

ORGANISATION PRATIQUE DE LA RECHERCHE DE PD-L1 EN NOUVELLE-AQUITAINE

Dr MILIN

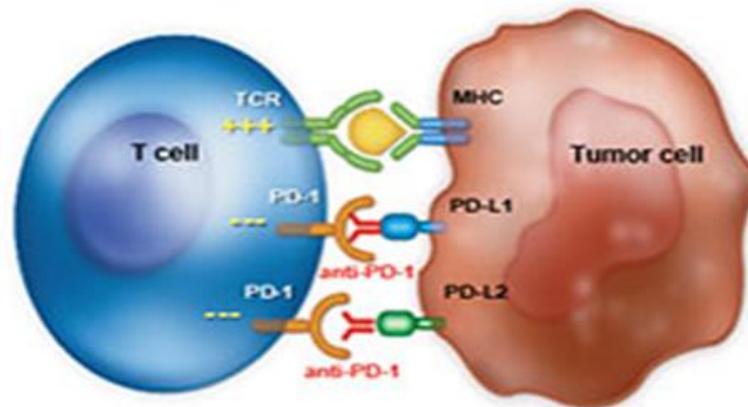
Anatomie pathologique, CHU Poitiers

Angoulême 27 avril 2018



Rôle de PD-L1 dans les cancers (1)

- PD-1 est exprimé à la surface des lymphocytes T activés reconnaissant les antigènes tumoraux.
- L'interaction avec PD-L1, exprimé par les cellules présentant ces antigènes, entraîne l'inactivation des lymphocytes T .
- Le blocage de cette interaction par des Ac ciblant PD-1 et PD-L1 restaure l'activité cytotoxique.



Rôle de PD-L1 dans les cancers (2)

- Nouvelle cible thérapeutique : inhibiteurs de checkpoint immunitaire.
- Test immunohistochimique requis pour la prescription du pembrolizumab : test compagnon.
- Nouveau rôle pour les pathologistes : étudier l'expression de PD-L1. (Poitiers : 260 tests en 2017).

Immunothérapies

Traitement	Clone	Epitope	Détection	Seuils étudiés	Statut FDA
Nivolumab (BMS)	28-8 Dako	Extracellulaire	EnVision FLEX	CT : $\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$	Test complémentaire (*) (poumon, mélanome)
Pembrolizumab (MSD)	22C3 Dako	Extracellulaire	EnVision FLEX	CT : $\geq 1\%$, $\geq 50\%$	Test compagnon (poumon)
Atezolizumab (Roche)	SP142 Ventana	Intracellulaire	OptiView + amplification	CT : $\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 50\%$ CI : $\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$	Test complémentaire (vessie)
Durvalumab (AstraZeneca)	SP263 Ventana	Intracellulaire	OptiView	CT : $\geq 25\%$	

- Impossibilité de disposer de toutes les plates-formes.
- Impossibilité de tester tous les anticorps sur un même prélèvement (coût financier, et matériel souvent exigu).

(*)Test complémentaire : non nécessaire pour prescription , mais peut être demandé pour évaluer la probabilité de réponse au traitement.

Indication du test

- Tous les CPNPC, le plus tôt possible, à intégrer au panel de base car oriente pour la stratégie thérapeutique.
- Test compagnon pour pembrolizumab.
- 1^{ère} ligne : traitement de première ligne des patients adultes atteints d'un CBNPC métastatique dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un **score de proportion tumorale (TPS*) $\geq 50\%$** , sans mutations d'EGFR ou d'ALK
- 2^{ième} ligne : traitement des patients adultes atteints CBNPC localement avancé ou métastatique dont les tumeurs expriment PD-L1, et ayant reçu au moins une chimiothérapie antérieure. Les patients présentant des mutations tumorales d'EGFR ou d'ALK doivent également avoir reçu un traitement autorisé pour ces mutations . **Expression de PDL1 $\geq 1\%$**

$$* \left\{ \frac{\text{\# of PD-L1-positive tumor cells}}{\text{Total \# of PD-L1-positive + PD-L1-negative tumor cells}} \right.$$

Choix du prélèvement

- Privilégier le plus récent ou le plus riche en cellules tumorales.
- Discordance biopsie /pièce opératoire : importante avec SP142, faible avec les autres anticorps.
- Tumeur primitive/métastase : 75% de concordance.
- Modifications d'expression post-traitements.

Recherche d'expression du PD-L1

- Technique : immunohistochimie.
- Formation souhaitable à la lecture.
- Trois étapes :
 - Pré-analytique : événements précédant l'étude immunohistochimique
 - Analytique : étude immunohistochimique.
 - Post-analytique : exploitation des résultats.

Phase pré-analytique (1)

- Les conditions du pré-analytique peuvent influencer les résultats des tests.
- Responsabilité du préleveur ou du pathologiste.
- Préleveur :
 - Biopsies bronchiques : au moins cinq biopsies tumorales.
 - Biopsies transthoraciques : 3 prélèvements si possible avec angles de tir différents (prélever des zones différentes).

Phase pré- analytique (2)

- Fixation : immédiate (éviter ischémie froide).
- Fixateur : formol tamponné à 10 % (10 vol fixateur/1 vol tissu).
- Temps de fixation : éviter sous-fixation +++ (< 6h) et sur-fixation (72 h pour pièces opératoires)
- Éviter les prélèvements décalcifiés (privilégier EDTA).

Phase pré-analytique (3)

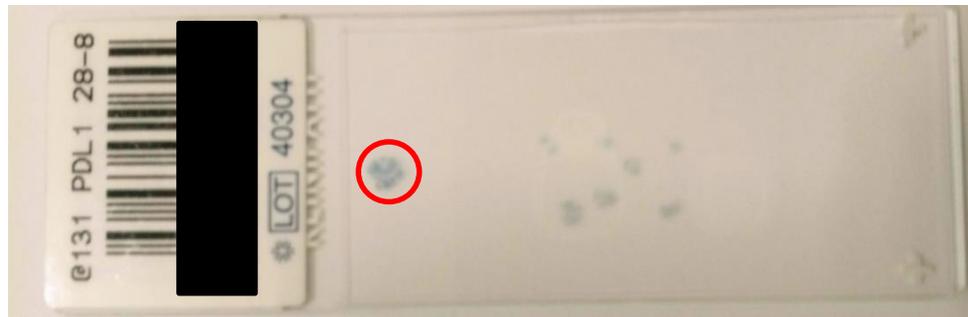
- Économie de matériel : faire plusieurs blocs si possible, éviter marquages inutiles, les coupes sériées...
- Réaliser lames blanches d'emblée pour ne pas ré-entamer le bloc (HES, IHC, FISH).
- Utiliser des coupes fraîches (pas plus de six mois, conservation optimale à 4°).

Phase analytique (1)

- Choix du clone et de la plateforme.
- Etude multicentrique (Ann oncol 2018) : test concordant pour les cellules tumorales avec **22C3**, **SP263**, **28-8**, et non concordant avec **SP142**.
- Privilégier Ac CE-IVD sur Ac RUO.
- **E1L3N** validé sur étude française. **QR1** validation en cours.
- Kit ou LDT (si LDT mise au point +++).
- LDT validés sur toutes plateformes.

Phase analytique (2)

- Témoin positif externe sur lame : tissu amygdalien (témoin négatif également conseillé).
- Autre témoin positif externe possible : lignées cellulaires du commerce.
- Témoin positif interne sur lame : macrophages.



Phase analytique (3)

- Évaluation de l'expression se fait sur les cellules tumorales.
- Nombre minimal requis de cellules tumorales >100 (analyse possible si <100 mais le préciser).
- Marquage membranaire linéaire, complet ou non, toutes intensités.
- Ne pas prendre en compte les cellules immunes (macrophages +++, certains lymphocytes).
- Après avoir vérifié les témoins externes et internes.

Phase analytique (4)

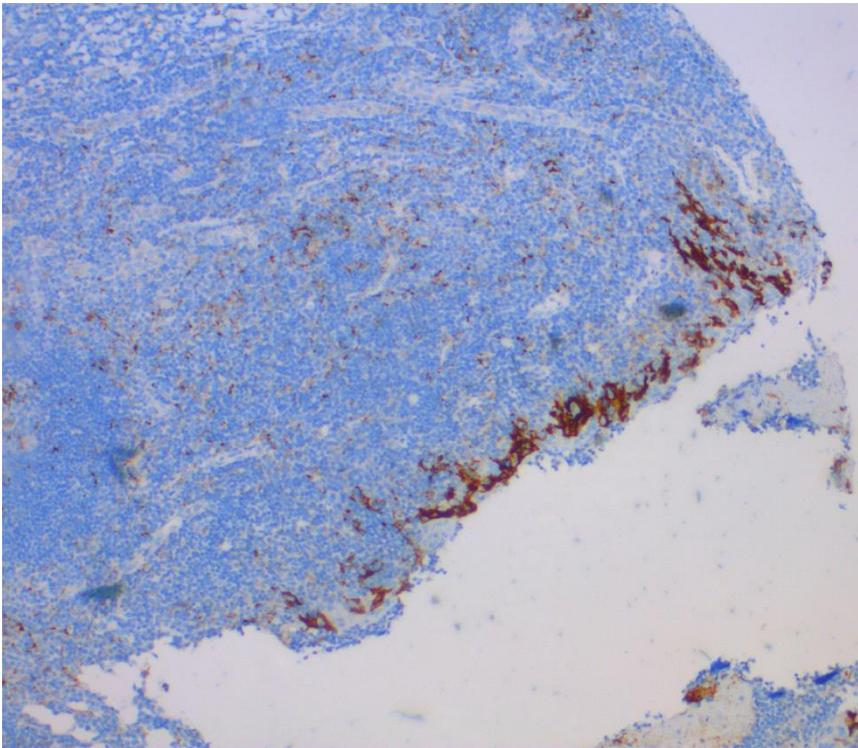
- Difficultés d'interprétation :
 - Marquage cytoplasmique ou membranaire.
 - Nombre de cellules tumorales (au moins 100).
 - Faibles intensités de marquage.
 - Scores proches des seuils (autour de 1 % ou 50 %).
 - Hétérogénéité.
 - Cellules immunes.
- Ne pas prendre en compte :
 - Nécrose (peut être marquée).
 - Zones d'écrasement, bordures de coupes.

Phase analytique (5)

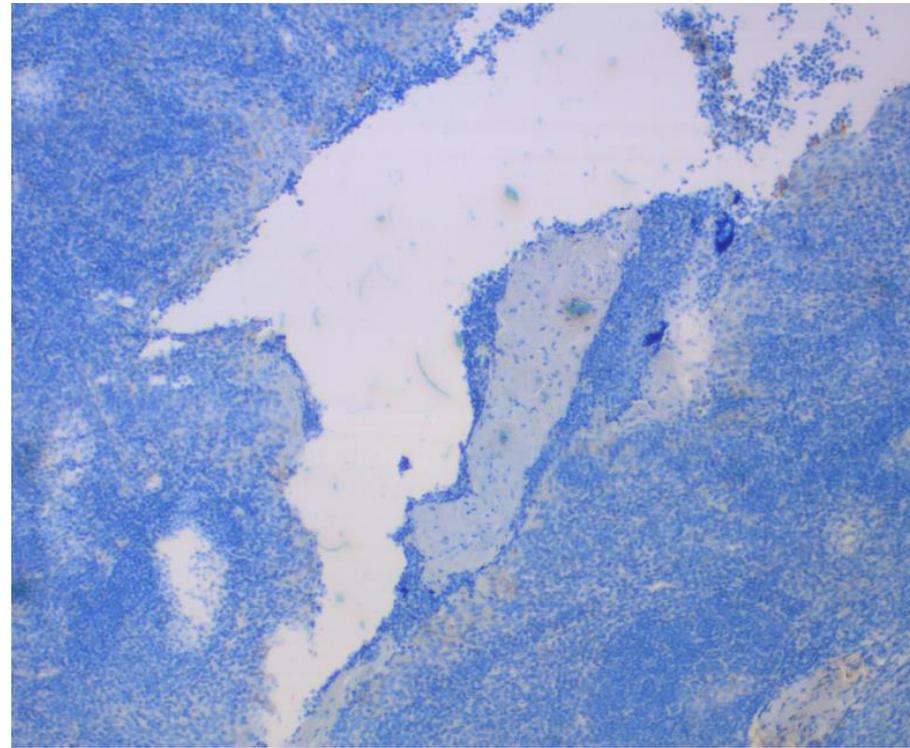
- Prélèvements cytologiques (épanchements, EBUS) : utilisables si prise en charge de type histologique (gélose, cytobloc).
- Immunocytochimie : faisable mais pas d'essai publié.

Analytique : contrôle positif externe

Tissu amygdalien : macrophages et épithélium des cryptes.



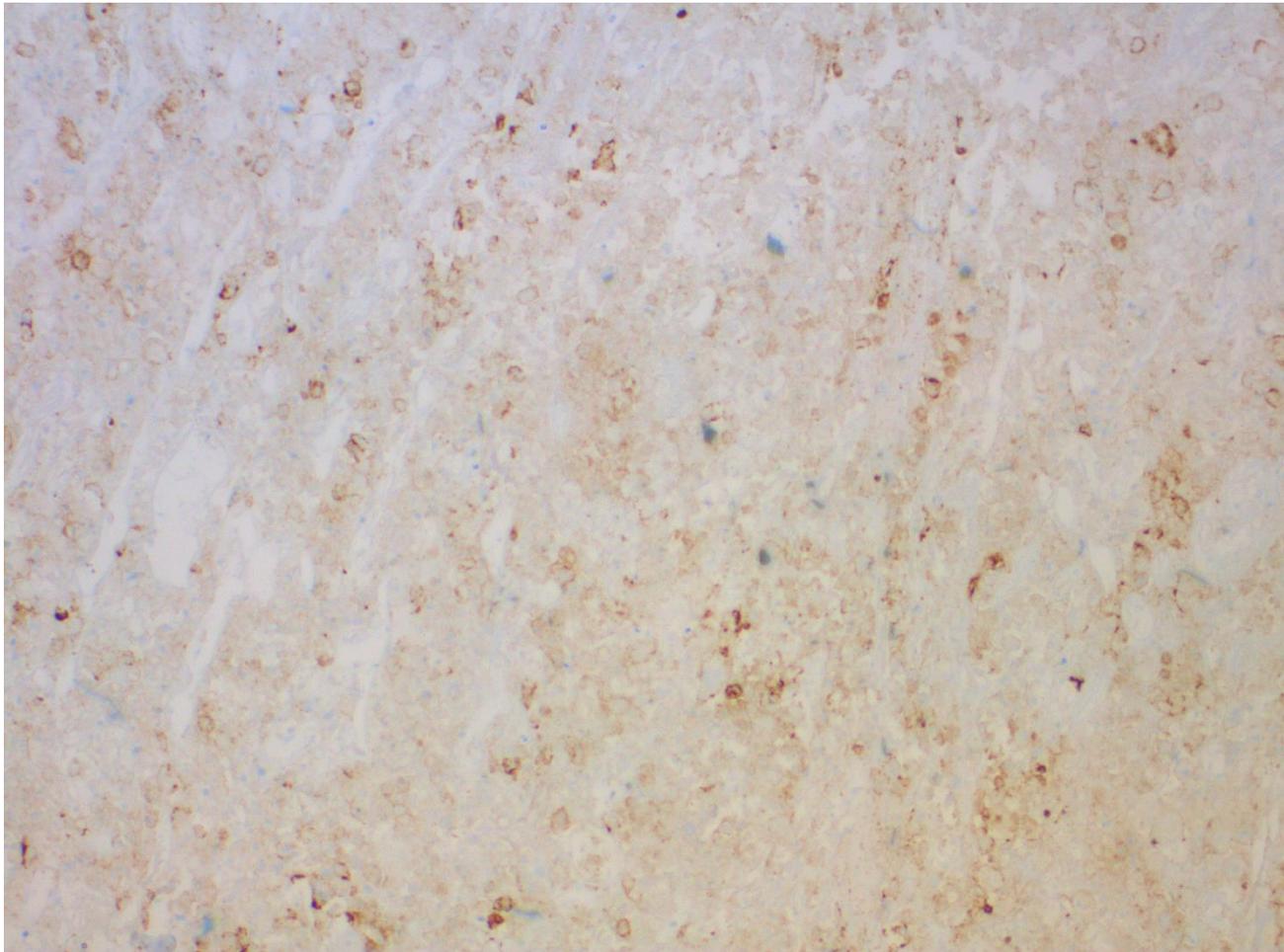
Positif : OK



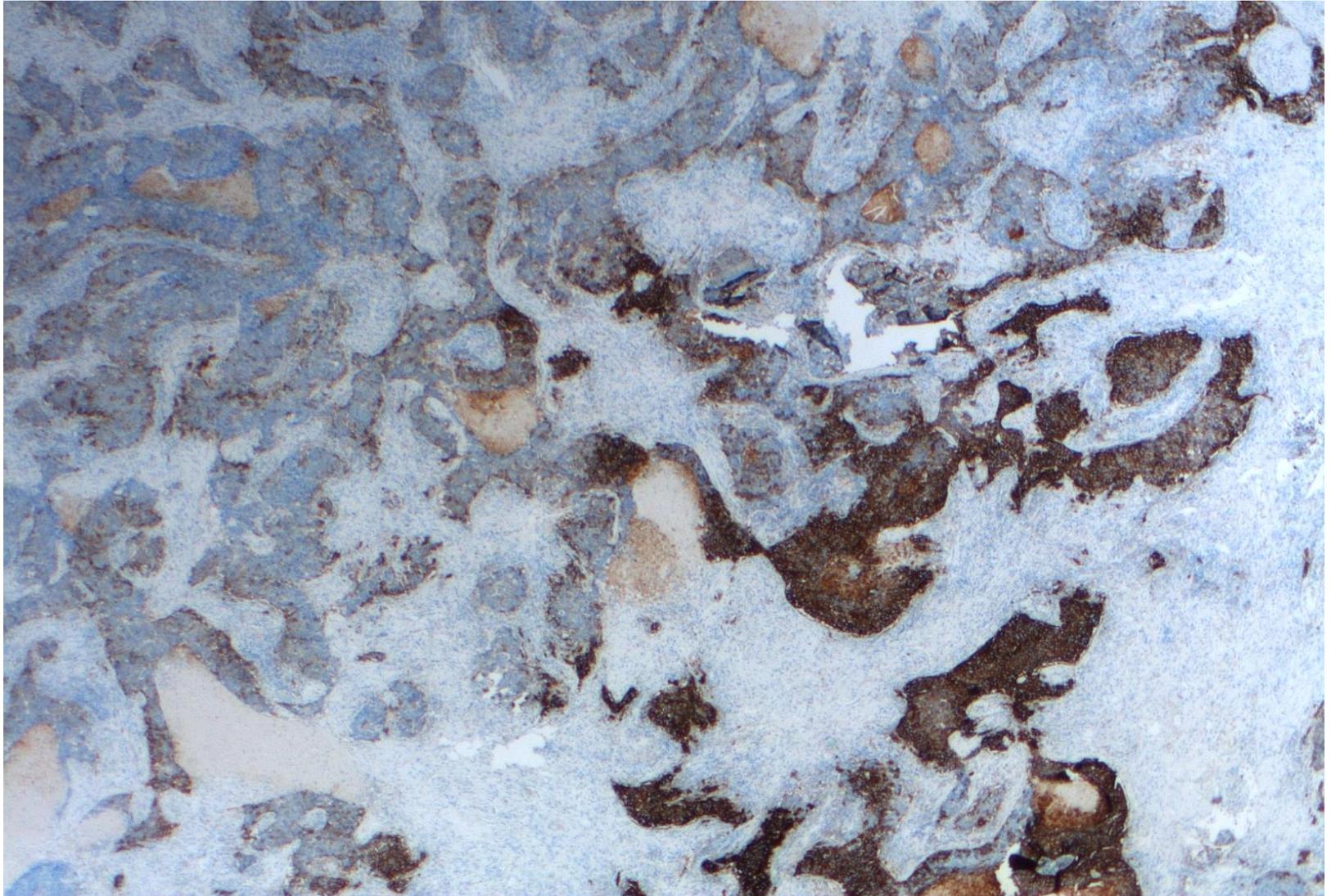
Négatif : IHC non valide

Analytique : nécrose

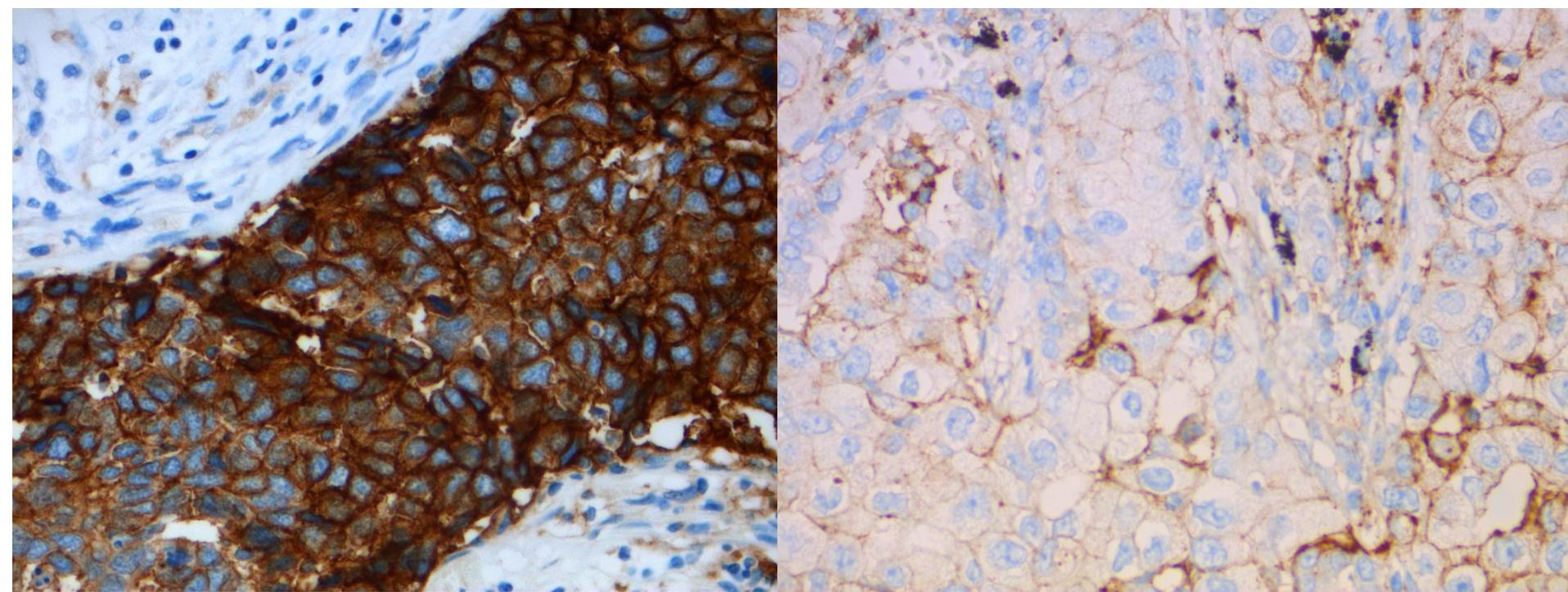
Ne pas prendre en compte pour évaluation



Analytique : hétérogénéité tumorale



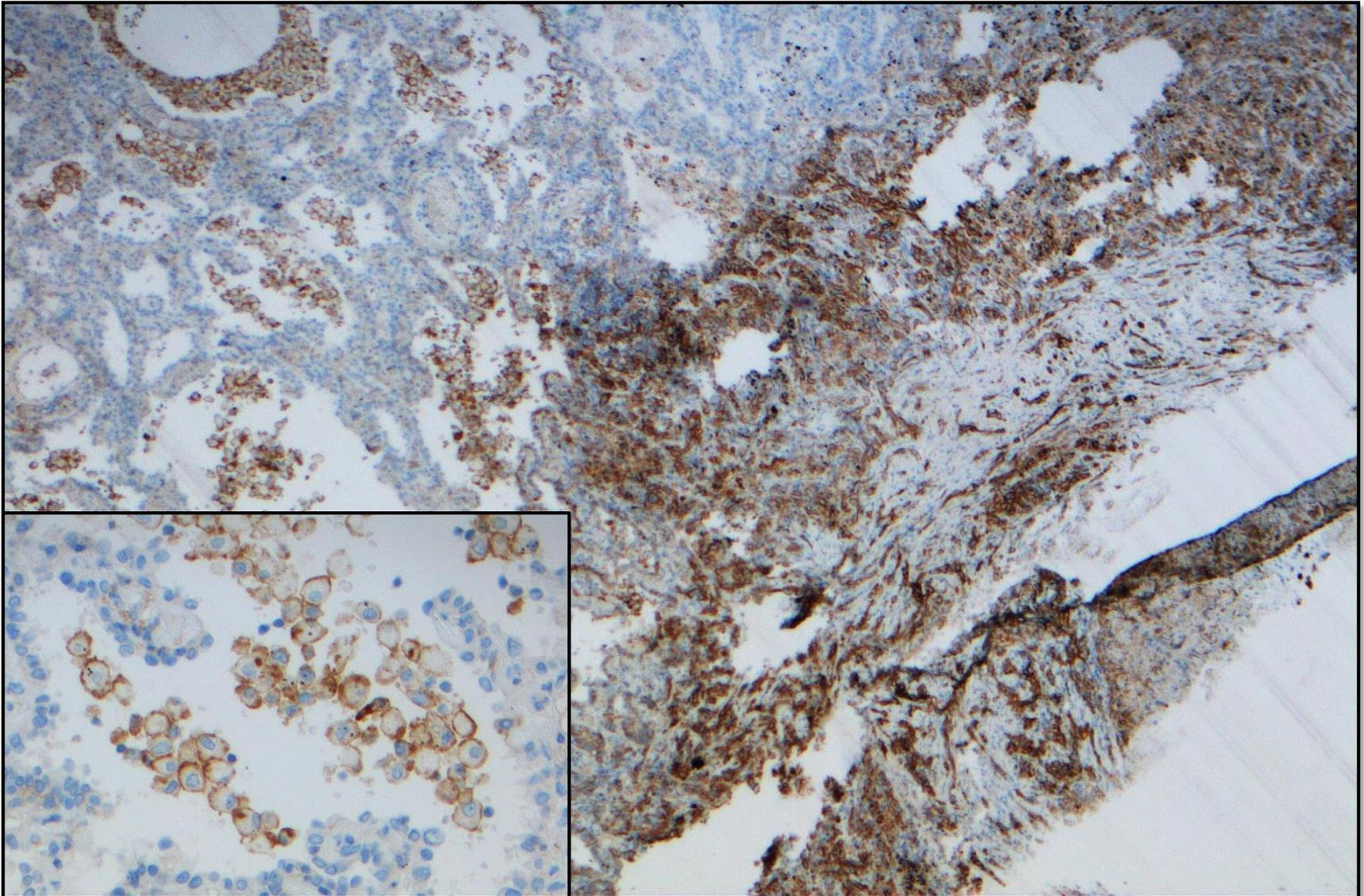
Analytique : hétérogénéité tumorale



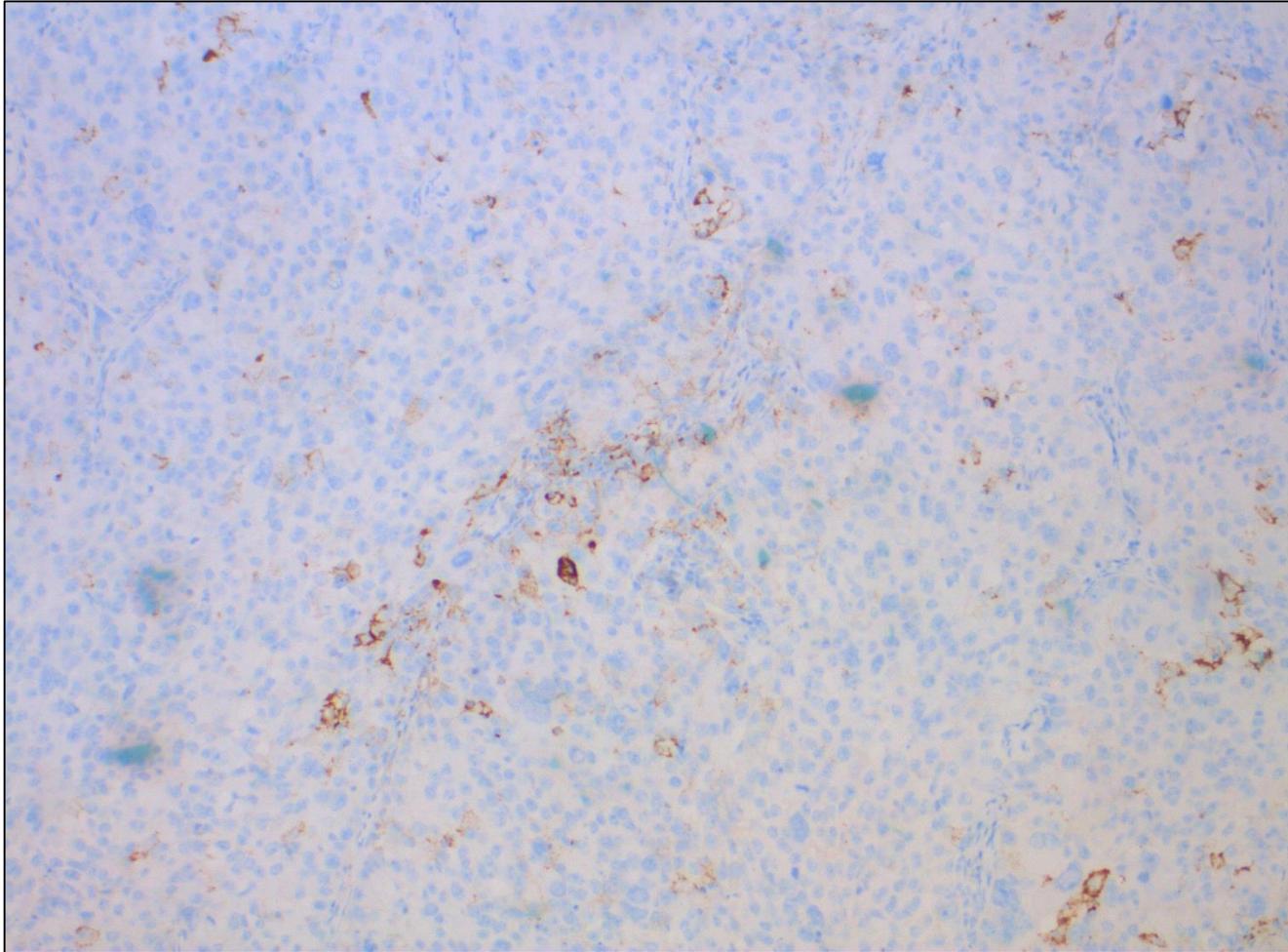
Zone de forte expression

Zone de faible expression

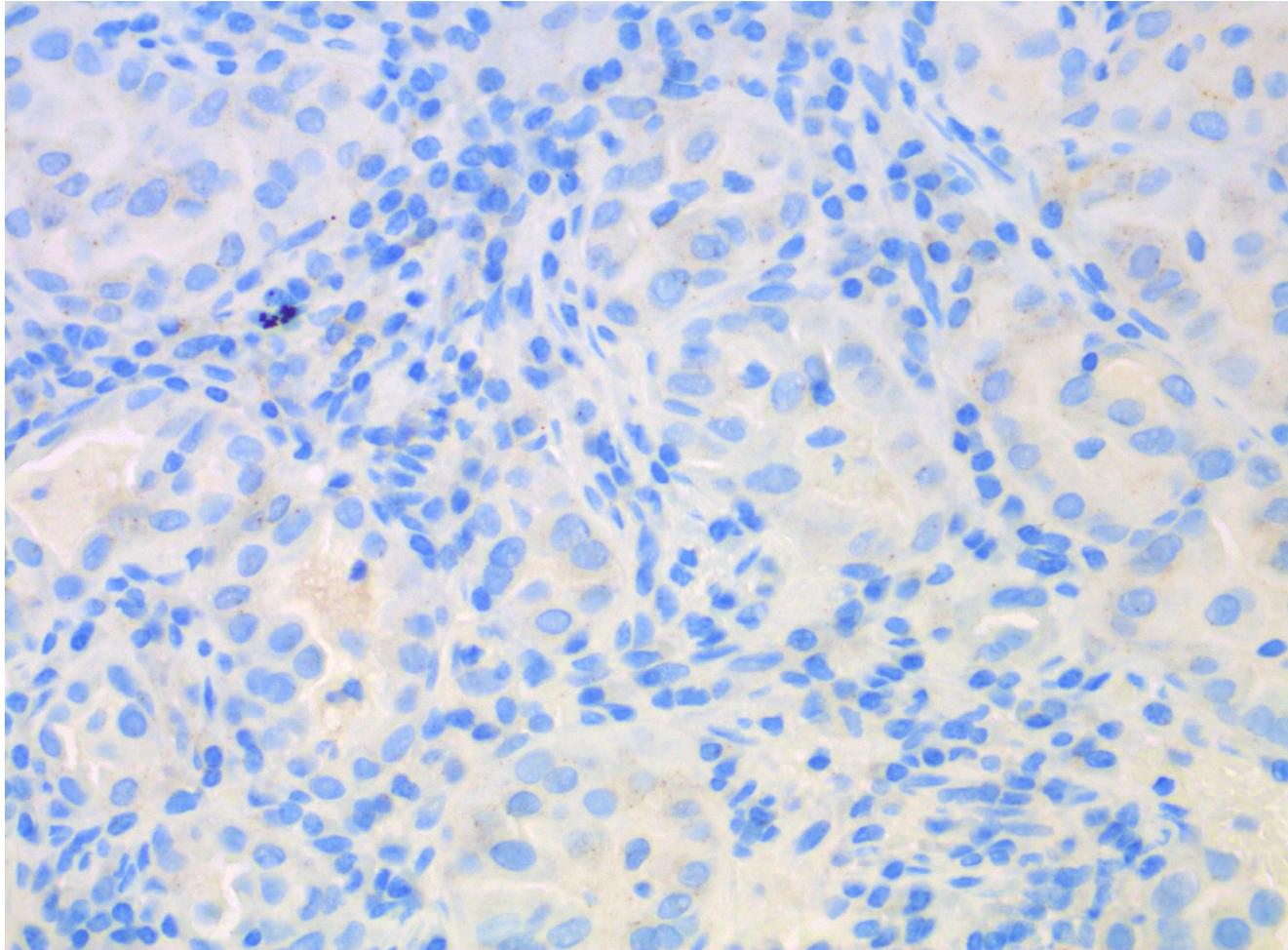
Analytique : interface tumeur/macrophages



Analytique : tumeur PD-L1 – infiltrée par des cellules immunes +



Analytique : tumeur PD-L1 – infiltrée par des cellules immunes –



Phase post-analytique

- Compte-rendu doit préciser :
 - Clone utilisé, automate, type de test (LDT ou kit).
 - Limitations éventuelles (décalcification, faible nombre de cellules tumorales).
 - Positivité témoin externe.
- Exprimer la conclusion en pourcentage de cellules positives.
- Contrôler régulièrement technique et bilan :
 - $< 1\%$ moins de 50%
 - $\geq 50\%$ au moins 20%
- Test assurance qualité (EQA, AFAQAP).

Conclusion

- Etude expression de PD-L1 indispensable pour prise en charge des CPNPC.
- Au diagnostic, à intégrer au panel de routine par le service ayant pris en charge le prélèvement.
- Évaluation des pratiques et des résultats.

Merci pour votre attention

