

# **PD-1/PD-L1 Expression im Gewebe – wie sieht die Realität aus?**

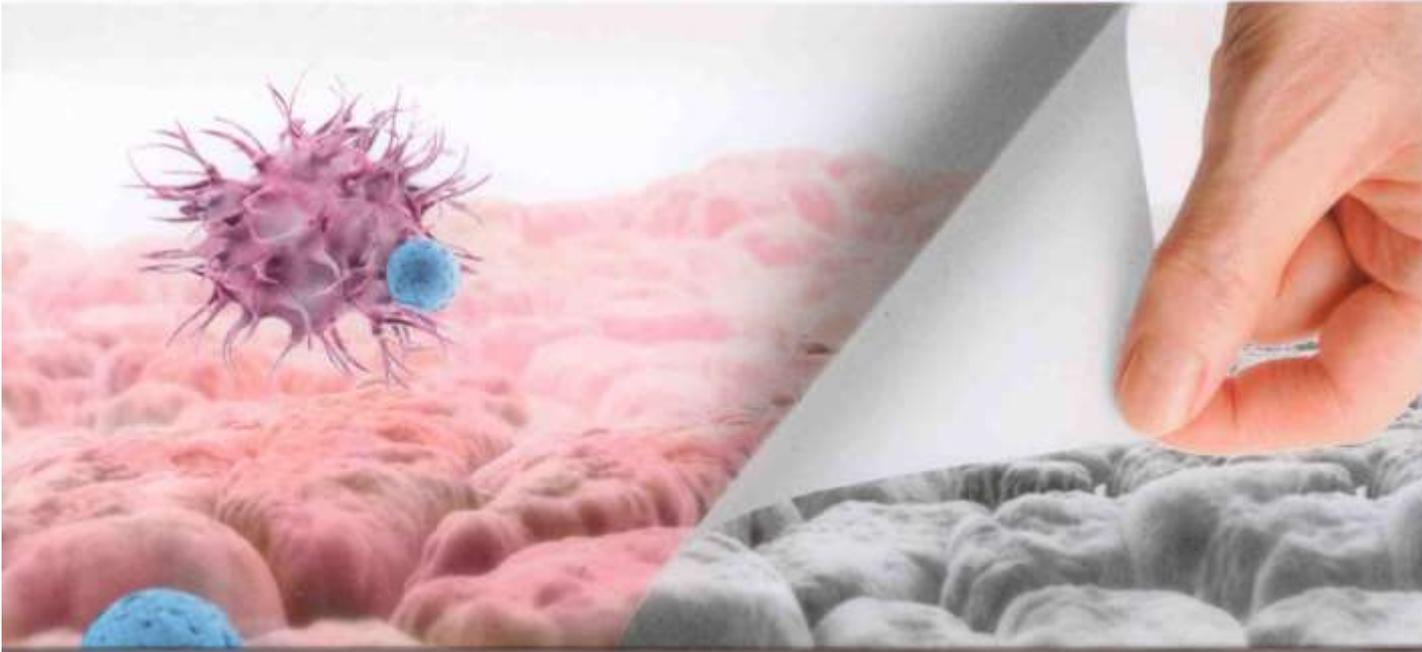
PD Dr. T Mairinger

# Eines Tages in der Post.....

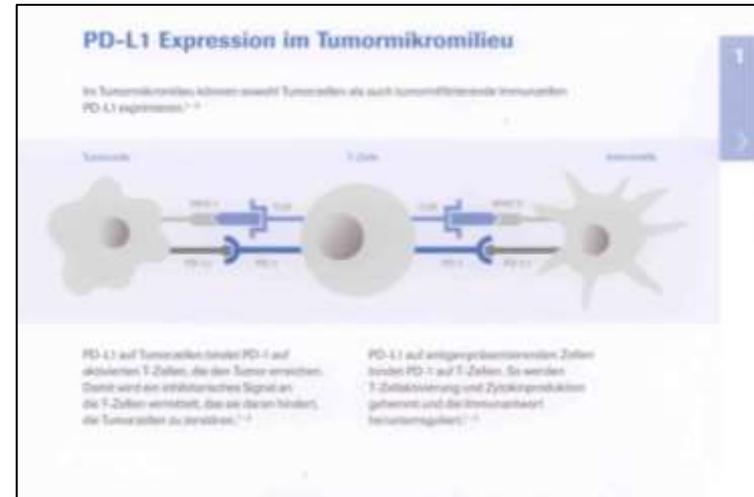
**Wir bringen Farbe ins Tumormikromilieu**  
*Zielgerichtete PD-L1 Färbung*



Logo: GM Ranger



# Alles also ganz easy....



**Zielgerichtete PD-L1 Färbung im Tumormikromilieu**

Der neue VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay wird zur Untersuchung der PD-L1 Expression in Tumorzellen und infiltrierenden Immunzellen eingesetzt. Dieser Test ist hochspezifisch, reproduzierbar und wurde entwickelt, um den visuellen Kontrast der Immunzellfärbung in der Mikroumgebung des Tumors zu verstärken.<sup>4</sup>

**Ventana PD-L1 (SP142) IHC Assay:**  
**gebrauchsfertig, zuverlässig, reproduzierbar**

**PD-L1 Färbung im Gewebe eines Brustkarzinoms, × 10.**

- Monoklonaler Kaninchenantikörper**  
Spezifität und Spezies
- Hohe Färbegutheit**  
Optimiert für Immunzellfärbung
- Standardisierung und Automatisierung**  
Reproduzierbare Ergebnisse

Frage an die pt Zuhörer:

# Ist PD-L1 der richtige Biomarker?

**(Erwartet: Schweigen.....)**

**„der Alarmschrei des afrikanischen Elefanten soll in  
Schweigen bestehen“**

(Wolf Haas, in „Verteidigung der Missionarstellung“)

## 2\* Immun (-therapie und -histochemie) – ein perfektes Paar?

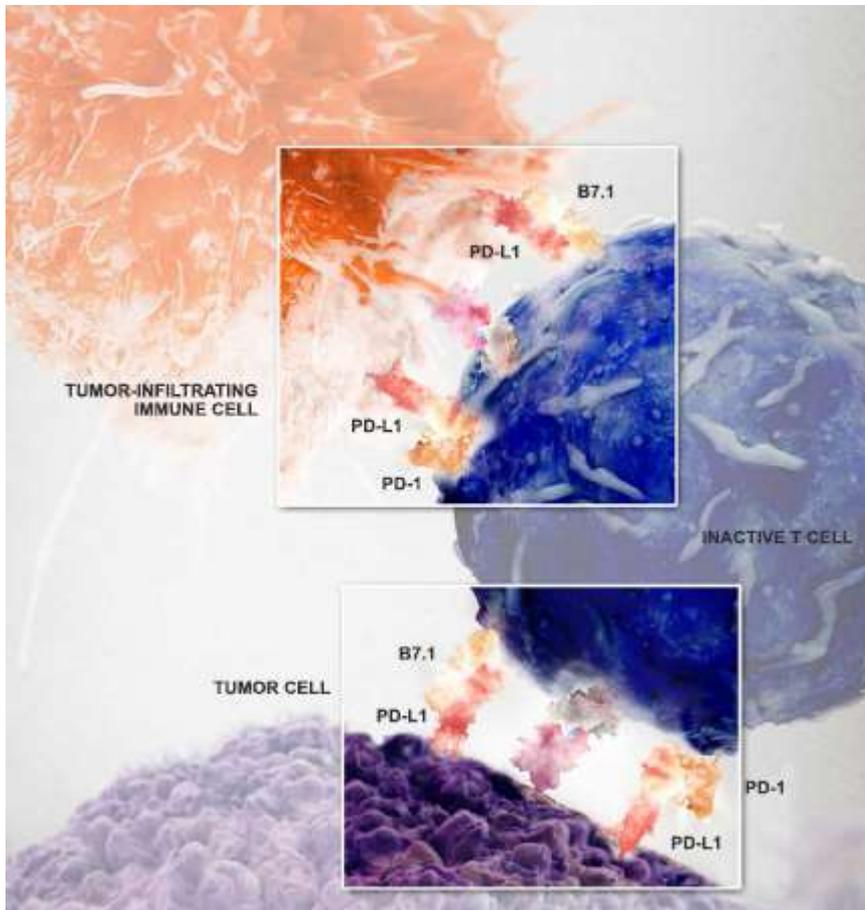
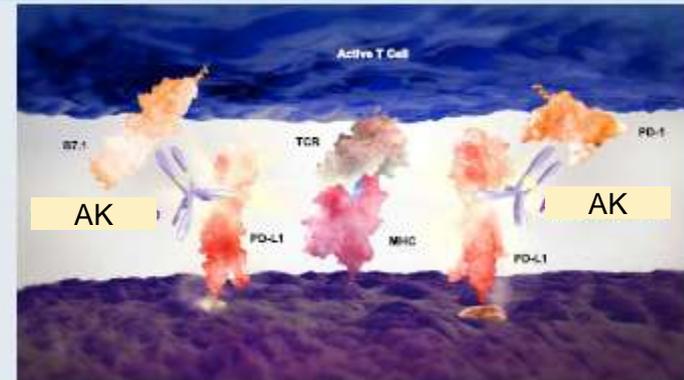


Figure 2. Atezolizumab (MPDL3280A) Is a Humanized Anti-PDL1 Antibody That Inhibits the Binding of PD-L1 to PD-1 and B7.1



- Antikgene sind bekannt – passgenaue Antikörper müssten verfügbar sein
- PDL-1/PD-1 schon lange in der Hämatologie bekannt
- ergo:  
Tumor PDL-1 positiv – Therapie wirkt?

## Resultat:

- Die Idee ist grundsätzlich nicht neu und durchaus attraktiv
- Prinzipiell hat die Therapie Potential in vielen Organen für viele Entitäten

### Aber:

- Die Therapie ist teuer und hilft auch nur einen Teil der Patienten
- Es gibt die Therapie, aber den **verlässlichen** Biomarker nicht
- 1:1 funktioniert gar nicht (positiv heißt ansprechen????)

### Folglich:

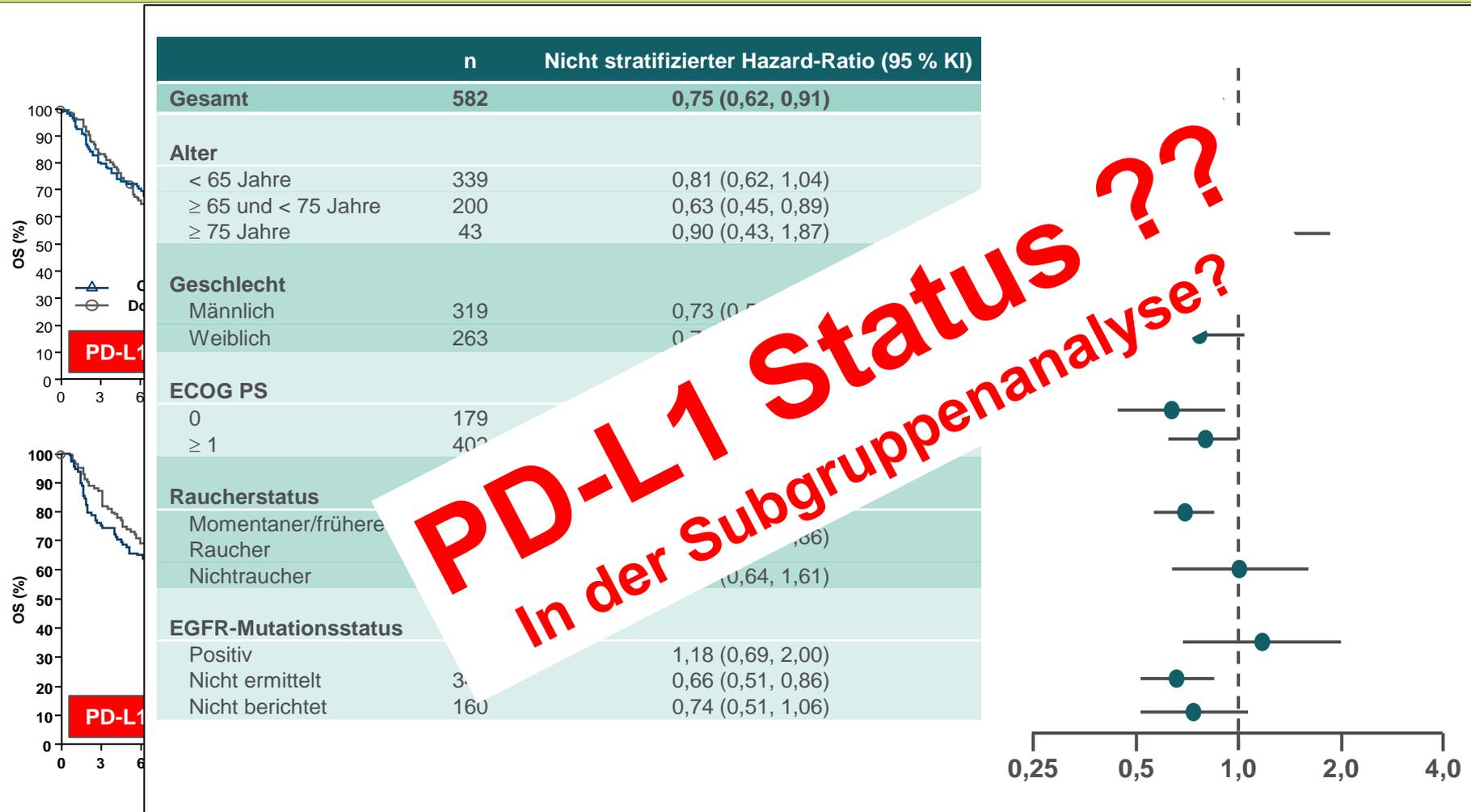
- Die „Biomarkersuche“ wurde ausgedehnt
  - Immunzellen
  - Stroma
  - Verhältnis TC/IC
  - PDL-2, Chromosom 9p24 Amplifikation?

**.... und gefunden wurde wenig**

# Trotzdem baut man sich eine Rationale.....



## CheckMate 057: Gesamtüberleben und PD-L1 Expressionslevel



# Welchen Antikörper etablieren?

Klon	Spezie	Domain	Hersteller	Zulassung
28-8	monkl. Kaninchen	membranös / extrazellulär		RUO
E1L3N	monkl. Kaninchen	intrazellulär	Cell Signaling	RUO
E1J2J	monkl. Kaninchen	extrazellulär	Cell Signaling	RUO

**Jetzt neu: Quartett Klon QT-1  
billig und rot....**

Klon	Spezie	Hersteller & Geräteplattform	geplante Zulassung	klinische Erprobung	Hersteller
28-8	monkl. Kaninchen	DAKO	CE-IVD	Nivolumab	BMS
22C3	monkl. Maus	DAKO	CE-IVD	Pembrolizumab	MSD
SP142	monkl. Kaninchen	Ventana	CE-IVD	Atezolizumab	Roche
SP263	monkl. Kaninchen	Ventana	CE-IVD	Durvalumab	Astra Zeneca

# Wie sieht das PD-L1 Färbeergebnis aus?

## Färbung mit 22C3 Maus-Antikörper:

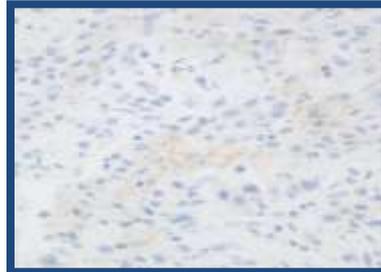
0+



0 % positiv

PD-L1-negativ

1+



2 % positiv

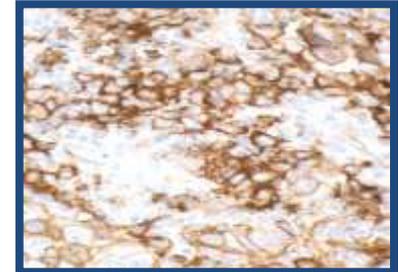
2+



100 % positiv

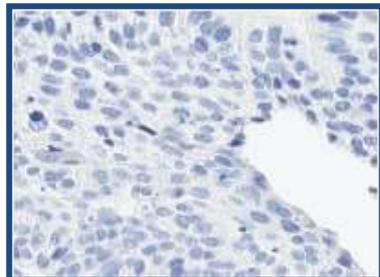
PD-L1-positiv

3+

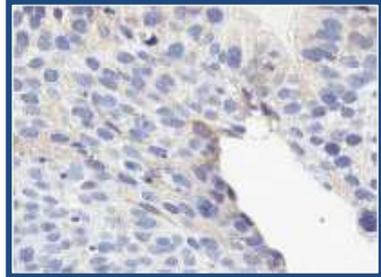


100 % positiv

## Färbung mit 28-8 Kaninchen-Antikörper:

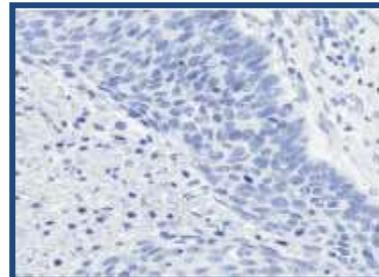


PD-L1-negativ

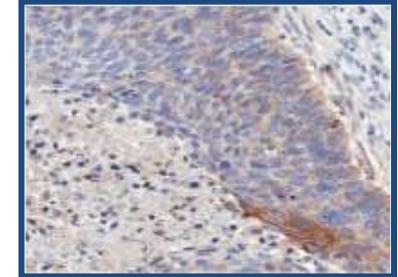


PD-L1-positiv

1 % Färbung



PD-L1-negativ



PD-L1-positiv

5 % Färbung

# PDL-1 Immunhisto Fakten Ende 2017

- Immuntherapie wird für einen Teil der Patienten
- Logische Immuntherapie  
Medikation
- Unübersichtlichkeit  
(erhältlich/finanziell)
- Unübersichtlichkeit  
Der Klinik die Verantwortung überlassen?
- Semiquantitative  
Individualitäts- und Prozessbias

**Was tun?**

**Reflextestung?**

Wenn ja welche AK?

**Testung auf Zuruf?**

Der Klinik die Verantwortung überlassen?

**Abwarten?**

negativ

# Ein wichtiger Zwischenschritt:

## **Diagnostic PD-L1 immunohistochemistry in NSCLC, results of the first German harmonization trial**

- **15 Cases Test set**
- **15 Cases Training set**
- **4 AK**
- **9 Pathologists**
- **Präpariert/gefärbt in den Forschungslabors von DAKO und Roche**

## Harmonisierungsstudie: Färbemuster

- membranäre Färbung: komplett/inkomplett
- zytoplasmatische Färbungen werden momentan nicht berücksichtigt
- die verschiedenen Assyas zeigen nicht in allen Fällen deckungsgleiche Muster
- bei Anwendung einer Plattform für die verschiedenen Antikörper können aber vergleichbare Ergebnisse erzielt werden

beinhalten



## Zusammenfassung

- die Prävalenz von 'PD-L1 positiv' ist abhängig von verwendetem Assay und Auswertekriterien.
- PD-L1 IHC bei NSCLC zur Identifizierung von Patienten mit höherer Wahrscheinlichkeit eines klinischen Nutzens der Immuntherapie.
- PD-L1 ICH Negativität kann derzeit rein wissenschaftlich betrachtet nicht als Ausschlusskriterium für eine gegen PD-1 gerichtete Immuntherapie betrachtet werden.
- ob und wie PD-L1 IHC schließlich als Biomarker eingesetzt wird, ist noch nicht abschließend geklärt.

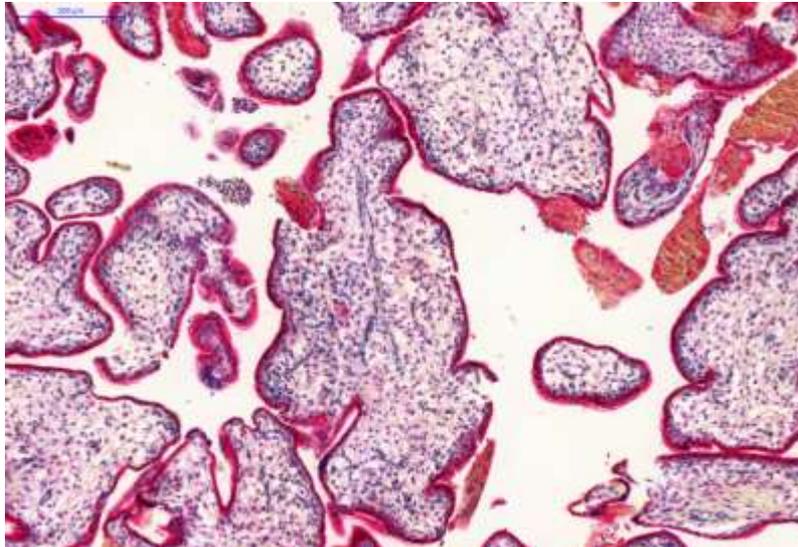
## Fazit: der Harmonisierungsstudie:

- PD-L1 Färbung ist technisch standardisierbar
- Interpretation ist sowohl in der Inter- als auch Intraobserver- Variabilität in akzeptablen Grenzen möglich
  - Aber:
- Ist das auch in der Companion-Diagnostik ein sinnvolles vorgehen?
- Wo liegen die Cut-offs? Für welche Biologie?

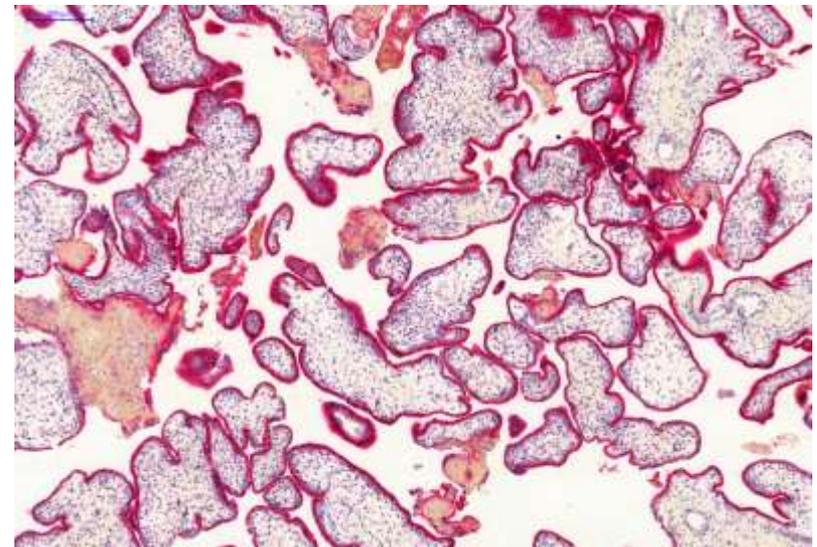
# Reaktionen – so klar und eindeutig?

	<b>PD-1</b> 
<b>Binds to</b>	PD-L1 and PD-L2
<b>Expression</b>	Expressed on activated immune cells (T-, B- and NK cells), monocytes and dendritic cells
<b>Inducibility</b>	Inducible on activated T cells and APCs
<b>Function on ligand/receptor interaction</b>	Co-inhibitory molecule for induction of T cell response to antigen
<b>Importance in the cancer immunity cycle</b>	Role in immunosuppression by tumour cells

# PDL-1 Immun in der Praxis - Kontrollen



28-8 Abcam



E1L3N Cell Signalling

**Morphologie**

**Kleinzellig**

- MiB-1
- CKMNF116
- CD56

Fakultativ

- LCA
- TTF-1
- KI-1

**Adenokarzinom**

- TTF-1
- MIB-1
- PD-L1 (2Ak)
- (ROS-1)

Fakultativ

- KI-1 / CK7

Nur bei angegebener TKI-Resistenzentwicklung an der Rebiopsie

- HER-2 (CISH)
- C-MET (IH/FISH)
- T790M (20µm)

**2 Leerschnitte**

- EGFR + KRAS
- EML4-ALK RT-PCR
- 1 x (20µm)**
- EML4-ALK CISH
- ROS-1 FISH
- 3 x (3µm; beschichtet)**

**1 HE-Kontrolle**

**PE-Karzinom**

- p40
- MiB-1
- PD-L1 (2Ak)

**NSCLC**

- p40
- TTF-1
- MiB-1
- PD-L1 (2Ak)
- (ROS-1)

Fakultativ

- Vimentin
- Synaptophysin
- CD56
- Napsin

**2 Leerschnitte**

- EGFR + KRAS
- EML4-ALK RT-PCR
- 1 x (20µm)**
- EML4-ALK CISH
- ROS-1 FISH
- 3 x (3µm; beschichtet)**

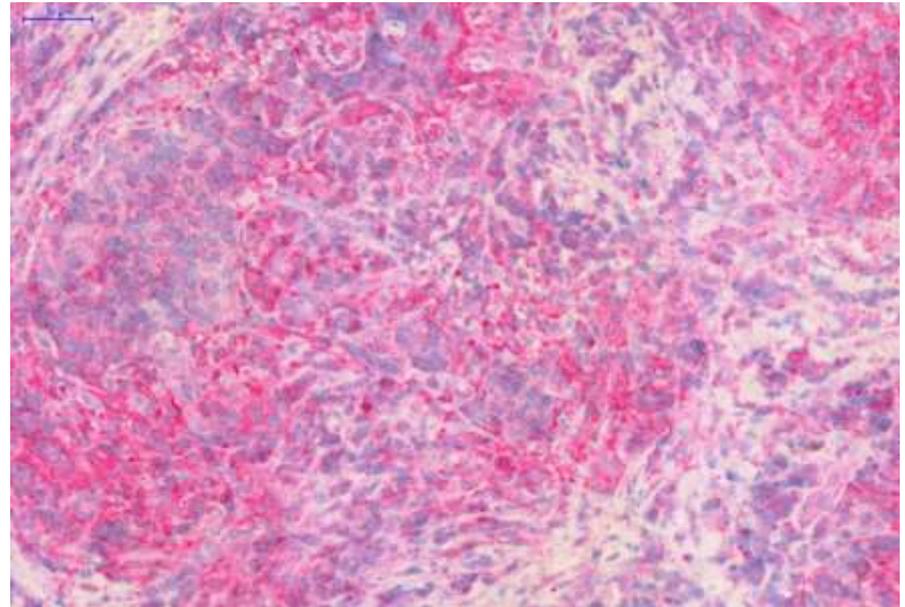
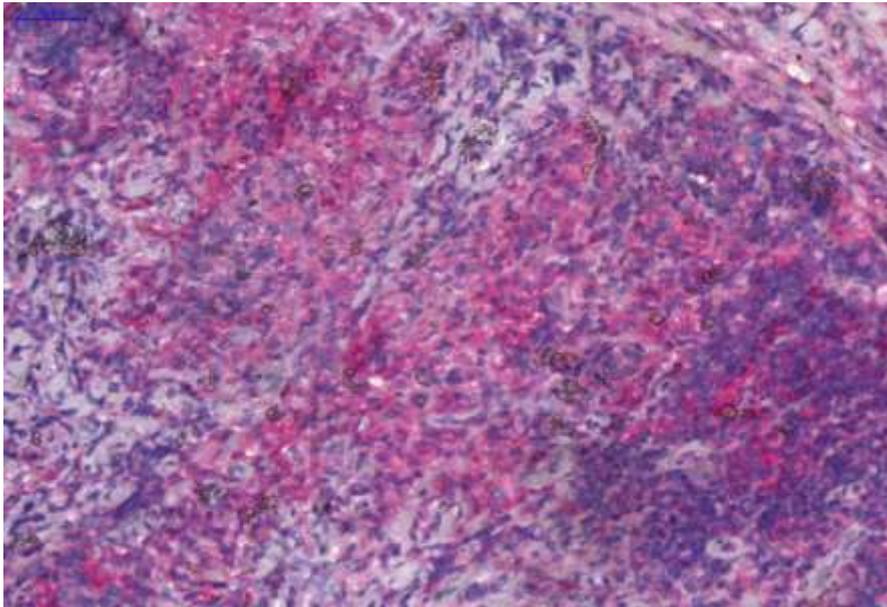
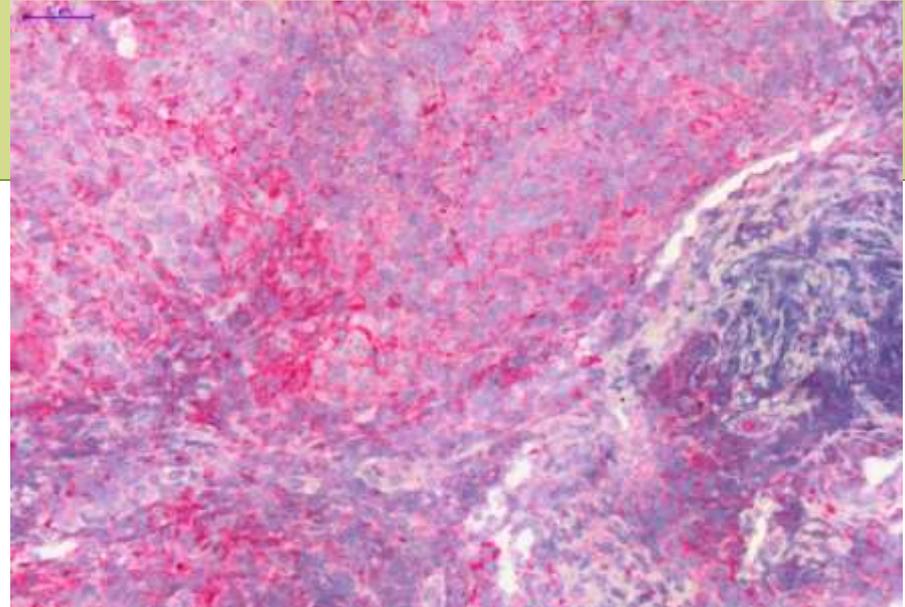
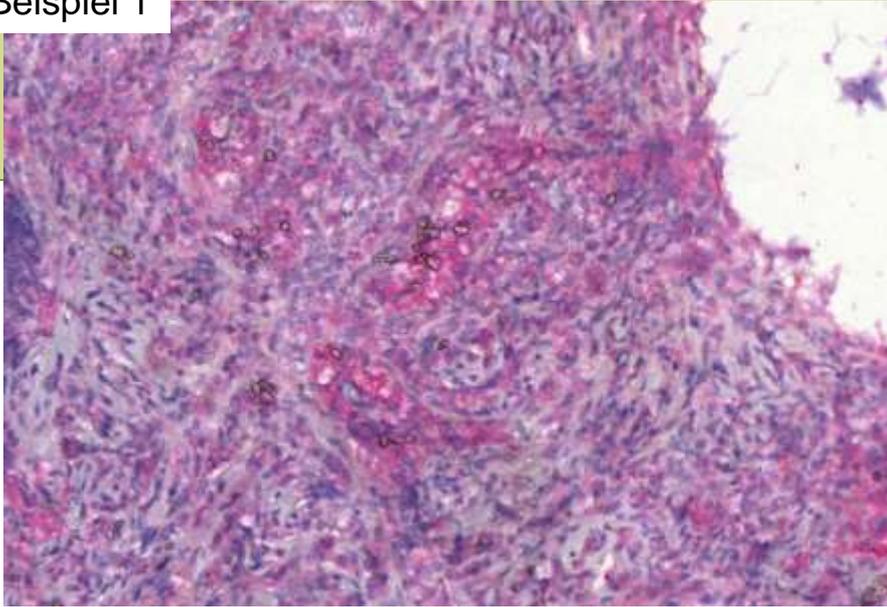
**1 HE-Kontrolle**

# Überblick PDL-1 AK Testung in der Routine 2016 (die ersten 159 Fälle)



- **106 Fälle PD-L1 negativ (beide AK) / 53 Fälle positiv (30 %)**
- **Beide AK gleich positiv            21 (13,2 % bzw. 39,6 %)**
  - > 50%            8 (davon 1 E1L3N negativ)
  - >= 10            6
  - < 10            5
- **28-8 > E1L3N                            15 (9,4 % bzw. 28,3 %)**
  - > 50 %            5
  - >= 10            6
  - < 10            4 (davon 3 E1L3N negativ)
- **E1L3N > 28-8                            17(10,7% bzw. 32%)**
  - > 50 %            7
  - >= 10%            8 (davon 4 28-8 negativ)
  - > 10 %            2 (beide 28-8 negativ)

Beispiel 1



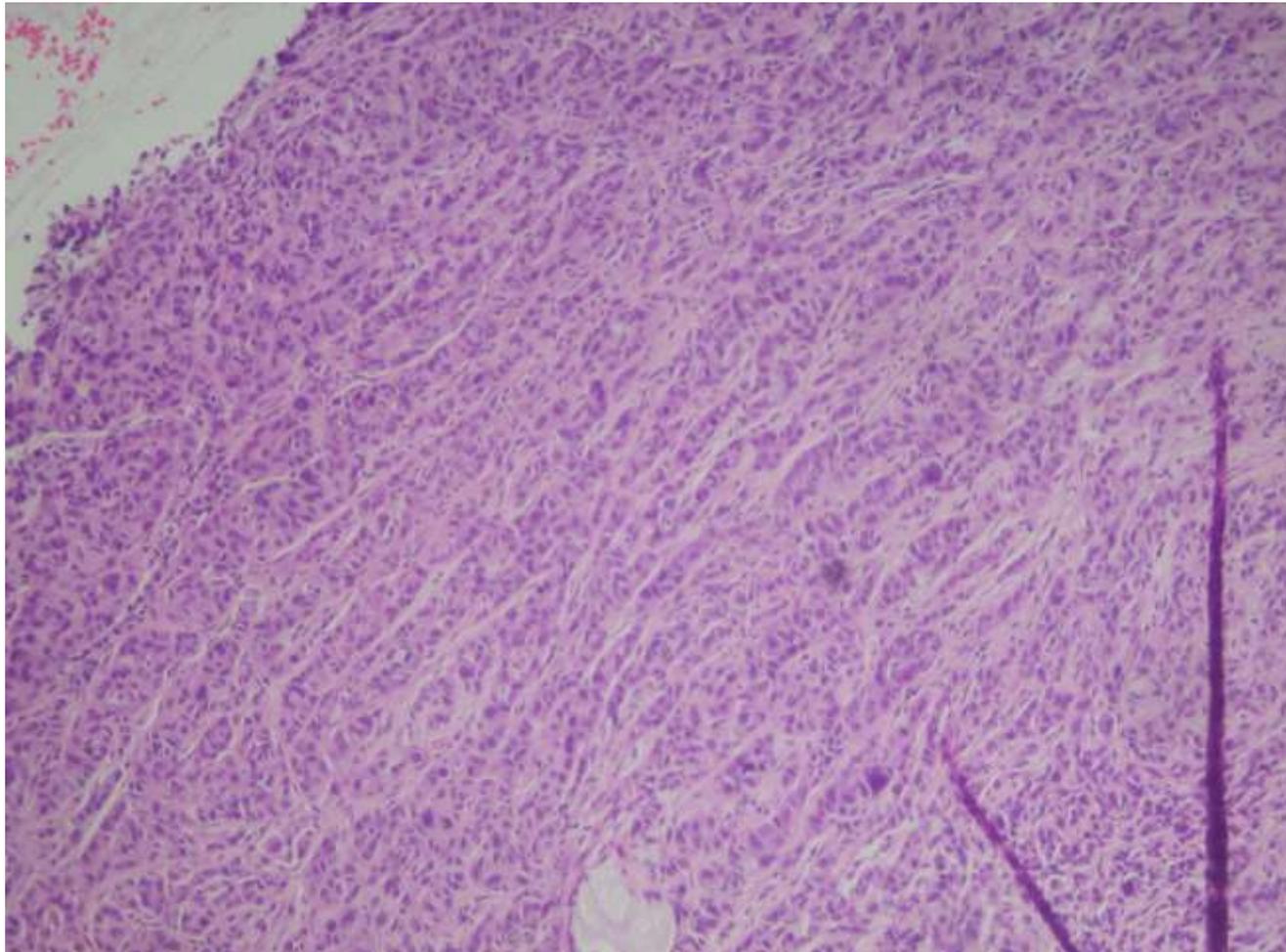
E1L3N Cell Signalling

28-8 Abcam

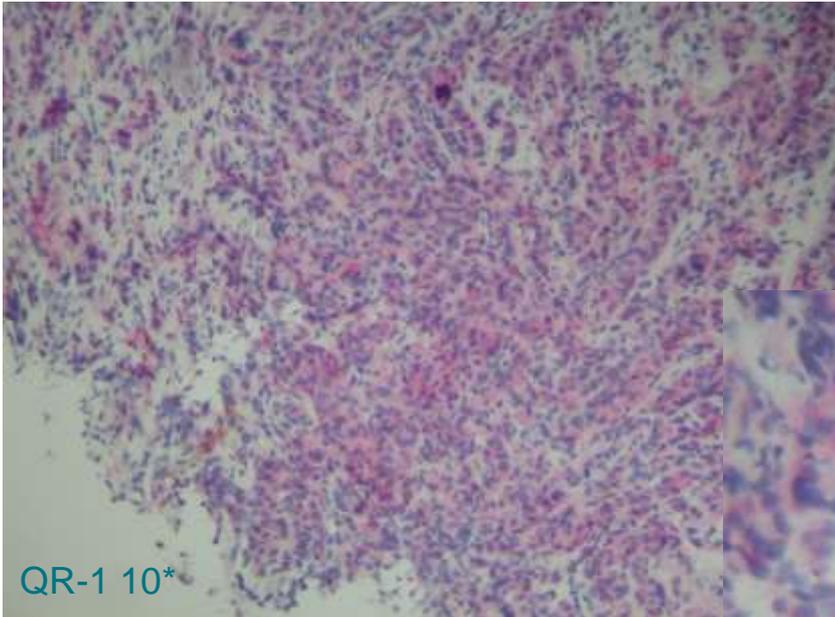


Biologie?

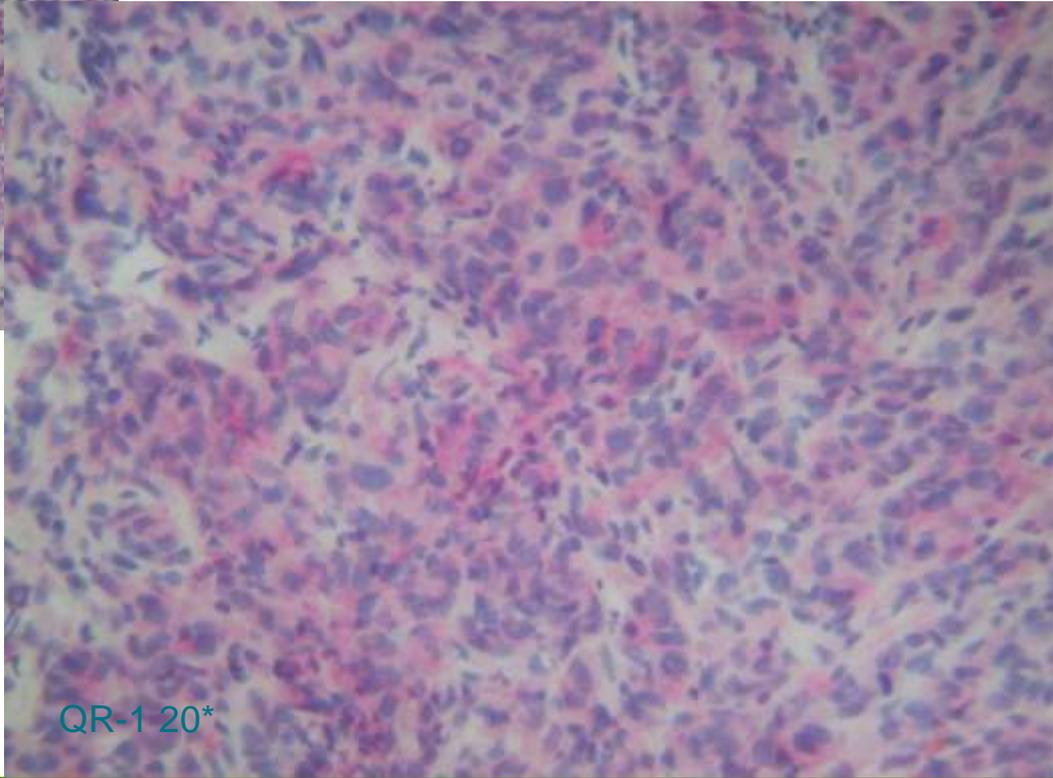
# Patho Fall 1 – gering differenziertes NSCLC



# PDL-1 ca 50% positiv

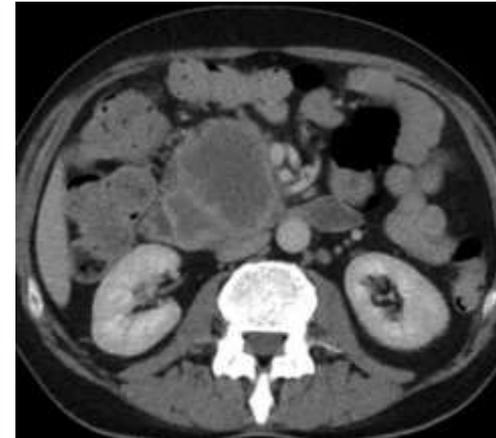


QR-1 10\*

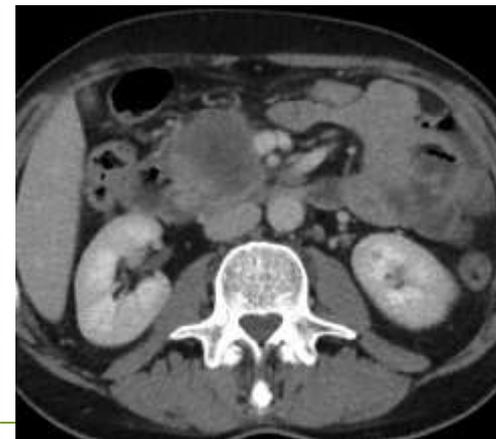


QR-1 20\*

# 4. Linie Nivolumab



2 Zyklen Nivolumab



# Biologie Fall 2: Patient Drittlinientherapie nach 1 Jahr Nivolumab



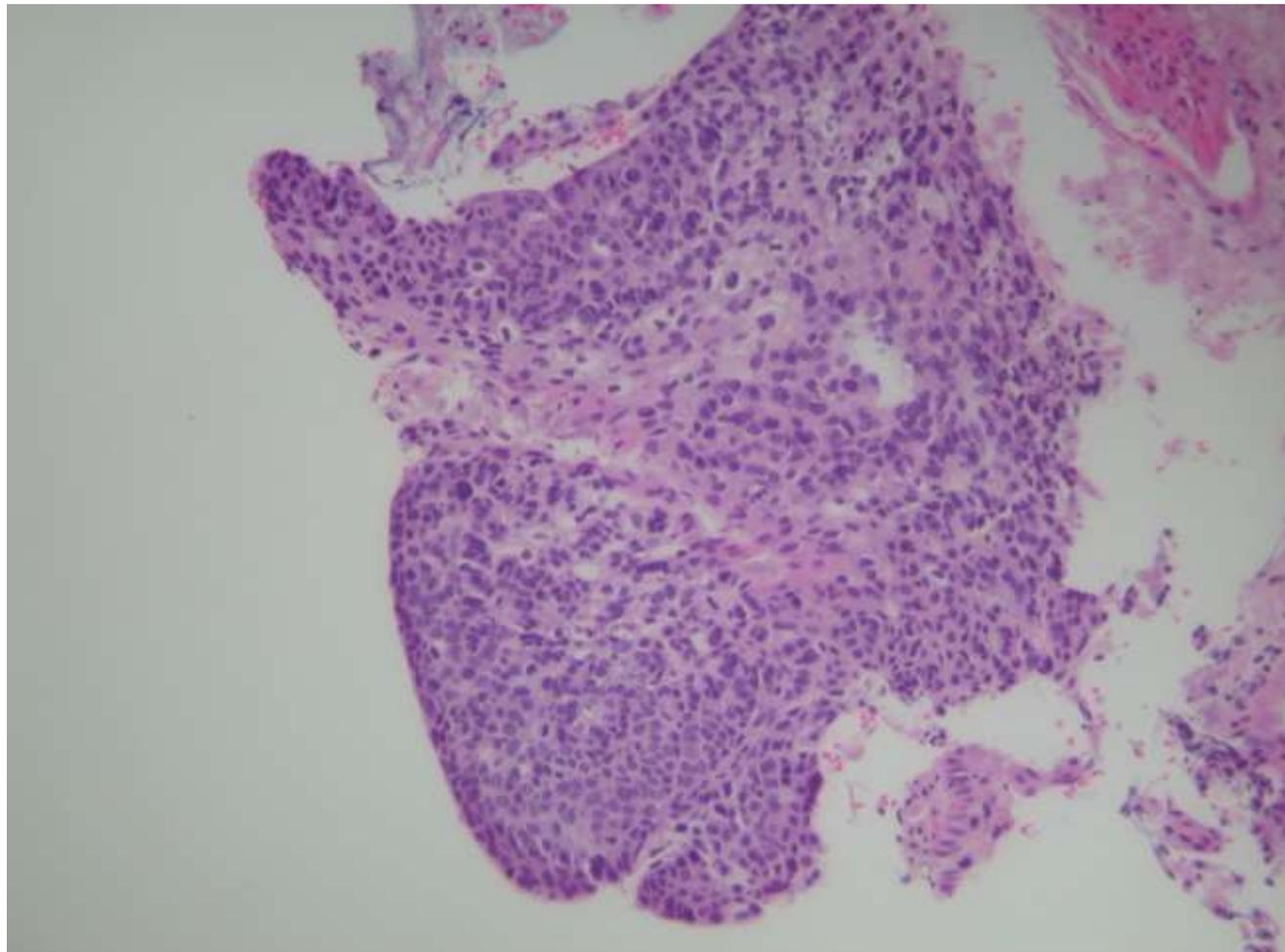
08/2016

1 Jahr Nivolumab

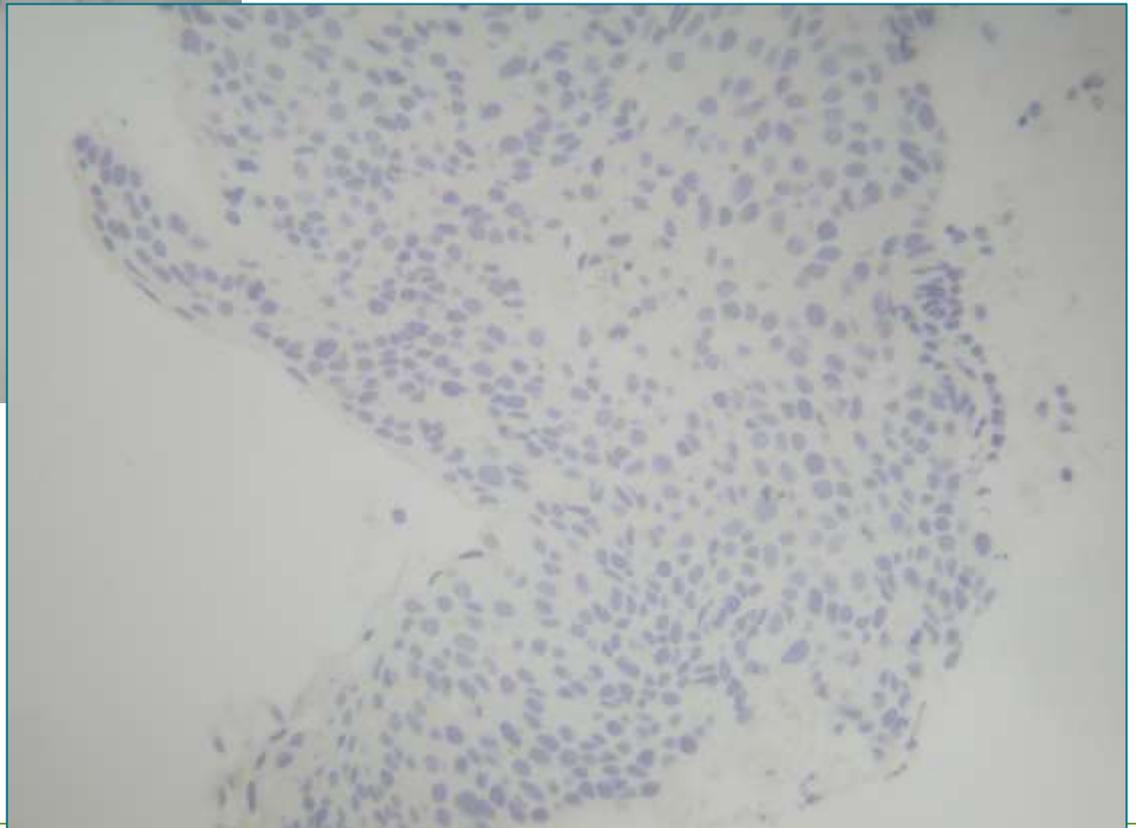
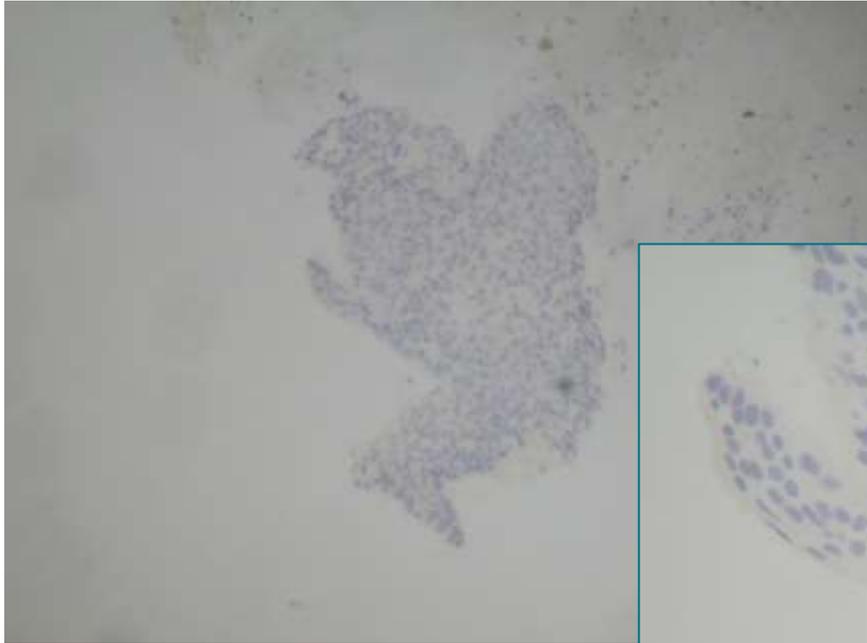


**PD-L1?**

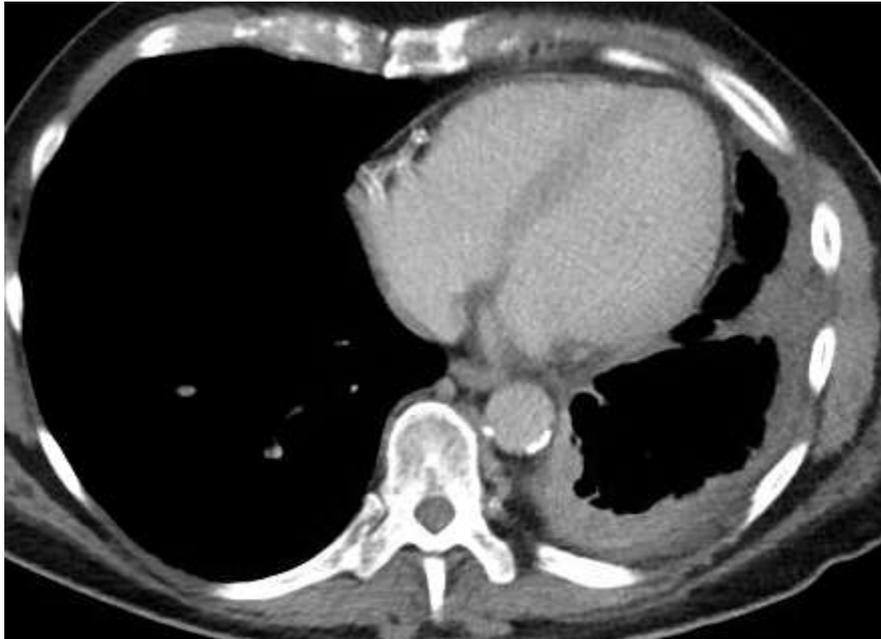
# Patho Fall 2 Plattenepithel-CA



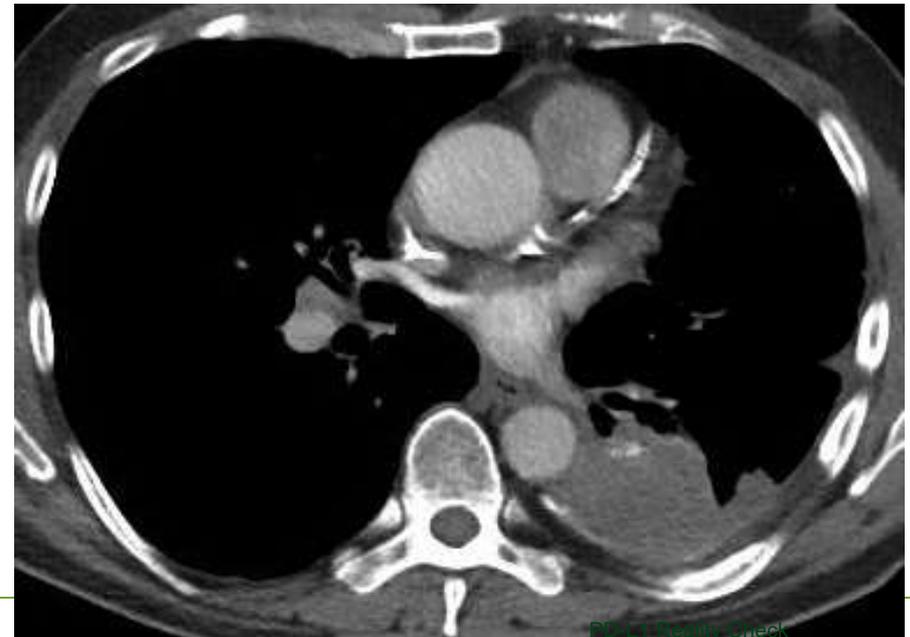
# QR-1 - negativ



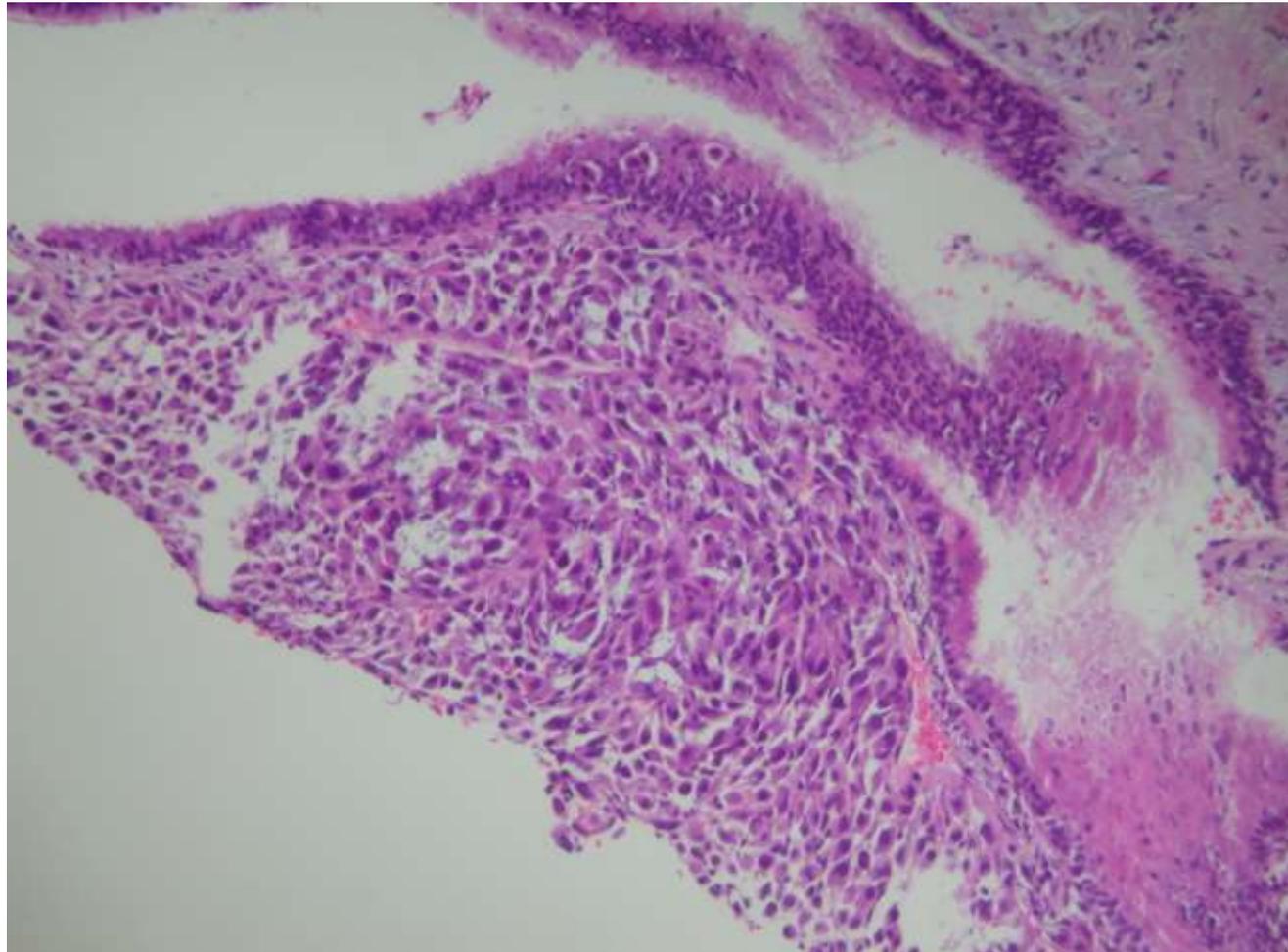
Fall 3:  
03/2016 Progress in der 6. Therapielinie



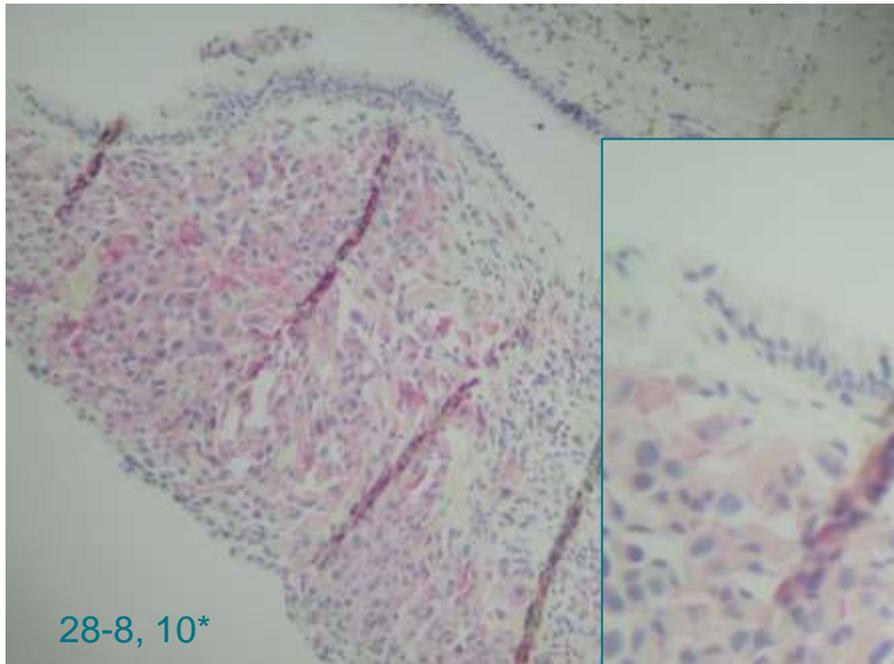
**PD-L1?**



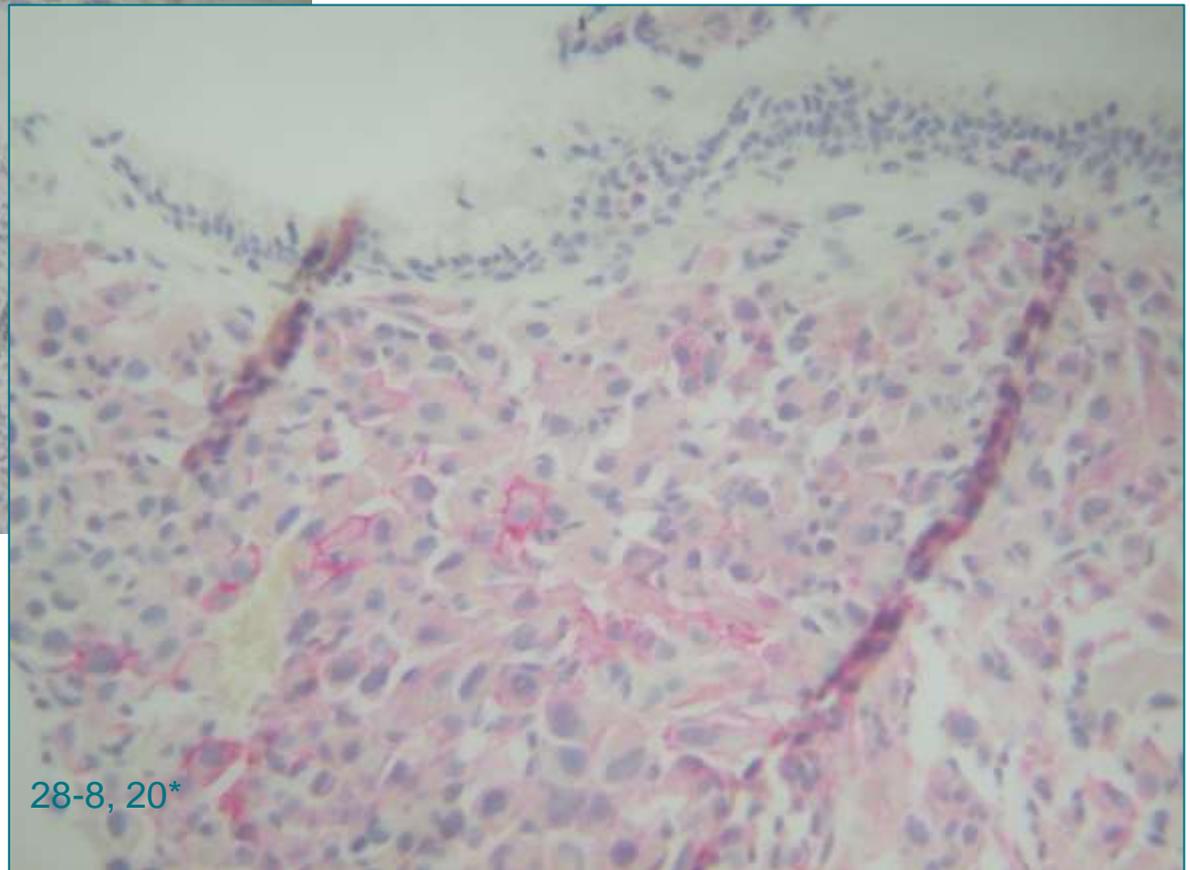
# Patho Fall 3 – TTF-1 positives Adeno-Ca



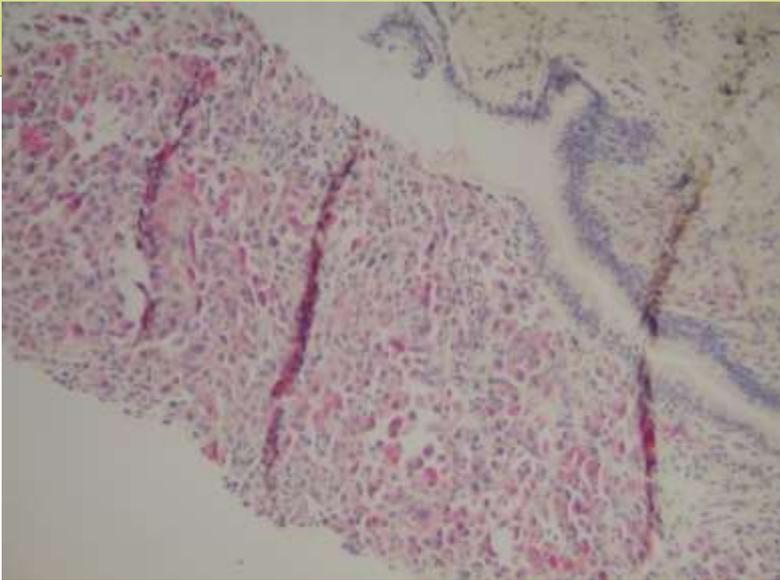
40 % der Zellen positiv



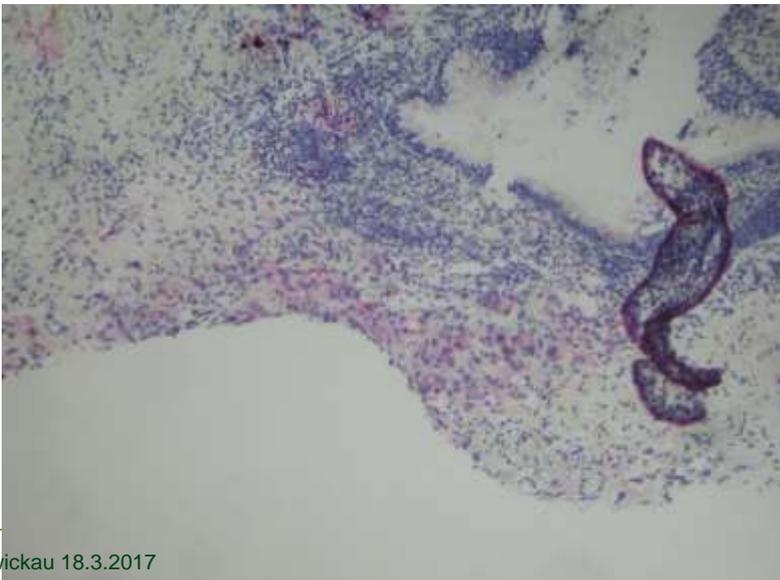
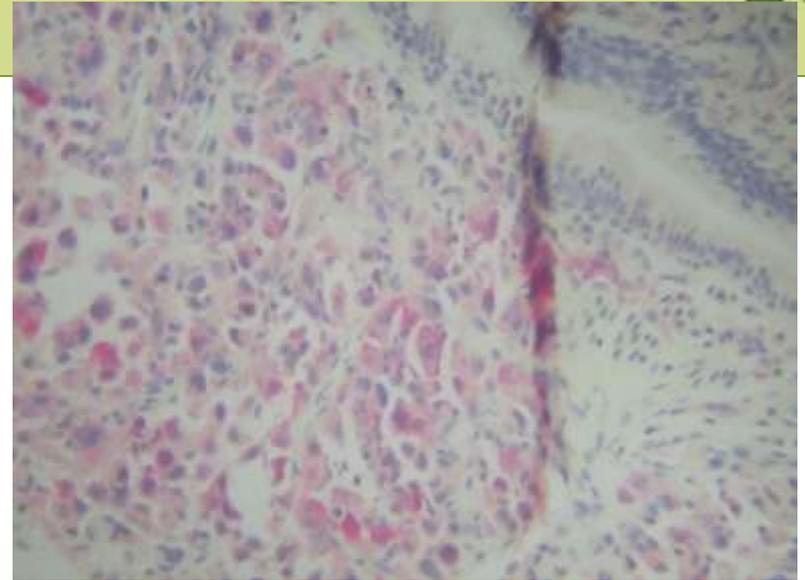
28-8, 10\*



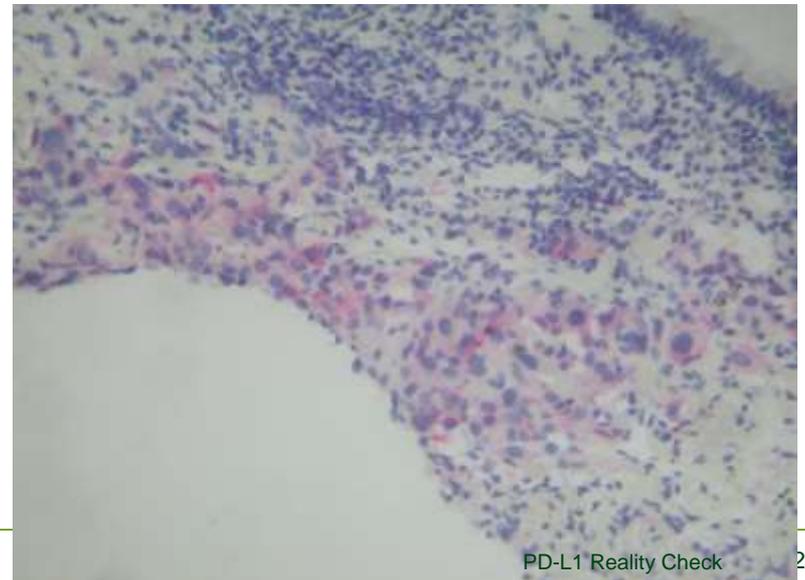
28-8, 20\*



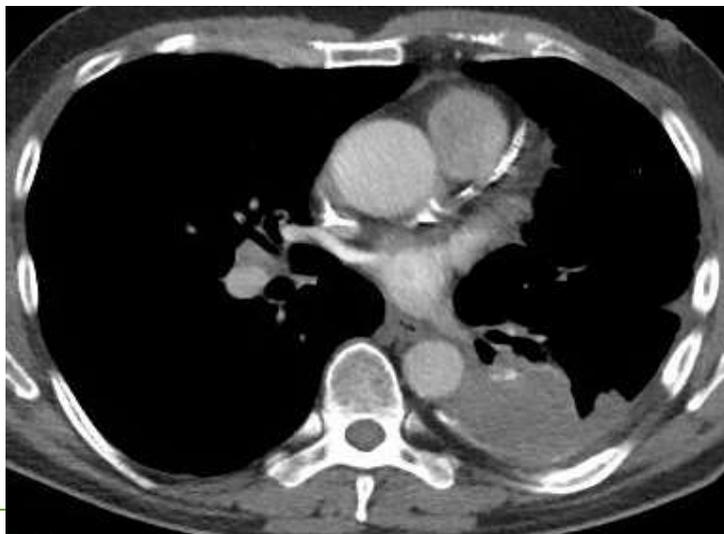
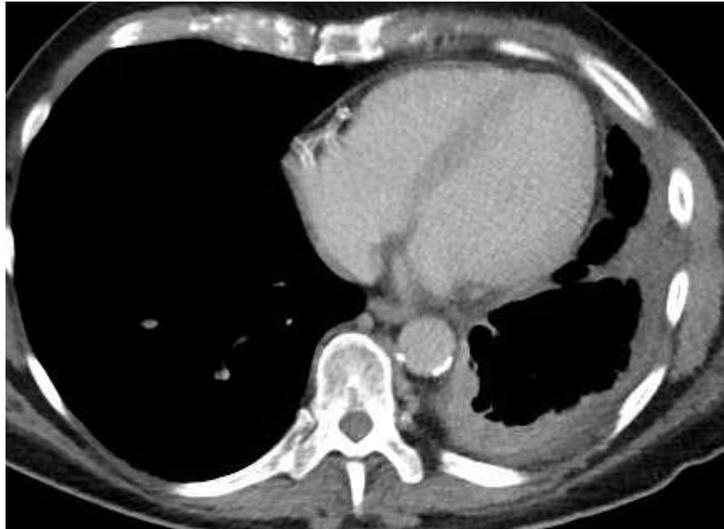
E1L3N



QT-1



# 03-05/2016 4 x Nivolumab

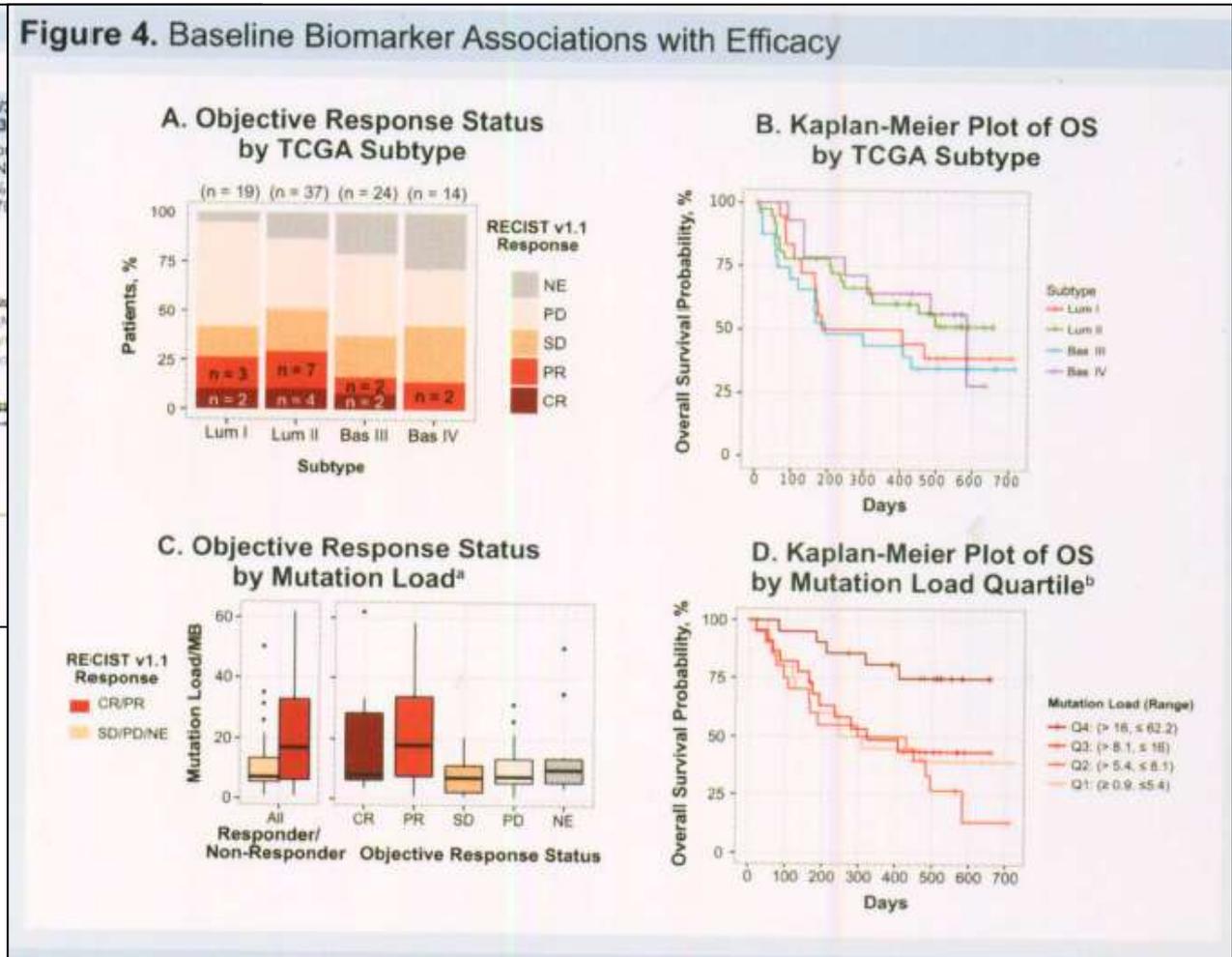
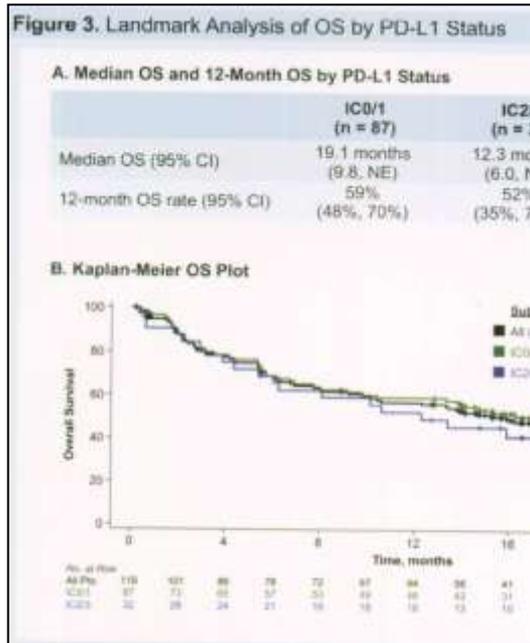


# Blick über den Tellerrand... Abstracts und Poster Kopenhagen 2016



Abstr. 782PD:

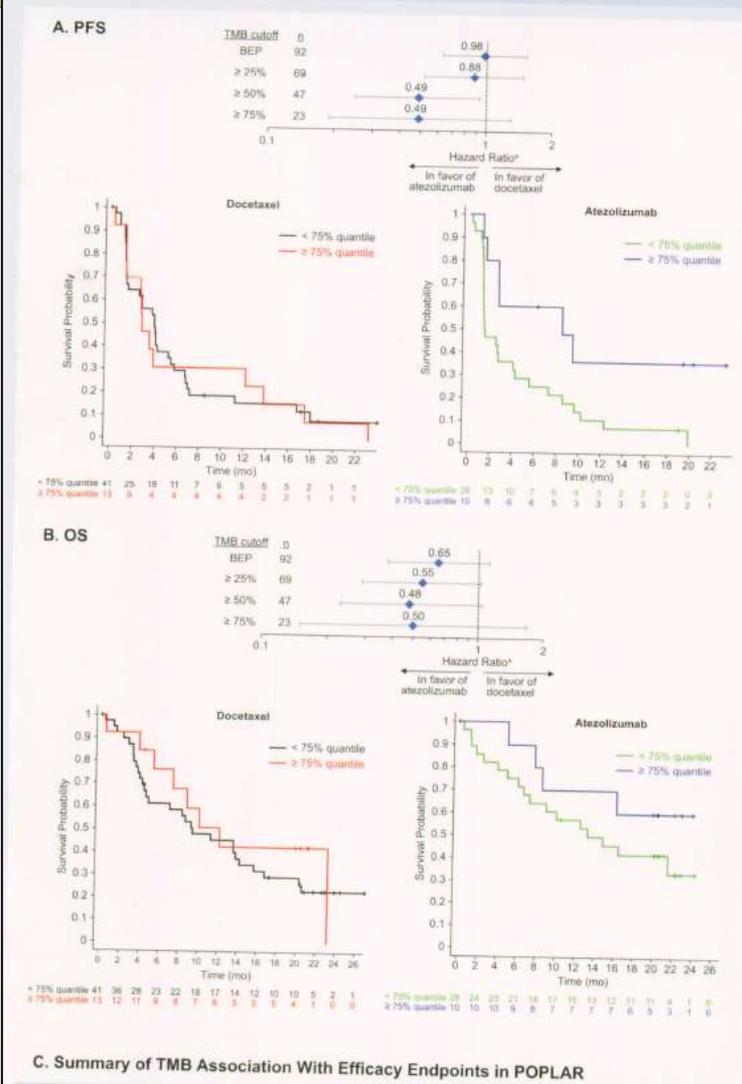
Imvigor: updated analyses of first-line (1L) atezolizumab (atezo) in cisplatin (cis)-ineligible locally advanced/metastatic **urothelial carcinoma** (mUC) / Bellmunt et al.



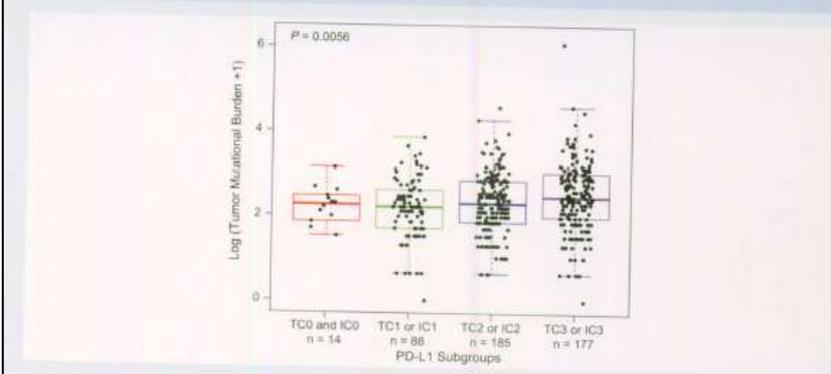
Neu: „Mutation Load“

Abstr. 77P:  
 Tumor mutation load assessed by FoundationOne (FM1) is associated with improved efficacy of atezolizumab (atezo) in patients with advanced NSCLC  
 Kowanz et al.

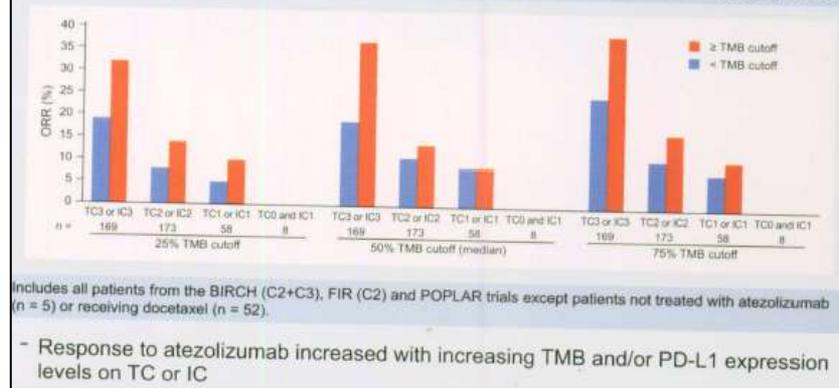
**Figure 4. TMB and Efficacy of Atezolizumab vs Docetaxel in 2L+ PD-L1–Unselected Patients From a Randomized Study, POPLAR**



**Figure 5. Association of TMB With PD-L1 Expression on TC or IC (pooled analysis of BIRCH, FIR and POPLAR)**



**Figure 6. TMB and PD-L1 Expression as Predictors of Atezolizumab Response**



TMB – Tumor Mutational Burden

# Oder weniger komplex....

EBioMedicine 11 (2016) 1–2

Contents lists available at ScienceDirect

**EBioMedicine**

journal homepage: [www.ebiomedicine.com](http://www.ebiomedicine.com)

Editorial

**Cancer Mutational Load: The More the Merrier for Immune Checkpoint Blockade Therapies**

CrossMark

[Clin Cancer Res](#), 2016 Dec 30; pii: clincanres.2554.2016; doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0000 (ahead of print)

**Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma.**

[Dong ZY](#)<sup>1</sup>, [Zhong W](#)<sup>2</sup>, [Zhang XC](#)<sup>3</sup>, [Su J](#)<sup>3</sup>, [Xie Z](#)<sup>3</sup>, [Liu SY](#)<sup>3</sup>, [Tu HY](#)<sup>4</sup>, [Chen HJ](#)<sup>3</sup>, [Sun YL](#)<sup>3</sup>, [Zhou Q](#)<sup>5</sup>, [Yang J](#)<sup>6</sup>, [Yang X](#)<sup>6</sup>, [Lin JX](#)<sup>7</sup>, [Yan H](#)<sup>6</sup>, [Zhai HR](#)<sup>6</sup>, [Yan LX](#)<sup>9</sup>, [Liao RQ](#)<sup>7</sup>, [Wu SP](#)<sup>7</sup>, [Wu YL](#)<sup>10</sup>.

[Full Text](#)  
[View this paper](#)

[Oncoimmunology](#), 2016 Mar 16;5(5):e1131379; doi: 10.1080/2162402X.2015.1131379; epub 2015 Dec 15.

**PD-L1 expression in non-small cell lung cancer: Correlations with genetic alterations.**

[Scheel AH](#)<sup>1</sup>, [Ansén S](#)<sup>2</sup>, [Schultheis AM](#)<sup>1</sup>, [Scheffler M](#)<sup>2</sup>, [Fischer RN](#)<sup>2</sup>, [Michels S](#)<sup>2</sup>, [Hellmich M](#)<sup>3</sup>, [George J](#)<sup>4</sup>, [Zander T](#)<sup>2</sup>, [Brockmann M](#)<sup>5</sup>, [Stoelben E](#)<sup>6</sup>, [Groen H](#)<sup>7</sup>, [Timens W](#)<sup>8</sup>, [Perner S](#)<sup>9</sup>, [von Bergwelt-Baildon M](#)<sup>2</sup>, [Büttner R](#)<sup>1</sup>, [Wolf J](#)<sup>2</sup>.

[View this paper](#)

## Final Statement I

- PD-L1 Immunhistochemie ist die im Moment einzige logisch erscheinende Strategie, um ein Ansprechen auf Immuntherapie vorauszusagen
- Für einen breiten Einsatz von Immuntherapie wird ein Biomarker zur Selektion geeigneter Patienten unumgänglich sein
- Die Antikörper sind definiert und charakterisiert
- Die semiquantitative Auswertung der PD-L1 Immunhistochemie ist offenbar standardisierbar und stabil anwendbar

## Final Statement 2

- Die Interpretation benötigt Erfahrung und ständiges Training im Routineeinsatz
- Für FirstLine Immuntherapie beim NSCLC der Lunge ist ein CutOff von 50% inzwischen definiert (Pembrolizumab)
- SecondLine CutOff Pembrolizumab  $> 1\%$
- beim Melanom ohne PD-L1 Immun
- Wer die teuren Companion Antikörper bezahlen soll ist unklar

## Final Statement 3

- Unserer Meinung nach ist – nach Absprache mit der Klinik- eine Reflextestung auch bereits jetzt sinnvoll
  - Logistik im Institut
  - Materialverbrauch durch mehrmaliges Anschneiden
  - Zeitverlust bei stufenweiser Diagnostik (besonders bei 1st Line Therapie!)
  - Erfahrung im diagnostischen Ablauf und in der Interpretation
  - Erfahrung im klinischen Setting bei bekanntem PD-L1 Status

PD-L1 Immunhistochemie ist also der richtige –  
 Marker, und auch nur aus diesem Grund

Die Bewertung von PD-L1 ist  
 Kombination mit dem W  
 sinnvoll – Ras, EGFR Mutationen  
 load etc.,etc...

PD-L1 auf (genetisch und praktisch)  
 schwie

.. und wir zu viel lernen....

Und es gilt die goldene Regel:

**„drum prüfe wer sich  
 ewig bindet.....“**



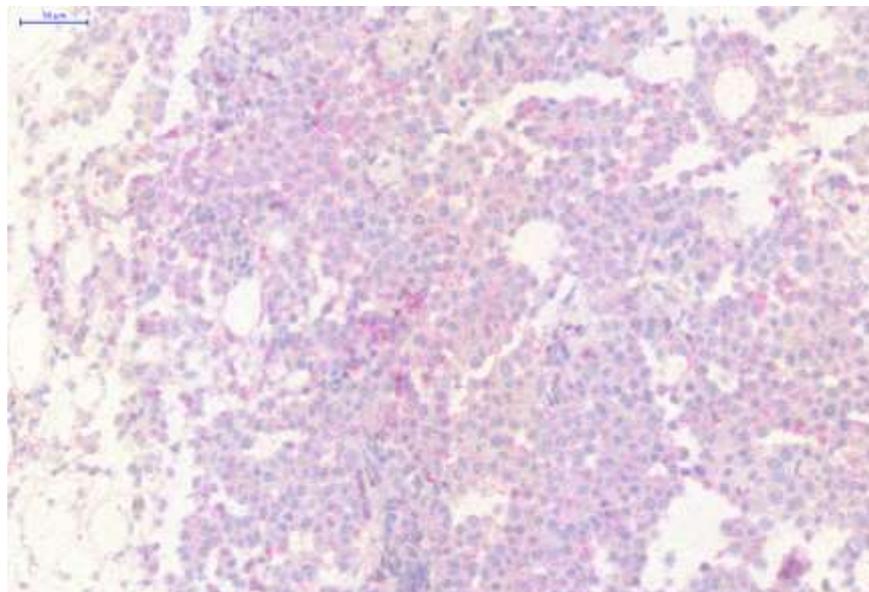
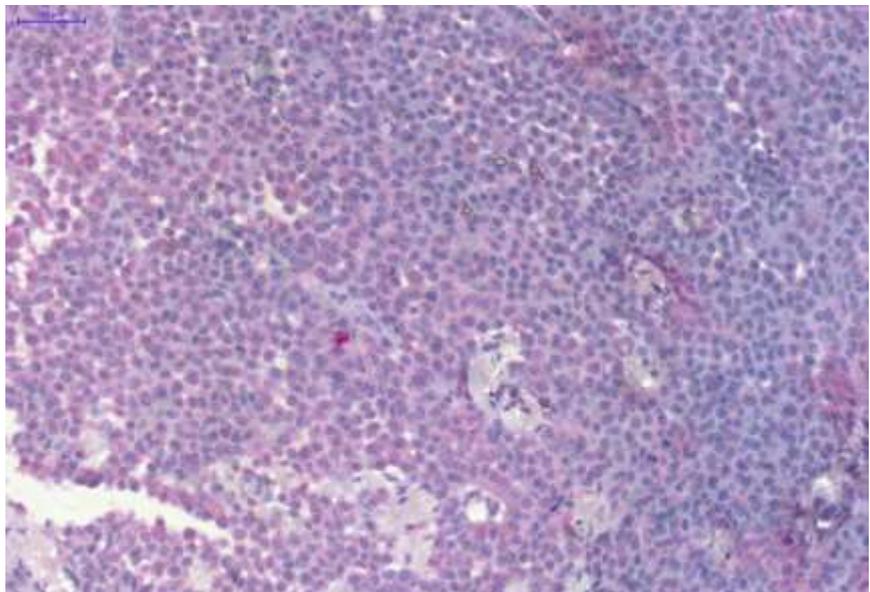
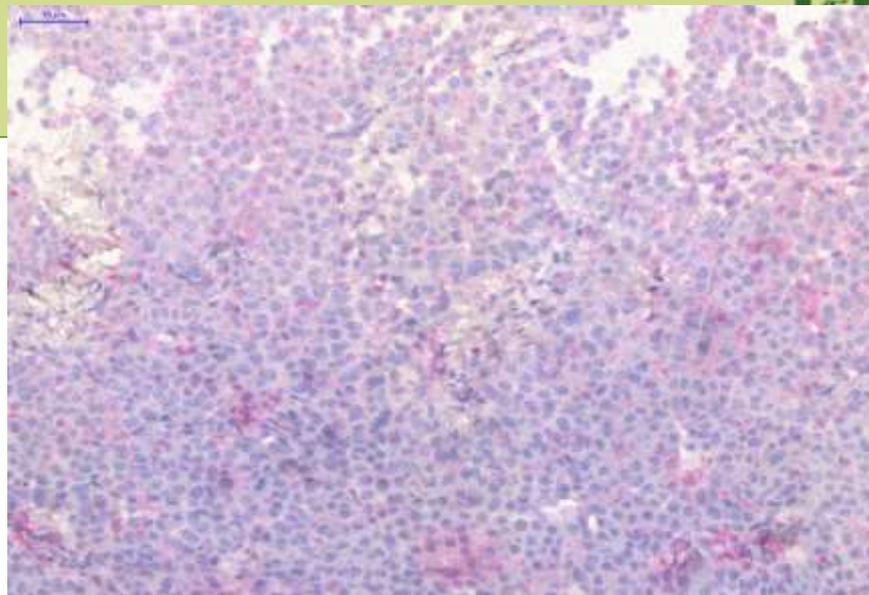
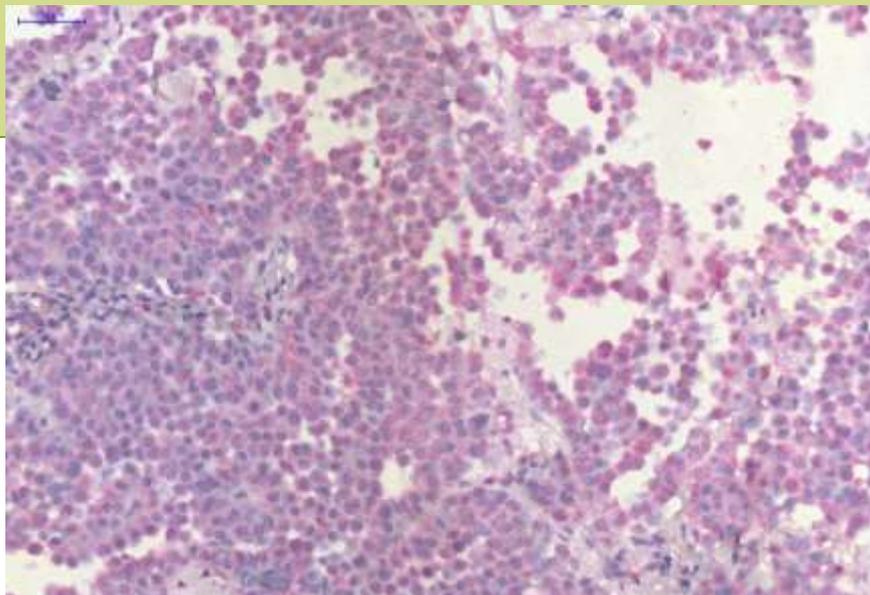
...nicht weil die Dinge schwierig sind, wagen wir sie nicht, sondern weil wir sie nicht wagen, sind sie schwierig ....

**Vielen Dank!**

HELIOS Berlin

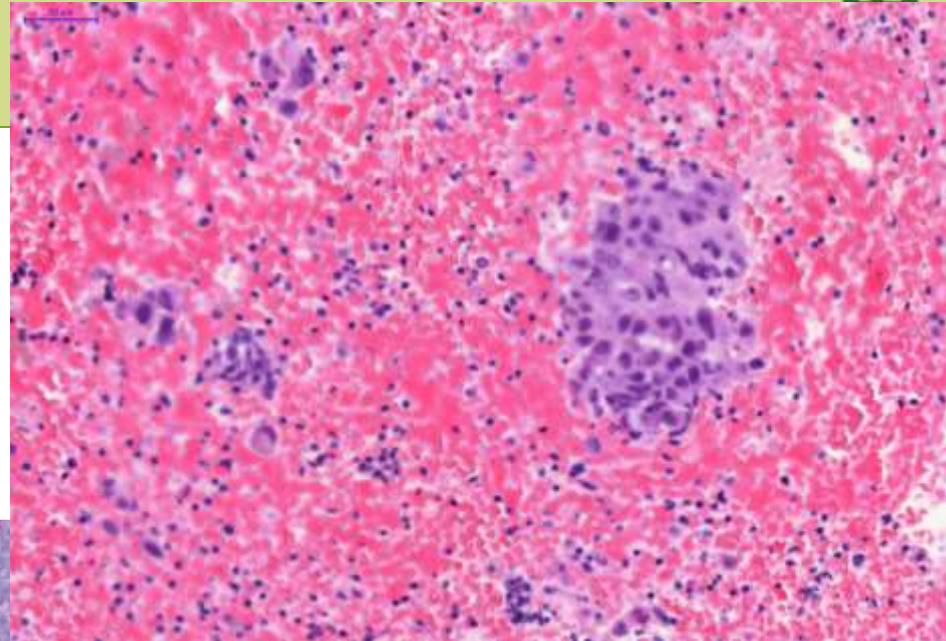
[www.helios-kliniken.de](http://www.helios-kliniken.de)

**Jeder Moment ist Medizin**

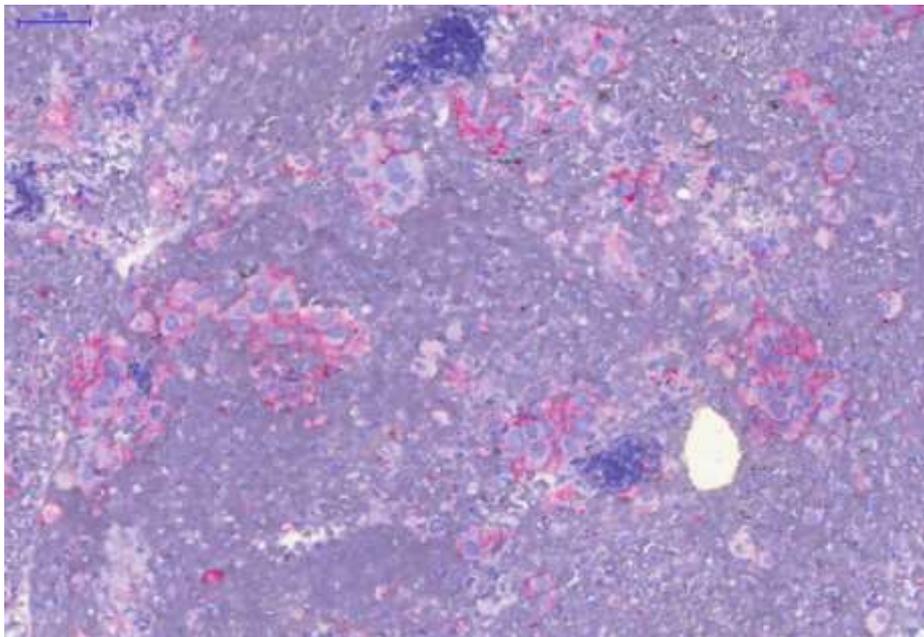


E1L3N Cell Signalling

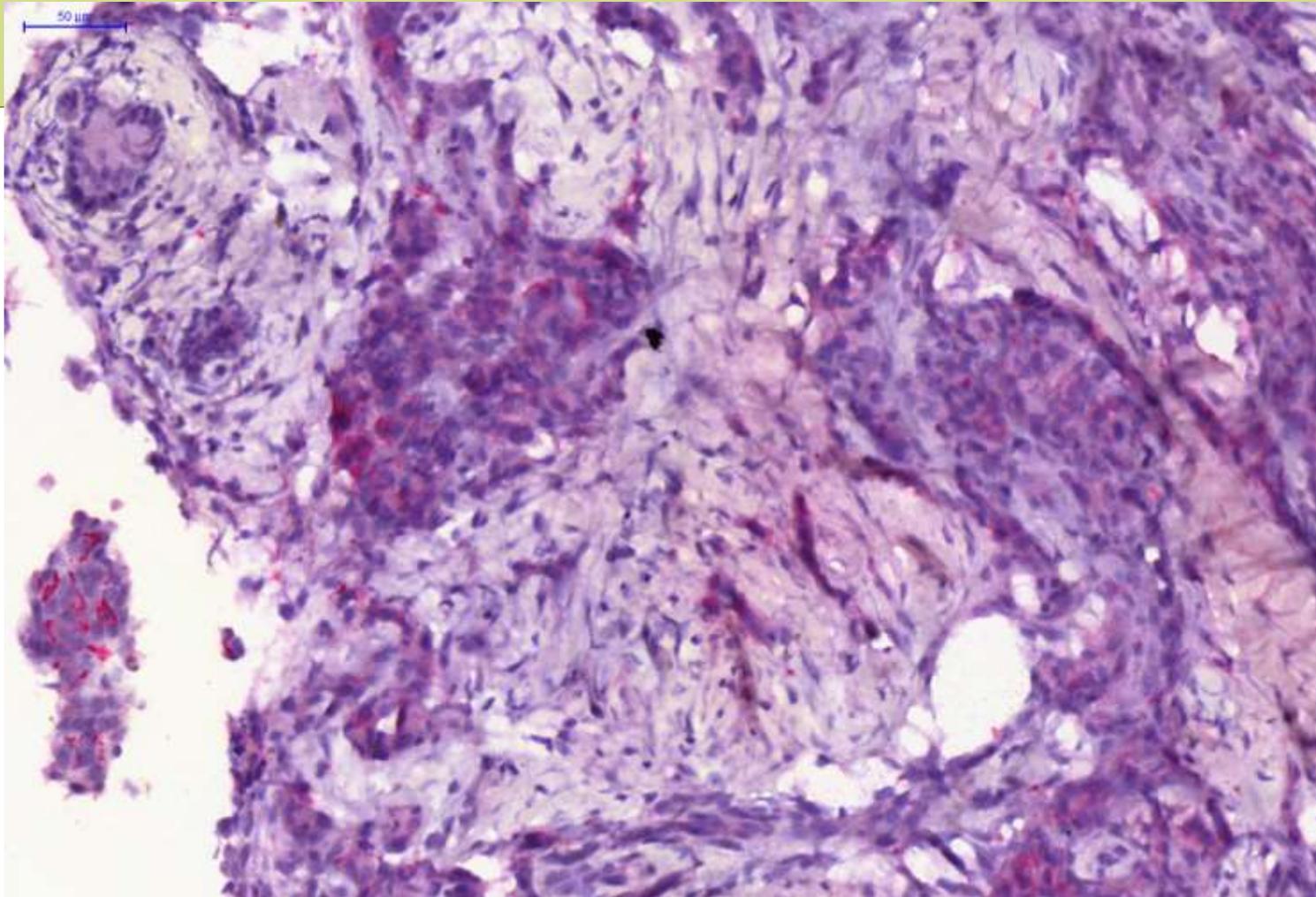
28-8 Abcam



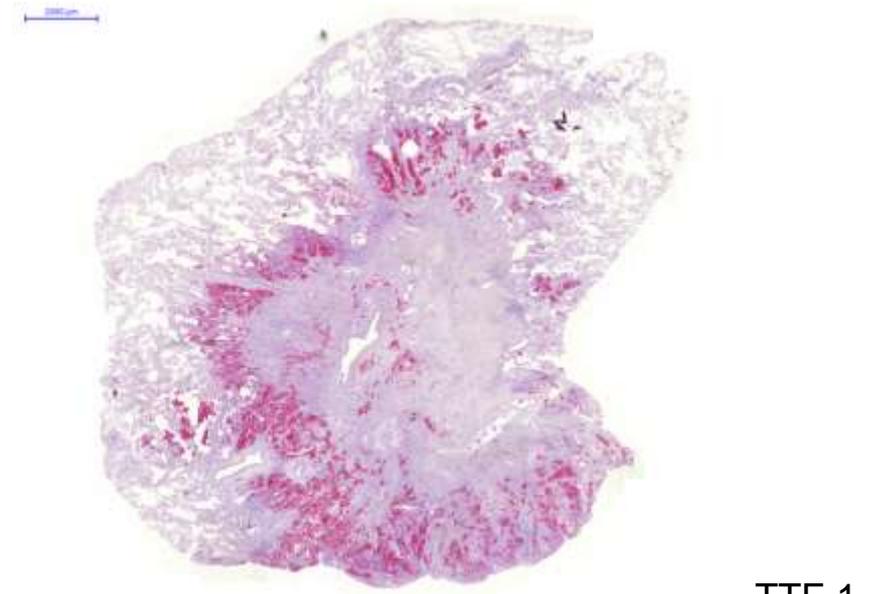
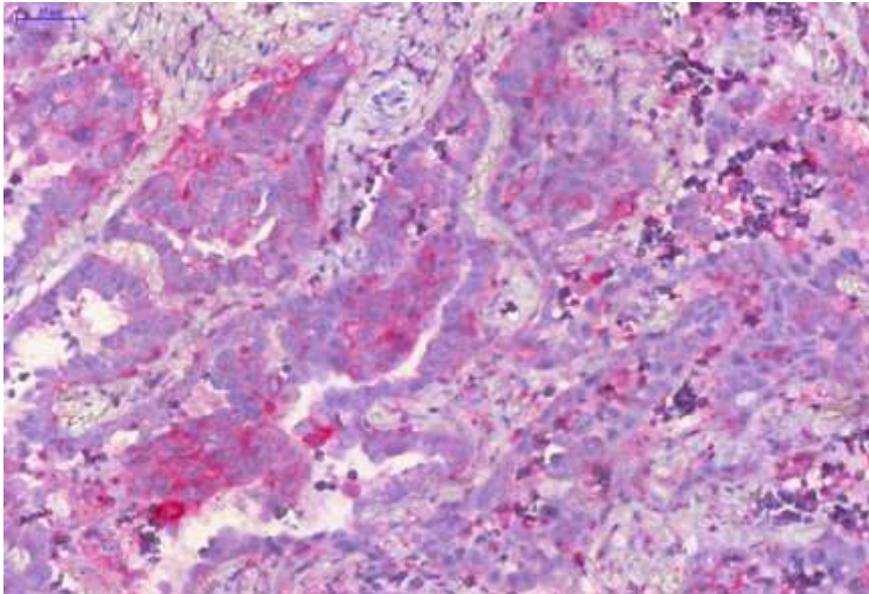
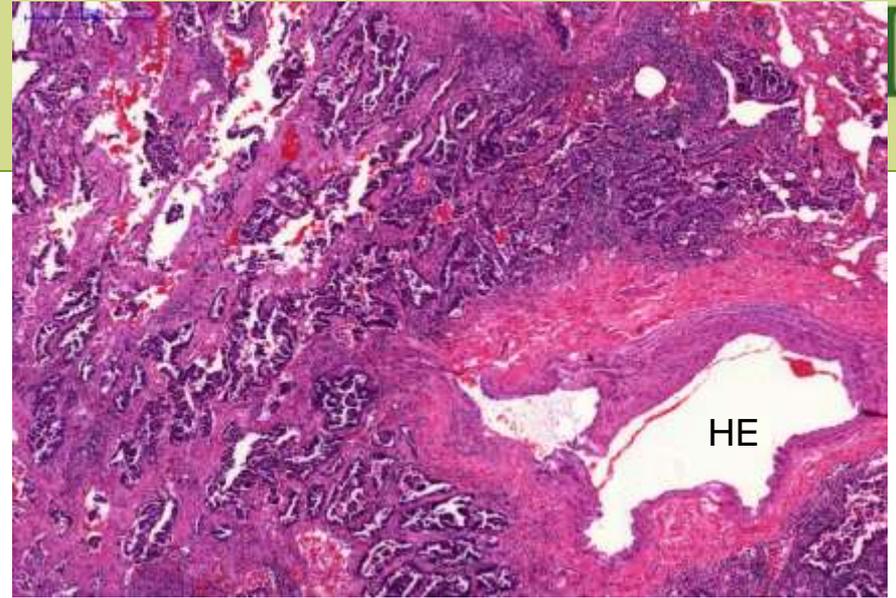
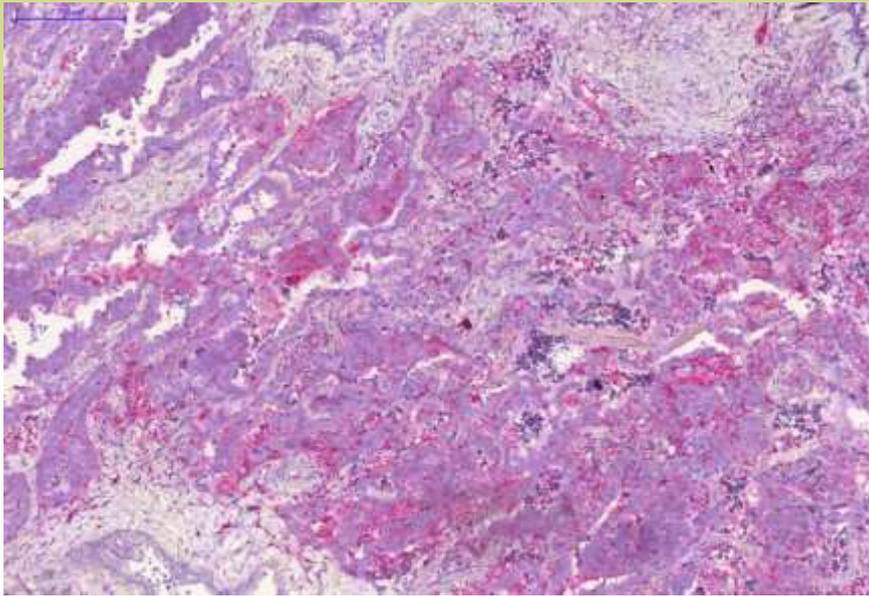
HE



28-8 Abcam

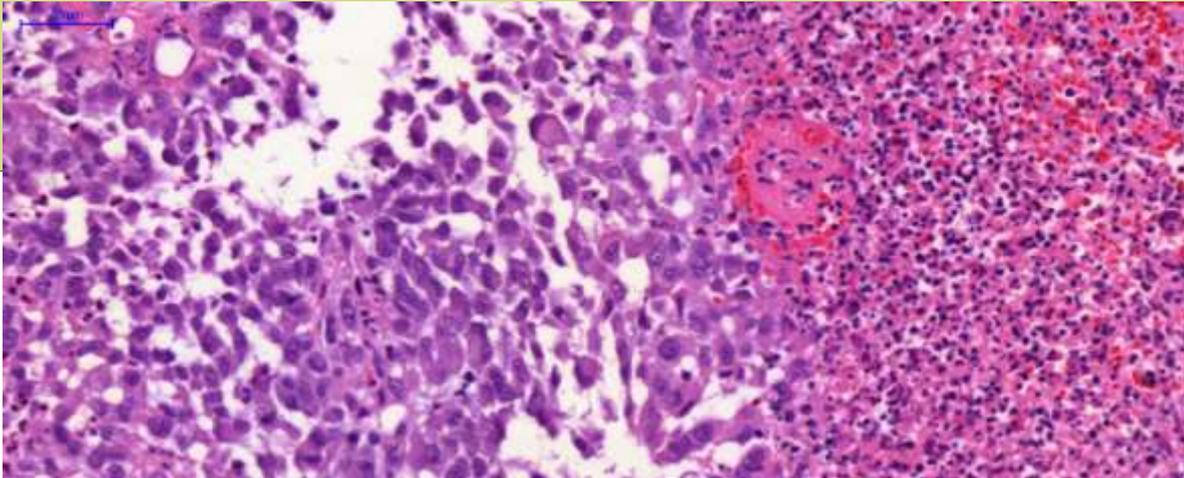


28-8 Abcam

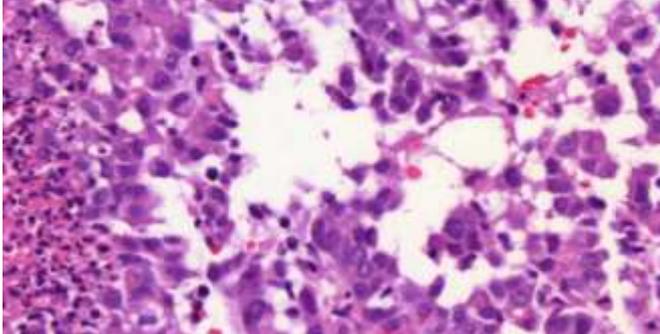


28-8 Abcam

TTF-1



HE



28-8 Abcam

