

# Score PD-L1 dans les cancers oeso-gastriques : proposition de compte-rendu standardisé

## INTRODUCTION

A ce jour (Mars 2024), deux scores sont utilisés pour la prescription d'une immunothérapie (anti-PD1) pour les cancers oeso-gastriques : le CPS (Combined Positive Score ou Score Positif Combiné) et le TPS (Tumor Proportion Score ou Score de Proportion Tumorale).

Ces scores sont utilisés selon les autorisations de mise sur le marché (AMM) et toutes les indications concernent des cancers oeso-gastriques non opérables ou en première ligne métastatique.

Le biomarqueur PD-L1 doit être évalué par immunohistochimie. Les seuils et les scores utilisés sont différents selon les études : seuil  $CPS \geq 10$  pour les cancers de l'œsophage ou de la jonction de type Siewert 1 HER2-négatifs (essai Keynote 590, Shitara K al, 2020) ; seuil  $CPS \geq 5$  pour les adénocarcinomes de l'estomac, de la jonction oeso-gastrique et de l'œsophage HER2-négatif (essai CheckMate 649, Janjigian et al, 2021) ; seuil  $CPS \geq 1$  pour les adénocarcinomes de l'estomac, de la jonction oeso-gastrique et de l'œsophage HER2-négatifs (essai Keynote-859, Rha et al, 2023) et HER2-positifs (essai CheckMate 811, Janjigian et al, 2023) ; et seuil  $TPS \geq 1\%$  pour les carcinomes épidermoïdes de l'œsophage (essai CheckMate 648, Doki Y et al, NEJM 2022). Il existe aussi une indication de traitement adjuvant des cancers de l'œsophage par anti-PD1 en cas de reliquat tumoral post-opératoire après radio-chimiothérapie néo-adjuvante, mais elle est indépendante du statut PD-L1.

On peut réaliser le statut PD-L1 d'emblée, au moment du diagnostic sur biopsie (« test réflexe »), compte-tenu des biomarqueurs déjà effectués systématiquement (statuts HER2 et MMR), du matériel biopsique potentiellement épuisable, de la perte antigénique à long terme et du risque élevé de récurrence de ce type de cancer. Dans ce cadre, **il faut toujours réaliser de façon conjointe les deux scores CPS et TPS.**

**Il faut signaler que de nombreux essais thérapeutiques sont en cours** avec d'autres molécules d'immunothérapie, avec différentes combinaisons thérapeutiques, sur différentes indications (dont le traitement néo-adjuvant) et appliquant d'autres scores. C'est pourquoi cette fiche sera actualisée régulièrement sur le site de la SFP (<https://www.sfpathol.org/actions-recommandations.html>). Pour l'actualisation des indications thérapeutiques, se référer au TNCD (Thésaurus National de Cancérologie Digestive) qui est mis à jour régulièrement (Zaanan et al, 2022 ; Véziant et al, 2023).

**Ce document est constitué de 2 volets :**

- les items utiles à la réalisation d'un « Compte-Rendu Standardisé » (CRS) d'évaluation d'un statut PD-L1 sur des prélèvements de cancers oeso-gastriques,
- les notes explicatives des items de ce CRS.

**Méthodologie :** le CRS et les notes explicatives ont été rédigés collégalement sur la base des recommandations, d'avis d'experts et des données scientifiques publiées (analyse de la littérature

relative aux scores d'évaluation de PD-L1 dans les cancers oeso-gastriques recueillie sur pubmed, jusqu'en septembre 2023). Les documents ont fait l'objet d'une relecture multidisciplinaire et seront actualisés régulièrement.

**Rédacteurs :**

Coordinatrice : Janick Janick SELVES, Anatomo-Pathologiste, CHU Toulouse

Geneviève BELLEANNÉE, Anatomo-Pathologiste, CHU Bordeaux

Frédéric BIBEAU, Anatomo-Pathologiste, CHU Besançon

Pascale CERVERA, Anatomo-Pathologiste, hôpital Saint Antoine, Paris

Peggy DARTIGUES, Anatomo-Pathologiste, Gustave Roussy, Villejuif

Florence RENAUD, Anatomo-Pathologiste, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

**Relecteurs :**

Valérie CALES, Anatomo-Pathologiste, CHG Pau

Denis CHATELAIN, Anatomo-Pathologiste, CHU AMIENS

Romain COHEN, Oncologue médical, hôpital Saint Antoine, Paris

Simona COSCONEA, Gastro-entérologue, Gustave Roussy

Laurent DOUCET, Anatomo-Pathologiste, CHU Brest

Stéphane KOCH, Gastro-entérologue, CHU Besançon

Marion MARTY, Anatomo-Pathologiste, CHU Bordeaux

Joelle REYRE, Anatomo-Pathologiste, Medipath, Toulouse

Sophie STANISLAS, Anatomo-Pathologiste, CHG Pau

David TOUGERON, Gastro-entérologue Oncologue digestif, CHU Poitiers

# Proposition de compte-rendu standardisé

## **TYPE DE PRÉLÈVEMENT**

Primitif : œsophage/estomac/jonction oeso-gastrique/autre

Localisation du prélèvement (primitif ou métastase) : préciser l'organe

Type histologique (OMS 2019) :

Type d'échantillon : Biopsie/ Pièce opératoire

Traitement avant prélèvement : oui / non / inconnu

## **EXAMEN D'IMMUNOHISTOCHEMIE : PD-L1**

### **Technique**

Anticorps :

Automate :

Témoin externe utilisé :

### **Prélèvement analysable**

Prélèvement évaluable : oui (au moins 100 cellules tumorales viables) / non : préciser la raison

Témoin externe validé : oui/non

## **RESULTAT/CONCLUSION**

Marquage : homogène/hétérogène. Une description plus précise (détails du comptage) est possible.

	Dans l'ensemble des zones tumorales, en tenant compte de l'hétérogénéité
TPS*	
CPS**	

*\*évalué sur les cellules tumorales : seul le marquage membranaire doit être interprété, quel que soit son intensité.*

*\*\* évalué sur les cellules tumorales et les cellules immunes : lymphocytes et macrophages en excluant plasmocytes, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles*

# NOTES EXPLICATIVES

## Type de prélèvement

A ce jour, l'analyse du statut PD-L1 a été validée sur les **adénocarcinomes oeso-gastriques et les carcinomes épidermoïdes de l'œsophage**. Actuellement, il n'existe pas de recommandation sur le matériel qui doit être testé (biopsie, pièce opératoire, matériel avant ou après traitement néo-adjuvant, primitif ou métastase). **L'évaluation du statut PD-L1 ne doit s'effectuer que sur la composante invasive** (Fassan et al, 2020) et requiert **au minimum 100 cellules tumorales**.

## Spécificités techniques de l'échantillon

Dans la mesure du possible, il faut **utiliser des blocs récents, datant de moins de 5 ans** car l'expression de PD-L1 diminuerait avec la durée d'archivage (Fassan et al, 2020; Angerili et al, 2023).

Pour une bonne représentativité tumorale, **4 à 5 biopsies tumorales sont requises**, du fait de l'hétérogénéité de l'expression de PD-L1 dans les cancers oeso-gastriques (Ye M, Cancer Cell Int 2020). Compte-tenu de la multiplicité des biomarqueurs nécessaires à la prise en charge d'un cancer oeso-gastrique, le TNCD (Thésaurus National de Cancérologie Digestive) recommande d'ailleurs la réalisation de 10 biopsies devant toute suspicion de cancer gastrique et de la jonction oeso-gastrique (Zaanan A et al, 2022) et de 6 biopsies pour les cancers de l'œsophage non résécables (Veziat J et al, 2023). **L'inclusion en plusieurs cassettes de ces biopsies permet une épargne tissulaire** pour optimiser toutes les techniques nécessaires.

**Les ponctions-biopsies et les pièces opératoires sont utilisables.**

A ce jour, il n'existe pas de rationnel scientifique pour recommander la détermination de façon systématique du statut PD-L1 sur **pièces de mucosectomies**.

Une analyse sur un **prélèvement cytologique** peut être requise dans le cas de métastases. Il faut privilégier les cyto blocs ou étalements colorés au Papanicolaou après validation technique et validation des protocoles (Tejerina et al, 2021). L'utilisation des étalements non colorés, séchés à l'air et des préparations monocouches n'est pas recommandée du fait d'une moindre performance (Tejerina et al, 2021).

S'il y a au moins 100 cellules tumorales, un score TPS est alors réalisable sur cyto blocs ou étalements colorés au Papanicolaou.

S'il y a au moins 100 cellules tumorales et du stroma, un score CPS peut être évalué, exclusivement sur des cyto blocs.

S'il n'y a pas de cellules du stroma analysables (matériel cytologique d'étalement ou cyto bloc ne renfermant que des cellules tumorales), le score CPS ne peut pas être évalué. Par extrapolation, on peut proposer un **« score CPS minimum » réduit au TPS car évalué uniquement sur les cellules tumorales en l'absence de stroma (avis d'experts)**.

Seule une décalcification à l'EDTA permet une analyse immunohistochimique PD-L1 fiable sur matériel calcifié : (Forest et al, 2019; Strickland et al, 2020, Miquelestorena-Standley et al, 2020).

Le gastro-entérologue pour la réalisation des biopsies tumorales s'appuiera sur les recommandations récemment publiées pour optimiser la qualité du matériel à examiner. ( Yao et al, Clin Endosc 2023; ).

## Spécificités temporelle et spatiale du prélèvement tumoral

Les études sont difficiles à comparer car elles sont très hétérogènes d'un point de vue technique et méthodologique (anticorps, automates, scores et seuils, type de cancer, contextes cliniques,...). Il existe également une limite inhérente à l'hétérogénéité d'expression intra-tumorale spatiale et temporelle de PD-L1.

Néanmoins, dans les adénocarcinomes gastriques, il semble exister une **bonne concordance entre la biopsie et la pièce opératoire** même si les résultats sont variables selon le clone et l'automate utilisé (performance de 100% pour le test SP263 sur automate Ventana, de 86% pour 22C3 sur automate Dako et de 93% pour 22C3 sur automate Ventana, avec un seuil CPS à 1 (Kim SW et al).

Par ailleurs, comme dans d'autres organes, **la radiothérapie et la chimiothérapie semblent influencer l'expression de PD-L1 dans les cancers oeso-gastriques (Zhou 2020)**. Un seul travail a évalué la variation du CPS entre biopsie naïve de traitement et la pièce après radio-chimiothérapie, en faveur d'une augmentation d'expression de PD-L1 sur la pièce opératoire après radio-chimiothérapie, en particulier sur la composante immunitaire (Kelly et al, ESMO GI 2023). Par ailleurs, deux études suggèrent que **l'expression de PD-L1 augmenterait dans les cellules tumorales entre la tumeur primitive gastrique et les métastases**, avec une discordance entre primitif gastrique et métastase à distance et/ou loco-régionale de 33% (score CPS) (Liu DHW et al, 2023, Kalpakoff M et al, 2021).

**Un score CPS peut être réalisé sur métastases ganglionnaires.** Il peut être délicat à évaluer, car il doit reposer sur l'évaluation des cellules immunes du stroma et non celles du parenchyme ganglionnaire, **si et seulement si au moins 100 cellules tumorales sont présentes.**

Lorsque la tumeur est présente uniquement sous la forme **d'emboles vasculaires** (primitif ou métastase), un score CPS est réalisable, s'il y a au moins 100 cellules tumorales. Par extrapolation, il s'agit d'un « score CPS minimum » réduit au TPS car évalué uniquement sur les cellules tumorales en l'absence de stroma.

## Techniques d'immunohistochimie

### Les anticorps et les automates

Pour les cancers oeso-gastriques, il n'existe pas à ce jour de « ring study » ayant comparé l'ensemble des anticorps anti-PD-L1 et des différents automates. Ce document propose donc un résumé de l'état des connaissances actuel sur ce point.

Les anticorps principalement utilisés en France et leurs combinaisons d'utilisation sur les différents automates sont listés dans le tableau 1, à partir de l'Essai d'Aptitude (EA) de l'AFAQAP 2023 réalisé sur des cancers du sein, ORL, de l'œsophage, de l'estomac et du col utérin avec un seul cas de carcinome de l'estomac (jugé élémentaire avec un CPS à environ 80) (<https://www.afaqap.fr>).

**Tableau 1 :** Résultats de l'essai d'aptitude AFAQAP 2023, IHC PD-L1 (CPS)

Anticorps	Automates	Nombre de centres utilisateurs
22C3 (Dako-Agilent)	Agilent-Dako Autostainer	3
	Agilent-Dako Omnis	11
	Leica Bond Max	1
	Roche-Ventana Benchmark Ultra	17
QR1 (Quartett / Biocyc)	Agilent-Dako Autostainer	1
	Agilent-Dako Omnis	1
	Leica Bond Max ou III	9
	Roche-Ventana Benchmark GX ou Ultra	12
QR1 (DIAGOMICS)	Roche-Ventana Benchmark Ultra	1
SP263 (Roche-Ventana)	Roche-Ventana Benchmark Ultra	5
73-10 (Leica)	Leica Bond-III	2
E1L3N (Cell Signaling)	Agilent-Dako Autostainer	1
	Leica Bond-III	1
SP142 (Roche-Ventana)	Roche-Ventana Benchmark Ultra	1, non adapté pour sein

En jaune, les protocoles ayant obtenu une note optimale dans les tests AFAQAP 2023.

Puisqu'il n'existe aucune recommandation concernant le test ou l'automate qui doit être utilisé dans les cancers oeso-gastriques, n'importe quel anticorps ou automate peuvent être utilisés sous réserve de validation technique et validation des protocoles. Pour les deux schémas d'immunothérapie validés et remboursés en France pour les adénocarcinomes oeso-gastriques, les tests utilisés qui ont conduit à ces AMM étaient le test 28-8 pharmDx, DAKO pour l'essai CM 649 et PD-L1 IHC 22C3 pharmDx assay (Agilent) pour l'essai KN-062. Plusieurs tests commerciaux validés dits « tests compagnons » sont disponibles (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx utilisé sur DAKO Autostainer Link 48 Agilent, PD-L1 IHC 28-8 utilisé sur DAKO Autostainer, PD-L1 (SP142) Assay utilisé sur VENTANA, PD-L1 (SP263) Assay utilisé sur VENTANA) ainsi que des tests maison utilisant les mêmes clones sur différents automates ou encore d'autres clones. Cependant, le choix du test pourrait influencer l'éligibilité clinique à l'immunothérapie (Yeong J et al, 2022). Il semblerait que les deux tests compagnons utilisés dans les deux essais validés en France soient interchangeables (pour un seuil de CPS  $\geq 1$  et  $\geq 10$ ) (Ahn S et al 2021) mais l'interchangeabilité pour les autres clones/tests a été moins étudiée dans les cancers oeso-gastriques.

Cependant, si la méthode de référence de l'essai clinique n'est pas disponible dans un laboratoire, il est reconnu et accepté (surtout pour les cancers du poumon) d'utiliser un autre clone anti PD-L1, en utilisant un protocole technique validé pour le même usage à l'exception du clone SP142 (Roche diagnostics), moins sensible (Tarlokovitch, 2020).

## Tests qualité (AFAQAP)

Dans le poumon, les tests AFAQAP ont montré une bonne interchangeabilité des anticorps 22C3 et QR1, SP162 paraissant un peu moins bons. L'EA-technique PD-L1 pour le poumon a été évalué bon/très bon avec peu de variabilité inter-laboratoires. Il n'existe pas à ce jour de contrôle qualité national pour les cancers oeso-gastriques, mais un EA-technique pour le CPS dans de multiples localisations

tumorales a été proposé par l'AFAQAP en 2023 (tableau 1 et <https://www.afaqap.fr>). On peut noter que beaucoup de laboratoires français utilisent le clone QR1 qui n'a pas été étudié dans la littérature pour les cancers œso-gastriques, et qu'en revanche, le clone 28-8 n'est pas utilisé dans les laboratoires français. Cet EA-technique pour le CPS a été évalué bon puisque la qualité technique du marquage obtenu par 94% des participants a permis un classement à visée thérapeutique correct. Ce bon résultat doit cependant être pondéré puisque le CPS attendu pour le cas de cancer gastrique était d'environ 80, soit très au-dessus des seuils critiques pour la décision thérapeutique dans les cancers gastriques.

## Interprétation des marquages et évaluation des scores

### Prélèvements analysables, témoin externe

Le prélèvement peut être non analysable pour des raisons qualitatives (nécrose, phénomènes d'écrasement cellulaire, carcinome in situ, dysplasie de haut grade, ...) ou quantitative (< 100 cellules tumorales).

Il est indispensable d'utiliser au moins un témoin positif externe : il peut s'agir d'un témoin commercial ou bien d'**amygdale, témoin adéquat et optimal pour calibrer la technique PD-L1 (CPS)** où on attend un marquage membranaire et/ou cytoplasmique avec un gradient d'intensité de faible à intense des macrophages des centres germinatifs et un marquage membranaire modéré à intense des cellules.

### Marquages cellulaires attendus

Cellules tumorales : marquage membranaire linéaire, complet ou incomplet, des cellules invasives, convaincant quelle que soit l'intensité, à évaluer au Gx 20 (**ne pas prendre en compte le marquage cytoplasmique**) (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx [Instructions for Use]. Santa Clara, CA: Agilent Technologies, Inc.; 2022).

Cellules immunes (lymphocytes et macrophages) : marquage membranaire ou cytoplasmique, quelle que soit l'intensité à évaluer au G x20 (ne pas compter les plasmocytes, fibroblastes, macrophages dans la lumière des glandes tumorales).

Sont à exclure des zones à évaluer : la nécrose, les artéfacts d'écrasement, l'ulcération, le carcinome in situ (Figure 4), la métaplasie intestinale.

### Modes d'évaluation des scores

Pour les cancers œso-gastriques, il existe plusieurs schémas d'immunothérapie, chacun lié à un score et à un seuil défini. Il faut donc fournir les deux scores TPS et CPS. **Les scores sont à évaluer sur la totalité de la lame, au x20, qui doit comprendre au moins 100 cellules tumorales viables.**

#### Score TPS (Tumor Proportion Score)

Le TPS prend en compte uniquement le marquage des cellules tumorales rapporté aux cellules tumorales viables (%). Il correspond à la formule suivante :  
(Nombre de cellules tumorales PD-L1+ / Nombre total de cellules tumorales viables) x 100.

#### Score CPS (Combined Positive Score)

Le CPS prend en compte le marquage des cellules tumorales et des cellules immunes (macrophages et lymphocytes) ramené à la totalité des cellules tumorales viables (qui doivent être d'au moins 100) .  
Il correspond à la formule suivante :

$$\frac{((\text{Nombre de cellules tumorales PD-L1+}) + (\text{Nombre de cellules immunes PD-L1+}))}{(\text{Nombre total de cellules tumorales viables})} \times 100$$

C'est un nombre entier d'au maximum 100.

### **Prise en compte de l'hétérogénéité tumorale**

En pratique, on repère sur la lame toutes les zones tumorales et on applique le score uniquement sur les zones tumorales invasives. Puis au faible grossissement, on évalue le marquage (absent, présent ou hétérogène). Si l'expression est homogène, on évalue au X20 le nombre de cellules tumorales et inflammatoires marquées pour le nombre total de cellules tumorales viables dans ce champ, multiplié par 100. Est pris en compte le marquage des cellules inflammatoires associées à la tumeur en incluant la bordure invasive (jusqu'à une distance maximum de 0,5 mm des dernières cellules tumorales correspondant environ à la moitié d'un champ X20). Si l'expression de PD-L1 est variable, on évalue un CPS dans les différentes zones puis on effectue une moyenne rapportée à la surface globale (on divise la somme de chaque CPS par le nombre de zones évaluées) (Figure 1, 2, 3).

### **Reproductibilité inter et intra observateur**

Les études ont montré des résultats contradictoires, depuis une concordance acceptable (Nuti et al., Histopathology 2022) jusqu'à une importante variabilité inter-observateurs entre pathologistes pour l'évaluation du score CPS (Robert et al, Mod Pathol 2023 ; Fernandez et al, Mod Pathol 2023). Il est à noter que les méthodologies sont très hétérogènes, tant au niveau technique qu'au niveau de la formation des pathologistes lecteurs, mais ces données soulignent l'importance de l'entraînement à la lecture des scores, des formations et de la participation à des programmes de contrôle qualité.

### **Prévalence des différentes valeurs du CPS dans les principaux essais thérapeutiques**

Dans les principaux essais thérapeutiques appliquant un score CPS sur des cancers oeso-gastriques, la prévalence des cas avec un CPS  $\geq 1$  varie de 57 à 100%, celle des cas avec un CPS  $\geq 10$  varie de 18 à 52,5% et celle des cas avec un CPS  $\geq 5$ , moins étudiée, est de l'ordre de 60% (KN59, KN061, KN062, KN590, KN859, CM649, CM648). Une étude récente en population, rapporte une prévalence de 81% pour les CPS  $\geq 1$  et de 49 % pour les CPS  $\geq 5$  (Mehta et al, 2023).

# RÉFÉRENCES

- Ahn S, Kim KM. PD-L1 expression in gastric cancer: interchangeability of 22C3 and 28-8 pharmDx assays for responses to immunotherapy. *Mod Pathol*. 2021 Sep;34(9):1719-1727. doi: 0.1038/s41379-021-00823-9. Epub 2021 May 17. PMID: 34002009.
- Angerilli V, Fassan M, Parente P, Gullo I, Campora M, Rossi C, Sacramento ML, Pennelli G, Vanoli A, Grillo F, Mastracci L. A practical approach for PD-L1 evaluation in gastroesophageal cancer. *Pathologica*. 2023 Apr;115(2):57-70. doi: 10.32074/1591-951X-836. Epub 2022 Dec 19. PMID: 36537078; PMCID: PMC10462995.
- Dabbagh TZ, Sughayer MA. PD-L1 Expression Harmonization in Gastric Cancer Using 22C3 PharmDx and SP263 Assays. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021 Jul 1;29(6):462-466. doi: 0.1097/PAI.0000000000000902. PMID: 33480602.
- Doki Y, Ajani JA, Kato K, Xu J, Wyrwicz L, Motoyama S et al. Nivolumab Combination Therapy in Advanced Esophageal Squamous-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2022 Feb 3;386(5):449-462
- Fassan M, Brignola S, Pennelli G, Alberti G, Angerilli V, Bressan A, Pellino A, Lanza C, Salmaso R, Lonardi S, Pucciarelli S, Spolverato G, Scarpa M, Realdon S, Farinati F, Luchini C, Rugge M, Loupakis F. PD-L1 expression in gastroesophageal dysplastic lesions. *Virchows Arch*. 2020 Jul;477(1):151-156. doi: 10.1007/s00428-019-02693-8. Epub 2019 Nov 14. PMID: 31724072.
- Fernandez AI, Robbins CJ, Gaule P, Agostini-Vulaj D, Anders RA, Bellizzi AM, Chen W, Chen ZE, Gopal P, Zhao L, Lisovsky M, Liu X, Shia J, Wang H, Yang Z, McCann L, Chan YG, Weidler J, Bates M, Zhang X, Rimm DL. Multi-Institutional Study of Pathologist Reading of the Programmed Cell Death Ligand-1 Combined Positive Score Immunohistochemistry Assay for Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer. *Mod Pathol*. 2023 May;36(5):100128. doi: 10.1016/j.modpat.2023.100128. Epub 2023 Feb 13. PMID: 36889057; PMCID: PMC10198879.
- Forest F, Cote G, Laville D, Da Cruz V, Dal Col P, Camy F, Mobarki M, Clemenson A, Yvoret V, Péoc'h M. Impact of delayed fixation and decalcification on PD-L1 expression: a comparison of two clones. *Virchows Arch*. 2019 Dec;475(6):693-699. doi: 10.1007/s00428-019-02613-w. Epub 2019 Jul 2. PMID: 31267202.
- Fuchs CS, Doi T, Jang RW, Muro K, Satoh T, Machado M et al. Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Patients With Previously Treated Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol*. 2018 May 10;4(5):e180013. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.0013
- Janjigian Y, Shitara K, Moehler M, Garrido M, Salman P, Shen L et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2021 Jul 3;398(10294):27-40
- Kalpakoff M, Hund S, Musser J, Roach C, Apostolaki A, Vilaro M, Peltz L, Watts B, LaPlaca C, Tabuena-Frolli S, DiMaio MA, Welcher R, Kulangara K. Inpatient Tumor Heterogeneity in IHC Interpretation Using PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021 Oct 1;29(9):667-673. doi: 10.1097/PAI.0000000000000941. PMID: 33973887; PMCID: PMC8505133.
- Kim SW, Jeong G, Ryu MH, Park YS. Comparison of PD-L1 immunohistochemical assays in advanced gastric adenocarcinomas using endoscopic biopsy and paired resected specimens. *Pathology*. 2021 Aug;53(5):586-594. doi: 10.1016/j.pathol.2020.10.015. Epub 2021 Feb 3. PMID: 33546812.

Kim SW, Jeong G, Ryu MH, Park YS. Comparison of PD-L1 immunohistochemical assays in advanced gastric adenocarcinomas using endoscopic biopsy and paired resected specimens. *Pathology*. 2021 Aug;53(5):586-594. doi: 10.1016/j.pathol.2020.10.015. Epub 2021 Feb 3. PMID: 33546812.

Liu DHW, Grabsch HI, Gloor B, Langer R, Dislich B. Programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in primary gastric adenocarcinoma and matched metastases. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 Jul 25.

Ma J, Li J, Qian M, Han W, Tian M, Li Z, Wang Z, He S, Wu K. PD-L1 expression and the prognostic significance in gastric cancer: a retrospective comparison of three PD-L1 antibody clones (SP142, 28-8 and E1L3N). *Diagn Pathol*. 2018 Nov 21;13(1):91. doi: 10.1186/s13000-018-0766-0. PMID: 30463584; PMCID: PMC6249875.

Mehta R, Liepa AM, Zheng S, Chatterjee A. Real-World Molecular Biomarker Testing Patterns and Results for Advanced Gastroesophageal Cancers in the United States. *Curr Oncol*. 2023 Feb 3;30(2):1869-1881. doi: 10.3390/currenconcol30020145. PMID: 36826106; PMCID: PMC9955769.

Miquelestorena-Standley E, Jourdan ML, Collin C, Bouvier C, Larousserie F, Aubert S, Gomez-Brouchet A, Guinebretière JM, Tallegas M, Brulin B, Le Nail LR, Tallet A, Le Loarer F, Massiere J, Galant C, de Pinieux G. Effect of decalcification protocols on immunohistochemistry and molecular analyses of bone samples. *Mod Pathol*. 2020 Aug;33(8):1505-1517. doi: 10.1038/s41379-020-0503-6. Epub 2020 Feb 24. PMID: 32094425.

Nuti S, Zhang Y, Zerrouki N, Roach C, Bänfer G, Kumar GL, Manna E, Diezko R, Kersch K, Rüschoff J, Jasani B. High interobserver and intraobserver reproducibility among pathologists assessing PD-L1 CPS across multiple indications. *Histopathology*. 2022 Dec;81(6):732-741. doi: 10.1111/his.14775. Epub 2022 Sep 23. PMID: 35993150.

Park Y, Koh J, Na HY, Kwak Y, Lee KW, Ahn SH, Park DJ, Kim HH, Lee HS. PD-L1 Testing in Gastric Cancer by the Combined Positive Score of the 22C3 PharmDx and SP263 Assay with Clinically Relevant Cut-offs. *Cancer Res Treat*. 2020 Jul;52(3):661-670. doi: 10.4143/crt.2019.718. Epub 2020 Jan 10. PMID: 32019283; PMCID: PMC7373862 [8].

Park Y, Koh J, Na HY, Kwak Y, Lee KW, Ahn SH, Park DJ, Kim HH, Lee HS. PD-L1 Testing in Gastric Cancer by the Combined Positive Score of the 22C3 PharmDx and SP263 Assay with Clinically Relevant Cut-offs. *Cancer Res Treat*. 2020 Jul;52(3):661-670. doi: 10.4143/crt.2019.718. Epub 2020 Jan 10. PMID: 32019283; PMCID: PMC7373862 [8].

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx [Instructions for Use]. Santa Clara, CA: Agilent Technologies, Inc.; 2022.

Robert ME, Rüschoff J, Jasani B, Graham RP, Badve SS, Rodriguez-Justo M, Kodach LL, Srivastava A, Wang HL, Tang LH, Troncione G, Rojo F, Van Treeck BJ, Pratt J, Shnitsa I, Kumar G, Karasarides M, Anders RA. High Interobserver Variability Among Pathologists Using Combined Positive Score to Evaluate PD-L1 Expression in Gastric, Gastroesophageal Junction, and Esophageal Adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2023 May;36(5):100154. doi: 10.1016/j.modpat.2023.100154. Epub 2023

Shitara K, Özgüroğlu M, Bang YJ, Di Bartolomeo M, Mandalà M, Ryu MH et al. Pembrolizumab versus paclitaxel for previously treated, advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (KEYNOTE-061): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2018 Jul 14;392(10142):123-133

Shitara K, Van Cutsem E, Bang YJ, Fuchs C, Wyrwicz L, Lee KW et al. Efficacy and Safety of Pembrolizumab or Pembrolizumab Plus Chemotherapy vs Chemotherapy Alone for Patients With First-line, Advanced Gastric Cancer: The KEYNOTE-062 Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2020 Oct 1;6(10):1571-1580.

Strickland AL, Blacketer S, Molberg K, Markantonis J, Lucas E. Effects of Decalcifying Agents of Variable Duration on PD-L1 Immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol*. 2020 Jan 2;153(2):258-265. doi: 10.1093/ajcp/aqz161. PMID: 31603186.

Sun JM, Shen L, Shah MA, Enzinger P, Adenis A, Doi T, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for first-line treatment of advanced oesophageal cancer (KEYNOTE-590): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet*. 2021 Aug 28;398(10302):759-771.

Tabernero J, Bang YJ, Van Cutsem E, Fuchs CS, Janjigian YY, Bhagia P, et al. KEYNOTE-859: a Phase III study of pembrolizumab plus chemotherapy in gastric/gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Future Oncol*. 2021 Aug;17(22):2847-2855.

Tejerina E, Garca Tobar L, Echeveste JI, de Andrea CE, Vigliar E, Lozano MD. PD-L1 in Cytological Samples: A Review and a Practical Approach. *Front Med (Lausanne)*. 2021 May 7;8:668612. doi: 10.3389/fmed.2021.668612. PMID: 34026795; PMCID: PMC8139418

Torlakovic E, Lim HJ, Adam J, Barnes P, Bigras G, Chan AWH, et al. "Interchangeability" of PD-L1 immunohistochemistry assays: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Mod Pathol*. 2020; 33(1):4–17. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0327-4> PMID: 31383961.

Vainer G, Huang L, Emancipator K, Nuti S. Equivalence of laboratory-developed test and PD-L1 IHC 22C3 pharmDx across all combined positive score indications. *PLoS One*. 2023 Jun 2;18(6):e0285764. doi: 10.1371/journal.pone.0285764. PMID: 37267266; PMCID: PMC10237432.

Veziat J, Bouché O, Aparicio T, Barret M, El Hajbi F, Lepilliez V, Lesueur P, Maingon P, Pannier D, Quero L, Raoul JL, Renaud F, Seitz JF, Serre AA, Vaillant E, Vermersch M, Voron T, Tougeron D, Piessen G. Esophageal cancer - French Intergroup Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatments and follow-up (TNCD, SNFGE, FFCD, GERCOR, UNICANCER, SFCD, SFED, SFRO, ACHBT, SFP, RENAPE, SNFCP, AFEF, SFR). *Dig Liver Dis*. 2023 Aug 25:S1590-8658(23)00767-3. doi: 10.1016/j.dld.2023.07.015. Epub ahead of print. PMID: 37635055

Ye M, Huang D, Zhang Q, et al. Heterogeneous programmed death-ligand 1 expression in gastric cancer: comparison of tissue microarrays and whole sections. *Cancer Cell Int*. 2020;20:186. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01273-0> 10.1186/s12935-020-01273-0 et Yamashita, K., Iwatsuki, M., Harada, K. *et al.* Can PD-L1 expression evaluated by biopsy sample accurately reflect its expression in the whole tumour in gastric cancer?. *Br J Cancer* **121**, 278–280 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0515-5>.

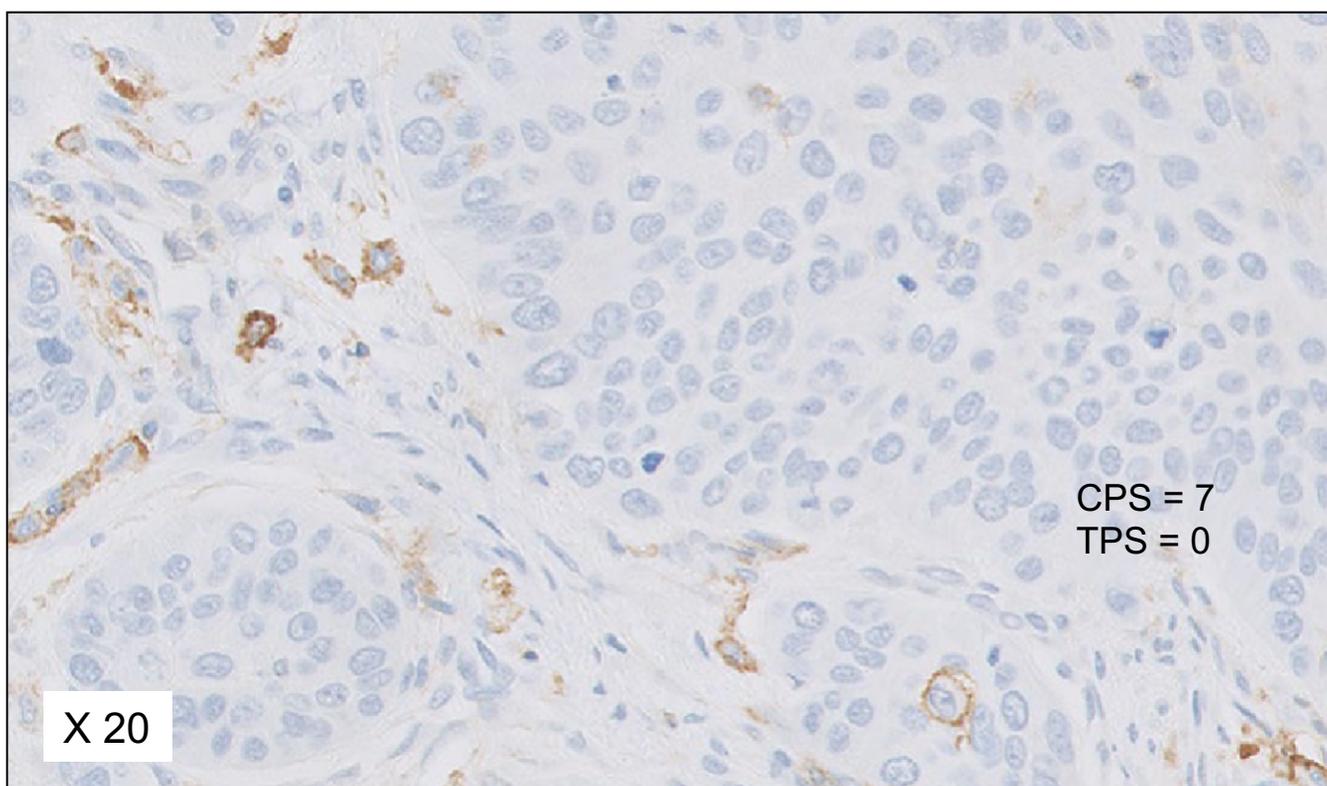
Yeong J, Lum HYJ, Teo CB, Kye Jyn Tan B, Chan YU, Yong Kiat et al. Choice of PD-L1 immunohistochemistry assay influences clinical eligibility for gastric cancer immunotherapy. *Gastric Cancer*. 2022. PMID: 35661944

Zaanan, M. Barret, B. Buecher, L. Benhaim, N. Chapelle, O. Dubreuil, M. Ducreux, J. Durand-Labrunie, N. Fares, J. Gagniere, V. Granger, O. Ernst, F. Renaud, V. Vendrely, P. Michel, M. Ducreux, O. Bouché. « Cancer de l'estomac ». Thésaurus National de Cancérologie Digestive, octobre 2022, en ligne [ <http://www.tncd.org> ]

Zhou KI, Peterson B, Serritella A, Thomas J, Reizine N, Moya S, Tan C, Wang Y, Catenacci DVT. Spatial and Temporal Heterogeneity of PD-L1 Expression and Tumor Mutational Burden in Gastroesophageal Adenocarcinoma at Baseline Diagnosis and after Chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2020 Dec 15;26(24):6453-6463. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2085. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32820017; PMCID: PMC7744325.

Yao K, Yao T, Uedo N, Doyama H, Ishikawa H, Nimura S, Takahashi Y. E-learning system to improve the endoscopic diagnosis of early gastric cancer. *Clin Endosc.* 2023 Aug 3. doi: 10.5946/ce.2023.087. Epub ahead of print. PMID: 37536746

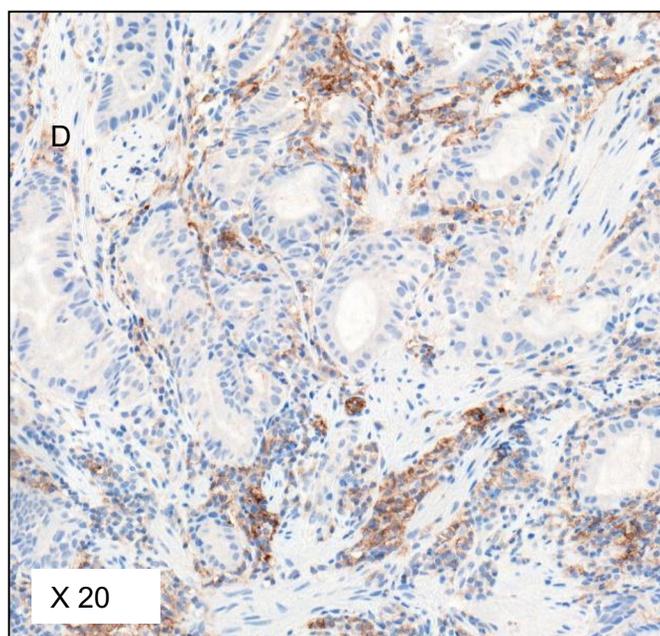
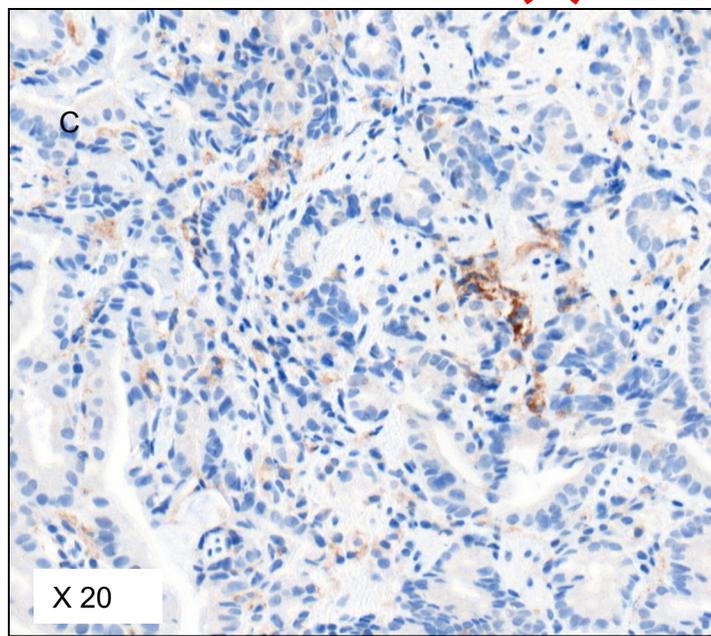
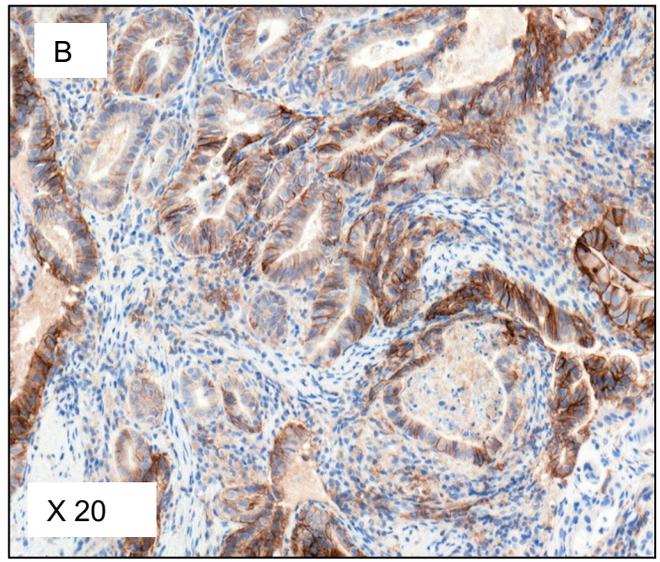
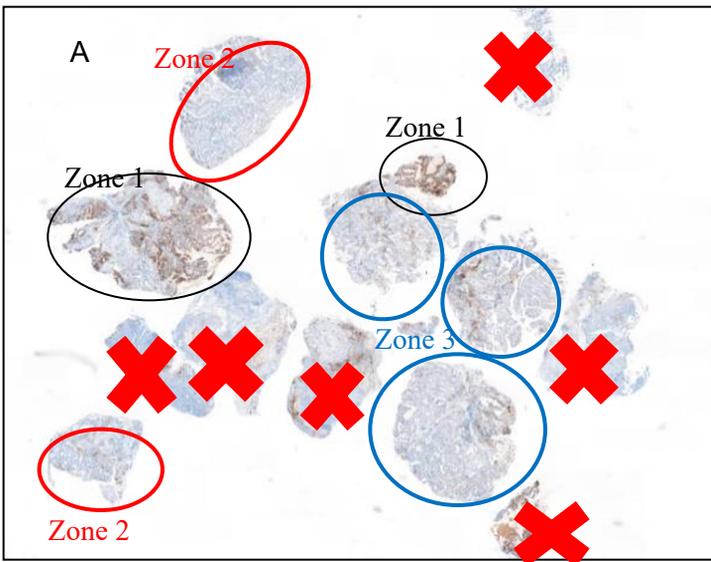
**Fig 1: carcinome epidermoide de l'oesophage. CPS et TPS : pas toujours superposables !**



Si l'expression de PD-L1 est restreinte aux cellules immunitaires, les scores CPS et TPS sont différents

*Le score CPS est évalué sur l'ensemble de la préparation en divisant la somme de chaque CPS par le nombre de zones évaluées*

**Fig 2 : adénocarcinome gastrique. Hétérogénéité d'expression de PD-L1 (hétérogénéité spatiale)**



Immunomarquage PD-L1, 22C3.

A. Sur 12 biopsies, 6 sont tumorales (croix sur la muqueuse normale ou la nécrose/ulcération) avec un marquage hétérogène : élevé dans les zone 1 (25% environ), faible dans les zones 2 (environ 25% ) et intermédiaire dans les zones 3 (environ 50%)

B : Zone 1 : CPS : (100CT + 10 CI) : 100 CT x 100 : 110, soit CPS = 100

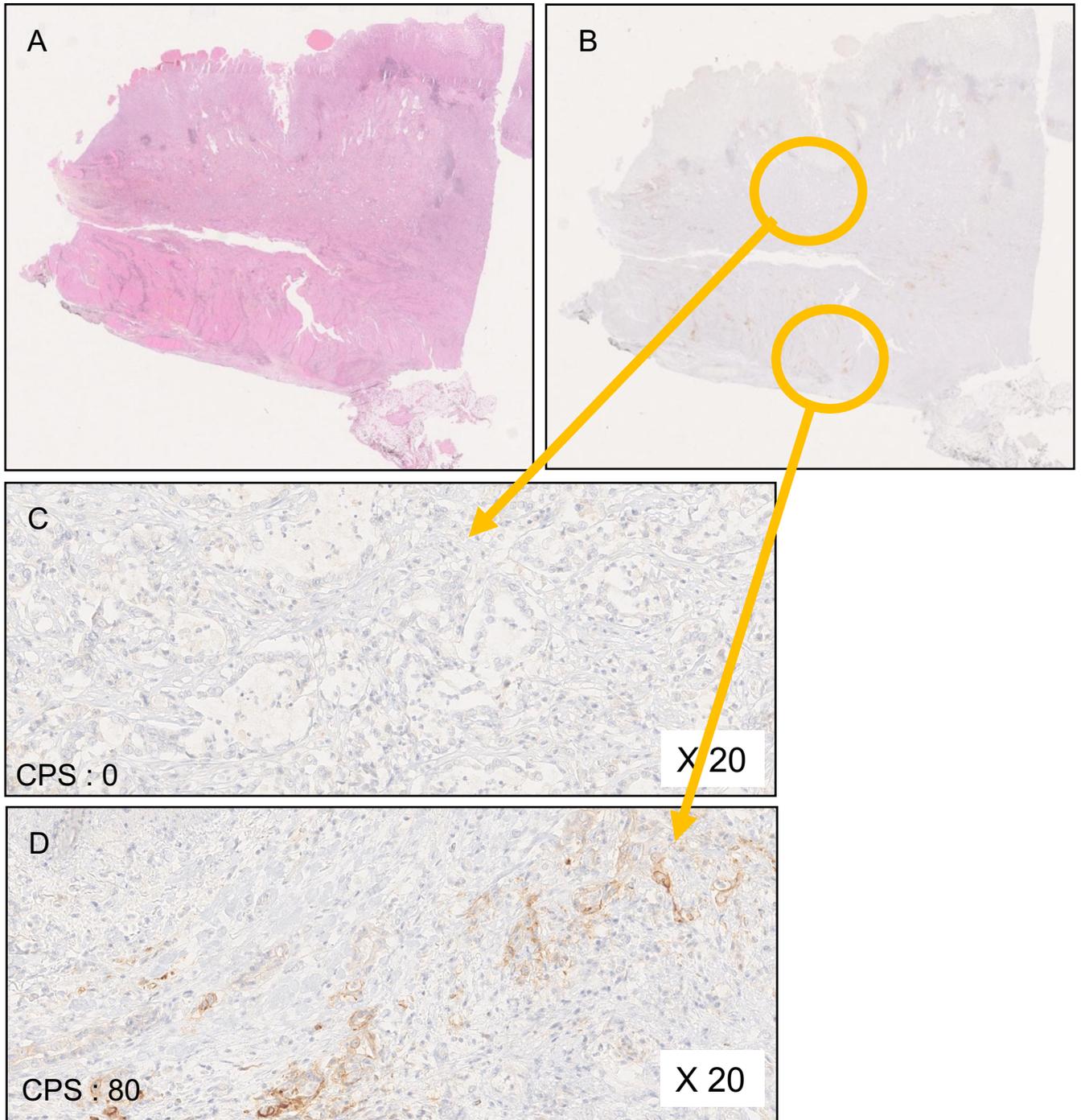
C : Zone 2 : CPS : (0CT + 8CI) : 100CT x100, soit CPS = 8

D : Zone 3 : CPS : 0CT + 60CI. CPS = 60

*Le score CPS est évalué sur l'ensemble de la préparation en divisant la somme de chaque CPS par le nombre de zones évaluées*

Le CPS total est donc : (100 x 0,25) + (60 x 0,5) + (8 x 0,25), soit **CPS = 57**

**Fig 3 : adénocarcinome gastrique. Hétérogénéité d'expression de PD-L1 (hétérogénéité spatiale)**



A: Pièce d'exérèse chirurgicale

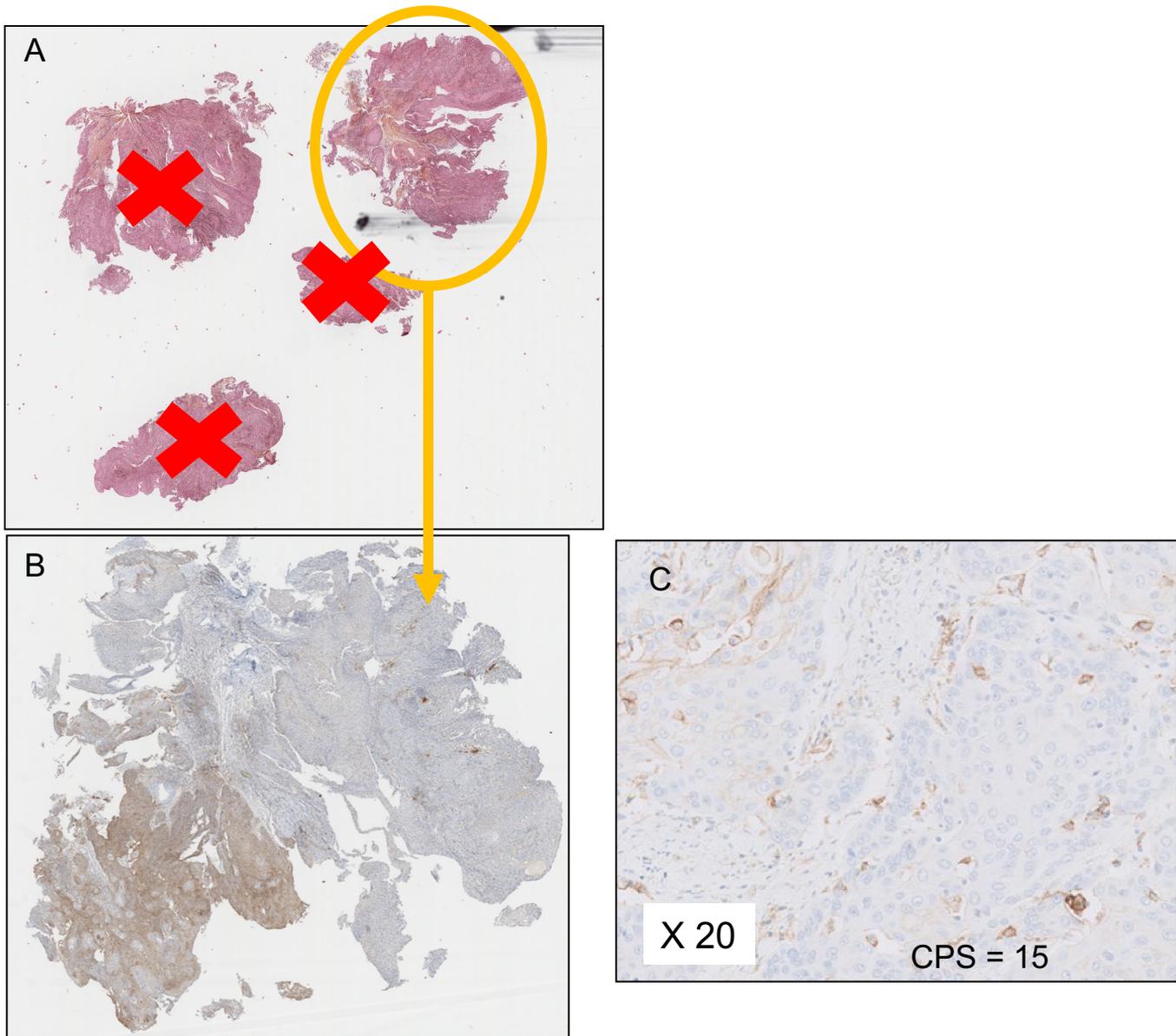
B : Immunomarquage PD-L1.

C : Absence de marquage convaincant au X20 des cellules tumorales et des cellules immunes.

D : Marquage membranaire linéaire, des cellules tumorales. Pas d'expression de PD-L1 par les cellules immunes.

Le score CPS est évalué sur l'ensemble de la préparation en divisant la somme de chaque CPS par le nombre de zones évaluées (CPS : 40)

**Fig 4 : Hétérogénéité d'expression de PDL1 (hétérogénéité spatiale)**



Biopsies d'un carcinome épidermoïde de l'œsophage.

A : Trois fragments intéressent uniquement du carcinome *in situ* et ne doivent pas être comptés pour l'analyse de l'expression de PD-L1.

B : Expression sur une zone de carcinome in situ, non prise en compte pour le score CPS. Seul fragment biopsique interprétable parmi les quatre biopsies

C : calcul du CPS dans ce champs :  $CPS = 15 \left( \frac{10 + 20}{200} \right) \times 100$

Le score CPS est évalué sur l'ensemble de la préparation en divisant la somme de chaque CPS par le nombre de zones évaluées