

## Hubungan Subtipe Imunofenotipik Berdasarkan Ekspresi CD56 dan CD16 dengan Ekspresi CD30 dan Ki-67 pada Limfoma Sel NK/T Ekstranodal Tipe Nasal

Stephanie Marisca, Kusmardi, Endang SR Hardjolukito,  
Maria Francisca Ham, Agnes Stephanie Harahap

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jakarta

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Limfoma sel NK/T ekstranodal tipe nasal (NKTCL; *extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type*) dapat dikategorikan menjadi beberapa subtipe berdasarkan ekspresi CD56 dan CD16 sesuai dengan pola perkembangan fenotip sel *natural killer* (NK) normal. Ekspresi CD56 banyak ditemukan pada tahap diferensiasi sel NK yang lebih awal, sedangkan ekspresi CD16 terdapat pada sel NK dengan diferensiasi yang lebih *mature*. Selain fenotip normal, adanya infeksi virus Epstein-Barr (EBV) sebagai etiologi NKTCL berkaitan dengan fenotip teraktivasi yang ditandai dengan ekspresi CD30, kemudian mengaktifkan jalur sinyal *nuclear factor kappa beta* (Nf-KB) sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan dan proliferasi sel tumor. Pada penelitian ini diteliti hubungan antara subtipe NKTCL berdasarkan ekspresi CD56 dan CD16 dengan ekspresi CD30 serta indeks proliferasi Ki-67.

#### Metoda

Penelitian ini menggunakan metoda potong lintang. Sampel terdiri atas 32 kasus NKTCL di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (FKUI/RSCM) periode Januari 2010 sampai April 2016. Dilakukan pulasan imunohistokimia CD16, CD30 dan Ki-67, sedangkan pewarnaan CD56 diambil dari arsip. Selanjutnya dihitung persentasis positivitas pada setiap pulasan tersebut.

#### Hasil

Positivitas CD56 ditemukan pada semua kasus (100%). Positivitas CD16 sebanyak 16 (50%) kasus, positività CD30 sebanyak 17 (53,13%) kasus, dan indeks proliferasi Ki-67 tinggi sebanyak 16 (50%) kasus. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara subtipe NKTCL (CD56+CD16- dan CD56+CD16+) dengan ekspresi CD30 ( $p=0,723$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara subtipe NKTCL (CD56+CD16- dan CD56+CD16+) dengan indeks proliferasi Ki-67 ( $p=0,480$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi CD30 dengan indeks proliferasi Ki-67 ( $p=0,723$ ).

#### Kesimpulan

Subtipe imunofenotipik NKTCL (CD56+CD16- dan CD56+CD16+) tidak berhubungan dengan fenotip teraktivasi (CD30) maupun proliferasi (Ki-67).

**Kata kunci:** CD16, CD30, CD56, Ki-67, NKTCL.

### ABSTRACT

#### Background

Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type (NKTCL) can be categorized into several immunophenotypic subtypes based on CD56 and CD16 expression which apparently resemble the normal natural killer (NK) cell developmental pattern. CD56 expression mostly found in earlier stage of NK cell differentiation, while CD16 expression indicates more mature NK cell differentiation. Besides the normal NK cell phenotype, the presence of Epstein-Barr virus (EBV) infection as the etiology of NKTCL has been known to correlate with activation-related phenotype which marked by CD30 expression, thus activates nuclear factor kappa beta (Nf-KB) signaling pathway and promotes tumour cells growth and proliferation. This research examined the association of NKTCL subtypes based on CD56 and CD16 expression, CD30 expression, and Ki-67 proliferation index.

#### Methods

This was a cross-sectional study with 32 samples of NKTCL in Department of Anatomical Pathology Faculty of Medicine University of Indonesia/Cipto Mangunkusumo Hospital between January 2010 and April 2016 period. All cases were immunohistochemically stained against CD16, CD30, and Ki-67, while CD56 was taken from archives. The staining results were evaluated by the percentages of positivity.

#### Results

CD56 positivity was found in all cases (100%). CD16 positivity was found in 16 (50%) cases, CD30 positivity was found in 17 (53.13%) cases, and high Ki-67 proliferation index was found in 16 (50%) cases. There was no significant difference between NKTCL subtypes (CD56+CD16- and CD56+CD16+) and CD30 expression ( $p=0.723$ ). There was no significant difference between NKTCL subtypes (CD56+CD16- and CD56+CD16+) and Ki-67 proliferation index ( $p=0.480$ ). There was also no significant difference between CD30 expression and Ki-67 proliferation index ( $p=0.723$ ).

#### Conclusion

NKTCL immunophenotypic subtypes (CD56+CD16- and CD56+CD16+) has no association with activation (CD30) nor proliferation (Ki-67).

**Key words:** CD16, CD30, CD56, Ki-67, NKTCL.

## PENDAHULUAN

Limfoma sel NK/T ekstranodal tipe nasal (NKTCL; *extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type*) merupakan subtipe dari limfoma malignum non Hodgkin (LNH) yang jarang ditemukan, hanya mencakup 5-18% dari seluruh kasus LNH.<sup>1</sup> Insidens NKTCL bervariasi pada berbagai negara, meskipun jarang ditemukan tetapi di Asia dan Amerika Selatan frekuensinya lebih sering dibandingkan di Eropa dan Amerika Utara.<sup>2</sup> Limfoma malignum merupakan jenis neoplasma terbanyak kedua di regio kepala dan leher, yaitu sekitar 5% dari seluruh kasus. Limfoma malignum di area kepala dan leher umumnya berasal dari rongga hidung dan area saluran nafas bagian atas.<sup>3</sup> Sekitar 60-90% kasus NKTCL berlokasi pada daerah nasal dan merepresentasikan 45% dari seluruh jenis limfoma primer pada area sinonasal, meskipun demikian NKTCL juga dapat terjadi pada lokasi ekstranasal.<sup>1,4</sup>

Kesulitan untuk mendiagnosis NKTCL adalah sampel jaringan yang tidak adekuat, adanya nekrosis luas, serta banyaknya infiltrat sel radang polimorfik sehingga sel-sel atipik yang berukuran kecil sampai besar dalam jumlah sedikit menjadi tersamar. Hal tersebut dapat menyebabkan diagnosis akhir dan penanganan NKTCL menjadi tertunda. Gambaran morfologik khas lainnya pada NKTCL yaitu ditemukannya pola angioinvasi dan angiosentrisitas sel tumor yang sering mengakibatkan terjadinya nekrosis koagulatif.<sup>3,5</sup> Secara imunofenotipik, NKTCL akan menunjukkan positività terhadap penanda sel T (CD2, CD3e), penanda sel NK (CD56), serta granula sitotoksik seperti granzim B, perforin dan *T-cell restricted intracellular antigen-1* (TIA-1). Seluruh diagnosis limfoma malignum harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan imunohistokimia (IHK).<sup>6-8</sup>

NKTCL umumnya berasal dari sel NK, tetapi pada beberapa kasus juga dapat berasal dari sel T sitotoksik.<sup>9</sup> Saat ini telah diketahui 5 subtipe sel NK *mature* dalam darah perifer yang terbagi dalam 2 kelompok utama, yaitu CD56<sup>bright</sup> (CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>-/+dim</sup>) dan CD56<sup>dim</sup> (CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>+</sup>). Perbedaan fenotip sel NK tersebut terdapat pada ekspresi CD56 dan CD16. Ekspresi CD56 lebih banyak terdapat pada sel NK CD56<sup>bright</sup> dan berkurang pada sel NK CD56<sup>dim</sup>, sebaliknya ekspresi CD16 hanya sedikit atau negatif pada sel NK CD56<sup>bright</sup> dan lebih banyak terdapat pada sel NK CD56<sup>dim</sup>.<sup>10,11</sup>

Ekspresi CD16 umumnya jarang ditemukan pada NKTCL, tetapi pada penelitian pendahuluan terdapat positività CD16 yang cukup tinggi yaitu sebanyak 17 (94,4%) dari 18 kasus.

Adanya stimulasi tertentu pada sel NK juga dapat mengakibatkan adanya ekspresi CD30 sebagai petanda aktivasi. CD30 sebagai salah satu reseptor *tumor necrosis factor* (TNF), berperan dalam meregulasi berbagai sinyal untuk apoptosis dan proliferasi sel. CD30 jarang diekspresikan pada sel normal, tetapi ekspresinya meningkat pada beberapa jenis keganasan, termasuk limfoma. CD30 tidak rutin diperiksa untuk menegakkan diagnosis NKTCL, tetapi saat ini telah terdapat beberapa laporan mengenai ekspresi CD30 pada pasien NKTCL.<sup>12,13</sup> Ekspresi CD30 pada NKTCL yang ditemukan di China adalah sebanyak 30,6%,<sup>14</sup> sedangkan di California sebanyak 23%.<sup>15</sup> Ekspresi CD30 dapat menjadi salah satu target imunoterapi spesifik untuk sel kanker. Terapi anti-CD30 terbaru yang sedang dikembangkan untuk limfoma CD30+ adalah Brentuximab vedotin. Obat ini masih menjalani penelitian dalam klinik, tetapi beberapa laporan menunjukkan respon yang cukup baik.<sup>12,13</sup>

Ekspresi CD16 dan CD30 pada NKTCL menunjukkan fenotip sel tumor teraktivasi serta berkaitan dengan kelainan limfoproliferatif yang disebabkan virus Epstein-Barr (EBV).<sup>16,17</sup> Indeks proliferasi Ki-67 bervariasi pada berbagai subtipe limfoma. Pada NKTCL yang bersifat agresif, indeks proliferasi Ki-67 umumnya tinggi.<sup>18,19</sup> Menurut penelitian Li *et al.*, ketahanan hidup pada NKTCL dengan positività Ki-67 >60% adalah 2,68 tahun, sedangkan dengan positività Ki-67 ≤60% adalah 5,83 tahun.<sup>20</sup> Hubungan antara subtipe NKTCL dengan ekspresi CD30 serta indeks proliferasi Ki-67 secara klinis dan biologis masih belum jelas.

## METODA PENELITIAN

### 1. Sampel penelitian

Penelitian ini dilakukan di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (FKUI/RSCM) Jakarta, dengan menggunakan desain potong lintang. Populasi terjangkau adalah kasus dengan diagnosis akhir NKTCL di Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM periode Januari 2010 sampai April 2016. Penghitungan besar sampel mengguna-

kan rumus besar sampel analitik korelatif dengan hasil penghitungan sampel sebanyak 36. Karena jumlah kasus yang sesuai dalam kurun waktu tersebut tidak banyak, maka dilakukan *total sampling* sebanyak 32 kasus.

**2. Bahan dan Cara Kerja**

Berdasarkan data arsip laboratorium imunopatologi Departemen Patologi Anatomi (PA) FKUI/RSCM periode Januari 2010 sampai April 2016 terdapat 71 kasus dengan diagnosis akhir NKTCL, namun hanya 42 kasus yang berhasil ditemukan lengkap (formulir, *slide* Hematoksin Eosin (HE), IHK (CD20, CD3, CD56, granzim B, perforin), *in situ hybridization* (ISH) terhadap *Epstein-Barr-encoded RNA* (EBER), serta blok paraffin). Kasus yang telah dikumpulkan kemudian dibaca ulang oleh peneliti dan pembimbing bersama-sama sesuai kriteria *World Health Organization* (WHO) *haematopoietic and lymphoid tissues* tahun 2008. Hasil pembacaan ulang 42 kasus, terdapat 3 kasus dengan kualitas *slide* sub-optimal dan 7 kasus yang kurang sesuai dengan kriteria diagnosis, sehingga jumlah sampel NKTCL yang memenuhi kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu sebanyak 32 kasus.

Dilakukan pewarnaan IHK CD16 (*mouse monoclonal antibody*, Novocastra™, nomor katalog NCL-CD16) dengan dilusi 1:100, CD30 (*mouse monoclonal antibody*, Dbiosys, nomor katalog Mob032) dengan dilusi 1:100, dan Ki-67 (*rabbit monoclonal antibody*, Biocare, nomor katalog CRM325A) dengan dilusi 1:100 pada seluruh sampel. Kontrol positif untuk antibodi CD16 dan Ki-67 adalah jaringan tonsil, sedangkan untuk antibodi CD30 diambil dari kasus *Anaplastic Large Cell Lymphoma* (ALCL). Kontrol negatif dibuat dengan melewati antibodi primer.

Penilaian hasil pulasan CD16, CD30, dan Ki-67 dilakukan dengan cara mengidentifikasi daerah tumor yang terpulasa dengan baik kemudian dilakukan pengambilan gambar pada 5 tempat berbeda dengan perbesaran lensa obyektif 40X menggunakan mikroskop Leica ICC 50 HD yang dilengkapi kamera. Selanjutnya gambar diproses menggunakan program *ImageJ®* serta dilakukan penghitungan jumlah sel yang terpulasa hingga mencapai minimal 1000 sel tumor pada 2 sampai 5 lapangan pandang besar. Penilaian positività pulasan

CD16 dan CD30 adalah pada membran/sitoplasma yang terwarnai cokelat, sedangkan untuk Ki-67 positività dinilai pada inti yang terwarnai cokelat. Intensitas pulasan, baik yang terpulasa secara lemah maupun kuat tetap dihitung sebagai positif. Nilai positif dicantumkan dalam persentase menggunakan rumus jumlah sel tumor yang positif/total sel tumor  $(\geq 1.000) \times 100\%$ .

**3. Pengolahan data**

Interpretasi data dalam bentuk numerik dan kategorik kemudian dimasukkan ke dalam tabel induk. Data dianalisis dengan uji statistik *chi-square* menggunakan program SPSS versi 20. Nilai  $p < 0,05$  dinyatakan bermakna secara statistik.

**HASIL PENELITIAN**

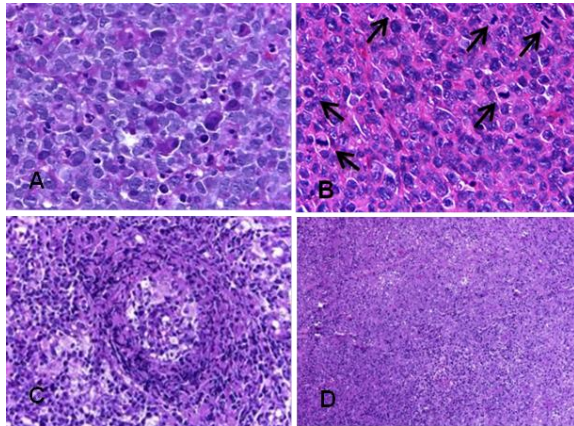
**1. Karakteristik dasar**

Dari 32 sampel, terdapat 23 (71,9%) kasus berjenis kelamin laki-laki dan 9 (28,1%) kasus perempuan. Usia median 41 tahun (rentang usia 12-73 tahun), usia tersering pada dekade ketiga dan keempat, yaitu masing-masing sebanyak 10 (31,3%) kasus. Lokasi tumor terbanyak adalah pada daerah hidung/*midline* wajah, yaitu sebanyak 29 (90,6%) kasus, sedangkan 3 (9,4%) kasus berasal dari lokasi ekstranasal (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik dasar sampel.

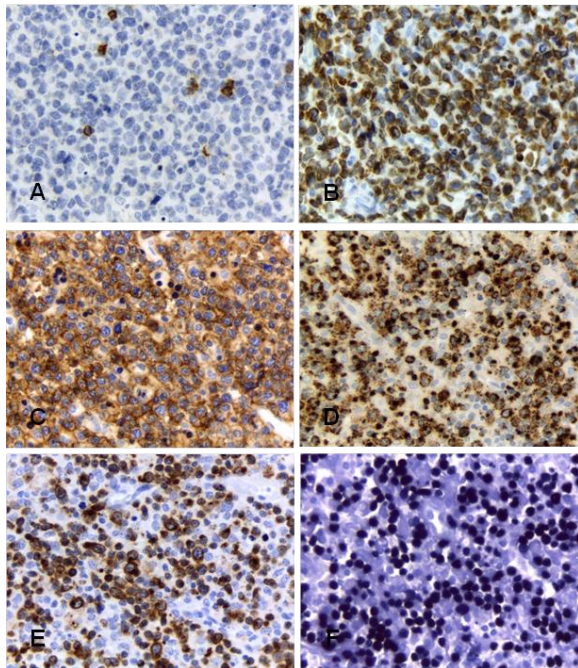
Karakteristik	Kategori	Jumlah (n=32)	%
Jenis kelamin	Laki-laki	23	71,9
	Perempuan	9	28,1
Usia (tahun)	0-9	0	0
	10-19	2	6,3
	20-29	3	9,4
	30-39	10	31,3
	40-49	10	31,3
	50-59	3	9,4
	60-69	3	9,4
	70-79	1	3,1
Lokasi tumor	Hidung/ <i>midline</i>	29	90,6
	Kulit/ <i>soft tissue</i>	2	6,3
	KGB	1	3,1

Secara morfologik terdapat sel-sel berinti atipik berukuran kecil sampai besar bercampur infiltrat sel radang polimorfik. Tampak pola angiosentrisitas, serta nekrosis dengan luas bervariasi (Gambar 1). Pada beberapa tempat ditemukan gambaran monomorfik dengan banyak mitosis.



Gambar 1. Gambaran morfologik NKTCL. A. Sel tumor bercampur sel radang polimorfik; B. Sel tumor yang terlihat monoton, mitosis mudah ditemukan (tanda panah); C. Angiosentrisitas; D. Nekrosis. Pewarnaan HE, pembesaran 400X.

Pada pemeriksaan IHK, ditemukan hasil pulasan CD20 negatif pada semua kasus, sedangkan hasil pulasan CD3, CD56, granzim B, dan perforin positif pada semua kasus. Hasil ISH EBER juga positif pada semua kasus (Gambar 2).



Gambar 2. Gambaran imunofenotipik NKTCL. A. CD20 negatif pada membran; B. CD3 positif pada sitoplasma; C. CD56 positif pada membran; D.

Granzim B; E. Perforin positif berupa granul; F. ISH EBER positif pada inti; pembesaran 400X.

**2. Analisis ekspresi CD16, CD30, dan Ki-67**

Penilaian ekspresi CD16, CD30, dan Ki-67 dilakukan berdasarkan persentase sel yang terpulask positif setelah dihitung dengan program *ImageJ*®. Rentang nilai penghitungan persentase positività ekspresi CD16, CD30, dan Ki-67 yaitu 0-100%. Uji korelasi yang dapat digunakan yaitu uji korelasi Spearman dengan terlebih dahulu menguji linearitas masing-masing variabel dengan menggunakan grafik *scatter*. Dari hasil uji tersebut, hubungan antara ekspresi CD16, CD30, dan Ki-67 tidak memenuhi syarat linearitas, sehingga dipertimbangkan menggunakan uji komparatif dengan terlebih dahulu melakukan kategorisasi variabel.

Selanjutnya ditentukan nilai titik potong untuk masing-masing variabel menjadi 2 kategori. Untuk variabel CD30, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.*<sup>12</sup> pada NKTCL di Cina dan Pongpruttipan *et al.*<sup>21</sup> pada NKTCL di Thailand, maka nilai titik potong yang digunakan yaitu 10%, nilai <10% dinyatakan negatif sedangkan nilai ≥10% dinyatakan positif. Sedangkan untuk pembagian kategorik variabel CD16 dan Ki-67 ditentukan berdasarkan titik potong yang didapat dari kurva *receiver operating characteristic* (ROC). Untuk variabel CD16, titik potong yang digunakan yaitu 53%, nilai <53% dinyatakan negatif sedangkan nilai ≥53% dinyatakan positif. Untuk variabel Ki-67, titik potong yang digunakan yaitu 75%, nilai indeks proliferasi Ki-67 <75% dinyatakan rendah sedangkan nilai indeks proliferasi Ki-67 ≥75% dinyatakan tinggi.

Ekspresi CD56 dan CD16 selanjutnya dikelompokkan menjadi subtipe NKTCL. Pada penelitian ini ekspresi CD56 positif pada semua kasus dengan persentase bervariasi (*median* 69,4%). Ekspresi CD16 juga memiliki persentase positività bervariasi (*median* 53,3%), tetapi kami kelompokkan menjadi positif dan negatif meskipun nilai diskriminasi dari kurva ROC tergolong lemah. Berdasarkan ekspresi CD56 dan CD16, maka pada penelitian ini hanya terdapat 2 subtipe NKTCL, yaitu CD56+CD16- dan CD56+CD16+.

Dilakukan uji statistik *chi-square* untuk menilai hubungan pada masing-masing variabel yang telah diubah menjadi data kategorik. Hasil

penilaian hubungan antara variabel ekspresi CD16 pada subtipe NKTCL dengan CD30 diperoleh nilai  $p=0,723$ . Nilai tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara ekspresi CD16 dan CD30 tidak bermakna secara statistik (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis hubungan antara subtipe NKTCL dengan CD30.

Subtipe NKTCL	Ekspresi CD30				Nilai p
	Positif		Negatif		
	n	%	n	%	
CD56+CD16+	9	56,2	7	43,8	0,723
CD56+CD16-	8	50,0	8	50,0	
Total	17	53,1	15	46,9	

Uji statistik *chi-square*

Hasil penilaian hubungan antara variabel ekspresi CD16 pada subtipe NKTCL dengan indeks proliferasi Ki-67 menggunakan uji statistik *chi-square* diperoleh nilai  $p=0,480$ . Nilai tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara ekspresi CD16 pada subtipe NKTCL dengan indeks proliferasi Ki-67 tidak bermakna secara statistik (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil analisis hubungan antara subtipe NKTCL dengan indeks proliferasi Ki-67.

Subtipe NKTCL	Indeks proliferasi Ki-67				Nilai p
	Tinggi		Rendah		
	n	%	n	%	
CD56+CD16+	9	56,2	7	43,8	0,480
CD56+CD16-	7	43,8	9	56,2	
Total	16	50,0	16	50,0	

Uji statistik *chi-square*

Hasil penilaian hubungan antara variabel ekspresi CD30 dan indeks proliferasi Ki-67 dengan uji statistik *Chi-Square* diperoleh nilai  $p=0,723$ . Nilai tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara ekspresi CD30 dan indeks proliferasi Ki-67 pada NKTCL tidak bermakna secara statistik (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil analisis hubungan antara ekspresi CD30 dengan indeks proliferasi Ki-67 pada NKTCL.

Ekspresi CD30	Indeks proliferasi Ki-67				Nilai p
	Tinggi		Rendah		
	n	%	n	%	
Positif	8	47,1	9	52,9	0,723
Negatif	8	53,3	7	46,7	
Total	16	50,0	16	50,0	

Uji statistik *chi-square*

**PEMBAHASAN**

**1. Karakteristik dasar sampel**

Perbandingan jenis kelamin laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan, yaitu dengan perbandingan 2,6:1. Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang melaporkan adanya predominansi laki-laki dibandingkan perempuan dengan variasi perbandingan 2-3,6:1 pada berbagai populasi NKTCL baik di negara Barat maupun di Asia.<sup>22</sup> Perbandingan jenis kelamin yang didapat pada penelitian ini sedikit lebih rendah dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Hardjolukito *et al.* pada NKTCL di Indonesia tahun 2004 sebelumnya, yaitu 4:1.<sup>23</sup>

NKTCL umumnya ditemukan pada usia yang lebih tua yaitu 50-60 tahun, dibandingkan ANKL yang lebih sering ditemukan pada usia lebih muda yaitu 30-40 tahun.<sup>16</sup> Pada penelitian ini didapatkan usia median 41 tahun dengan rentang usia antara 12-73 tahun, terbanyak pada usia dekade ketiga dan keempat. Penelitian oleh Tababi *et al.* menyatakan usia median yang lebih tinggi pada kasus NKTCL di Tunisia yaitu 52 tahun (rentang usia 35-81 tahun), serta terbanyak adalah pada dekade keempat dan kelima.<sup>4</sup> Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Martinez *et al.* pada NKTCL di Meksiko didapatkan usia median 43 tahun (rentang usia 21-93 tahun).<sup>24</sup>

NKTCL merupakan jenis limfoma sinonasal tersering yang dapat terjadi sepanjang area *midline*, termasuk nasofaring, sinus paranasal, tonsil, hipofaring, laring, dan nasal. Secara klinis NKTCL dapat berlokasi pada nasal dan ekstranasal, dengan perbandingan berkisar antara 2-8:1.<sup>25</sup> Pada penelitian ini jumlah kasus NKTCL yang berlokasi pada area nasal/*midline* lebih banyak dibandingkan ekstranasal dengan persentase cukup tinggi, hingga mencapai 90,6%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.*, persentase NKTCL nasal yaitu sebanyak 86%.<sup>20</sup> Sedangkan dari penelitian Jhuang *et al.*, hanya terdapat 70% NKTCL yang berlokasi pada area nasal.<sup>26</sup>

Pada penelitian ini, hanya 3 (9,4%) kasus NKTCL yang ditemukan pada lokasi ekstranasal, yaitu 2 kasus pada kulit/*soft tissue*, dan 1 kasus pada KGB. Penelitian yang dilakukan Chan *et al.* pada NKTCL di Asia, dari 34 kasus NKTCL ekstranasal, lokasi ekstranasal terbanyak yang ditemukan yaitu pada kulit

sebanyak 14 kasus, dan hanya terdapat 1 kasus yang secara primer berasal dari KGB.<sup>27</sup> Kasus NKTCL yang terjadi primer pada KGB (nodal) tidak dibedakan dengan jenis ekstranodal dalam klasifikasi WHO.<sup>16</sup> Jaringan kulit, saluran nafas atas, testis, saluran pencernaan, jaringan lunak, dan limpa merupakan tempat predileksi terjadinya limfoma ekstranodal. Terdapat suatu postulat bahwa lokasi tersebut memiliki banyak ekspresi CD56, sehingga menjadi tempat berkumpulnya sel limfoma dengan CD56+ karena CD56 memiliki ikatan homofilik.<sup>15,27</sup>

Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan gambaran histopatologik, baik pada NKTCL nasal maupun ekstranasal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Au *et al* yang menyatakan tidak didapatkan perbedaan gambaran histopatologik maupun imunofenotipik antara NKTCL yang berlokasi di nasal dan ekstranasal.<sup>1</sup> Karena memiliki kesamaan dalam gambaran histologik maka dalam klasifikasi WHO, NKTCL nasal dan ekstranasal juga dimasukkan ke dalam kategori yang sama. Perbedaan antara NKTCL nasal dan ekstranasal terdapat pada manifestasi klinik, terapi, dan prognosisnya.<sup>28</sup>

Secara definisi, sel NK tidak mengekspresikan CD3s (Leu4) dan protein TCR pada permukaan sel serta tidak memiliki TCR *gen rearrangement*. Namun, sel NK yang teraktivasi dapat mengekspresikan molekul transduksi sinyal CD3e pada sitoplasmanya.<sup>10</sup> Pada penelitian ini terdapat positività CD3 pada semua kasus, dikarenakan penggunaan antibodi CD3 bersifat poliklonal, sehingga dapat memberikan positività pada sel T dan sel NK karena dapat mewarnai baik CD3s pada membran maupun CD3e pada sitoplasma.<sup>25</sup> Penelitian oleh Barrionuevo *et al.* pada 78 kasus NKTCL, positività CD3e ditemukan pada semua kasus sedangkan positività CD3s sebanyak 4 (6%) dari 67 kasus.<sup>29</sup> Pemeriksaan CD3s dan protein TCR tidak sepenuhnya spesifik sebagai penanda sel T *lineage* karena terdapat beberapa neoplasma sel NK dengan Leu4 positif (mirip dengan sel NK fetal). Selain itu, ekspresi protein TCR pada permukaan sel T *lineage* juga mungkin tidak terdeteksi karena hilangnya antigen sel T secara abnormal.<sup>30</sup>

Ekspresi CD56 merupakan petanda yang penting untuk mendiagnosis NKTCL, terutama membedakan dengan proses reaktif

yang positivitànya hanya sedikit atau pada beberapa sel kecil.<sup>21</sup> Pada penelitian ini didapatkan positività CD56 pada semua kasus. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kuo *et al.*, yaitu terdapat positività CD56 pada seluruh kasus.<sup>31</sup> Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Ng *et al.* pada NKTCL di Singapura, positività CD56 hanya sebanyak 74% dari seluruh kasus.<sup>32</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Yu *et al.*, terdapat 22% kasus NKTCL dengan CD56 negatif pada pemeriksaan IHK tetapi memberikan hasil positif dengan pemeriksaan flow sitometri.<sup>11</sup> Hal ini mungkin disebabkan pemeriksaan CD56 melalui IHK dari blok parafin tidak dapat mendeteksi ekspresi CD56 yang lemah.<sup>21</sup>

Pada penelitian ini hanya dilakukan pemeriksaan IHK terhadap granzim B dan perforin, dan keduanya positif pada semua kasus dengan intensitas dan persentasi positività yang hampir sama. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pongpruttipan *et al*, positività TIA-1, granzim B, dan perforin secara berurutan yaitu 100%, 95%, dan 86%, sehingga disimpulkan TIA-1 merupakan penanda yang lebih sensitif.<sup>21</sup> Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Li *et al* menunjukkan positività terhadap TIA-1 dan granzim B secara berurutan yaitu 83,3% dan 61,2%. Namun pada penelitian oleh Li *et al*, positività TIA-1 juga dijumpai pada netrofil dan histosit sedangkan pada granzim B tidak dijumpai, oleh karena itu granzim B merupakan penanda yang lebih spesifik.<sup>14</sup>

## 2. Analisis subtipe NKTCL, CD30, dan Ki-67 Subtipe NKTCL berdasarkan ekspresi CD56 dan CD16

Penanda yang sering digunakan untuk mengidentifikasi sel NK selain CD56 yaitu CD16 dan CD57. Ekspresi CD56 merupakan penanda dengan positività terbanyak, sedangkan positività CD16 cukup bervariasi dan positività CD57 hampir tidak pernah ditemukan.<sup>16,27</sup> Pada penelitian ini terdapat 16 (50%) kasus NKTCL yang positif terhadap CD16. Penelitian yang dilakukan oleh Ohsawa *et al.* menunjukkan positività CD16 yang lebih tinggi, yaitu sebanyak 11 (91,6%) kasus dari total 12 kasus NKTCL.<sup>33</sup> Pada penelitian yang dilakukan Suzuki *et al*, positività CD16 pada NKTCL adalah sebanyak 22%, sedangkan pada ANKL positività CD16 sebanyak 75%.<sup>34</sup> Perbedaan ini

mungkin disebabkan perbedaan titik potong persentasasi positività dan jumlah sampel.

Hasil penelitian ini sangat berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kwong *et al.*, yaitu dari 15 kasus NKTCL yang diperiksa, ekspresi CD16 negatif pada semua kasus.<sup>35</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Gaal *et al.* juga menunjukkan hasil serupa, yaitu pada 14 kasus NKTCL yang diperiksa, ekspresi CD16 negatif pada semua kasus. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan metode pemeriksaan CD16.<sup>36</sup> Pada penelitian Gaal *et al.*, dilakukan pemeriksaan IHK CD16 pada jaringan potong beku, sedangkan pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan IHK CD16 dari jaringan blok parafin. Menurut Gaal *et al.* sulit mendeteksi ekspresi CD16 dari IHK jaringan potong beku serta banyaknya histiosit yang juga positif dengan CD16, tetapi sel tumor yang negatif telah dikonfirmasi dengan *double-label* antara pulasan IHK CD16 dan ISH EBER.

Berdasarkan ekspresi CD56 dan CD16 dari perkembangan sel NK normal, maka terdapat 2 subtipe fenotipik NKTCL dalam penelitian ini, yaitu CD56+CD16- (50% kasus) dan CD56+CD16+ (50% kasus). Penelitian oleh Yu *et al.* membagi subtipe NKTCL ke dalam 3 kategori, yaitu (1) kelompok dengan ekspresi CD56 lemah/negatif (CD56<sup>dim/-</sup>) dan CD16 positif, (2) kelompok dengan ekspresi CD56 positif dan CD16 negatif, (3) kelompok dengan ekspresi CD56 negatif dan CD16 negatif. Dari 115 kasus, terdapat 6 (5,2%) subtipe CD56-CD16-, 90 (78,3%) subtipe CD56+CD16-, dan 19 (16,5%) subtipe CD56<sup>dim/-</sup>CD16+. Ketahanan hidup pada subtipe CD56+CD16-, CD56-CD16-, dan CD56<sup>dim/-</sup>CD16+ secara berurutan yaitu 57,8%, 33,3%, dan 10,5%.<sup>11</sup>

Subtipe CD56-CD16- sangat jarang ditemukan, menurut Yu *et al.*, subtipe ini mungkin muncul sebelum subtipe CD56+CD16-. Subtipe CD56+CD16- memiliki fenotip mirip dengan sel NK CD56<sup>bright</sup>, sedangkan subtipe CD56<sup>dim/-</sup>CD16+ memiliki fenotip mirip dengan sel NK CD56<sup>dim</sup>.<sup>11</sup> Menurut Beziat *et al.*, sel NK CD56<sup>bright</sup>CD16+ merupakan *intermediate* antara sel NK CD56<sup>bright</sup> dan CD56<sup>dim</sup>. Sel NK CD56<sup>bright</sup>CD16+ memiliki kemampuan sitolitik yang mirip dengan sel CD56<sup>dim</sup>CD16+, tetapi memiliki fenotip yang lebih mirip CD56<sup>bright</sup>CD16-.<sup>37</sup> Hipotesis yang dibuat oleh Yu *et al.*, yaitu subtipe CD56+CD16- memiliki kemampuan

proliferasi yang lebih tinggi dibandingkan subtipe CD56-CD16+.<sup>11</sup> Dari penelitian ini tidak terdapat hubungan bermakna antara subtipe NKTCL dengan indeks proliferasi Ki-67. Hal tersebut mungkin disebabkan tidak terdapatnya subtipe CD56-CD16+ sebagai perbandingan.

### Ekspresi CD30

Sel NK memiliki fenotip teraktivasi yang ditandai dengan ekspresi HLA-DR, CD45RO, CD3e pada sitoplasma, CD30 dengan positività bervariasi, serta ekspresi CD69 sebagai molekul aktivasi awal pada beberapa laporan. Selain itu, fenotip teraktivasi umumnya ditemukan pada subtipe sel NK CD56<sup>+/dim</sup>CD16<sup>+</sup> pada darah perifer.<sup>10</sup> Ekspresi CD30 sebagai petanda aktivasi pada penelitian ini tidak memiliki hubungan bermakna dengan subtipe NKTCL. Perbedaan ini mungkin disebabkan pemeriksaan fenotip sel NK dilakukan pada darah perifer dengan pemeriksaan flow sitometri, sedangkan penentuan subtipe NKTCL dilakukan pada jaringan biopsi tumor dengan pemeriksaan IHK.

Pada penelitian ini terdapat 17 (53,13%) kasus NKTCL yang positif terhadap CD30. Dengan menggunakan titik potong persentasasi positività yang sama (10%), pada penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.* pada NKTCL di Cina terdapat positività CD30 sebanyak 31,2%,<sup>12</sup> sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Pongpruttipan *et al.* pada NKTCL di Thailand terdapat positività CD30 sebanyak 75%.<sup>21</sup> Pada penelitian lainnya oleh Bossard *et al.* dengan menggunakan titik potong sebesar 5%, didapatkan ekspresi CD30 sebanyak 46,4%.<sup>38</sup> Penelitian oleh Jhuang *et al.* menunjukkan positività CD30 pada 54,8% kasus dengan titik potong persentasasi positività sebesar 30%.<sup>26</sup>

Menurut penelitian yang dilakukan Au *et al.*, terdapat positività CD30 lebih banyak pada kasus NKTCL ekstranasal dibandingkan NKTCL nasal.<sup>1</sup> Pada penelitian ini hanya terdapat 3 kasus NKTCL ekstranasal, dan seluruhnya menunjukkan positività terhadap ekspresi CD30. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pongpruttipan *et al.*, ekspresi CD30 tidak memiliki hubungan bermakna dengan usia penderita NKTCL.<sup>21</sup> Pada penelitian ini, positività CD30 lebih banyak ditemukan pada usia muda (<40 tahun) dibandingkan usia tua (≥40 tahun), yaitu 58,8% dan 41,2%.

**Indeks proliferasi Ki-67**

Menurut penelitian Li *et al.*, adanya ekspresi CD30 dapat meningkatkan proliferasi sel.<sup>12</sup> Sebaliknya, penelitian yang dilakukan oleh Etinger *et al* pada kelainan limfoproliferatif sel T primer di kulit tidak menunjukkan korelasi antara ekspresi CD30 dan Ki-67. Ekspresi CD30 dan tingginya indeks proliferasi Ki-67 menunjukkan fenomena biologis yang berbeda. Ekspresi CD30 dan Ki-67 secara terpisah mempengaruhi prognosis. Ekspresi CD30 tidak merefleksikan proliferasi tumor yang cepat.<sup>39</sup> Pada penelitian ini tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi CD30 dengan indeks proliferasi Ki-67. Hal ini mungkin disebabkan ekspresi CD30 bersifat pleiotropik sehingga dapat menyebabkan respon seluler yang berbeda-beda. Ekspresi CD30 tidak hanya menyebabkan proliferasi sel dan *survival*, tetapi juga dapat menghambat pembelahan sel serta menginduksi kematian sel.<sup>40</sup>

Indeks proliferasi Ki-67 berkaitan dengan agresivitas dan progresi tumor.<sup>41,42</sup> Rata-rata indeks proliferasi Ki-67 untuk limfoma yang secara klinik indolen sebesar 26,6%, agresif sebesar 67,2%, dan meningkat hingga 97,6% pada limfoma yang secara klinik sangat agresif.<sup>43</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.*, juga mendapatkan median ekspresi Ki-67 sebesar 50% (rentang 5-95%).<sup>20</sup> Pada penelitian ini didapatkan median yang lebih tinggi, yaitu sebesar 75% (rentang 44,8-90,3%) dan termasuk kriteria limfoma yang sangat agresif.

Pada penelitian ini, terdapat 16 (50%) kasus NKTCL dengan indeks proliferasi tinggi ( $\geq 75\%$ ) dan 16 (50%) kasus NKTCL dengan indeks proliferasi rendah ( $< 75\%$ ). Nilai titik potong persentase positività yang digunakan untuk membagi indeks proliferasi Ki-67 bervariasi antara 20-80% pada berbagai penelitian.<sup>44</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Jiang *et al*, terdapat 43,4% kasus NKTCL dengan indeks proliferasi Ki-67  $\leq 60\%$  dan 56,6% kasus NKTCL dengan indeks proliferasi Ki-67  $> 60\%$ , lama ketahanan hidup 3 tahun secara berurutan 83% dan 56,9%.<sup>41</sup> Menurut laporan oleh Kim *et al*, pada 6 kasus NKTCL dengan ketahanan hidup cukup lama dan secara klinik bersifat indolen, 5 diantaranya memiliki indeks proliferasi  $< 40-50\%$ .<sup>45</sup>

**KESIMPULAN**

Subtipe NKTCL berdasarkan ekspresi CD56 dan CD16 (CD56+CD16- dan CD56+CD16+) tidak berkaitan dengan adanya ekspresi CD30 maupun tingginya indeks proliferasi Ki-67. Aktivasi antara ketiganya merupakan fenomena biologis yang terpisah dan tidak saling mempengaruhi satu dengan lainnya.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Au WY, Weisenburger DD, Intragumtornchai T, Nakamura S, Kim WS, Sng I, *et al.* Clinical differences between nasal and extranasal natural killer/T-cell lymphoma; a study of 136 cases from the international peripheral T-cell lymphoma project. *Blood.* 2009; 133: 3931-7.
2. Junshik H, Park S, Baek HL, Jung JH, Kang IG, Sym SJ, *et al.* Tumor cell nuclear diameter and CD30 expression as potential prognostic parameter in patients with extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012; 5: 939-47.
3. Cocha B, Vucinic I, Mahovne I, Arar ZV. Extranodal lymphomas of head and neck with emphasis on NK/T-cell lymphoma, nasal type. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014; 42: 149-52.
4. Tababi S, Kharrat S, Sellami M, Mamy J, Zainine R, Beltaief N, *et al.* Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type: report of 15 cases. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2012; 129: 141-7.
5. Schmitt C, Sako N, Bagot M, Huang Y, Gaulard P, Bensussan A. Extranodal NK/T-cell lymphoma: toward the identification of clinical molecular targets. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 1-11.
6. Chan JKC, Martinez LQ, Ferry JA, Peh SC. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, *et al.*, editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2008.
7. Schwartz EJ, Kirsch HM, Zhao S, Marinelli RJ, Warnke RA, Natkunam Y. Immunohistochemical characterization of nasal-type extranodal NK/T-cell lymphoma using a tissue microarray: an analysis of 84 cases. *Am J Clin Pathol.* 2008;130:343-51.



8. Ham MF, Ko YH. Natural killer cell neoplasm: biology and pathology. *Int J Hematol.* 2010; 92: 681-9.
9. Wood PB, Parikh SR, Krause JR. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Bayl Univ Med Cent.* 2011; 24: 251-4.
10. Lima M. Extranodal NK/T lymphoma and aggressive NK cell leukaemia: evidence for their origin on CD56<sup>+bright</sup>CD16<sup>c-/+dim</sup> NK cells. *Pathol.* 2015; 47: 503-14.
11. Yu JB, Zuo Z, Zhang WY, Yang QP, Zhang YC, Tang Y, *et al.* Identification of immunophenotypic subtypes with different prognoses in extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *Hum Pathol.* 2014; 45: 2255-62.
12. Li P, Jiang L, Zhang X, Liu J, Wang H. CD30 expression is a novel prognostic indicator in extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *BMC Cancer.* 2014; 14: 1-8.
13. Hutchings M. The standard of care in relapsed refractory CD30+ lymphoma. *EMJ Hema.* 2014; 1: 62-9.
14. Li T, Zhang B, Ye Y, Yin H. Immunohistochemical and genetic analysis of chinese nasal natural killer/T-cell lymphomas. *Hum Pathol.* 2006; 37: 54-60.
15. Bekkenk MW, Jansen PM, Meijer CJLM, Willemze R. CD56+ hematological neoplasms presenting in the skin: a retrospective analysis of 23 new cases and 130 cases from the literature. *Ann Oncol.* 2004; 15: 1097-108.
16. Lima M. Aggressive mature natural killer cell neoplasms: from epidemiology to diagnosis. *Orphanet J Rare Dis.* 2013; 8: 1-10.
17. Cai Q, Chen K, Young KH. Epstein-Barr virus-positive T/NK-cell lymphoproliferative disorders. *Exp Mol Med.* 2015; 47: 1-14.
18. He X, Chen Z, Fu T, Jin X, Yu T, Liang Y, *et al.* Ki-67 is a valuable prognostic predictor of lymphoma but its utility varies in lymphoma subtypes: evidence from a systematic meta-analysis. *BMC Cancer.* 2014; 14: 1-13.
19. Yasuda H, Sugimoto K, Imai H, Isobe Y, Sasaki M, Kojima Y, *et al.* Expression levels of apoptosis-related proteins and Ki-67 in nasal NK/T-cell lymphoma. *Eur J Haematol.* 2008; 82: 39-45.
20. Li S, Feng X, Li T, Zhang S, Zuo Z, Lin P, *et al.* Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type: a report of 73 cases at MD Anderson Cancer Center. *Am J Surg Pathol.* 2013; 37:14-23.
21. Pongpruttipan T, Kummalue T, Bedavanija A, Khuhapinant A, Ohshima K, Arakawa F, *et al.* Abberant antigenic expression in extranodal NK/T-cell lymphoma: a multi-parameter study from Thailand. *Diagn Pathol.* 2011; 25: 1-11.
22. Hakeem DAA, Fedele S, Carlos R, Porter S. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Oral Oncol.* 2007; 43: 4-14.
23. Hardjolukito ESR, Kurniawan AN, Kodariah R, Ham MF, Luo W, Nakatsuka SI, *et al.* Sinonasal lymphomas in Indonesia: immunophenotype and Epstein-Barr virus association. *Med J Indones.* 2004; 13: 71-6.
24. Martinez LQ, Kremer M, Keller G, Nathrath M, Dominguez AG, Meneses A, *et al.* P53 mutations in nasal natural killer/T-cell lymphoma from Mexico: association with large cell morphology and advanced disease. *Am J Pathol.* 2001; 159: 2095-105.
25. Kohrt H, Advani R. Extranodal natural killer/T-cell lymphoma: current concepts in biology and treatment. *Leuk Lymphoma.* 2009; 50 :1773-84.
26. Jhuang JY, Chang ST, Weng SF, Pan ST, Chu PY, Hsieh PP, *et al.* Extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type in Taiwan: a relatively higher frequency of T-cell lineage and poor survival for extranasal tumors. *Hum Pathol.* 2015; 46: 313-21.
27. Chan JK, Sin VC, Wong KF, Ng CS, Tsang WY, Chan CH, *et al.* Nonnasal lymphoma expressing the natural killer cell marker CD56: a clinicopathologic study of 49 cases of uncommon aggressive neoplasm. *Blood.* 1997; 89: 4501-13.
28. Kobayashi S. Natural killer cell leukemia: diagnosis, pathogenesis, and treatment. In: Faderl S, editor. *Novel aspects in acute lymphoblastic leukemia*, Shanghai: InTech; 2011.
29. Barrionuevo C, Zaharia M, Martinez MT, Taxa L, Misad O, Moscol A, *et al.* Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type: study of clinicopathologic and prognosis factors in a series of 78 cases from Peru. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2007; 15: 38-44.
30. Ko YH, Ree HJ, Kim WS, Choi WH, Moon WS, Kim SW. Clinicopathologic and geno-

- typic study of extranodal nasal-type natural killer/T-cell lymphoma and natural killer precursor lymphoma among Koreans. *Cancer*. 2000; 89: 2106-16.
31. Kuo TT, Shih LY, Tsang NM. Nasal NK/T cell lymphoma in Taiwan: a clinicopathologic study of 22 cases, with analysis of histologic subtypes, Epstein-Barr virus LMP-1 gene association, and treatment modalities. *Int J Surg Pathol*. 2004; 12: 375-87.
  32. Ng SB, Lai KW, Murugaya S, Lee KM, Loong SL, Chong FS, *et al*. Nasal-type extranodal natural killer/T-cell lymphomas: a clinicopathologic and genotypic study of 42 cases in Singapore. *Mod Pathol*. 2004; 17: 1097-107.
  33. Ohsawa M, Nakatsuka S, Kanno H, Miwa H, Kojya S, Harabuchi Y, *et al*. Immunophenotypic and genotypic characterization of nasal lymphoma with polymorphic reticulosis morphology. *Int J Cancer*. 1999; 81: 865-70.
  34. Suzuki R, Suzumiya J, Yamaguchi M, Nakamura S, Kameoka J, Kojima H, *et al*. Prognostic factors for mature natural killer (NK) cell neoplasms: aggressive NK cell leukemia and extranodal NK cell lymphoma, nasal type. *Ann Oncol*. 2010;21:1032-40.
  35. Kwong YL, Chan AC, Liang R, Chiang AK, Chim CS, Chan TK, *et al*. CD56+ NK lymphomas: clinicopathological features and prognosis. *Br J Haematol*. 1997;97:821-9.
  36. Gaal K, Sun NCJ, Hernandez AM, Arber DA. Sinonasal NK/T-cell lymphomas in the United States. *Am J Surg Pathol*. 2000; 24: 1511-7.
  37. Beziat V, Duffy D, Quoc SN, Tavernier MLG, Decocq J, Combadiere B, *et al*. CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>+</sup> NK cells: a functional intermediate stage of NK cell differentiation. *J Immunol*. 2011;186:6753-61.
  38. Bossard C, Dobay MP, Parrens M, Lamant L, Missiaglia E, Haioun C, *et al*. Immunohistochemistry as a valuable tool to assess CD30 expression in peripheral T-cell lymphomas: high correlation with mRNA levels. *Blood*. 2014;124:2983-6.
  39. Edinger JT, Clark BZ, Pucevich BE, Geskin LJ, Swerdlow SH. CD30 expression and proliferative fraction in non-transformed mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33:1860-8.
  40. Leoncini L, Ambrosio MR, Lazzi S, Rocca BJ, Tosi P. CD30 expression in lymphoid neoplasms: from diagnostic marker to target of therapy. *DCTH*. 2013; 4: 279-300.
  41. Jiang L, Li P, Wang H, Liu J, Zhang X, Qiu H, *et al*. Prognostic significance of Ki-67 antigen expression in extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *Med Oncol*. 2014;31:1-8.
  42. Huang X, Sun Q, Fu H, Zhou X, Guan X, Wang J. Both c-Myc and Ki-67 expression are predictive markers in patients with extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type: a retrospective study in China. *Pathol Res Pract*. 2014;210:351-6.
  43. Broyde A, Boycov O, Strenov Y, Okon E, Shpilberg O, Bairey O. Role and prognostic significance of the Ki-67 index in non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol*. 2009;84:338-43.
  44. Payandeh M, Sadeghi M, Sadeghi E. The Ki-67 index in non-Hodgkin's lymphoma: role and prognostic significance. *Am J Cancer Prev*. 2015;3:100-2.
  45. Kim SJ, Park Y, Kim BS, Kim I, Ko YH, Kim WS. Extranodal natural killer/T-cell lymphoma with long-term survival and repeated relapses: does it indicate the presence of indolent subtype?. *Korean J Hematol*. 2012; 47: 202-6.