

Efek Aktivasi *Programmed Death Ligand 1* (PD-L1) pada Adenokarsinoma Paru

Meike Pramono,
Meilania Saraswati,
Endah Zuraidah
*Program Pendidikan Dokter Spesialis
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia
Jakarta*

ABSTRAK

Adenokarsinoma paru adalah subtipe kanker paru yang paling sering ditemukan dan sulit terdiagnosis pada stadium dini, hal ini disebabkan karena tumor seringkali terletak di perifer sehingga tidak menghasilkan gejala klinis spesifik. Tiga puluh persen kasus adenokarsinoma paru melibatkan mutasi pada gen *kirsten rat sarcoma* (KRAS) sehingga terapi target terhadap *epidermal growth factor* (EGF) tidak memberikan respons yang baik, sehingga dibutuhkan modalitas imunoterapi lain, salah satu terapi yang menargetkan ikatan *programmed death ligand 1* (PD-L1) dengan *programmed death receptor 1* (PD-1). Mutasi KRAS akan menyebabkan aktivasi faktor transkripsi c-Jun pada regio promoter gen PDCL1. Aktivasi faktor transkripsi akan diikuti oleh proses translasi, dan modifikasi pascatranslasi dengan *N-glycosylation*. PD-L1 dengan modifikasi *N-glycosylation* memiliki struktur protein yang stabil. PD-L1 yang terdapat pada komponen stromal tumor akan berinteraksi dengan PD-1 yang terdapat pada sel imun seperti monosit, limfosit T, limfosit B, sel dendritik, dan *tumor-infiltrating lymphocytes* (TILs) dan menyebabkan disfungsi limfosit T serta peningkatan jumlah limfosit T regulator yang bersifat immunosupresif. Terdapat terapi *immune checkpoint* PD-L1 yang digunakan, antara lain pembrolizumab, durvalumab, nivolumab, dan atezolizumab.

Kata kunci: Adenokarsinoma paru, *programmed death ligand 1*, PD-L1, *programmed death receptor 1*, PD-1, *kirsten rat sarcoma*, KRAS.

PENDAHULUAN

Imunoterapi saat ini menjadi salah satu modalitas terapi kanker selain pembedahan, radiasi, dan kemoterapi. Konsep imunoterapi diperkenalkan oleh William Coley pada tahun 1891. Pada awalnya imunoterapi bertujuan untuk meningkatkan aktivitas limfosit T, melalui terapi sitokin, vaksin sel dendritik, dan *adaptive T-cell therapy*. Berbagai terapi tersebut kurang berhasil.¹

Eksresi *programmed death receptor 1* (PD-1) ditemukan pertama kali pada awal tahun 90-an. Ikatan *programmed death ligand 1* (PD-L1) dan PD-1 menyebabkan blokade respons imun yang dimediasi oleh limfosit T sehingga blokade ikatan PD-L1 dengan PD-1 dapat efektif sebagai imunoterapi terhadap kanker.¹ Tahun 2014 merupakan titik balik imunoterapi yang ditandai dengan persetujuan *Food and Drug Administration* (FDA) terhadap penggunaan anti PD-1 pada melanoma. Tahun berikutnya antibodi anti PD-1 untuk terapi kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) juga disetujui.²

Kanker paru merupakan keganasan dengan angka mortalitas yang tinggi, terutama bila terdapat metastasis.³ Menurut *Global cancer statistics* (GLOBOCAN) tahun 2018, berdasarkan insiden dan mortalitas dari 185 negara, kanker paru memiliki insiden paling tinggi sebesar 11,6% dari seluruh total kasus dan mortalitas paling tinggi sebesar 18,4% dari seluruh total kasus.⁴

Adenokarsinoma paru merupakan subtype kanker paru yang paling sering ditemukan. Adenokarsinoma paru sulit terdiagnosis pada stadium awal karena letak tumor di perifer sehingga gejala klinis tidak spesifik.⁵ Hal tersebut membuat pasien adenokarsinoma paru terdiagnosis pada stadium lanjut sehingga modalitas terapi dengan kemoterapi atau radiasi saja seringkali tidak efektif.

Pada perkembangan modalitas imunoterapi adenokarsinoma paru terdapat beberapa *driver mutations* yang dapat menjadi target terapi, antara lain mutasi pada gen *epidermal growth factor* (EGF), *anaplastic lymphoma kinase* (ALK), c-MET, dan *Kirsten rat sarcoma* (KRAS). Berbagai obat yang menargetkan EGFR seperti gefitinib dan erlotinib telah mendapat persetujuan FDA. Obat yang menargetkan ALK dan c-MET seperti crizotinib juga telah mendapat persetujuan FDA. Resistensi terhadap terapi target anti EGFR terjadi pada hampir semua pasien. Terjadi mutasi sekunder EGFR pada *Thy790Met*. Resistensi terhadap crizotinib terjadi pada 30% pasien dengan ALK positif. Pasien dengan mutasi KRAS tidak berespons dengan gefitinib dan erlotinib sehingga dibutuhkan modalitas imunoterapi lain. Salah satu modalitas tersebut yaitu terapi yang menargetkan ikatan PD-L1 dan PD-1.⁶

Nan Chen, *et al*⁷ menemukan bahwa mutasi KRAS berhubungan dengan ekspresi PD-L1 pada adenokarsinoma paru. Ekspresi KRAS berlebih menyebabkan peningkatan ekspresi PD-L1. Ikatan PD-L1 dan reseptor PD-1 pada sel imun dapat menyebabkan inaktivasi limfosit T yang berperan menghancurkan sel tumor. Akibatnya, tumor dapat terus berproliferasi. Terapi yang menargetkan ikatan PD-L1 dan PD-1 sangat penting karena dapat meningkatkan respons imun antitumor yang menghancurkan sel kanker. Pada makalah ini akan dibahas mengenai peranan PD-L1 sebagai target imunoterapi pada adenokarsinoma paru.

Sistem Imun pada Keganasan.

Sistem Imun sebagai Surveilans Kanker.

Sistem imun merupakan pertahanan terhadap agen infeksius dan molekul yang dikenali sebagai benda asing, termasuk sel tumor. Konsep surveilans imun yang ditemukan oleh Macfarlane Burnet pada tahun 1950 menyatakan bahwa terdapat respons imun terhadap sel yang bertransformasi sebelum tumbuh menjadi

sel kanker. Respons imun saja tidak cukup efektif dalam mengeliminasi seluruh sel kanker.⁸

Tumor dapat menstimulasi respons imun adaptif spesifik untuk membatasi pertumbuhan dan penyebaran sel kanker. Respons imun utama yang terlibat dalam surveilans imun yaitu limfosit T sitotoksik CD8⁺. Antigen tumor dipresentasikan oleh *antigen presenting cells* (APC). *Antigen Presenting Cells* merupakan sel yang menangkap antigen dan mempresentasikannya ke limfosit T melalui molekul *major histocompatibility complex* (MHC). Sel dendritik matur merupakan APC paling efektif mengaktifkan limfosit T. Ikatan antara sel dendritik matur dan limfosit T diperkuat oleh molekul kostimulator CD80 dan CD86 pada APC dan molekul CD28 pada limfosit T. Limfosit T akan teraktivasi menjadi limfosit T helper yang akan memberikan sinyal yang dibutuhkan untuk diferensiasi sel T CD8⁺ naif menjadi limfosit T sitotoksik CD8⁺. Limfosit T sitotoksik CD8⁺ akan bermigrasi ke sel tumor dan menghancurkan sel tumor.⁸

Molekul APC lain seperti makrofag dapat mempresentasikan antigen dan mengaktifkan limfosit T helper CD4⁺. Limfosit T helper CD4⁺ berperan dalam imunitas anti tumor dengan mensekresikan *tumor necrosis factor* (TNF) dan interferon- γ (IFN- γ). Interferon- γ meningkatkan ekspresi MHC kelas I pada sel tumor dan meningkatkan lisis sel tumor oleh limfosit T sitotoksik CD8⁺. Sel *Natural Killer* (NK) juga berperan dalam surveilans imun kanker dengan menghancurkan langsung sel kanker yang memiliki ekspresi MHC kelas I.⁸

Imunosupresi pada Kanker.

Kanker melawan respons imun tubuh melalui berbagai cara antara lain dengan merekayasa ekspresi antigen, ekspresi sel dendritik yang imatur, menyekresi sitokin TGF- β , meningkatkan jumlah limfosit T regulator, akumulasi *myeloid-derived suppressor cells* (MSDC) dan melalui molekul inhibitorik yang normalnya berperan untuk mencegah autoimunitas.⁸

Sel kanker mengurangi imunogenitas dengan merekayasa ekspresi antigen, sehingga ekspresi MHC kelas I berkurang. Ini membuat penghancuran sel kanker oleh sel NK berkurang. Selain itu presentasi antigen ke MHC kelas II berkurang sehingga respons sitotoksik pada sel kanker berkurang.⁸ Jumlah sel dendritik matur yang mempresentasikan antigen ke limfosit T berkurang pada kanker. Sel kanker

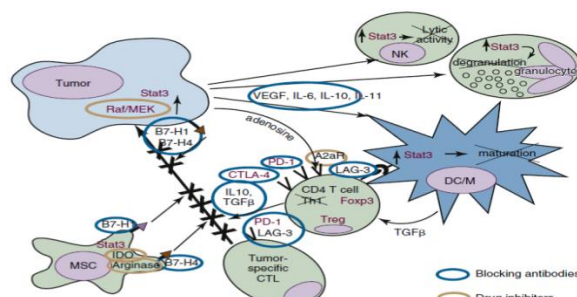
memproduksi faktor yang dapat menghambat aktivasi sel dendritik dan menginduksi toleransi terhadap tumor. Sel dendritik pada stadium matur akan menginduksi diferensiasi limfosit TH1 dan respons kuat limfosit T sitotoksik. Namun sel dendritik pada stadium imatur justru memproduksi TGF- β yang menginduksi diferensiasi limfosit T regulatorik.⁹

Sel kanker juga menyekresikan sitokin inhibitorik. Sitokin inhibitorik utama yang dihasilkan oleh tumor dan lingkungan mikro tumor adalah TGF- β . Pada kondisi normal, TGF- β menghambat proliferasi sel dan menyebabkan penghentian siklus sel pada fase G1. Akan tetapi, pada kondisi terdapat keganasan, terjadi mutasi pada jalur TGF- β yang menyebabkan pertumbuhan tak terkontrol. TGF- β juga berperan dalam angiogenesis dan invasi, melalui sintesis *matrix metalloproteinase* (MMP). Peningkatan TGF- β di serum berhubungan dengan prognosis yang buruk pada keganasan di paru, prostat, lambung dan kandung kemih.⁹ TGF- β bekerja dengan mennginduksi diferensiasi limfosit T regulator, mencegah aktivasi limfosit T, dan menurunkan fungsi efektor pada limfosit T dan sel NK.⁹

Di dalam lingkungan mikro tumor juga terdapat *immature myeloid cells* atau *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs) yang dapat menghambat *tumor-reactive T cells* dengan memproduksi *reactive oxygen species* (ROS), dan *reactive nitrogen species* (RNS). Sejumlah produk sel tumor terutama IL-6 dan IL-10 berperan dalam akumulasi MDSC. Mediator lain yang berperan dalam toleransi limfosit T terhadap tumor adalah *indolamine 2,3-dioxygenase* (IDO). IDO dapat menghambat respons limfosit T melalui katabolisme triptofan. Limfosit T teraktivasi sangat tergantung pada triptofan. Produk metabolisme IDO yaitu *kynurenine*. *Kynurenine* dapat berpengaruh pada diferensiasi limfosit T dan mempromosikan perkembangan limfosit T regulator. Limfosit T regulator dapat memproduksi sitokin inhibitorik seperti IL-10 dan TGF- β yang memediasi supresi respons anti tumor limfosit T CD8⁺.⁹

Pada keganasan sel kanker memiliki mekanisme inhibitorik yang menghambat penghancuran sel kanker oleh limfosit T. Pada kondisi normal juga terdapat aktivitas reseptor inhibitorik yang berperan pada toleransi imunologi yaitu reseptor PD-1 dan reseptor CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4*). *Cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4*

merupakan keluarga reseptor CD28 yang menghambat aktivasi limfosit. CTLA-4 mempunyai afinitas 10 sampai dengan 20 kali lebih tinggi terhadap ligan B7 daripada CD28. Ikatan CTLA-4 dengan ligan B7 mengakibatkan penurunan jumlah ligan B7 pada APC yang menyediakan kostimulasi melalui CD28.⁸ Reseptor PD-1 merupakan reseptor inhibitorik lain yang merupakan keluarga reseptor CD28. Reseptor PD-1 ditemukan pada limfosit teraktivasi, limfosit B dan sel myeloid. Reseptor PD-1 mengenali ligan PD-L1 dan PD-L2. Ligan PD-L1 terekspresi pada APC, sel tubuh dan sel tumor. Ligan PD-L2 diekspresikan terutama pada APC. Ikatan PD-1 dan ligan PD-L1 menyebabkan rekrutmen enzim fosfatase yang menyebabkan inaktivasi limfosit T. Pada keganasan terdapat ekspresi PD-L1 yang meningkat pada sel tumor, dan peningkatan reseptor PD-1 dan CTLA-4 pada lingkungan mikro tumor. Ikatan PD-L1 dan PD-1 menghambat penghancuran sel kanker oleh limfosit T.^{8,10} Mekanisme penghambatan respons imun oleh sel kanker diilustrasikan pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Lingkungan mikro tumor mengekspresikan beragam molekul yang menghambat respons imun. Inhibisi imun pada lingkungan mikro tumor dimediasi oleh ligan yang mengikat reseptor inhibitor pada sel T helper dan sel T sitotoksik.⁹

Programmed Death Ligand 1 sebagai Immune Checkpoint

Programmed death receptor 1 (PD-1) disandi oleh gen PDCD1 pada kromosom 2q37.3. *Programmed death receptor 1* diekspresikan pada limfosit T teraktivasi, limfosit B, makrofag dan sel dendritik. Pada infeksi akut terjadi stimulasi pada *T cell receptor* (TCR) yang menyebabkan ikatan *nuclear factor of activated T cell 1* (NFATc1) dengan regio CR-C gen PDCD1. *Nuclear factor of activated T cell 1* dibutuhkan untuk induksi PD-1. Akan tetapi ekspresi NFATc1 tidak bertahan lama dan segera mengalami penurunan segera setelah

induksi. Hal ini merupakan mekanisme umpan balik yang menghambat ekspresi PD-1 pada infeksi akut. Dengan menurunnya ekspresi PD-1 maka respons imun tubuh dapat bekerja mengeliminasi antigen. *Programmed death receptor 1* memiliki efek toleransi imun. Ekspresi PD-1 meningkat pada inflamasi kronis dan keganasan. Pada model karsinoma paru yang berasal dari Lewis cell line, ditemukan over-ekspresi subunit *activator protein-1* (AP-1). *Activator protein-1* berikatan dengan regio CR-B pada gen *PDCD1* dan menyebabkan ekspresi PD-1 pada limfosit T.^{11,12}

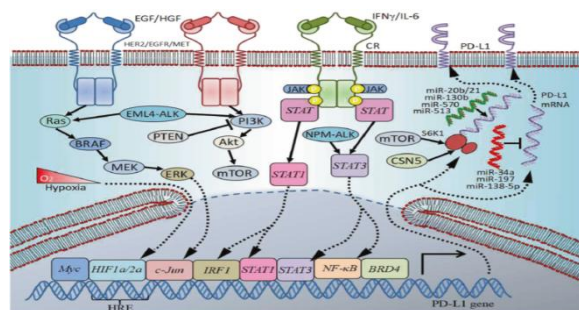
Programmed death ligand 1 atau yang dikenal dengan B7-H1 atau CD274, adalah ligan fungsional dari reseptor PD-1. *Programmed death ligand 1* disandi oleh gen *PDCD1* yang ditemukan pada kromosom 9p.24.1.¹³ Ligan PD-L1 terekspresi pada APC, sel tubuh dan beberapa sel tumor seperti KPKBSK, keganasan di payudara, KSS kepala dan leher, serviks, pankreas, lambung, esofagus, ginjal, sel hati, ovarium, kandung kemih, melanoma, leukemia, multipel mieloma, dan glioma.^{10,14}

Ekspresi PD-L1 diatur melalui berbagai jalur sinyal onkogenesis. Terdapat beberapa jalur sinyal onkogenesis yaitu jalur RAS/RAF/MEK/MAPK-ERK, jalur PI3K/PTEN/Akt/mTOR, dan jalur STAT1/STAT3. Regulasi ekspresi PD-L1 bervariasi pada berbagai tipe tumor. Pada glioma, aktivasi jalur onkogenesis PI3K atau mutasi *loss of function* dari *phosphatase and tensin homolog* (PTEN), menyebabkan peningkatan ekspresi PD-L1. Pada limfoma sel besar sub tipe anaplastik, STAT 3 yang diaktifkan oleh JAK3, berikatan dengan regio promotor gen PD-L1 dan meningkatkan ekspresi PD-L1. Pada adenokarsinoma paru terdapat mutasi KRAS yang menyebabkan aktivasi faktor transkripsi c-Jun pada regio promotor gen *PDCD1*. Aktivasi faktor transkripsi akan diikuti oleh proses translasi, dan modifikasi pascatranslasi dengan *N-glycosylation*. PD-L1 dengan modifikasi *N-glycosylation* memiliki struktur protein yang stabil.¹⁵

Saat ligan PD-L1 berikatan dengan PD-1, selain terjadi disfungsi limfosit T, juga terjadi pelepasan interferon- γ yang meningkatkan interaksi PD-L1 dan PD-1. TAMs dari lingkungan mikro tumor juga dapat menghasilkan sitokin pro inflamatorik seperti IFN- γ dan IL-6 yang meningkatkan interaksi PD-L1 dan PD-1. Interferon- γ dan IL-6 melalui jalur onkogenesis STAT1/STAT3, akan menyebabkan aktivasi

faktor transkripsi NF- κ B, terjadi pengurangan ubikuitinasi dan degradasi PD-L1 sehingga ekspresi PD-L1 meningkat.^{15,16}

Micro RNA (miRNA) berperan dalam regulasi ekspresi PD-L1 melalui regulasi pascatranskripsi. Tidak semua mRNA PD-L1 menjadi protein PD-L1. *MicroRNA* berikatan pada 3'-UTR dari mRNA dan menyebabkan degradasi mRNA. *MicroRNA* tertentu dapat bekerja pada jalur upstream dari PD-L1 dan mempengaruhi ekspresi protein PD-L1. Pada KPKBSK, miR-197 mempengaruhi jalur STAT 3 yang merupakan jalur upstream dari PD-L1, sehingga mengakibatkan penurunan ekspresi PD-L1. Pada kanker kolorektal, ekspresi miR 138-5p berhubungan dengan penurunan ekspresi PD-L1. Mutasi pada 3'-UTR dari mRNA PD-L1 menyebabkan miRNA tidak dapat berikatan dengan mRNA PD-L1 sehingga ekspresi PD-L1 meningkat. Pada kanker lambung, mutasi mRNA PD-L1 menyebabkan miR-570 tidak dapat berikatan dengan mRNA PD-L1, sehingga terjadi peningkatan ekspresi PD-L1. Pada kanker kolorektal, miR-20b, miR-21 dan miR-130b, menyebabkan degradasi PTEN sehingga terjadi peningkatan ekspresi PD-L1.¹⁵ Regulasi ekspresi PD-L1 tersebut diilustrasikan pada Gambar 2 berikut.

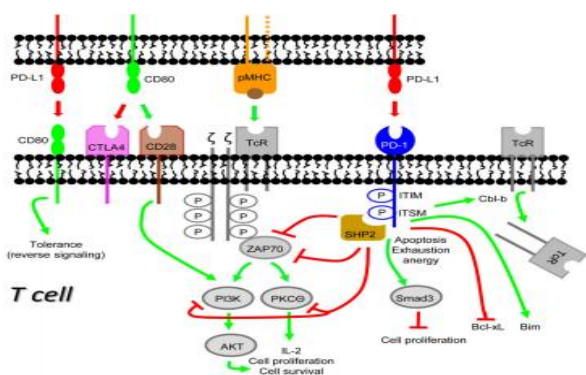


Gambar 2. Kontrol transkripsi dan post transkripsi PD-L1 pada keganasan.¹⁵

Programmed death ligand 1 dan PD-1 merupakan satu sistem ligan-reseptor yang berikatan satu sama lain dalam lingkungan mikro tumor. PD-L1 yang terdapat pada komponen stromal tumor, seperti fibroblas, *extracellular matrix* (ECM), *tumor associated macrophages* (TAM), dan *myeloid derived suppressor cells* (MDSC), akan berinteraksi dengan PD-1 yang terdapat pada sel imun seperti monosit, limfosit T, limfosit B, sel dendritik, dan *tumor-infiltrating lymphocytes* (TILs) dan menyebabkan disfungsi limfosit T

serta peningkatan jumlah limfosit T regulator yang bersifat immunosupresif.¹⁶

Ikatan PD-L1 dan PD-1 menyebabkan penurunan jumlah dan aktivitas anti tumor limfosit T melalui beberapa mekanisme. Saat ligand PD-L1 berikatan dengan reseptor PD-1 terjadi fosforilasi SHP yang menghambat aktivasi ZAP70. Blokade ZAP70 menghambat jalur PI3K dan menghambat terjadinya fosforilasi PKC θ pada limfosit T. Jalur PI3K berperan dalam proliferasi limfosit T. Fosforilasi PKC θ berperan dalam aktivasi limfosit T. Ikatan PD-L1 dan PD-1 juga mengaktifkan Smad3 dan faktor proapoptotik Bim. Aktivasi Smad3 menyebabkan terhentinya siklus sel limfosit T pada fase G1. Faktor proapoptotik Bim berpengaruh pada kesintasan limfosit T. Ikatan PD-L1 dan PD-1 menyebabkan progresivitas tumor dengan melindungi tumor dari respons imun tubuh.^{14,16,17} Hal ini diilustrasikan pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Blokade limfosit T sitotoksik oleh ikatan PD-L1 dan PD-1.¹⁴

Adenokarsinoma Paru

Adenokarsinoma paru merupakan tipe kanker paru tersering, meliputi lebih kurang 40% dari kasus keganasan di paru.⁶ Adenokarsinoma paru merupakan tipe tumor ganas epitelial dengan diferensiasi glandular dan produksi musin yang memperlihatkan berbagai pola pertumbuhan. Kasus ini banyak ditemukan pada perokok. Pola makroskopik tersering pada adenokarsinoma paru adalah pola perifer. Terdapat area fibrosis putih keabuan dengan *pleural puckering* yang dapat disertai nekrosis, kavitasi dan perdarahan. Pada pencitraan dengan *CT Scan*, adenokarsinoma paru banyak ditemukan sebagai nodul di perifer dengan diameter kurang dari 4 cm. Nodul dapat solid, *ground glass (non solid)*, atau tipe campuran.

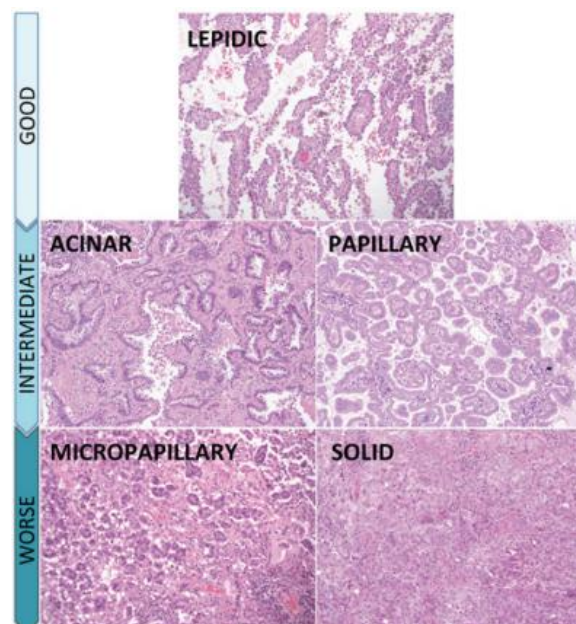
Keterlibatan pleura dan dinding dada banyak ditemukan, meliputi lebih kurang 15% kasus.¹⁸

Pada stadium dini, kanker paru umumnya tidak menimbulkan gejala. Parenkim paru tidak memiliki banyak persyarafan sehingga kanker paru primer dapat tumbuh tanpa menimbulkan gejala. Kurang dari 5 persen kanker paru yang terdiagnosis tanpa gejala klinis. Batuk, batuk darah, sesak nafas merupakan gejala klinis nonspesifik pada tumor. Efusi pleura terjadi pada sekitar 20% pasien kanker paru. Pada stadium dini dapat terjadi negatif palsu pada hasil sitologi cairan pleura. Invasi tumor ke pleura, dinding dada, dan mediastinum menimbulkan gejala nyeri dada tidak spesifik. Pasien dapat merasa sangat nyeri bila terdapat metastasis tumor ke pleura.¹⁹

Pendekatan Morfologi Adenokarsinoma Paru

Terdapat beberapa sub tipe adenokarsinoma paru yang sering dijumpai, yaitu sub tipe lepidik, sub tipe asinar, sub tipe papiler, sub tipe mikropapiler, dan sub tipe solid.

Kelima sub tipe adenokarsinoma ini berhubungan dengan prognosis. Sub tipe lepidik memiliki prognosis yang baik, sedangkan sub tipe mikropapiler dan solid memiliki prognosis yang buruk.¹⁸ Hubungan antara sub tipe histopatologi dan prognosis diperlihatkan dalam Gambar 4 berikut ini.

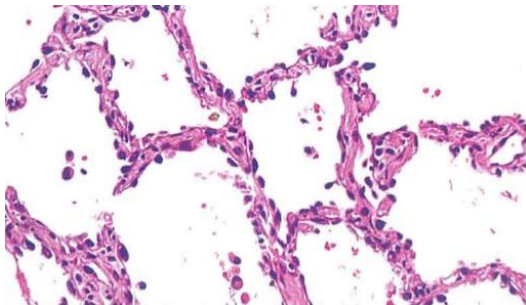


Gambar 4. Sub tipe adenokarsinoma paru dengan prognosis yang berbeda.²⁰

Hiperplasia adenomatosa atipikal dan adenokarsinoma *in situ* merupakan lesi pre-invasif pada adenokarsinoma. Terdapat pula beberapa varian pada adenokarsinoma seperti adenokarsinoma invasif bermusin, adenokarsinoma sub tipe koloid, adenokarsinoma sub tipe fetal, dan adenokarsinoma invasif minimal.¹⁸

Lesi pre-invasif: Hiperplasia adenomatosa atipikal (8250/0)

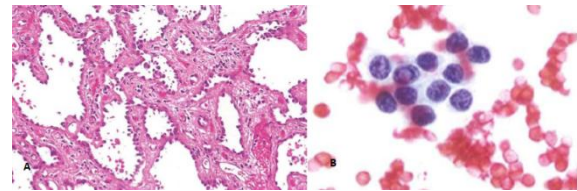
Hiperplasia adenomatosa atipikal sering tidak terdeteksi dengan pemeriksaan radiologi. Lesi ini ditemukan secara insidental pada spesimen operasi. Hiperplasia adenomatosa atipikal berhubungan dengan mutasi BRAF dan KRAS. Tumor berukuran kecil, umumnya kurang dari 0,5 cm, tumbuh di perifer paru, dekat dengan pleura. Tumor merupakan proliferasi lokal sel Clara, berasal dari sentriasinar, sepanjang dinding alveoli. Sel tumor berbentuk kuboid hingga kolumner, inti sel atipikal ringan sampai dengan sedang, terkadang dapat ditemukan inti ganda, sitoplasma eosinofilik. Mitosis jarang ditemukan.^{18,21}



Gambar 5. Hiperplasia adenomatosa atipikal¹⁸

Lesi pre-invasif: Adenokarsinoma *in situ* (8140/2)

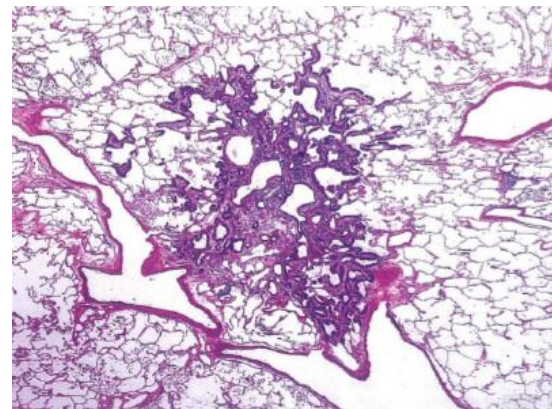
Adenokarsinoma *in situ* ditemukan secara insidental pada pemeriksaan CT Scan, berupa *ground glass nodule*. Tumor berupa nodul dengan batas tidak tegas, berukuran kurang dari 3 cm, tumbuh di perifer paru, dekat pleura. Sel tumor umumnya tidak mengandung musin, berasal dari sel Clara, pola pertumbuhan lepidik, tidak terdapat invasi ke pleura, pembuluh darah dan jaringan ikat. Terdapat pelebaran septum alveolar dengan sclerosis atau elastosis. Atipia inti jarang ditemukan, Pada sediaan sitologi ditemukan sel dengan inti uniform, kromatin halus, anak inti *pin point*, dan terdapat *nuclear grooves* atau *nuclear pseudo inclusion*.¹⁸



Gambar 6. Adenokarsinoma *in situ* tidak bermusin. A. Pewarnaan H&E. B. Pewarnaan Papanicolaou.¹⁸

Adenokarsinoma Invasif Minimal

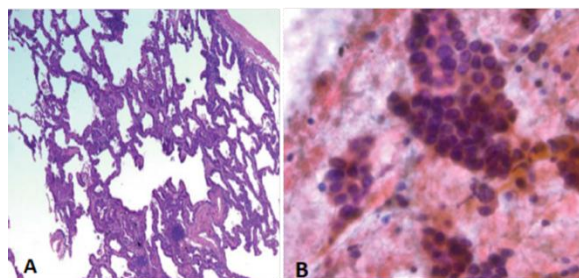
Adenokarsinoma invasif minimal merupakan tumor soliter berukuran kurang dari 5 cm, dengan pola pertumbuhan lepidik. Tumor umumnya tidak mengandung musin. Tumor memiliki komponen invasif berukuran kurang dari 0,5 cm dengan berbagai sub tipe histologi seperti asinar, papiler, mikropapiler, solid, koloid, fetal atau adenokarsinoma bermusin invasif. Sel tumor menginfiltrasi stroma myofibroblastik. Tumor tidak menginvasi pembuluh darah, limfatik, atau pleura. Tumor memberikan pewarnaan positif pada marker *pneumocyte* termasuk TTF1 dan napsin. Tumor sulit untuk dibedakan dengan lesi preinvasif pada sediaan sitologi.¹⁸



Gambar 7. Adenokarsinoma sub tipe minimal invasif.¹⁸

Adenokarsinoma Sub tipe Lepidik (8250/3)

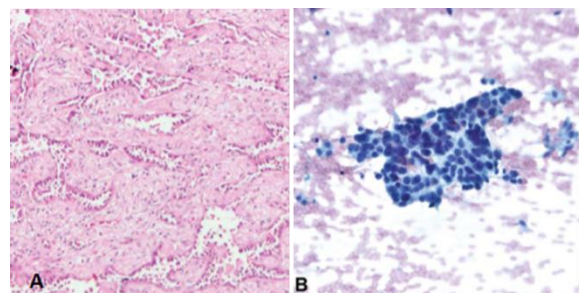
Adenokarsinoma sub tipe lepidik merupakan adenokarsinoma non musin, yang berasal dari sel Clara, dengan pola pertumbuhan lepidik yaitu tumbuh pada permukaan dinding alveoli, dan mengandung fokus invasif dengan diameter lebih dari 0,5 cm. Pada sediaan sitologi didapat gambaran *back-to-back collapsed strip*, pleomorfisme dan nekrosis tidak ditemukan, ditemukan inklusi intranuklear, dan *grooves*. Pada adenokarsinoma lepidik sering dijumpai mutasi pada *epidermal growth factor* (EGF).^{18,20,22}



Gambar 8. Adenokarsinoma sub tipe lepidik. A. Pewarnaan H&E, x400. B. Pewarnaan Papanicolaou, x400.²⁰

Adenokarsinoma Sub tipe Asinar (8551/3)

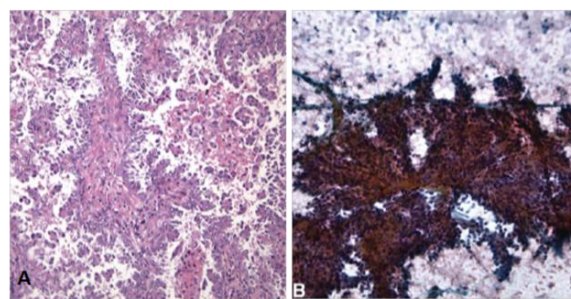
Adenokarsinoma sub tipe asinar menunjukkan tumor dengan komponen mayoritas berasal dari kelenjar, mengandung musin, berbentuk bulat sampai dengan oval, dengan sel tumor mengelilingi suatu ruang kosong di dalamnya. Pada sediaan sitologi didapat gambaran struktur kelenjar dengan lumen sentral, pleomorfisme sedang dan latar belakang jernih. Struktur asinar yang terpotong dapat menyerupai gambaran pada sub tipe lepidik.^{18,20,22} Pada adenokarsinoma sub tipe asinar ditemukan mutasi pada EGF dan *anaplastic lymphoma kinase* (ALK).²³



Gambar 9. Adenokarsinoma Sub tipe Asinar. A. Pewarnaan H&E, x400. B. Pewarnaan Papanicolaou, x400.²⁰

Adenokarsinoma Sub tipe Papiler (8260/3)

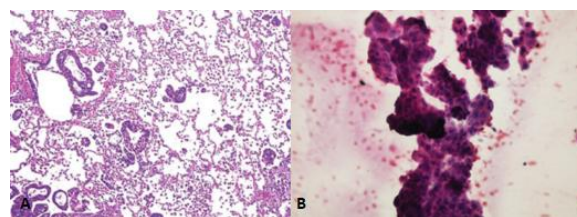
Adenokarsinoma sub tipe papiler terdiri atas sel tumor dengan struktur papiler sepanjang *fibrovascular core*. Sel tumor dapat berbentuk kuboid atau kolumnar dengan berbagai derajat diferensiasi. Terdapat polarisasi inti. Pada sediaan sitologi didapatkan gambaran *finger like cluster* dengan *fibrovascular core*, *grooves* dan inklusi intranuklear. *Grooves* dan inklusi intranuklear juga dapat ditemukan pada sub tipe lepidik.^{18,20,22} Pada adenokarsinoma sub tipe papilar ditemukan mutasi pada EGF.²³



Gambar 10. Adenokarsinoma Sub tipe Papiler. A. Pewarnaan H&E, x400. B. Pewarnaan Papanicolaou, x400.²⁰

Adenokarsinoma Sub tipe Mikropapiler (8265/3)

Adenokarsinoma sub tipe mikropapiler terbentuk atas sel tumor dengan struktur mikropapiler dan *fibrovascular core* yang minimal, sel tumor berukuran kecil, berbentuk kuboid, dengan berbagai derajat atipikal. Pada sediaan sitologi didapatkan gambaran mikropapiler tanpa *fibrovascular core*. Sub tipe ini jarang ditemukan dalam sediaan sitologi karena dapat menjadi bagian dari sub tipe lepidik, asinar atau papiler.^{18,24}

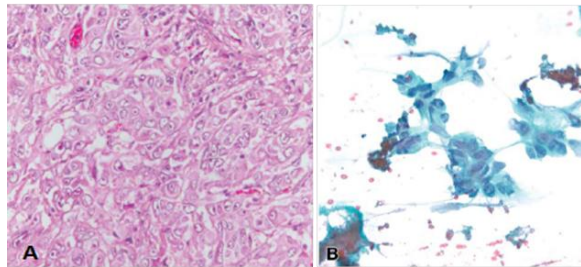


Gambar 11. Adenokarsinoma sub tipe mikropapiler. A. Histopatologi, pewarnaan H&E. B. Sitologi, pewarnaan H&E.^{18,24}

Adenokarsinoma Sub tipe Solid (8230/3)

Adenokarsinoma sub tipe solid tersusun atas sel tumor berbentuk poligonal membentuk lembaran yang tidak dikenali sebagai pola adenokarsinoma sub tipe lain dan ditemukan musin intra-seluler pada minimal 5 sel pada lapangan pandang kecil. Sitoplasma sel tumor dapat jernih, eosinofilik, atau basofilik, dengan inti sangat pleomorfik. Pada sediaan sitologi didapatkan gambaran klaster sel 3 dimensi dengan sel yang kohesif, sangat pleomorfik, tanpa adanya lumen atau struktur papilar. Pada latar belakang ditemukan nekrosis atau inflamasi. Perlu dibedakan dengan sel tumor jenis neuro-endokrin atau tumor skuamosa. Adenokarsinoma sub tipe solid mengandung musin yang positif dengan pewarnaan *Mucicarmine*.^{18,20,22} Pada

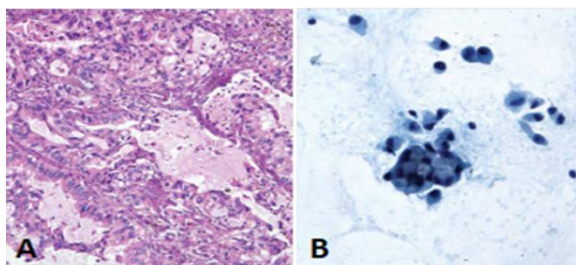
adenokarsinoma paru subtype solid ditemukan mutasi KRAS dan memiliki prognosis yang buruk.^{22,23}



Gambar 12. Adenokarsinoma Subtipe Papilar. A. Pewarnaan H&E, x400. B. Pewarnaan Papanicolaou, x400.²⁰

Adenokarsinoma Subtipe Invasif Bermusin (8253/3)

Adenokarsinoma subtype invasif bermusin pada terdiri atas sel tumor berupa sel kolumnar dengan sel goblet dengan musin intrasitoplasma berlimpah dan inti kecil di basal. Pada sediaan sitologi didapat gambaran *drunken honeycomb* berupa sel kolumnar dengan inti eksentrik dan musin ekstraseluler. Pada adenokarsinoma subtype invasif bermusin terdapat mutasi KRAS.^{18,20}

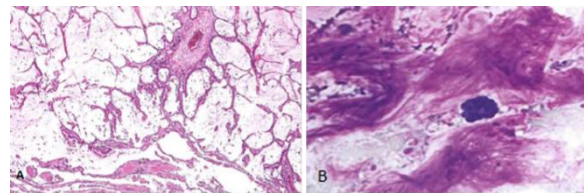


Gambar 13. Adenokarsinoma subtype invasif bermusin. A. Pewarnaan H&E, x400. B. Pewarnaan Papanicolaou, x400.²⁰

Adenokarsinoma Subtipe Koloid (8480/3)

Adenokarsinoma subtype koloid merupakan tumor paru primer yang jarang ditemukan. Sel tumor terdiri atas sel kolumnar tinggi dengan

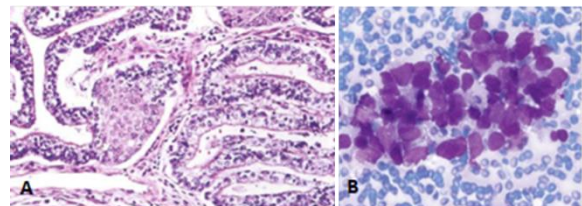
gambaran menyerupai goblet, tumbuh dengan pola lepidik. Sel tumor berada dalam material mukoid. Pada sediaan sitologi didapatkan gambaran sel tumor tunggal atau dalam klaster kecil berada pada musin ekstraseluler yang berlimpah. Pada adenokarsinoma subtype koloid dapat terjadi mutasi KRAS.^{18,22}



Gambar 14. Adenokarsinoma Subtipe Koloid. A. Sediaan Histopatologi B. Sediaan sitologi, x400.¹⁸

Adenokarsinoma Subtipe Fetal (8333/3)

Adenokarsinoma subtype fetal sangat jarang ditemukan. Tumor umumnya soliter, berbatas tegas dan berlokasi di perifer. Adenokarsinoma subtype fetal terdiri atas struktur glandular yang kaya glikogen, dengan formasi morula, tidak bersilia, menyerupai epitel pada paru embrio. Sel memiliki sitoplasma jernih, inti vesicular dengan vakuola subnuclear. Adenokarsinoma subtype fetal terwarna positif dengan TTF1. Pada sediaan sitologi dengan pewarnaan Giemsa Romanowsky didapatkan vakuola subnuklear yang kaya glikogen. Sel dengan bentuk dan ukuran serupa, tersusun dengan pola asinar, terdapat inti di perifer, kromatin halus, anak inti tidak tampak jelas, dan sitoplasma di sentral.^{18,25}



Gambar 15. Adenokarsinoma Subtipe Fetal. A. Pewarnaan H&E. B. Pewarnaan Giemsa Romanowsky.^{18,25}

Berbagai sub tipe adenokarsinoma diperlihatkan dalam Tabel berikut.

Tabel Sub tipe Adenokarsinoma Paru^{18,20,22}

Sub tipe	Histopatologi	Sitologi
Hiperplasia adenomatosa atipikal	- Ukuran tumor kecil, < 0,5 cm. - Tumbuh di perifer paru. - Proliferasi lokal sel Clara. - Sel tumor kuboid sampai kolumnar. - Inti sel atipikal ringan sampai sedang. - Sitoplasma eosinofilik. - Mitosis jarang ditemukan.	
Adenokarsinoma <i>in situ</i>	- Nodul berukuran < 3 cm. - Tumbuh di perifer paru. - Umumnya tidak mengandung musin. - Pola pertumbuhan lepidik. - Tidak terdapat invasi ke pembuluh darah, limfe, dan jaringan ikat. - Terdapat pelebaran septum alveolar dengan sclerosis atau elastosis. - Atipia inti jarang ditemukan.	- Sel dengan inti uniform, kromatin halus, anak <i>inti pin point</i>. - <i>Nuclear grooves</i> (+). - <i>Nuclear pseudoinclusion</i> (+).
Invasif minimal	- Tumor soliter. - Ukuran kurang dari 5 cm. - Pertumbuhan Lepidik. - Fokus invasif <0,5 cm, Pola: asinar, papilar, mikropapilar, solid, koloid, fetal, adenokarsinoma bermusin invasif. - Sel tumor menginfiltrasi stroma miofibroblastik. - Tumor tidak menginvasi pembuluh darah dan limfatik.	- Sulit untuk dibedakan dengan adenokarsinoma preinvasif.
Lepidik	- Pola pertumbuhan lepidik, sepanjang alveolar - Musin (-) - Fokus invasif >0,5 cm - Prognosis baik - Mutasi EGF	- Susunan <i>back to back collapsed strip</i>. - Pleomorfisme (-) - Nekrosis (-) - Inklusi intranuklear (+) - <i>Grooves</i> (+).
Asinar	- Pola pertumbuhan asinar - Musin (+) - Sel tumor: kelenjar, mengelilingi lumen kosong. - Polarisasi inti di perifer - Mutasi EGF, ALK	- Gambaran struktur kelenjar dengan lumen sentral. - Inti di perifer. - Pleomorfisme sedang. - Latar belakang jernih.
Papiler	- Pola pertumbuhan papiler - <i>Fibrovaskuler core</i> (+). - Polarisasi inti. - Mutasi EGF.	- <i>Finger like cluster</i>. - <i>Fibrovaskuler core</i> (+). - Inklusi intranuklear (+). - <i>Grooves</i> (+).
Mikropapiler	- Pola pertumbuhan mikropapiler. - <i>Fibrovaskuler core</i> jarang. - Prognosis buruk	- Gambaran struktur mikropapilar. - Sulit ditemukan, dapat menjadi bagian dari sub tipe asinar, lepidik atau papilar. - Inti fibrovaskuler (-).
Sub tipe	Histopatologi	Sitologi
Solid	- Sel tumor poligonal. - Musin (+) intraseluler, minimal 5 sel tumor. - Sangat pleomorfik. - Prognosis buruk. - Mutasi KRAS	- Klaster besar 3 dimensi. - Sangat pleomorfik - Latar nekrosis, inflamasi. - Sel kohesif. - Struktur papilar (-), Lumen (-)
Invasif Bermusin	- Sel tumor berupa sel kolumnar dengan sel goblet. - Musin berlimpah. - Inti kecil di basal. - Mutasi KRAS	- <i>Drunken honeycomb</i>. - Sel tumor kolumnar - Musin ekstraseluler.
Koloid	- Sel tumor kolumnar tinggi. - Pola lepidik. - Material mukoid. - Mutasi KRAS	- Sel tumor tunggal atau klaster kecil. - Musin ekstraseluler berlimpah.
Fetal	- Struktur glandular kaya glikogen. - Tidak bersilia	- Pewarnaan Romanowsky: vakuola subnuklear kaya glikogen.

Mutasi pada Adenokarsinoma Paru

Penelitian saat ini menunjukkan pembagian subdivisi adenokarsinoma paru berdasarkan *driver mutations*. Mutasi tersebut merepresentasikan perubahan molekular untuk inisiasi dan pertumbuhan tumor. Sel tumor bergantung pada aktivitas abnormal gen mutan spesifik. Inaktivasi gen mutan tersebut diharapkan mampu menginduksi terhentinya pertumbuhan tumor dan kematian sel tumor. Hal ini dikenal sebagai konsep *oncogene addiction*.⁶

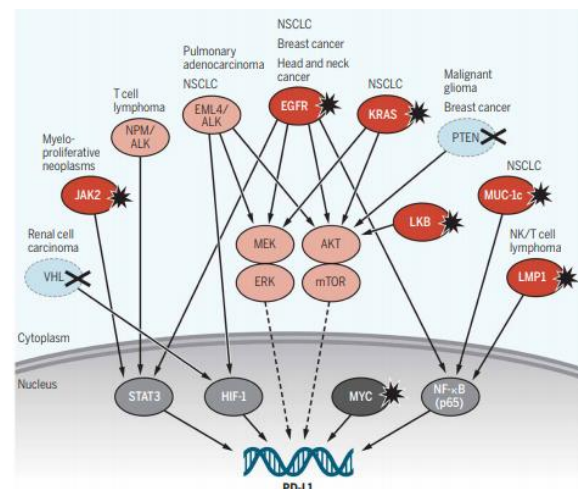
Mutasi pertama yang dikenal pada adenokarsinoma paru adalah mutasi pada EGFR yang sebagian besar merepresentasikan delesi pada ekson 19 dan sensitif terhadap terapi blokade EGFR. Mutasi EGFR di dekat ATP cleft pada tirosin kinase menyebabkan peningkatan aktivasi reseptor dan meningkatkan pensinyalan jalur *downstream* dari EGFR, antara lain: *rat sarcoma* (RAS), *rapidly accelerated fibrosarcoma* (RAF), dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) atau *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) dan *protein kinase B* (AKT), atau *Janus kinase* (JAK) dan *signal transducers and activators of transcription* (STAT).⁶

Mutasi lain pada adenokarsinoma paru dapat berupa mutasi onkogen ALK, yaitu terjadi fusi ALK dengan *echinoderm microtubule-associated protein-like 4* (EML-4). Fusi ini menyebabkan aktivasi dan overekspresi tirosin kinase. Fusi EML4-ALK terjadi pada 3-13% adenokarsinoma paru. Pasien dengan mutasi pada ALK dapat diterapi dengan inhibitor ALK seperti crizotinib, ceritinib, dan lorlatinib.⁶

Mutasi lain yang mungkin adalah mutasi pada c-MET yang termasuk dalam reseptor tirosin kinase. Ikatan c-MET dengan ligannya *hepatocyte growth factor* (HGF), menyebabkan aktivasi tirosin kinase dan menyebabkan proliferasi, migrasi dan invasi sel tumor. Terdapat terapi yang dapat menghambat MET di antaranya crizotinib, dan antibodi monoklonal terhadap ligan MET (onartuzumab), dan ligan HGF (rilotumumab dan ficlatuzumab).⁶

Mutasi yang terbanyak pada adenokarsinoma paru, sekitar 30%, yaitu mutasi pada *Kirsten rat sarcoma* (KRAS), yaitu sebesar 30%. Mutasi KRAS ini jarang ditemukan pada kanker paru lainnya.⁶ Studi dari Yu-Jie Dong *et al* menunjukkan bahwa mutasi KRAS banyak ditemukan pada subtype solid yang memiliki prognosis lebih buruk. Sedangkan mutasi EGFR banyak ditemukan pada adenokarsinoma subtype asinar dan papilari, dengan prognosis

lebih baik.²³ Sebagian besar mutasi KRAS pada adenokarsinoma paru menyebabkan substitusi asam amino di kodon 12 dan 13, menyebabkan abnormalitas aktivitas GTPase dan menghasilkan aktivasi pensinyalan RAS yang abnormal. Terapi pasien mutasi KRAS positif dengan kombinasi kemoterapi dan anti EGFR tidak mendapatkan hasil yang baik. Dilakukan berbagai penelitian untuk terapi target pada adenokarsinoma paru, salah satunya melalui imunoterapi.⁶ Nan Chen, *et al*⁷ menemukan bahwa ekspresi PD-L1 pada adenokarsinoma paru berhubungan dengan mutasi KRAS. Over ekspresi KRAS menyebabkan peningkatan ekspresi PD-L1. Sedangkan *knockdown* KRAS menyebabkan penurunan ekspresi PD-L1. Imunoterapi yang menargetkan blokade pada PD-L1/PD-1 menyebabkan kematian sel tumor dengan mutasi KRAS seperti pada adenokarsinoma sehingga merupakan terapi target yang menjanjikan.¹⁵ Berbagai *driver mutations* yang mempengaruhi ekspresi PD-L1 digambarkan pada gambar 16 berikut.



Gambar 16. *Driver mutations* mempengaruhi ekspresi PD-L1.²⁶

Metode dan Interpretasi Pemeriksaan PD-L1

Ikatan PD-L1 dan PD-1 dapat menyebabkan penurunan respon imun anti kanker. Modalitas terapi yang mentargetkan PD-L1 berkembang pesat. Sebelum memberikan terapi yang mentargetkan PD-L1 perlu dilakukan pemeriksaan terhadap ekspresi PD-L1. Ekspresi PD-L1 dapat dinilai melalui pemeriksaan imunohistokimia yang berdasarkan reaksi antigen dan antibodi. Terdapat berbagai protokol dan cara interpretasi ekspresi PD-L1, diantaranya dengan

menggunakan antibodi 22C3, 28-8, SP142, SP263 dan 73-10. Antibodi 73-10 merupakan antibodi monoklonal yang telah dioptimasi. Pemeriksaan dengan antibodi 73-10 ini masih dalam pengembangan.^{27,28}

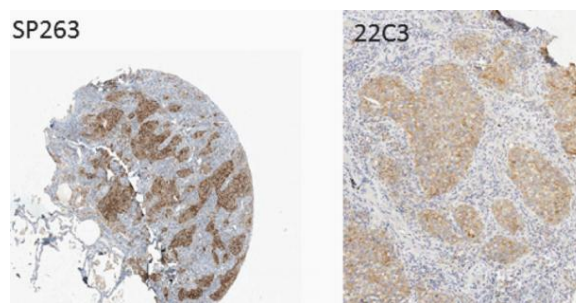
Antibodi 22C3 digunakan sebagai diagnostik dalam penelitian obat pembrolizumab pada KPKBSK. Hasil dinyatakan sebagai persentase tumor dengan pewarnaan di membran sel positif PD-L1 dibanding seluruh sel tumor. Hasil positif bila $\geq 1\%$. Dilakukan monoterapi dengan pembrolizumab bila hasil $\geq 50\%$. Dibutuhkan minimal 100 sel tumor pada pemeriksaan ini.^{27,28}

Antibodi 28-8 digunakan sebagai diagnostik untuk terapi lini 2 pada KPKBSK dengan Nivolumab. Hasil dinyatakan sebagai persentase tumor dengan pewarnaan di membrane sel positif PD-L1 dibanding seluruh sel tumor. Hasil positif bila $\geq 1\%$. Dibutuhkan minimal 100 sel tumor pada pemeriksaan ini.^{27,28}

Antibodi SP142 digunakan sebagai diagnostik untuk terapi atezolizumab pada KPKBSK dengan metastasis. Dibutuhkan minimal 50 sel tumor untuk pemeriksaan ini. Hasil dinyatakan dalam TC yang merupakan persentase sel tumor dengan pewarnaan membran yang positif PD-L1 dan IC yang merupakan persentase sel imun terkait tumor dengan pewarnaan membran yang positif PD-L1. Pemberian atezolizumab pada KPKBSK dengan metastasis dapat meningkatkan *overall survival* bila hasil pemeriksaan dengan antibodi SP-142 memberikan hasil TC $\geq 50\%$ dan IC $\geq 10\%$.^{27,28}

Antibodi SP263 digunakan sebagai diagnostik pada terapi durvalumab. Dibutuhkan minimal 100 sel tumor untuk pemeriksaan ini. Hasil dinyatakan positif bila persentase pewarnaan membran sel tumor yang positif PD-L1 dibanding seluruh sel tumor $\geq 25\%$.

Elena, *et al*²⁹ membandingkan pemeriksaan imunohistokimia pada PD-L1 dengan menggunakan antibodi Agilent 22C3 PharmDx[®] on Dako Autostainer, dan Roche's Ventana SP263 on BenchMark. Jaringan berasal dari pasien dengan diagnosis adenokarsinoma paru dan karsinoma sel skuamosa paru. Ditemukan bahwa intensitas pewarnaan dengan SP263 lebih kontras namun diferensiasi morfologik kurang. Sedang 22C3 memberikan warna akhir yang lebih muda, namun lebih baik dalam membedakan tipe sel.²⁹



Gambar 17. Perbedaan intensitas PD-L1 pada penggunaan antibodi SP263 dan 22C3.²⁹

Modalitas Terapi Terhadap PD-L1

Terdapat beberapa terapi *immune checkpoint* PD-L1 yang digunakan pada KPKBSK. Pembrolizumab merupakan imunoterapi anti-PD-1 yang menjadi obat lini pertama pada KPKBSK dengan ekspresi PD-L1 kuat (*tumor proportion score* (TPS) $>50\%$).²⁹ Penggunaan pembrolizumab pada pasien KPKBSK dengan over ekspresi PD-L1 menunjukkan kesintasan yang lebih baik. Pada *median follow-up* 10,5 bulan, *overall survival* kelompok kombinasi pembrolizumab dan *platinum-based drugs* sebesar 69,2% (interval kepercayaan 95%: 64,1-73,8), sedangkan pada kelompok kombinasi plasebo dan *platinum-based drugs*, *overall survival* sebesar 49,4% (interval kepercayaan 95%: 42,1-56,2).^{1,30}

Durvalumab yang merupakan antibodi monoklonal immunoglobulin G1 kappa bekerja dengan menghambat ikatan PD-L1 dan PD-1. Uji klinis fase 3 menunjukkan bahwa durvalumab secara signifikan memperpanjang *progression-free survival*, bila dibandingkan dengan plasebo, pada pasien KPKBSK stadium III yang telah menjalani kemoradiasi. *Overall survival* 24 bulan pada kelompok durvalumab sebesar 66,3% (interval kepercayaan 95%: 61,7-70,4), sedangkan *overall survival* pada kelompok plasebo sebesar 55,6% (interval kepercayaan 95%: 48,9-61,8).³¹

Nivolumab dan Atezolizumab merupakan terapi lini kedua pada KPKBSK stadium lanjut.^{1,29} Uji klinis fase III nivolumab pada KPKBSK non skuamosa yang telah mengalami metastasis menunjukkan kesintasan yang lebih baik. Pada *follow up* 40 bulan, memperlihatkan *overall survival* kelompok nivolumab lebih baik, yaitu sebesar 17% (interval kepercayaan 95%: 14,0-21,0), dibanding kelompok docetaxel sebesar 8% (interval kepercayaan 95%: 6,0-11,0).³² Uji klinis fase II atezolizumab menunjuk-

kan kesintasan lebih baik dibandingkan kelompok docetaxel, pada KPKBSK yang telah mendapatkan kemoterapi dengan *platinum based drugs*. Overall survival pada kelompok atezolizumab yaitu sebesar 12,6 bulan (interval kepercayaan 95%: 9,7-16,4), sedangkan overall survival kelompok docetaxel sebesar 9,7 bulan (interval kepercayaan 95%: 8,6-12,0).³³ Modalitas terapi yang memblokir ikatan PD-L1 dan PD-1 terbukti dapat memperbaiki supresi imun dan meningkatkan kesintasan pada penderita kanker.

RINGKASAN

Programmed death ligand 1 berperan sebagai *immune checkpoint*. Ligan PD-L1 terekspresi pada APC, sel tubuh dan sel tumor. Ikatan PD-L1 dan PD-1 menyebabkan disfungsi limfosit T sitotoksik CD8+ yang mendukung progresivitas tumor. Terdapat beberapa jalur onkogenesis yang meningkatkan transkripsi pada regio promoter gen PDCL1 yaitu jalur RAS/RAF/MEK/MAPK-ERKP, jalur PI3K/PTEN/Akt/mTOR, dan jalur STAT1/STAT3. Pada adenokarsinoma paru banyak ditemukan mutasi KRAS. Mutasi KRAS mengakibatkan peningkatan ekspresi protein PD-L1. Terapi anti PD-L1 berhasil meningkatkan kesintasan pada pasien kanker paru. *Programmed death ligand 1* merupakan target imunoterapi yang sangat menjanjikan pada adenokarsinoma paru.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gong J, Chehrazhi-affle A, Reddi S, Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *J Immunother Cancer*. 2018;6:1-18.
2. Iwai Y, Hamanishi J, Chamoto K, Honjo T. Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway. *J Biomed Sci*. 2017;24:1-11.
3. Knight SB, Crosbie PA, Balata H, Chudziak J, Hussell T, Dive C. Progress and prospects of early detection in lung cancer. *Open Biol*. 2017;7:1-12.
4. Bray F, Jacques F, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Anticancer Res*. 2018;0(1-31).
5. Cancer, Lung Adenocarcinoma-StatPearls-

NCBI Bookshelf. StatPearls Publishing; 2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519578/?report=reader> (diakses 20 Juni 2019)

6. Denisenko T V, Budkevich IN, Zhivotovsky B. Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma. *Cell Death Dis*. 2018; Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-017-0063-y> (diakses 15 Juni 2019)
7. Chen N, Fang W, Lin Z, Peng P, Wang J. KRAS mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(9):1175-87.
8. Abbas Abul, Lichtman Andrew PS. *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia: Elsevier Ltd; 2018. p. 8-18, 399-417.
9. Mendelsohn J, Gray JW, Israel MA. *The Molecular Basis of Cancer*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Ltd; 2015. 816-827 p.
10. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 pathways similarities, differences, and implications of their inhibition. *Am J Clin Oncol Cancer Clin Trials*. 2016;39(1):98-106.
11. Bally APR, Austin JW, Jeremy M, Bally APR, Austin JW, Boss JM. Genetic and epigenetic regulation of PD-1 expression. *J Immunol*. 2019;196:2431-7.
12. Shinohara T, Taniwaki M, Ishida Y, Kawaichi M HT. Structure and chromosomal localization of the human PD-1 gene. *Kyoto: Academic Press, Inc; 1994. p. 704-6.*
13. Anthousa Kythreotou, Abdul Siddique, Francesco A. Mauri, Mark Bower DJP. Gene of the month PD-L1 [Internet]. 2017. Available from: <https://jcp.bmj.com/content/early/2017/11/02/jclinpath-2017-204853> (diakses 20 Februari 2019)
14. Ostrand-Rosenberg S, Horn LA, Haile ST. The Programmed Death-1 Immune-Suppressive Pathway: Barrier to Antitumor Immunity. *J Immunol*. 2014;193:3835-41. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.1401572> (diakses tgl 15 April 2019)
15. Zeldes I, Matikas A, Bergh J, Rassidakis GZ, Foukakis T. Genetic, transcriptional and post-translational regulation of the programmed death protein ligand 1 in cancer: biology and clinical correlations. *Oncogene*. 2018;4639-61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41388-018-0303-3> (diakses 15 April 2019)

16. Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, Tatiparti K, Bhise K, Kashaw SK, *et al.* PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. *Front Pharmacol.* 2017;8:1-15.
17. Sheppard K, Fitz LJ, Lee JM, Benander C, George JA, Wooters J, *et al.* PD-1 inhibits T-cell receptor induced phosphorylation of the ZAP70/CD3 ζ signalosome and downstream signaling to PKC θ . 2004;574:37-41.
18. Travis William, Brambilla Elisabeth, Burke Allen, Marx Alexander NA. WHO Classification of Tumours of The Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon: WHO; 2014. p. 26-48.
19. Ganie FA, Wani M, Lone H, Wani SN HS. Carcinoma lung: Clinical presentation, diagnosis, and its surgical management. *Kashmir: J Assoc Chest Physicians*; 2013. p. 38-43. Available from: <http://www.jacpjournal.org/article.asp?issn=2320-8775;year=2013;volume=1;issue=2;spage=38;epage=43;aulast=Ganie> (diakses 20 Mei 2019)
20. Rodriguez EF, Dacic S, Pantanowitz L, Khalbuss WE. Cytopathology of Pulmonary Adenocarcinoma With a Single Histological Pattern Using the Proposed International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society (IASLC/ATS/ERS) Classification. *Cancer Cytopathol.* 2015;306-17.
21. Sivakumar S, Lucas FAS, McDowell TL, Lang W, Xu L, Fujimoto J, *et al.* Genomic landscape of atypical adenomatous hyperplasia reveals divergent modes to lung adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2018; 77: 6119-30.
22. Kuhn E, Morbini P, Cancellieri A, Damiani S, Cavazza A, Comin CE. Adenocarcinoma classification: patterns and prognosis. *Pathologica.* 2018;110:5-11.
23. Dong YUJIE, Cai YIRAN, Zhou LIJ, Su DAN, Mu J, Chen XUEJ, *et al.* Association between the histological subtype of lung adenocarcinoma, EGFR/KRAS mutation status and the ALK rearrangement according to the novel IASLC/ATS/ERS classification. 2016;2552-8.
24. Huq GE, Canberk Ş, Öznur M. Cytological features of pure micropapillary carcinoma of various organs: A report of eight cases. *Oncol Lett.* 2014;8:705-10.
25. Geisinger KR, Travis WD, Perkins LA, Zakowski MF. Aspiration Cytomorphology of Fetal Adenocarcinoma of the Lung CME/SAM. *Anat Pathol.* 2010;134:894-902.
26. Prestipino A, Zeiser R. Clinical implications of tumor-intrinsic mechanisms regulating PD-L1. *Cancer Immunother* [Internet]. 2019;4810:1-6. Available from: <https://stm.sciencemag.org/content/11/478/eaav4810/tab-pdf> (diakses 27 Juni 2019)
27. Teixidó C, Vilariño N, Reyes R, Reguart N. PD-L1 expression testing in non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2018;10:1-17.
28. Scheel AH, Schäfer SC. Current PD-L1 immunohistochemistry for non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;10:1217-9.
29. Vigliar E, Malapelle U, Bono F, Fusco N, Cortinovis D, Valtorta E, *et al.* The reproducibility of the immunohistochemical PD-L1 testing in non-small-cell lung cancer: A multicentric Italian experience. *Hindawi BioMed.* 2019;2019:1-7.
30. Gandhi L, Rodriguez D, Gadgeel S E. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer_NEJM [Internet]. *N Engl J Med*; 2018. p. 2078-92. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1801005> (diakses 24 Juni 2019)
31. Scott J, Antonia, Augusto V, Davey Daniel VD. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC_NEJM. *N Engl J Med*; 2018. p. 2342-50. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1809697> (diakses 24 Juni 2019)
32. Vokes EE, Ready N, Felip E, Horn L, Burgio MA, Antonia SJ, *et al.* Nivolumab versus docetaxel in previously treated advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 017 and CheckMate 057): 3-year update and outcomes in patients with liver metastases. 2018;29:959-65.
33. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanzet M, Vansteenkiste J, Mazieres J, *et al.* Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387:1837-46. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00587-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00587-0) (diakses 24 Juni 2019).