

# Retningslinje for diagnostik af biomarkøren PD-L1

## 1. Ikkesmåcellet lungecancer (NSCLC)

### Om denne retningslinje

Denne retningslinje er udarbejdet af 'Den tværregionale arbejdsgruppe vedr. udarbejdelse af retningslinje for diagnostik af biomarkøren PD-L1', som på opfordring af Medicinrådet er nedsat af Danske Regioner i regi af Danish Comprehensive Cancer Center (DCCC).

DCCC har udfærdiget kommissoriet og til arbejdsgruppen udpeget to onkologer med særlig interesse for hhv. lungecancer og malignt melanom, samt én patolog som repræsentant for Fagudvalg for lungecancerbehandling under Medicinrådet, mens hver af regionerne har udpeget én patolog med særlig interesse for lungecancer, og Dansk Patologiselskab på vegne af Organisationen af Lægevidenskabelige Selskaber har udpeget formanden.

### Formål

Det overordnede formål med udarbejdelse af nærværende retningslinje er at sikre en ensartet diagnostik af biomarkøren PD-L1 for ikkesmåcellet lungecancer (NSCLC) med henblik på at etablere et ensartet grundlag for immunterapi af denne sygdom.

Immunterapi baseret på PD-L1-analyse (immunhistokemisk undersøgelse af væv og celler, incl. aflæsning af resultatet) anvendes i dag overvejende til behandling af NSCLC i avanceret/ikke-operabelt stadium, hvor visualisering og aflæsning af den immunhistokemiske reaktion har direkte konsekvens for evt. immunterapi som 1. eller 2. linje behandling. Arbejdsgruppens patolog-medlemmer er derfor overvejende lungepatologer.

Arbejdsgruppen påbegyndte jfr. kommissoriet også en proces med henblik på standardisering af PD-L1-diagnostikken for andre cancerformer, men på grund af opgavens kompleksitet tager nærværende retningslinje alene sigte på NSCLC.

### Patientgruppe

Alle patienter, der diagnosticeres med NSCLC.

### Målgruppe for brug af retningslinjen

Denne retningslinje skal primært understøtte det kliniske arbejde og udviklingen af den kliniske kvalitet, hvorfor den primære målgruppe er klinisk arbejdende sundhedsprofessionelle i det danske sundhedsvæsen, i første række bioanalytikere, patologer og onkologer.

### Anbefaling

Arbejdsgruppen finder, at de af Food and Drugs Administration (FDA)/European Medicines Agency (EMA) godkendte immunhistokemiske assays til påvisning af PD-L1 i NSCLC, baseret på antistofferne 22C3 (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx), 28-8 (PD-L1 IHC 28-8 pharmDx) og (muligvis) SP263 (Ventana PD-L1 (SP263) Assay), samt ækvivalente, validerede analyser, der i dag anvendes på patologiafdelinger i Danmark, i princippet er fuldt sammenlignelige. Analyserne, der foretages på både histologiske og cytologiske materialer, er overvejende af høj kvalitet, men Arbejdsgruppen finder at der er en række fordele ved, at alle laboratorier baserer analysen på antistoffet 22C3.

Arbejdsgruppen finder desuden behov for kontinuert at sikre, at analysekvaliteten for PD-L1 på alle patologiafdelinger forbliver optimal, og at aflæsningerne er harmoniserede. Dette kan gøres ved:

- 1) at alle laboratorier, der foretager immunhistokemiske PD-L1-analyser, kontinuert deltager i ekstern kvalitetssikring i den i Danmark funderede kvalitetsorganisation for immunhistokemiske analyser, Nordic Immunohistochemical Quality Control (Nordiqc), Aalborg Universitetshospital.
- 2) at alle laboratorier som led i intern kvalitetskontrol minimerer tekniske svigt på de diagnostiske materialer og dokumenterer resultaterne.
- 3) at der etableres et forum (fx i regi af Nordiqc), som gennem cirkulation af udvalgte immunfarvede snit til scoring af alle involverede laboratorier medvirker til at sikre ensartet aflæsning af analyserne og danner grundlag for kontinuert uddannelse.

Endvidere anbefaler arbejdsgruppen, at der i regi af Sammenslutningen af lungepatologer (DaLuPa) under Dansk Patologiselskab fortsat sikres en ensartet og systematisk kodning med en række obligatoriske Snomed-koder til at understøtte standardiseret, optimal registrering i Patologisystemet og automatisk overførsel af data til Dansk Lunge Cancer Register (DLCR) med henblik på kvalitetskontrol af diagnostik og behandling.

Endeligt anbefaler arbejdsgruppen, at ansvaret for ajourføringen forankres i Dansk Lunge Cancer Gruppe (DLCG), idet et af hovedformålene med DLCG er at sikre ensartet kvalitet i diagnostik og behandling af lungecancer i Danmark samt at sikre, at den er af international standard, og endvidere at udarbejde nationale retningslinjer for diagnostik og opfølgning af lungecancer, jfr. vedtægterne for DLCG § 1, stk. 1-2.

## Grundlag

En række immunterapeutiske stoffer i form af PD-1 og PD-L1 check-point-inhibitorer er efter godkendelse af FDA ([www.fda.gov](http://www.fda.gov),) og EMA ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)) også i vidt omfang godkendt i Danmark (Medicinrådet, <https://medicinraadet.dk/>) til behandling af en række avancerede og inoperable cancere (1). Sammenfattende drejer det sig p.t. om syv immunterapeutiske stoffer til behandling af ca. 20 forskellige cancertyper.

Medicinrådet er i forbindelse med vurderingerne af immunterapiformerne blevet opmærksom på, at der generelt ikke er national konsensus om, hvilke analyser, inkl. aflæsningsmetoder, der i patologilaboratorierne anvendes til identifikation af PD-L1-udtryk i tumurvævet hos patienter med forskellige cancersygdomme, som potentielt kan tilbydes immunterapi. Dette vanskeliggør Medicinrådets arbejde med at sammenligne lægemidler i forbindelse med vurdering af nye lægemidler/nye indikationer og udarbejdelse af behandlingsvejledninger for immunterapi, der både er kostbar og rummer risiko for bivirkninger.

En høj grad af konsensus er påkrævet, fordi PD-L1-analyserne stiller store krav til laboratorieteknik såvel som til erfaring i aflæsning af resultater, og fordi de forskellige antistoffer, protokoller, immunfarvemaskiner og aflæsningsmetoder i nogle tilfælde giver forskellige resultater ved immunhistokemisk undersøgelser af samme cancertyper. Nordiqc har således påvist insufficiente immunfarvninger (dvs. farvninger som potentielt ville have ført til en forkert behandling, hvis det havde drejet sig om en klinisk test) i >10% af ca. 400 tests fra forskellige lande, lige som laboratoriernes aflæsninger af egne farvninger i betydeligt omfang har været fejlbehæftede ([www.nordiqc.org](http://www.nordiqc.org)). Fra otte danske laboratorier blev der til de fire første kvalitetsrunder (2017-

2018) indsendt i alt 29 immunfarvninger, hvoraf de fire (fra fire forskellige laboratorier) var insufficente. Protokollerne var i alle disse fire tilfælde korrekte, og de pågældende laboratorier indsendte sufficente farvninger i de øvrige runder. De afvigende farvningsresultater måtte således tilskrives tekniske fejl (fx problemer med immunfarvemaskinerne – ikkepublicerede resultater).

En international gruppe af trænede patologer foretog i deres såkaldt Blueprint Phase 2 Project (2) sammenligning mellem fem uafhængigt udviklede PD-L1 immunhistokemiske assays til undersøgelse af NSCLC og påviste, at ovennævnte 22C3-, 28-8- og SP263-assays i høj grad var sammenlignelige, mens SP142-assay var mindre sensitivt og 73-10-assay mere sensitivt til påvisning af PD-L1 ekspresion i tumorceller end de førstnævnte tre assays. Konsekvenserne af de påviste forskelle i sensitivitet blev dog ikke klarlagt. Der fandtes en meget høj overensstemmelse blandt patologerne i aflæsning af farvningen af tumorceller, men en meget lav overensstemmelse i aflæsningen af farvningen af immunceller (der for NSCLCs vedkommende kun indgår i bedømmelsen af SP142-assayet og ikke er relevant for godkendte behandlingsalgoritmer). Tilsvarende høj konkordans mellem de første tre ovennævnte assays er påvist af flere (3,4), mens andre finder en diskrepans mellem 22C3- og 28-8-assays på den ene side og SP263-assayet på den anden, idet sidstnævnte findes at farve kraftigere med tendens til at give en højere score (5,6). Der foreligger ikke kliniske studier til belysning af konsekvensen af denne diskrepans.

Det tidligst FDA-anerkendte assay, PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, knyttet til behandling med pembrolizumab og det eneste, der af FDA er klassificeret som 'companion diagnostics' til 1. og 2. linje behandling af NSCLC, blev kun udviklet til den immunhistokemiske farvemaskine Dako-Agilent Autostainer ASL48. Røge et al., udviklede og publicerede derfor i 2017 protokoller, der tillader analyse med 22C3-antistoffet at bliver udført på tre andre farvemaskiner: Dako-Agilent Omnis, Ventana BenchMark Ultra og Leica Bond III (7). Konkordancen med 22C3-assayet udført på Autostainer var for de to førstnævnte 100%, for sidstnævnte 95%. Alle danske patologilaboratorier, der udfører PD-L1-tests, anvender én af de tre førstnævnte.

I henhold til referenceprogrammet fra Dansk Onkologisk Lungecancer gruppe (DOLG, <http://www.dolg.dk/dokumenter/referenceprogram/referenceprogram-kap4.pdf>, 01.04.2018) bør alle patienter undersøges for PD-L1 ekspresion ved den primære vævs- eller cellediagnostik. Programmet indeholder en behandlingsalgoritme, i henhold til hvilken pembrolizumab kan gives som 1. linjebehandling af NSCLC (uden EGFR- eller ALK-mutation for ikkeplanocellulært karcinom) ved høj PD-L1-positivitet i tumor (tumour proportion score, TPS  $\geq$  50%), og som 2. linjebehandling ved lav PD-L1-positivitet (TPS 1-49%). Et specifikt assay er ikke anført, men i kliniske studier er pembrolizumab-behandling knyttet til analyse med PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, der danner basis for FDA-godkendelsen. Nivolumab kan til planocellulært lungekarcinom gives som 2. linjebehandling til såvel lav (TPS 1-49%) som manglende PD-L1-positivitet (TPS  $<$ 1%), hvorfor immunhistokemisk analyse ikke er påkrævet.

Medicinrådet har fortsat (november 2018) både pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab og durvalumab til behandling af NSCLC under vurdering (<https://medicinraadet.dk/igangvaerende-vurderinger/igangvaerende-vurderinger-af-nye-laegemidler-eller-indikationsudvidelser/pembrolizumab-keytruda-lungekraeft> og <https://medicinraadet.dk/media/9509/medicinraadets-anbefaling-vedr-atezolizumab-nsclc-vers-10.pdf>)

En spørgeskemaundersøgelse foretaget af arbejdsgruppen viser, at der på otte patologiafdelinger i Danmark i 1. halvår 2018 blev foretaget ca. 2.500 PD-L1 analyser, hvoraf >90% blev udført på prøver indeholdende NSCLC. Af disse var 60% histologiske, 40% cytologiske. Ca. 95% af alle NSCLC-analyserne (udført på syv af de otte patologiafdelinger) blev baseret på antistoffet 22C3, enten som Dako-Agilents PD-L1 IHC 22C3 pharmDx eller som laboratorieudviklet, valideret 22C3-test (7) på Dako-Agilent Omnis farvemaskine (nogenlunde ligeligt fordelt). Den ottende afdeling anvendte SP263-assay på Benchmark Ultra, men skifter efter aftale med arbejdsgruppen til 22C3, ligeledes baseret på en laboratorieudviklet, valideret protokol (7). Ingen laboratorier brugte Leica Bond farvemaskine til PD-L1-assays, og ingen brugte SP142-assayet til undersøgelse af NSCLC. Skov & Skov sammenlignede i 2017 parrede histologiske og cytologiske prøver af NSCLC ved hjælp af PD-L1 IHC 22C3 pharmDx og PD-L1 IHC 28-8pharmDx og påviste en høj konkordans mellem immunreaktionerne i de to prøvetyper (8).

## Referencer

1. Gong J, Chehrazi-Raffle A, Reddi S, Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *J Immunother Cancer*. 2018 Jan 23;6(1):8.
2. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, Beasley MB, Borczuk AC, Botling J, Bubendorf L, Chirieac L, Chen G, Chou TY, Chung JH, Dacic S, Lantuejoul S, Mino-Kenudson M, Moreira AL, Nicholson AG, Noguchi M, Pelosi G, Poleri C, Russell PA, Sauter J, Thunnissen E, Wistuba I, Yu H, Wynes MW, Pintilie M, Yatabe Y, Hirsch FR. PD-L1. Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol*. 2018 Sep;13(9):1302-1311.
3. Büttner R, Gosney JR, Skov BG, Adam J, Motoi N, Bloom KJ, Dietel M, Longshore JW, López-Ríos F, Penault-Llorca F, Viale G, Wotherspoon AC, Kerr KM, Tsao MS. Programmed Death-Ligand 1 Immunohistochemistry Testing: A Review of Analytical Assays and Clinical Implementation in Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2017 Dec 1;35(34):3867-3876.
4. Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, Barker C, Scott M, Scorer P, Al-Masri H, Rebelatto MC, Walker J. Agreement between Programmed Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays across Multiple Protein Expression Cutoffs in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2017 Jul 15;23(14):3585-3591.
5. Munari E, Rossi G, Zamboni G, Lunardi G, Marconi M, Sommaggio M, Netto GJ, Hoque MO, Brunelli M, Martignoni G, Haffner MC, Moretta F, Pegoraro MC, Cavazza A, Samogin G, Furlan V, Mariotti FR, Vacca P, Moretta L, Bogina G. PD-L1 Assays 22C3 and SP263 are Not Interchangeable in Non-Small Cell Lung Cancer When Considering Clinically Relevant Cutoffs: An Interclone Evaluation by Differently Trained Pathologists. *Am J Surg Pathol*. 2018 Oct;42(10):1384-1389.
6. Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, Young RJ, Sturrock S, Cooper WA, Fox SB. Comparison of Four PD-L1 Immunohistochemical Assays in Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2018 Mar;13(3):367-376.
7. Røge R, Vyberg M, Nielsen S. Accurate PD-L1 Protocols for Non-Small Cell Lung Cancer can be Developed for Automated Staining Platforms With Clone 22C3. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017 Jul;25(6):381-385.
8. Skov BG, Skov T. Paired Comparison of PD-L1 Expression on Cytologic and Histologic Specimens From Malignancies in the Lung Assessed With PD-L1 IHC 28-8pharmDx and PD-L1 IHC 22C3pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017 Aug;25(7):453-459.