

## Ekspresi Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) pada Seminoma Testis sebagai Potensi Faktor Prognostik

Freciyana Boedijono, Budiana Tanurahardja, Ria Kodariah  
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jakarta

Penulis korespondensi: dr. Budiana Tanurahardja, SpPA(K).  
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jl. Salemba Raya No. 6  
Jakarta 10430.  
e-mail: budiana.t@gmail.com. Telp: +6281310382902

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Seminoma testis yang gagal sembuh dengan penatalaksanaan konvensional memiliki prognosis buruk. Beberapa kejadian rekuren setelah dilakukan kemoterapi juga ditemukan. *Programmed Death Ligand-1* (PD-L1) terekspresi pada berbagai keganasan dan *tumor infiltrating lymphocytes* (TILs) serta telah diketahui perannya sebagai faktor prognostik.

#### Metode

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui peran ekspresi PD-L1 pada seminoma testis dalam menentukan *overall survival* (OS) dan *progression free survival* (PFS). Penelitian ini merupakan penelitian kohort retrospektif dengan desain analisis kesintasan. Data klinik diambil dari rekam medik RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo sejak Januari 2011-Desember 2016 yang diobservasi selama dua tahun. Data histopatologi diambil dari Departemen Patologi Anatomi RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo yang kemudian dilakukan pulasan imunohistokimia PD-L1.

#### Hasil

Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 pada sel tumor dengan 2-year OS ( $p=0,023$ ) dan PFS ( $p=0,002$ ) pada seminoma testis. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi PD-L1 pada TILs dengan 2-year OS ( $p=0,235$ ) dan PFS ( $p=0,111$ ).

#### Kesimpulan

Ekspresi PD-L1 pada sel tumor seminoma testis berhubungan dengan OS dan PFS, tetapi hubungan tersebut tidak ditemukan pada TILs.

**Kata kunci:** OS; PD-L1; PFS; seminoma; TILs

## The Expression of Programmed Death Ligand-1 (Pd-L1) in Testicular Seminoma as Potential Prognostic Factor

### ABSTRACT

#### Background

The prognosis of testicular seminoma cases which failed to be cured with conventional therapy is poor. Several recurrent events after chemotherapy were also found. PD-L1 is expressed in various types of malignancy and tumor infiltrating lymphocytes (TILs) and its role is known as a prognostic factor. This study was conducted to determine the role of PD-L1 expression seminoma in determining overall survival (OS) and progression free survival (PFS).

#### Methods

This is a retrospective cohort study with survival analysis. Clinical data were obtained from medical record in RSUPN Cipto Mangunkusumo since January 2011-December 2016 and observed for 2 years. Histopathological data were obtained from Anatomical Pathology Department and PD-L1 immunohistochemical staining were performed.

#### Results

A significant correlation between PD-L1 expression in tumor cells with 2-year OS ( $p=0.023$ ) and PFS ( $p=0.002$ ) in testicular seminoma was found. No significant correlation between PD-L1 expression in TILs with 2-year OS ( $p=0.235$ ) and PFS ( $p=0.111$ ). We also found significant correlations between PD-L1 expression of tumor cells and TILs with PFS ( $p=0.019$ ). A significant correlation between stage with 2-year OS ( $p=0.010$ ) and PFS ( $p=0.000$ ) and lymph node metastases with 2-year OS ( $p=0.010$ ) and PFS ( $p=0.000$ ).

#### Conclusion

PD-L1 expression of testicular seminoma cells were significantly correlated with OS and PFS. There were no statistically significant associations between PD-L1 expression in TILs with OS and PFS.

**Key words:** Seminoma, TILs, PD-L1, OS, PFS

## PENDAHULUAN

Kanker testis merupakan keganasan yang sering terdiagnosis pada laki-laki usia 15 sampai 44 tahun dan mencakup 1% dari seluruh keganasan pada laki-laki di seluruh dunia.<sup>1</sup> Berdasarkan data *Global Burden Cancer* (GLOBOCAN) tahun 2018 kanker testis di Indonesia menempati urutan ke-25 sebanyak 1.382 kasus (0,45%) dari seluruh kasus keganasan.<sup>2</sup> Mayoritas (98%) dari tumor testis adalah tumor sel germinal. Seminoma merupakan tumor testis yang paling sering ditemukan dan mewakili lebih dari 60% tumor sel germinal testis.<sup>3,4</sup>

Seminoma terjadi pada empat dekade pertama kehidupan dengan prevalensi yang paling sering terjadi pada remaja dan dewasa muda.<sup>5</sup> Berdasarkan data epidemiologi tumor ganas sel germinal. *European Cancer Registry-based study on survival and care of cancer patients* (EUROCORE), angka kesintasan 5 tahun seminoma adalah 95%, sedangkan non-seminoma 90%.<sup>6</sup>

*Overall survival* (OS) pasien seminoma stadium awal dan stadium lanjut yang mendapat kemoterapi berbasis platinum adalah 70-80%. Pada seminoma stadium lanjut terdapat 20-30% kasus yang mengalami rekurensi setelah kemoterapi. Angka kesembuhan pasien seminoma yang mengalami rekurensi setelah kemoterapi sebesar 20-25%. Pasien yang gagal sembuh tersebut umumnya mempunyai prognosis buruk. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi penanda prognostik dan strategi pengobatan baru tumor ini.<sup>7</sup>

Saat ini banyak dilakukan penelitian mengenai sifat biologik tumor maligna serta hubungannya dengan mekanisme imun.<sup>8</sup> Salah satu terapi keganasan terbaru adalah dengan menargetkan molekul inhibitor *immune checkpoint*. Mekanisme *immune checkpoint* menghambat aktivasi dan fungsi efektor sel-T dengan berperan sebagai kostimulator dan koinhibitor.<sup>9</sup> Molekul inhibitor *immune checkpoint* yang saat ini sedang banyak diteliti adalah *programmed death receptor-1* (PD-1) dan *programmed death ligand-1* (PD-L1).<sup>8</sup> PD-L1 merupakan ligan utama reseptor PD-1 yang terekspresi pada organ seperti plasenta, jantung, paru-paru, hepar, sel teraktivasi seperti sel-T, sel-B, sel dendritik, makrofag, dan berbagai sel tumor.<sup>7,10</sup> Penghambatan interaksi PD-1 dan PD-L1 dapat meningkatkan respons sel-T serta meningkatkan

aktivitas antitumor.<sup>11</sup> Pada karsinoma paru bukan sel-kecil, ekspresi PD-L1 secara signifikan berhubungan dengan diferensiasi dan OS yang buruk.<sup>12</sup>

*Tumor infiltrating lymphocytes* (TILs) adalah sekelompok limfosit yang terletak di sekitar sel-sel tumor. Pada beberapa penelitian TILs dikatakan berperan sebagai penanda prognostik dan prediktif pada berbagai jenis keganasan.<sup>6</sup> Penelitian pada karsinoma sel jernih ovarium oleh Zhu *et al* melaporkan bahwa ekspresi tinggi PD-L1 pada sel tumor berhubungan dengan stadium lanjut.<sup>13</sup> Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan TILs pada seminoma testis serta menilai prognostiknya.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kohort retrospektif dengan desain khusus analisis kesintasan. Dilakukan di Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM selama bulan Juni sampai Juli 2019. Total sampel yang didapatkan adalah 20 sampel. Kriteria inklusi adalah semua kasus seminoma testis yang telah didiagnosis melalui pemeriksaan histopatologik. Kriteria eksklusi adalah kasus dengan blok parafin yang tidak adekuat untuk diproses lebih lanjut dan kasus *review*. Penelitian menggunakan data pasien yang berasal dari rekam medik RSCM dan Departemen Patologi Anatomi RSCM selama Januari 2011-Desember 2016, dengan masa observasi masing-masing selama dua tahun. Kemudian dilakukan pengumpulan data, formulir, slaid, blok, dan pengamatan keadaan pasien.

Masing-masing kasus dibuat sediaan dari blok parafin yang dipotong dengan mikrotom setebal 3-4  $\mu$ m dilakukan pemanasan di dalam oven dengan suhu 60°C *overnight*. Sediaan dideparafinisasi dengan *xylol* sebanyak 3x selama 3 menit kemudian direhidrasi dengan alkohol konsentrasi menurun, yaitu mulai dari etanol, alkohol 96%, dan 70%, masing-masing selama 3 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 2 menit. Slaid diinkubasi dalam TRIS-EDTA (10mM TRIS, 1mM EDTA pH 9.0) pada 96°C selama 10 menit dengan *decloaking chamber*. Slaid kemudian didinginkan lalu dicuci dengan PBS selama 2 menit, *blocking peroxidase* 30 menit, cuci *phosphate buffered saline* (PBS) selama 2 menit, protein blok 30 menit, dan cuci PBS 2 menit. Slaid selanjutnya

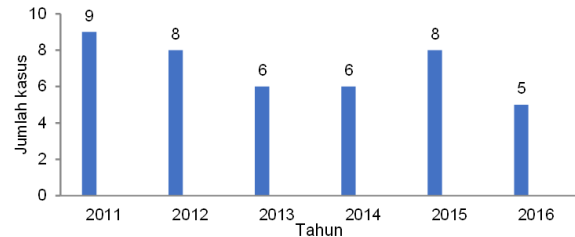
diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dengan antibodi *rabbit polyclonal anti-PD-L1* (GTX104763;GeneTex) dengan dilusi 1:1000 kemudian dicuci PBS 2 menit, diinkubasi post primary 30 menit, dicuci PBS 2 menit, diinkubasi dengan antibodi sekunder *anti-rabbit immunoperoxidase polymer* Novolink selama 30 menit pada suhu kamar, lalu cuci PBS 5 menit. Reaksi warna dengan menggunakan *diaminobenzidine substrat-chromogen* (DAB) selama 1 menit kemudian cuci air mengalir. Kemudian pencelupan ke dalam *counterstain Hematoxylin Mayer* sekitar 1-2 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 3 menit, *bluing* dengan litium karbonat selama 5 detik. Dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 96% dan etanol masing-masing selama 3 menit lalu *clearing* dengan *xylol* I, II dan III masing-masing 5 menit, diberi entelan dan ditutup dengan *deck glass*. Kontrol negatif dan kontrol positif diikutsertakan setiap kali melakukan pulasan.<sup>7</sup> Kontrol positif PD-L1 adalah jaringan plasenta.

Penilaian pulasan PD-L1 dilakukan pada 500 sel tumor dan 100 TILs. Penilaian secara semikuantitatif mengacu pada penelitian Chovanec *et al* yang menggunakan *histoscore* (H-score). Persentase sel terpulas dinilai dengan skala 0-100%. Pengukuran intensitas diberikan skor 0-3 (0=tidak ada; 1=lemah; 2=sedang; dan 3=kuat). Penilaian positivities dilakukan secara bersama-sama oleh peneliti dan pembimbing dengan menggunakan *software* ImageJ, kemudian dilakukan penghitungan H-score dengan mengalikan nilai persentase dengan skor intensitas, untuk menghasilkan nilai minimum 0 dan nilai maksimum 300. Berdasarkan H-score, ekspresi PD-L1 dinilai sebagai rendah (0-150) atau tinggi (151-300).<sup>7</sup> Pengolahan data menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 24. Perbandingan statistik antara karakteristik klinikopatologi dan ekspresi PD-L1 dievaluasi dengan menggunakan uji *Chi-square* dan uji *Fisher's*. Estimasi OS dan PFS dievaluasi dengan metode Kaplan-Meier. Seluruh *p-value* dilaporkan 2-sided, *p*<0,05 dinyatakan signifikan secara statistik.

**HASIL**

Berdasarkan data arsip Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM Januari 2011 sampai Desember 2016 terdapat 42 kasus seminoma testis. Kasus yang memenuhi kriteria inklusi

adalah sebanyak 20 kasus. Jumlah kasus terbanyak adalah pada tahun 2011 (9 kasus) dan jumlah kasus paling sedikit adalah pada tahun 2016 (5 kasus) (Gambar 1).



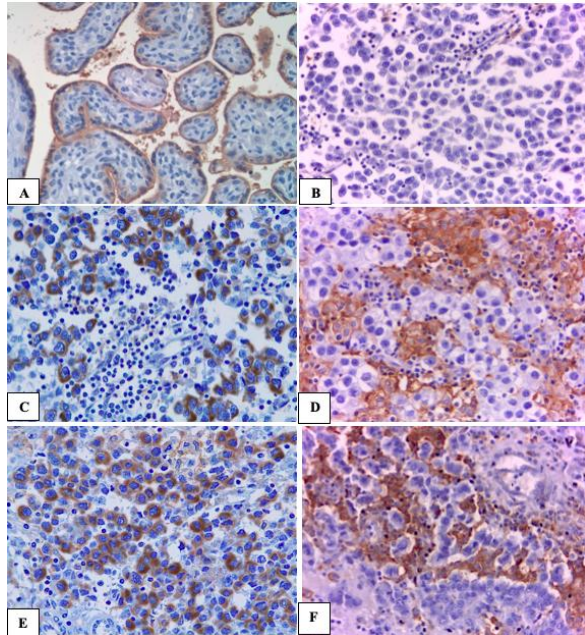
Gambar 1. Distribusi jumlah kasus seminoma testis.

Sejumlah 20 pasien yang memenuhi kriteria inklusi diikuti dalam penelitian. Stadium terbanyak yaitu stadium I sebanyak 15 kasus (75%). Sebanyak 15 kasus (75%) tidak ditemukan metastasis pada kelenjar getah bening. 10 pasien (50%) tidak mendapat kemoterapi (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik pasien.

	n=20	%
Stadium		
I	15	75
II-III	5	25
Metastasis kelenjar getah bening		
N0	15	75
N1-3	5	25
Kemoterapi		
Ya	10	50
Tidak	10	50
Rekuren		
Ya	2	10
Tidak	18	90
Meninggal		
Ya	2	10
Tidak	18	90

Eksresi PD-L1 dinilai pada sitoplasma dan atau membran sel tumor dan TILs. Kontrol positif yang digunakan adalah plasenta (Gambar 2A). Ekspresi PD-L1 dinilai positif bila memiliki skor +2 atau +3 dan dinilai negatif jika memiliki skor +1 dan 0 (Gambar 2B-F). Penilaian secara semikuantitatif dengan menggunakan H-score. Ekspresi PD-L1 dinilai sebagai rendah (0-150) atau tinggi (151-300).<sup>7</sup>



Gambar 2. Hasil pulasan imunohistokimia PD-L1. A. Kontrol positif; B. Pulasan skor 0; C. Pulasan skor +2 pada sel tumor; D. Pulasan skor +2 pada TILs; E. Pulasan skor +3 pada sel tumor; F. Pulasan skor +3 pada TILs.

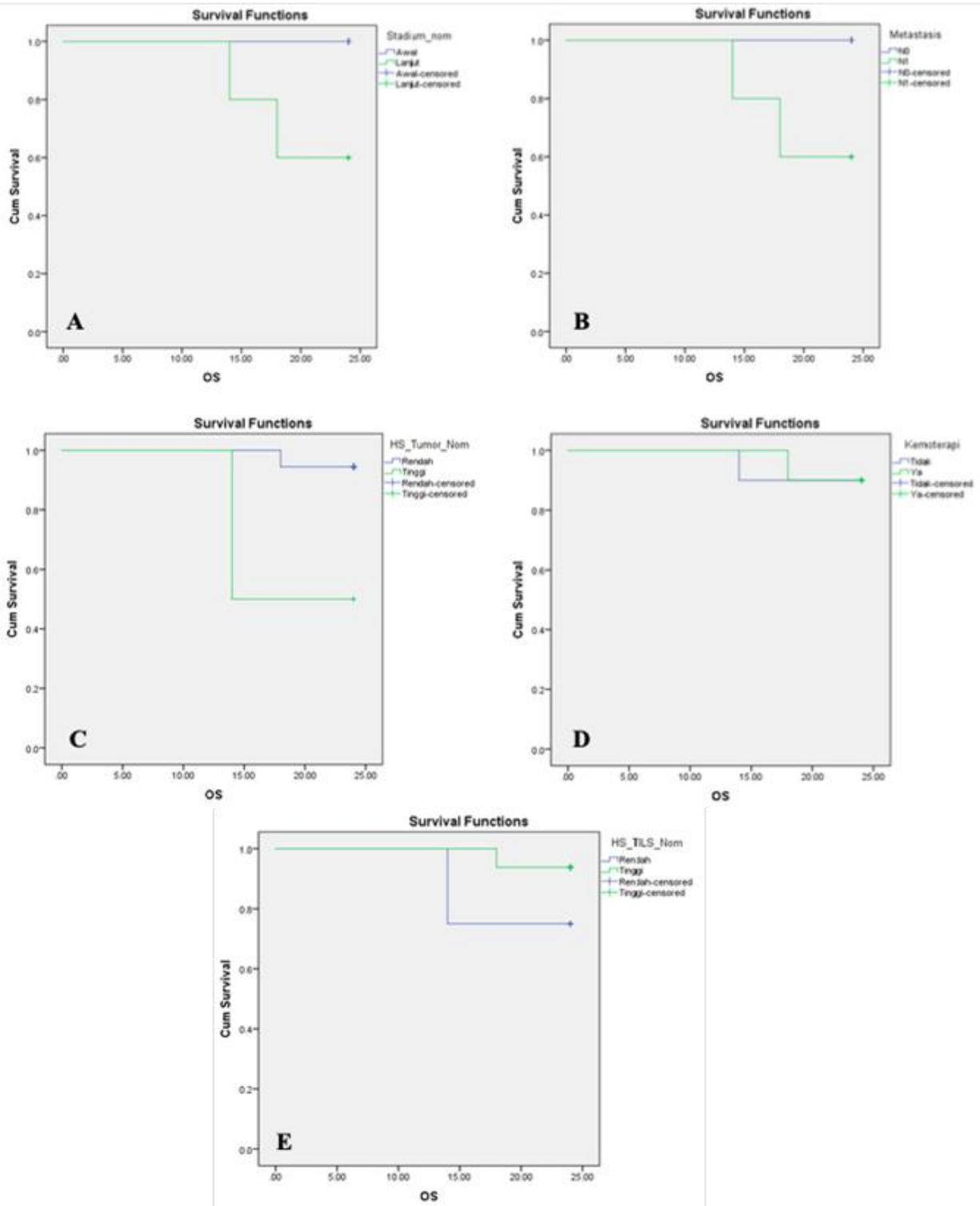
Dari 20 kasus, 18 kasus (90%) di antaranya memiliki ekspresi PD-L1 rendah pada sel tumor dan 2 kasus (10%) memiliki ekspresi PD-L1 tinggi pada sel tumor. 16 kasus (80%) memiliki ekspresi PD-L1 tinggi pada TILs dan 4 kasus (20%) memiliki ekspresi PD-L1 rendah pada TILs.

Terdapat hubungan yang signifikan antara stadium (I vs II-III;  $p=0,010$ ; Gambar 3A), metastasis kelenjar getah bening (N0 vs N1-3;  $p=0,010$ ; Gambar 3B) dan ekspresi PD-L1 pada sel tumor (rendah vs tinggi;  $p=0,023$ ; Gambar 3C) dengan angka kesintasan (OS). Sedangkan kemoterapi (kemoterapi vs tidak kemoterapi;  $p=0,970$ ; Gambar 3D), ekspresi PD-L1 pada TILs (rendah vs tinggi;  $p=0,235$ ; Gambar 3E) tidak berhubungan OS.

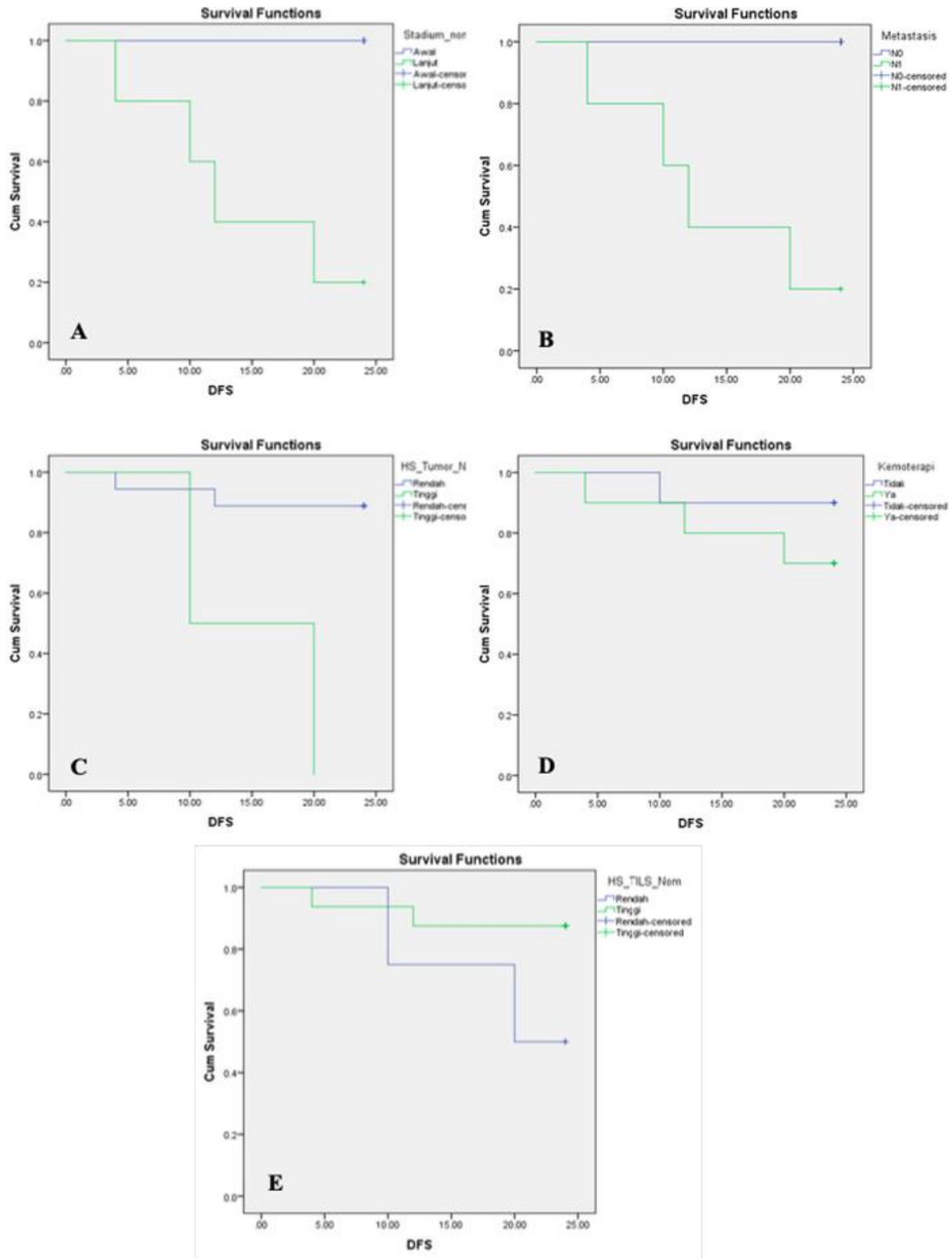
Stadium (I vs II-III;  $p=0,000$ ; Gambar 4A) dan metastasis kelenjar getah bening (N0 vs N1-3;  $p=0,000$ ; Gambar 4B), dan ekspresi PD-L1 pada sel tumor (rendah vs tinggi;  $p=0,002$ ; Gambar 4C) berhubungan dengan angka rekurensi (PFS). Sedangkan kemoterapi (kemoterapi vs tidak kemoterapi;  $p=0,291$ ; Gambar 4D), ekspresi PD-L1 pada TILs (rendah vs tinggi;  $p=0,111$ ; Gambar 4E) tidak berhubungan dengan PFS.

Dilakukan analisis rekurensi dan kesintasan pada ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan ekspresi PD-L1 pada TILs. Hasil analisis menunjukkan terdapat hubungan antara angka rekurensi ( $p=0,019$ ; Gambar 5A) dengan ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan ekspresi PD-L1 pada TILs. Sedangkan kesintasan dengan ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan ekspresi PD-L1 pada TILs tidak terdapat hubungan ( $p=0,155$ ; Gambar 5B).

Hasil analisis bivariat (Tabel 2) menunjukkan bahwa rekurensi (PFS) berhubungan dengan stadium ( $p=0,000$ ), metastasis kelenjar getah bening ( $p=0,000$ ), dan ekspresi PD-L1 pada sel tumor ( $p=0,002$ ). Sedangkan kemoterapi ( $p=0,291$ ), dan ekspresi PD-L1 pada TILs ( $p=0,111$ ) tidak berhubungan dengan PFS. Kemudian dilakukan analisis multivariat (Tabel 5) pada variabel independen dengan nilai  $p<0,25$  untuk mengetahui variabel independen mana yang paling mempengaruhi PFS. Dari hasil analisis multivariat, tidak ditemukan variabel independen yang paling mempengaruhi PFS. Pada analisis bivariat (Tabel 2), dapat dilihat bahwa kesintasan (OS) berhubungan dengan stadium ( $p=0,010$ ), metastasis kelenjar getah bening ( $p=0,010$ ), dan ekspresi PD-L1 pada sel tumor ( $p=0,023$ ). Sedangkan kemoterapi ( $p=0,970$ ), dan ekspresi PD-L1 pada TILs ( $p=0,235$ ) tidak berhubungan dengan OS.

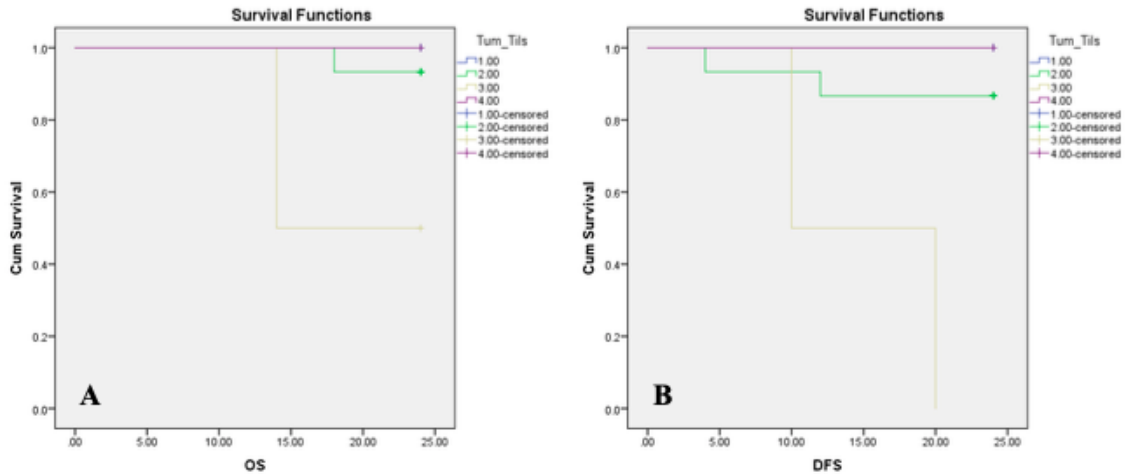


Gambar 3. Kurva Kaplan-Meier analisis kesintasan. A. Stadium; B. Metastasis kelenjar getah bening; C. Ekspresi PD-L1 pada sel tumor; D. Kemoterapi; E. Ekspresi PD-L1 pada TILs.



Gambar 4. Kurva Kaplan-Meier analisis rekurensi. A. Stadium; B. Metastasis kelenjar getah bening; C. Ekspresi PD-L1 pada sel tumor; D. Kemoterapi; E. Ekspresi PD-L1 pada TILs.





Gambar 5. Kurva Kaplan-Meier analisis rekurensi dan kesintasan ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan TILs. A. Analisis rekurensi; B. Analisis kesintasan.

Tabel 2. Analisis bivariat dan multivariat faktor-faktor yang berhubungan dengan PFS dan OS.

	Progression Free Survival (PFS)				Overall Survival (OS)			
	Analisis bivariat		Analisis multivariat		Analisis bivariat		Analisis multivariat	
	2-year PFS,%	p-value	HR (95% CI)	p-value	2-year PFS,%	p-value	HR (95% CI)	p-value
Stadium								
I	100	0,000	-0,002(-0,877-0,872)	0,995	100	0,010	0,005(-0,475-0,485)	0,982
II – III	20				60			
Metastasis kelenjar getah bening		0,000		0,107		0,010		0,133
N0	100		-10,477(-15,784 -5,170)		100		-2,175(-5,086-0,736)	
N1-3	20			60				
Kemoterapi		0,291				0,970		
Ya	90				90			
Tidak	70				90			
Ekspresi PD-L1 pada sel tumor		0,002		0,741		0,023		0,206
Rendah	88,9		0,008(-045-0,062)		94,4		-018 (-048-0,011)	
Tinggi	0			50				
Ekspresi PD-L1 pada TILs		0,111				0,235		
Rendah	50				75			
Tinggi	87,5				93,8			

**DISKUSI**

Kanker testis mewakili 1% dari total seluruh keganasan pada laki-laki dan 5% dari seluruh tumor urologi. Seminoma testis merupakan tumor testis yang paling sering ditemukan pada laki-laki usia muda. Seminoma umumnya didiagnosis pada stadium I dan paling sedikit pada stadium III.<sup>14</sup> Pada penelitian ini didapatkan stadium I sebanyak 16 kasus (80%) dan stadium II sebanyak 4 kasus (20%).

Kombinasi kemoterapi adjuvan setelah pembedahan atau saat rekuren memberikan angka kesembuhan yang tinggi pada seminoma testis. Kombinasi kemoterapi adjuvan yang digunakan adalah bleomycin, etoposide, dan

cisplatin (BEP).<sup>5</sup> Pada penelitian ini, 10 pasien (50%) mendapatkan kemoterapi BEP setelah pembedahan.

Dong *et al* melaporkan 3,5, dan 10-year survival outcomes pasien seminoma setelah pembedahan adalah 94,8%, 86,2% dan 70,7%. Five-year OS berdasarkan stadium yaitu stadium I 94,1%, stadium II 87,5%, dan stadium III 66,7%.<sup>15</sup> Kvammen *et al* melaporkan OS pada pasien seminoma stadium II-III setelah pembedahan adalah 81,8%.<sup>16</sup> Pada penelitian ini diperoleh 2-year survival outcomes berupa overall survival (OS) dan progression-free survival (PFS) yaitu 90% dan 80%.

Salah satu mekanisme dari tumor untuk menghindari respons imun yang dikenal sekarang ini adalah dengan *immune checkpoint* yakni, kemampuan sel tumor menggunakan mekanisme immunosupresif untuk menghindari respons imun antitumor. Interaksi PD-1/PD-L1 berperan sebagai regulator negatif *T-cell-mediated antitumor immunity*. Ekspresi PD-L1 dalam keadaan normal terinduksi pada sel-sel imun seperti makrofag dan sel-T, sedangkan ekspresi PD-L1 yang tidak normal ditemukan pada beberapa jenis keganasan. Sehingga terdapat suatu hipotesis yang menyatakan bahwa ekspresi PD-L1 pada sel tumor atau TILs berperan dalam perkembangan tumor dengan menghambat respons imun antitumor.<sup>7,8</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat hubungan antara OS dan PFS dengan ekspresi PD-L1 pada sel tumor. Hal ini sesuai dengan penelitian Cierna *et al* (klon EPR1161(2)) yang melaporkan bahwa PFS dan OS ekspresi PD-L1 rendah lebih baik dibandingkan ekspresi PD-L1 tinggi pada sel tumor, serta ditemukannya ekspresi PD-L1 tinggi pada tumor sel germinal testis berhubungan dengan prognosis buruk dan metastasis.<sup>10</sup> Testis merupakan salah satu *immunologically privileged sites*, di mana jaringan testis memiliki kemampuan untuk menekan respons imun. Maturasi sperma terjadi pada usia pubertas, di mana saat itu toleransi imun telah terbentuk sehingga diperlukan mekanisme untuk mencegah terjadinya reaksi autoimun karena sistem imun mengenali spermatid sebagai benda asing.<sup>7,10</sup> Cheng *et al*<sup>7</sup> melaporkan bahwa salah satu mekanisme yang berkontribusi adalah interaksi PD-1/PD-L1. Pada penelitian Cheng *et al* dilaporkan bahwa spermatosit dan spermatid pada tubulus seminiferus mengekspresikan PD-L1. Hal ini menyebabkan proliferasi sel T mengalami penekanan serta peningkatan apoptosis sel T pada testis. Interaksi PD-1/PD-L1 ini penting terjadi pada jaringan normal untuk mempertahankan homeostasis respon imun serta mencegah autoimun, akan tetapi pada keadaan keganasan dapat digunakan oleh sel tumor untuk menghindarkan diri dari sistem imun dengan cara me-nonaktifkan CTL. Adanya *immune privilege* pada testis yang dimediasi oleh PD-L1 inilah yang diperkirakan berperan dalam patogenesis tumor sel germinal di testis. Chovanec *et al* (klon EPR1161(2)) menilai hubungan antara OS dan PFS dengan

mengkombinasikan ekspresi PD-L1 pada sel tumor dan ekspresi PD-L1 pada TILs, hasil yang didapat adalah pasien dengan ekspresi rendah PD-L1 pada sel tumor dan ekspresi tinggi PD-L1 pada TILs memiliki prognosis yang baik dengan 5-year PFS dan OS sebesar 95,5% dan 100%. Kemudian pasien dengan ekspresi tinggi PD-L1 pada sel tumor dan ekspresi rendah pada TILs memiliki prognosis yang lebih buruk dengan 5-year PFS dan OS sebesar 72,2% dan 72,2%.<sup>7</sup> Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang kami lakukan di mana terdapat hubungan antara ekspresi PD-L1 sel tumor dan ekspresi PD-L1 pada TILs dengan rekurensi. Terdapatnya hubungan antara ekspresi PD-L1 dengan faktor prognostik juga dilaporkan oleh Shi *et al* yang menyatakan bahwa ekspresi PD-L1 pada kanker kolorektal berhubungan dengan OS (log rank test:  $p=0,0169$ ), serta pasien dengan ekspresi PD-L1 positif memiliki risiko kematian lebih tinggi dibandingkan dengan ekspresi PD-L1 negatif (HR=2,61, 95%CI 1,008-3,576,  $p=0,006$ ).<sup>18</sup> *Systematic review* dan meta-analisis yang dilakukan oleh Li *et al* pada pasien keganasan kepala dan leher di Asia juga melaporkan adanya hubungan yang signifikan antara ekspresi PD-L1 dengan OS (HR=1,38 95%CI 1,12-1,70,  $p=0,003$ ) dan PFS (HR 1,99 95%CI 1,59-2,48,  $p=0,001$ ).<sup>19</sup> Darb-Esfahani *et al* (klon EPR1161(2)) melaporkan adanya hubungan antara ekspresi PD-L1 dengan OS dan PFS pada karsinoma ovarium serosum derajat tinggi.<sup>9</sup> Meta-analisis pada keganasan payudara yang dilakukan oleh Guo *et al* juga melaporkan bahwa ekspresi PD-L1 berhubungan dengan prognosis buruk, metastasis kelenjar getah bening, derajat inti yang buruk, serta status reseptor estrogen yang negatif.<sup>20</sup> Zhu *et al*<sup>21</sup> yang melakukan penelitian pada karsinoma sel jernih ovarium melaporkan ekspresi PD-L1 yang tinggi berkaitan dengan stadium lanjut, positifnya cairan asites, rekurensi, resistensi kemoterapi platinum, serta PFS dan OS yang lebih buruk. Hasil analisis multivariat pada penelitian ini tidak ditemukan variabel independen yang paling mempengaruhi OS. Hasil yang sama juga dilaporkan Cierna *et al* yang menyatakan bahwa ekspresi PD-L1 bukan merupakan variabel independen yang berhubungan dengan OS pada analisis multivariat. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya variabel lain seperti stadium dan metastasis yang menunjukkan hubungan dengan OS.<sup>10</sup>



Penelitian ini menunjukkan tidak terdapatnya hubungan antara OS dan PFS dengan ekspresi PD-L1 pada TILs. Hal ini bertentangan dengan penelitian Chovanec *et al* pada TSGT yang melaporkan bahwa pasien dengan ekspresi PD-L1 tinggi pada TILs memiliki OS dan PFS yang lebih baik dibandingkan dengan pasien dengan ekspresi PD-L1 rendah pada TILs.<sup>7</sup> Hendry *et al*<sup>22</sup> menyatakan TILs mempunyai aktivitas antitumor yang berbeda-beda di mana TILs dapat mengalami kelelahan dan menjadi bentuk inaktif melalui jalur *immune checkpoint* seperti PD-1:PD-L1 *signaling*. Ekspresi dari molekul *checkpoint* akan diinduksi oleh respons aktif imun, yang kemudian dapat direaktivasi lagi melalui imunoterapi, kemoterapi atau radio-terapi. Ekspresi tinggi pada TILs tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antitumor yang tinggi pada TILs. Hal ini yang mungkin dapat menjelaskan sebagian dari penyebab mengapa pada pasien dengan ekspresi tinggi pada TILs tidak menunjukkan prognosis yang lebih baik. Penelitian pada kanker kolorektal yang dilakukan oleh Mei *et al* dilakukan dengan membagi TILs berdasarkan tipe dan densitas dari sel imun adaptif menjadi sel-T CD3+, CD8+, FoxP3+, CD45RO+. Subset dari sel-sel imun tersebut terdistribusi secara berbeda-beda di antara berbagai jenis tumor. Penelitian tersebut melaporkan CD3+ berhubungan dengan OS, namun CD8+, FoxP3+ tidak berhubungan dengan OS.<sup>23</sup> Hasil yang sama juga dilaporkan Sandra *et al*<sup>24</sup> yang meneliti hubungan antara subset TILs dengan OS pada *soft tissue sarcoma*, di mana CD8+ berhubungan dengan OS dan CD3+, CD4+, FoxP3+ tidak berhubungan dengan OS. Gooden *et al*<sup>25</sup> melakukan meta-analisis untuk mengetahui hubungan TILs dengan prognosis pada berbagai jenis keganasan dan melaporkan hasil CD3+ dan CD8+ berhubungan dengan OS, namun FoxP3+ tidak berhubungan dengan OS. Patrick *et al*<sup>26</sup> melakukan penelitian pada metastasis otak melaporkan ekspresi PD-L1 pada TILs tidak berhubungan dengan *survival*.

Adanya diskrepansi dari hasil penelitian ini mungkin dapat disebabkan dengan tidak dilakukannya penelitian berdasarkan subset TILs yang memberikan gambaran aktivitas antitumor yang berbeda pada masing-masing subset TILs serta jenis tumor. Diskrepansi juga dapat disebabkan karena belum adanya

standard yang tetap dalam menilai ekspresi PD-L1 sehingga interpretasi yang dihasilkan juga berbeda-beda. Beberapa penelitian menggunakan *cutoff* 5% sebagai ekspresi PD-L1 yang positif.<sup>27</sup>

Adapun sistem imun yang bersifat dinamis di mana interaksinya dengan sel tumor selalu berubah selama perkembangan tumor. Hal tersebut berbeda dengan *oncogenic driver* yang merupakan penyebab terjadinya tumor sehingga umumnya stabil selama perkembangan tumor. Pemeriksaan *oncogenic driver* seperti HER2 dan ALK berbeda dengan penilaian ekspresi PD-L1. PD-L1 menunjukkan level ekspresi yang bervariasi (1-100%) tanpa *cutoff* yang pasti antara positif dan negatif, sedangkan tes biomarker *oncogenic driver* umumnya akan memberikan jawaban yang jelas (positif atau negatif).<sup>28</sup> Oleh karena itu, diperlukan adanya penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara OS dan PFS dengan ekspresi PD-L1 pada seminoma testis, dengan jumlah sampel yang lebih besar sehingga diharapkan memberikan hasil yang lebih akurat.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini ditemukan ekspresi PD-L1 pada sel tumor berhubungan dengan OS dan PFS pada seminoma testis. Pada penelitian ini ditemukan ekspresi PD-L1 pada TILs tidak berhubungan dengan OS dan PFS pada seminoma testis.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Znaor A, Tieulent JI, Jemal A, Bray F. International variations and trends in testicular cancer incidence and mortality. *Eur Urol*. 2014; 65::1095-106.
2. International Agency for Research on Cancer. IARC. GLOBOCAN 2018: [homepage on the Internet]. 2018 [cited 2018 Oct 26]. Available from: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>.
3. Trabert B, Chen J, Devesa SS, Bray F, McGlynn KA. International patterns and trends in testicular cancer incidence, overall and by histologic subtype, 1973–2007. *Andrology* 2015; 3:4-12.
4. Trabert B, International patterns and trends in testicular cancer incidence, overall and by

- histologic subtype, 1973–2007. *Andrology* 2015; 3:4-12.
5. Shanmugalingam T, Soultati A, Chowdhury S, Rudman S, Van Hemelrijck MV. Global incidence and outcome of testicular cancer. *Clin Epidemiol.* 2013;5:417-27.
  6. Trama A, Berrino F. The epidemiology of malignant germ cell tumors: the EURO CARE study. In: Nogales FF, Jimenez RE, editors. *Pathology and biology of human germ cell tumors*. Berlin: Springer-Verlag; 2017. 11-22.
  7. Albers P, Albrecht W, Algaba F, Bokemeyer C, Cedermark G, Fizazi K et al. Guidelines on testicular cancer: 2015 update. *Eur Urol* 2015; 8:104-68.
  8. Chovanec M, Cierna Z, Miskovska V, Machalekova K, Svetlovska D, Kalavska K, et al. Prognostic role of programmed-death ligand 1 (PD-L1) expressing tumor infiltrating lymphocytes in testicular germ cell tumors. *Oncotarget* 2017; 8:21794-805.
  9. Drakes MI, Mehrotra S, Aldulescu M, Potkul RK, Liu Y, Grisoli A. Stratification of ovarian tumor pathology by expression of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand-1 (PD-L1) in ovarian cancer. *J Ovarian Res* 2018; 11(43).
  10. Darb-Esfahani S, Kunze CA, Kulbe H, Sehouli J, Wienert S, Lindner J. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma. *Oncotarget* 2015; 77:1486-99.
  11. Cierna Z, Mego M, Miskovska V, Machalekova K, Chovanec M, Svetlovska D. Prognostic value of programmed-death-1 receptor (PD-1) and its ligand 1 (PD-L1) in testicular germ cell tumors. *Ann Oncol* 2006; 27:300-5.
  12. Fankhauser CD, Curion-iFontecedro A, Allman V, Beyer J, Tischler V, Sulser T. Frequent PD-L1 expression in testicular germ cell tumors. *Br J Cancer* 2015; 113:411-3.
  13. Guan J, Lim KS, Mekhail T, Chang Cc. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in the programmed death receptor-1 (PD-1)/PD-L1 blockade: a key player against various cancers. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141:851-61.
  14. Zhu J, Wen H, Bi R, Wu Y, Wu X. Prognostic value of programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in ovarian clear cell carcinoma. *J Gynecol Oncol* 2017; 28(e77).
  15. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE. Germ cell tumors. In: Ulbright TM, Amin MB, Balzer B, Bernet DM, Epstein JI, Guo C, et al, editors. *WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs*. 4th. Lyon:IARC; 2016::189-226.
  16. Dong W, Gang W, Liu MM, Zhang HZ. Analysis of the prognosis of patients with testicular seminoma. *Oncol Lett* 2015; 11::1361-6.
  17. Kvammen I, Myklebust TA, Solberg A, Moller B, Klepp OH, Fossa SD. Long term relative survival after diagnosis of testicular germ cell tumor. *AACR* 2016; 25:773-9.
  18. Cheng X, Dai H, Wan. Interaction of programmed death-1 and programmed death-1 ligand-1 contributes to testicular immune privilege. *Transplantation* 2009; 87:1778-86.
  19. Shi SJ, Wang LJ, Wang GD, Guo Zy, Wei M, Meng Yi. B7-H1 expression is associated with poor prognosis in colorectal carcinoma and regulates the proliferation and invasion of HCT116 colorectal cancer cell. *PloS one* 2013; 8:e76012.
  20. Li J, Wang P, Xu Y. Prognostic value of programmed cell death-ligand 1 expression in patients with head and neck cancers: a systematic review dan meta-analysis. *PloS One* 2017; 12:1-16.
  21. Guo Y, Yu P, Liu Z, Maimaiti Y, Wang S, Yin X. et al Prognostic and clinicopathological value of programmed death ligand-1 in breast cancer: a meta-analysis. *PloS one.* 2016; 11:e0156323.
  22. Zhu J, Wen H, Ju X, Bi R, Zuo W, Wu X. Clinical significance of programmed death ligand-1 and intra-tumoral CD8+ T lymphocytes in ovarian carcinosarcoma. *PloS one.* 2017; 12:e0170879.
  23. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell Pa, John T, Thapa B. Assessing tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the. *International immunooncology*

- biomarkers working group 2017; 241:235-51.
24. Mei Z, Liu Y, Liu C, Cui A, Liang Z, Wang G. Tumour infiltrating inflammation and prognosis in colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Br Med J*; 2014; 110:1595-605
  25. D'angelo SP, Alexander N, Shoushtari M, Narasimhan P, Agaram, M, Deborah K et al. Prevalence of tumor infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in the soft tissue sarcoma microenvironment. *Humpath* 2014; 46(3):357-365.
  26. D'Angelo SP, Alexander N, Shoushtari, M, Narasimhan P, Agaram, M, K Deborah, Prevalence of tumor infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in the soft tissue sarcoma microenvironment. *Hum Pathol*. 2015; 46(3): 357-65.
  27. Gooden MJ, Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic. Influence of tumor infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer* 2011; 105:93-103.
  28. Harter PN, Bernatz S, Scholz A, Zeiner Ps, Zinke J, Kiyose M, et al. Distribution and prognostic relevance of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) and PD-1/PD-L1 immune checkpoints in brain metastases. *Oncotarget* 2015; 36:1-14.
  29. Zhu J, Wen H, Ju X, Bi R, Zuo W, Wu X. Clinical significance of programmed death ligand-1 and intra-tumoral CD8+ T lymphocytes in ovarian carcinosarcoma. *PloS one* 2017; 12:e0170879.
  30. Prince SS, Bubendorf L. Predictive potential and need for standardization of PD-L1 immunohistochemistry. *Virchows Archiv* 2018; 1:1-10.