pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc (non-small
cell lung carcinoma – NSCLC). Imunohistochemicky dokaz expresie ligandu receptora pro
gramovanej bunkovej smrti-1 (programmed death-ligand 1 – PD-L1) na membráne nádorových
buniek a/alebo tumor infiltrujúcich lymfocytov (TIL) je stále jediným klinicky validovaným
prediktívnym biomarkerom pre indikáciu imunoterapie, ale má svoje limity. Prítomnosť TIL
v nádorovom mikroprostredí bola recentne identifikovaná ako komplementárny prediktívny
faktor terapie. V tejto retrospektívnej štúdií sme v súbore 134 chirurgických resekcií
NSCLC analyzovali asociáciu medzi expresiou PD-L1, prítomnosťou TIL a stupňom dez
mozplázie nádoru. **Materiál a metódy:** Expresia PD-L1 na membráne nádorových buniek a v TIL
bola dokazovaná imunohistochemicky anti-PD-L1 protilátkou (klón 22C3) a prítomnosť TIL
použitím protilátky anti-CD3 (polyklón). Expresia PD-L1 bola hodnotená systémom „nádoro
vého proporčného skóre“ (tumour proportion score – TPS), pričom boli vymedzené kategó
rie TPS < 1 %, TPS 1–49 % a TPS ≥ 50 %. Semikvantitatívne hodnotenie prítomnosti TIL bolo
vykonané metódou „percenta stromálnych TIL“ (PST) a rozlišované boli kategórie PST < 10 %,
PST 10–49 % a PST ≥ 50 %. Analyzovaná bola asociácia medzi hodnotou expresie PD-L1 v ná
dorových bunkách a TIL ku hodnote PST. Štatistická analýza bola vykonaná Cochranovým-
Armitageovým testom, pričom hodnota p < 0,05 bola pokladaná za významnú. **Výsledky:**
Expresia PD-L1 v nádorových bunkách bola významne vyššia v kategóriách PST 10–49 %
a PST ≥ 50 % v porovnaní s kategóriou PST < 10 % v grade 1 a grade 2 adenokarcinómoch
(p = 0,008), v grade 3 adenokarcinómoch (p = 0,009) aj v skvamocelulárnych karcinómoch
(p = 0,028). Expresia PD-L1 v TIL bola asociovaná s hodnotou PST v skvamocelulárnych karcinómoch
(p = 0,025), ale nie v prípade adenokarcinómov. Nádory s vysokým stupňom dezmozplá
zie vykazovali obzvlášť nízku hodnotu TPS aj PST. **Záver:** Expresia PD-L1 v NSCLC je asociovaná
s prítomnosťou TIL. Dezmozplastické oblasti nádoru predstavujú imunologicky neaktívne nádo
rové mikroprostredie. Podávanie anti-PD-1/P-L1 imunoterapie s látkami blokujúcimi signálnu
dráhu TGF-β predstavuje perspektívnu kombinovanú terapiu pre pacientov s NSCLC s dezmoz
pláziou.

Kľúčové slová
ligand receptora programovanej bunkovej smrti-1 – nemalobunkový karcinóm pľúc – tumor
infiltrujúce lymfocyty – prediktívny faktor

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem
studie nemají žádné komerční zájmy.
The authors declare they have no potential
conflicts of interest concerning drugs, products,
or services used in the study.
Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce
splňuje ICME kritéria pro publikace zaslané do
biomedicínských časopisů.
The Editorial Board declares that the manuscript
meets the ICME recommendation for biomedical
papers.
prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.
Ústav patologickej anatómie
JLF UK a UN Martin
Kollárova 2
036 01 Martin, Slovenská republika
e-mail: lukas.plank@uniba.sk
Obdržané/Submitted: 25. 11. 2019
Prijaté/Accepted: 8. 12. 2019

doi: 10.14735/amko20205

v Martine

nie proteínu PD-L1,
nie pacientov s rôz
ných esejí a pre ich
testov. Vysvetľuje
skóre, ako aj novými
melanómové skóre.
ého a validovaného
rahovej hodnoty.

skóre, kombinované

f the immunohisto
nti-PD-1/anti-PD-L1
stochemical assays
eloped assays. The
ession using tissue
id melanoma score.
certified methods
cting the individual

ined positive score,

ligandy ádorových ovým karcinómom tický význam

k², Karla Scheerová¹,

nej nemocnice v Martine

očilým nemalobunkovým karcinómom pľúc začína
liganda, tzv. PD-L1 proteínu.
PD-L1 s použitím klónu 22C3 (na imunostaineri
zomocou tzv. TPS skóre umožnilo rozdeliť súbor na
v kategóriách 1-9 %, 10-49 % a ≥ 50 % nádorových

ú pozitívnu expresiu u pacientov s adenokarcinó
od veľkosti vzorky pri delení na tzv. malé verzus
ných podľa predominantného histopatologického
sbe acinárneho a papilárneho rastu v 40,8 % a pri
y boli pozitívne v 38,5 % a nerohovatejúce v 53,8 %
ným karcinómom.
tívnym biomarkerom pre imunoterapiu pacientov
šboroch v korelácii s klinickými parametrami ocho-

rognostický ukazovateľ

in tumor cells
otential prognostic value

ents with advanced non-small cell lung carcinoma
and, PD-L1 protein.
in a series of 325 lung carcinoma patients biopsies,
on scoring system allowed to distinguish negative
≥ 50 % of positive tumor cells.
ients with adenocarcinoma types (47,8 % of all the
positivity were similar also in patients with small
es in the PD-L1 protein expression associated with
1,8 %, with predominant acinar or papillary pattern
tizing squamous cell carcinomas were positive in
served in sarcomatoid carcinoma type.
cepted predictive biomarker for immunotherapy
quire to be verified in larger cohorts of patients in
n a role of a negative prognostic parameter.

Cesk Patol 2018; 54(3): xx–xx

MS

Anti-PD-1/PD-L1 z pohľadu pat

Expresia ligandu receptora programovanej bunkovej smrti 1 v biopsii nemalobunkového

Pathology (August 2020) 52(5), pp. 538–545

ANATOMICAL PATHOLOGY

Programmed death ligand 1 protein expression, histological tumour differentiation and intratumoural heterogeneity in pulmonary adenocarcinoma

VLADIMÍR TANCOŠ¹, MARIÁN GRENDÁR², ANNA FARKAŠOVÁ³, ZDENKO HUŤKA¹, JOZEF MIČÁK¹, ZUZANA KVIATKOVSKÁ³, TIMOTHY C. HARDMAN⁴, GARETH A. D. HARDY⁴, LUKÁŠ PLANK^{1,3}

Klí

bo

Su

Th

po

an

exi

tar

ce

ast

me

cel

inc

pr

Kej

inh

kery patrí: a) imunohistochemická expresia na nádorových, respektive imunitných buní patológom – bioptikom buď tkanivovým pr kombinovaným celkovým skóre, b) imunogenetická analýza jeho genetického profilu vrát mutáčnej nálože, c) parametre zápalového nádoru zohľadňujúce humorálne a bunkové nádor infiltrujúcich CD8+ T-lymfocytov a d) tory, ako sú vek, pohlavie, mikrobióm a pod ne sa uvádza tvorba nádorových imunogri sa komplexne a pritom synchrónne zhodi analýz viacerých relevantných biomarkero grafické znázornenie preferovanej modalit nádorového ochorenia.

Vyhlasenie:

Autor práce vyhlasuje, že v súvislosti s tým kom a publikáciou tohto článku nie je v ko a vznik ani publikácia článku neboli podpon maceutickou či diagnostickou firmou.

Immuno-oncology 2020, ročník 1, číslo

prediktívnym biomarkerom pre indikáciu imunoterapie, ale má svoje limity. Prítomnosť TIL v nádorovom mikroprostredí bola recentne identifikovaná ako komplementárny prediktívny faktor tejto terapie. V tejto retrospektívnej štúdií sme v súbore 134 chirurgických resektív NSCLC analyzovali asociáciu medzi expresiou PD-L1, prítomnosťou TIL a stupňom dezmoplázie nádoru. **Materiál a metódy:** Expresia PD-L1 na membráne nádorových buniek a v TIL bola dokazovaná imunohistochemicky anti-PD-L1 protilátkou (klon 22C3) a prítomnosť TIL použitím protilátky anti-CD3 (polyklon). Expresia PD-L1 bola hodnotená systémom „nádorového proporčného skóre“ (tumour proportion score – TPS), pričom boli vymedzené kategórie TPS < 1 %, TPS 1–49 % a TPS ≥ 50 %. Semikvantitatívne hodnotenie prítomnosti TIL bolo vykonané metódou „percenta stromálnych TIL“ (PST) a rozlišované boli kategórie PST < 10 %, PST 10–49 % a PST ≥ 50 %. Analyzovaná bola asociácia medzi hodnotou expresie PD-L1 v nádorových bunkách a TIL ku hodnote PST. Štatistická analýza bola vykonaná Cochranovým-Armitageovým testom, pričom hodnota p < 0,05 bola pokladaná za významnú. **Výsledky:** Expresia PD-L1 v nádorových bunkách bola významne vyššia v kategóriách PST 10–49 % a PST ≥ 50 % v porovnaní s kategóriou PST < 10 % v grade 1 a grade 2 adenokarcinómoch (p = 0,008), v grade 3 adenokarcinómoch (p = 0,009) aj v skvamocelulárnych karcinómoch (p = 0,028). Expresia PD-L1 v TIL bola asociovaná s hodnotou PST v skvamocelulárnych karcinómoch (p = 0,025), ale nie v prípade adenokarcinómoch. Nádory s vysokým stupňom dezmoplázie vykazovali obzvlášť nízku hodnotu TPS aj PST. **Záver:** Expresia PD-L1 v NSCLC je asociovaná s prítomnosťou TIL. Dezmoplastické oblasti nádoru predstavujú imunologicky neaktívne nádorové mikroprostredie. Podávanie anti-PD-1/P-L1 imunoterapie s látkami blokujúcimi signálnu dráhu TGF-β predstavuje perspektívnu kombinovanú terapiu pre pacientov s NSCLC s dezmopláciou.

Kľúčové slová

ligand receptora programovanej bunkovej smrti-1 – nemalobunkový karcinóm pľúc – tumor infiltrujúce lymfocyty – prediktívny faktor

Redakčná rada potvrdzuje, že rukopis práce splnil ICME kritéria pre publikáciu zaslané do biomedicínskych časopisov.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICME recommendation for biomedical papers.

prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.
Ústav patologickej anatómie
JLF UK a UN Martin
Kollárova 2
036 01 Martin, Slovenská republika
e-mail: lukas.plank@uniba.sk

Obdržané/Submitted: 25. 11. 2019
Prijaté/Accepted: 8. 12. 2019

doi: 10.14735/amko202005

of the immunohistochemical assays. The assay using tissue is a certified method for melanoma score.

ained positive score,

ligandy nádorových lymfocytového karcinómu: význam

Marcela Scheerová¹,

pracovnice v Martine



Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom. Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom. Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom. Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

in tumor cells potential prognostic value

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom. Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom. Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom. Prítomnosť PD-L1 ligandu v nemalobunkovom karcinóme pľúc začína byť významným prognostickým ukazovateľom.

Cesk Patol 2018; 54(3): xx–xx

KS
S

Anti-PD-1/PD-L1 z pohľadu pat

Expresia ligandu receptora programovanej bunkovej smrti 1 v biopsii nemalobunkového

Pathology (August 2020) 52(5), pp. 538–545

ANATOMICAL PATHOLOGY

Programmed death ligand 1 protein expression, histological tumour differentiation and intratumoural heterogeneity in pulmonary adenocarcinoma

VLADIMÍR Tancoš¹, MARIÁN Grendár², ANNA Farkašová³, ZDENKO Huťka¹, JOZEF Mičák¹, ZUZANA Kviatkovská³, TIMOTHY C. HARDMAN⁴, GARETH A. D. HARDY⁴, LUKÁŠ Plank^{1,3}

Pathology - Research and Practice 216 (2020) 153238

Contents lists available at ScienceDirect

Pathology - Research and Practice

journal homepage: www.elsevier.com/locate/prp



ELSEVIER



Non-small cell lung carcinomas with a minor sarcomatoid component and pleomorphic carcinomas are associated with high expression of programmed death ligand 1

Vladimír Tancoš^a, Anna Farkašová^b, Zuzana Kviatkovská^b, Marián Grendár^c, Alena Líšková^d, Zdenko Huťka^a, Lukáš Plank^{a,b,+}

Immun

Klí
boi

Su
Th
po
an
exi
tar
vie
ce
ast
me
cer
inc
pr

Kej
inh

kery pa
na nád
patológ
kombin
čená an
mutačn
nádoru
nádor it
tory, ako
ne sa u
sa kom
analýz
grafické
nádorov

Vyhlásť
Autor p
kom a j
a vznik
maceut

Li ligandy ádorových vým karcinómom :ký význam

arla Scheerová¹,

mocnice v Martine



i nemalobunkovým karcinómom pľúc začína
da, tzv. PD-L1 proteínu.

.1 s použitím klónu 22C3 (na imunostaineri
ou tzv. TPS skóre umožnilo rozdeliť súbor na
goriách 1-9 %, 10-49 % a ≥ 50 % nádorových

itívnu expresiu u pacientov s adenokarcinó-
relkosti vzorky pri delení na tzv. malé verzus
podľa predominantného histopatologického
inárneho a papilárneho rastu v 40,8 % a pri
pozitívne v 38,5 % a nerohovatejúce v 53,8 %
arcinómom.

itvým biomarkerom pre imunoterapiu pacientov
šboroch v korelácií s klinickými parametrami och-

rognostický ukazovateľ

in tumor cells potential prognostic value

ents with advanced non-small cell lung carcinoma
and, PD-L1 protein.

in a series of 325 lung carcinoma patients biopsies,
on scoring system allowed to distinguish negative
≥ 50 % of positive tumor cells.

ients with adenocarcinoma types (47,8 % of all the
positivity were similar also in patients with small
es in the PD-L1 protein expression associated with
i,8 %, with predominant acinar or papillary pattern
tinzin squamous cell carcinomas were positive in
served in sarcomatoid carcinoma type.

cepted predictive biomarker for immunotherapy
quire to be verified in larger cohorts of patients in
n a role of a negative prognostic parameter.

Cesk Patol 2018; 54(3): xx-xx

Anti-PD-1/PDL1 z pohľadu pa

Pathology (August 2020) 52(5), pp. 538

ANATO

Program
histologi
heteroge

VLADIMÍR T
JOZEF MIČÁ
GARETH A.



Non-small cell
pleomorphic
programmed

Vladimír Tancoš
Zdenko Hučka

Immun

kery pa
na nád
patológ
kombin
čená an
mutačn
národu
národu
it
tory, ak
ne sa u
sa kom
analýz
grafické
nádorov

Vyhľad
Autor p
kom a
a vznik
macest

Klí
bo
Su
Th
po
an
exi
ket
tar
vie
ce
ast
me
cet
inc
pr
Kej
inh

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, Slovakia
²Martin's Biopsy Centre Ltd, Martin, Slovakia

Correspondence to
Professor Lukáš Plank,
Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin 03659, Slovakia; lukas.plank@umb.sk

Received 8 October 2020
Revised 2 January 2021
Accepted 31 January 2021

Check for updates

© Author(s) for their employer(s) 2021. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

To cite: Tancoš V, Farkašová A, Kviatkovská Z, et al. *J Clin Pathol* Epub ahead of print: please include Day Month Year. doi:10.1136/jclinpath-2020-207171

Expression of programmed death-ligand 1 protein in pulmonary squamous cell carcinoma correlates with tumour necrosis but not with tumour differentiation

Vladimír Tancoš¹, Anna Farkašová,² Zuzana Kviatkovská,² Marián Grendár,¹ Alena Lišková,¹ Zdenko Hučka,¹ Lukáš Plank^{1,2}

ABSTRACT

Aims Pulmonary squamous cell carcinoma (SqCC) represents the second most common non-small cell lung carcinoma type. The mechanisms which regulate programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in this form of lung cancer are not fully elucidated yet.

Methods We immunohistochemically determined the level of PD-L1 expression using the Tumour Proportion Score system in surgical resections of 133 patients with pulmonary SqCC. The results from PD-L1 immunohistochemistry were analysed in relation to tumour differentiation and the presence of necrotic areas comprising at least 20% of the tumour mass.

Results No significant differences in terms of PD-L1 expression were found between SqCC subtypes as defined by the current WHO classification: better differentiated, keratinising tumours (12/24, 50.0%) compared with less differentiated, non-keratinising and basaloid forms (62/109, 56.9%) were PD-L1 positive in a comparable proportion of cases (p=0.1903). Contrary to that, SqCCs with the presence of necrosis (51/61, 83.6%) had significantly more PD-L1-positive cases (p<0.001) compared with SqCCs without necrotic areas (23/72, 32.0%).

Conclusions We demonstrated that PD-L1 expression in pulmonary SqCCs does not correlate with the traditionally defined degree of differentiation of these tumours. On the other hand, we found a significant association between the positive result of PD-L1 immunohistochemistry and tumour necrosis. Further investigation regarding the role of hypoxic pathways as presumable inducers of PD-L1 expression in pulmonary SqCCs might contribute to the understanding of this phenomenon.

INTRODUCTION

Pulmonary SqCC represents the second most common type of non-small cell lung carcinoma (NSCLC), accounting for approximately 20%–30% of all primary lung cancer.¹ The currently used WHO classification of lung tumours² distinguishes three SqCC subtypes which differ in terms of differentiation: keratinising, non-keratinising and basaloid. Keratinising SqCCs traditionally represent better differentiated tumours, whereas non-keratinising and basaloid subtypes are deemed to be less differentiated.²

Pulmonary SqCCs lack the relatively frequent presence of driver mutations characteristic of NSCLC of the adenocarcinoma type,³ and new

treatment modalities are still lacking. Over the past several years, immunotherapeutic approaches were implemented for the treatment of patients with advanced pulmonary SqCCs.⁴ Immune checkpoint inhibitors reinvigorate the suppressed antitumourous immunity by blocking the interaction between programmed death ligand 1 (PD-L1) and programmed death protein 1 (PD-1)⁵ and have shown superiority compared with conventional chemotherapeutic approaches.^{6,7} Expression of the PD-L1 protein is evaluated by means of immunohistochemistry, while a positive result of PD-L1 in one or more per cent of tumour cells is still the only validated and clinically used predictive marker for indication of immunotherapy in patients with NSCLC.^{8,9}

Recently published cumulative data suggest the possible use of PD-L1 immunohistochemistry beyond its well-established role as a predictive marker for immunotherapy: less-differentiated subtypes of pulmonary adenocarcinoma are significantly associated with a positive result for PD-L1 immunohistochemistry when compared with better differentiated forms.^{10–13} Therefore, in patients with NSCLC of the adenocarcinoma type, PD-L1 positivity is nowadays regarded as a negative prognostic factor.¹³ Although the prognostic relevance of PD-L1 expression in adenocarcinomas of the lung is relatively well established, there are few available data regarding possible differences in the level of PD-L1 expression between the SqCC subtypes.

Besides the recently found association between PD-L1 and tumour differentiation, the activation of hypoxic signalling pathways in tumour cells gained attention as presumable inducers of PD-L1 expression.¹⁴ It is generally accepted that the presence of necrosis in solid tumours, caused by chronic ischaemic damage, reflects the degree of intratumoural hypoxia.¹⁵ A correlation has been found between PD-L1 expression and the presence of tumour necrosis in pulmonary adenocarcinomas as well as in other lung malignancies.^{16,17} However, there is a lack of data regarding the induction of PD-L1 under hypoxic conditions in NSCLC of the SqCC type.

The aim of this retrospective study was to analyse the association between the level of PD-L1 expression in pulmonary SqCCs diagnosed by resection specimens and the degree of differentiation as well as the presence of necrosis in these tumours. To fulfil our objective, we first immunohistochemically evaluated PD-L1 protein expression in squamous

Imunoterapia a ligandy ádorových vým karcinómom :ký význam

Arla Scheerová¹,

mocnice v Martine



nemalobunkovým karcinómom pľúc začína
da, tzv. PD-L1 proteínu.

.1 s použitím klónu 22C3 (na imunostaineri
ou tzv. TPS skóre umožnilo rozdeliť súbor na
góriach 1–9 %, 10–49 % a ≥ 50 % nádorových

itívnu expresiu u pacientov s adenokarcinó-
relkosti vzorky pri delení na tzv. malé verzus
podľa predominantného histopatologického
inárneho a papilárneho rastu v 40,8 % a pri
pozitívne v 38,5 % a nerohovatejúce v 53,8 %
arcinómom.

itvým biomarkerom pre imunoterapiu pacientov
šboroch v koreláci s klinickými parametrami och-

rognostický ukazovateľ

in tumor cells
otential prognostic value

ents with advanced non-small cell lung carcinoma
and, PD-L1 protein.

in a series of 325 lung carcinoma patients biopsies,
on scoring system allowed to distinguish negative
≥ 50 % of positive tumor cells.

ients with adenocarcinoma types (47,8 % of all the
positivity were similar also in patients with small
s in the PD-L1 protein expression associated with
i,8 %, with predominant acinar or papillary pattern
tinizing squamous cell carcinomas were positive in
served in sarcomatoid carcinoma type.

cepted predictive biomarker for immunotherapy
quire to be verified in larger cohorts of patients in
n a role of a negative prognostic parameter.

Cesk Patol 2018; 54(3): xx–xx



**Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky
o štandardizácii postupu vyšetrenia a zhodnotenia imunohistochemickej expresie
proteínu ligandu 1 programovanej smrti v biopických tkanivových vzorkách pacientov
so zhubným nádorovým ochorením**

IN THE 2017

In the 2018

In the 2019

CERTIFICATE OF PARTICIPATION
In the 2020 ESP External Quality Assessment Scheme
for PD-L1 testing in NSCLC

Laboratory of Molecular Biology
Martin Biopsy Centre Ltd.
Martin, Slovakia

Laboratory of Molecular Biology
Martin Biopsy Centre Ltd.
Martin, Slovakia

Laboratory of Molecular Biology
Martin Biopsy Centre Ltd.
Martin, Slovakia

Analytical score PD-L1 IHC: 14/22 (12/12 samples analyzed)
Microscopic score PD-L1 IHC: 4/5
Reporting score PD-L1 IHC: 14/14 elements included and correct

*One sample was educational and was not scored for this EQA scheme.

Please consult the performance letter for information about your performance and read the general report for more details about scoring

Date: 30/06/2021

EQA coordinator: prof. dr. Els Dequeker
Medical expert: dr. Jan von der Thüsen
Technical expert IHC: prof. dr. Patrick Pauwels




The ESP Lung EQA scheme is coordinated by the Biomedical Quality Assurance Research Unit of KU Leuven, Leuven, Belgium
The BQA Research Unit is an ISO 17043 accredited EQA provider

The ESP Lung EQA scheme is coordinated by the Biomedical Quality Assurance Research Unit of KU Leuven, Leuven, Belgium
The BQA Research Unit is an ISO 17043 (PT-215) accredited EQA provider

The ESP Lung EQA scheme is coordinated by the Biomedical Quality Assurance Research Unit of KU Leuven, Leuven, Belgium
The BQA Research Unit is an ISO 17043 (PT-215) accredited EQA provider

The ESP Lung EQA scheme is coordinated by the Biomedical Quality Assurance Research Unit of KU Leuven, Leuven, Belgium
The BQA Research Unit is an ISO 17043 (215-PT) accredited EQA provider.



Certificate of Attendance

This is to certify that

Anna Farkašová

Attended the

**VENTANA PD-L1 (SP142) Assay
Pathologist Training**

July 16th – 17th, 2016

Zurich, Switzerland

Dr. Eslie Dennis
Vice President of Medical Affairs



Certificate of Attendance

This is to certify that

Dr. Anna Farkasova

attended the

**Train the Trainer Workshop
for VENTANA PD-L1 (SP142) assay
in TNBC**

April 26th and 29th, 2021

Online

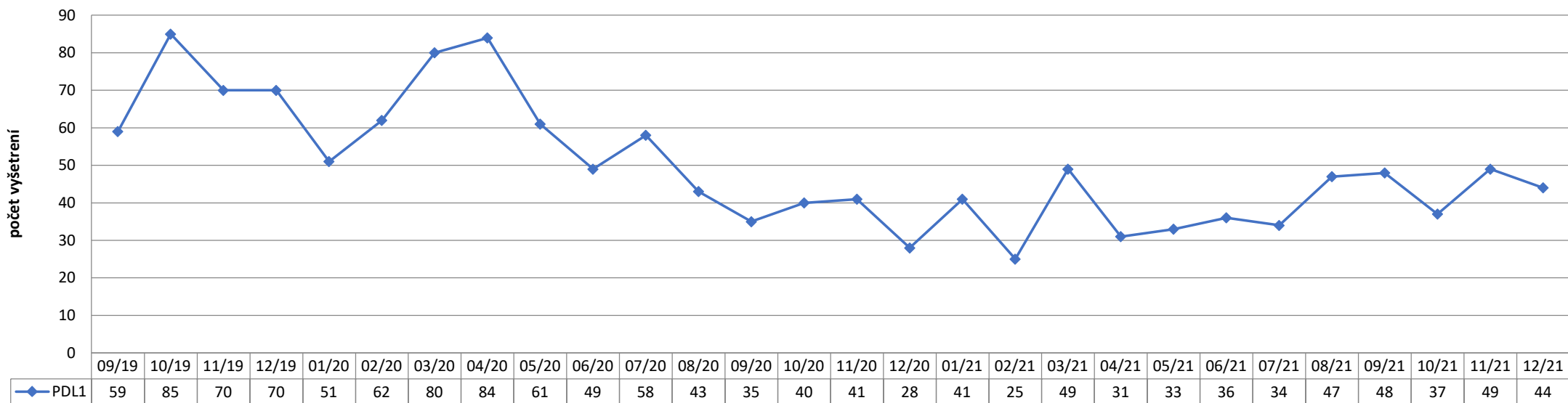
Signed on May 12th 2021, by

Emilia Andersson MD, PhD,
Roche MSS EMEA-LATAM

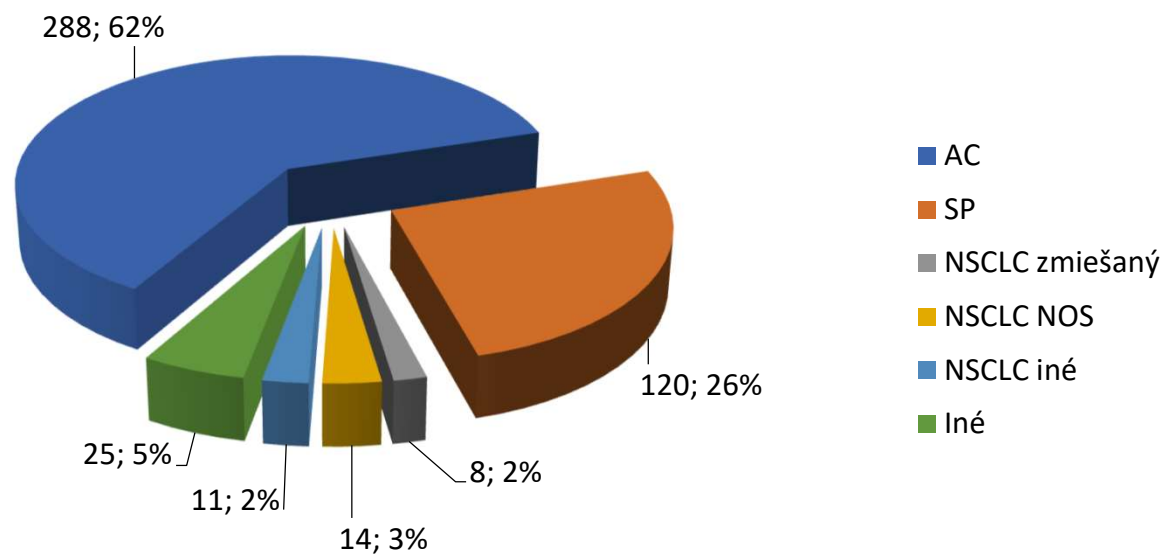
Paula Toro, MD, PhD,
Roche Global

Anne Waydelich, PhD,
Roche MSS EMEA-LATAM

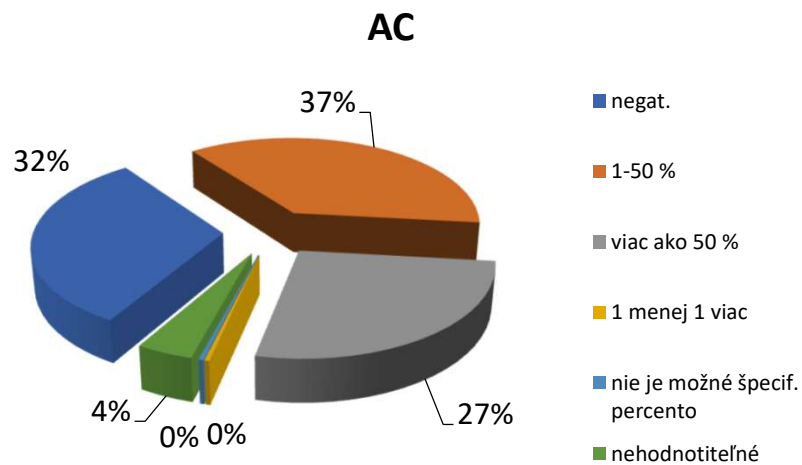
Počty vyšetření PD-L1 v období 01/2019-12/2021



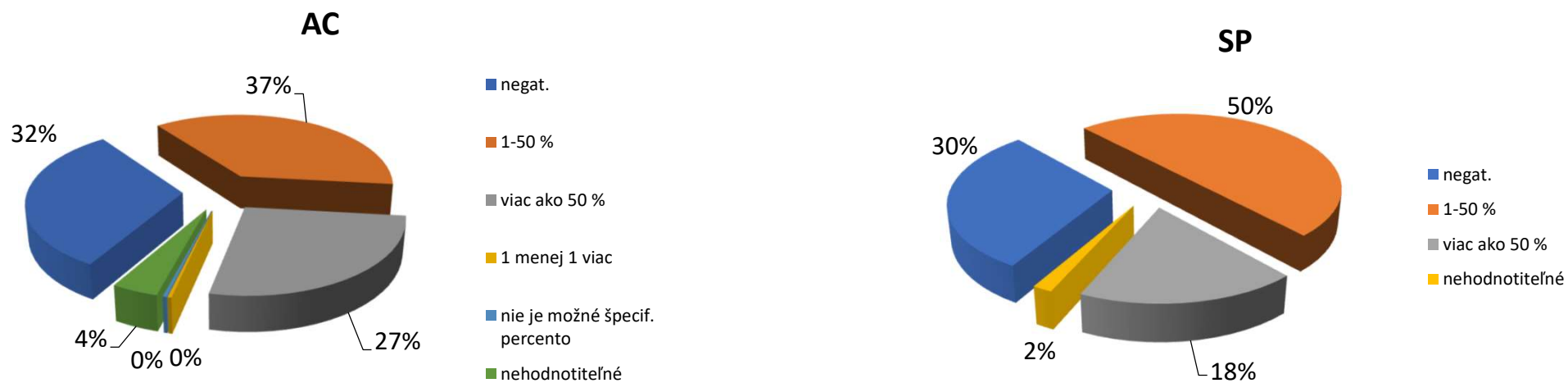
Výsledky vyšetrenia PD-L1 za rok 2021 (n = 466)



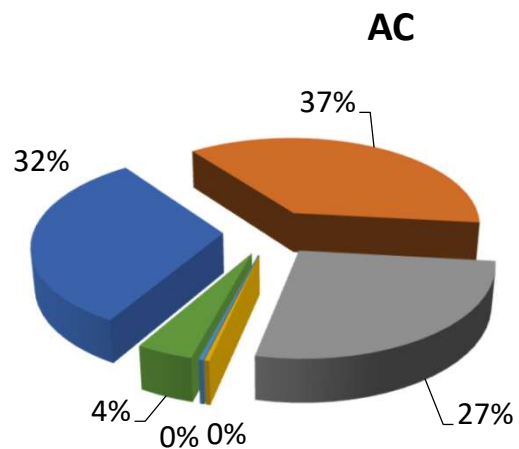
Výsledky vyšetrenia PD-L1 za rok 2021 (n = 466)



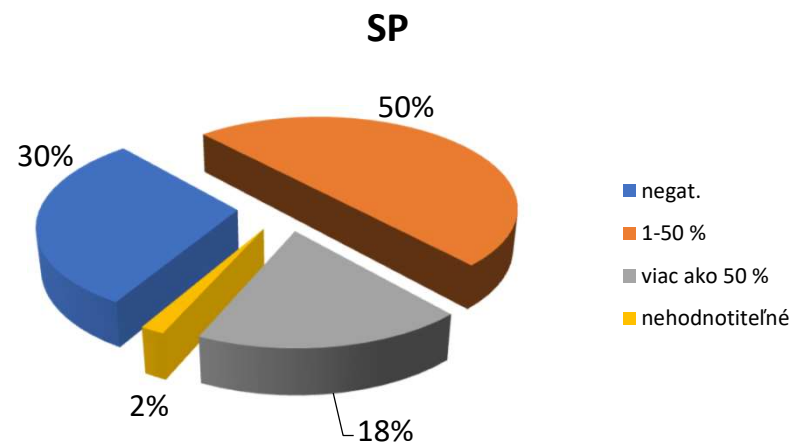
Výsledky vyšetrenia PD-L1 za rok 2021 (n = 466)



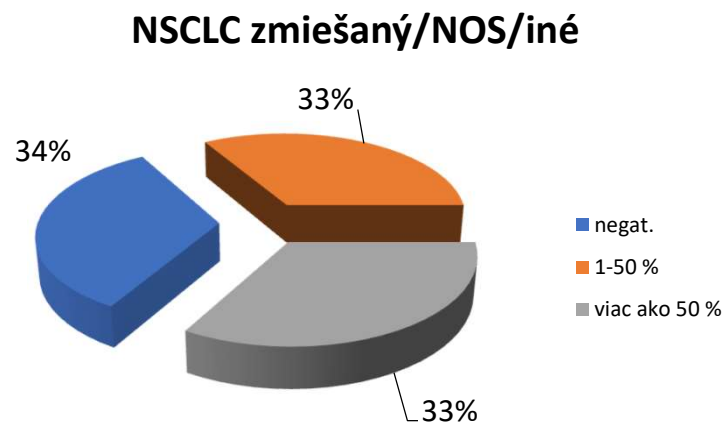
Výsledky vyšetrenia PD-L1 za rok 2021 (n = 466)



- negat.
- 1-50 %
- viac ako 50 %
- 1 menej 1 viac
- nie je možné špecif. percento
- nehodnotiteľné

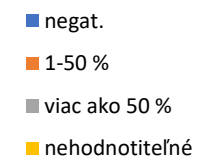
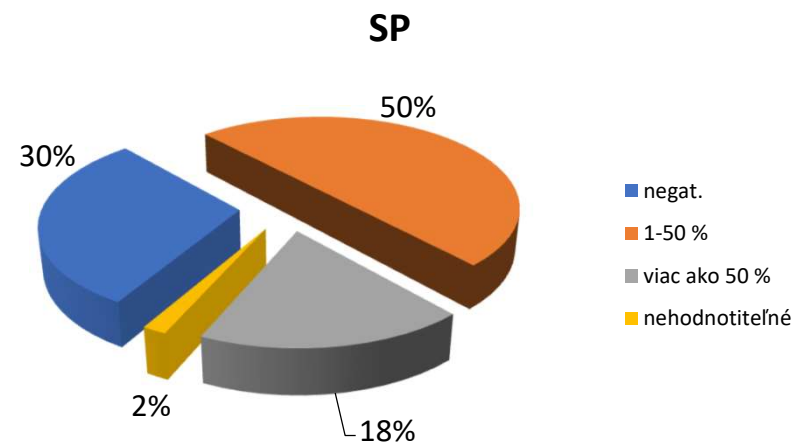
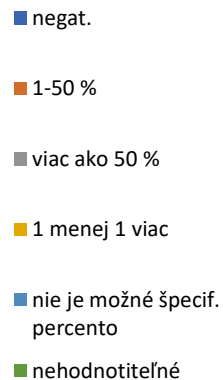
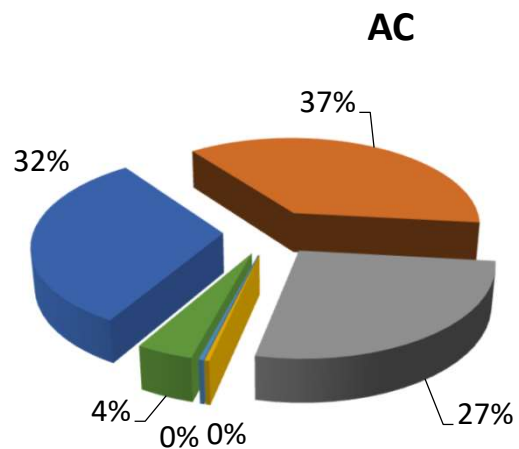


- negat.
- 1-50 %
- viac ako 50 %
- 1 menej 1 viac
- nehodnotiteľné

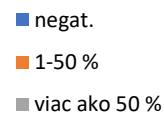
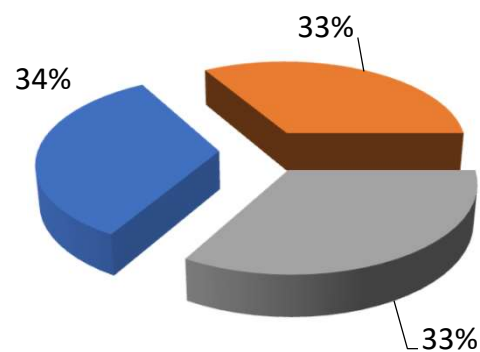


- negat.
- 1-50 %
- viac ako 50 %

Výsledky vyšetrenia PD-L1 za rok 2021 (n = 466)

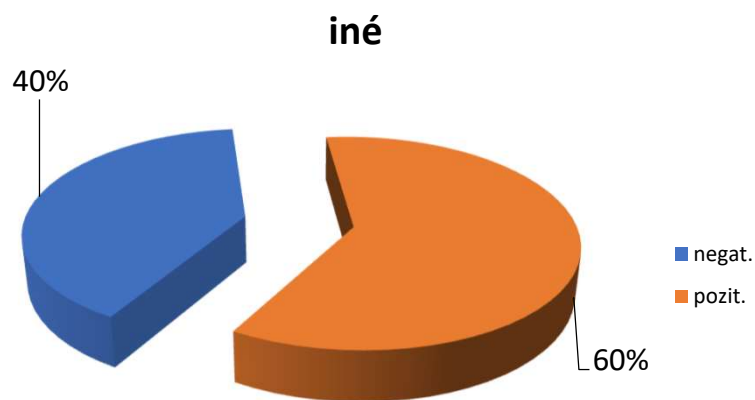


NSCLC zmiešaný/NOS/iné



in situ adenokarcinóm
sarkomatoidný karcinóm
SP in situ
neuroendokrinný
pleomorfný
veľkobunkový

Výsledky vyšetrenia PD-L1 za rok 2021 (n = 466)



cervix	4	pozit.
HNSCC	2	pozit.
KRK	1	negat.
malígna mezoteliálna proliferácia	1	pozit.
NLPHL	1	pozit.
TNBC	5	1 pozit./4 negat.
uroteliálny karcinóm	7	2 pozit./5 negat.
GEJ	4	pozit.

Úhrada vyšetrenia PD-L1

Poist'ovňa UNION (27) – uhrádzané ako klasické imuno

Poist'ovňa VŠZP (25) – NSCLC samostatný výkon, 3x za život

– iné dg. uhrádzané ako klasické imuno

Poist'ovňa Dôvera (24) – uhrádzané ako klasické imuno

NSCLC - adenokarcinóm
(resp. NSCLC NOS s AC zložkou)



EGFR
(RT-PCR)

Algoritmus vyšetrovania

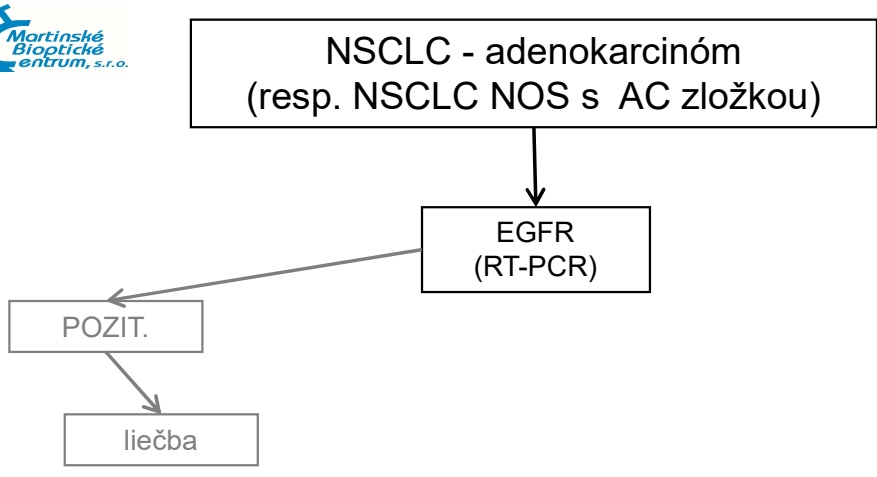
NSCLC - adenokarcinóm
(resp. NSCLC NOS s AC zložkou)

EGFR
(RT-PCR)

POZIT.

liečba

Algoritmus vyšetrovania



NSCLC - adenokarcinóm
(resp. NSCLC NOS s AC zložkou)

EGFR
(RT-PCR)

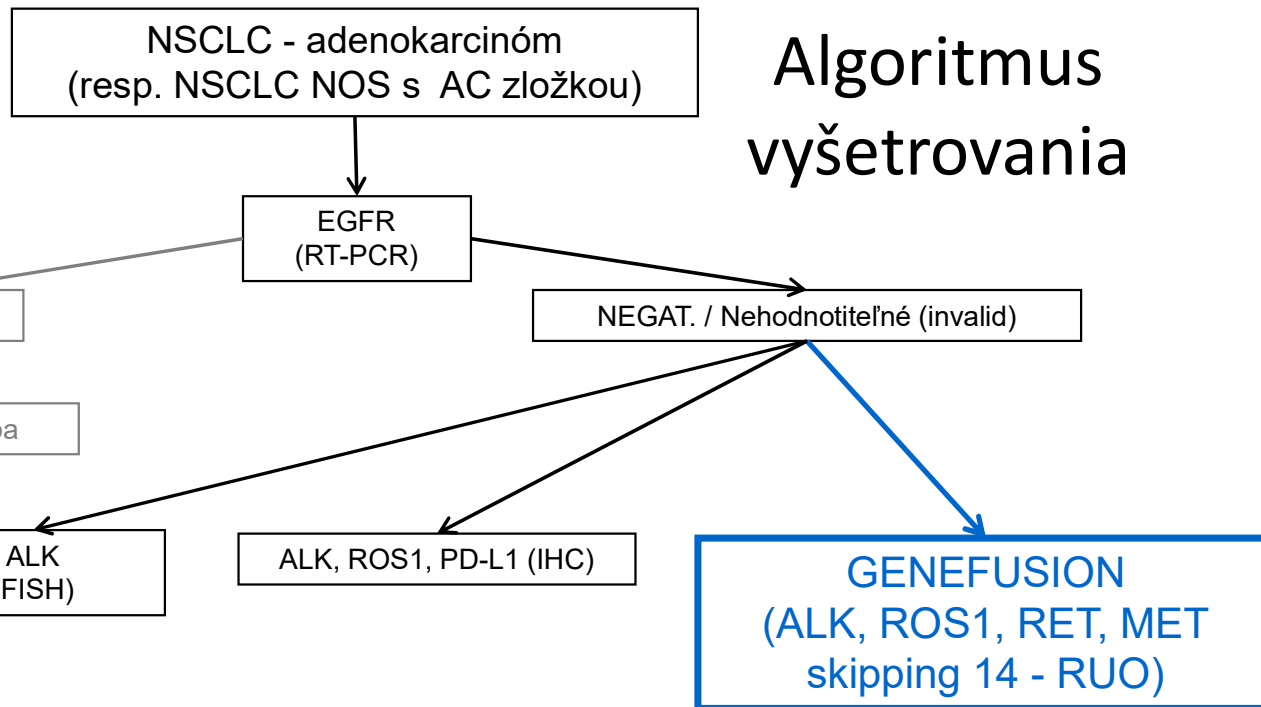
POZIT.

liečba

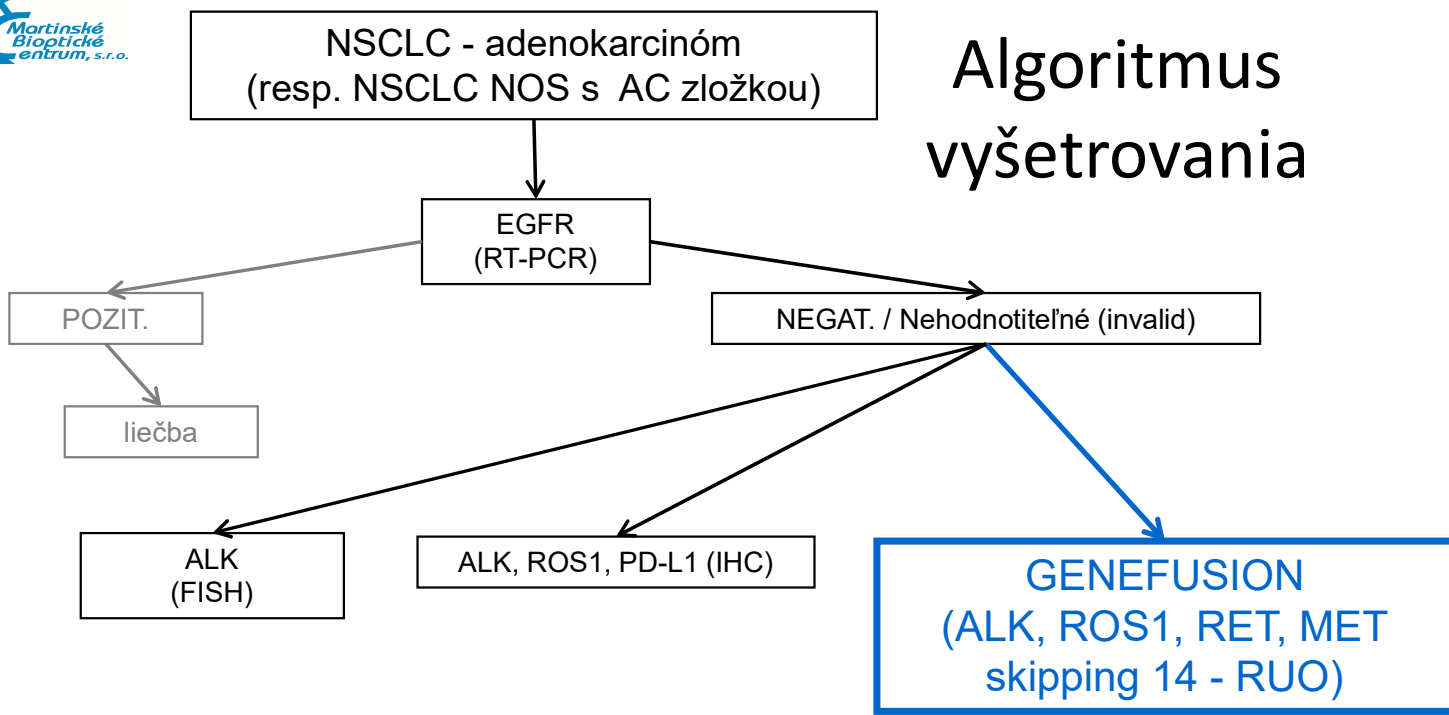
Algoritmus vyšetrovania

Pozn.: Nutný retest EGFR exon 21 ins

Algoritmus vyšetrovania



Algoritmus vyšetrovania



Pozn.: EGFR verifikovať aspoň z periférnej krvi

Algoritmus vyšetrovania

NSCLC - adenokarcinóm
(resp. NSCLC NOS s AC zložkou)

EGFR
(RT-PCR)

POZIT.

NEGAT. / Nehodnotiteľné (invalid)

liečba

ALK
(FISH)

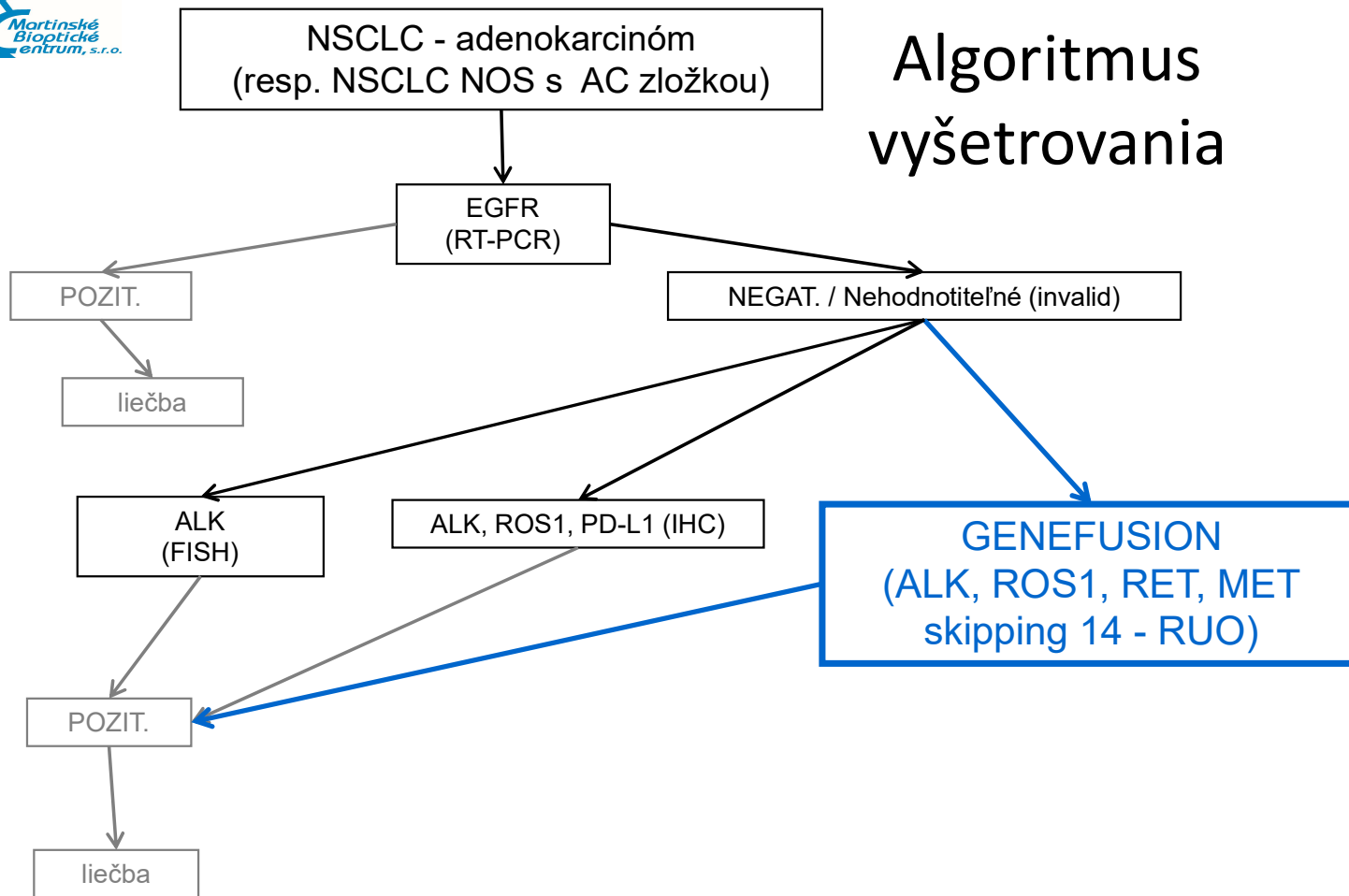
ALK, ROS1, PD-L1 (IHC)

GENEFUSION
(ALK, ROS1, RET, MET
skipping 14 - RUO)

POZIT.

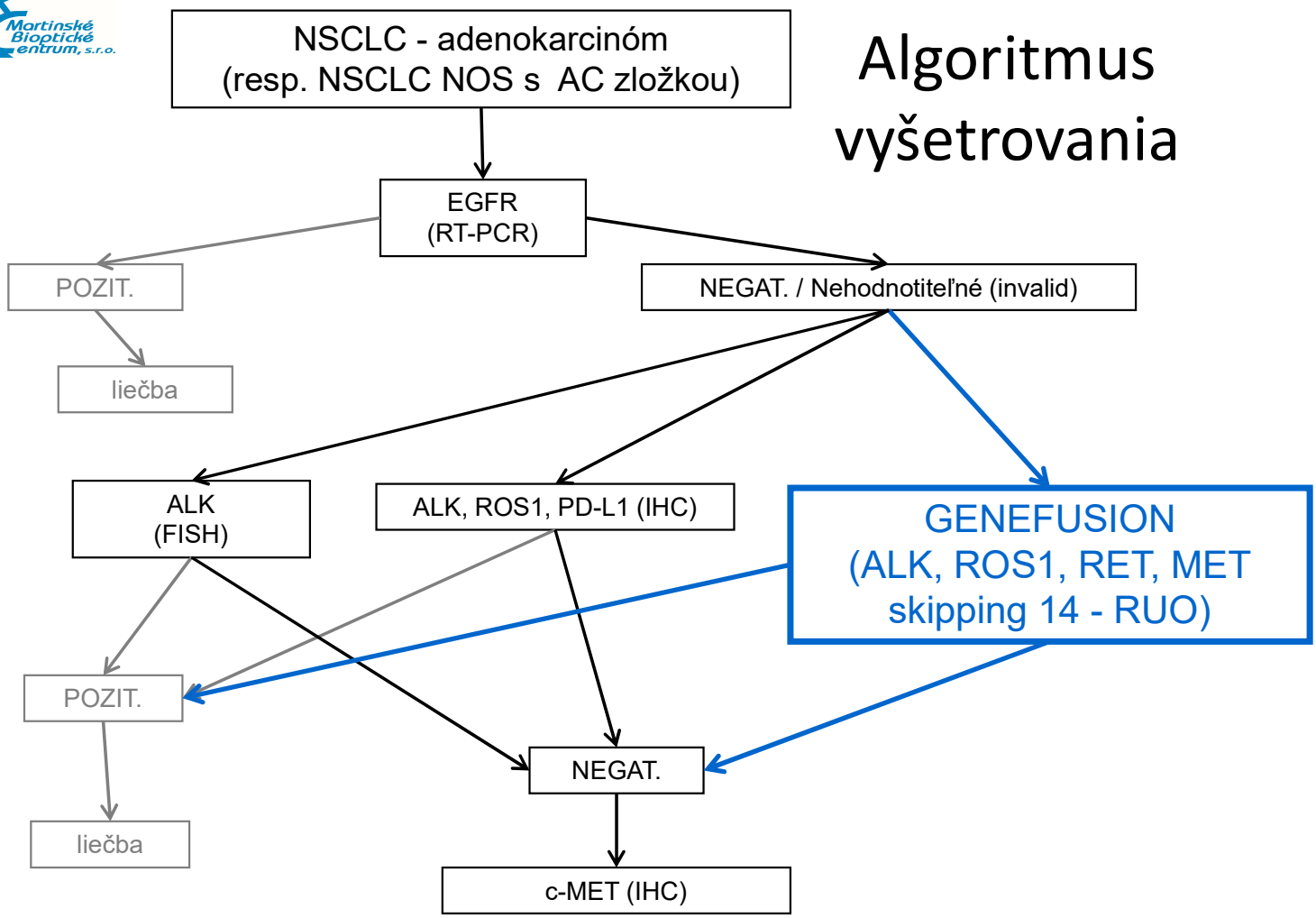
liečba

Algoritmus vyšetrovania

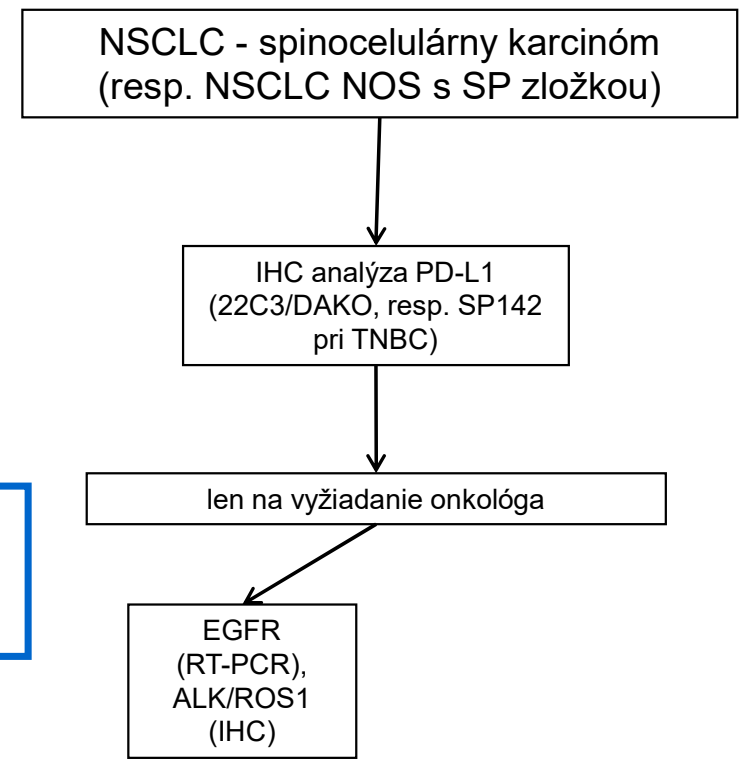
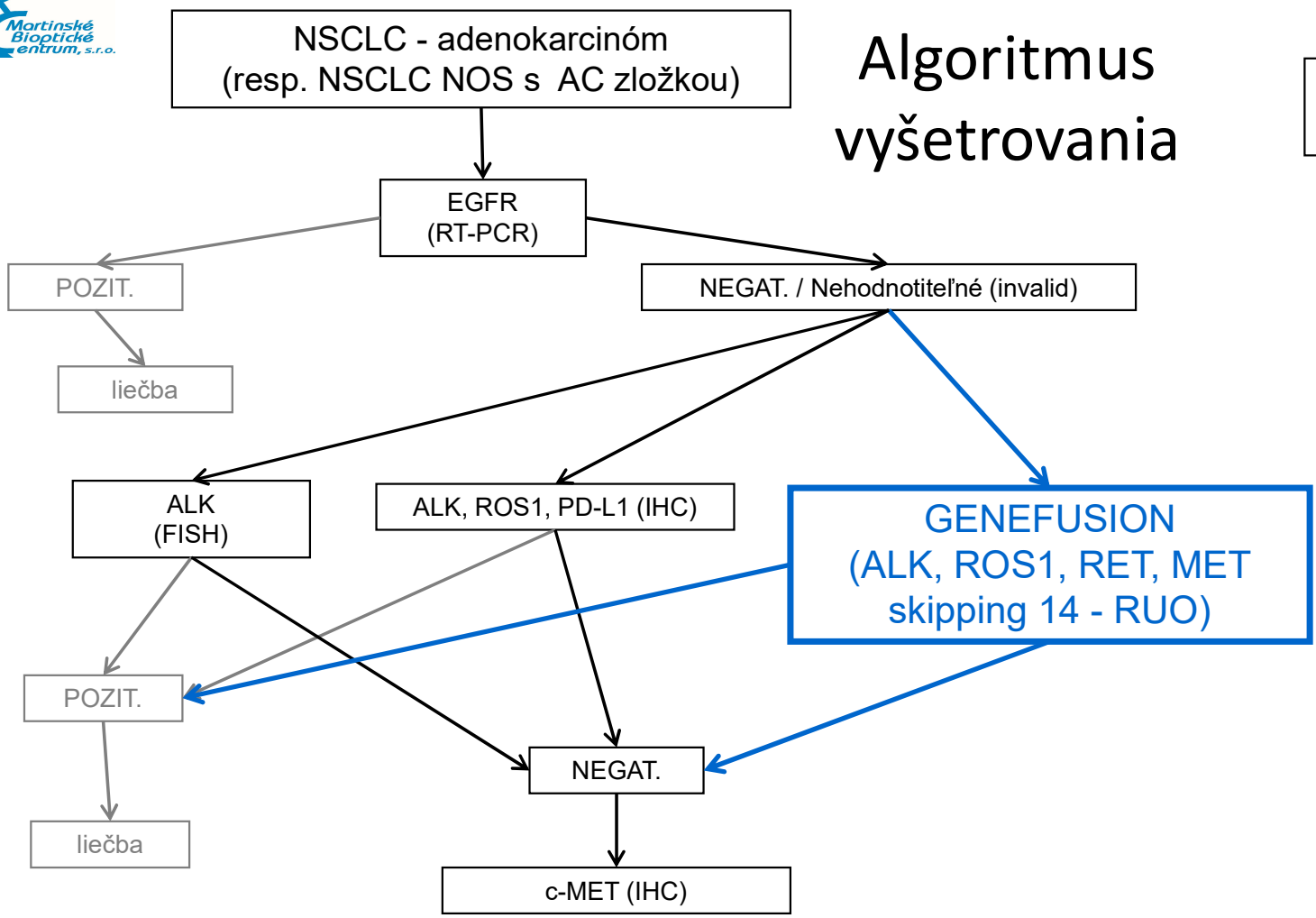


Pozn.: ROS1 IHC pozit. (RUO) nutné verifikovať FISH

Algoritmus vyšetrovania



Algoritmus vyšetrovania



Algoritmus vyšetrovania

NSCLC - adenokarcinóm
(resp. NSCLC NOS s AC zložkou)

EGFR
(RT-PCR)

POZIT.

NEGAT. / Nehodnotiteľné (invalid)

liečba

ALK
(FISH)

ALK, ROS1, PD-L1 (IHC)

**GENEFUSION
(ALK, ROS1, RET, MET
skipping 14 - RUO)**

POZIT.

NEGAT.

liečba

c-MET (IHC)

NSCLC - spinocelulárny karcinóm
(resp. NSCLC NOS s SP zložkou)

IHC analýza PD-L1
(22C3/DAKO, resp. SP142
pri TNBC)

len na vyžiadanie onkológa

EGFR
(RT-PCR),
ALK/ROS1
(IHC)

UC, HNSCC, GEJ,
karcinóm krčka maternice,
TNBC

HOUSE
T CELLS



HELPERS ARE
COMING