

## Tumor-infiltrating lymphocytes dan Peranannya pada Karsinoma Payudara

<sup>1</sup>Ditha Diana, <sup>2</sup>Kusmardi

<sup>1</sup>Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi,

<sup>2</sup>Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jakarta

Penulis korespondensi: Dr. Drs. Kusmardi, MS.

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia  
Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta 10430.  
e-mail: kusmardis@gmail.com

### ABSTRAK

Infiltrasi sel limfosit T pada jaringan tumor merupakan prognosis yang baik pada penderita kanker. *Tumour infiltrating lymphocyte* (TIL) adalah fenotip dari limfosit T CD4+ dan limfosit T CD8+ yang menginfiltrasi tumor. TIL dapat memberikan efek yang menguntungkan sekaligus juga efek yang merugikan pada karsinoma payudara. Terdapat tiga subtipe limfosit T yang menginfiltrasi tumor yaitu limfosit T-*helper* (Th), T-*citotoxic* (Tc) dan T-*regulator* (Treg). Peranan limfosit Th dalam imunitas tumor dapat dibagi menjadi tiga fase, yaitu fase induksi awal, fase mempertahankan respon Tc sebagai efektor dan fase pembentukan memori. Limfosit Th akan mensekresikan sitokin yang dapat merangsang sel tumor untuk meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I, sehingga akan lebih mengoptimalkan fungsi sitotoksitas limfosit Tc yang mempunyai peran paling dominan dalam sitolitik sel tumor. Limfosit Treg secara efektif mensupresi respon antitumor dari limfosit Tc dan sel imunitas lainnya sehingga dapat mempermudah perkembangan tumor. Pada karsinoma payudara, limfosit Treg mempunyai pengaruh yang berbeda pada masing-masing subtipe kankernya.

**Kata kunci** : karsinoma payudara, *tumour infiltrating lymphocytes*.

## Tumor-infiltrating lymphocytes and their role in breast carcinoma

### ABSTRACT

Infiltration of T lymphocyte cells in tumor tissue is a good prognosis in cancer patients. The infiltrating lymphocyte (TIL) tumor is the phenotype of CD4+ T lymphocytes and CD8+ T lymphocytes that infiltrate tumors. TIL can have a beneficial effect as well as a detrimental effect on breast carcinoma. There are three subtypes of T lymphocytes that infiltrate tumors which are T-helper (Th), T-citotoxic (Tc) and T-regulators (Treg). The role of Th lymphocytes in tumor immunity can be divided into three phases, that are the initial induction phase, the phase maintaining the Tc response as an effector and the memory formation phase. Th lymphocytes will secrete cytokines that can stimulate tumor cells to increase the expression of MHC class I molecules, so that it will further optimize the function of Tc lymphocytic cytotoxicity which has the most dominant role in cytolytic tumor cells. Treg lymphocytes effectively suppress antitumor responses from Tc lymphocytes and other immune cells so that they can facilitate tumor development. In breast carcinoma, Treg lymphocytes have a different influence on each of the cancer subtypes.

**Key words**: breast carcinoma, tumor infiltrating lymphocytes.

### PENDAHULUAN

Respon imun sangat tergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenali antigen yang memicu reaksi imun. Sel-sel yang berfungsi dalam respon imun berasal dari sel induk yang pluripoten yang kemudian berdiferensiasi melalui dua jalur yaitu jalur limfoid yang membentuk limfosit beserta subsetnya dan jalur mieloid yang membentuk sel fagosit beserta sel lainnya. Sel-sel imunokompeten yang utama adalah limfosit T dengan berbagai subsetnya yaitu T-*helper* (Th), T-*citotoxic* (Tc) dan T-*regulator* (Treg) yang masing-masing mempunyai fungsi yang berbeda.<sup>1</sup>

Tumor diinfiltrasi oleh populasi sel imun yang heterogen yaitu limfosit, sel *natural killer* (NK) dan makrofag.<sup>2,3</sup> *Tumour infiltrating lymphocyte* (TIL) adalah fenotip dari limfosit T CD4+ dan limfosit T CD8+ yang menginfiltrasi tumor. Efek antitumor dimediasi melalui induksi respon limfosit T CD8+ yang menyerang antigen spesifik. Di sisi lain, TIL dapat mengekspresikan *marker* aktivasi seperti CD25 dan melepaskan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan faktor-faktor pertumbuhan dasar yang dapat memicu limfangiogenesis dan angiogenesis, sehingga sel kanker dapat menyebar melalui sirkulasi limfatik ke kelenjar getah bening (KGB).<sup>4</sup>

Limfosit T berdiferensiasi dalam kelenjar timus. Pada korteks timus terjadi proliferasi dan kematian sel yang berhubungan dengan dengan proses seleksi klon. Klon yang autoreaktif akan mengalami apoptosis, sedangkan sel yang mempunyai manfaat dikemudian hari akan dipertahankan. Proses penting yang terjadi selama berdiferensiasi dalam timus adalah pembentukan berbagai reseptor antigen, seleksi limfosit T aktif fungsional yang dapat mengenal antigen yang dipresentasikan oleh molekul *self major histocompatibility complex* (MHC), eliminasi selektif limfosit T autoreaktif dan diferensiasi populasi limfosit T yang mengekspresikan CD4 atau CD8.<sup>1</sup>

Limfosit T CD8+ dan sel NK berikatan dengan *Fas ligand* dan mempunyai efek sitolitik terhadap sel tumor. TIL dapat berinteraksi dengan antigen tumor dan menyebabkan lisis sel secara langsung maupun tidak langsung melalui pelepasan berbagai sitokin.<sup>4</sup> Sel kanker dapat merangsang respon TIL dengan mengekspresikan protein antigen baik dalam bentuk rangkaian mutasi gen, *protein misfolding*, infeksi virus ataupun *over-eksresi* protein yang tidak sesuai. TIL dapat digunakan sebagai penanda dari respon imun tubuh terhadap tumor.<sup>5</sup>

Limfosit Th dikelompokkan berdasarkan subpopulasinya yaitu limfosit *T-helper* tipe 1 (Th1), tipe 2 (Th2) dan tipe 17 (Th17). Setiap subset dari limfosit T mempunyai respon imun yang kompleks yang mempunyai peranan yang belum sepenuhnya diketahui. Kompleksitas dari limfosit T dan peranannya sebagai antitumor terus diteliti, terutama pada tumor yang diduga dapat ditatalaksana dengan pendekatan imunoterapi seperti misalnya karsinoma payudara.<sup>4,5</sup>

Respon TIL umumnya menghambat pertumbuhan tumor, namun sistem imun seperti pisau bermata dua, karena selain berfungsi protektif sistem imun juga berfungsi menseleksi varian-varian sel tumor dengan imunogenitas rendah yang tidak dikenal oleh sistem imun, sehingga memberi kemungkinan untuk berkembangnya tumor melalui mekanisme *escape* atau menghindari pengenalan dan eliminasi.<sup>1</sup> Infiltrasi sel inflamasi pada karsinoma payudara berperan secara positif sekaligus secara negatif terhadap invasi, pertumbuhan, metastasis tumor dan keadaan pasien yang masih perlu penelitian lebih lanjut dalam penentuan mekanismenya.<sup>2</sup> Adanya sel inflamasi memperlihatkan adanya

respon terhadap tumor, namun berpotensi pula terhadap invasi tumor dan angiogenesis.<sup>3</sup>

### Mekanisme Aktivasi Limfosit T Infiltratif Tumor

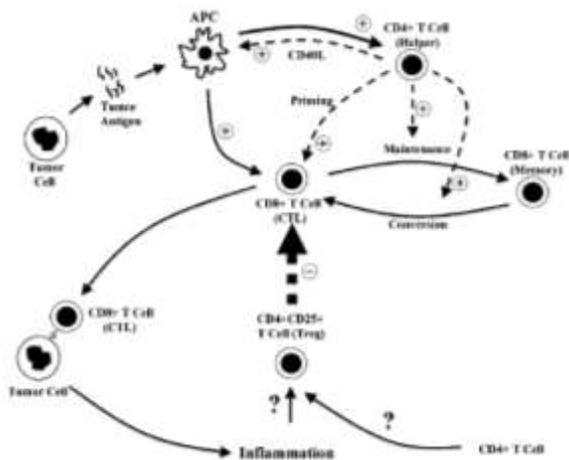
Sel yang mengandung antigen tumor akan mengekspresikan antigennya bersama molekul MHC kelas I membentuk kompleks melalui reseptor limfosit T (TCR) dan limfosit T CD8+. Limfosit T CD8+ menjadi aktif sebagai efektor yang dikenal dengan limfosit Tc yang berfungsi menghancurkan sel tumor tersebut. Sebagian kecil sel tumor juga mengekspresikan antigen tumor bersama molekul MHC kelas II, sehingga dapat dikenali dan membentuk kompleks dengan limfosit T CD4+ menjadi limfosit T CD4+ yang aktif (limfosit Th). Limfosit Th akan mensekresikan limfokin interferon gamma (IFN $\gamma$ ) dan *tumor necrosis factor-alfa* (TNF $\alpha$ ). Kedua limfokin tersebut akan merangsang sel tumor untuk meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I, sehingga akan lebih mengoptimalkan fungsi sitotoksitas dari limfosit Tc. Konsep ini diaplikasikan dalam pengobatan tumor menggunakan TIL, yaitu sel-sel mononuklear yang menginfiltrasi menuju ke sekitar jaringan tumor padat karena adanya reaksi inflamasi. TIL tersebut diperbanyak secara kultur *in vitro* dalam penambahan interleukin (IL) 2.<sup>6</sup>

Sebagian besar sel efektor yang berperan dalam mekanisme antitumor adalah limfosit T CD8+, yang berperan dalam membunuh sel yang terinfeksi virus atau sel alogenis. Limfosit Tc dapat melakukan fungsi surveilans dengan mengenal dan membunuh sel-sel potensial ganas yang mengekspresikan peptida yang berasal dari protein seluler mutan atau protein virus onkogenik yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I. Stimulasi respon Tc yang merupakan cara pendekatan terapi antitumor yang prospektif.

Limfosit T CD4+ berperan sebagai antitumor dengan memproduksi berbagai sitokin yang diperlukan oleh limfosit Tc. Beberapa tumor yang antigennya diekspresikan bersama dengan MHC kelas II dapat mengaktivasi limfosit T CD4+ spesifik tumor secara langsung. Mekanisme utamanya adalah melalui *antigen presenting cells* (APC) yang mengekspresikan molekul MHC kelas II, memproses dan mempresentasikan protein yang berasal dari sel-sel tumor yang mati kepada limfosit T CD4+, sehingga terjadi aktivasi sel-sel tersebut.<sup>6</sup> Limfo-

sit T CD4+ juga berperan dalam mempertahankan subpopulasi limfosit T CD8+ dalam sirkulasi sebagai sel memori dan memperkuat respon limfosit T CD8+ sebagai efektor jika terjadi paparan ulang dari antigen tumor. Selain limfosit T CD4+ dan T CD8+, di dalam lingkungan mikro tumor juga terdapat populasi limfosit Treg CD4+CD25+ dapat memberikan efek *down-regulasi* dari limfosit T CD8+.<sup>5,7-9</sup> Secara skematis mekanisme aktivasi limfosit T dalam imunitas antitumor dapat terlihat pada Gambar 1.<sup>7</sup>

Selain mempresentasikan antigen tumor kepada limfosit T CD4+, APC juga mempresentasikan antigen tumor ke limfosit T CD8+. Limfosit T CD4+ juga berperan dalam mempertahankan subpopulasi limfosit T CD8+ dalam sirkulasi sebagai sel memori dan memperkuat respon limfosit T CD8+ sebagai efektor jika terjadi paparan ulang dari antigen tumor. Selain limfosit T CD4+ dan T CD8+, di dalam lingkungan mikro tumor juga terdapat populasi limfosit Treg CD4+CD25+ dapat memberikan efek *down-regulasi* dari limfosit T CD8+.<sup>5,7,8</sup>



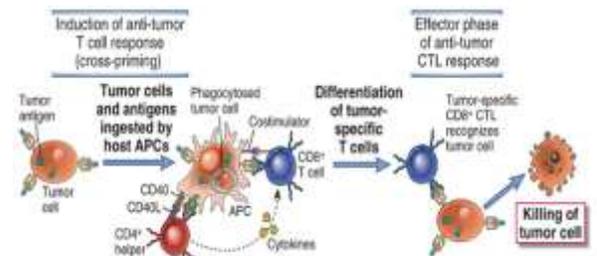
Gambar 1. Mekanisme aktivasi limfosit T pada imunitas tumor.<sup>7</sup>

Tumor berkembang di bawah pengaruh lingkungan mikro yang terdiri dari berbagai jenis sel, termasuk sel-sel imunitas, fibroblas, sel endotel pembuluh darah dan produk-produknya (sitokin, kemokin dan metabolit). Sistem kekebalan bawaan yang dipicu dan dimediasi oleh berbagai jenis sel, termasuk granulosit, makrofag, sel dendritik (DCs), sel NK, sel-sel NKT, limfosit T  $\gamma\delta$ , dengan cepat mengenali induksi molekul-molekul yang diekspresikan oleh sel-sel tumor melalui reseptor *germline*. Setelah respon imun bawaan ini berespon, sel-sel tumor

merangsang sistem kekebalan adaptif dengan mengaktifkan sel spesifik antigen yang terutama terdiri atas limfosit T.<sup>9</sup>

**Peranan TIL Pada Tumor**

Populasi limfosit T matur terbentuk dari ekspresi limfosit T  $\alpha\beta$ , mengekspresikan CD4 atau CD8, dan TCR CD4/CD8 $\gamma\delta$ . Fungsi limfosit T CD4+ dan CD8+ dipicu oleh ekspresi ko-reseptor (CD4 atau CD8) yang mempunyai ligan domain  $\beta 2$  dari molekul MHC kelas II dan domain  $\alpha 3$  molekul MHC kelas I. TCR  $\alpha\beta$  pada limfosit T CD8+ spesifik untuk mengenali antigen yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I, sedangkan TCR  $\alpha\beta$  dari limfosit T CD4+ spesifik untuk antigen yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas II.<sup>7,10</sup>



Gambar 2. Peranan TIL pada tumor. Respon limfosit T CD8+ terhadap tumor dapat diinduksi oleh presentasi silang dari APC. Sel tumor atau antigen tumor dibawa, diproses dan dipresentasikan kepada limfosit T melalui perantara APC. Pada beberapa tumor, kostimulator B7 yang diekspresikan oleh APC menimbulkan sinyal kedua yang mengaktifasi limfosit T CD8+. APC juga dapat menstimulasi limfosit T CD4+ yang menimbulkan sinyal kedua untuk perkembangan Tc. Limfosit Tc yang sudah berdiferensiasi dapat membunuh sel tumor tanpa bantuan kostimulator dan limfosit Th lebih lanjut.<sup>6</sup>

Peranan penting dari limfosit T sebagai efektor dalam imunitas anti-tumor ditunjukkan pertama kali oleh peningkatan jumlahnya. Sebagai contoh, tumor yang diinduksi oleh sinar ultraviolet secara teratur ditolak oleh tikus normal, namun akan tumbuh secara progresif pada keadaan tidak adanya limfosit T. Pemanfaatan transfer adaptif secara *in vitro* pada kombinasi TIL dengan kemoterapi dalam uji klinis menunjukkan tingkat respons positif sebesar 50% pada pasien dengan dengan kanker stadium akhir yang agresif. Secara *in vitro* Tc yang membunuh sel target tumor dapat diisolasi setelah injeksi dengan antigen sel-sel tumor atau dapat juga dilihat secara *ex vivo* pada kultur limfosit selama tujuh hari.<sup>7</sup>

Berbagai studi juga menunjukkan adanya peningkatan jumlah limfosit Treg secara signifikan dalam darah perifer, sumsum tulang, *tumor draining lymph nodes* pada tikus dan manusia yang menderita kanker, baik pada kanker hematologi maupun kanker jaringan padat termasuk kanker payudara, kolorektal, esofagus, gaster, hepatoseluler, paru, melanoma, ovarium dan pankreas. Treg terlihat berperan dalam memicu progresifitas tumor. Jumlah Treg FOXP3+ pada tumor juga terlihat mempunyai korelasi dengan prognosis yang buruk.<sup>10</sup>

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh mutasi multipel pada berbagai jenis sel. Terdapat perbedaan dalam subset limfosit T yang dibutuhkan dalam mediasi penolakan tumor. Subset yang mempunyai peranan penting adalah limfosit T CD8+. Sebagian besar tumor positif untuk MHC kelas I, tapi negatif untuk MHC kelas II dan Tc yang mampu menginduksi *tumor-killing* langsung dikenali oleh antigen peptida, yang dipresentasi oleh molekul tumor MHC kelas I.<sup>7</sup>

Eliminasi Tc pada tikus dapat menyebabkan hilangnya efek antitumor pada percobaan. Penelitian transfer adoptif secara *in vitro* terhadap limfosit T CD8+ dan klon antigen spesifik CD8 secara efektif memberikan respon imun saat ditransfer kembali ke tubuh penderita. Imunisasi menggunakan *ajuvant* atau sel dendrit (DC) dengan peptida tumor murni dapat menimbulkan imunitas antitumor terbatas pada MHC kelas I.<sup>7</sup>

Karsinoma payudara merupakan keganasan yang kompleks dan heterogen. Klasifikasi karsinoma payudara meningkat secara signifikan dalam beberapa tahun terakhir dengan berkembangnya pengetahuan tentang ekspresi gen.<sup>11</sup> Saat ini diidentifikasi tiga subset yang berhubungan dengan klinis dan terapi spesifik pada karsinoma payudara yaitu *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2), reseptor estrogen (ER) dan reseptor progesteron (PR).<sup>12</sup> Sinyal imunitas yang tinggi dihubungkan dengan perbaikan prognosis pasien dalam berbagai kanker, termasuk subtipe karsinoma payudara, dengan korelasi terkuat diamati pada subtipe ER- dan subtipe HER2+. Meskipun tidak ada konsensus pada subset sel imunitas yang secara konsisten menjadi mediator dalam efek perbaikan prognosis tersebut, namun hubungan penting antara respon imun antitumor dan hasil

klinis positif jangka panjang telah banyak diteliti dan dilaporkan.<sup>11</sup>

Infiltrasi sel inflamasi pada tumor berkontribusi terhadap invasi, pertumbuhan, dan metastasis tumor serta kondisi klinis pasien baik berefek menguntungkan maupun merugikan. Positivitas limfosit T CD8+ mempunyai nilai prognosis independen yang menguntungkan pada karsinoma payudara dari segi ukuran tumor, stadium dan *grade* tumor, invasi vaskular dan status HER2. Infiltrasi leukosit ke dalam tumor diketahui sebagai salah satu penanda perkembangan tumor yang dihubungkan dengan keterlibatan sistem imun yang mengontrol dan mengeliminasi sel tumor.<sup>12</sup>

Pada karsinoma payudara, infiltrasi limfosit berhubungan dengan gambaran klinis yang baik terutama pada tumor yang berproliferasi cepat.<sup>10</sup> Limfosit T CD8+ dan Th1 CD4+ merupakan limfosit antitumor yang utama melalui produksi IFN $\gamma$ . IL-6, TNF dan IL-23 yang diproduksi oleh *tumor-associated macrophages* (TAM) atau *myeloid-derived suppressive cells* (MDSC) dianggap dapat memicu pertumbuhan dan perkembangan tumor. Peranan ini dilakukan oleh subset TIL seperti Treg CD4+, Treg CD25+, Treg FOXP3+ dan Th17. Hal ini belum dipahami secara jelas, namun sel-sel ini terlihat mempunyai fungsi supresi terhadap sel efektor termasuk Tc CD4+, Tc CD8+, sel NK dan limfosit B. Aktivitas dari limfosit Treg tersebut dapat memicu perkembangan sel kanker dengan memberikan proteksi kepada sel tumor terhadap sistem imun bawaan maupun didapat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infiltrasi tumor oleh limfosit T efektor berhubungan dengan prognosis yang baik, sedangkan peningkatan jumlah Treg berhubungan dengan progresivitas dari berbagai jenis keganasan.<sup>13</sup>

Krell *et al.* melakukan penelitian untuk melihat apakah terdapat perbedaan klinis dari TIL pada subtipe karsinoma payudara. Hasilnya adalah bahwa pada karsinoma payudara tipe duktal dan lobular terdapat infiltrasi limfosit dari subpopulasi yang berbeda. Pada karsinoma payudara tipe duktal terlihat peningkatan limfosit CD4+ dan FOXP3+, yang secara umum dihubungkan dengan gambaran histologis yang agresif (seperti gambaran *high grade* dan status ER-). Berbeda dengan infiltrasi limfosit pada karsinoma payudara tipe lobular, terlihat tidak berhubungan dengan parameter kliniko-patologis manapun. Hal yang menarik adalah

bahwa tidak terdapat hubungan yang mutlak antara prognosis dengan jumlah TIL T pada subtype histologis, di mana rasio FOXP3+ dan CD4+ yang ditemukan lebih tinggi pada karsinoma duktal ternyata merupakan variabel independen prognosis yang baik. Pada kedua subtype karsinoma payudara ditemukan jumlah limfosit IL17 yang rendah. Pada penelitian ini juga disebutkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara TIL yang ditemukan pada tumor dan jaringan stroma.<sup>13</sup>

### Peranan Limfosit T CD4+

Limfosit T CD4+ adalah bagian integral dari kekebalan adaptif. Fungsi utama limfosit T CD4+ dalam sistem imun secara konsisten ditunjukkan oleh hewan percobaan yang diberi vaksin yang melibatkan deplesi *antibodi-mediated cell* T CD4+, atau dengan penekanan CD4+ pada tikus. Limfosit T CD4+ spesifik tumor dapat mengenali tumor antigen di mana terlihat limfosit T bermigrasi ke arah sisi tumor.<sup>7</sup> Jumlah limfosit T CD4+ mempunyai peranan yang sangat penting untuk ekspansi yang efisien dan juga dapat menimbulkan akumulasi yang persisten dari sel-sel kekebalan antigen khusus.<sup>9</sup> Akumulasi limfosit T CD4+ dalam lingkungan mikro tumor selama perkembangan tumor diperkirakan juga dapat menghalangi fungsi limfosit T CD8+ efektor sehingga dapat menimbulkan komplikasi. Hal ini diduga karena limfosit T CD4+ mempunyai dua bentuk diferensiasi yaitu menjadi subtype limfosit T helper dan limfosit T CD4+ regulator.<sup>7</sup>

Limfosit T CD4+ telah terbukti dapat menekan beberapa jenis tumor tanpa limfosit T CD8, tetapi untuk efektifnya efek antitumor diperlukan adanya kedua jenis limfosit T tersebut. Hal ini disebabkan karena sebagian besar sel-sel tumor mengekspresikan molekul MHC kelas I, namun tidak mengekspresikan molekul MHC kelas II, sehingga membatasi pengenalan oleh limfosit T CD4+. Selain itu, mekanisme efektor dominan pada imunitas tumor adalah lisis langsung pada sel tumor oleh limfosit T CD8+. Peran limfosit T CD4+ sebagai antitumor lebih sering untuk membantu fungsi efektor limfosit T CD8+.<sup>7</sup>

Peranan limfosit T CD4+ dalam imunitas tumor dapat dibagi menjadi tiga fase, yaitu fase induksi awal, fase membantu mempertahankan respon Tc sebagai efektor dan fase pembentukan memori.<sup>7</sup>

### a. Limfosit T CD4+ membantu aktivasi limfosit T sitotoksik

Limfosit T helper CD4+ mempunyai peranan penting pada respon imun awal, diantaranya peranan dalam mengaktivasi APC, yang mengekspresikan molekul kostimulator seperti ICAM-1, CD80 dan CD86, atau untuk mensekresi sitokin termasuk IL12.<sup>7</sup> Limfosit Th dalam fase inisiasi tergantung pada interaksi antara ligan CD40 (CD40L) yang diekspresikan oleh limfosit T CD4+ dan CD40 pada APC. Interaksi CD40-CD40L mempunyai peranan penting dalam pembentukan imunitas antitumor yang diperantarai oleh limfosit T. Pada keadaan tidak terdapatnya limfosit T CD4+ dalam sistem imun, aktivasi sel dendritik secara langsung oleh virus yang memberikan sinyal inflamasi yang optimal. Penelitian Workers *et al.* menunjukkan bahwa injeksi MHC kelas I pada sel-sel tumor tanpa tikus yang MHC kelas II-nya telah ditekan tetap menunjukkan tahap inisiasi awal walaupun efektivitasnya menurun. Hal ini diduga terjadi karena sel dendritik diaktifkan oleh komponen selular yang dilepaskan selama apoptosis sel tumor, yang dapat berfungsi sebagai adjuvan.<sup>7</sup> Pada keadaan di mana tidak terdapat limfosit CD4+, walaupun kadar antigen ditingkatkan, tetap dibutuhkan faktor-faktor lain untuk induksi limfosit T. Limfosit T CD4 tidak mutlak dibutuhkan pada kondisi adanya kelenjar-kelenjar limfe yang utuh, namun pada keadaan terjadinya kerusakan kelenjar limfe, limfosit T CD4+ tetap dibutuhkan untuk proliferasi limfosit T CD8+ naif. Limfosit T CD4+ dibutuhkan untuk fase inisiasi jika sel dendritik tidak aktif karena adanya mekanisme lain yang menonaktifkannya. Sel dendritik membutuhkan aktivasi oleh limfosit T CD4+ untuk dapat menginduksi dan mengaktivasi limfosit T CD8+.<sup>7</sup>

### b. Limfosit T CD4+ membantu mempertahankan respon Tc

Pada beberapa jenis tumor tetap diperlukan adanya limfosit T CD4+. Penelitian pada tikus, di mana limfosit T CD4+ dan ekspresi MHC kelas II ditekan, maka metastasis sistemik tidak dapat diatasi. Oleh karena itu, pada tumor matur jumlah limfosit T CD4 mempunyai peranan penting untuk memberikan respon efektor.<sup>14,15</sup>

### c. Limfosit T CD4+ mempertahankan respon memori limfosit T CD8+

Limfosit T CD4+ sangat diperlukan untuk respon Tc memori yang utuh. Beberapa studi menunjuk-

kan bahwa limfosit T CD4+ dibutuhkan untuk memprogram limfosit T CD8 untuk berdiferensiasi menjadi sel memori jangka panjang. Limfosit T CD4+ mempunyai peran penting bukan hanya pada tahap *priming* dari Tc namun dibutuhkan pada tahap lanjut yaitu mempertahankan limfosit T CD8+. Limfosit T CD4+ hanya dibutuhkan dalam memprogram limfosit T CD8+ pada saat terpapar antigen. Pada saat sudah terjadi diferensiasi limfosit T CD8+ menjadi sel memori jangka panjang, maka limfosit T CD4+ sudah tidak diperlukan lagi, bahkan juga dalam fungsi reaktivasi.<sup>7</sup>

Penelitian Gu-Tantrien *et al.* menunjukkan bahwa limfosit T CD8+ berperan sebagai komponen utama dari imunitas antitumor, yaitu karsinoma payudara dengan tingkat infiltrasi limfosit T CD8+ yang lebih tinggi mempunyai kesintasan yang lebih baik. Limfosit T CD8+ sering gagal untuk berfungsi maksimal dalam imunitas antitumor jika jumlah limfosit T CD4+ tidak mencukupi.<sup>11</sup>

IFN $\gamma$  yang diproduksi oleh limfosit Th1 CD4+, limfosit T CD8+, sel dendrit matur, sel NK, makrofag M1 dan sel-sel NKT tipe 1 dapat menghasilkan respon antitumor yang efektif. Limfosit Th2 CD4+ dan NKT tipe 2 bekerjasama dengan Tregs CD4+, sel myeloid, sel dendritik matur, atau makrofag M2 menekan kekebalan antitumor dan juga dapat memicu perkembangan tumor. Berbagai subset limfosit Th CD4+ memiliki fungsi penting baik terhadap protumor maupun imunitas antitumor. Limfosit Th1 yang memproduksi IFN $\gamma$  sering dikaitkan dengan respon imun antitumor.<sup>11</sup>

Beberapa aspek keberadaan limfosit T CD4+ yang fundamental, antara lain adalah:<sup>11</sup>

- Eksresi yang lebih tinggi dari limfosit T *helper* folikuler (Tfh), Th1 dan marker aktivasi limfosit T meningkatkan respon terhadap tumor.
- Peranan TIL CD4 pada tumor dipengaruhi oleh aktivasi dan supresi.
- Tumor dimediasi jalur supresi TCR/CD3. Eksresi faktor-faktor transkripsi imunitas diregulasi dan dibatasi oleh jumlah sitokin/kemokin yang diproduksi oleh TIL.
- Karsinoma payudara dengan infiltrat sel imun umumnya merupakan limfosit Tfh yang menghasilkan CXCL13.

Eksresi limfosit Tfh gen 8 yang mencakup gen CXCL13 berhubungan dengan respon yang lebih baik dalam kemoterapi prabedah dan

mempunyai *disease free survival* pada pasien karsinoma payudara yang tidak diobati secara sistemik.<sup>11</sup> Respon limfosit T CD4+ dapat dibagi menjadi beberapa jenis tergantung pada profil sitokinnya. Keseimbangan antara sitokin Th1 dan Th2 berpengaruh pada respon imun yang dihasilkan.<sup>8</sup> Limfosit Th1 CD4 mensekresikan sitokin tipe I, seperti IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , yang merangsang respon limfosit T CD8 melalui aktivasi pengenalan sel antigen. Limfosit Th2 CD4 mensekresikan sitokin tipe II, seperti IL-4, IL-5 dan IL-13 yang berfungsi dalam aktivasi APC dan meningkatkan respon imunitas humoral. Subset limfosit T CD4 lainnya adalah Th17, yang berhubungan dengan peradangan jaringan terkait dengan respon autoimun.<sup>9</sup>

Sitokin IFN- $\gamma$  mempunyai efek positif terhadap presentasi dan respon antigen dalam mengontrol MHC kelas I dan II, sehingga respon Th1 umumnya berkorelasi lebih baik dengan respon seluler limfosit Tc. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa respon limfosit Th1 sangat penting dalam imunitas antitumor, sedangkan sitokin dari Th2 mempunyai efek *down*-regulasi dalam imunitas antitumor. Konsep deviasi kekebalan tubuh, yaitu pergeseran dari profil sitokin Th1 ke Th2, diperkirakan menjadi salah satu kontributor utama kegagalan imunitas tumor yang diperantarai limfosit T. Deviasi produksi sitokin limfosit Th2 berkontribusi terhadap progresivitas kanker. Hal yang sebaliknya juga dapat terjadi, yaitu rangsangan imun untuk pengubahan Th2 ke Th1 terlihat mempunyai efek antitumor yang baik.<sup>7</sup>

Klon limfosit Th2 telah menunjukkan aktivitas antitumor yang kuat secara *in vivo*. Mekanisme limfosit Th2 dalam menghancurkan tumor diperkirakan dimediasi oleh aktivasi sel kekebalan bawaan seperti eosinofil dan makrofag dengan aktivitas limfosit Th2 CD4+ yang mensekresi superoksida dan nitrat oksida. Meskipun kekebalan antitumor secara efektif dimediasi melalui respon limfosit Th1 dengan memicu sitolitik langsung oleh limfosit Tc, namun mekanisme ini terlihat mengacu pada keseimbangan antara limfosit Th1 dan Th2.<sup>7</sup>

Aktivitas limfosit Th 17 terdeteksi pada karsinoma payudara tipe duktal maupun lobular yaitu ditemukan adanya produksi IL17 pada kedua sub tipe tumor tersebut.<sup>16</sup> Limfosit Th17 diketahui memiliki efek protumorigenik dan juga efek antitumorigenik. Efek protumorigenik Th17

sel tergantung pada kapasitasnya untuk meningkatkan angiogenesis melalui induksi berbagai macam faktor angiogenik, seperti *vasculo-endothelial growth factor* (VEGF) dan untuk mengaktifkan faktor transkripsi mempromosikan tumor, seperti Stat3. Limfosit Th17 juga dapat memicu tumorigenesis dengan merekrut sel-sel inflamasi, seperti neutrofil, melalui produksi dan pelepasan sitokin pro-inflamasi dan kemokin. Sebaliknya, limfosit Th17 dapat dikonversi ke Th1 yang menghasilkan IFN $\gamma$  yang menjadi mediator respon penolakan tumor. Selain itu, limfosit Th17 dapat menimbulkan inflamasi protektif yang memicu pengaktifan limfosit T CD8+ spesifik tumor.<sup>9</sup>

### Peranan Limfosit T CD8+

Limfosit T CD8+ mempunyai peranan dominan dalam melisis sel tumor pada tahap efektor. Penelitian William *et al.* menunjukkan hubungan independen yang kuat antara infiltrasi tumor oleh limfosit T CD8+ dengan kesintasan lima tahun dari pasien dengan melanoma, karsinoma sel Merkel dan karsinoma kolorektal sebesar 100%. Pada pasien dengan kadar limfosit T CD8+ yang rendah, angka kesintasan lima tahunnya adalah 60%, namun hal ini belum dapat dibuktikan pada limfoma Hodgkin dan limfoma sel T anaplastik.<sup>5</sup>

Limfosit T CD8+ berasal dari fenotip memori sentral diketahui mempunyai imunitas antitumor yang sangat baik. Meskipun tumor sering mengekspresikan antigen yang dapat dikenali oleh TIL, namun tumor diketahui memiliki banyak mekanisme yang berbeda untuk lolos dari pengenalan imun. Sebagai contoh, sel-sel tumor dapat memberikan efek *down*-regulasi pada berbagai molekul target, seperti molekul MHC dan terkait antigen tumor itu sendiri, atau menghasilkan lingkungan supresi lokal yang mempengaruhi aktivitas infiltrasi sel imun. Sel tumor dapat memproduksi sitokin inhibitor, seperti IL-10 dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), dan metabolit inhibitor, seperti ekstraseluler adenosin dan prostaglandin E2, baik secara langsung ataupun tidak langsung melalui stimulasi dari sel-sel imun lain.<sup>9</sup>

Sebagian besar tumor positif untuk MHC kelas I tapi negatif untuk MHC kelas II dan Tc yang mampu memicu *tumor killing* melalui pengenalan langsung dari peptida antigen yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas I. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa imunisasi, menggunakan adjuvan atau DC dengan

peptida murni tumor, dapat mengakibatkan kekebalan antitumor produktif yang dibatasi oleh MHC kelas I. Hal ini menunjukkan bahwa limfosit T CD8 dalam respon imun antitumor tumor merupakan salah satu subset utama dari limfosit T yang konstruktif terhadap respon antitumor yang efektif.<sup>7</sup> Pasien dengan densitas limfosit T CD8+ yang lebih besar menunjukkan peningkatan bebas penyakit dan angka kesintasan yang lebih baik.<sup>9</sup>

TIL dapat menimbulkan efek sitolitik antigen tumor secara langsung maupun tidak langsung melalui pelepasan sitokin seperti IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  dan *granulocyte colony-stimulating factor* (GM-CSF). Limfosit T CD8+ hanya mensekresikan GM-CSF namun tidak mensekresikan TNF $\alpha$ . Pada karsinoma payudara, limfosit T CD4+ dan limfosit T CD8+ ditemukan pada semua tumor primer. Infiltrat dapat berubah dari bentuk yang dominan limfosit T CD4+ menjadi bentuk yang dominan limfosit T CD8+. Georgiannos *et al.* menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan hanya ditemukan pada tumor ER+, tapi tidak terlihat pada PR+.<sup>4,17</sup>

Efek antitumor diperantarai oleh induksi respon limfosit T CD8+ terhadap antigen spesifik. Gangguan imunitas seluler dapat dikaitkan dengan supresi dari perbandingan jumlah CD4 dan CD8.<sup>4</sup> Aktivasi TIL dapat dirusak oleh sitokin penghambat, meningkatnya reaksi limfosit Treg, perubahan molekul MHC sel tumor dan penyimpangan ekspresi *Fas ligand*.<sup>4,17,18</sup> TIL dapat menghasilkan faktor pertumbuhan endotel vaskuler (VEGF) dan faktor pertumbuhan dasar fibroblas, yang dapat menginduksi limfangiogenesis dan angiogenesis dan akibatnya dapat menimbulkan penyebaran sel-sel kanker melalui sirkulasi limfatik ke KGB regional.<sup>4</sup>

### Peranan Limfosit T Regulator

Limfosit Tregs adalah subset limfosit CD4+ yang berfungsi untuk supresi respon imun.<sup>14,19</sup> Sel ini berfungsi mencegah penyakit autoimun, namun data penelitian pada tikus, limfosit Treg terlihat berkontribusi perkembangan kanker dengan menghambat respon antitumor. Pada pertumbuhan tumor, Treg terakumulasi dalam darah dan organ limfoid. Peran inhibisi dari Treg terhadap respon limfosit T efektor bersifat lokal pada sisi tumor.<sup>19</sup> Peran negatif dari Treg pada kanker ini sulit untuk diverifikasi karena marker dari limfosit Treg pada manusia masih sangat

sedikit, demikian pula mekanisme fungsi supresifnya yang masih belum dapat dipahami dengan baik.<sup>14</sup> Salah satu marker untuk mengidentifikasi limfosit Treg adalah CD3 namun CD3 bersifat *pan lymphocyte T marker* (diekspresikan oleh limfosit Th, Tc dan Treg).<sup>20,21</sup>

Limfosit T autoreaktif yang bermigrasi ke perifer tumor dikontrol oleh sejumlah mekanisme perifer termasuk induksi limfosit Treg. Limfosit Treg CD4+ merupakan salah satu fenotip dari populasi yang berbeda, yang mempunyai profil sekresi sitokin dan mekanisme supresi. Limfosit Treg alami mempunyai kemampuan untuk menekan aktivasi limfosit T pada *cell-contact-dependent*, *IL-10-independent* dan *TGF- $\beta$ -independent*. Keberadaan limfosit Treg CD4+ ditandai dengan ekspresi reseptor rantai  $\alpha$  IL-2 (CD25) dan yang terdapat sekitar 5-10% pada CD4+ perifer individu sehat.<sup>3</sup>

Terdapat dua subset Treg yang dapat dikenali yaitu Treg adaptif atau *induced* (iTreg) dan Treg natural (nTreg). Keduanya berfungsi untuk mempertahankan toleransi terhadap antigen *self* dan mencegah penyakit autoimun atau mencegah adanya respon imun yang tidak tepat dalam menghadapi penyakit misalnya mensupresi limfosit T yang autoreaktif.<sup>10</sup> Limfosit Treg secara efektif mensupresi respon antitumor dari limfosit Tc dan sel imunitas lainnya sehingga dapat mempermudah perkembangan tumor. Selain jumlah CD4 dan CD25, fenotip Treg dibedakan berdasarkan kadar *thymus-derived chemotactic agent 4* (TCA-4), *glucocorticoid-induced tumor necrosis factor-related receptor* (GITR) dan faktor transkripsi FOXP3. Limfosit Treg meningkatkan respon stimulasi antigen dengan adanya TGF $\beta$ , terutama jika tidak ada sinyal inflamasi. Antigen spesifik dari Treg dalam infiltrasi tumor belum diteliti secara luas. Penelitian oleh Wang *et al.* menunjukkan bahwa protein LAGE1 yang dibentuk dari TIL dapat dikenali oleh limfosit Treg spesifik tumor. Selain itu ARTC1 juga teridentifikasi sebagai molekul target dari limfosit Treg.<sup>9</sup>

Limfosit Treg mengekspresikan reseptor kemokin CCR4 pada permukaannya, yang membawa limfosit Treg pada sel tumor melalui kemokin ligan CCL22 yang diproduksi oleh sel-sel tumor. Rasio limfosit T CD8+ intraepithelial dengan limfosit Treg mencerminkan keseimbangan antara efektor dan limfosit Treg dan berperan dalam menentukan prognosis pasien.<sup>9</sup>

Penelitian Chen *et al.* menunjukkan bahwa TGF $\beta$  mempengaruhi akumulasi limfosit Treg CD4+FOXP3+ pada tumor. Pada karsinoma payudara dapat dideteksi adanya imunitas spesifik antigen tumor, sehingga memicu pemikiran bahwa karsinoma payudara merupakan tumor yang bersifat imunogenik. Selain itu juga ditemukan adanya limfosit T reaktif tumor yang berlokasi pada lingkungan mikro dari karsinoma payudara. TGF $\beta$  merupakan sitokin imunosupresif yang potensial untuk merubah limfosit T CD4 naif menjadi limfosit Treg FOXP3.<sup>22,23</sup>

Penelitian West *et al.* menunjukkan bahwa akumulasi limfosit Treg FOXP3 CD4+ dalam tumor diketahui terkait dengan prognosis yang lebih baik pada beberapa jenis kanker. Prognosis baik pada pasien dengan tumor yang diinfiltrasi limfosit Treg FOXP3 densitas tinggi dapat dijelaskan oleh kapasitas limfosit Treg untuk menimbulkan *down-regulasi* proinflamasi. Efek ini terlihat pada tumor yang memicu respon imun akibat stimuli bakteri infeksius, mengalami translokasi melalui *barrier* mukosa dan dipicu oleh subset sel imun proinflamasi, seperti limfosit Th17. Hal ini mungkin menjadi contoh bahwa lingkungan mikro tumor sangat unik dapat membentuk komposisi dan fungsi dari TIL dengan cara yang unik pula. Saat ini FOXP3 merupakan *marker* imunohistokimia yang terbaik yang tersedia untuk pewarnaan untuk mengidentifikasi limfosit Treg.<sup>13</sup>

Pada tipe karsinoma payudara yang berbeda, limfosit T CD8 dan Treg juga mempunyai berpengaruh yang berbeda terhadap kesintasan. Pada karsinoma payudara primer peningkatan jumlah limfosit T CD8+ dan Treg FOXP3+ berhubungan dengan gambaran klinis yang lebih baik dibandingkan dengan pada tumor metastasis.<sup>24</sup> Peningkatan jumlah FOXP3+ pada karsinoma payudara ER+, dihubungkan dengan prognosis yang buruk.<sup>3</sup>

Pada karsinoma payudara duktal menunjukkan total limfosit T CD4+ dan infiltrasi intratumor yang lebih tinggi dibandingkan dengan tumor lobular. Demikian juga dengan jumlah infiltrasi limfosit Treg FOXP3+ intratumor dan stroma, terlihat lebih tinggi pada tumor duktal dibandingkan dengan tumor lobular. Hal yang perlu diperhatikan adalah bahwa terdapat korelasi antara limfosit T CD4+ dengan limfosit T FOXP3+ baik pada tumor duktal maupun pada tumor lobular.<sup>16</sup>

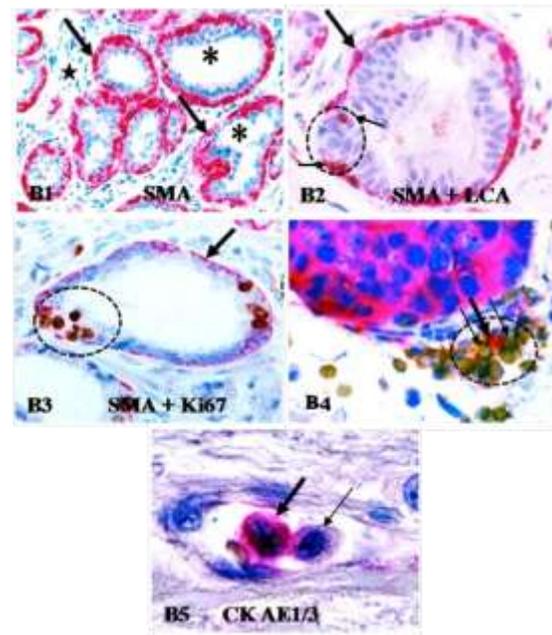
Penelitian Alberto *et al.* menunjukkan bahwa jumlah total limfosit T CD4+ dan FOXP3+ pada karsinoma payudara duktal ER- terlihat lebih tinggi dibandingkan pada ER+. Hal ini berpengaruh pada prognosis pasien, di mana karsinoma payudara ER+ terlihat mempunyai prognosis yang lebih baik dibandingkan dengan tumor ER-.<sup>25</sup> Penelitian oleh West *et al.* juga mendukung hasil penelitian tersebut bahwa limfosit T CD4+ dan FOXP3+ pada karsinoma payudara ER- ditemukan dalam jumlah yang tinggi dibandingkan karsinoma payudara ER+. Hasil yang kontradiktif dari penelitian ini adalah pada penelitian oleh Alberto *et al.* dinyatakan bahwa tingginya kadar limfosit Treg pada karsinoma payudara ER- berhubungan dengan prognosis yang buruk, sedangkan penelitian West *et al.* menghubungkannya dengan prognosis yang baik.<sup>26</sup>

West *et al.* menyatakan bahwa pada karsinoma payudara ER- maupun karsinoma payudara *triple negative*, kadar TIL FOXP3+ yang tinggi mempunyai angka rekurensi yang lebih rendah dan kesintasannya lebih baik. Enam dari tujuh penelitian sebelumnya bertentangan dengan hasil penelitian ini. Hal ini dijelaskan bahwa prognosis buruk pada karsinoma payudara ER- bukan karena tingginya kadar limfosit Treg, namun karena ketiadaan ER. Selain itu penelitian yang dilakukan sebelumnya membandingkan kadar limfosit Treg pada karsinoma payudara ER- dan ER+, sedangkan penelitian oleh West *et al.* bertujuan membandingkan kadar TIL FOXP3+ yang tinggi dengan kadar yang rendah terhadap prognosis karsinoma payudara ER-. Penjelasan lainnya adalah bahwa kadar limfosit Treg yang tinggi juga berhubungan dengan tingginya kadar limfosit Tc yang tinggi di dalam tumor. Hal yang lebih penting ditekankan pada penelitian ini adalah penentuan nilai *cut-off* dari TIL FOXP3+ yang digunakan di dalam penelitian.<sup>26</sup>

Pada ekspresi PR+ tidak terlihat ada perbedaan jumlah TIL FOXP3+, namun pada overekspresi HER2 mempunyai hubungan yang sangat kuat dengan peningkatan jumlah TIL FOXP3+ dan TIL CD4+.<sup>7,21,25,27,28</sup> Pada karsinoma duktal *triple* negatif, ditemukan TIL FOXP3+ dengan jumlah yang tinggi. Pada tumor yang melibatkan KGB ditemukan kadar TIL FOXP3+ yang lebih tinggi dibandingkan dengan tumor tanpa adanya keterlibatan KGB. Pada karsinoma payudara tipe duktal yang mempunyai TIL

CD4+ FOXP3+ kadar tinggi berhubungan dengan derajat histologi dan hilangnya ER. Overekspresi HER2 pada tumor duktal berhubungan dengan peningkatan jumlah infiltrasi FOXP3+ dan hilangnya ekspresi PR berhubungan dengan penurunan infiltrasi CD4+. Terlihat bahwa TIL kadar tinggi pada tumor duktal berhubungan dengan prognosis yang lebih buruk dibandingkan dengan kadar rendah, namun TIL CD4+ ini bukanlah merupakan marker prognostik tunggal.<sup>16</sup>

Pada karsinoma payudara tipe lobular tidak terdapat hubungan antara status reseptor hormon dengan distribusi TIL, di mana tidak terlihat adanya peningkatan infiltrasi TIL FOXP3+. Kesintasan karsinoma payudara lobular tidak berhubungan dengan semua sub tipe TIL, namun dasar molekulernya masih belum diketahui dengan jelas.<sup>16</sup> Yan-gao Man *et al.*, mengumpulkan beberapa hipotesis terbaru tentang peningkatan sel imun yang mempunyai efek progresivitas dan invasi sel tumor pada karsinoma payudara.<sup>15</sup>



Gambar 3. Hipotesis infiltrasi limfosit yang menyimpang memicu kerusakan kapsul dan metastasis tumor. B1. Jaringan payudara normal. Epitel (\*) secara fisik terpisah dari stroma (\*) oleh sebuah kapsul (panah). B2. Degenerasi fokal karena kerusakan kapsul tumor (panah tebal) menarik infiltrasi limfosit (panah tipis) yang menyebabkan kerusakan (lingkaran) di dalam kapsul. B3. Kerusakan fokal pada kapsul (panah) secara selektif mendukung proliferasi *stem cell* (lingkaran). B4. Infiltrasi limfosit ke dalam

kelompok proliferasi sel (panah tebal). Beberapa sel terpisah disatukan oleh limfosit (panah tipis) membentuk TIL *chimeras* (Tc; lingkaran). B5. Limfosit Tc (panah tipis) secara fisik menyeret sel tumor (panah tebal) ke dalam struktur pembuluh darah dan organ jauh selama migrasinya.<sup>15</sup>

Secara garis besar terdapat tiga hipotesis utama dalam penelitian ini, yaitu:<sup>15</sup>

1. *Stem cell* tumor mempunyai co-lokasi di dalam kapsul sel normal, benigna ataupun maligna yang mempertahankan potensinya untuk berproferasi dan berdiferensiasi.
2. Invasi dan metastasis tumor dapat terjadi pada setiap tahapan karsinogenesis jika terjadi kerusakan kapsul fokal pada sisi epitel yang mengandung *stem cell* tumor.
3. Interaksi antara limfosit dengan *stem cell* tumor dapat menyebabkan terjadinya adhesi stabil antara limfosit Tc yang mempermudah terjadinya penyebaran *stem cell* tumor.

Berdasarkan hipotesis ini, kontradiksi peranan TIL pada karsinoma payudara terjadi karena perbedaan stadium dan distribusi dari TIL. TIL primer (Tc, sel NK dan sel mast) harus berkontak secara fisik dengan sel target dalam melaksanakan fungsi sitotoksiknya. Hal ini menyebabkan TIL dapat terlibat pada kerusakan epitel kapsul tumor pada stadium *pre-invasive* yang memudahkan terjadinya invasi tumor ke dalam stroma. Pada sisi lain, kontak fisik dari TIL dengan kapsul tumor akan merusak sel tumor itu sendiri dan menghambat pertumbuhannya. Hal yang penting terkait hipotesis ini adalah pentingnya terapi anti-inflamasi (terutama yang bersifat non-steroid) baik secara lokal maupun sistemik dalam mencegah terjadinya kerusakan kapsul tumor, sehingga invasi dan metastasis tumor dapat dihambat.<sup>15</sup>

**KESIMPULAN**

Hubungan antara TIL dengan prognosis dan kesintasan pada karsinoma payudara tergantung pada subtipe histologis tumor. Masing-masing subtipe TIL mempunyai peranan dalam imunitas tumor. Akumulasi dan supresi berlebihan pada salah satu subtipe TIL mempunyai efek yang kurang baik pada karsinoma payudara. Diperlukan keseimbangan dari setiap subtipe TIL. TIL dapat memberikan efek yang menguntungkan sekaligus juga efek yang merugikan pada karsinoma payudara, namun TIL bukan merupakan marker prognosis tunggal.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Kresno SB. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2010. p. 257-85.
2. Plunkett TA, Correa I, Miles DW, Taylor-Papadimitriou J. Breast cancer and the immune system: Opportunities and pitfalls. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2011; 6: 467-75.
3. Sahar MHM, Emma CP, Desmond GP, Macmillan RD, Lee AHS, Ellis IO, *et al*. An evaluation of the clinical significance of FOXP3+ infiltrating cells in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2010; 127: 99-08.
4. Gisterek I, Frydecka I, Świątoniowski G, Fidler S, Kornafel J. Tumour-infiltrating CD4 and CD8 T lymphocytes in breast cancer. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2008; 13: 205-8.
5. Simonson WTN, Allison KH. Tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: implications for the diagnostic pathologist. *Diag Histopathol*. 2010; 17: 80-90.
6. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and molecular immunology*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012. Chapter 13, Immunity to tumors; p. 389-406.
7. Yu P, Fu YX. Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes? *Lab Invest*. 2006; 86: 231-45.
8. Xu L, Wang C, Wen Z, Zhou Y, Liu Z, Lian Y, *et al*. CpG oligodeoxynucleotides enhance the efficacy of adoptive cell transfer using tumor infiltrating lymphocytes by modifying the Th1 polarization and local infiltration of Th17 cells. *Clin Developmental Immunol*. 2010; 242: 1-11.
9. Sasada T, Suekane S. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: Controversy on clinical significance. *Immunother*. 2011; 3: 1-24.
10. Quatromoni JG, Morris LF, Donahue TR, Wang Y, McBride W, Talal Chatila T, *et al*. T cell receptor transgenic lymphocytes infiltrating murine tumors are not induced to express foxp3. *J Haematol Oncol*. 2011; 4: 1-9.
11. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, Wind A, *et al*. CD4+ follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J Clin Invest*. 2013; 123: 2873-90.
12. Mouawad R, Spano JP, Khayat D. *Lymphocyte Infiltration in Breast Cancer: A*

- Key Prognostic Factor That Should Not Be Ignored. *J Clin Oncol*. 2011; 29: 1-2.
13. Krell J, Frampton AE, Stebbing J. The clinical significance of tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer: does subtype matter? *BMC Cancer*. 2012; 135: 1-3.
  14. Coulie P, Lucas S. Human tumor immunology. *Belgia*; 2013 [cited 2014 Feb 3]. Available from: [http://www.deduveinstitute.be/human\\_tumor\\_immunology.php](http://www.deduveinstitute.be/human_tumor_immunology.php)
  15. Man YG, Stojadinovic A, Mason J, Avital I, Bilchik A, Bruecher B, *et al*. Tumor-Infiltrating Immune Cells Promoting Tumor Invasion and Metastasis: Existing Theories. *J Cancer*. 2013; 4: 84-95.
  16. Droeser R, Zlobec I, Kilic E, Güth U, Heberer M, Spagnoli G, *et al*. Differential pattern and prognostic significance of CD4+, FOXP3+ and IL-17+ tumor infiltrating lymphocytes in ductal and lobular breast cancers. *Biomed Central Cancer*. 2012; 134: 1-10.
  17. Boissonnas A, Licata F, Poupel L, Jacquelin S, Fetler L, Krumeich S, *et al*. Infiltrating T cells are trapped in the tumor-dendritic cell network. *Neoplasia*. 2013; 15: 85-94.
  18. Ahmadzadeh M, Johnson JA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, *et al*. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood*. 2009; 114: 1537-44.
  19. Anz D, Mueller W, Golic M, Kunz WG, Rapp M, Koelzer VH, *et al*. CD103 is a hallmark of tumor-infiltrating regulatory T cells. *Int J Cancer*. 2011; 259: 1-10.
  20. Rathore A, Kumar S, Konwar R, Srivastava A, Makker A, Goel M. Presence of CD3+ tumor infiltrating lymphocytes is significantly associated with good prognosis in infiltrating ductal carcinoma of breast. *Indian J Cancer*. 2013; 50: 239-44.
  21. Koestler DC, Marsit CJ, Christensen BC. Peripheral Blood Immune Cell Methylation Profiles Are Associated with Non hematopoietic Cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012; 21: 1293-302.
  22. Chen X, Yang Y, Zhou Q, Jonathan MW, OlaMae ZH, John MM, *et al*. Effective chemoimmunotherapy with anti-TGFbeta] antibody and cyclophosphamide in a mouse model of breast cancer. *PLoS One*. 2014; 9: 1-14.
  23. Babyshkina N, Malinovskaya E, Stakheyeva M, Volkomorov V, Slonimskaya E, Maximov V, *et al*. Association of functional -509C>T polymorphism in the TGF-beta]1 gene with infiltrating ductal breast carcinoma risk in a russian western siberian population. *Cancer Epidemiol*. 2011; 35: 1-10.
  24. Cimino-Mathews A, Ye X, Meeker A, Argani P, Emens LA. Metastatic triple-negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: A pilot study. *Hum Pathol*. 2013; 44: 2055-63.
  25. West NR, Kost SE, Martin SD, Milne K, deLeeuw RJ, Nelson BH, *et al*. Tumour-infiltrating FOXP3+ lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer. *British J Cancer*. 2013; 108: 155-62.
  26. Calabro A, Beissbarth T, Kuner R, Stojanov M, Benner A, Asslaber M, *et al*. Effects of infiltrating lymphocytes and estrogen receptor on gene expression and prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009; 116: 69-77.
  27. West NR, Milne K, Truong PT, Macpherson N, Nelson BH, Watson PH. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to anthracycline-based chemotherapy in estrogen receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2011; 13: 1-13.
  28. Cao AY, He M, Huang L, Shao ZM, Di GH. Clinicopathologic characteristics at diagnosis and the survival of patients with medullary breast carcinoma in China: a comparison with infiltrating ductal carcinoma-not otherwise specified. *World J Surg Oncol*. 2013; 91: 1-9.