

Analisis Imunoekspresi Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) dan Indeks Proliferasi Ki-67 pada Tumor Astrositik Difus

*Billy Parulian Lubis, *Hasrayati Agustina, *Hermin Aminah Usman,
*Bethy Surjawathy Hernowo, *Sri Suryanti, **Ahmad Faried, **Hendrikus Bolly

*Departemen Patologi Anatomi, ** Departemen Ilmu Bedah Saraf
Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran
Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin
Bandung

Penulis korespondensi: dr. Hasrayati Agustina, SpPA(K).
Departemen Patologi Anatomi, RSUP Dr. Hasan Sadikin/Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran
Jl. Pasteur No. 38, Bandung 40161.
e-mail: hasrayati@yahoo.com; hasrayati@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang

Tumor astrositik difus (TAD) merupakan tumor astrositoma difus yang infiltratif disertai dengan parameter molekular berupa ada atau tidaknya mutasi gen Isositrat Dehidrogenase (IDH). Kategori TAD tanpa disertai pemeriksaan mutasi gen IDH diklasifikasikan sebagai *Not Otherwise Specified* (NOS). Ki-67 merupakan penanda untuk melihat proliferasi TAD sehingga dapat menilai derajat TAD. Perilaku TAD dipengaruhi oleh kemampuan proliferasi serta adanya *tumor microenvironment*. Faktor *tumor microenvironment* PD-L1 mempengaruhi perilaku TAD dan memungkinkan pengembangan terapi target pada kasus TAD. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara imunoekspresi PD-L1 dan Ki-67 pada derajat histopatologi TAD.

Metode

Penelitian potong lintang pada 30 blok parafin kasus TAD NOS sejak tahun 2014-2018 di Departemen Patologi Anatomi RSUP dr. Hasan Sadikin, Bandung. Sampel terdiri atas 15 kasus derajat II, 7 kasus derajat III, dan 8 kasus derajat IV yang dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan GFAP, PD-L1 dan Ki-67. Penilaian imunoekspresi PD-L1 dilakukan dengan metode histoscore. Penilaian Ki-67 dinilai berdasarkan distribusinya yaitu <10% dan ≥10%. Imunoekspresi PD-L1 dan Ki-67 dengan derajat histopatologi pada TAD dianalisis secara statistik dengan uji Kolmogorov Smirnov, sedangkan hubungan imunoekspresi PD-L1 dan imunoekspresi Ki-67 dinilai dengan uji *chi-square*.

Hasil

Terdapat hubungan yang signifikan antara imunoekspresi PD-L1 dengan derajat histopatologi pada TAD ($p=0.005$). Terdapat hubungan yang signifikan antara imunoekspresi Ki-67 dengan derajat histopatologi TAD dan dengan PD-L1 ($p=0.001$ dan $p=0.010$).

Kesimpulan

Imunoekspresi PD-L1 dan tingkat proliferasi mempengaruhi derajat TAD. Tingkat proliferasi TAD dipengaruhi oleh PD-L1 sehingga pada penelitian ini, PD-L1 dan Ki-67 dapat digunakan sebagai salah satu penanda prediktor prognosis.

Kata kunci : derajat histopatologi, Ki-67, PD-L1, tumor astrositik difus.

Analysis of Immunoexpression of Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) and Proliferation Index Ki-67 on Diffuse Astrocytic Tumours (DAT)

ABSTRACT

Background

Diffuse astrocytic tumours (DAT) is a diffuse infiltrative astrocytoma tumor accompanied by molecular parameters in the form or absence of Isocitrate Dehydrogenase (IDH) gene mutations. The DAT category without the examination of the IDH gene mutation is classified as *Not Otherwise Specified* (NOS). Ki-67 is a marker for DAT proliferation so that it can assess the degree of DAT. Diffuse astrocytic tumours behavior is influenced by proliferative ability and the presence of a tumor microenvironment. The tumor microenvironment PD-L1 factor influences DAT behavior and allows the development of target therapy in DAT cases. This study aimed to analyze the relationship between PD-L1 and Ki-67 immunoexpression in the histopathological degree of DAT.

Methods

Cross-sectional study of 30 paraffin blocks of DAT NOS cases from 2014-2018 in the Department of Anatomical Pathology RSUP dr. Hasan Sadikin, Bandung. The sample consisted of 15 cases of grade II, 7 cases of grade III and 8 cases of grade IV, carried out immunohistochemical staining with GFAP, PD-L1 and Ki-67. Assessment of PD-L1 immunoexpression was carried out by the histoscore method. The Ki-67 assessment was assessed based on its distribution, which was <10% and ≥10%. PD-L1 and Ki-67 immunoexpression with histopathological degrees in DAT were statistically analyzed by Kolmogorof Smirnov test, however association between immunoexpression of PD-L1 and Ki-67 were analyzed by chi-square test.

Results

There was a significant relationship between PD-L1 immunoexpression and histopathological degree in DAT ($p=0.005$). There was a significant relationship between Ki-67 immunoexpression and DAT histopathology degree and with PD-L1 ($p=0.001$ and $p=0.010$).

Conclusion

PD-L1 immunoexpression and proliferation rates affect the degree of DAT. Proliferation rate of DAT is influenced by PD-L1 so that in this study, PD-L1 and Ki-67 can be used as a marker of prognosis predictors.

Key words : histopathological degree, Ki-67, PD-L1, diffuse astrocytic tumours.

PENDAHULUAN

Tumor astrositik difus (TAD) adalah tumor astrositoma difus yang infiltratif dan disertai dengan parameter molekular berupa ada tidaknya mutasi gen *Isocitrate Dehydrogenase* (IDH).¹ Kategori TAD tanpa disertai pemeriksaan mutasi gen IDH diklasifikasikan sebagai *Not Otherwise Specified* (NOS).¹ Berdasarkan data GLOBOCAN *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2018, insidensi tumor otak dan sistem saraf menempati urutan keenam belas dan kematian karena tumor ini menempati urutan ketiga belas di Indonesia.² Di Korea Selatan, tipe histopatologi glioma urutan pertama yaitu glioblastoma (46,2%), kemudian astrositoma *not otherwise specified* (NOS) (7,2%), dan anaplastik astrositoma (7,1%).³ Secara histopatologi, pembagian derajat tumor astrositik difus dibagi berdasarkan pada gambaran morfologi sel tumor, gambaran inti sel, indeks mitosis dan ada tidaknya proliferasi mikrovaskular dan atau nekrosis sehingga dapat dibagi menjadi derajat II, III, dan IV.¹ Pada gambaran morfologi, TAD terdiri atas astrositoma difus dan gemistositik difus sebagai variannya (derajat II), anaplastik astrositoma (derajat III), dan glioblastoma (derajat IV).¹

Programmed death ligand 1 (PD-L1) merupakan ligan reseptor trans-membran dan sinyal regulator negatif sel T yang meningkat pada beberapa tumor termasuk glioma dan berikatan dengan dengan *Programmed death 1* (PD-1) pada sel T, sel B, sel dendritik dan *natural killer T cells*, membuat sel tumor memiliki mekanisme untuk dapat menghindari serangan imunitas sampai terjadinya supresi pada sel-sel imun.^{4,5} Ekspresi PD-L1 berhubungan dengan proliferasi sel tumor pada glioma dan ditemukan pula pada kanker payudara.⁴ Perilaku TAD dipengaruhi oleh tingkat proliferasi dan *tumor microenvironment*, terdiri atas sel-sel yang berproliferasi, stroma tumor, pembuluh darah, infiltrasi sel-sel inflamasi dan berbagai sel-sel jaringan yang terkait.⁶

Pemberian terapi tumor astrositik difus saat ini berupa operasi, radioterapi dan kemo-terapi, meskipun menampakkan kemajuan tetapi kelangsungan hidup pasien secara keseluruhan masih rendah. Salah satu penyebabnya adalah mekanisme tumor yang menekan respon imun dengan cara menurunkan presentasi antigen, meningkatkan protein anti inflamasi, dan mempromosikan perluasan sel efektor immuno-

supresif.⁴ Saat ini telah dikembangkan immuno-terapi yang telah menjadi salah satu terapi baru untuk terapi kanker. Salah satunya adalah target *immune checkpoint* dari imunoterapi anti kanker dengan antibodi PD-1 dan ligannya *Programmed death ligand 1* (PD-L1), merupakan salah satu modalitas terapi untuk *Non-small cell lung cancer* (NSCLC).⁷

Penanda proliferasi Ki-67 merupakan antigen inti sel yang terekspresi pada fase G1, S, G2, dan M pada siklus sel dan tidak terekspresi pada saat fase istirahat.⁸ Pada tumor astrositik difus, Ki-67 digunakan sebagai indeks proliferasi sel tumor dalam penentuan derajat histopatologi yang bertujuan memprediksi perilaku biologis tumor dan prognosis bagi pasien.⁹ Pada penelitian Stoyanov dkk.(2017), didapatkan hasil yang berbeda yaitu persentase rata-rata Ki-67 tidak dapat digunakan dalam menentukan derajat histopatologi pada tumor astrositoma, meskipun beberapa penelitian lainnya melaporkan hasil yang berbeda.¹⁰

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara PD-L1 dan indeks proliferasi Ki-67 pada derajat histopatologi TAD. Adanya peran PD-L1 dan indeks proliferasi Ki-67 pada derajat histopatologi TAD, maka diharapkan ekspresi PD-L1 dan Ki-67 dapat digunakan sebagai salah satu prediktor prognosis pada TAD.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian ini berupa 30 blok parafin kasus TAD NOS yang memiliki data rekam medis yang lengkap di Departemen/Instalasi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung selama periode 1 Januari 2014 sampai 20 Desember 2018.

Desain penelitian ini berupa observasional analitik dengan rancangan potong lintang. Penentuan derajat histopatologi TAD ditentukan melalui pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin-eosin berdasarkan morfologi sel tumor, gambaran inti sel, dan ada tidaknya proliferasi mikrovaskular dan atau nekrosis, sehingga didapatkan derajat II, III, dan IV sebanyak 15, 7, dan 8 kasus. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi GFAP, PD-L1, dan Ki-67 pada seluruh sampel penelitian. Penanda GFAP digunakan untuk mendukung diagnosis TAD. Masing-masing blok parafin dipotong setebal 4 mikron dan

selanjutnya dilakukan deparafinisasi dengan xylol dan alkohol. Pulasan imunohistokimia menggunakan metode *labeled streptavidin biotin immunoperoxide complex* dengan antibodi monoklonal GFAP klon GA-5 (Biocare) dengan dilusi 1/150, antibodi monoklonal PD-L1 klon 28-8 (Abcam) dengan dilusi 1/200 dan antibodi monoklonal Ki-67 klon SP6 (Cell Marque) dengan dilusi 1/100.

Imunoekspresi PD-L1 tampak pada terwarnainya membran dan atau sitoplasma sel menjadi warna coklat. Imunoekspresi Ki-67 terlihat pada terwarnainya inti sel (nukleus) dengan warna coklat. Imunoekspresi PD-L1 dinilai berdasarkan distribusi dan intensitas dengan skor distribusi sebagai berikut: negatif (0), <20% (1), 20-50% (2), 50-80% (3), >80% (4) dan skor intensitas sebagai berikut: negatif (0), lemah (1), sedang (2), kuat (3). Histoskor merupakan perkalian skor distribusi dan intensitas dengan skor 0-4 dikategorikan rendah dan 6-12 dikategorikan tinggi.¹¹ Indeks proliferasi rendah (ekspresi Ki-67 positif) bila <10% inti sel terpulas coklat dan dinilai tinggi bila ≥10% inti sel terpulas coklat.¹² Analisis statistik yang digunakan adalah uji *chi-square* dengan alternatif uji *Kolmogorov Smirnov* dan *Exact Fisher* apabila syarat dari *chi-square* tidak terpenuhi dengan batas kemaknaan $p < 0,05$ untuk mengetahui hubungan antara ekspresi PD-L1 dan Ki-67 pada derajat histopatologi tumor astrositik difus.

HASIL PENELITIAN

Pada 30 sampel penelitian ini menunjukkan rentang umur pasien TAD antara 15-73 tahun dengan rerata 44 tahun. Jenis kelamin terbanyak pada pasien TAD adalah jenis kelamin laki-laki sebanyak 21 orang (70%). Ukuran tumor pada TAD antara 2-8 sentimeter dengan rerata 4,9 sentimeter (Tabel 1).

Pada pulasan imunohistokimia PD-L1 dengan penilaian modifikasi histoskor, menunjukkan kategori rendah (skor 0-4) sebanyak 14 (46,7%) kasus dan kategori tinggi sebanyak 16 (53,3%) kasus (tabel 1). Pada pulasan imunohistokimia Ki-67 kategori rendah (<10%) sebanyak 19 (63,3%) kasus dan kategori tinggi (≥10%) sebanyak 11 (36,7%) kasus (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik	Σ Kasus (N=30)	%
Usia		
Mean±Std	44,33±15,146	
Range (min-max)	15,00-73,00	
Jenis Kelamin		
Laki-laki	21	70
Perempuan	9	30
Ukuran tumor (sentimeter)		
Mean±Std	4,90±1,5971	
Median	5,00	
Range (min-max)	2,00-8,00	
Ekspresi PD-L1(histoskor)		
Rendah	14	46,7
Tinggi	16	53,3
Ekspresi Ki-67		
<10%	19	63,3
≥10%	11	36,7

Tabel 2 menunjukkan hubungan antara PD-L1 dengan derajat TAD. Berdasarkan data tersebut didapatkan hasil yang signifikan. Uji *Kolmogorov Smirnov* untuk mengetahui hubungan antara ekspresi PD-L1 pada kelompok derajat histopatologi TAD didapat nilai $p < 0,05$ ($p = 0,005$); berarti menunjukkan hubungan yang bermakna.

Tabel 2. Hubungan antara PD-L1 dengan kelompok derajat histopatologi tumor astrositik difus.

Variabel	Derajat histopatologi tumor astrositik difus			Nilai p
	Derajat II n=15	Derajat III n=7	Derajat IV n=8	
Imunoekspresi PD-L1				0,005**
Rendah	11 (73,3%)	0 (0,0%)	3 (37,5%)	
Tinggi	4 (26,7%)	7 (100,0%)	5 (62,5%)	

Pada Tabel 3 imunoekspresi indeks proliferasi Ki-67 pada TAD tampak meningkat sesuai dengan tingkat derajatnya. Berdasarkan hasil uji statisik *Kolmogorov Smirnov* untuk mengetahui hubungan antara ekspresi Ki-67 pada kelompok derajat histopatologi TAD, didapatkan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,001$); berarti menunjukkan hubungan yang bermakna.

Tabel 3. Hubungan antara Indeks proliferasi Ki-67 dengan kelompok derajat histopatologi tumor astrositik difus.

Variabel	Derajat histopatologi tumor astrositik difus			Nilai P
	Derajat II N=15	Derajat III N=7	Derajat IV N=8	
Ki67				0,001**
Positif <10%	14 (93,3%)	4 (57,1%)	1,(12,5%)	
Positif ≥10%	1 (6,7%)	3 (42,9%)	7,(87,5%)	

PENELITIAN

Analisis Imunoekspresi Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) dan Billy Parulian Lubis dkk

P-ISSN 0215-7284

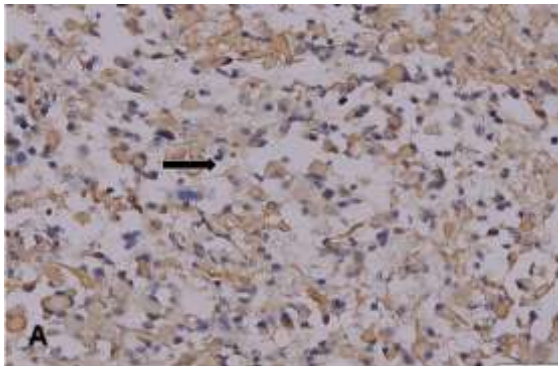
e-ISSN 25279106

Terakreditasi KEMENRISTEKDIKTI/Sinta-3

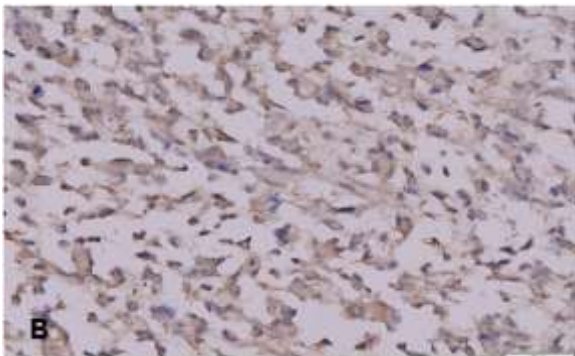
Pada Tabel 4 imunoekspresi PD-L1 dengan imunoekspresi Ki-67 pada TAD didapatkan hasil yang signifikan. Uji *chi-square* untuk mengetahui hubungan antara ekspresi PD-L1 pada kelompok persentase Ki-67 pada TAD didapat nilai $p < 0,05$ ($p = 0,010$); berarti menunjukkan hubungan yang bermakna.

Tabel 4. Perbandingan antara ekspresi PD-L1 dan kelompok persentase Ki-67 pada tumor astrositik difus.

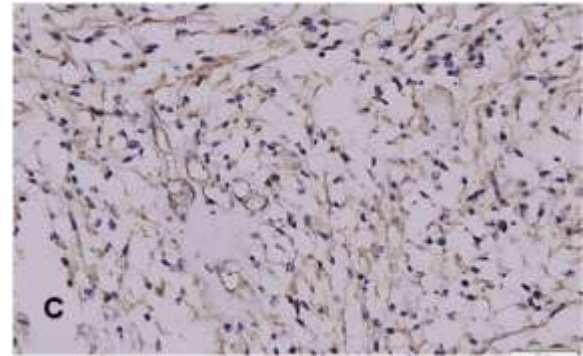
Variabel	Persentase Ki-67		Nilai p
	<10% N=16	>10% N=14	
Kategori histoskor PD-L1			0,010**
Rendah (0-4)	11 (68,8%)	3 (21,4%)	
Tinggi (6-12)	5 (31,3%)	11 (78,6%)	



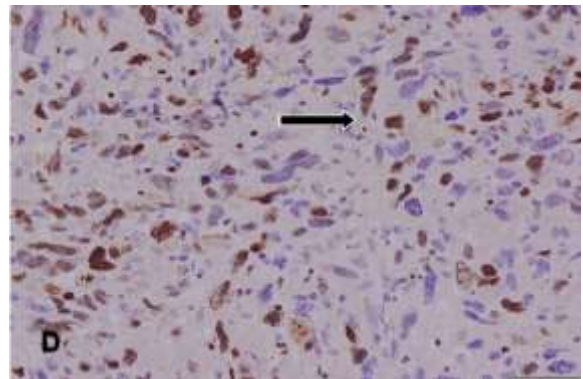
Gambar A. Imunoekspresi PD-L1 intensitas kuat >80% pada glioblastoma (derajat IV). Imunoekspresi PD-L1 pada membran dan atau sitoplasma pada sel tumor terpulas coklat (imunohistokimia, 200x)



Gambar B. Imunoekspresi PD-L1 intensitas sedang >80% pada Anaplastik astrositoma (derajat III) (imunohistokimia, 200x)



Gambar C. Imunoekspresi PD-L1 intensitas lemah 20-50% pada astrositoma difus (derajat II) (imunohistokimia, 200x).



Gambar D. Imunoekspresi Ki-67 $\geq 10\%$ pada glioblastoma (derajat IV). Imunoekspresi Ki-67 pada inti sel tumor terpulas coklat (imunohistokimia, 200x)

DISKUSI

Berdasarkan klasifikasi WHO mengenai tumor susunan saraf pusat (2016), tumor astrocytic difus (TAD) merupakan salah satu bagian dari glioma terdiri atas astrositoma difus, anaplastik astrositoma, dan glioblastoma dengan disertai ada tidaknya gambaran molekuler berupa mutasi isositrat dehidrogenase (IDH) atau tipe *wild type*.^{1,13} Pada penelitian ini seluruh kasus merupakan TAD NOS, karena tidak dilakukan pemeriksaan mutasi IDH. Usia pada tumor astrositik difus pada II dan III hampir sama yaitu rata-rata 38 tahun dan pada derajat IV yaitu usia rata-rata lebih dari 55 tahun.¹ Angka kejadian tumor astrositik difus pada jenis kelamin laki-laki lebih banyak dibandingkan dengan perempuan.^{1,14} Pada penelitian ini didapatkan usia rerata pada tumor astrositik difus adalah 43 tahun dengan angka kejadian lebih sering terjadi pada laki-laki (70%) dibandingkan dengan perempuan. Penilaian ukuran tumor astrositik

difus pada pemeriksaan pencitraan berguna sebagai salah satu indikator faktor resiko dalam menilai prognosis pasien. Bila ukuran tumor ≥ 6 cm, maka mempunyai prognosis yang buruk ditambah dengan faktor resiko yang lainnya.¹⁵

Imunoekspresi PD-L1 berbeda-beda berdasarkan derajatnya pada tumor astrositik difus, terutama ekspresi PD-L1 akan semakin meningkat secara signifikan terutama pada glioblastoma (derajat IV).¹⁶ Menurut Wang dkk.(2016), ekspresi yang tinggi pada PD-L1 terlihat pada tumor astrositik difus derajat IV dibandingkan derajat II dan III.¹⁷ Ekspresi PD-L1 sebagai mekanisme supresi imun yang meningkat pada banyak jenis sel kanker, seringkali berhubungan dengan prognosis pasien yang buruk dan menjadi prediktor dari respon antibodi terhadap PD-1/PD-L1.¹⁸ Pada penelitian ini, ekspresi PD-L1 kategori tinggi pada tumor astrositik difus derajat II, III, dan IV adalah 26,7%, 100%, dan 62,5%. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Wang dkk.(2016). Imunoekspresi PD-L1 yang tinggi bisa didapatkan pada tumor astrositik derajat rendah (derajat II) bila status molekular pada tumor astrositik difus merupakan tipe *wild-type*.¹⁶

Indeks proliferasi yang tinggi berhubungan dengan astrositoma derajat tinggi dan rendahnya angka kesintasan hidup.¹⁹ Nilai Ki-67 yang lebih dari 10% merupakan nilai *cut off* yang dapat diterima untuk mengindikasikan adanya potensi ke arah keganasan dan prognosis yang lebih buruk, sehingga penilaian Ki-67 dapat menjadi indikator prognostik potensial dan penentuan derajat untuk astrositoma.^{8,19} Penilaian Ki-67 menjadi sangat penting karena didapatkan interpretasi dan variasi penilaian yang berbeda-beda pada beberapa penelitian.⁸ Penilaian Ki-67 menurut WHO pada TAD derajat II, III, dan IV yaitu <4%, 5-10%, dan 15-20%.^{1,20} Penggunaan nilai *cut off* 10% dapat digunakan untuk penilaian derajat pada TAD.⁸ Pada penelitian ini didapatkan bahwa penilaian Ki-67 secara semi kuantitatif dengan nilai *cut off* 10% pada derajat TAD memberikan hasil yang signifikan.

Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) berhubungan erat dengan derajat patologi dari tumor astrositik difus dan protein ini terlibat pada angiogenesis, proliferasi dan invasi yang berhubungan dengan progresi ganas tumor astrositik difus.⁴ Ekspresi PD-L1 yang tinggi

pada adenokarsinoma subtipe histologi predominan solid paru, dan berhubungan dengan indeks proliferasi Ki-67.²¹ Ekspresi PD-L1 berhubungan dengan *epithelial-to-mesenchymal transition* (EMT) yang berhubungan erat dengan proliferasi dan sifat agresif tumor yaitu invasi dan migrasi yang berpotensi pada metastasis.^{21,22} Pada penelitian Qiu dkk (2018), PD-L1 intrinsik meningkatkan proliferasi sel dan ekspresi gen yang diubah PD-L1 dalam regulasi positif kaskade MAPK, transduksi sinyal protein RAS dalam kaskade Erk1 dan Erk2 menunjukkan peran utama sinyal Ras-MAPK pada glioblastoma serta mengaktifasi EMT melalui jalur sinyal dependen MEK-Erk yang menyebabkan terjadinya proliferasi, migrasi dan invasi.²³ Hubungan tersebut terbukti pada penelitian ini berupa hubungan yang signifikan antara imunoekspresi PD-L1 dan Ki-67 pada TAD. Hasil pada penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya. PD-L1 terlibat pada proliferasi sel dan progresi tumor yang keduanya menyebabkan prognosis menjadi buruk.²⁴ Peningkatan PD-L1 dikarenakan disfungsi CD8 pada sel T, ditambah dengan transisi EMT dapat meningkatkan kemampuan metastasis.²⁴

KESIMPULAN

Imunoekspresi PD-L1 dan tingkat proliferasi mempengaruhi derajat TAD. Tingkat proliferasi TAD dipengaruhi oleh PD-L1 sehingga pada penelitian ini, PD-L1 dan Ki-67 dapat digunakan sebagai salah satu penanda prediktor prognosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. David N. Louis Hiroko OOD, Wiestler Webster K., Cavenee. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. 4th ed. 150 Cours Albert Thomas, 69372 Lyon Cedex 08, France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2016.
2. WHO IARC. Population Fact Sheets of Cancer In Indonesia. 2018. Indonesia-Global Cancer Observatory. PDF.gco.iarc.fr > 360-indonesia-fact-sheets.
3. Dho Y-S, Jung K-W, Ha J, Seo Y, Park C-K, Won Y-J, et al. An updated nationwide epidemiology of primary brain tumors in Republic of Korea, 2013. Brain tumor research and treatment. 2017;5:16-23.
4. Xue S, Hu M, Li P, Ma J, Xie L, Teng F, et al. Relationship between expression of PD-L1 and tumor angiogenesis, proliferation,

- and invasion in glioma. *Oncotarget*. 2017;8:49702.
5. Liu Y, Carlsson R, Ambjørn M, Hasan M, Badn W, Darabi A, *et al*. PD-L1 expression by neurons nearby tumors indicates better prognosis in glioblastoma patients. *J Neurosci*. 2013;33:14231-45.
 6. Whiteside TL. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene*. 2008;27:5904-12.
 7. Tsao MS, Le Teuff G, Shepherd F, Landais C, Hainaut P, Filipits M, *et al*. PD-L1 protein expression assessed by immunohistochemistry is neither prognostic nor predictive of benefit from adjuvant chemotherapy in resected non-small cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2017;28:882-9.
 8. Das B, Raj KV, Atla B. Clinicohistopathological study of astrocytomas along with Ki-67 proliferative index. *Int J Res Med Sci*. 2018; 6: 665-70.
 9. Thotakura M, Tirumalasetti N, Krishna R. Role of Ki-67 labeling index as an adjunct to the histopathological diagnosis and grading of astrocytomas. *J Cancer Res Ther*. 2014; 10: 641-5.
 10. Stoyanov GS, Dzhankov DL, Kitanova M, Donev IS, Ghenev P. Correlation between Ki-67 index, World Health Organization grade and patient survival in glial tumors with astrocytic differentiation. *Cureus*. 2017;9(6):1-9.e1396. doi: 10.7759/cureus.1396.
 11. Muenst S, Schaeferli A, Gao F, Däster S, Trella E, Droese R, *et al*. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146:15-24.
 12. Fitriana, Fauziah D. Ekspresi Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) dan Ki-67 pada Astrocitoma. *Maj Patol Indones*. 2015; 24(3): 6-11.
 13. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, Von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, *et al*. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016;131:803-20.
 14. Dong X, Noorbakhsh A, Hirshman BR, Zhou T, Tang JA, Chang DC, *et al*. Survival trends of grade I, II, and III astrocytoma patients and associated clinical practice patterns between 1999 and 2010: A SEER-based analysis. *Neurooncol Pract*. 2015;3:29-38.
 15. Rossio Medina Barrionuevo HLJB, Alejandro Ibañez, Luis Medina Pérez. Systemic treatment of tumors of the central nervous system: case report and extensive literature review. *Bolivia*: 2018.
 16. Heiland DH, Haaker G, Delev D, Mercas B, Masalha W, Heynckes S, *et al*. Comprehensive analysis of PD-L1 expression in glioblastoma multiforme. *Oncotarget*. 2017; 8: 42214-25.
 17. Wang Z, Zhang C, Liu X, Wang Z, Sun L, Li G, *et al*. Molecular and clinical characterization of PD-L1 expression at transcriptional level via 976 samples of brain glioma. *Oncoimmunology*. 2016;5(11):e1196310. doi: 10.1080/2162402X.2016.1196310.
 18. Chen J, Jiang C, Jin L, Zhang X. Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol*. 2015; 27: 409-16.
 19. Tavares CB, Gomes FdCSA, Sousa BEB, de Oliveira Brito JNP. Expression of Ki-67 in Low-Grade and High-Grade Astrocytomas. A Literature Review. *J Bras Neurocirurg*. 2016;27:225-30.
 20. David N. Louis HO, Otmar D. Wiestler, Webster K. Cavenee. WHO Classification of Tumours of The Central Nervous System. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2007.
 21. Shimoji M, Shimizu S, Sato K, Suda K, Kobayashi Y, Tomizawa K, *et al*. Clinical and pathologic features of lung cancer expressing programmed cell death ligand 1 (PD-L1). *Lung Cancer*. 2016;98:69-75.
 22. Chen RQ, Liu F, Qiu XY, Chen XQ. The prognostic and therapeutic value of PD-L1 in glioma. *Front Pharmacol*. 2019;9:1503. doi: 10.3389/fphar.2018.01503.
 23. Qiu XY, Hu DX, Chen W-Q, Chen RQ, Qian SR, Li CY, *et al*. PD-L1 confers glioblastoma multiforme malignancy via Ras binding and Ras/Erk/EMT activation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;1864:1754-69.
 24. Kim JM, Chen DS. Immune escape to PD-L1/PD-1 blockade: seven steps to success (or failure). *Ann Oncol*. 2016; 27: 1492-504.