

---

# CO-AMPLIFICACIONES DE *PD-L1* y *PD-L2* (9p24.1) Y EXPRESIÓN DE *PD-L1* EN UNA SERIE DE PACIENTES CON CARCINOMA DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA

---

Sergi Clavé, Lara Pijuan, David Casadevall, María Rodríguez-Rivera, Pilar  
García-Moreno, Álvaro Taus, Joan Albanell, Blanca Espinet, Edurne Arriola,  
Marta Salido

Servicio de Patología, Hospital del Mar, Barcelona  
Servicio de Oncología Médica, Hospital del Mar, Barcelona

**XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Anatomía Patológica**  
Madrid, 4-5 Febrero de 2016

[sclave@imim.es](mailto:sclave@imim.es)



# INTRODUCCIÓN

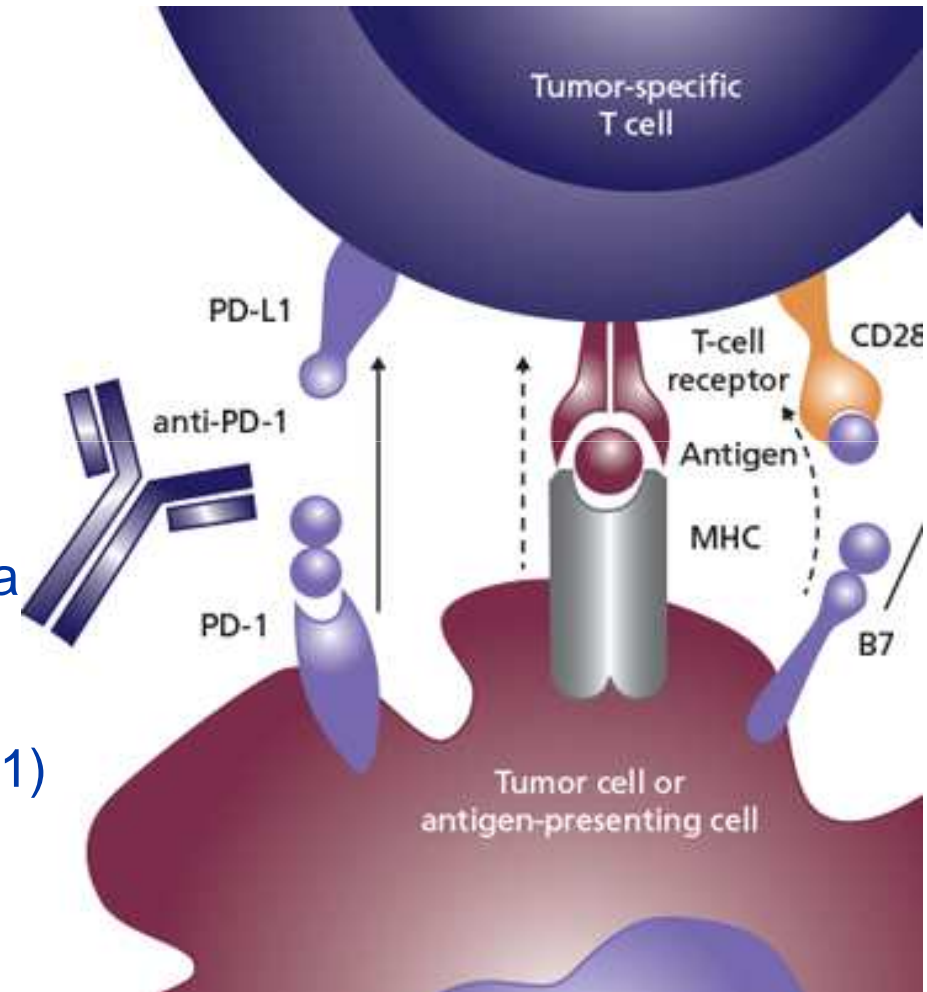
Inmunoterapia: Inducir y/o **potenciar la respuesta inmune frente al tumor**

La unión PD-1/PD-L1 evoca una respuesta inhibitoria de las células T activas (**EVASIÓN INMUNE**)

Los anticuerpos anti-PD-1/PD-L1 actúan sobre esta regulación negativa

Nivolumab, Pembrolizumab (anti-PD-1)

Atezolizumab (anti-PD-L1),...



Topalian SL, *et al.* N Engl J Med 2012

Garon EB, *et al.* N Engl J Med 2015

Dong H, *et al.* Nat Med 2002



# INTRODUCCIÓN

---

- La **expresión de PD-L1** en las células tumorales se ha propuesto como **biomarcador predictivo** de estas terapias anti-PD-1/PD-L1, sin estar estandarizado por el momento
- La expresión del ligando PD-L1 es **dinámica**, siendo la **amplificación del gen *PD-L1*** uno de los desencadenantes de su activación
- Se han descrito recientemente amplificaciones del gen *PD-L1* en un **5% de CPCNP**



# OBJETIVOS

---

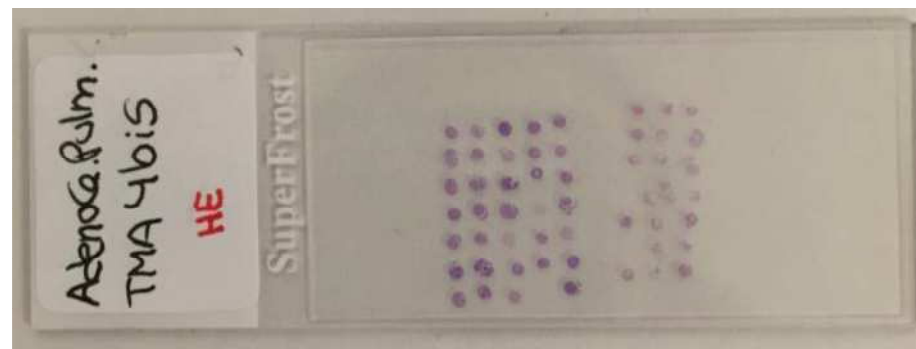
- Determinar la prevalencia de las alteraciones de número de copias del gen *PD-L1* en una serie de adenocarcinomas de pulmón
- Estudiar las características clinico-patológicas de los pacientes con amplificaciones de *PD-L1*
- Correlacionar el número de copias del gen *PD-L1* con su expresión en las células tumorales



# MATERIAL Y MÉTODOS

---

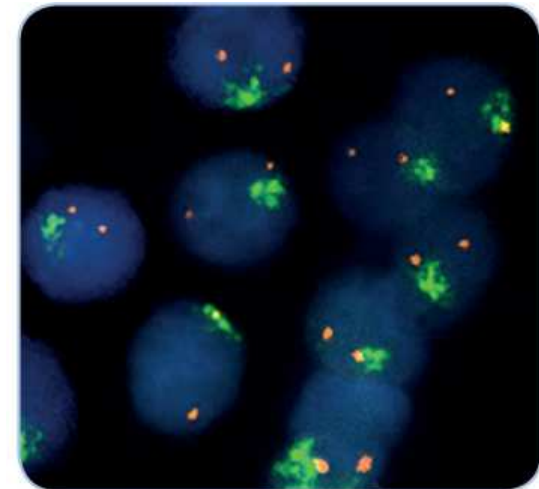
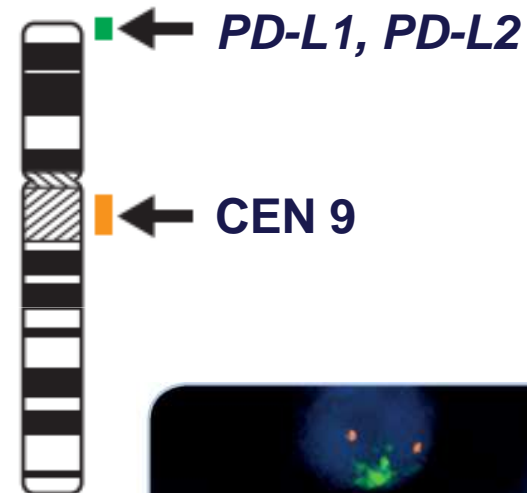
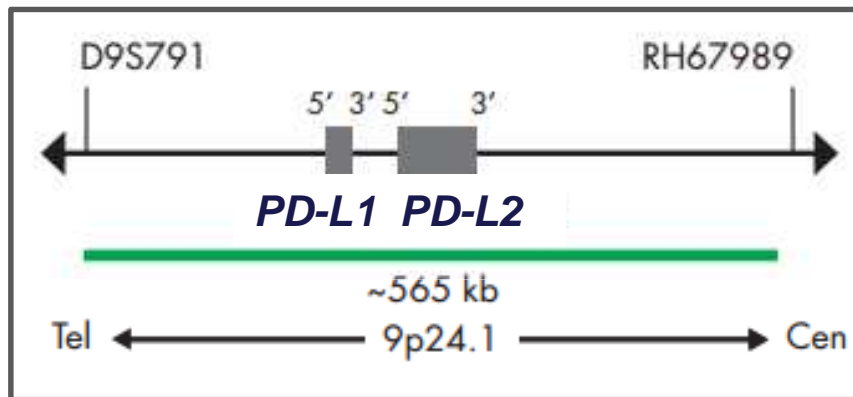
- 75 adenocarcinomas de pulmón quirúrgicos:
  - Media de 65 años (rango: 42-84), 68% hombres, 73% estadios I-II y 76% con historia tabáquica
  - 20% *EGFR* mutado, 18% *KRAS* mutado y 2% *ALK* reordenado
- Inclusión de dos *punch* tumorales y uno de parénquima no tumoral de cada muestra en 5 *arrays* de tejido (TMAs)



# MATERIAL Y MÉTODOS

## Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)

Sonda **9p24.1**: ZytoLight SPEC CD274, PDCD1LG2/CEN 9 (Zytovision)



Criterios de alteración de número de copias  
(100 núcleos):

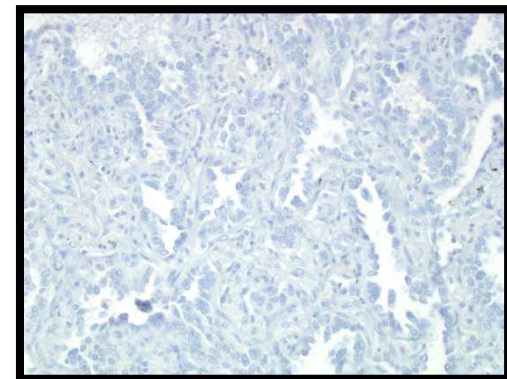
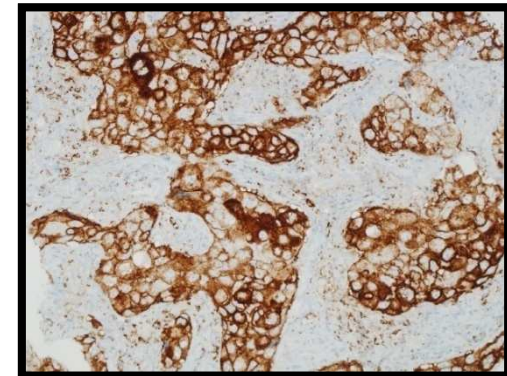
- **Amplificado**:  $\text{Ratio } PD-L1 / \text{CEN } 9 > 2$
- **Ganancia**:  $\text{Media } PD-L1 > 2,5$
- **Disómico**:  $\text{Media } PD-L1 \leq 2,5$



# MATERIAL Y MÉTODOS

## Inmunohistoquímica (IHQ)

- Clon **SP142**: Rabbit Anti-Human PD-L1/CD274 (Spring Bioscience, Roche)
- Digitalización con iScan HT slide scanner y visualización con Virtuoso image management software (VMS, Roche)



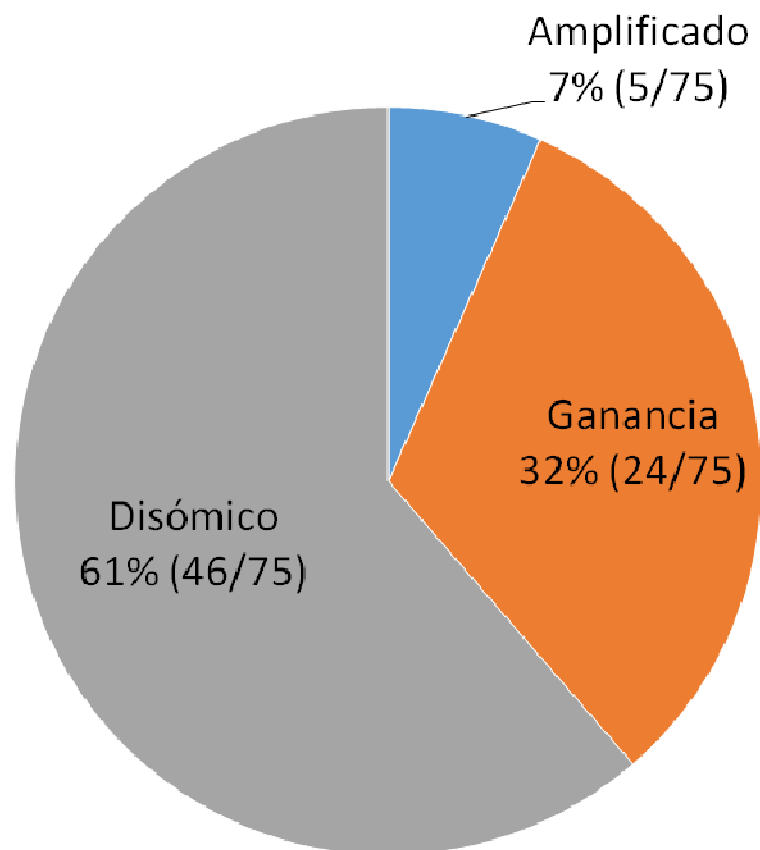
Criterio de positividad:

- **Positivo**: >1% células tumorales
- **Negativo**: ≤1% células tumorales

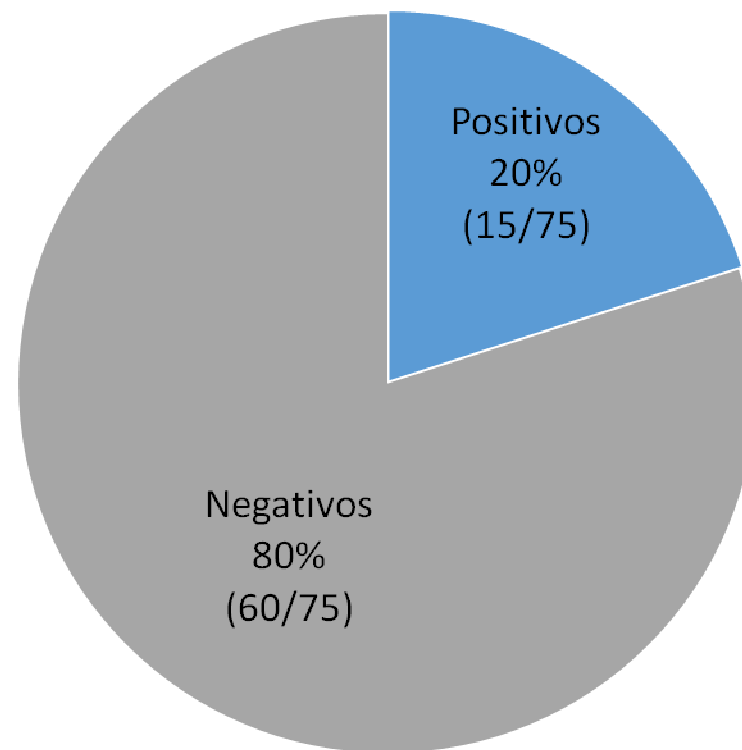


# RESULTADOS

## FISH



## IHQ





# RESULTADOS

## Características AMPLIFICADOS PD-L1

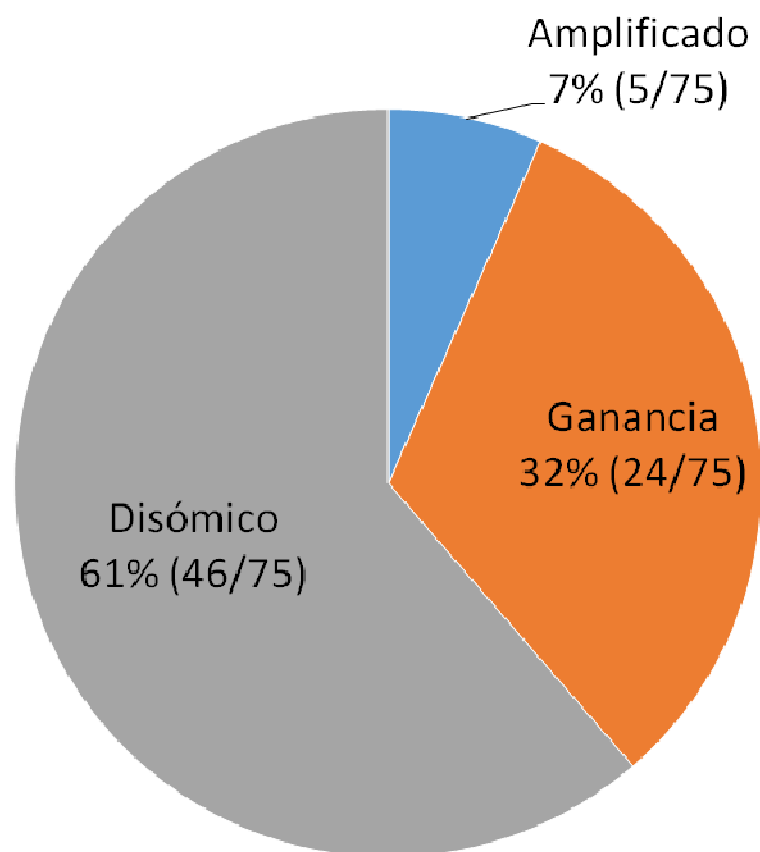
N	FISH			IHQ
	<i>PD-L1</i>	CEN 9	Ratio	TCs
Caso 1	6,4	2,6	2,4	100%
Caso 2	6,2	2,5	2,5	100%
Caso 3	6,0	2,2	2,7	50%
Caso 4	6,7	2,0	3,3	100%
Caso 5	6,3	1,6	3,8	100%

- Pacientes varones, con historia tabáquica y media de edad de 62 años
- Subtipos histológicos de tipo acinar/sólido
- *EGFR* wt, todos con ganancias del gen *ALK* y 3 con **mutación de *KRAS*** ( **$p=0,021$** )

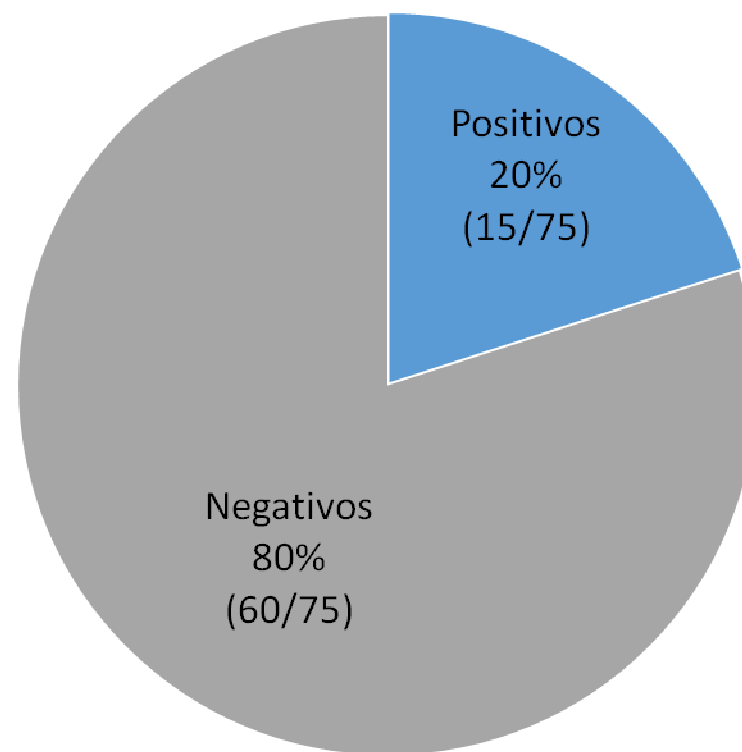


# RESULTADOS

## FISH



## IHQ



# RESULTADOS

## Correlación de las alteraciones del gen *PD-L1* con su expresión IHQ

<b>FISH</b> <b>IHQ</b>	<b>AMPLIFICADO</b>	<b>DISÓMICO</b>	<b>GANANCIA</b>	<b>TOTAL</b>
<b>POS</b>	5	2	8	15
<b>NEG</b>	0	44	16	60
<b>TOTAL</b>	5	46	24	75

100%

96%

33%

¿Cómo consideramos las ganancias del gen en función de la expresión?



# RESULTADOS

## Correlación de las alteraciones del gen *PD-L1* con su expresión IHQ

FISH \ IHQ	AMPLIFICADO	DISÓMICO	GANANCIA	TOTAL
POS	5	2	8	15
NEG	0	44	15	60
TOTAL	5	46	23	75



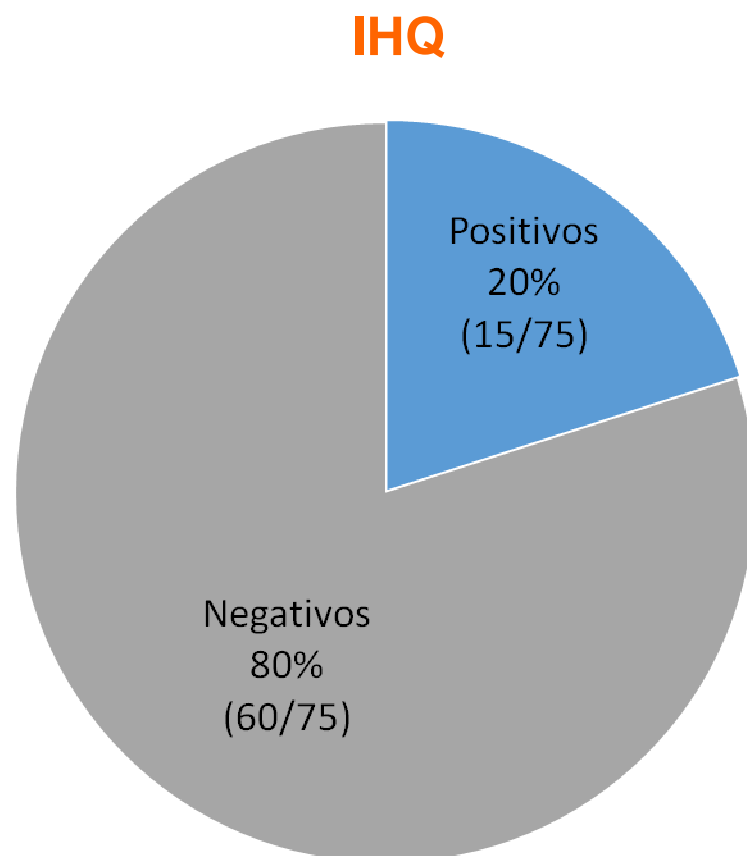
**Cut-off de correlación del núm de copias del gen con la IHQ:**

**6/8 de los casos IHQ + tenían > 5 copias del gen *PD-L1***

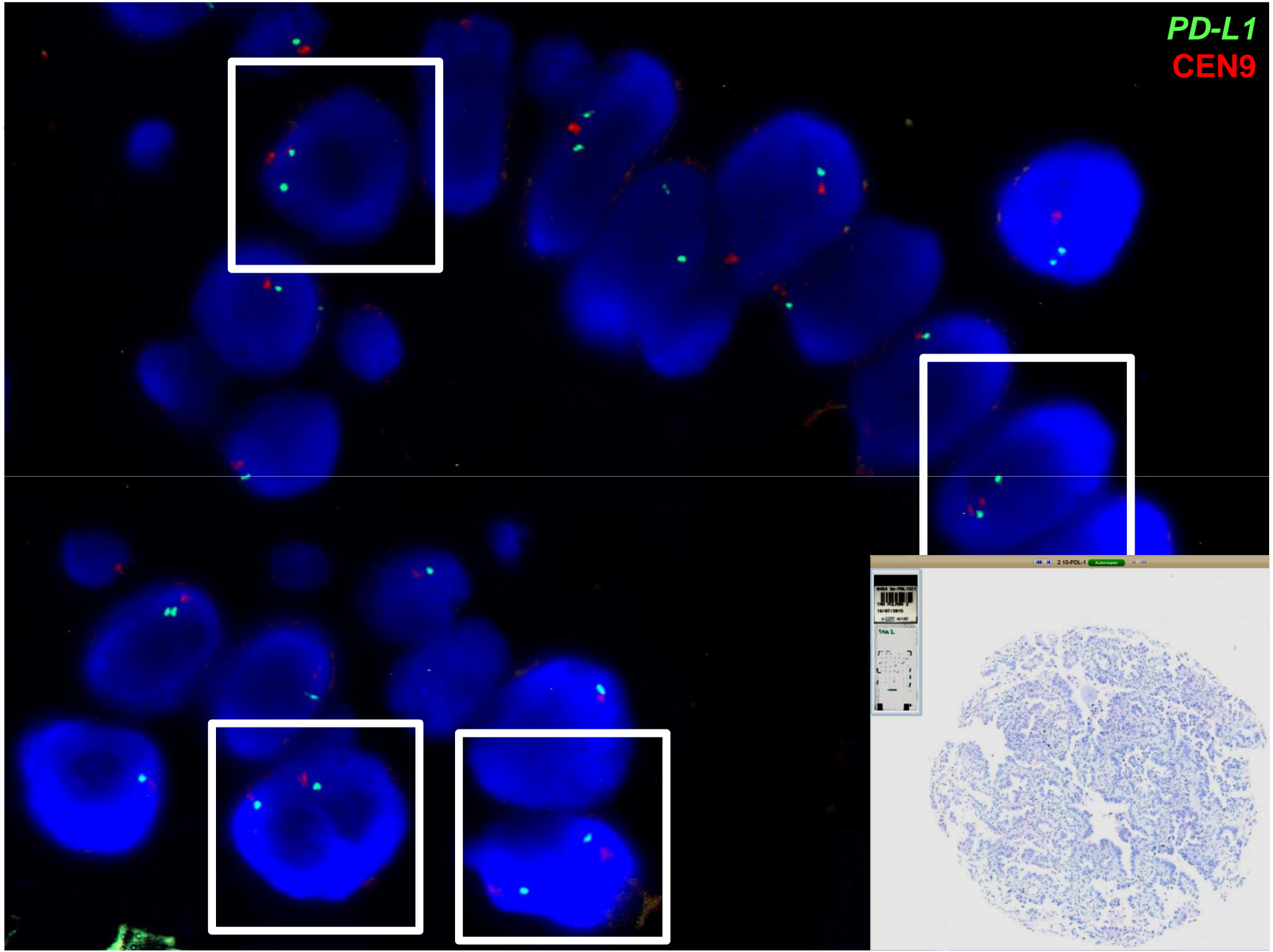


# RESULTADOS

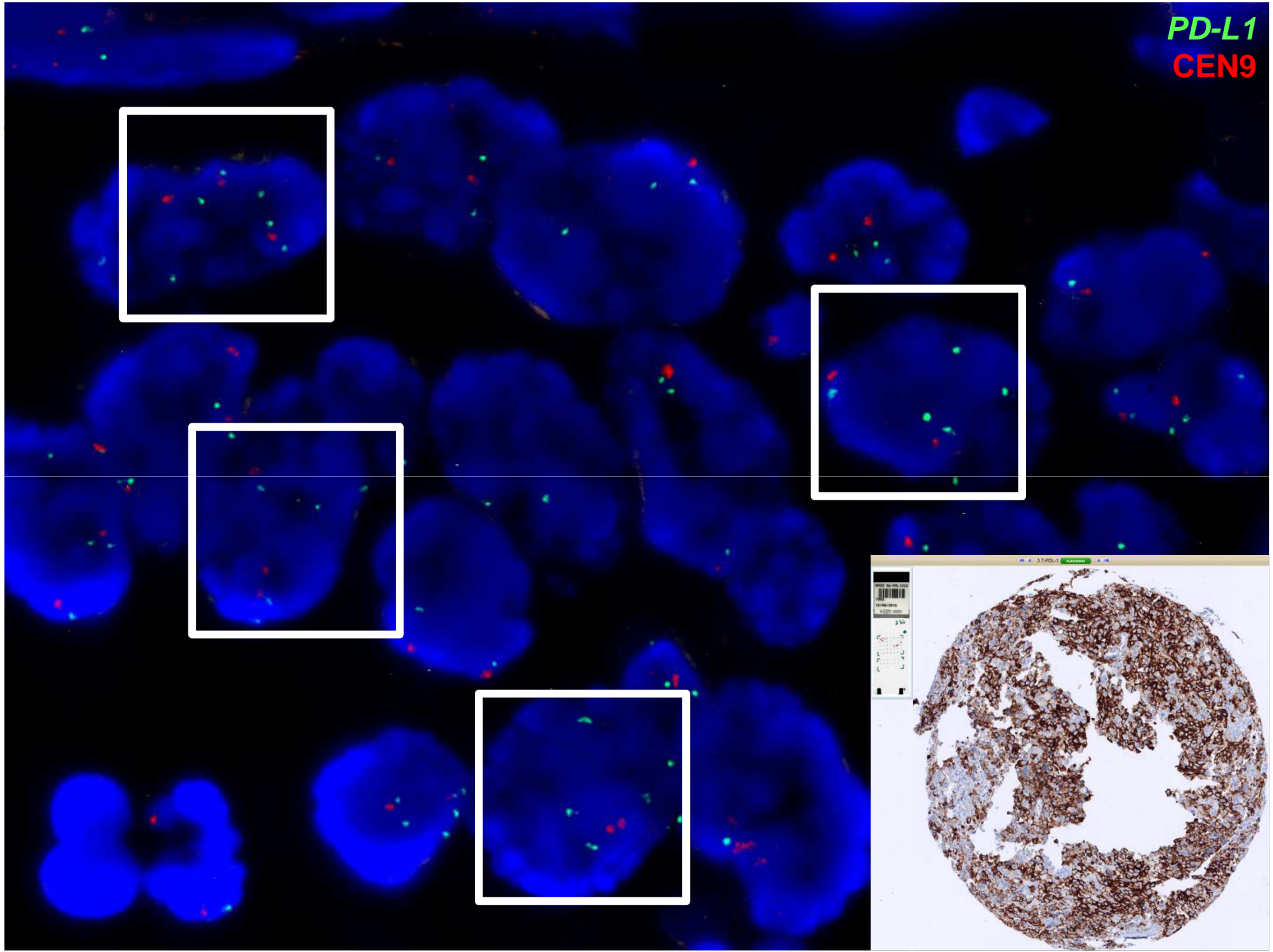
## Correlación de las alteraciones del gen *PD-L1* con su expresión IHQ



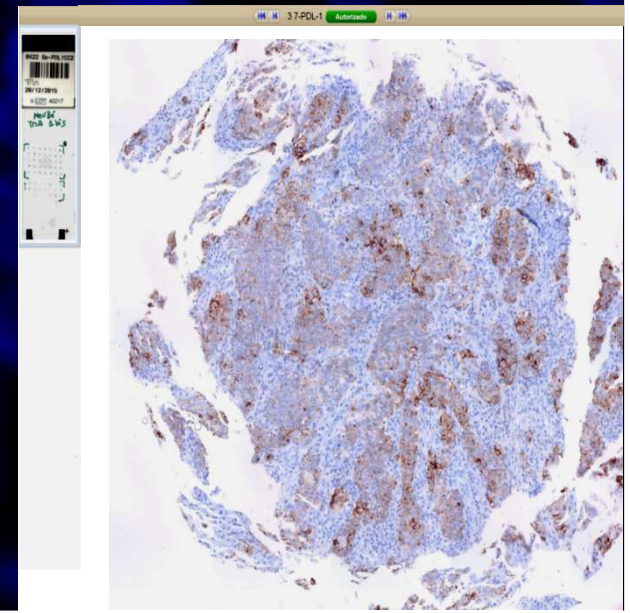
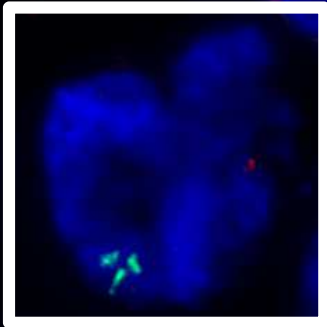
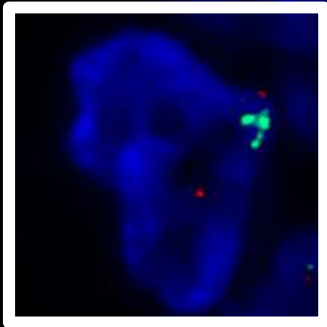
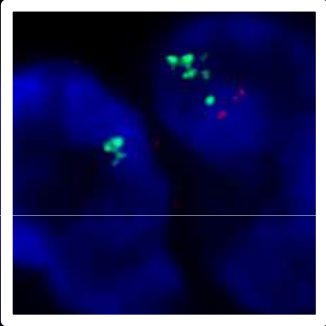
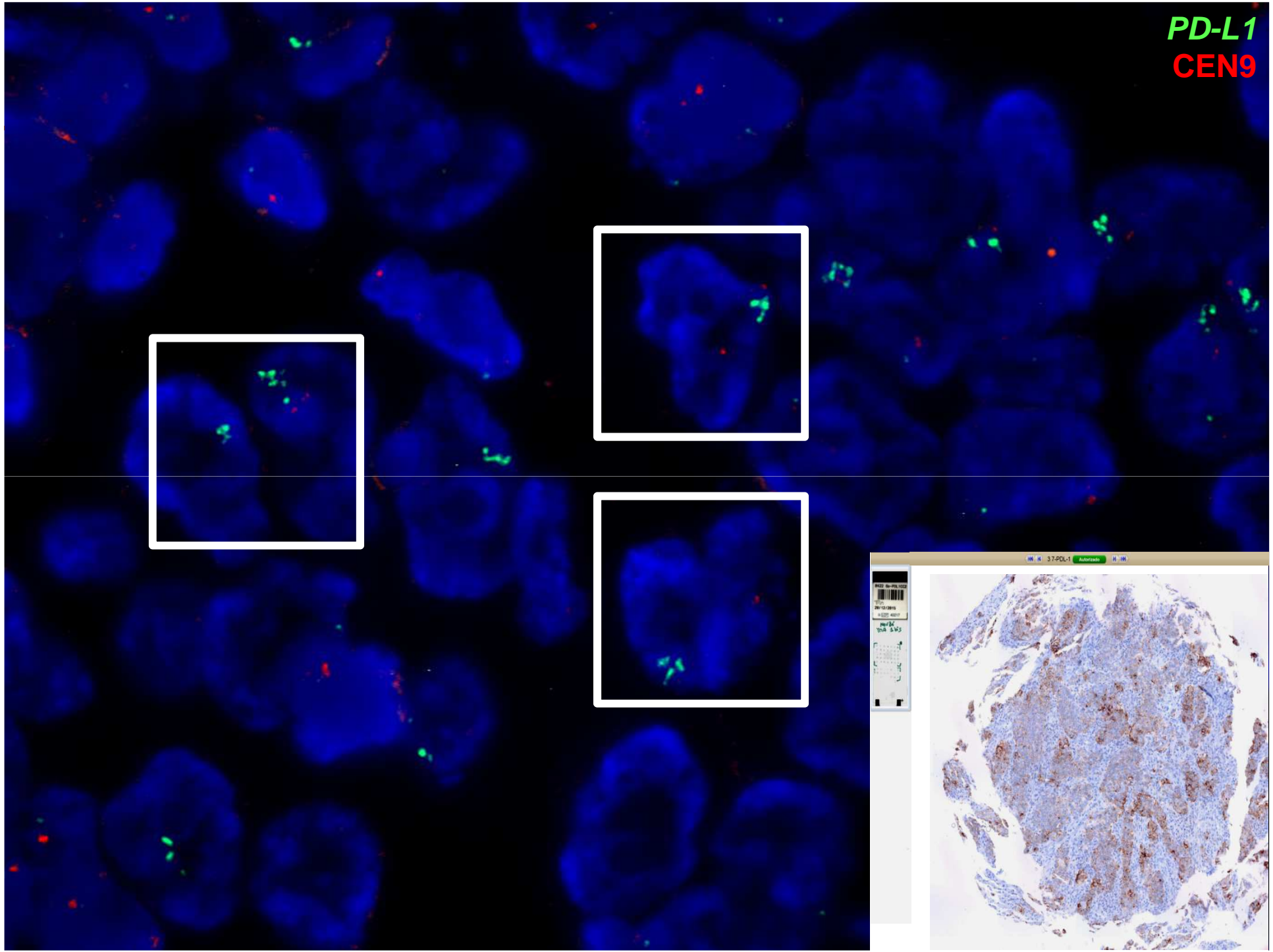
PD-L1  
CEN9



PD-L1  
CEN9

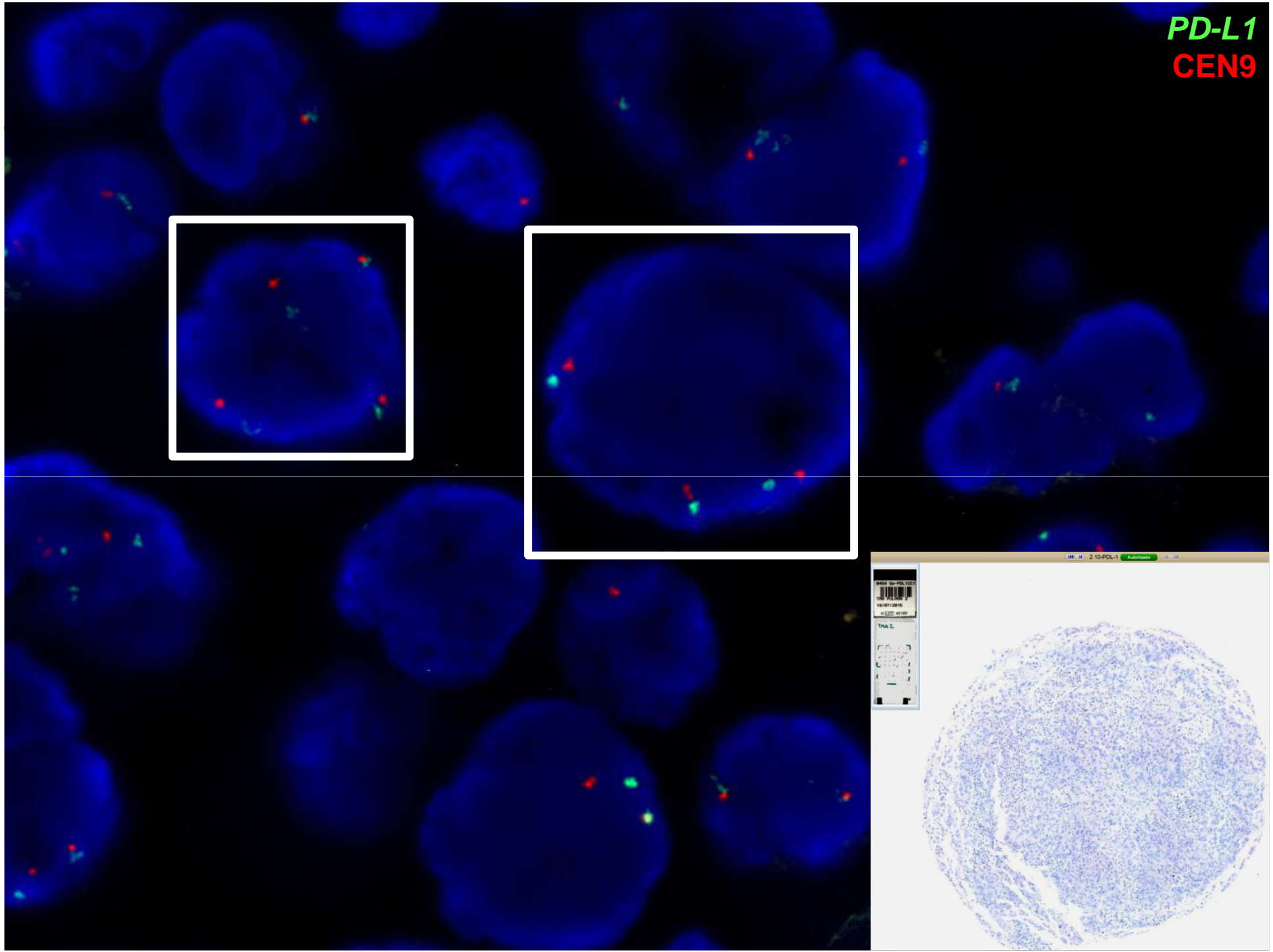


PD-L1  
CEN9





PD-L1  
CEN9



# CONCLUSIONES

---

- Las ganancias y amplificaciones del gen *PD-L1* son una alteración prevalente (39%) en los adenocarcinomas de pulmón
- Clínicamente, las amplificaciones de *PD-L1* están asociadas a pacientes con mutaciones del gen *KRAS* ( $p=0,021$ )
- La correlación de la expresión de PD-L1 por IHQ y las alteraciones del gen por FISH es del 73% utilizando el *cut-off* a  $> 5$  copias
- Se necesita ampliar la serie de casos para validar este *cut-off* así como valorar la respuesta a fármacos anti-PD-1/PD-L1



## AGRADECIMIENTOS

Laboratorio de Citogenética  
Hospital del Mar

- Dra. Marta Salido
- Dra. Blanca Espinet
- María Rodríguez

Servicio de Anatomía Patológica  
Hospital del Mar

- Dra. Lara Pijuan
- Dr. Javier Gimeno

Servicio de Oncología  
Hospital del Mar

- Dr. Álvaro Taus
- Dra. Edurne Arriola
- Dr. Joan Albanell

[sclave@imim.es](mailto:sclave@imim.es)

