

Pilotní analýza exprese PD-L1 u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií na bázi platiny

Pilot analysis of the PD-L1 expression in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy

Hausnerová J.¹, Ehrlichová L.², Ovesná P.³, Gazárková E.⁴, Chlubnová J.², Matulová K.¹, Minář L.⁴, Weinberger V.⁴, Bednaříková M.²

¹ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

⁴ Gynekologická a porodnická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: V současnosti nejsou k dispozici jednoznačná data o prevalenci a významu imunohistochemického (IHC) stanovení ligandu 1 receptoru programované buněčné smrti (programmed death ligand-1 – PD-L1) u ovariálního karcinomu (ovarian cancer – OC). V rámci našeho projektu komplexního profilování pacientek s OC léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu (P-CHT) jsme se proto zaměřili kromě jiného i na analýzu IHC exprese PD-L1. **Materiál a metody:** Z klinické databáze pacientek léčených ve FN Brno pro OC v letech 2010–2020 byla dle předem definovaných kritérií identifikována retrospektivní kohorta celkem 50 pacientek léčených minimálně šesti cykly chemoterapie na bázi platiny (P-CHT) v rámci primární systémové léčby. U všech pacientek byla provedena IHC analýza PD-L1 (klon 22C3, Agilent) na vzorcích tumoru odebraných před zahájením P-CHT a byla vyhodnocena míra PD-L1 exprese dle TPS (% pozitivních nádorových elementů) a CPS (kombinované pozitivní skóre hodnocené jako počet všech pozitivních nádorových buněk, lymfocytů a makrofágů dělený počtem vitálních nádorových buněk a násobený číslem 100). **Výsledky:** Z celkového počtu 50 pacientek mělo 25 pacientek P-rezistentní onemocnění (medián doby bez progresu onemocnění (platinum treatment free interval – TFIp) 1 měsíc a celkového přežití (overall survival – OS) 10 měsíců) a 25 pacientek P-senzitivní onemocnění (zprogredovalo 15 (60 %) pacientek s TFIp 14 měsíců, OS 51 měsíců). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení pacientek podle histotypu, stadia v době diagnózy a rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby. V P-rezistentní kohortě byly výsledky následující: TPS negativní u 24 (96 %), TPS pozitivní u jedné (4 %), CPS < 1 u 13 (52 %), CPS 1–10 u devíti (36 %) a CPS 10–100 u tří (12 %) pacientek. V P-senzitivní kohortě mělo TPS negativní 23 pacientek (92 %), TPS pozitivní byly dvě pacientky (8 %), CPS < 1 mělo 12 (48 %) pacientek, CPS 1–10 celkem sedm (28 %) pacientek a šest (24 %) pacientek mělo hodnotu CPS v rozmezí 10–100. **Závěr:** Na konferenci budou prezentovány výsledky rozšířených analýz korelace PD-L1 exprese se základními klinicko-patologickými charakteristikami pacientek.

Klíčová slova

karcinom ovaria – protilátka anti-PD-L1 – imunohistochemie

Projekt byl podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR, grant č. NU21-03-00306.

This research was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic: grant number NU21-03-00306.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

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



MUDr. Markéta Bednaříková
Interní hematologická
a onkologická klinika
FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail:
bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 7. 2022

Přijato/Accepted: 5. 9. 2022

Summary

Background: At present, there is no relevant data considering the prevalence and clinical significance of immunohistochemical (IHC) assessment of programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in ovarian cancer (OC). Therefore, as a part of our research project of comprehensive profiling of OC, we aimed to analyze PDL1 IHC expression in OC patients treated with platinum-based chemotherapy (P-CT). **Materials and methods:** The retrospective cohort of 50 patients treated with at least by 6 cycles of primary systemic P-CT at University Hospital Brno in the years 2010–2020 was identified from the clinical database based on predefined criteria. The tumor samples of all involved patients collected before P-CT initiation were IHC analyzed for PD-L1 expression using monoclonal antibody (clone 22C3, Agilent). The slides were scored for TPS (percentage of positive tumor cells) and CPS (combined positive score defined as the number of all positive tumor cells, lymphocytes and macrophages divided by the number of vital tumor cells and multiplied by 100). **Results:** A total of 25 patients had P-resistant disease (with median platinum-free interval (TFlp) 1 month and overall survival (OS) 10 months) and 25 patients had P-sensitive disease (with TFlp 14 months and OS 51 months in 15 (60 %) patients with recurrence). The stage at diagnosis, histological type and extent of cytoreduction were equally distributed in both cohorts. In the P-resistant cohort, the IHC PD-L1 expression results were as follows: TPS negative in 24 (96%) patients, TPS positive in 1 (4%), CPS < 1 in 13 (52%), CPS 1–10 in 9 (36%) a CPS 10–100 in 3 (12%) patients. The results in the P-sensitive cohort showed negative TPS in 23 (92%), TPS positive in 2 (8%), CPS < 1 in 12 (48%), CPS 1–10 in 7 (28%) and 10–100 in 6 (24%) patients. **Conclusion:** The results of the extended analyses of the correlation between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics will be presented at the conference.

Key words

ovarian cancer – anti-PD-L1 antibody – immunohistochemistry

Úvod

Navzdory relativně vysoké procentuální úspěšnosti primární léčby spočívající v radikálním chirurgickém výkonu a v systémové léčbě zůstává prognóza karcinomu ovaria (ovarian carcinoma – OC) velmi nepříznivá, celkové 5leté přežití patientek nedosahuje 50 % [1]. Hlavní příčina spočívá v primární nebo dříve či později získané chemorezistenci podmiňující neúčinnost standardní systémové léčby. Zásadní vliv na prognózu onemocnění i odpověď na léčbu má vedle molekulárních charakteristik tumoru také schopnost imunitního systému reagovat na přítomnost nádoru. Mezi hlavní determinanty nádorového mikroprostředí, které charakterizují stupeň aktivace imunitního systému hostitele, patří přítomnost, nebo absence tumor-infiltrujících lymfocytů (TILs) a ligandu 1 receptoru programované buněčné smrti (programmed death ligand-1 – PD-L1) [2]. PD-L1 (exprimovaný mj. na povrchu nádorových buněk) tvoří spolu s proteinem PD-1 (nacházejícím se na povrchu efektorových buněk imunitního systému) součást jednoho z klíčových imunoregulačních mechanismů, který umožňuje nádorovým buňkám v případě overexpresy PD-L1 uniknout z dohledu imunitního systému [3]. Dosud publikovaná data o prevalenci a prognostickém významu PD-L1 u OC ale nejsou jednoznačná. Podle výsledků některých studií je přítomnost

PD-L1 spojena s horší prognózou, jiné studie naopak dokladují asociaci s lepší prognózou a podle dalších studií nebyla mezi expresí PD-L1 a prognózou žádná významná souvislost statisticky prokázána [4–9]. Mezi hlavní příčiny dosud nekonkluzivních dat patří vedle heterogenity PD-L1 exprese v nádorové tkáni především absence jednoznačné shody na metodice imunohistochemického (IHC) hodnocení PD-L1 u OC, ať již ve výběru optimální protilátky, nebo kritérií pro pozitivitu [10].

V rámci výzkumného projektu, jehož cílem je identifikace prediktivních biomarkerů na základě komplexního genomického a imunohistochemického profilování u patientek s OC léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu (P-CHT), jsme se proto kromě jiného zaměřili na analýzu exprese PD-L1.

Materiál a metody

Na základě souhlasu Etické komise FN Brno byly z klinické databáze FN Brno identifikovány všechny pacientky léčené P-CHT v rámci primární systémové léčby pro OC v letech 2010–2020. Do finálního výběru retrospektivní kohorty celkem 50 patientek byly vybrány pacientky se srovnatelnými hlavními prognostickými parametry (histologický typ, stadium v době diagnózy, rozsah primární cytoredukce), lišící se pouze odpovědí na léčbu P-CHT. Kritéria pro platina-senzitivitu (PS) a platina-rezistenci (PR) byla

stanovena klinicky, a to na základě časového intervalu mezi datem poslední aplikace P-CHT a datem stanovení progresy, resp. poslední kontroly (platinum therapy free interval – TFlp). Z archivu Ústavu patologie FN Brno byly následně vybrány reprezentativní vzorky tumoru odebrané patientkám před zahájením systémové léčby, fixované formalinem a zalité v parafínu. Pro IHC analýzy byla použita anti-PD-L1 protilátka klon 22C3 (Agilent). Míra exprese PD-L1 byla vyhodnocena stanovením skóre positivity nádorových buněk (TPS; % pozitivních nádorových elementů) a kombinovaného skóre positivity (CPS; počet všech pozitivních nádorových buněk, lymfocytů a makrofágů dělený počtem vitálních nádorových buněk a násobený číslem 100).

Výsledky

Z celkového počtu 50 patientek mělo 25 patientek PR onemocnění (medián TFlp 1 měsíc a medián celkového přežití (overall survival – OS) 10 měsíců) a 25 patientek PS onemocnění (bez progresy po dobu min. 2 let od P-CHT celkem 10 patientek (40 %), s progresí 15 (60 %) patientek s mediánem TFlp 14 měsíců, OS 51 měsíců). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení patientek podle histologického typu, stadia v době diagnózy a rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby (tab. 1). V celém souboru bez ohledu na odpo-

věd' na léčbu P-CHT byly výsledky exprese PD-L1 následující: TPS pozitivní u 3 (6 %) a negativní u 47 (94 %) pacientek; CPS < 1 u 25 (50 %) pacientek, CPS v rozmezí 1–10 u 16 (32 %) pacientek a v rozmezí 10–100 u 9 (18 %) pacientek. V PR kohortě bylo TPS negativní u 24 (96 %) pacientek, TPS pozitivní u 1 (4 %) pacientky, CPS < 1 u 13 (52 %) pacientek, CPS v rozmezí 1–10 u 9 (36 %) pacientek a v rozmezí 10–100 u 3 (12 %) pacientek. V PS kohortě mělo TPS negativní 23 (92 %) pacientek, TPS pozitivita byla prokázána u 2 (8 %) pacientek, CPS < 1 mělo 12 (48 %) pacientek, CPS v rozmezí 1–10 u celkem 7 (28 %) pacientek a 6 (24 %) pacientek mělo hodnotu CPS v rozmezí 10–100 (tab. 2).

Závěr

Při zvolené metodice imunohistochemických analýz exprese PD-L1 u pacientek s ovariálním karcinodem bylo ve všech případech dosaženo hodnotitelných výsledků. Exprese PD-L1 vykazovala výraznou heterogenitu, byla pozorována na různých buněčných elementech s variabilní intenzitou. Povšehně byla častěji patrná pozitivita imunitních buněk v porovnání s nádorovými buňkami. Na konferenci budou prezentovány výsledky rozšířených analýz korelace PD-L1 exprese se základními klinicko-patologickými charakteristikami pacientek.

Literatura

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA A Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Teng MW, Ngiew SF, Ribas A et al. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res* 2015; 75(11): 2139–2145. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0255.
3. Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ et al. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 1999; 74: 181–273. doi: 10.1016/S0065-2776(08)60911-6.
4. Hwang WT, Adams SF, Tahirovic E et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2012; 124(2): 192–198. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.09.039.
5. Gottlieb CE, Mills AM, Cross JV et al. Tumor-associated macrophage expression of PD-L1 in implants of high grade serous ovarian carcinoma: a comparison of matched primary and metastatic tumors. *Gynecol Oncol* 2017; 144(3): 607–612. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.12.021.
6. Chen H, Molberg K, Strickland AL et al. PD-L1 expression and CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in different types of tubo-ovarian carcinoma and their prognostic value in high-grade serous carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2020; 44(8): 1050–1060. doi: 10.1097/PAS.0000000000001503.

Tab. 1. Klinické charakteristiky retrospektivní kohorty pacientek (n = 50).

	P-rezistentní	P-senzitivní
Celkem zařazeno	25	25
počet s progresí	25 (100 %)	15 (60 %)
medián TFlp (měsíce)	1 (0–7)	14 (6–60)*
medián OS (měsíce)	10 (2–54)	51 (20–143)
Histologie		
HGSC	22	22
non-HGSC	3	3
Stadium		
I–II	1	1
III–IV + R0	11	11
III–IV + R1/inop	13	13
HRR/BRCA status		
neznámý	16	15
bez mutace	6	9
MUT BRCA1/2	2	0
MUT HRR (non-BRCA)	1	1

*pro pacientky s progresí/recidivou, HGSC – high-grade serózní karcinom, MUT BRCA1/2 – mutace v genu BRCA1 nebo BRCA2, MUT HRR (non-BRCA) – mutace v genu systému oprav poškozené DNA homologní rekombinací (mimo BRCA1/2), non-HGSC – non high-grade serózní karcinom, OS – celkové přežití (od data diagnózy k datu úmrtí/poslední kontroly 31. 5. 2022), P – platina, R0 – nulové makroskopické reziduum, R1/inop (nenulové makroskopické reziduum/bez cytoredukce), TFlp – doba bez progresu onemocnění po ukončení chemoterapie na bázi platiny (časový interval mezi datem poslední aplikace CHT s platinou a datem stanovení progresu, resp. poslední kontroly (31. 5. 2022)

Tab. 2. Výsledky imunohistochemických analýz exprese PD-L1.

		Počet pacientek (%)		
		Celý soubor (n = 50)	PS-kohorta (n = 25)	PR-kohorta (n = 25)
TPS	negativní	3 (6 %)	2 (8 %)	1 (4 %)
	pozitivní	47 (94 %)	23 (92 %)	24 (96 %)
CPS	< 1	25 (50 %)	12 (48 %)	13 (52 %)
	1–10	16 (32 %)	7 (28 %)	9 (36 %)
	10–100	9 (18 %)	6 (24 %)	3 (12 %)

CPS – kombinované skóre positivity, n – počet, PS – platina-senzitivní, PD-L1 – ligand 1 receptoru programované buněčné smrti, PR – platina-rezistentní, TPS – skóre positivity nádorových buněk

7. Xue C, Xu Y, Ye W et al. Expression of PD-L1 in ovarian cancer and its synergistic antitumor effect with PARP inhibitor. *Gynecol Oncol* 2020; 157(1): 222–233. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.12.012.
8. Eymerit-Morin C, Ilanko A, Gaillard T et al. PD-L1 expression with QR1 and E1L3N antibodies according to histological ovarian cancer subtype: a series of 232 cases. *Eur J Histochem* 2021; 65(1): 3185. doi: 10.4081/ejh.2021.3185.

9. Buderath P, Mairinger F, Mairinger E et al. Prognostic significance of PD-1 and PD-L1 positive tumor-infiltrating immune cells in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2019; 29(9): 1389–1395. doi: 10.1136/ijgc-2019-000609.
10. Yu J, Wang X, Teng F et al. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *OTT* 2016; 9: 5023–5039. doi: 10.2147/OTT.S105862.