



Original Article

Hubungan Tingkat Ekspresi *Programmed Death Ligand-1* dengan Faktor Prognostik pada Pasien Karsinoma Nasofaring

Franky Yusuf¹, Awal Prasetyo¹, Vega Karlowee¹,
Rizky Widya Nur¹, Meira Dewi Kusuma Astuti²

¹Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

²KSM Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang

Abstrak

p-ISSN: 2301-4369 e-ISSN: 2685-7898
<https://doi.org/10.36408/mhjcm.v8i2.579>

Diajukan: 31 Maret 2021
Diterima: 27 Mei 2021

Afiliasi Penulis:
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Korespondensi Penulis:
Franky Yusuf
Jl. Dr. Sutomo No. 16, Semarang,
Jawa Tengah 50244,
Indonesia

E-mail:
franq_yu@yahoo.co.id

Latar belakang : Ekspresi *Programmed death ligand-1* (PD-L1) membuat sel tumor memiliki mekanisme untuk dapat menghindari sistem imun penderita. Hal ini dapat mempengaruhi faktor prognostik pada pasien karsinoma nasofaring (KNF) seperti usia, jenis kelamin, tipe histopatologi, dan stadium tumor melalui aktivitas immunosupresif. Ekspresi PD-L1 diharapkan dapat menjadi biomarker untuk penilaian faktor prognostik dan imunoterapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan tingkat ekspresi PD-L1 dengan faktor prognostik pada KNF.

Metode : Penelitian ini menggunakan studi observasional analitik dengan desain belah lintang. Ekspresi PD-L1 diperiksa secara imunohistokimia dengan menggunakan 61 sampel blok parafin, yang telah terdiagnosis sebagai KNF di laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Kariadi dari bulan Januari 2017 sampai Juni 2020. Data klinis pasien yang digunakan sebagai faktor prognostik yaitu usia, jenis kelamin, tipe histopatologi, dan stadium tumor. Uji *Chi-Square* digunakan untuk mengetahui hubungan tingkat ekspresi PD-L1 dengan faktor prognostik pada KNF.

Hasil : Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 dengan tipe histopatologi ($p=0,001$). Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 dengan usia ($p=0,405$), jenis kelamin ($p=0,41$), dan stadium tumor ($p=0,928$).

Simpulan : Tingkat ekspresi PD-L1 tidak berhubungan dengan faktor prognostik pada pasien KNF. Namun ekspresi PD-L1 menunjukkan hubungan yang bermakna dengan tipe histopatologi, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan periode yang lebih lama.

Kata kunci : Faktor prognostik; Karsinoma nasofaring; Tingkat ekspresi PD-L1

Correlation of Expression Level Programmed Death Ligand-1 with Prognostic Factors in Nasofaring Carcinoma Patients

Abstract

Background : The expression of Programmed death ligand-1 (PD-L1) makes tumor cells have a mechanism to avoid the patient's immune system. This can affect prognostic factors in NPC patients such as age, gender, histopathological type, and tumor stage through immunosuppressive activity. PD-L1 expression is expected to be a biomarker for prognostic factor assessment and immunotherapy. The objectives of this study was to know the correlation between PD-L1 expression level and prognostic factors in NPC.

Methods : This study used an analytic observational study with a cross-sectional design. PD-L1 expression was examined immunohistochemically using 61 samples of paraffin block, which had been diagnosed as NPC in the Laboratory of Anatomical Pathology, Dr. Kariadi from January 2017 to June 2020. Patient clinical data were used as prognostic factors, namely age, gender, histopathological type, and tumor stage. Chi-Square test was used to determine the relationship between PD-L1 expression level and prognostic factors in NPC.

Results : There was a significant correlation between PD-L1 expression in tumor cells and histopathological type ($p=0.001$). No significant correlation between PD-L1 expression and age ($p=0.405$), gender ($p=0.241$), and tumor stage ($p=0.928$).

Conclusion : PD-L1 expression level is not related to prognostic factors in NPC patients. However, PD-L1 expression showed a significant correlation with histopathological type, so further research is needed with a larger sample and a longer period.

Keywords : Nasopharyngeal carcinoma; PD-L1 expression level; prognostic factor

PENDAHULUAN

Di Indonesia karsinoma nasofaring (KNF) merupakan keganasan telinga, hidung dan tenggorokan (THT) yang sering ditemukan. Karsinoma nasofaring termasuk dalam lima besar tumor ganas, sedangkan di daerah kepala dan leher menempati urutan pertama dengan persentase hampir 60%.¹ Berdasarkan data dari GLOBOCAN 2020 terdapat 133.354 kasus karsinoma nasofaring (KNF) yang dilaporkan di seluruh dunia.² KNF memperlihatkan pola distribusi yang unik berdasarkan ras dan letak geografis, serta memiliki etiologi yang multifaktorial.^{3,4}

Keterkaitan antara *Epstein Barr Virus* (EBV) dengan sistem imun pada KNF ditandai dengan infiltrasi sel imun di sekitar lesi tumor yang berperan penting dalam progresivitas KNF. *Programmed death-1* (PD-1) dan *Programmed death ligand-1* (PD-L1) merupakan protein yang berperan penting dalam respon imun, bila keduanya berikatan dapat menyebabkan inhibisi pada fungsi sitotoksik / sitolitik dari limfosit sel T (sel T efektor). Mekanismenya melalui jalur pensinyalan sel, siklus sel dan program metabolik sel T aktif. Limfosit sel T limfosit (sel T efektor) yang berperan penting dalam mengeliminasi sel tumor akan berubah menjadi sel T "exhausted" yang tidak efektif untuk mengeliminasi sel tumor sehingga sel tumor dapat menghindari sistem imun.⁵

Terapi target dengan blokade jalur PD-1/PD-L1 menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam pengobatan kanker melalui peningkatan aktivitas antitumor sel T. Keganasan yang terkait dengan *Epstein Barr Virus* (EBV) seperti KNF dapat meningkatkan ekspresi PD-L1 dan telah dilaporkan sebagai faktor prognostik pada KNF.

Faktor-faktor prognostik klasik seperti pembesaran tumor primer (T), keterlibatan kelenjar getah bening (N) dan metastasis jauh (M) dianggap sebagai faktor prognostik yang paling signifikan. Faktor prognostik lain seperti jenis kelamin, usia, dan tipe histopatologi dapat berperan dalam perkembangan metastasis tumor dan kelangsungan hidup penderita KNF.⁶⁻⁸

Tujuan penelitian adalah mengetahui hubungan antara tingkat ekspresi PD-L1 dengan faktor prognostik pada KNF.

METODE

Penelitian observasional analitik dengan desain belah lintang pada populasi pasien yang terdiagnosis karsinoma nasofaring di laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Januari 2017 sampai Juni 2020. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling* dan didapatkan sejumlah 61 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah semua kasus karsinoma nasofaring yang telah didiagnosis melalui pemeriksaan histopatologik sedangkan kriteria eksklusi adalah kasus dengan blok parafin yang tidak adekuat untuk diproses lebih lanjut. Data pasien yang digunakan sebagai faktor prognostik seperti usia, jenis kelamin, tipe histopatologi dan stadium tumor diambil dari rekam medik. Pemeriksaan histopatologi dan pewarnaan imunohistokimia PD-L1 dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang dan laboratorium Patologi Anatomi FK Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada bulan Juni sampai Desember 2020.

Masing-masing sediaan dari blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan

3–4 µm kemudian dipanaskan di dalam oven dengan suhu 60°C *overnight*. Sediaan dilakukan deparafinisasi dengan *xylol* dan alkohol. Pulasan imunohistokimia menggunakan metode *labeled streptavidin biotin immunoperoxide complex* dengan antibodi *Monoclonal Mouse Anti-Human PD-L1, Clone 22C3 mouse* (Dako) dengan dilusi 1:50. Pemberian *counterstain* dengan *Mayer's Haematoxylin*, diberi entelan lalu ditutup *deck glass*. Kontrol positif diikutsertakan setiap kali melakukan pulasan. Kontrol positif PD-L1 adalah jaringan plasenta.

Imunoekspresi PD-L1 tampak dengan terwarnainya membran dan atau sitoplasma sel tumor menjadi warna coklat. Imunoekspresi PD-L1 dinilai berdasarkan distribusi (semi-kuantitatif) dan intensitas (semi-kualitatif) yang mengacu pada penelitian Zheng dkk, dengan skor distribusi sebagai berikut: ≤ 5% (0), 6–25% (1), 26–50% (2), 51–75% (3) dan >75% (4), dan skor intensitas sebagai berikut: negatif (0), lemah (1), sedang (2), dan kuat (3). Histoskor/ skor akhir merupakan penjumlahan skor distribusi dan intensitas dengan skor 0 dikategorikan ekspresi negatif, skor 1–2 dikategorikan tingkat ekspresi lemah dan skor ≥ 3 dikategorikan tingkat ekspresi kuat. Penilaian ini dilakukan oleh dua orang ahli patologi anatomi dengan memilih area tumor yang paling representatif untuk menilai ekspresi PD-L1 dan dinilai pada maksimal lima lapang pandang dengan menggunakan pembesaran mikroskop 400x.⁹ Pada penelitian ini, kami menggunakan uji Kappa untuk menilai kesesuaian antar pembaca pertama dan kedua.

Pengolahan data menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 19. Analisis data dengan uji *Chi-Square*. Kemaknaan pada penelitian ini diperoleh jika didapatkan nilai $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%. Penelitian telah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* yang diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUP Dr. Kariadi Semarang No.547/EC/KEPK-RSDK/2020.

HASIL

Total sampel dalam penelitian ini sebanyak 61 sampel. Tidak ada sampel yang dieksklusi dalam penelitian ini. Karakteristik klinis dan patologis karsinoma nasofaring ditunjukkan dalam Tabel 1.

Umur pasien KNF pada penelitian ini antara 21–73 tahun dengan rerata 49,5 tahun. Kasus tersering pada laki-laki sebesar 60,7% (37/61) dan stadium penyakit terbanyak ditemukan pada stadium IVa sebesar 52,5% (32/61). Tipe histopatologi yang dominan adalah *undifferentiated non keratinizing squamous cell carcinoma* sebesar 77% (47/61).

Tabel 2 menunjukkan ekspresi PD-L1 pada karsinoma nasofaring. Ekspresi PD-L1 terpulas pada 96,7% kasus (59/61) yang dikategorikan dengan ekspresi negatif 3,3% (2/61), ekspresi lemah 27,9% (17/61) dan

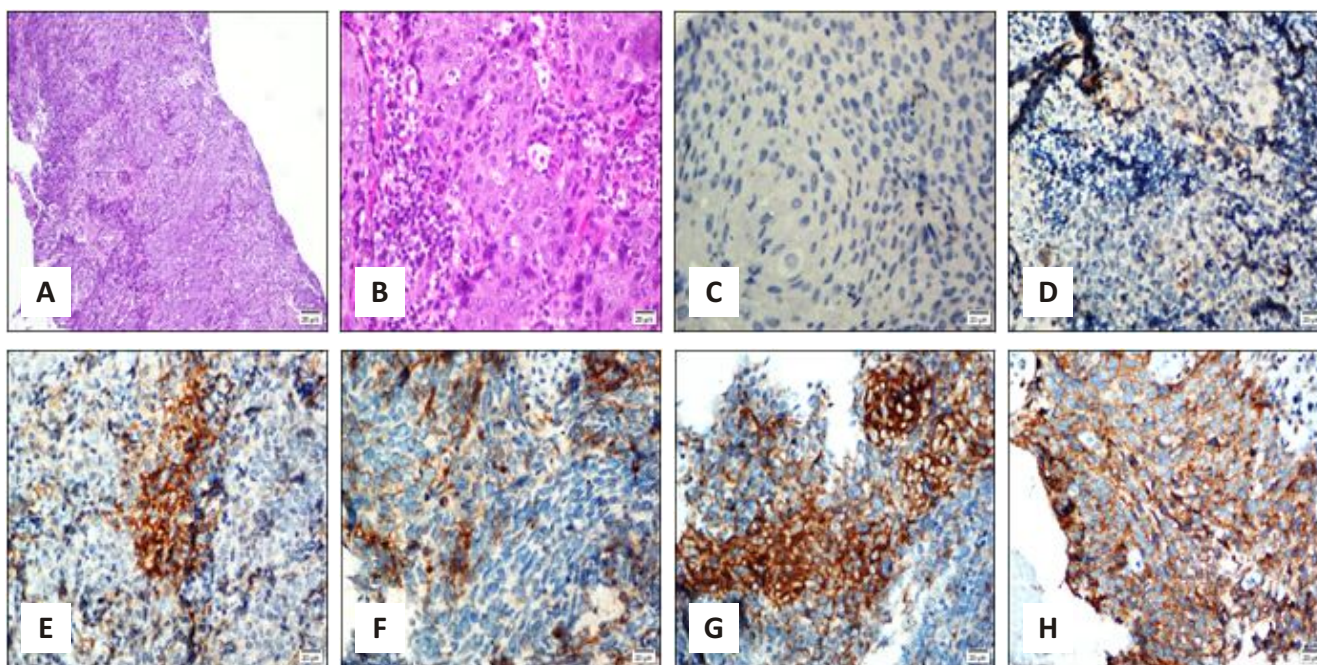
TABEL 1
Karakteristik subyek penelitian

Variabel	Frekuensi	%
Usia		
>46	39	63,9
≤46	22	36,1
Jenis kelamin		
Laki-laki	37	60,7
Perempuan	24	39,3
Klasifikasi T		
0	2	3,3
1	13	21,3
2	14	23,0
3	32	52,5
Klasifikasi N		
0	3	4,9
1	14	23,0
2	40	65,6
3	4	6,6
Klasifikasi M		
0	58	95,1
1	3	4,9
Staging		
I	1	1,6
II	3	4,9
III	22	36,1
IVA	32	52,5
IVB	3	4,9
Histopatologi		
K-SCC	7	11,5
NK-SCC, DIFF	7	11,5
NK-SCC, UNDIFF	47	77,0
Ekspresi PD-L1		
Negatif	2	3,3
Lemah	17	27,9
Kuat	42	68,9

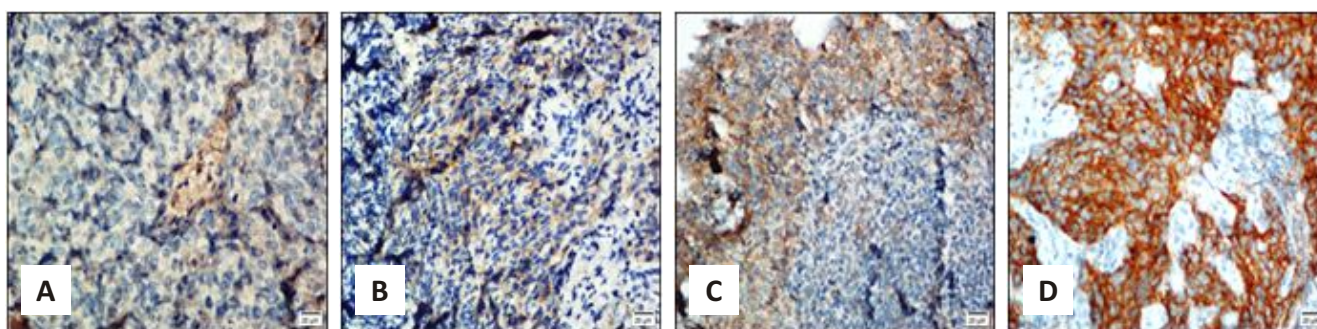
ekspresi kuat 68,9% (42/61) (Tabel 2). Didapatkan nilai $\kappa = 0,891$ yang artinya kategori sangat baik (Tabel 2).

TABEL 2
Hasil uji Kappa ekspresi PD-L1 antar pembaca pertama dan kedua

Intensitas	Negatif	Lemah	Kuat	K	%	Keterangan
I	2	17	42	0,891	89,1%	Sangat baik
II	2	19	40			



Gambar 1. A. Pewarnaan HE pada tumor (pembesaran 40x), B. Pewarnaan HE pada tumor (pembesaran 100x), C–H. Ekspresi PD-L1 pada sel tumor karsinoma nasofaring berdasarkan skor semi-kuantitatif (imunohistokimia, pembesaran 400x). C. Skor nol (<5%). D. Skor nol (<5%). E. Skor satu (6 - ≤25%). F. Skor dua (26 - ≤50%). G. Skor tiga (51 - ≤75%). H. Skor empat (>75%).



Gambar 2. A–D. Ekspresi PD-L1 pada sel tumor karsinoma nasofaring berdasarkan skor semi-kualitatif (imunohistokimia, pembesaran 400x). A. Skor nol (negatif), B. Skor satu (lemah), C. Skor dua (sedang). D. Skor tiga (kuat).

Tabel 3 menunjukkan terdapat hubungan yang bermakna secara statistik antara tingkat ekspresi PD-L1 dan tipe histopatologi pada karsinoma nasofaring dengan nilai $p=0,001$, sedangkan pada variabel usia, jenis

kelamin, ukuran tumor (T), keterlibatan nodul kelenjar getah bening (N), metastasis jauh (M), dan stadium tumor menunjukkan hubungan yang tidak bermakna dengan tingkat ekspresi PD-L1 pada pasien karsinoma

TABEL 3
Tabel hasil uji korelasi ekspresi PD-L1 dan faktor prognostik pada karsinoma nasofaring

Variabel		Ekspresi PD-L1						p
		Negatif		Lemah		Kuat		
		n	%	n	%	n	%	
Usia	>46	2	5,1	12	30,8	25	64,1	0,405
	≤46	0	0	5	22,7	17	77,3	
Jenis kelamin	Laki-laki	2	5,4	8	21,6	27	73	0,241
	Perempuan	0	0	9	37,5	15	62,5	
Klasifikasi T	1	0	0	0	0	2	100	0,914
	2	0	0	4	30,8	9	69,2	
	3	1	7,1	4	28,6	9	64,3	
	4	1	3,1	9	28,1	22	68,8	
Klasifikasi N	0	0	0	1	33,3	2	66,7	0,907
	1	0	0	4	28,6	10	71,4	
	2	2	5	10	25	28	70	
	3	0	0	2	50	2	50	
Klasifikasi M	0	2	3,4	15	25,9	41	70,7	0,303
	1	0	0	2	66,7	1	33,3	
Stadium	I	0	0	0	0	1	100	0,928
	II	0	0	1	33,3	2	66,7	
	III	1	4,5	6	27,3	15	68,2	
	IVA	1	3,1	8	25	23	71,9	
	IVB	0	0	2	66,7	1	33,3	
Histopatologi	K-SCC	0	0	4	57,1	3	42,9	0,001*
	NK-SCC, DIFF	2	28,6	2	28,6	3	42,9	
	NK-SCC,UNDIFF	0	0	11	23,4	36	76,6	

Keterangan : * Signifikan ($p < 0,05$)

nasofaring.

PEMBAHASAN

Peningkatan ekspresi PD-L1 pada berbagai keganasan yang terkait dengan infeksi EBV melalui dua mekanisme yaitu melalui resistensi imun bawaan yang dimediasi oleh jalur onkogenik LMP-1 dan resistensi imun adaptif sebagai respons terhadap sinyal inflamasi seperti IFN- γ . Hal ini merupakan dua mekanisme yang berbeda namun sinergis.^{6,10}

Penelitian ini menunjukkan peningkatan level ekspresi PD-L1 pada sebagian besar sampel sel tumor. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang

melaporkan hasil peningkatan level ekspresi PD-L1 sangat variatif (29-99%). Perbedaan persentase tingkat ekspresi ini bisa disebabkan oleh beberapa hal, pertama, belum adanya nilai standar *cut off* untuk ekspresi PD-L1 pada kasus KNF. Pada penelitian ini menggunakan nilai *cut off* semi-kuantitatif sebesar 5% serupa dengan penelitian yang dilakukan Zheng dkk, sedangkan pada penelitian lainnya menggunakan nilai *cut off* semi-kuantitatif antara 1-10%. Penyebab kedua yaitu perbedaan jumlah sampel penelitian.⁸⁻¹²

Faktor-faktor prognostik yang diteliti meliputi usia, jenis kelamin, tipe histopatologi, dan stadium tumor. Hasil penelitian didapatkan hubungan bermakna tingkat ekspresi PD-L1 dengan tipe histopatologi pada

KNF. Faktor prognostik lainnya tidak menunjukkan hubungan yang bermakna. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan hubungan yang bermakna, pada tipe histopatologi tipe *undifferentiated squamous cell carcinoma*.^{9,11} Penelitian pada keganasan lain seperti karsinoma paru dan sarkoma jaringan lunak menunjukkan hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 dengan tipe histopatologi. Hal ini didukung penelitian yang dilakukan oleh Garcia dkk yang menunjukkan bahwa gambaran histopatologi tumor dengan diferensiasi buruk akan mengekspresikan level PD-L1 yang lebih tinggi dibandingkan dengan diferensiasi yang baik pada adenokarsinoma paru. Selain itu juga didukung penelitian lain menunjukkan bahwa hasil ekspresi PD-L1 yang tinggi berhubungan dengan gambaran sel tumor pleomorfik dan *high grade* pada Non *Small Cell Lung Carcinoma*.^{13,14}

Tumor dengan diferensiasi buruk berkaitan dengan *tumor mutational burden* (TMD) yang tinggi, sedangkan tumor dengan diferensiasi yang lebih baik menunjukkan hal sebaliknya. TMD merupakan jumlah total mutasi (perubahan) yang ditemukan pada DNA sel kanker, sehingga tumor dengan diferensiasi yang buruk memiliki frekuensi mutasi DNA yang lebih tinggi dibanding tumor dengan diferensiasi yang baik. Mutasi spesifik tumor pada DNA akan menghasilkan protein baru (neoantigen), protein ini merupakan suatu antigen yang hanya dapat dikenali oleh limfosit sel T CD8+ spesifik tumor (CTL). Neoantigen yang bermutasi ini kemungkinan besar sangat imunogenik dan dapat dianggap sebagai target optimal untuk imunitas sel T endogen dan strategi imunoterapi kanker.^{15,16}

TMD dapat membantu dalam perencanaan pemilihan pengobatan terbaik. Misalnya pada tumor yang memiliki jumlah mutasi yang lebih besar dengan gambaran diferensiasi yang buruk akan merespon lebih baik terhadap imunoterapi tertentu. TMD ini juga telah digunakan sebagai salah satu jenis biomarker pada pemeriksaan berbagai keganasan. Pada kasus KNF, infeksi EBV terdeteksi melalui sekuensing genom spesifik virus dan dihitung sebagai pembacaan per juta basis. TMD dihitung dengan minimal 1.2 Mb DNA yang diekstraksi dan dilaporkan sebagai jumlah mutasi varian pendek pengkodean somatik per *megabase*.^{16,17}

Penelitian yang dilakukan Ali dkk dan Zhang dkk menunjukkan lebih dari 20 mutasi gen yang terlibat dalam KNF dan bisa berbeda menurut subtype histopatologi KNF. Yang tersering diantaranya adalah TP53, ARID1A, CDKN2A, KRAS, CCND1, PIK3CA, IDH2, MYC, APC, PI3K/ mTOR, jalur MAPK, mutasi pada jalur NF- κ B. Dapat disimpulkan bahwa derajat TMD terkait dengan perbedaan subtype histopatologi pada KNF. Hal ini sesuai dengan temuan bahwa mutasi secara keseluruhan berbeda cukup signifikan di seluruh subtype KNF. Kemungkinan terdapat perbedaan respon dari ketiga subtype KNF terhadap terapi anti PD-1/PD-

L1, hal ini disebabkan karena perbedaan relatif dalam produksi neo-antigen oleh subtype KNF tersebut.^{16,17}

Hasil penelitian ini didapatkan faktor prognostik lain seperti jenis kelamin tidak menunjukkan hubungan dengan tingkat ekspresi PD-L1. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dan didapatkan kasus KNF terbanyak pada laki-laki. Hal ini kemungkinan karena efek protektif dari hormon estrogen yang dapat menghambat pertumbuhan sel tumor melalui reseptor estrogen.^{18,19}

Faktor prognostik usia juga menunjukkan hubungan yang tidak bermakna dengan tingkat ekspresi PD-L1. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dan didapatkan kasus KNF terbanyak pada usia lebih dari 45 tahun. Hal ini kemungkinan dikarenakan faktor genetik dan lingkungan termasuk modifikasi gaya hidup pada awal kehidupan yang dapat mempengaruhi waktu terjadinya KNF.^{1,19}

Faktor prognostik stadium tumor termasuk ukuran tumor (T), keterlibatan kelenjar getah bening (N) dan metastasis (M) juga menunjukkan hubungan yang tidak bermakna dengan tingkat ekspresi PD-L1. Meskipun demikian, pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan pada tumor dengan ukuran lebih besar dan stadium yang lebih tinggi akan menunjukkan tingkat ekspresi PD-L1 yang kuat. Hal ini didukung penelitian sebelumnya yang menyatakan terdapat hubungan antara ekspresi PD-L1 dengan ukuran dan stadium tumor. Perbedaan ini dapat disebabkan karena sebagian besar kasus ditemukan pada pT4 (52,5%) dan stadium IV (57,4%).^{6,10}

Ekspresi PD-L1 pada sel tumor akan mempengaruhi pertumbuhan ukuran tumor melalui jalur *WASP-interacting protein family member-1* (WIPF1) dan sinyal β -catenin. PD-L1 berperan sebagai tumor *promoting factor* terutama melalui pengaturan PI3K/ Akt, *extracellular-signal-regulated kinase* (Erk)/*mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *epithelial-mesenchymal transition* (EMT), β -catenin dan menargetkan jalur pensinyalan WIP sehingga menyebabkan proliferasi sel kanker. Target terhadap EMT ini juga menyebabkan migrasi dan invasi dari sel tumor ke jaringan sekitar.^{20,21}

Regulasi epigenetik telah terbukti terlibat dalam ekspresi PD-L1 pada sel kanker. Beberapa microRNAs (miRs) terlibat dalam regulasi ekspresi PD-L1, yang dapat mengikat dan mendegradasi mRNA gen target serta mencegah proses translasi, diantaranya adalah miR-513, miR-570, miR-34a dan miR-200 yang telah diketahui memiliki hubungan terbalik dengan ekspresi PD-L1. MiR-200 secara langsung menargetkan faktor transkripsi yang memicu EMT, termasuk *zinc-finger E-box-binding homeobox 1* (ZEB1) dan ZEB1 sendiri dapat langsung menekan transkripsi dari kedua lokus miR-200. Aksis miR-200/ ZEB1 pada sel kanker mengatur ekspresi beberapa gen yang terlibat dalam migrasi, invasi dan metastasis pada tempat yang jauh, keduanya

membentuk *loop* umpan balik negatif ganda serta berfungsi sebagai regulasi utama dari program EMT. Dapat disimpulkan bahwa aksis miR-200/ ZEB1 merupakan regulator awal pada PD-L1 yang dapat memodulasi efek dari jalur IFN- γ .^{21,22}

SIMPULAN

Tingkat ekspresi PD-L1 tidak berhubungan dengan faktor prognostik seperti usia, jenis kelamin, dan stadium tumor pada pasien KNF. Namun terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 dengan tipe histopatologi, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih besar dan periode yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Handayani R, Dewi YA, Madani DZ. Prevalence of nasopharyngeal carcinoma patients in the department of orl-hns Hasan Sadikin general hospital 2010-2017. *International Journal of Nasopharyngeal Carcinoma (IJNPC)*. 2020; 02: 01-03. doi: 10.32734/ijnpc.v2i01.3191.
- 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 CANCER J CLIN* 2021;71:209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, *et al*. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11. <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>.
- Prasetyo A. Karsinoma Nasofaring : Insidensi, faktor resiko, karsinogenesis dan diagnosis dini. Semarang. 2015; 22-35.
- Peterson BF, Bell D, El-Mofty SK, *et al*. Nasopharyngeal carcinoma. In: El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, *et al*, editors. WHO Classification of head and neck tumours. 4th ed. Lyon: IARC; 2017: 65-70.
- Qu Y, Wang D, Yang L, *et al*. Expression and clinical significance of programmed death ligand 1 in nasopharyngeal carcinoma. *Mol Clin Oncol*. 2018; 9(1): 75-81. doi: 10.3892/mco.2018.1633
- Li X, Jiang Y, Zhao S, *et al*. High PD-L1 expression predicts metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Astro*. 2018; 102:E331. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2018.07.1018>.
- Zhang J, Fang W, Qin T, *et al*. Co-expression of PD-1 and PD-L1 predicts poor outcome in nasopharyngeal carcinoma. *Med Oncol*. 2015; 32: 86. doi: 10.1007/s12032-015-0501-6
- Li YF, Ding JW, Liao LM, Expression of programmed death ligand-1 predicts poor outcome in nasopharyngeal carcinoma. *Mol Clin Oncol*. 2017 Sep; 7(3): 378-382. doi: 10.3892/mco.2017.1318.
- Zheng L, Cao C, Cheng G, *et al*. Cytomembranic PD-L1 expression in locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2017 Nov 16; 10: 5483-5487. doi: 10.2147/OTT.S152007.
- Qu Y, Wang D, Yang L, *et al*. Expression and clinical significance of programmed death ligand 1 in nasopharyngeal carcinoma. *Mol Clin Oncol*. 2018; 9(1): 75-81. doi: 10.3892/mco.2018.1633.
- Chang AMV, Chiosea SI, Altma A, *et al*. Programmed Death-Ligand 1 Expression, Microsatellite Instability, EpsteinBarr Virus, and Human Papillomavirus in Nasopharyngeal Carcinomas of Patients from the Philippines. *Head and Neck Pathol* (2017) 11: 203-211. doi: 10.1007/s12105-016-0765-y.
- Zhao L, Liao X, Hong G, *et al*. Mismatch repair status and high expression of PD-L1 in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Manag Res*. 2019; 11: 1631-1640. doi: 10.2147/CMAR.S193878.
- García A, Recondo G, Greco M, *et al*. Correlation between PD-L1 expression (clones 28-8 and SP263) and histopathology in lung adenocarcinoma. *Heliyon*. 2020 Jun; 6(6): e04117. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04117>.
- Kwong FNK, Laggner U, McKinney O, *et al*. Expression of PD-L1 correlates with pleomorphic morphology and histological patterns of non-small-cell lung carcinomas. *Histopathology* 2018 May; 72(6): 1024-1032. doi: 10.1111/his.13466. Epub 2018 Mar 5.
- Goto Y. Tumor Mutation Burden: Is It Ready for the Clinic?. *J Clin Oncol*. 2018 Oct 20; 36(30): 2978-2979. doi: 10.1200/JCO.2018.79.3398.
- Yarchoan M, Albacker LA, Hopkins AC. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers. *JCI Insight*. 2019 Mar 21; 4(6): e126908. doi: 10.1172/jci.insight.126908.
- Ali SM, Yao M, Yao J. Comprehensive Genomic Profiling of Different Subtypes of Nasopharyngeal Carcinoma Reveals Similarities and Differences to Guide Targeted Therapy. *Cancer*. 2017 Sep 15; 123(18): 3628-3637. doi: 10.1002/cncr.30781.
- Xie SH, Yu ITS, Tse LA, *et al*. Sex difference in the incidence of nasopharyngeal carcinoma in Hong Kong 1983-2008: suggestion of a potential protective role of oestrogen. *Eur J Cancer*. 2013 Jan; 49(1): 150-5. doi: 10.1016/j.ejca.2012.07.004. Epub 2012 Aug 11.
- Feng R, Chang ET, Liu Z, *et al*. Reproductive History and Risk of Nasopharyngeal Carcinoma: A Population-Based CaseControl Study in Southern China. *Oral Oncol*. 2019 Jan; 88: 102-108. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.11.025.
- Yu W, Hua Y, Qiu H, *et al*. PD-L1 promotes tumor growth and progression by activating WIP and β -catenin signaling pathways and predicts poor prognosis in lung cancer. *Cell Death Dis* 11, 506 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2701-z>.
- Chen J, Jiang CC, Jin L3. Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer. *Annals of Oncology* 27: 409-416, 2016. doi: 10.1093/annonc/mdv615.
- Chen L, Gibbons DL, Goswami S, *et al*. Metastasis is regulated via microRNA-200/ ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nat Commun* 2014; 5(article 5241): 1-12. <https://doi.org/10.1038/ncomms6241>.