



## **I BIOMARCATORI NELL'IMMUNO-ONCOLOGIA: IL RUOLO DI PD-L1**

**Approvato dal Gruppo di Studio sulla Patologia Molecolare**

**A cura di:** Susanna Cappia

**Coordinatori:** Francia di Celle Paola, Venesio Tiziana

**Partecipanti:**

Cappia Susanna, Casorzo Laura, Di Benedetto Massimo, Falcone Patrizia Agnese, Giugliano Emilia, Giustetto Doriana, Maffè Antonella, Mangioni Monica, Mariani Sara, Orecchia Sara, Pegoraro Fabiola, Rapa Ida, Saponaro Sara, Scaravaglio Patrizia, Scatolini Maria, Schillaci Francesca, Trisolini Elena, Veggiani Claudia, Verdun Di Cantogno Ludovica

# I biomarcatori nell'immuno-oncologia: *il ruolo di PD-L1*

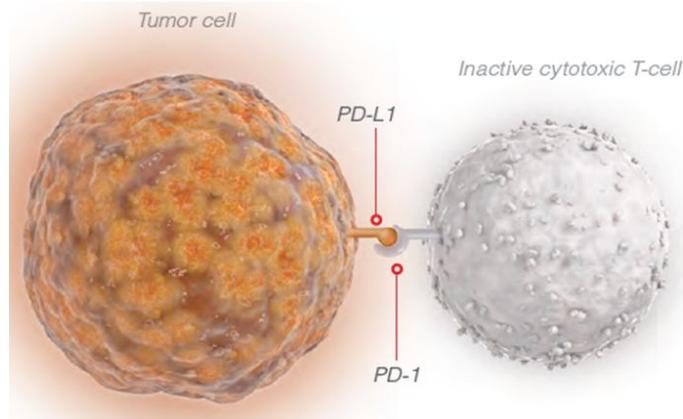
Dott.ssa Susanna Cappia

Anatomia Patologica AOU San Luigi di Orbassano

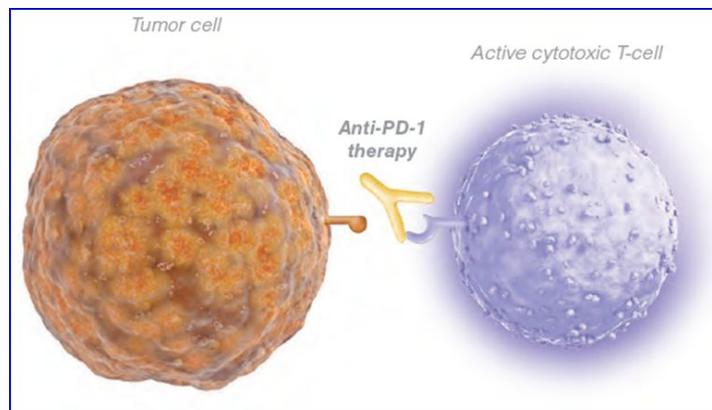
27 maggio 2019

A cura di Susanna Cappia e condiviso dal Gruppo di Studio di Patologia Molecolare

Il sistema immunitario utilizza nei confronti delle cellule tumorali gli stessi meccanismi utilizzati per difenderci contro le infezioni. Le alterazioni genetiche accumulate nel tempo dalle cellule tumorali favorisce lo sviluppo di cloni immunogenici, che sono riconosciuti dalle cellule del sistema immunitario. Per inibire questo riconoscimento le cellule tumorali sfruttano uno dei checkpoint naturali di modulazione della risposta immunitaria: il sistema PD-1/PD-L1.



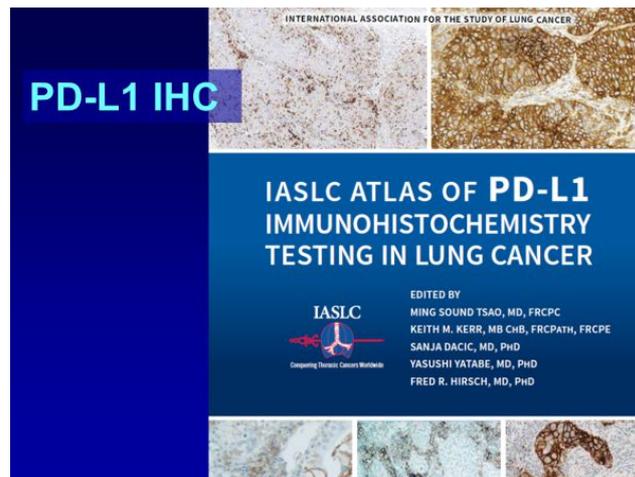
Farmaci che inibiscono il checkpoint PD-1 distruggono questi pathway inibitori e ripristinano l'attività antitumorale delle cellule T.



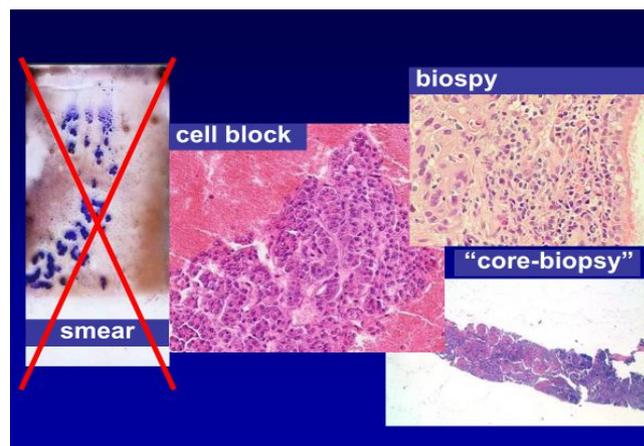
Al momento due inibitori del PD-1, [nivolumab](#) e [pembrolizumab](#) e un inibitore di PD-L1, [atezolizumab](#) sono stati approvati dall'ente regolatorio italiano del farmaco AIFA, per il trattamento dei pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule in stadio metastatico.

La valutazione dell'espressione di PD-L1 nelle cellule tumorali è un'informazione quindi fondamentale per definire la strategia terapeutica del paziente.

La caratterizzazione molecolare del PD-L1 nelle cellule neoplastiche si basa sulla determinazione dell'espressione immunohistochimica della molecola.



Tale caratterizzazione può essere potenzialmente effettuata su qualsiasi tipo di campione istologico (biopsia e pezzo operatorio da tumore primitivo o metastasi) ed anche su materiale citologico preparato come cito-incluso (agoaspirati con o senza guida ecografica/TAC, versamenti), purché il campione contenga una quantità di cellule tumorali vitali sufficiente per l'indagine richiesta.



Non è definito un criterio assoluto per quantificare l'adeguatezza del materiale neoplastico, ma il reperto di 100 cellule tumorali vitali viene indicato come riferimento minimo per l'esecuzione e l'attendibilità di test molecolari nel NSCLC, in relazione anche alla sensibilità delle varie metodiche molecolari utilizzate.

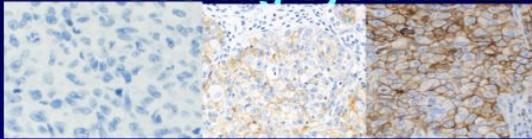
Il livello di espressione di PD-L1 viene valutato mediante immunohistochimica con cloni anticorpali anti-PD-L1, determinando accuratamente la percentuale di cellule neoplastiche vitali (tumor proportion score, TPS),

che mostrano una immunoreattività a livello di membrana (non deve essere considerata l'immunoreattività citoplasmatica) completa o parziale e di qualsiasi intensità, quindi entrano nel computo anche cellule con debole e parziale immunoreattività.

E' necessaria una accurata valutazione della percentuale di espressione di PD-L1 che spesso comporta un esame complesso data la frequente eterogeneità di espressione nelle cellule tumorali sia di numero che di intensità, soprattutto quando i conteggi risultano intorno a 50% oppure intorno all'1%). E' necessario ricorrere ad anticorpi validati nell'ambito degli studi clinici registrati.

Gli studi clinici che hanno portato all'approvazione del farmaco pembrolizumab hanno utilizzato il test PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Agilent-Dako) come test diagnostico su piattaforma DAKO.

### Scoring system: 22C3



PD-L1 Expression	Staining Pattern
No Expression	Partial or complete cell membrane staining ( $\geq 1+$ ) in $< 1\%$ of viable tumor cells
Low Expression	Partial or complete cell membrane staining ( $\geq 1+$ ) in $\geq 1-49\%$ of viable tumor cells
High Expression	Partial or complete cell membrane staining ( $\geq 1+$ ) in $\geq 50\%$ of viable tumor cells

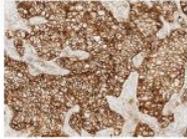
Score only viable tumor cells. Exclude all other cells from scoring: infiltrating immune cells, normal cells, necrotic cells, and debris.

Score partial or complete cell membrane staining ( $\geq 1+$ ) that is perceived distinct from cytoplasmic staining. Exclude cytoplasmic staining from scoring.


**PD-L1 IHC 22C3 pharmDx** | Interpretation Manual

Gli studi che hanno portato all'approvazione di durvalumab hanno invece utilizzato il test SP263 (Ventana) su piattaforma Ventana Benchmark.

### VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody



**Catalog Number:** 790-4905  
**Ordering Code:** 07494190001  
**Quantity:** 50 tests  
**Controls:** Placenta  
**Clone Name:** SP263  
**Species:** Rabbit  
**Localization:** Membranous and/or Cytoplasmic Staining  
**Regulatory Status:** IVD, CE-IVD

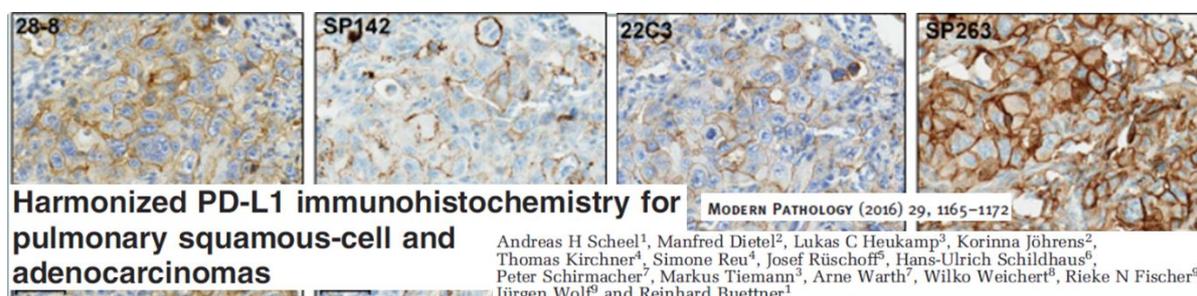
**Non-small cell lung cancer (NSCLC)**  
 VENTANA PD-L1 (SP263) Assay expands immunotherapy options for NSCLC patients through equipping pathologists by:

- Identifying NSCLC patients eligible for treatment with IMFINZI (durvalumab)
- Identifying NSCLC patients eligible for treatment with KEYTRUDA (pembrolizumab)\*\*
- Identifying non-squamous NSCLC patients most likely to benefit from OPDIVO (nivolumab)\*\*
- Providing robust PD-L1 staining in both tumor cells (TC) and tumor-infiltrating immune cells (IC)†
- Allowing optimal lung tissue management through PD-L1 testing of archived unstained slides within 12 months

**Urothelial carcinoma**  
 The VENTANA PD-L1 (SP263) Assay is the clinical trial enrollment assay for IMFINZI (durvalumab) and the only PD-L1 assay validated to assess UC patient treatment benefit from the PD-L1 inhibitor. Using a validated assay to determine PD-L1 status for immunotherapies is important. VENTANA PD-L1 (SP263) Assay equips pathologists by:

- Identifying urothelial carcinoma patients most likely to benefit from IMFINZI (durvalumab)
- Providing robust PD-L1 staining in both tumor cells (TC) and tumor-infiltrating immune cells (IC)
- Providing access to multiple immunotherapy options for different cancer types.

Una serie di studi hanno comparato i test PD-L1 sviluppati per la diagnostica in vitro (IVD), che utilizzano i cloni 22C3 e SP263 ed hanno dimostrato come questi abbiano prestazioni molto simili e possano pertanto essere considerati equivalenti.



Questi anticorpi sono disponibili commercialmente nell'ambito di kit (CE-IVD) che, utilizzando appropriati sistemi di amplificazione del segnale, garantiscono una buona sensibilità.

L'interpretazione del test per PD-L1 si basa sulla valutazione di numerosi aspetti e fini dettagli dell'immunoreazione, che in parte dipendono anche dalla fase preanalitica oltre che da una corretta procedura di fissazione.

Le sezioni di tessuto da destinare alla valutazione dell'espressione di PDL1 dovrebbero essere allestite in stretta vicinanza temporale con la programmata esecuzione del test immunoistochimico e si dovrebbe inoltre assolutamente evitare l'impiego di sezioni di tessuto archiviate per un periodo superiore a una settimana in quanto questo comporta potenzialmente un sensibile decremento dell'antigenicità. È opportuno che le sezioni da destinare al test PDL1 siano contigue alla sezione colorata con ematossilina/eosina, per discriminare meglio fra componente neoplastica e componente immunitari.

La refertazione del test per PD-L1 nei pazienti con NSCLC prevede l'indicazione di una serie di informazioni da strutturare in 6 campi principali:

- dati anagrafici e richiedente;
- notizie clinico-anamnestiche e sede del prelievo in esame;
- tipologia del materiale utilizzato per il test e le informazioni relative all'adeguatezza del materiale analizzato unitamente alla quota minima di cellule neoplastiche vitali, che deve essere pari o superiore a 100;
- clone e piattaforma strumentale utilizzata;
- dato analitico sull'espressione del PD-L1: percentuale di positività immunoistochimica, utilizzando il "Tumor Proportion Score (TPS)" rispetto alla totalità della popolazione neoplastica presente nel campione in esame;
- nota sul significato clinico del dato.

-Indicazione dell'indirizzo terapeutico in relazione alla positività riportata per l'utilizzo del farmaco pembrolizumab in prima o seconda linea di trattamento dei pazienti con NSCLC in stadio IIIb/IV:

- Score < 1% (negativo): paziente non eleggibile al trattamento;
- Score  $\geq$  1%: paziente eleggibile al trattamento in seconda linea;
- Score  $\geq$  50%: paziente eleggibile al trattamento in prima linea.

- Indicazione dell'indirizzo terapeutico in relazione alla positività riportata per l'utilizzo del farmaco durvalumab nei pazienti con NSCLC in stadio III non operabile:

- Score < 1% (negativo): paziente non eleggibile al trattamento;
- Score  $\geq$  1%: paziente eleggibile al trattamento con anti-PD-L1 durvalumab.

Tempi di refertazione: entro due settimane dal momento della richiesta contestualmente a tutti gli altri marcatori molecolari predittivi necessari.

Bibliografia:

Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thoracic Oncol* 13:1302-1311, 2018

Marchetti A, Barberis M, Franco R et al. Multicenter Comparison of 22C3 PharmDX (Agilent) and SP263 (Ventana) assays to test PD-L1 expression for NSCLC to be treated with Immune Checkpoint Inhibitors *J Thorac Oncol.*;12:1654-1663:2017

Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: Guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med* 138:1432-43:2014

Wang H, Agulnik J, Kasymjanova G, et al. Cytology cell blocks are suitable for immunohistochemical testing for PD-L1 in lung cancer. *Ann Oncol.* 2018;29:1417-1422.

Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, et al. IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer. Colorado, USA: International Association For the Study of Lung Cancer (IASLC);2017.

Munari E, Zamboni G, Lunardi G, et al. PD-L1 Expression Heterogeneity in Non-Small Cell Lung Cancer: Defining Criteria for Harmonization between Biopsy Specimens and Whole Sections. *J Thorac Oncol.* 2018 Aug;13(8):1113-1120.

M Barbareschi, M Barberis, F Buttitta, C Doglioni, M Fiorentino, G Fontanini, R Franco, A Marchetti, G Rossi, G Troncone. Predictive markers in lung cancer: a few hints for the practicing pathologist. *Pathologica* 110 (1), 29-38

Ancevski Hunter K, Socinski M, Villaruz LC. PD-L1 Testing in Guiding Patient Selection for PD-1/PD-L1 Inhibitor Therapy in Lung Cancer. *Mol Diagn Ther.* 2018 February; 22(1): 1–10

Califano R, Lal R, Lewaski C, Nicolson MC, Ottensmeie CH, Popat S, Hodgson M, Postmus PE. Patient selection for anti-PD-1/PD-L1 therapy in advanced non-small-cell lung cancer: implications for clinical practice. *Future Oncol.* (2018) 14(23), 2415–2431

Raccomandazioni 2019 sulle indicazioni e la valutazione di PD-L1 nel tumore del polmone  
AIOM-SIAPEC-IAP Ottobre 2019