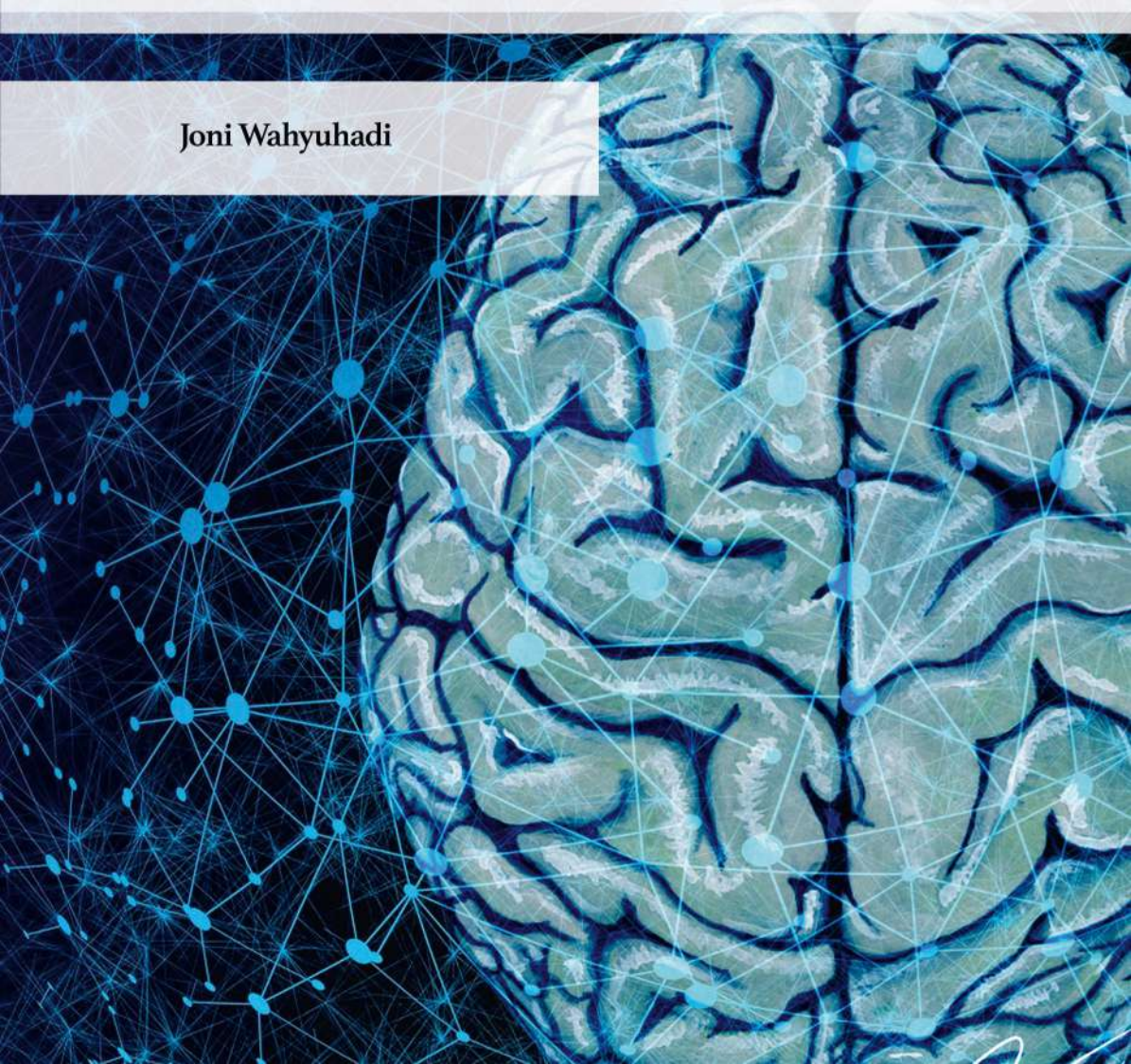




IMPLIKASI KLINIS PENGGUNAAN IMUNOTERAPI PADA KASUS GLIOBLASTOMA

Buku Referensi Ilmu Bedah Saraf
Berdasarkan Riset Dasar, Riset Klinis, dan Riset Pustaka Sistematis Penulis

Joni Wahyuhadi



**IMPLIKASI KLINIS PENGGUNAAN IMUNOTERAPI
PADA KASUS GLIOBLASTOMA**

Pasal 113 Undang-undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta:

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/ atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/ atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

IMPLIKASI KLINIS PENGGUNAAN IMUNOTERAPI PADA KASUS GLIOBLASTOMA

Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)



IMPLIKASI KLINIS PENGGUNAAN IMUNOTERAPI PADA KASUS GLIOBLASTOMA

Joni Wahyuhadi

ISBN 978-602-473-680-4

1038-0221

© 2020 Penerbit **Airlangga University Press**

Anggota IKAPI dan APPTI Jawa Timur

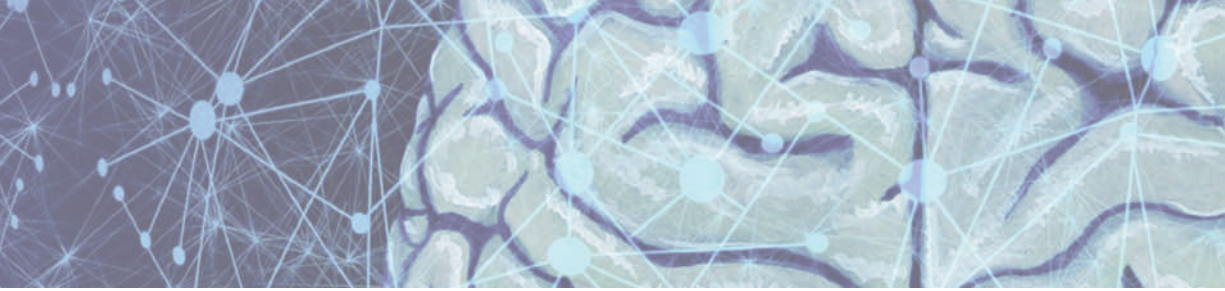
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115

E-mail: adm@aup.unair.ac.id

Layout (Djaiful)

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.

Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.



Prakata

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

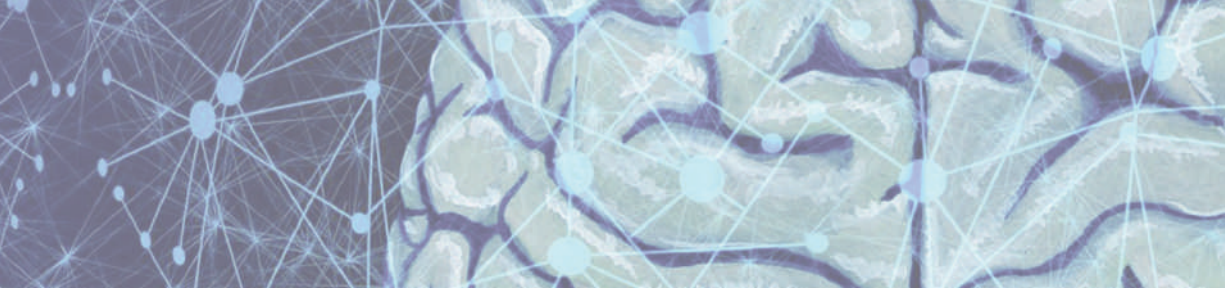
Puji syukur saya panjatkan ke Hadirat Allah Swt., karena hanya berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya-lah saya telah berhasil menyelesaikan buku ini, dengan judul “Implikasi Klinis Penggunaan Imunoterapi pada Kasus Glioblastoma”. Mengingat kemajuan ilmu dan teknologi yang tak dapat dibendung, maka wajarlah jika berbagai macam perubahan dan perkembangan terjadi pada bidang ilmu kedokteran yang bersifat dinamis. Penyusunan buku ini merupakan suatu langkah maju untuk menjawab tantangan di bidang pelayanan, pendidikan, penelitian, dan pengembangan. Mengingat tingginya angka penderita tumor otak dan rendahnya angka kelangsungan hidup penderita tumor otak, maka pembahasan mengenai tumor otak harus terus dilakukan. Baik dari pengkajian mengenai patofisiologi beserta biomolekuler terkait, pembahasan mengenai diagnosis, serta dibutuhkan pula pengkajian

mendalam mengenai tata laksana. Buku ini disusun berdasarkan *evidence base medicine* yang mampu memberikan pandangan lebih dalam mengenai glioblastoma dan tata laksana imunoterapi. Harapan besar saya, semoga hasil kerja keras ini mampu memberikan manfaat besar terutama bagi para tenaga medis khususnya di bidang bedah saraf. Saya pribadi menyadari akan ketidaksempurnaan buku ini. Maka dari itu, saran dan kritik yang membangun sangat saya harapkan untuk pengembangan di masa kini dan seterusnya.

Akhir kata, semoga buku ini dapat bermanfaat sebesar-besarnya, terutama bagi ilmu bedah saraf.

Surabaya, 25 November 2020

Dr. dr. Joni Wahyuhadi Sp.BS(K)



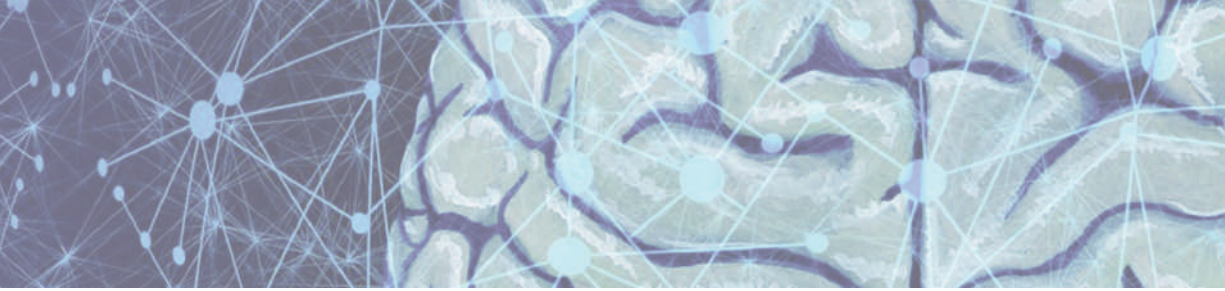
Daftar Isi

Prakata	v
Daftar Gambar dan Tabel	xi
Daftar Singkatan	xii
Daftar Riset Penulis	xv
Bab 1 Situasi dan Permasalahan Glioblastoma di Dunia dan di Indonesia	
1.1 Pendahuluan.....	1
1.2 Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	2
Situasi dan Permasalahan Glioblastoma di Dunia	3
Insiden Glioblastoma Menurut Subtipe Histologis	4
Angka Kelangsungan Hidup Berdasar Tipe Histologi	5
Insiden Glioblastoma Berdasarkan Kelompok Usia	5
Glioblastoma pada Anak	7

Insiden Glioblastoma Berdasarkan Ras dan Jenis Kelamin..	8
Situasi Epidemiologi Glioblastoma di Indonesia	9
1.3 Kesimpulan.....	11
1.4 Tindak Lanjut	11
Referensi.....	12
Bab 2 Pendekatan Biomolekuler pada Penegakan	
Kasus Glioblastoma	15
2.1 Pendahuluan.....	15
2.2 Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	16
2.3 Kesimpulan.....	25
2.4 Tindak Lanjut	25
Referensi.....	26
Bab 3 Pengaruh Mekanisme Imunosupresif pada	
Glioblastoma terhadap Proses Modalitas Imunoterapi...	29
3.1 Pendahuluan.....	29
3.2 Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	31
Regulasi Sistem Imun pada Glioblastoma	31
Faktor-Faktor Imunosupresif yang Tersekresi pada	
Glioblastoma.....	33
Faktor-Faktor Imunosupresif pada Permukaan Sel Glioma	35
Sel-Sel Imunosupresif pada Lingkungan Mikro Glioma..	35
3.3 Kesimpulan.....	38
3.4 Tindak Lanjut	38
Referensi.....	39
Bab 4 Perkembangan Imunoterapi pada Glioblastoma	43
4.1 Pendahuluan.....	43
4.2 Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	43
Awal Perkembangan Imunoterapi.....	44
Perkembangan Imunoterapi Saat Ini.....	49
4.3 Kesimpulan.....	50

4.4 Tindak Lanjut	50
Referensi.....	50
Bab 5 Modalitas Imunoterapi Jenis Vaksin pada	
Glioblastoma	53
5.1 Pendahuluan.....	53
5.2 Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	59
5.3 Kesimpulan.....	64
5.4 Tindak Lanjut	64
Referensi.....	65
Bab 6 Modalitas Imunoterapi Jenis Viral Onkolitik pada	
Glioblastoma	69
6.1 Pendahuluan.....	69
6.2 Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	71
Virus Herpes Simpleks.....	72
Adenovirus (AdV).....	74
Newcastle Disease Virus (NDV).....	76
Reovirus	76
Virus Vaccinia	77
Poliovirus	79
Virus Campak	79
Virus Stomatitis.....	80
Autonomous Parvovirus	81
Virus Myxoma.....	82
Seneca Valley Virus	82
Virus Sindbis Alfavirus	83
6.3 Kesimpulan.....	84
6.4 Tindak Lanjut	85
Referensi.....	85

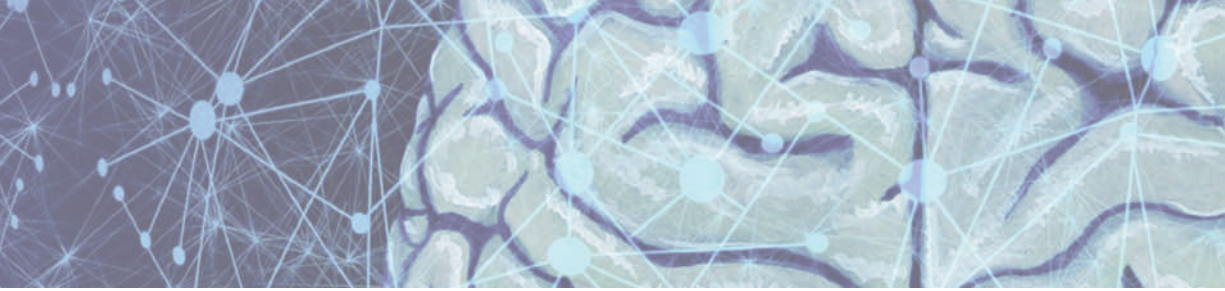
Bab 7	Modalitas Immunoterapi Jenis <i>Immune Checkpoint Inhibitor</i> pada Glioblastoma	89
7.1	Pendahuluan.....	89
7.2	Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	89
	Modalitas Imunoterapi Jenis <i>Immune Checkpoint Inhibitor</i> pada Glioblastoma dan Penggunaan Klinisnya	93
7.3	Kesimpulan.....	100
7.4	Tindak Lanjut	100
	Referensi.....	101
Bab 8	Modalitas Imunoterapi Jenis <i>Chimeric Antigen Receptor Sel T</i> pada Glioblastoma	103
8.1	Pendahuluan.....	103
8.2	Metode, Hasil Kajian, dan Diskusi.....	105
	Desain dan Pengoptimalan CAR T	106
	CAR T yang Menargetkan Beberapa Antigen.....	110
8.3	Kesimpulan.....	112
8.4	Tindak Lanjut	113
	Referensi.....	113
Bab 9	Aplikasi Klinis Imunoterapi pada Glioblastoma di Masa Depan	117



Daftar Tabel

Tabel 1.1	Studi Literatur Epidemiologi Glioblastoma di Dunia.....	2
Tabel 1.2	Insiden berdasarkan Jenis Kelamin dan Histologi Glioblastoma Maligna Primer (SIER 17 Registries Data, 2000–2004) dan untuk Semua Glioblastoma Maligna Primer dan Nonmalignan (CBTRUS, 2000–2004)	8
Tabel 1.3	Manifestasi Klinis pada Pasien.....	9
Tabel 2.1	Studi Pendekatan Biomolekuler pada Penegakan Kasus Glioblastoma	16
Tabel 2.2	Karakteristik IDH-WT GBM dan IDH-mutant GBM.....	19
Tabel 2.3	Karakteristik Biomarker Glioblastoma.....	23
Tabel 3.1	Studi Pengaruh Mekanisme Imunosupresif pada Glioblastoma terhadap Proses Modalitas Imunoterapi.....	32
Tabel 4.1	Studi Perkembangan Imunoterapi pada Glioblastoma	44
Tabel 4.2	Jenis Imunoterapi dan Fase Uji Klinisnya.....	49
Tabel 5.1	Studi Modalitas Immunoterapi Jenis Vaksin pada Glioblastoma	59

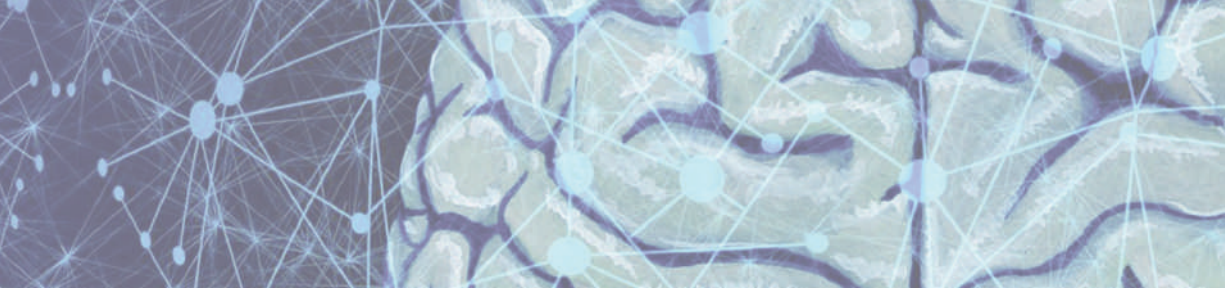
Tabel 6.1	Studi Modalitas Immunoterapi Jenis Viral Onkolitik pada Glioblastoma	71
Tabel 7. 1	Immunosupresan Dimediasi Tumor.....	90
Tabel 7.2	Studi Modalitas Immunoterapi Jenis <i>Immune Checkpoint Inhibitor</i> pada Glioblastoma	92
Tabel 8.1	Studi Modalitas Immunoterapi Jenis <i>Chimeric Antigen Receptor</i> Sel T pada Glioblastoma.....	105



Daftar Gambar

Gambar 1.1	Histologi Tumor SSP pada Orang Dewasa.....	3
Gambar 1.2	Tingkat kejadian yang disesuaikan dengan usia dari tumor SSP paling umum berdasarkan histologi dan usia, CBTRUS, 2007 hingga 2011	4
Gambar 1.3	Tingkat kelangsungan hidup 1 tahun, 5 tahun, dan 10 tahun pada Glioblastoma tertentu.....	5
Gambar 1.4	Tingkat kejadian yang disesuaikan berdasarkan usia dari tumor SSP yang dipilih berdasarkan histologi dan usia, CBTRUS, 2007 hingga 2011	6
Gambar 1.5	Insiden tumor jaringan neuroepithelial dan Glioblastoma berdasarkan usia dengan World Standard Population (WSP); CBTRUS 2000–2004.....	6

Gambar 1.6	Insiden masa kanak-kanak (usia < 20 tahun) dari (A) histologi Glioblastoma yang dipilih dan (B) berdasarkan klasifikasi ICCC berdasarkan usia pada saat diagnosis, disesuaikan usia dengan World Standard Population; CBTRUS 2000–2004	7
Gambar 1.7	Insidensi Glioblastoma ganas berdasarkan ras/etnis, yang disesuaikan usia dengan populasi standar dunia; SIER 17 mendaftarkan data, 2000–2004.....	8
Gambar 1.8	Distribusi Klasifikasi Tumor Otak	10
Gambar 1.9	Perbandingan distribusi jenis kelamin pada data 2012-2018, Korean central cancer registry 2013, CBTRUS 2011-2015, Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang.....	10
Gambar 2.1	Mutasi IDH pada Siklus Asam Trikarboksilat dan Tumorigenesis.....	20
Gambar 3.1	Imunosupresi pada Lingkungan Mikro Glioblastoma	33
Gambar 3.2	Imunosupresi Lokal dan Sistemik pada Glioblastoma.	36
Gambar 3.3	Keuntungan dan Tantangan dari Immune Checkpoint pada Glioblastoma.....	37
Gambar 4.1	Strategi Immunoterapi Berbasis Sel Dendritik.....	45
Gambar 5.1	Jalur-Jalur Biomolekular yang Menghubungkan EGFRvIII dengan Tumorigenesis.	56
Gambar 6.1	Mekanisme Onkolisis dan Onkotropisme Selektif...	70
Gambar 6.2	Penelitian Virus Onkolitik untuk Menghasilkan Immunomodulator Transgen sebagai Terapi Glioblastoma.....	74
Gambar 6.3	Faktor yang Membatasi Efektivitas Penyebaran Virus Onkolitik sebagai Terapi GBM.	78
Gambar 7.1	Siklus Kanker dan Imunitas pada Glioblastoma	90
Gambar 7.2	Mekanisme yang diusulkan dari blokade PD-1 neoadjuvant pada glioblastoma multiforme (GBM) berulang	91
Gambar 8.1	Prinsip Dasar dari Struktur CAR dan Sel CAR T Terapi.....	107
Gambar 8.2.	Desain CAR Optimal untuk Terapi GBM	108

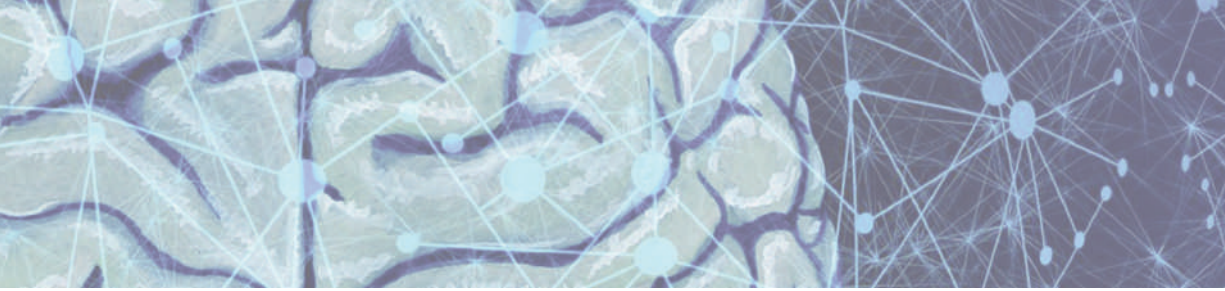


Daftar Singkatan

2-HG	:	<i>Oncometabolite 2-Hydroxyglutarate</i>
Ad5	:	<i>AdV Serotipe 5</i>
APC	:	<i>Antigen Presenting Cell</i>
ATRX	:	<i>Adult Thalassemia Mental Retardation X-Linked</i>
BBB	:	<i>Blood-Brain Barrier</i>
BCG	:	<i>Bacillus Calmette-Guerin</i>
CBTRUS	:	<i>Central Brain Tumor Registry of the United State</i>
CEA	:	<i>Carcinoembriogenic Antigen</i>
CSF-1	:	<i>Colony Stimulating Factor 1</i>
CT	:	<i>Computed Tomography</i>
CTLA-4	:	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Antigen 4</i>
CTX	:	<i>Chemotherapy;</i>
DC	:	<i>Dendritic Cell</i>
EFTUD1	:	<i>Elongation Factor Tu GTP Binding Domain Containing Protein 1</i>

EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EGFRs	: Faktor Pertumbuhan Epidermal Transmembran
EGFRvIII	: <i>Epidermal Growth Factor vIII</i>
EphA2	: Ephrin Type-A Receptor 22
G-CIMP	: Metilator Glioma-CpG
GBM	: Glioblastoma Multiforme
HGG	: High Grade Glioma
HGG	: <i>Hgh-Grade Glioma</i>
HLA	: <i>Human Leukocyte Antigen</i>
HSP	: <i>Heat Shock Proteins</i>
HSPPC	: <i>HSP-Peptide Complex</i>
HSV-1	: <i>Herpes Simplex Virus 1</i>
IDH	: <i>Isocitrate Dehydrogenase</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL-10	: Interleukin 10
iTregs	: <i>Induced T Cell Regulators</i>
KLH	: <i>Keyhole Limpet Hemocyanin</i>
LSS	: Liquor Serebrospinalis
MDSC	: <i>Myeloid-Derived Suppressor Cell</i>
MDSCs	: <i>Myeloid-Derived Suppressor Cells</i>
MGMT	: <i>O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MV	: Measles virus
MV-Edm	: <i>Edmonston</i>
NDV	: <i>Newcastle Disease Virus</i>
NK cells	: <i>Natural Killer Cells</i>
nTregs	: <i>Natural T Cell Regulators</i>
OS	: <i>Overall Survival</i>
PD-1	: <i>Programmed Death 1</i>
PD-L1	: <i>Programmed Death-Ligand 1</i>
PFS	: <i>Progression-Free Survival</i>
pRb	: Protein Penekan Tumor Retinoblastoma Seluler
PTEN	: <i>Phosphatase and Tensin Homolog</i>

RIPO	:	Chimera poliovirus PV1
RT	:	<i>Radiotherapy</i>
SEREX	:	<i>Serological Analysis of Recombinant Expressed cDNA Clone</i>
SRS	:	<i>Stereotactic Radiosurgery</i>
SSP	:	Sistem Saraf Pusat
TERT	:	<i>Telomerase Reverse Transcriptase</i>
TGF- β	:	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TIM-3	:	<i>T Cell Immunoglobulin Mucin-3</i>
TMZ	:	Temozolomide
TP53	:	<i>Tumor Protein 53</i>
Treg	:	<i>T Regulator</i>
Tregs	:	<i>T Cell Regulators</i>
VEGF	:	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VV	:	Virus Vaccinia
WSP	:	<i>World Standard Population</i>



Daftar Riset Penulis

BAB 1

Riset 1.1 Wahyuhadi, J., Pratama, M.F.R., Wathoni, R.T.Z., Basuki, H. 2020. The Indonesian Central Nervous System Tumor Registry (Ina-CTR): 7 years result from single institution of primary brain tumor epidemiology. *Indonesian Journal of Neurosurgery*. Vol X. No.x

Riset 1.2 Wahyuhadi, J., Fauzi, A.A. 2014. Brain death: diagnosis and clinical application. *Journal of Medical Science and Clinical Research*, 02 (04):768-781.

BAB 2

Riset 2.1 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing

Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in injured pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.

Riset 2.2 Dewata, L., Prasetyo, B., Yuliati, A., Wahyuhadi, J. 2017. Hormonal contraceptive exposure and risk factors for meningioma in Soetomo Hospital 2012-2016. *Advanced Science Letters*, 23:3291-3294(4).

Riset 2.3 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya Terhadap Agresivitas Astrositoma.

Riset 2.4 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrositoma Ganas.*

BAB 3

Riset 3.1 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya terhadap Agresivitas Astrositoma.

Riset 3.2 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrositoma Ganas.*

Riset 3.3 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in Injured Pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.

BAB 4

Riset 4.1 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya terhadap Agresivitas Astrositoma.

Riset 4.2 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrositoma Ganas.*

Riset 4.3 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing

Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in Injured Pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.

BAB 5

Riset 5.1 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya terhadap Agresivitas Astrojitoma.

Riset 5.2 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrojitoma Ganas.*

Riset 5.3 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in Injured Pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.

BAB 6

Riset 6.1 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya terhadap Agresivitas Astrojitoma.

Riset 6.2 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrojitoma Ganas.*

Riset 6.3 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in Injured Pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.

BAB 7

Riset 7.1 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya terhadap Agresivitas Astrojitoma.

Riset 7.2 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrojitoma Ganas*.

Riset 7.3 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in Injured Pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.

BAB 8

Riset 8.1 Wahyuhadi, J. 2010. Ekspresi NK-ligand, IL-2, IFN- γ Intratumoral dan Hubungannya terhadap Agresivitas Astrojitoma.

Riset 8.2 Wahyuhadi, J. 2009. *Karakterisasi Molekuler Sel Punca Natural Killer dan Limfosit T sebagai Induktor Apoptosis pada Glioma Genesis Astrojitoma Ganas*.

Riset 8.3 Rantam, F.A., Purwati, Setiawan, B., Wibisono, S., Mahyudin, F., Wahyuhadi, J., Edward, M., Utomo, D.N., Suroto, H., Bumi, C. 2015. Induced Monocytes-Derived HSCs (CD34+) with LPS Accelerated Homing Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs, CD105) in Injured Pancreas. *Journal Biomedical Science and Engineering*, 08(05):333-334.



1

Situasi dan Permasalahan Glioblastoma di Dunia dan di Indonesia

1.1 PENDAHULUAN

Tumor otak primer merupakan suatu neoplasma yang berkembang dari berbagai jenis sel yang ada di susunan saraf pusat. Meskipun tumor otak merupakan suatu penyakit yang jarang, insiden tumor otak di dunia terus meningkat seiring perkembangan teknologi diagnostik dan modalitas pencitraan/*imaging*.

Dengan meningkatnya perkembangan modalitas pencitraan, insiden tumor otak dan frekuensi diagnosis tumor otak juga meningkat, termasuk di Indonesia. Indonesia adalah negara dengan penduduk terpadat ke-4 di dunia, sehingga epidemiologi tumor otak di Indonesia akan memengaruhi epidemiologi global. Belum ada artikel yang mendeskripsikan epidemiologi tumor otak di Indonesia, sehingga pada studi epidemiologi kali ini diharapkan dapat memberikan gambaran

tentang prevalensi dan karakteristik tumor otak, baik secara histopatologi maupun sosiodemografik di Indonesia.

1.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Studi literatur dilakukan untuk mencari artikel yang sesuai tentang epidemiologi Glioblastoma di Dunia.

Studi retrospektif dilakukan dengan tujuan memberikan gambaran deskriptif epidemiologi tumor otak primer di Indonesia. Seluruh data diperoleh dari rekam medis RSUD Dr. Soetomo dari tahun 2012 hingga 2018. Data yang dikumpulkan meliputi:

1. Jenis kelamin
2. Usia
3. Manifestasi klinis
4. Hasil radiologi
5. Operasi
6. Histopatologi

Manifestasi klinis didapatkan dari keluhan utama pasien ketika didiagnosis dengan tumor otak pada instalasi gawat darurat maupun poliklinik. Hasil radiologi hanya fokus pada lokasi tumor dengan menggunakan *CT-scan* dan MRI. Semua pasien menjalani prosedur pembedahan (biopsi, eksisi parsial, atau eksisi total) untuk memperoleh

Tabel 1.1 Studi Literatur Epidemiologi Glioblastoma di Dunia

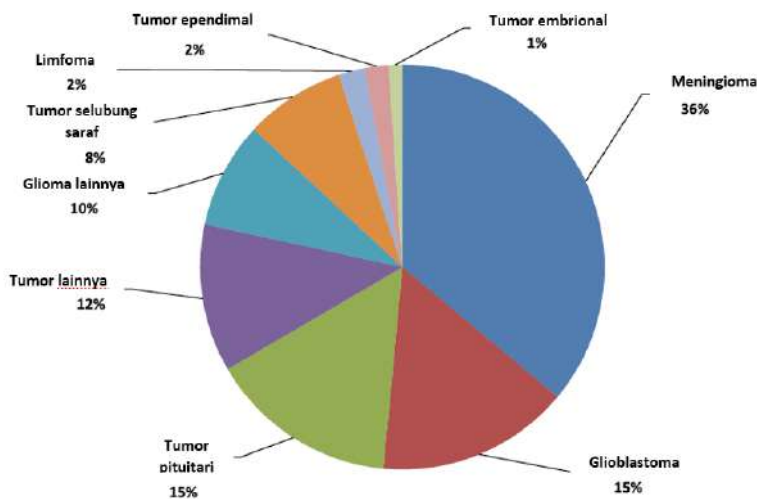
No	Peneliti	Penelitian
1.	Ho VKY, 2014	Changing incidence and improved survival of Glioblastomas', European Journal of Cancer
2.	McNeill KA, 2016	Epidemiology of Brain Tumors
3.	Ostrom QT, 2013	CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010
4.	Trabelsi S, 2014.	Glioblastoma epidemiology in the central Tunisian population: 1993-2012

data histopatologi. Jenis histopatologi tumor otak dikelompokkan berdasarkan *Central Brain Tumor Registry of the United State* (CBTRUS).

Situasi dan Permasalahan Glioblastoma di Dunia

Tumor susunan saraf pusat termasuk salah satu grup tumor yang jarang ditemukan, namun memberikan beban masalah kesehatan yang serius (Ho, et al., 2014). Glioblastoma merupakan tumor susunan saraf pusat terbanyak kedua setelah meningioma. Sekitar 24% dari seluruh tumor susunan saraf pusat (SSP) pada dewasa merupakan Glioblastoma (McNeill, 2016). Saat ini kejadian rata-rata Glioblastoma di dunia meningkat dari 4,9 menjadi 5,9:100.000 penduduk (Ho, et al., 2014). *Central Brain Tumor Registry of the United State* (CBTRUS) memperkirakan kejadian Glioblastoma sebesar 6,61 dan glioblastoma sebesar 3,19 per 100.000 penduduk di Amerika Serikat (McNeill, 2016).

Gambaran penting yang menonjol dari glioblastoma, yaitu salah satu tipe Glioblastoma dengan tipe histopatologis yang paling umum ditemukan pada orang dewasa dan ditandai dengan angka probabilitas kelangsungan hidup yang sangat rendah, dengan *5-year survival rate* yang

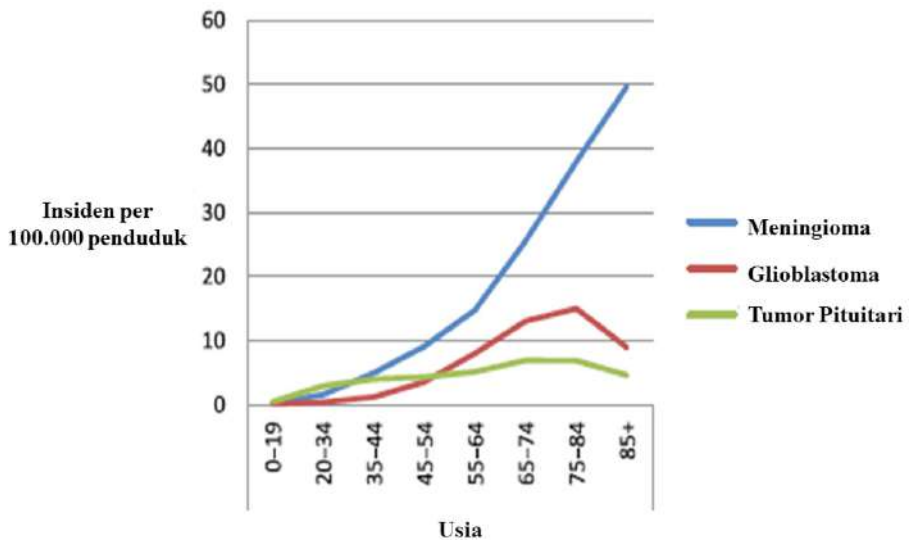


Gambar 1.1 Histologi Tumor SSP pada Orang Dewasa (McNeill, 2016)

hanya 5%. Glioblastoma umumnya lebih banyak ditemukan pada populasi pria daripada wanita (McNeill, 2016; Trabelsi, *et al.*, 2014).

Insiden Glioblastoma Menurut Subtipe Histologis

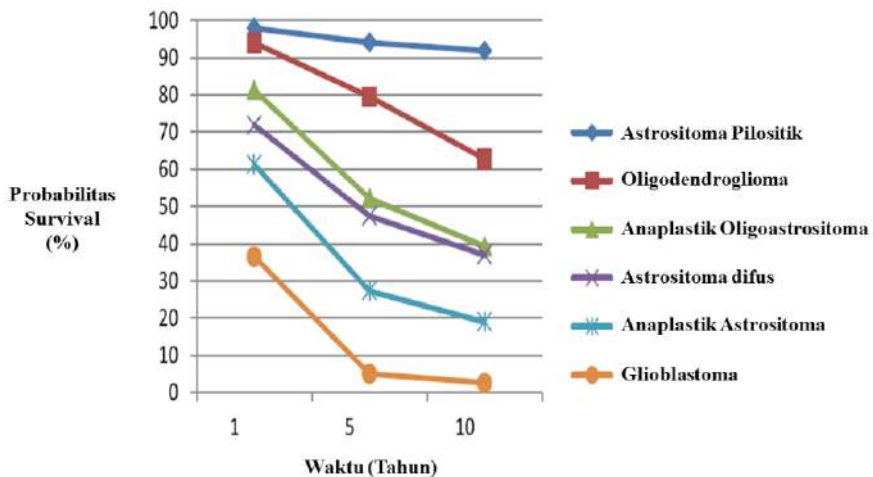
Hampir setengah dari glioma merupakan glioblastoma. Glioblastoma merupakan tumor otak maligna primer yang paling sering ditemukan pada dewasa. Glioblastoma dan glioma maligna lainnya mewakili sekitar 75% dari tumor otak ganas. Insiden masing-masing juga bervariasi secara signifikan dengan wilayah geografis. Penyebab variasi tersebut belum diketahui secara pasti. Hal tersebut disebabkan oleh kurangnya definisi yang konsisten dari subtipe histologis, perbedaan dalam pengumpulan data, metode *surveillances* antarnegara, atau perbedaan yang nyata dalam insiden. CBTRUS memperkirakan insiden glioma sebesar 6,61 per 100.000 penduduk dan glioblastoma sebesar 3,19 per 100.000 penduduk di Amerika Serikat (McNeill, 2016; Ostrom, *et al.*, 2013).



Gambar 1.2 Tingkat kejadian yang disesuaikan dengan usia dari tumor SSP paling umum berdasarkan histologi dan usia, CBTRUS, 2007 hingga 2011 (McNeill, 2016)

Angka Kelangsungan Hidup Berdasar Tipe Histologi

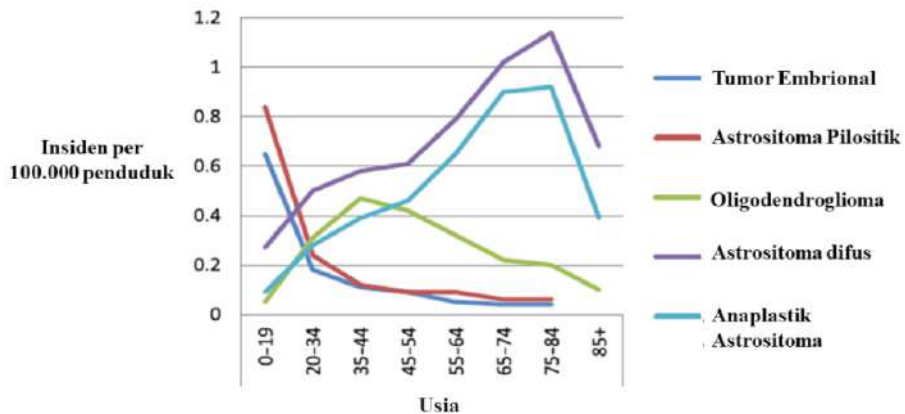
Glioma memiliki banyak variasi dari segi histologi, mulai dari tumor jinak *grade I* yang berpotensi dapat disembuhkan dengan operasi (*pilocytic astrocytoma*) hingga tumor *grade IV* (Glioblastoma multiforme) yang agresif secara lokal dengan risiko kekambuhan atau perkembangan yang tinggi. Kelangsungan hidup bervariasi menurut histologi, contohnya astrositoma pilositik memiliki angka kelangsungan hidup 10 tahun lebih dari 90%, sedangkan hanya 5% dari pasien dengan glioblastoma yang bertahan hidup sampai 5 tahun (McNeill, 2016; Ostrom, *et al.*, 2013).



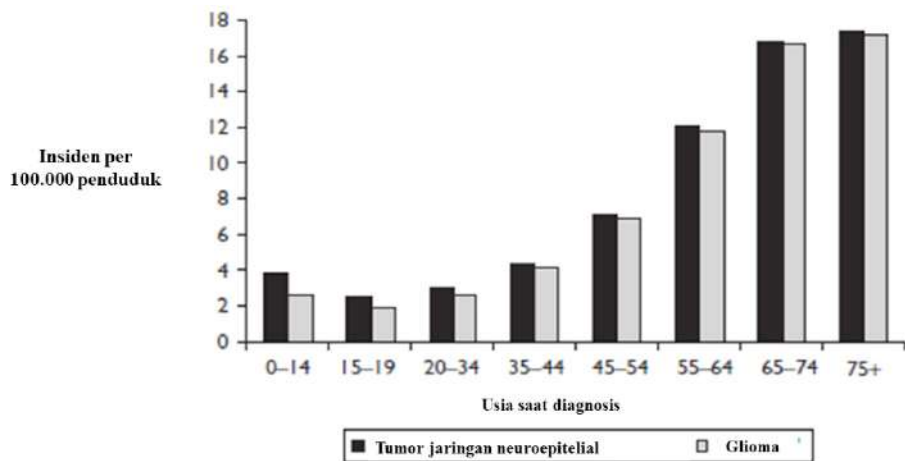
Gambar 1.3 Tingkat kelangsungan hidup 1 tahun, 5 tahun, dan 10 tahun pada Glioblastoma tertentu (McNeill, 2016)

Insiden Glioblastoma Berdasarkan Kelompok Usia

Tumor *grade I* (*pilocytic astrocytoma*) terjadi terutama pada anak-anak dan dewasa muda, sedangkan tumor *grade II* (*oligodendrogial*) memuncak pada dekade ke-3 hingga ke-4, dengan insiden Glioblastoma maligna yang meningkat pada usia yang lebih tua hingga mencapai puncaknya pada dekade ke-6 hingga ke-7 (McNeill, 2016).



Gambar 1.4 Tingkat kejadian yang disesuaikan berdasarkan usia dari tumor SSP yang dipilih berdasarkan histologi dan usia, CBTRUS, 2007 hingga 2011 (McNeill, 2016)



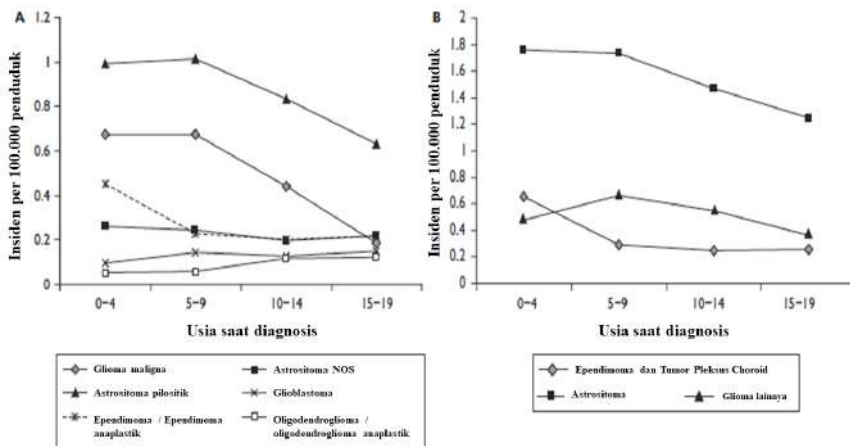
Gambar 1.5 Insiden tumor jaringan neuroepithelial dan Glioblastoma berdasarkan usia dengan World Standard Population (WSP); CBTRUS 2000–2004 (McNeill, 2016; Ostrom, *et al.*, 2013)

Glioblastoma pada Anak

Menurut *International Classification of Childhood Cancer (ICCC)*, insiden Glioblastoma pada anak bervariasi. Insiden tumor astrositik berkisar antara 0,7 hingga 2,2/100.000 penduduk, ependimoma dari 0,2 hingga 0,5/100.000 penduduk, dan Glioblastoma lainnya dari 0 hingga 0,5/100.000 penduduk (Ostrom, *et al.*, 2013).

Glioblastoma *low-grade* (1,8/100.000) memiliki insiden lebih tinggi pada anak berusia 0 hingga 14 tahun dibandingkan Glioblastoma *high grade* (0,5/100.000) Tingkat insiden tumor glial dan neuroepithelial lebih tinggi pada anak-anak (usia 0-14 tahun), menurun pada remaja akhir (usia 15-19 tahun) dan kemudian meningkat seiring bertambahnya usia (Ostrom, *et al.*, 2013).

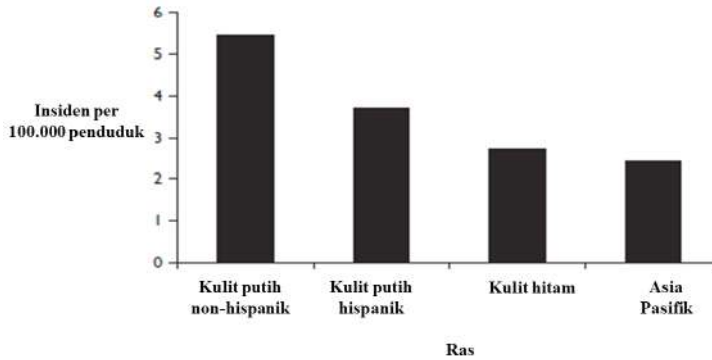
Subtipe histologi Glioblastoma dengan insiden tertinggi pada anak-anak adalah astrocytoma pilocytic. Astrositoma dan Glioblastoma Glioblastoma NOS memiliki insiden tertinggi pada anak-anak berusia 0 hingga 9 tahun, dengan insiden menurun hingga usia 19 tahun (Ostrom, *et al.*, 2013).



Gambar 1.6 Insiden masa kanak-kanak (usia <20 tahun) dari (A) histologi Glioblastoma yang dipilih dan (B) berdasarkan klasifikasi ICCC berdasarkan usia pada saat diagnosis, disesuaikan usia dengan World Standard Population; CBTRUS 2000–2004 (Ostrom, *et al.*, 2013).

Insiden Glioblastoma Berdasarkan Ras dan Jenis Kelamin

Kasus glioblastoma lebih banyak pada jenis kelamin laki-laki. Sebanyak 55% dari seluruh kasus Glioblastoma terdapat pada jenis kelamin laki-laki. Populasi Glioblastoma di Amerika Serikat lebih sering memengaruhi orang kulit putih non-hispanik dibandingkan kelompok etnis hispanik,



Gambar 1.7 Insidensi Glioblastoma ganas berdasarkan ras/etnis, yang disesuaikan usia dengan populasi standar dunia; SIER 17 mendaftarkan data, 2000–2004 (McNeill, 2016; Ostrom, *et al.*, 2013)

Tabel 1.2 Insiden berdasarkan Jenis Kelamin dan Histologi Glioblastoma Maligna Primer (SIER 17 Registries Data, 2000–2004) dan untuk Semua Glioblastoma Maligna Primer dan Nonmalignan (CBTRUS, 2000–2004)

	SEER (2000–2004)				CBTRUS (2000–2004)			
	Male		Female		Male		Female	
	Incidence	95% CI	Incidence	95% CI	Incidence	95% CI	Incidence	95% CI
Malignant glioma, NOS (9380)	0.37	0.35–0.40	0.37	0.34–0.40	0.41	0.38–0.44	0.38	0.35–0.40
Astrocytoma, NOS (9400)	0.47	0.44–0.50	0.36	0.34–0.39	0.42	0.39–0.45	0.33	0.30–0.35
Piloicytic astrocytoma (9421)	0.41	0.38–0.44	0.40	0.36–0.43	0.44	0.41–0.48	0.44	0.41–0.47
Fibrillary astrocytoma (9420)	0.08	0.07–0.10	0.06	0.05–0.07	0.08	0.07–0.10	0.07	0.06–0.08
Gemistocytic astrocytoma (9411)	0.06	0.05–0.07	0.03	0.02–0.04	0.04	0.03–0.05	0.03	0.02–0.04
Anaplastic astrocytoma (9401)	0.34	0.32–0.37	0.26	0.23–0.28	0.38	0.36–0.41	0.28	0.26–0.30
Glioblastoma, NOS (9440)	2.66	2.60–2.73	1.61	1.56–1.66	2.71	2.65–2.77	1.64	1.59–1.69
Mixed glioma (9382)	0.16	0.14–0.18	0.13	0.12–0.15	0.18	0.16–0.19	0.13	0.12–0.15
Oligodendroglioma (9450)	0.32	0.30–0.34	0.24	0.22–0.27	0.31	0.29–0.33	0.26	0.24–0.28
Anaplastic oligodendroglioma (9451)	0.13	0.11–0.14	0.10	0.09–0.12	0.15	0.13–0.16	0.12	0.11–0.14
Ependymoma/anaplastic ependymoma (9391–9394)	0.25	0.22–0.27	0.24	0.22–0.27	0.37	0.34–0.40	0.30	0.27–0.32
All glioma—Histological Groups for Comparative Studies (9380–9384,9391–9460,9480)	5.39	5.28–5.49	3.89	3.81–3.98	5.76	5.66–5.85	4.17	4.09–4.25

kulit hitam, atau asia. Insiden Glioblastoma selama masa hidup seseorang bervariasi menurut histologi tumor. Orang kulit putih nonhispanik memiliki tingkat kejadian Glioblastoma maligna yang lebih tinggi (dengan angka kejadian 5,5/100.000 penduduk) dibandingkan orang kulit hitam (angka kejadian 2,7/100.000 penduduk), Hispanik (angka kejadian 3,7/100.000 penduduk), atau Asia (angka kejadian 2,4/100.000 penduduk) di Amerika Serikat (Ostrom, *et al.*, 2013).

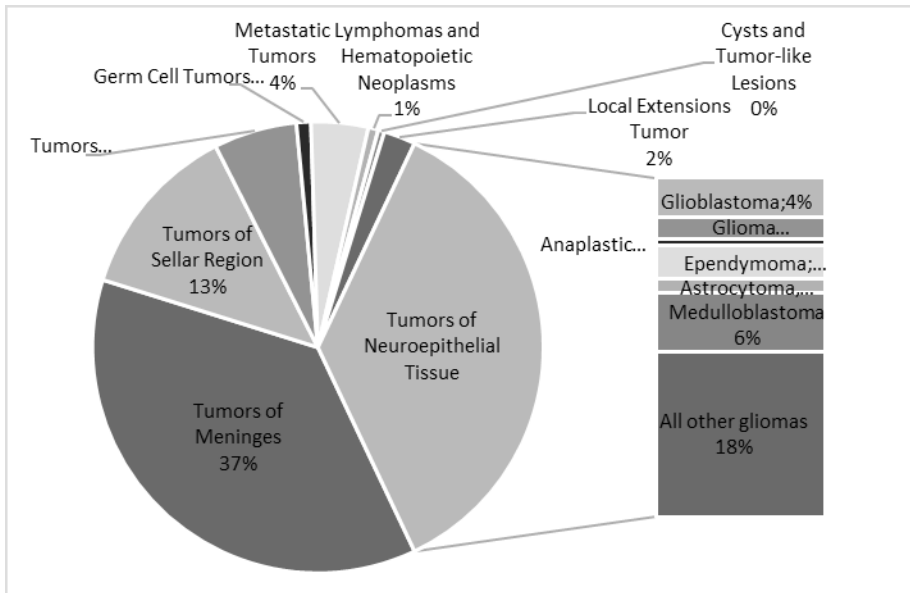
Situasi Epidemiologi Glioblastoma di Indonesia

Dari studi retrospektif yang dilakukan, sebanyak 1540 pasien didiagnosis dengan tumor otak primer dari tahun 2012 hingga 2018. Tumor otak secara keseluruhan lebih banyak terjadi pada jenis kelamin perempuan dibandingkan laki-laki (perempuan:laki-laki 1.48:1). Tidak ada perbedaan yang signifikan pada data tumor otak terkait gender di RSUD Dr. Soetomo dengan negara lain maupun kota lain di Indonesia. Distribusi usia pada pasien dengan tumor otak pada studi kami lebih muda dibandingkan pada negara lain, yaitu 36-45 tahun (Wahyuhadi, *et al.*, 2020).

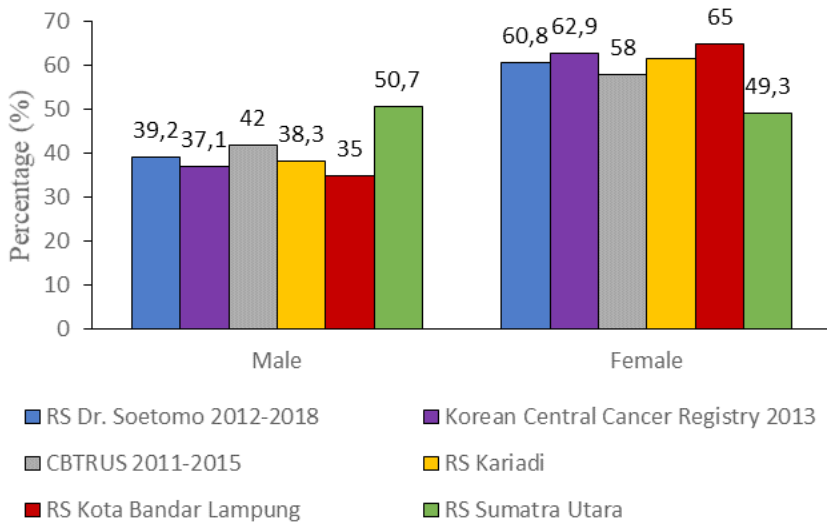
Manifestasi klinis yang sering ditemukan yaitu nyeri kepala (37,59%), penurunan kesadaran (20%), kejang (7,85%), paresis (5,06%), afasia (2,07%), paresis saraf kranial (6,23%), gangguan visual (11,29%), gangguan keseimbangan (9,87%) (Wahyuhadi, *et al.*, 2020).

Tabel 1.3 Manifestasi Klinis pada Pasien

Manifestasi Klinis	n	(%)
Nyeri kepala	579	37,59
Penurunan kesadaran	308	20,00
Kejang	121	7,85
Paralisis	78	5,06
Afasia	32	2,07
Paresis saraf kranial	96	6,23
Gangguan penglihatan	174	11,29
Gangguan keseimbangan	152	9,87



Gambar 1.8 Distribusi Klasifikasi Tumor Otak (Wahyuhadi, *et al.*, 2020)



Gambar 1.9 Perbandingan distribusi jenis kelamin pada data 2012-2018, Korean central cancer registry 2013, CBTRUS 2011-2015, Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang (Ostrom, *et al.*, 2018; Wahyuhadi, *et al.*, 2020).

Tumor otak lebih banyak terjadi pada jenis kelamin perempuan dibandingkan laki-laki (perempuan:laki-laki 1.48:1). Tidak ada perbedaan yang signifikan pada data tumor otak terkait gender di RSUD Dr. Soetomo dengan negara lain maupun kota lain di Indonesia. Distribusi usia pada pasien dengan tumor otak pada studi kami lebih muda dibandingkan pada negara lain, yaitu 36-45 tahun (Ardhini & Tugasworo, 2019; Edy, *et al.*, 2014; Lee, *et al.*, 2010; Rambe, *et al.*, 2018; Wahyuhadi, *et al.*, 2020).

Jenis tumor otak paling sering ditemukan adalah meningioma (36.9%), Glioblastoma (35.9%), tumor pituitary (12.7%), dan *nerve sheath tumor* (5.9%). Glioblastoma menyumbang 5.3% dari total kasus tumor otak dan 41.8% dari seluruh kasus Glioblastoma. Pada anak, tumor pada regio sella (putiutari dan kraniofaringioma), embrional/primitif/medulloblastoma, dan tumor sel germinal merupakan tumor yang paling sering ditemukan (Wahyuhadi, 2010; Wahyuhadi, *et al.*, 2020).

1.3 KESIMPULAN

Studi ini memberikan informasi mengenai epidemiologi tumor otak primer di Indonesia. Data tumor otak RSUD Dr. Soetomo dari tahun 2012 hingga 2018 dapat digunakan sebagai basis untuk pengumpulan data epidemiologi dengan cakupan lebih luas, dan untuk riset selanjutnya.

1.4 TINDAK LANJUT

Melaksanakan penelitian berupa studi epidemiologi yang telah dilakukan oleh penulis dan tim, maupun yang dilakukan oleh tim riset lain, sehingga dapat menjawab pertanyaan berikut “Bagaimana data epidemiologi tumor otak berdasarkan histopatologi maupun sosiodemografi di dunia dan di Indonesia?”

REFERENSI

- Ardhini, R. & Tugasworo, D. 2019. Epidemiology of primary brain tumors in dr. Kariadi Hospital Semarang in 2015-2018. *E3S Web of Conferences*, 125(2019):1-8. Available from: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/201912516004>.
- Edy, S., Windarti, I. & Wahyuni, A. 2014. Clinical Characteristics and Histopathology of Brain Tumor at Two Hospitals in Bandar Lampung. *Faculty of Medicine Lampung University*, 69: 48-56.
- Ho, V.K.Y., Reijneveld, J.C., Enting, R.H., Bienfait, H.P., Robe, P., Baumert, B.G., & Visser, O. 2014. Changing incidence and improved survival of gliomas. *European Journal of Cancer*, 50(13):2309-2318. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.05.019>.
- Lee, C. H., Jung, K.W., Yoo, H., Park, S., & Lee, S.H. 2010. Epidemiology of primary brain and central nervous system tumors in Korea. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 48(2):145-152. Available from: <https://doi.org/10.3340/jkns.2010.48.2.145>.
- McNeill, K.A. 2016. Epidemiology of Brain Tumors. *Neurologic Clinics*, 34(4):981-998. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.014>
- Ostrom, Q.T., Gittleman, H., Farah, P., Ondracek, A., Chen, Y., Wolinsky, Y., Stroup, N.E., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J.S. 2013. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neuro-Oncology*, 15(Suppl. 2). Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/not151>.
- Ostrom, Q.T., Gittleman, H., Truitt, G., Boscia, A., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J.S. 2018. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro-Oncology*, 20:iv1-iv86. Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy131>.
- Rambe, A.S., Fitri, A., & Tonam, T. 2018. Profile of Brain Tumor Patients in 10 Hospitals in North Sumatera. *Sumatera Medical Journal*, 1(1):27-32. Available from: <https://doi.org/10.32734/sumej.v1i1.443>
- Trabelsi, S., Brahim, D.H. mid. Ben, Ladib, M., Mama, N., Harrabi, I., Tlili, K., Yacoubi, M.T., Krifa, H., Hmissa, S., Saad, A., & Mokni, M. 2014. Glioma epidemiology in the central Tunisian population: 1993-2012. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(20): 8753-8757. Available from: <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.20.8753>.

- Wahyuhadi, J. 2010. *The expression of NK-ligand, CTL-ligand, IL-2, IFN- γ intratumoral and the relation to the astrocytoma aggressivity*. Surabaya: Airlangga University.
- Wahyuhadi, J., Fakhri, M., Pratama, R., Taqiyya, R., Wathoni, Z., & Basuki, H. 2020. The Indonesian Central Nervous System Tumors Registry (Ina-CTR): 7 Years Result from Single Institution of Primary Brain Tumor Epidemiology. *Indonesian Journal of Neurosurgery*, X(X).



2

Pendekatan Biomolekuler pada Penegakan Kasus Glioblastoma

2.1 PENDAHULUAN

GBM adalah kanker otak primer ganas yang paling umum (Sathornsumetee, *et al.*, 2007). Penelitian eksperimental berkembang di bidang ini dan berbagai macam strategi terapeutik dikembangkan, namun pada dasarnya GBM tetap tidak dapat disembuhkan. Waktu kelangsungan hidup keseluruhan pasien GBM berkisar antara 12 sampai 18 bulan, karena tidak lebih dari 5% pasien bertahan lebih lama dari lima tahun setelah diagnosis (Stupp, *et al.*, 2005).

Prognosis GBM yang buruk dan frekuensi kekambuhannya yang tinggi membuat para peneliti aktif membuat eksperimental baru di bidang biologi molekuler untuk menghambat penyakit ini. Namun demikian, sebagian besar penelitian selama bertahun-tahun hanya berfokus pada area inti tumor GBM, sedangkan area peritumoral yang juga dapat disusupi oleh sel tumor masih sedikit diketahui. Studi terbaru berfokus

pada area tersebut, yang memunculkan pandangan bahwa jaringan normal di sekitar GBM memiliki peran dalam perkembangan GBM dan mencari target terapeutik yang potensial (Lama, *et al.*, 2007). Selain itu, penelitian yang lebih dalam tentang mikro imun tumor, bersama dengan penemuan terbaru mengenai sistem limfatik dari sistem saraf pusat (SSP) di meninges, memunculkan strategi terbaru yaitu imunoterapi, yang muncul sebagai perawatan bertarget dan lebih aman (Louveau, *et al.*, 2018). Penelitian tersebut bertujuan untuk meninjau temuan terbaru pada karakterisasi morfologi dan molekuler dari GBM serta jaringan sekitarnya, termasuk keberadaan dan peran yang dimainkan oleh *Cancer Stem Cells* (CSC).

2.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Penelitian menggunakan metode studi literatur dengan rumus *searching* (biomolekuler), (diagnostik), dan (glioblastoma). Adapun hasil riset yang didapatkan untuk dikaji dan ditelaah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Studi Pendekatan Biomolekuler pada Penegakan Kasus Glioblastoma

No.	Peneliti	Penelitian
1.	Bai, 2015	Integrated genomic characterization of IDH1-mutant glioma malignant progression
2.	Brennan, 2013	The somatic genomic landscape of glioblastoma
3.	Cominelli, 2015	EGFR amplified and overexpressing glioblastomas and association with better response to adjuvant metronomic temozolomide
4.	Duncan, 2012	A heterozygous IDH1R132H/WT mutation induces genome-wide alterations in DNA methylation
5.	Esteller, 2000	Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents

6. Hegi, 2005 MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma
7. Huse, 2010 Targeting brain cancer: advances in the molecular pathology of malignant glioma and medulloblastoma
8. Kloosterhor, 2011 Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: a fundamentally new understanding of diffuse glioma?
9. Lama, 2007 Activated ERK1/2 expression in glioblastoma multiforme and in peritumor tissue
10. Louis, 2007 The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system
11. Louveau, 2018 Structural and functional features of central nervous system lymphatics
12. Paz, 2004 CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme methyltransferase predicts response to temozolomide in primary gliomas
13. Qazi, 2017 Intratumoral heterogeneity: pathways to treatment resistance and relapse in human glioblastoma
14. Reifenberger, 2012 Predictive impact of MGMT promoter methylation in glioblastoma of the elderly
15. Sathornsumetee, 2007 Diagnosis and treatment of high-grade astrocytoma
16. Stupp, 2005 Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma
17. Verhaak, 2010 Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1
18. Weller, 2015 MGMT promoter methylation is a strong prognostic biomarker for benefit from dose-intensified temozolomide rechallenge in progressive glioblastoma: the DIRECTOR trial
19. Wick, 2014 MGMT testing—the challenges for biomarker-based glioma treatment
20. Xu, 2011 Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases

- | | | |
|-----|--------------|--|
| 21. | Xu, 2004 | Structures of human cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase reveal a novel self-regulatory mechanism of activity |
| 22. | Zawlik, 2009 | Promoter methylation and polymorphisms of the MGMT gene in glioblastomas: a population-based study |
| 23. | Zhao, 2009 | Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 α |
-

Glioma termasuk dalam kelompok tumor ganas primer dari SSP yang berkembang dari sel glial, seperti astrosit, oligodendrosit, mikroglia, dan sel ependymal, atau dari subpopulasi CSC yang berada di jaringan. Glioma dapat diklasifikasikan menjadi *grade I* sampai IV berdasarkan gambaran histologis dan perubahan genetik, seperti yang didefinisikan oleh WHO. Secara umum, glioma *grade I* termasuk dalam jenis tumor jinak dan dapat ditataklaksana dengan reseksi secara pembedahan. Meskipun glioma derajat II dianggap sebagai *low-grade malignancies*, namun mungkin tidak dapat direseksi seluruhnya. Glioma derajat III bersifat invasif dan agresif, ditandai dengan perkembangan yang cepat dan hasil akhir pasien yang buruk. Tumor derajat IV, juga dikenal sebagai glioblastoma multiforme (GBM), adalah bentuk paling invasif dan berhubungan dengan prognosis yang buruk, GBM menyumbang sekitar 60-70% dari semua glioma. Tumor ini dapat mengenai anak-anak dan orang dewasa dengan sedikit dominasi pada laki-laki (D. Louis, *et al.*, 2016).

GBM didefinisikan sebagai glioma difus, yang ditandai dengan kemampuan tinggi untuk infiltrasi ke jaringan otak di sekitarnya. Selain itu, profil molekular GBM digunakan untuk menentukan klasifikasi GBM. Secara khusus, subtipe GBM yang berhubungan secara klinis (proneural, neural, klasik, dan mesenkim) dan berdasarkan profil ekspresi gen sangat penting untuk mengembangkan strategi klinis tertentu (R. G. W. Verhaak, *et al.*, 2010).

Menurut penelitian terbaru, GBM saat ini dibagi lagi berdasarkan status mutasi dari gen *isocitrate dehydrogenase* (IDH). GBM dibagi menjadi

wild IDH, tipe yang paling sering, dan mutan IDH, yang secara klinis didefinisikan sebagai GBM sekunder, serta jenis lain yang status IDHnya tidak dapat ditentukan (R. G. W. Verhaak, et al., 2010). GBM primer dan sekunder menunjukkan karakteristik histologis yang serupa tetapi berbeda dalam profil genetik dan epigenetik dan diperkirakan berkembang dari sel asal yang berbeda. Keduanya memiliki implikasi klinis yang berbeda secara signifikan, pada kenyataannya, tumor dengan mutasi IDH1 dan IDH2 mampu meningkatkan prognosis (D. N. Louis, et al., 2007).

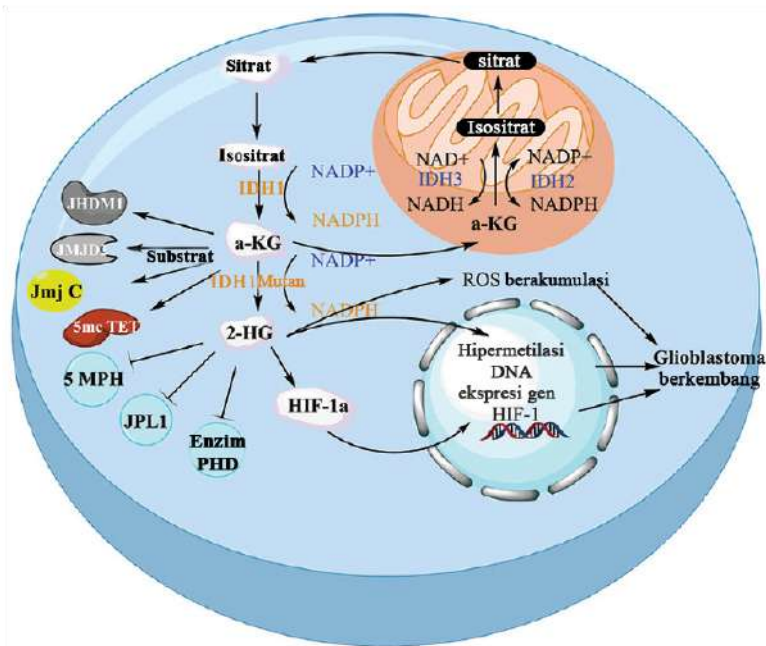
IDH1 dan IDH2 merupakan protein yang berperan sebagai katalisator karboksilasi oksidatif dari *isocitrate* menjadi *alpha-ketoglutarate*, yang menghasilkan produksi NADPH dalam siklus asam sitrat (Krebs) (X. Xu, et al., 2004). Mutasi gen IDH ini mendorong reaksi yang menghasilkan oncometabolite 2-hydroxyglutarate (2-HG) (W. Xu, et al., 2011). Pada glioma

Tabel 2.2 Karakteristik IDH-WT GBM dan IDH-mutant GBM

	IDH-WT GBM	IDH-mutant GBM
Synonym	Primary glioblastoma	Secondary glioblastoma
Precursor lesion	Identified de novo	Diffuse astrocytoma Anaplastic astrocytoma
Proportion of glioblastomas	~90%	~10%
Median age at diagnosis	~62 years	~44 years
M:F ratio	1.42:1	1.05:1
Median length of clinical history at diagnosis	4 months	15 months
Median overall survival		
Surgery + radiotherapy	9.9 months	24 months
Surgery + RT + CTX	15 months	31 months
Location	Supratentorial	Preferentially frontal
Necrosis	Extensive	Limited
TERT promoter mutations	72%	26%
TP53 mutations	27%	81%
ATRX mutations	Exceptional	71%
EGFR amplification	35%	Exceptional
PTEN mutations	24%	Exceptional

mutasi missense yang paling sering terjadi pada IDH yang terdapat 132 residu di IDH1 (85%) dan 172 di IDH2 (3%) (Kloosterhof, *et al.*, 2011). Mereka terutama ditemukan di GBM sekunder (73-85%), bersama dengan tumor astrositik dan oligodendroglial derajat II dan III (72-100%) tetapi tampaknya jarang atau tidak ada di GBM primer (5%) (S. Zhao, *et al.*, 2009).

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa adanya mutasi IDH pada glioma difus dikaitkan dengan usia yang lebih muda (rata-rata 32-47). Meskipun, *wild type* IDH dan *mutant* IDH secara histologis serupa, banyak kelompok telah melaporkan bahwa glioma yang menyimpan mutasi IDH mewakili entitas penyakit yang berbeda yang muncul dari tipe sel yang berbeda dan terjadi dengan adanya kelainan genom lainnya, seperti TP53 mutasi atau penghapusan kromosom 1p/19q, dan terjadi secara eksklusif pada glioma dengan amplifikasi EGFR dan hilangnya kromosom 10 (Huse



Gambar 2.1 Mutasi IDH pada Siklus Asam Trikarboksilat dan Tumorigenesis. Dikutip dengan modifikasi dari: *Efficacy and safety analysis on dendritic cell-based vaccine-treated high-grade glioma patients: A systematic review and meta-analysis* (L. Liu & Li, 2018).

& Holland, 2010). Selain itu, tumor mutan IDH juga telah dikaitkan dengan perubahan epigenetik yang substansial, seperti kelainan metilasi DNA, yang memiliki pola hipermetilasi yang mencolok dari daerah promotor DNA tertentu yang disebut sebagai fenotipe metilator glioma-CpG (G-CIMP) (Duncan, *et al.*, 2012). Telah terbukti bahwa 78% tumor G-CIMP + membawa mutasi IDH1, dan 98% dari keganasan ini positif IDH2 (Bai, *et al.*, 2015).

Untuk mendiagnosis GBM, pasien biasanya akan menjalani pemeriksaan neurologis pendahuluan untuk mengidentifikasi area otak mana yang mungkin terkena tumor. Ini biasanya diikuti dengan pemeriksaan radiologis, seperti *computed tomography* (CT) dan *magnetic resonance imaging* (MRI), untuk menentukan lokasi dan ukuran tumor.

Analisis histopatologi yang dilakukan pada sampel jaringan digunakan untuk menentukan jenis tumor dan agresivitasnya. Pengobatan utama pasien yang terkena GBM adalah terapi pembedahan reseksi tumor, diikuti dengan radioterapi dan temozolomide (TMZ) (Stupp, *et al.*, 2005). Namun, heterogenitas yang ekstrem dari tumor ini membuat terapi kanker semakin menantang. Bersama dengan heterogenitas antar-tumor, heterogenitas intra-tumor sangat penting untuk dilakukan investigasi untuk memunculkan studi dan pemahaman dari bermacam-macam fitur biomolekuler seperti kelainan genetik dan epigenetik, identifikasi penanda molekuler yang tepat dan kecepatan pertumbuhan sel serta kematian sel tumor (Qazi, *et al.*, 2017). Gambaran histologis GBM meliputi hiperselularitas, atipia nukleus, proliferasi mikrovaskuler, dan nekrosis. Meskipun analisis histologis tetap penting dalam diagnosis glioma, penemuan terbaru khususnya di bidang genetika sangat meningkatkan pemahaman kita tentang tumor ini. Selain status mutasi IDH1 dan IDH2 serta enzim yang terlibat dalam berbagai proses metabolisme, seperti produksi 6-O-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT), yang terlibat dalam perbaikan DNA (Wick, *et al.*, 2014).

MGMT adalah penanda tumor yang memiliki fungsi prediktif dan prognostik dalam pengobatan GBM. Pasien GBM dengan metilasi promotor gen ini, yang diobati dengan agen alkilasi, menunjukkan kelangsungan

hidup lebih lama dibandingkan dengan pasien di mana promotor MGMT tidak dimetilasi. MGMT secara efektif dapat melindungi sel dari agen alkilasi (misalnya, TMZ dan CCNU) melalui pencegahan mutasi gen G:C © A:T (Hegi, *et al.*, 2005). Gangguan metilasi promotor MGMT dikaitkan dengan inhibisi transkripsi dari gen MGMT dan hilangnya ekspresi MGMT yang mengakibatkan penurunan perbaikan DNA dan retensi gugus alkil, sehingga memungkinkan agen alkilasi menjadi lebih efektif pada pasien dengan hipermetilasi MGMT.

Metilasi MGMT lebih sering ditemukan di GBM sekunder dari pada lesi yang menderivat, seperti *low grade* glioma dan GBM primer (75% versus 48% versus 36%) (Zawlik, *et al.*, 2009). Baru-baru ini, sejumlah uji klinis telah menunjukkan bahwa metilasi MGMT sesuai dengan PFS dan OS yang lebih besar pada pasien yang diobati dengan agen alkilasi (Cominelli, *et al.*, 2015; Esteller, *et al.*, 2000; Paz, *et al.*, 2004). Oleh karena itu, status metilasi promotor MGMT merupakan salah satu faktor prognostik yang paling relevan di GBM dan telah dianggap sebagai prediktor kuat dari respons terhadap agen alkilasi.

Selanjutnya, uji coba acak prospektif baru-baru ini (NOA-08), uji coba Nordik, dan RTOG 0525 telah menunjukkan metilasi MGMT juga dapat menjadi biomarker prediktif yang berguna untuk stratifikasi pasien GBM lansia untuk radioterapi versus kemoterapi dengan agen alkilasi. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pasien dengan tumor dengan MGMT termetilasi memiliki kelangsungan hidup yang lebih baik ketika diobati dengan TMZ dan radioterapi, dibandingkan dengan mereka yang menerima radioterapi saja, sedangkan pasien dengan tumor dengan MGMT tidak termetilasi memiliki kelangsungan hidup lebih rendah dari kemoterapi, terlepas dari apakah itu diberikan saat diagnosis bersama dengan RT atau sebagai pengobatan penyelamatan (Reifenberger, *et al.*, 2012). Akibatnya, disarankan bahwa pasien GBM lanjut usia yang memenuhi syarat untuk radioterapi atau TMZ harus menjalani pengujian metilasi promotor MGMT sebelum keputusan klinis dibuat. Selain itu, metilasi promotor MGMT dikaitkan dengan PFS yang lebih besar dan peningkatan OS pada pasien dengan GBM berulang (Michael Weller, *et al.*,

Tabel 2.3 Karakteristik Biomarker Glioblastoma

Tipe Biomarker	Mutasi/Amplifikasi EGFR	Metilasi promotor MGMT	Mutasi IDH1/IDH2	Pencitraan
Karakteristik				
Diagnosis	EGFRvIII sangat berkorelasi dengan subtype glioma. Pemantauan waktu secara langsung melalui tipe mikrovesikel dengan RNA spesifik EGFR.	Membantu dalam membedakan progresi nyata dan progresi semu pada pasien dengan GBM yang terdiagnosis dan dilakukan pembedahan yang diikuti dengan radiokemoterapi.	Membedakan antara GBM primer dan sekunder. Glioma difus IDH-mutan dan perbedaan gliosis reaktif nonanaplastik.	Deteksi kelainan molekuler tertentu. Misalnya, EGFRvIII, Metilasi promotor MGMT, dan 2-HG yang berkorelasi dengan mutasi IDH.
Status Perkembangan	+/-Sedang dievaluasi	Sedang dievaluasi	+	+
Prognosis	Prognosis yang lebih baik dengan (i) EGFRvIII & Ki64 20% atau kurang, (ii) EGFRvIII & PTEN kadar normal, (iii) EGFRvIII + promotor MGMT termetilasi.	OS dan PFS yang lebih baik (dengan mutasi IDH) pada glioma ganas yang mendapat terapi radioterapi dan/atau kemoterapi.	OS dan PFS yang lebih baik	MRI: luas edema tumor dan nekrosis memiliki korelasi negatif terhadap OS. PET: Penyerapan 11C-MET dikaitkan dengan kelangsungan hidup pasien yang lebih buruk.
Status Perkembangan	+/-Sedang dievaluasi	+	+	Sedang dievaluasi

Tipe Biomarker	Mutasi/Ampifikasi EGFR	Metilasi promotor MGMT	Mutasi IDH1/IDH2	Pencitraan
Karakteristik				
Prediktif	Biomarker yang dapat digunakan sebagai pengobatan berbasis vaksin.	Memprediksi respons dari kemoterapi dengan agen alkilasi dan radioterapi. Menghubungkan dengan respons yang lebih baik terhadap TMZ pada (i) GBM yang terdiagnosis dengan TMZ sebagai pengobatan lini pertama, (ii) GBM berulang, (iii) pasien usia lanjut.	Mutasi IDH1 secara independen terkait dengan reseksi lengkap pada pasien dengan glioma ganas yang dirawat dengan terapi pembedahan. Reseksi bedah yang lengkap dikaitkan dengan peningkatan kelangsungan hidup pada pasien dengan mutasi IDH1. Tidak adanya mutasi menunjukkan peran prediktif metilasi promotor MGMT untuk PFS pada pasien yang mendapat kemoterapi	<i>Functional Diffusion Maps</i> (fDMs) memprediksi PFS dan OS pada pasien yang diobati dengan radiokemoterapi. ADC memprediksi respons yang lebih baik terhadap bevacizumab yang dikombinasikan dengan kemoterapi. Hubungan antara tingkat hipoksia (diukur dengan 18F-FIMSO dan respons radioterapi.
Status Perkembangan	Sedang dievaluasi	+	Sedang dievaluasi	Sedang dievaluasi

2015). Temuan ini menyoroti perlunya pendekatan terapeutik yang berbeda pada pasien dengan GBM bergantung pada status MGMT mereka dan memperkenalkan penilaian biomarker MGMT ke dalam praktik klinis rutin.

Di antara perubahan genetik yang ditemukan pada GBM, yaitu adanya perubahan yang menargetkan reseptor faktor pertumbuhan epidermal transmembran (EGFRs). Sekitar 40% tumor menunjukkan pengembangan EGFR dan mampu mengekspresikan bentuk reseptornya. EGFRs memainkan peran penting sangat berkorelasi dengan kelangsungan hidup pasien dan respons terhadap pengobatan. Memahami mekanisme biologis yang terjadi di GBM adalah hal mendasar mengklarifikasi proses yang terlibat dalam karsinogenesis dan perkembangan tumor, serta untuk mengembangkan strategi klinis yang ditujukan untuk menargetkan sel kanker.

2.3 KESIMPULAN

Tata laksana GBM selain dengan reseksi bedah yang diikuti oleh kemoterapi dan radioterapi namun prognosis GBM tetap tidak menunjukkan perbaikan. Upaya berkelanjutan untuk mengidentifikasi target molekuler potensial baru untuk pengembangan terapi klinis yang efektif belum mengarah pada peningkatan yang signifikan dalam tingkat kelangsungan hidup, dan sebagian besar pasien tidak dapat bertahan lebih dari tiga tahun. Namun, peran dari marker molekuler, seperti IDH1, IDH2, dan promotor MGMT termitilasi cukup memberikan peran positif terhadap proses diagnostik, perencanaan terapi, dan evaluasi prognostik GBM.

2.4 TINDAK LANJUT

Peranan marker biomolekular dinilai bermanfaat dalam proses diagnostic, perencanaan terapi, dan evaluasi prognostic GBM. Optimalisasi peran dari biomarker seluler tersebut masih dikembangkan, oleh karenanya masih dibutuhkan berbagai penelitian lebih lanjut mengenai ini mengingat

tingkat keganasan GBM yang cukup tinggi dan menurunkan angka kelangsungan hidup secara signifikan.

REFERENSI

- Bai, H., Harmanci, A.S., Erson-Omay, E.Z., *et al.* (2015). Integrated genomic characterization of IDH1-mutant glioma malignant progression. *Nature Genetics*, 48(1):59–66. Available from: <https://doi.org/10.1038/ng.3457>.
- Cominelli, M., Grisanti, S., Mazzoleni, S., Branca, C., Buttolo, L., Furlan, D., Liserre, B., Bonetti, M.F., Medicina, D., & Pellegrini, V. 2015. EGFR amplified and overexpressing glioblastomas and association with better response to adjuvant metronomic temozolomide. *Journal of the National Cancer Institute*, 107(5):djv041.
- Duncan, C.G., Barwick, B.G., Jin, G., Rago, C., Kapoor-Vazirani, P., Powell, D.R., Chi, J.T., Bigner, D.D., Vertino, P.M., & Yan, H. 2012. A heterozygous IDH1R132H/WT mutation induces genome-wide alterations in DNA methylation. *Genome Research*, 22(12):2339–2355.
- Esteller, M., Garcia-Foncillas, J., Andion, E., Goodman, S.N., Hidalgo, O.F., Vanaclocha, V., Baylin, S.B., & Herman, J.G. 2000. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *New England Journal of Medicine*, 343(19):1350–1354.
- Hegi, M.E., Diserens, A.C., Gorlia, T., Hamou, M.F., De Tribolet, N., Weller, M., Kros, J.M., Hainfellner, J.A., Mason, W., Mariani, L., Bromberg, J.E.C., Hau, P., Mirimanoff, R.O., Cairncross, J.G., Janzer, R.C., & Stupp, R. 2005. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, 352(10):997–1003. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043331>.
- Huse, J.T. & Holland, E. C. 2010. Targeting brain cancer: advances in the molecular pathology of malignant glioma and medulloblastoma. *Nature Reviews Cancer*, 10(5):319–331.
- Kloosterhof, N.K., Bralten, L.B.C., Dubbink, H.J., French, P.J., & van den Bent, M.J. 2011. Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: a fundamentally new understanding of diffuse glioma? *The Lancet Oncology*, 12(1):83–91.
- Lama, G., Mangiola, A., Anile, C., Sabatino, G., De Bonis, P., Lauriola, L., Giannitelli, C., La Torre, G., Jhanwar-Uniyal, M. & Sica, G. 2007. Activated

- ERK1/2 expression in glioblastoma multiforme and in peritumor tissue. *International Journal of Oncology*, 30(6):1333–1342.
- Liu, L. & Li, X. 2018. IDH gene mutation in glioma. *Cancer Translational Medicine*, 4(5): 129–133.
- Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K., Burger, P.C., Jouvet, A., Scheithauer, B.W. & Kleihues, P. 2007. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*, 114(2):97–109. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>.
- Louveau, A., Smirnov, I., Keyes, T.J., Eccles, J.D., Rouhani, S.J., Peske, J.D., Derecki, N.C., Frase, S., Mandell, J.W., & Kevin, S. 2018. Structural and functional features of central nervous system lymphatics. *Nature*, 24(533):7602.
- Paz, M.F., Yaya-Tur, R., Rojas-Marcos, I., Reynes, G., Pollan, M., Aguirre-Cruz, L., García-Lopez, J.L., Piquer, J., Safont, M.J., & Balaña, C. 2004. CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme methyltransferase predicts response to temozolomide in primary gliomas. *Clinical Cancer Research*, 10(15):4933–4938.
- Qazi, M.A., Vora, P., Venugopal, C., Sidhu, S.S., Moffat, J., Swanton, C., & Singh, S. K. 2017. Intratumoral heterogeneity: pathways to treatment resistance and relapse in human glioblastoma. *Annals of Oncology*, 28(7):1448–1456.
- Reifenberger, G., Hentschel, B., Felsberg, J., Schackert, G., Simon, M., Schnell, O., Westphal, M., Wick, W., Pietsch, T., & Loeffler, M. 2012. Predictive impact of MGMT promoter methylation in glioblastoma of the elderly. *International Journal of Cancer*, 131(6):1342–1350.
- Sathornsumetee, S., Rich, J.N., & Reardon, D.A. 2007. Diagnosis and treatment of high-grade astrocytoma. *Neurologic Clinics*, 25(4):1111–1139.
- Stupp, R., Mason, W.P., Van Den Bent, M.J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M.J.B., Belanger, K., Brandes, A.A., Marosi, C. & Bogdahn, U. 2005. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, 352(10):987–996.
- Verhaak, R.G.W., Hoadley, K.A., Purdom, E., Wang, V., Qi, Y., Wilkerson, M.D., Miller, C. R., Ding, L., Golub, T. & Mesirov, J.P. 2010. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell*, 17(1):98–110.
- Weller, M., Tabatabai, G., Kästner, B., Felsberg, J., Steinbach, J.P., Wick, A., Schnell, O., Hau, P., Herrlinger, U., & Sabel, M.C. 2015. MGMT promoter methylation is a strong prognostic biomarker for benefit from dose-intensified

- temozolomide rechallenge in progressive glioblastoma: the DIRECTOR trial. *Clinical Cancer Research*, 21(9): 2057–2064.
- Wick, W., Weller, M., Van Den Bent, M., Sanson, M., Weiler, M., Von Deimling, A., Plass, C., Hegi, M., Platten, M., & Reifenberger, G. 2014. MGMT testing—the challenges for biomarker-based glioma treatment. *Nature Reviews Neurology*, 10(7):372.
- Xu, W., Yang, H., Liu, Y., *et al.* 2011. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*, 19(1):17–30. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.12.014>
- Xu, X., Zhao, J., Xu, Z., Peng, B., Huang, Q., Arnold, E., & Ding, J. 2004. Structures of human cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase reveal a novel self-regulatory mechanism of activity. *Journal of Biological Chemistry*, 279(32):33946–33957.
- Zawlik, I., Vaccarella, S., Kita, D., Mittelbronn, M., Franceschi, S., & Ohgaki, H. 2009. Promoter methylation and polymorphisms of the MGMT gene in glioblastomas: a population-based study. *Neuroepidemiology*, 32(1):21–29.
- Zhao, S., Lin, Y., Xu, W., Jiang, W., Zha, Z., Wang, P., Yu, W., Li, Z., Gong, L., & Peng, Y. 2009. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 α . *Science*, 324(5924):261–265.



3

Pengaruh Mekanisme Imunosupresif pada Glioblastoma terhadap Proses Modalitas Imunoterapi

3.1 PENDAHULUAN

Dokter Spesialis Bedah Saraf dapat mempelajari lebih jauh mengenai mekanisme imunosupresif glioblastoma yang melibatkan lingkungan mikro khusus serta kaitannya dengan tata laksana imunoterapi berdasarkan literatur terkini sehingga penggunaan terapi khusus berupa imunoterapi pada pasien glioblastoma dapat dipertimbangkan sesuai kondisi pasien tersebut.

Dengan perkembangan keilmuan berbasis penelitian yang berkelanjutan terkait mekanisme imunosupresi pada glioblastoma, intisari tentang topik tersebut dapat diimplementasikan dalam kurikulum pendidikan kedokteran terkini sebagai bahan pembelajaran bagi mahasiswa kedokteran maupun para sejawat medis lainnya.

Glioblastoma adalah tumor otak primer paling agresif pada orang dewasa (Ostrom, *et al.*, 2018) dan salah satu tantangan utama dalam

onkologi. Strategi pengobatan multimodal melibatkan operasi yang aman, radioterapi, dan kemoterapi alkilasi (Michael Weller, *et al.*, 2017) Strategi imunoterapi yang berbeda, termasuk penghambatan *checkpoint* imun dan vaksinasi peptida, sejauh ini gagal untuk meningkatkan kelangsungan hidup (David A. Reardon, *et al.*, 2020) Hal tersebut mungkin merupakan konsekuensi dari faktor intrinsik sel glioma, seperti heterogenitas antarsel (Nefitel, *et al.*, 2019) dan terlalu sedikitnya neoepitop imunogenik (Alexandrov, *et al.*, 2013), serta tingginya tingkat sitokin immunosupresif (David A Reardon, *et al.*, 2017) dan immunosupresif populasi sel myeloid dan limfoid, yang menghasilkan lingkungan tumor penekan imun yang kuat. Oleh karena itu, terdapat kebutuhan medis yang belum terpenuhi sebagai strategi pengobatan yang efektif dengan menargetkan lingkungan tumor immunosupresif kompleks dan yang mengarah pada pergeseran proinflamasi dari faktor-faktor seluler dan terlarut.

Glioblastoma memengaruhi sistem imun secara sistemik maupun secara lingkungan mikro. Lingkungan mikro dapat secara sederhana dikarakterisasi menjadi dingin (nonsel T meradang) atau panas (sel T meradang), yang sebagian besar dikaitkan dengan tingkat produksi sitokin proinflamasi dan infiltrasi sel T (Gajewski, 2015). Tumor panas itu dicirikan oleh infiltrasi sel T dan tanda-tanda molekuler dari aktivasi kekebalan, sedangkan tumor dingin menunjukkan ciri mencolok dari tidak adanya atau eksklusi sel T. Secara umum, tumor panas menunjukkan tingkat respons yang lebih tinggi terhadap imunoterapi, seperti terapi anti-*programmed death ligand* (PD-L) 1/PD-1 (Zemek, *et al.*, 2019). Oleh karena itu, berbagai penelitian telah difokuskan pada mengubah tumor dingin noninflamed menjadi yang panas untuk mencapai respons yang lebih baik terhadap imunoterapi (Gajewski, 2015; Z. Liu, *et al.*, 2020). Glioblastoma dikenal sebagai tumor dingin dengan beban mutasi rendah dan sel efektor imun yang jarang menginfiltrasi, dan dengan demikian sebagian besar resistan terhadap terapi blokade pos pemeriksaan imun (ICB) ganda (Quail & Joyce, 2017).

Pemberian sitokin proinflamasi dapat memicu imunitas antitumor yang kuat (Grünhagen, *et al.*, 2006), dan mengubah lingkungan mikro

imunologis “dingin”, yang secara paradigmatik terdapat pada glioblastoma, menjadi lingkungan mikro tumor yang “panas” secara imunologis (vom Berg, *et al.*, 2013). Namun, pemberian dosis aktif terapi dari sitokin tersebut terhambat oleh efek samping yang substansial dan sifat farmakokinetik yang tidak menguntungkan (Neri & Sondel, 2016). Terdapat hal menarik dalam penggunaan produk sitokin yang direkayasa, seperti protein fusi antibodi-sitokin, “imunositokin,” sebagai alat untuk stimulasi selektif imunitas antitumor di lokasi penyakit sambil menyelamatkan jaringan normal (Neri, 2019). Namun, potensi kelas agen terapeutik ini belum dieksplorasi untuk tumor otak.

3.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Pengetahuan terkini tentang identitas seluler dan molekuler dari sel imun terkait tumor pada kanker otak primer dan metastatik dan mendiskusikan mekanisme yang mendasari radiasi pengion untuk memodulasi respons imun. Pengetahuan mekanisme terinci tentang efek radiasi pada lanskap kekebalan unik kanker otak sangat penting untuk pengembangan strategi intervensi multimodalitas di mana efek modulasi imun dari radioterapi dieksploitasi untuk membuat sensitif kanker otak menjadi imunoterapi dengan mengubah lingkungan “dingin” secara imunologis menjadi lingkungan “panas” (Sevenich, 2019).

Regulasi Sistem Imun pada Glioblastoma

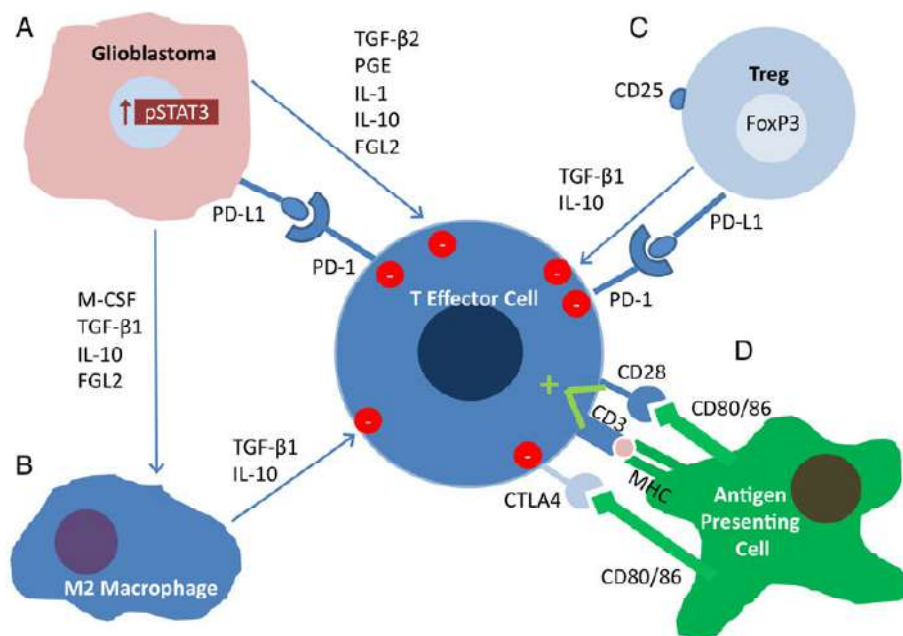
Berbagai variasi mekanisme immunosupresif digunakan pada pengaturan glioblastoma untuk mencegah deteksi dan eradikasinya oleh sistem imun (Gambar 1). Sebagai contoh, pengaturan sel T regulator (Tregs) dapat berasal dari struktur timus dan dikenal sebagai *natural Tregs* (nTregs), atau *induced Tregs* (iTregs) setelah terpapar antigen pada lingkungan yang tolerogenik.

Kedua jenis Tregs berpotensi terlibat pada penekanan kekebalan yang dimediasi glioblastoma, tetapi nTregs dapat mendominasi dalam lingkungan mikro dari glioblastoma. (Wainwright, *et al.*, 2011) Tregs

Tabel 3.1 Studi Pengaruh Mekanisme Imunosupresif pada Glioblastoma terhadap Proses Modalitas Imunoterapi

No	Peneliti	Penelitian
1	Darvin P, Toor SM, Sasidharan Nair V, Elkord E, 2018	Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers
2	Zhao J, Chen AX, Gartrell RD, 2019	Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma
3	Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB, 2016	Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy
4	O'Donnell JS, Teng MWL, Smyth MJ, 2019	Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy
5	Farhood B, Najafi M, Mortezaee K, 2019	CD8 ⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: A review
6	Wang X, Guo G, Guan H, Yu Y, Lu J, Yu J, 2019.	Challenges and potential of PD-1/PD-L1 checkpoint blockage immunotherapy for glioblastoma
7	Lei X, Lei Y, Li JK, 2020	Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy
8	Jing Huang, Fangkun Lui, Zhixiong Liu, 2017	Immune Checkpoint in Glioblastoma: Promising and Challenging
9	Michael Lim, Yuanxuan Xia, Chetan Bettegowda, 2018	Current state of immunotherapy for glioblastoma
10	Lisa Sevenich, 2019	Turning "Cold" Into "Hot Tumors- Opportunities and Challenges for Radio-Immunotherapy Against Primary and Metastatic Brain Cancers

menekan respons imun dengan mensekresi sitokin-sitokin, seperti *transforming growth factor-beta* (TGF- β) dan interleukin-10 (IL-10), dan melalui komunikasi antarsel, dan dengan cara ini dapat mencegah reaksi autoimun (Wing & Sakaguchi, 2010). *Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4* (CTLA-4) adalah reseptor permukaan yang ditemukan pada sel T efektor yang teraktivasi. CD28, yang biasanya berikatan dengan B7 pada sel penyaji antigen/*antigen-presenting cell* (APC) untuk menyediakan kebutuhan sinyal kostimulatori dalam proses aktivasi sel T, dapat mengikat reseptor permukaan sel tersebut dan menginduksi energi sel T (Thompson & Allison, 1997). Pada Tregs, CTLA-4 dapat berubah menjadi



Gambar 3.1 Imunosupresi pada Lingkungan Mikro Glioblastoma. Dikutip dengan modifikasi dari: *Immunosuppressive mechanisms in glioblastoma* (Nduom, et al., 2015)

aktif, yang berperan dalam proses supresi sistem imun (Takahashi et al., 2000). CTLA-4 dan *programmed death 1* (PD-1) seringkali dikenal sebagai pos pemeriksaan imun, di mana keduanya membantu membentuk sistem pengecekan dan keseimbangan yang menjaga proses proliferasi dan aktivasi imun agar tetap teratur. Ligan untuk PD-1, *programmed death-ligand 1* (PD-L1), berikatan dengan PD-1 untuk menyediakan sinyal lainnya demi menekan sel-sel CD4+ dan CD8+ yang aktif (Wintterle et al., 2003). Beberapa penelitian terkait lingkungan mikro tumor telah menunjukkan bahwa pengikatan pada sistem ini dapat memicu apoptosis sel T (Dong et al., 2002).

Faktor-Faktor Imunosupresif yang Tersekresi pada Glioblastoma

Dengan memeriksa cairan kista tumor, ditemukan bahwa aktivitas limfosit dapat ditekan dengan menggunakan faktor-faktor yang tersekresi oleh

tumor itu sendiri (Kikuchi & Neuwelt, 1983). Faktor-faktor yang tersekresi tersebut kemudian dikenal dengan IL-1 dan TGF- β (Fontana, *et al.*, 1984; Frei, *et al.*, 2015; Wrann, *et al.*, 1987). Penemuan ini mengarahkan pada perkembangan trabedersen (OT101), suatu oligonukleotid antisense yang menghambat TGF- β 2 (Bogdahn, *et al.*, 2011). Penghambat aktivitas *TGF- β receptor kinase* sedang dalam tahap pengujian klinis. Meskipun tolerabilitas klinis dan aktivitas terapeutik telah dibatasi sejauh ini (Rodon, *et al.*, 2015) namun studi-studi preklinis mendukung penggunaannya. Selanjutnya, banyak faktor-faktor yang tersekresi pada lingkungan mikro glioblastoma yang telah ditemukan, di mana beberapa di antaranya memiliki kadar pengaruh yang bervariasi pada respons sistem imun terhadap glioblastoma. Sebagai contoh, *colony stimulating factor 1* (CSF-1), diproduksi oleh glioma, telah ditunjukkan memisahkan makrofag terhadap sebuah fenotip *glioma-supportive M2*, yang meningkatkan progresivitas glioma. Lebih jauh lagi, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) tidak hanya meningkatkan tumorigenitas dan pertumbuhan glioma, tetapi juga dapat menghambat maturasi dan perkembangan sel-sel dendritik. Sitokin lainnya meliputi IL-10, prostaglandin E, *nitric oxide*, faktor regenerasi dan toleransi, dan *arginase 1*.

Faktor regenerasi dan toleransi diketahui memiliki efek menghambat kemampuan sel *natural killer* (NK) untuk melisis sel-sel target. Kadar *arginase 1* serum diketahui berkaitan dengan degranulasi netrofil dan imunosupresi pada pasien-pasien glioblastoma. Faktor-faktor yang tersekresi ini dapat ditingkatkan jumlahnya setelah glioma mengalami terapi konvensional. Sebagai catatan, beberapa sitokin-sitokin yang disekresikan oleh glioma dapat memiliki peran stimulasi dan inhibisi sistem imun yang bergantung pada konteks tertentu. *Granulocyte macrophage CSF*, yang berfungsi sebagai sitokin dan faktor pertumbuhan bagi granulosit dan monosit, dapat menginduksi *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs).

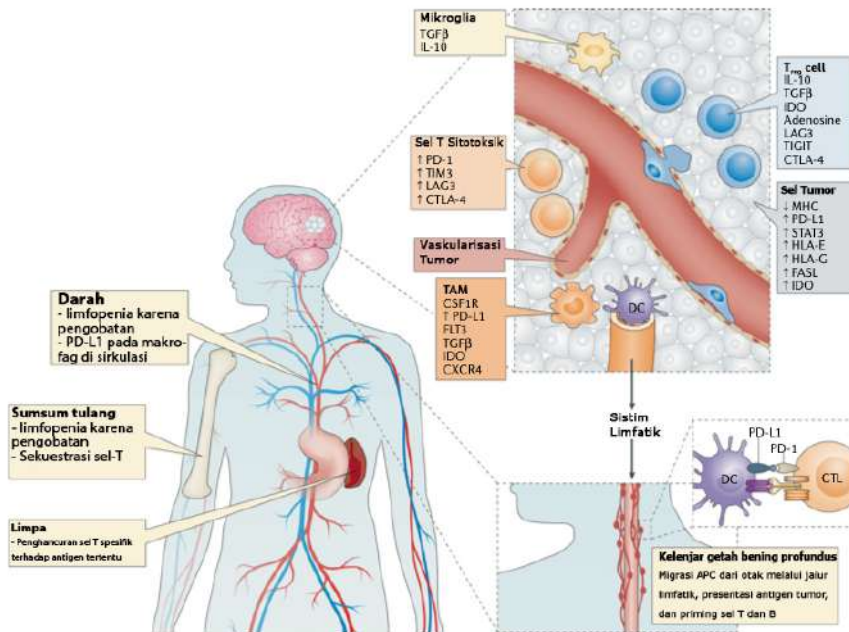
Faktor-Faktor Imunosupresif pada Permukaan Sel Glioma

Sel-sel glioma dapat mengekspresikan ligan CD95 (*Fas/apoptosis antigen 1*) pada permukaan selnya, yang dapat memicu apoptosis dan mengurangi jumlah sel-sel T yang terlibat pada lingkungan mikro dari tumor tersebut. CD70, melalui komunikasi antarsel secara langsung, dapat memiliki efek apoptosis pada sel-sel imun secara *in vitro*. *Lectin-like transcript 1* telah diketahui merupakan suatu *glioblastoma-expressed inhibitory ligand* bagi sel-sel NK. Contoh yang mirip yaitu PD-L1, yang merupakan ligan bagi PD-1, yang diekspresikan lebih banyak pada lingkungan mikro glioblastoma dan dapat dikaitkan dengan subtype glioblastoma mesenkimal. PD-L1 diekspresikan pada sel-sel imun dan glioma dan telah diketahui dapat menghambat aktivasi sel T dan menginduksi apoptosis sel T. Peningkatan ekspresi PD-L1 tersebut pada glioblastoma dapat disebabkan oleh hilangnya protein *tumor suppressor gene phosphatase* dan tensin homolog.

Sel-Sel Imunosupresif pada Lingkungan Mikro Glioma

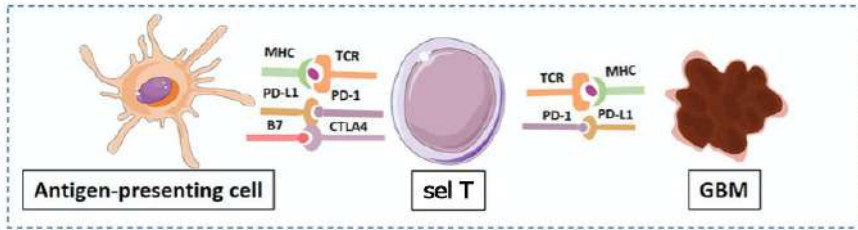
Pasien-pasien glioblastoma dapat menjadi sangat imunosupresif. Suatu gambaran kunci yakni kurangnya jumlah sel-sel T CD4⁺ pada darah perifer dengan peningkatan proporsi dari Tregs. *Chemokine C-C ligand 2*, yang dihasilkan oleh sel-sel glioma, dan faktor-faktor *soluble* lainnya dapat memicu pelacakan Tregs terhadap lingkungan mikro tumor. Namun, tidak semua glioblastoma menunjukkan infiltrasi signifikan dari Tregs, yang menunjukkan heterogenitas dari mekanisme penekanan sistem imun. Aktivitas fungsional dari Tregs pada lingkungan mikro dapat ditingkatkan oleh aktivitas IDO, suatu enzim intraseluler yang terekspresikan dalam jumlah banyak pada banyak kondisi kanker, termasuk glioma, yang menekan aktivasi dan proliferasi sel-sel T dengan membentuk suatu *tryptophan shortage*.

Dalam upaya untuk mengembangkan pengobatan molekuler individual untuk pasien GBM yang tumornya menunjukkan faktor



Gambar 3.2 Imunosupresi Lokal dan Sistemik pada Glioblastoma. Dikutip dengan modifikasi dari: *Current state of immunotherapy for glioblastoma* (Lim, et al., 2018).

genetik yang cukup variasi, serta untuk memilih kandidat yang sesuai untuk terapi yang baru lahir, pengembangan biomarker yang andal adalah kuncinya. Dalam berbagai karsinoma epitel, biomarker baru dapat memprediksi perjalanan klinis, prognosis, dan kepekaan terhadap pengobatan (Johansen, *et al.*, 2006). Skrining molekuler telah digunakan pada tumor otak neuroepitelial lainnya, termasuk meduloblastoma dan tumor rhaboid teratoid atipikal pada pasien anak-anak, dan secara potensial pada astrositoma pilositik (Jansen, *et al.*, 2010). Hipermetilasi dari *O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase* (MGMT) pada pasien GBM memprediksi peningkatan responsivitas terhadap kemoterapi temozolomide dan kelangsungan hidup yang lebih lama (Hegi, *et al.*, 2005). Biomarker lain di GBM saat ini digunakan tetapi kurang sensitif atau spesifik untuk fenotipe invasif secara klinis. Di sini, peneliti lain secara



Gambar 3.3 Keuntungan dan Tantangan dari Immune Checkpoint pada Glioblastoma. Dikutip dari: *Immune checkpoint in glioblastoma: Promising and challenging* (Huang, et al., 2017)

sistematis meninjau untuk pertama kalinya, biomarker protein dari fenotip invasif di GBM. Lebih lanjut, kami mengusulkan bahwa data kelangsungan hidup dari database genom publik, seperti TCGA, digunakan untuk mengontekstualisasikan temuan eksperimental terkait biomarker dan untuk memacu penyelidikan laboratorium dari biomarker yang tampak sangat terkait dengan kelangsungan hidup. Data kelangsungan hidup TCGA adalah pendorong untuk memilih tujuh reseptor *transmembrane G-protein-coupled* (CD97, EMR2, dan EMR3) untuk studi mendalam. Sementara data *in vitro* dan *in vivo* memberikan informasi mekanistik yang penting, data kelangsungan hidup untuk biomarker terdiri atas lensa yang pada akhirnya harus dinilai, mengingat kekuatan prediktifnya dalam pengaturan klinis.

Secara umum, kelebihan dari *immune checkpoint* pada glioblastoma meliputi:

1. Peningkatan ekspresi PD-L1 pada glioblastoma
2. Mengatasi penghindaran sistem imun glioblastoma
3. Molekul *checkpoint* penting lainnya meliputi TIM-3, OX40, dan LAG3 dapat menjadi target yang efektif
4. Efek samping imunoterapi *checkpoint* terjadi dalam waktu yang lambat
5. Kombinasi imunoterapi dengan radiasi atau kemoterapi meningkatkan aktivitas terapeutik.

Adapun beberapa hal yang menjadi tantangan penghambat *checkpoint* sistem imun meliputi:

1. Strategi penghindaran dari imun kompleks
2. Evaluasi respons terapeutik
3. Kejadian sampingan yang berhubungan dengan sistem imun
4. Keseimbangan antara toleransi dan autoimunitas

3.3 KESIMPULAN

Pengenalan imunoterapi ke dalam klinik dan wawasan molekuler yang lebih rinci ke dalam mekanisme yang mendasari efek imunogenik dari radiasi baru-baru ini menarik perhatian pada radioterapi sebagai modulator peradangan terkait kanker yang manjur. Meskipun imunoterapi sangat efektif untuk pasien dengan lingkungan tumor yang meradang atau panas, kelompok pasien yang besar tetap tidak responsif terhadap imunoterapi karena resistansi intrinsik atau yang didapat. Meskipun kami baru mulai memahami dasar seluler dan molekuler yang membedakan responden dari non-penanggap, mengumpulkan data klinis dan praklinis menunjukkan bahwa efek imunogenik dari radioterapi mengubah lingkungan dingin menjadi panas dan dengan demikian membuat peka tumor yang tidak responsif terhadap imunoterapi. Untuk lebih meningkatkan tingkat tanggapan, sangat penting untuk mengidentifikasi jalur molekuler yang menentukan mode tanggapan kekebalan dan untuk mengembangkan strategi yang secara efisien mendorong tanggapan kekebalan antitumor tanpa risiko memicu kekebalan otomatis.

3.4 TINDAK LANJUT

Upaya pelaksanaan penelitian berupa kajian pada beberapa literatur riset yang telah dituangkan oleh penulis dan tim serta penulis lainnya dengan hasil riset masing-masing merupakan suatu hal yang sangat dibutuhkan. Upaya tersebut nantinya diharapkan dapat menjawab hal krusial terkait mekanisme immunosupresif secara spesifik pada glioblastoma dan

pengaruhnya terhadap tatalaksana imunoterapi yang diberikan kepada pasien penderita glioblastoma.

REFERENSI

- Alexandrov, L.B., *et al.* 2013. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*, 500(7463):415–421. doi: 10.1038/nature12477.
- vom Berg, J., *et al.* 2013. Intratumoral IL-12 combined with CTLA-4 blockade elicits T cell-mediated glioma rejection. *Journal of Experimental Medicine*, 210(13):2803–2811. doi: 10.1084/jem.20130678.
- Bogdahn, U., *et al.* 2011. Targeted therapy for high-grade glioma with the TGF- β 2 inhibitor trabectedin: Results of a randomized and controlled phase IIb study. *Neuro-Oncology*, 13(1):132–142. doi: 10.1093/neuonc/noq142.
- Darvin, P., *et al.* 2018. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers. *Experimental and Molecular Medicine*, 50(12):1–11. doi: 10.1038/s12276-018-0191-1.
- Dong, H. *et al.* 2002. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nature Medicine*, 8(8):793–800. doi: 10.1038/nm730.
- Farhood, B., Najafi, M. and Mortezaee, K. 2019. CD8+ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: A review. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6):8509–8521. doi: 10.1002/jcp.27782.
- Fontana, A., *et al.* 1984. Glioblastoma cells release interleukin 1 and factors inhibiting interleukin 2-mediated effects. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 132(4):1837–1844.
- Frei, K., *et al.* 2015. Transforming growth factor- β pathway activity in glioblastoma. *Oncotarget*, 6(8):5963–5977. doi: 10.18632/oncotarget.3467.
- Gajewski, T.F. 2015. Next Hurdle in Cancer Immunotherapy: Overcoming Non-T-Cell-Inflamed Tumor Microenvironment. *Seminars in Oncology*, 42(4):663–671. doi: 10.1053/j.seminoncol.2015.05.011.
- Gibney, G.T., Weiner, L.M. and Atkins, M. B. 2016. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *The Lancet Oncology*, 17(12):e542–e551. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30406-5.
- Grünhagen, D.J., *et al.* 2006. Technology insight: Utility of TNF- α -based isolated limb perfusion to avoid amputation of irresectable tumors of the extremities. *Nature Clinical Practice Oncology*, 3(2):94–103. doi: 10.1038/ncponc0426.

- Hegi, M. E., *et al.* 2005. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, 352(10):997–1003. doi: 10.1056/nejmoa043331.
- Huang, J., *et al.* 2017. Immune checkpoint in glioblastoma: Promising and challenging. *Frontiers in Pharmacology*, 8(MAY). doi: 10.3389/fphar.2017.00242.
- Jansen, M., Yip, S. and Louis, D.N. 2010. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *The Lancet Neurology*, 9(7):717–726. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70105-8.
- Johansen, J.S., *et al.* 2006. Serum YKL-40, a new prognostic biomarker in cancer patients? *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 15(2):194–202. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0011.
- Kikychi, K. and Neuwelt, E.A. 1983. Presence of immunosuppressive factors in brain-tumor cyst fluid. *Journal of Neurosurgery*, 59(5):790–799. doi: 10.3171/jns.1983.59.5.0790.
- Lei, X., *et al.* 2020. Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy. *Cancer Letters*, 470:126–133. doi: 10.1016/j.canlet.2019.11.009.
- Lim, M., *et al.* 2018. Current state of immunotherapy for glioblastoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 15(7):422–442. doi: 10.1038/s41571-018-0003-5.
- Liu, Z., Han, C. and Fu, Y. X. 2020. Targeting innate sensing in the tumor microenvironment to improve immunotherapy. *Cellular and Molecular Immunology*, 17(1):13–26. doi: 10.1038/s41423-019-0341-y.
- Nduom, E.K., Weller, M. and Heimberger, A.B. 2015. Immunosuppressive mechanisms in glioblastoma. *Neuro-oncology*, 17(June):vii9–vii14. doi: 10.1093/neuonc/nov151.
- Neftel, C., *et al.* 2019. An integrative model of cellular states, plasticity, and genetics for glioblastoma. *Cell*, 178(4):835–849.e21. doi: 10.1016/j.cell.2019.06.024.
- Neri, D. 2019. Antibody–cytokine fusions: Versatile products for the modulation of anticancer immunity. *Cancer Immunology Research*, 7(3):348–354. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0622.
- Neri, D. and Sondel, P.M. 2016. Immunocytokines for cancer treatment: Past, present and future. *Current Opinion in Immunology*, 40:96–102. doi: 10.1016/j.coi.2016.03.006.
- O'Donnell, J.S., Teng, M.W.L. and Smyth, M.J. 2019. Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 16(3):151–167. doi: 10.1038/s41571-018-0142-8.

- Ostrom, Q.T., *et al.* 2018. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro-Oncology*, 20:iv1--iv86. doi: 10.1093/neuonc/noy131.
- Quail, D.F. and Joyce, J.A. 2017. The microenvironmental landscape of brain tumors. *Cancer Cell*, 31(3):326–341. doi: 10.1016/j.ccell.2017.02.009.
- Reardon, D.A., *et al.* 2020. Effect of Nivolumab vs Bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: The CheckMate 143 phase 3 randomized clinical trial. *JAMA Oncology*, 6(7):1003–1010. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.1024.
- Reardon, D.A., Wucherpennig, K. and Chiocca, E.A. 2017. Immunotherapy for glioblastoma: on the sidelines or in the game? *Discovery medicine*, 24(133):201–208.
- Rodon, J., *et al.* 2015. First-in-human dose study of the novel transforming growth factor- β receptor I kinase inhibitor LY2157299 monohydrate in patients with advanced cancer and glioma. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 21(3):553–560. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1380.
- Sevenich, L. 2019. Turning “Cold” into “Hot” tumors - Opportunities and challenges for radio-immunotherapy against primary and metastatic brain cancers. *Frontiers in Oncology*, 9(MAR):1–16. doi: 10.3389/fonc.2019.00163.
- Takahashi, T., *et al.* 2000. Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *Journal of Experimental Medicine*, 192(2):303–309. doi: 10.1084/jem.192.2.303.
- Thompson, C.B. and Allison, J.P. 1997. The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. *Immunity*, 7(4):445–450. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80366-0.
- Wainwright, D.A. *et al.* 2011. 156. Thymus-derived rather than tumor-induced regulatory T cells predominate in human and experimental mouse brain tumors. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(12):S224. doi: 10.1016/j.bbi.2011.07.159.
- Wang, X., *et al.* 2019. Challenges and potential of PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy for glioblastoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 38(1). doi: 10.1186/s13046-019-1085-3.
- Weller, M., *et al.* 2017. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 18(10):1373–1385. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30517-X.

- Wing, K. and Sakaguchi, S. 2010. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nature Immunology*, 11(1):7–13. doi: 10.1038/ni.1818.
- Wintterle, S., *et al.* 2003. Expression of the B7-related molecule B7-H1 by glioma cells: a potential mechanism of immune paralysis. *Cancer research*, 63(21):7462–7467.
- Wrann, M., *et al.* 1987. T cell suppressor factor from human glioblastoma cells is a 12.5-kd protein closely related to transforming growth factor- β . *EMBO Journal*, 6(6):1633–1636. doi: 10.1002/j.1460-2075.1987.tb02411.x.
- Zemek, R.M., *et al.* 2019. Sensitization to immune checkpoint blockade through activation of a STAT1/NK axis in the tumor microenvironment. *Science Translational Medicine*, 11(501):1–14. doi: 10.1126/scitranslmed.aav7816.
- Zhao, J., *et al.* 2019. Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma. *Nature Medicine*, 25(3):462–469. doi: 10.1038/s41591-019-0349-y.



4

Perkembangan Imunoterapi pada Glioblastoma

4.1 PENDAHULUAN

Salah satu jenis histopatologi glioma, yaitu glioblastoma merupakan suatu tumor yang agresif dan memiliki prognosis yang buruk meskipun telah diterapi dengan terapi standar yaitu pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi. Imunoterapi merupakan suatu area yang diharapkan dapat menjadi pilihan terapi pada pasien glioblastoma.

4.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Studi literatur dilakukan untuk mencari artikel yang sesuai tentang efek imunoterapi pada glioblastoma. *Keyword* yang digunakan yaitu Imunoterapi AND (glioblastoma OR GBM). Beberapa hasil studi literatur utama yang digunakan adalah:

Tabel 4.1 Studi Perkembangan Imunoterapi pada Glioblastoma

No	Peneliti	Penelitian
1.	Han SJ, 2012	Immunotherapy for Glioma: Promises and Challenges
2.	Johanns TM, 2017	Applied cancer immunogenomic
3.	Lopes A, 2013	Cancer DNA Vaccine: Current Preclinical and Clinical Development and Future Perspective
4.	Mildenberger I, 2017.	The Promises of Immunotherapy in gliomas
5.	Platen M, 2018	Vaccine Strategies in Gliomas.
6.	Lim M, 2018	Current State of Immunotherapy for Glioblastoma

Awal Perkembangan Imunoterapi

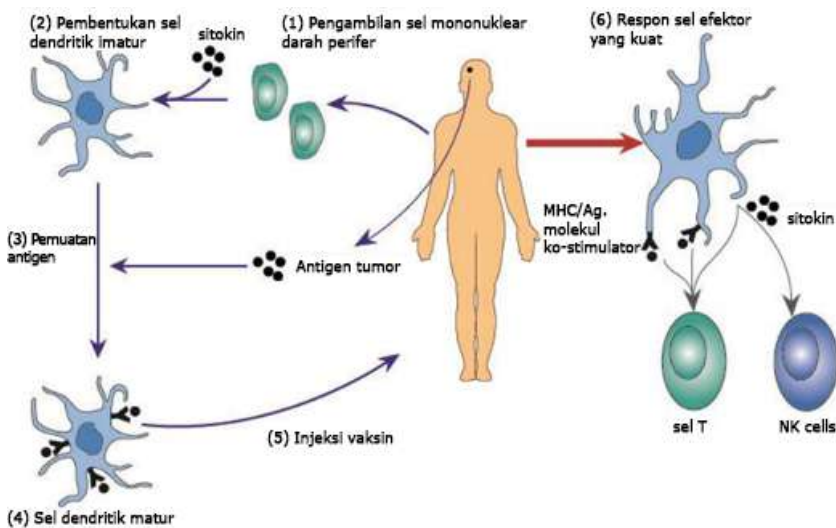
Imunoterapi telah berkembang secara cepat menjadi salah satu pilar terapi anti-kanker. Pendekatan utama modalitas imunoterapi dibagi menjadi dua yaitu: 1) Imunoterapi aktif ; 2) Imunoterapi pasif. (Han, *et al.*, 2012; Patel & Pardoll, 2015).

Imunoterapi aktif

1. *Dendritic cell (DC) vaccination*

Imunoterapi telah dikembangkan dengan identifikasi antigen spesifik kanker. Pemindahan sel T antigen spesifik autologus secara adoptif mungkin efektif tetapi tidak berlangsung lama. Vaksinasi antigen peptida mungkin spesifik, tetapi tumor dapat mengembangkan kekebalan selektif. Inti dari keberhasilan suatu vaksin adalah kemampuannya untuk memanfaatkan kemampuan penyajian sel-sel dendritik yang berpotensi antigen, yang merupakan sel penyaji antigen yang paling profesional dan kuat. Strategi imunoterapi telah mencoba untuk mengeksploitasi kapasitas intrinsik sel dendritik untuk merangsang sel-sel efektor imun antitumor, seperti tumor limfosit T sitotoksik spesifik-antigen tumor, sel Th1, dll. Kunci imunoterapi adalah *tumor-specific antigen (TSA)* yang dapat memicu kuat respons imun antitumor. EGFRvIII (*epidermal growth factor receptor variant III*) sering diekspresikan pada GBM (27%) dan tidak pada jaringan otak normal, sehingga dapat berfungsi sebagai target

ideal untuk imunoterapi aktif spesifik antitumor. Pendekatan ini telah diuji oleh beberapa uji klinis. Banyak protein *high grade glioma* (HGG) lainnya seperti EphA2 (*Ephrin type-A receptor 22*), rantai reseptor $\alpha 2$ IL-13, tenascin, dan SOX2 dapat berfungsi sebagai penanda untuk glioma. Studi-studi tersebut perlu eksplorasi lebih lanjut karena ukuran sampel yang terbatas dan tingkat ekspresi heterogen protein spesifik glioma. SEREX (*serological analysis of recombinant expressed cDNA clone*) dapat mengambil antigen baru seperti EFTUD1 (*Elongation factor Tu GTP binding domain containing protein 1*). Sampai saat ini, telah menjadi tantangan besar untuk mencari TSA, dan kurangnya TSA menahan kemajuan imunoterapi spesifik aktif. Strategi imunoterapi berbasis sel dendritik meliputi tahapan memanen sel mononuklear darah tepi untuk menghasilkan sel dendritik yang belum matang dengan stimulasi sitokin, menghasilkan sel dendritik yang matang dengan memuat antigen tumor, mentransfer sel dendritik yang menghadirkan antigen aktif kembali ke pasien, dan merangsang sel efektor imun antitumor yang kuat seperti sel T dan sel NK (Chao, *et al.*, 2015). (Gambar 1).



Gambar 4.1 Strategi Imunoterapi Berbasis Sel Dendritik (Chao, *et al.*, 2015)

2. *DNA vaccines*

Vaksinasi DNA merupakan strategi yang menjanjikan untuk memanfaatkan sistem kekebalan tubuh. Vaksin DNA adalah plasmid yang dirancang untuk menghasilkan gen yang mengkode antigen tumor, memunculkan atau menambah respons imun adaptif terhadap sel tumor pembawa antigen tumor. Vaksin kanker DNA juga dapat menginduksi respons imun bawaan, bertindak sebagai «sinyal bahaya» yang kuat yang merangsang beberapa jalur pengindra DNA dalam sitosol sel yang ditransfusikan karena adanya motif CpG dan struktur untai ganda itu sendiri. Sampai sekarang, hanya satu vaksin kanker terapeutik yang telah disetujui untuk digunakan manusia (vaksin kanker berbasis sel dendritik, Sipuleucel T), dan sebagian besar vaksin kanker lainnya, termasuk vaksin DNA, masih dalam fase klinis I atau II. Perkembangan baru dalam pengiriman dan optimalisasi plasmid dan kombinasi dengan terapi lain bertujuan untuk meningkatkan kemanjuran vaksin DNA dalam studi praklinis dan klinis untuk mengatasi rendahnya imunogenisitas pada manusia. Dalam ulasan ini, kami menyelidiki studi praklinis 5-tahun terakhir dan studi klinis 10-tahun menggunakan vaksin DNA yang tidak diformulasikan untuk terapi kanker. Setelah berada di nukleus, antigen yang dikodekan oleh vaksin DNA perlu diekspresikan dan disajikan pada *major histocompatibility molecules* (MHC) untuk aktivasi sel T. Keuntungan penting dari vaksin DNA adalah antigen yang dikodekan dapat disajikan oleh MHC kelas-I dan -II yang akan mengaktifkan sel T CD4 dan CD8, serta secara tidak langsung, imunitas humoral. Lebih lanjut, elemen intrinsik DNA plasmid juga dapat mengaktifkan respons imun bawaan karena pengakuan struktur DNA untai ganda oleh sensor sitosol. Induksi respons imun protektif dan spesifik telah ditunjukkan pada tikus terhadap berbagai antigen, termasuk permukaan hepatitis B dan antigen inti, antigen HIV Env dan Gag, serta antigen tumor dalam model kanker yang berbeda (Lopes, *et al.*, 2019).

3. *Viral vector based vaccine*

Vaksin VXM01

Vaksin oral (VXM01) yang terdiri atas plasmid ekspresi VEGFR2 yang dikodekan dalam bakteri *Salmonella* hidup yang dilemahkan telah dikembangkan. Setelah konsumsi oral, antigen disajikan dalam jaringan limfatik usus setelah infeksi *Salmonella* yang mengkode VEGFR2 dan menginduksi respons antibodi dan sel T terhadap VEGFR2. Uji klinis fase I dilakukan pada delapan pasien dengan glioblastoma yang dapat dioperasi berulang. Untuk memungkinkan penilaian respons imun intratumoral, pasien dengan glioblastoma berulang dimasukkan sebelum reseksi ulang yang direncanakan. Vaksin dimulai dan reseksi ulang ditunda untuk memungkinkan empat vaksin sebelum reseksi ulang. VXM01 kemudian dilanjutkan setelah reseksi dalam interval empat minggu. VXM01 aman dan menghasilkan respons imun perifer spesifik serta akumulasi sel T yang menginfiltrasi tumor dalam jaringan tumor pasca-vaksin. Parameter *magnetic resonance imaging* (MRI) tumor angiogenesis dipengaruhi oleh pengobatan yang menyiratkan normalisasi vaskular dan ada satu pasien dengan respons objektif. Uji coba yang menggabungkan VXM01 dengan blokade pos pemeriksaan sedang berlangsung (Platten, *et al.*, 2018)

Imunoterapi pasif

1. Lymphokine Activated Killer Immunotherapy

Untuk terapi seluler, jenis yang paling umum termasuk transfer adopsi sel limfosit teraktivasi LAK atau CTL. Pada tahun 1982, pertama kali dilaporkan bahwa limfosit pasien kanker dapat diaktifkan secara *in vitro* untuk mencapai keadaan kematian sel tumor hanya dengan inkubasi menggunakan interleukin-2 (IL-2) selama minimal dua hari. Kemampuan sel-sel pembunuh diaktifkan limfokin (LAK) ini untuk melisis sel autologus resistan *natural killer* pada sel melanoma, sarkoma, dan adenokarsinoma. Penggunaan metode LAK bertujuan untuk aktivasi limfosit dan mencetuskan kondisi tumouricidal. LAK

yang dihasilkan dari pasien glioma PBL adalah glioma autologous tetapi bukan PBL normal. Penelitian terhadap LAK dengan model glioma hewan digunakan untuk menunjukkan pembunuhan selektif tumor oleh LAK di mana sel-sel LAK yang dihasilkan dari sel-sel limpa tikus membunuh glioma tetapi tidak melisiskan sel-sel otak normal. Temuan ini menunjukkan bahwa ada perbedaan antara penentu membran glioma dan otak normal yang menimbulkan selektivitas LAK (Herrlinger, *et al.*, 1998; Jacobs, *et al.*, 1986; Tjoa & Murphy, 2000).

Sel LAK adalah sel efektor nonspesifik yang berasal dari sel mononuklear darah perifer (PBMC) dan *ex vivo* teraktivasi dengan interleukin 2 konsentrasi tinggi (IL-2) (faktor pertumbuhan sel T) untuk menginduksi sifat antitumor. IL-2 adalah sitokin yang diproduksi secara endogen yang membantu dalam sistem kekebalan alami inang dan tersedia dalam bentuk rekombinan untuk memfasilitasi pembentukan sel LAK dengan kemampuan yang ditingkatkan untuk menghancurkan glioma ganas yang tahan sel pembunuh alami (NK) dan menghemat parenkim normal (Hayes, *et al.*, 2001; Quan & Palackdharry, 1997; Vauleon, *et al.*, 2010).

Dalam studi yang paling menjanjikan, Dillman, *et al.*, melaporkan hasil uji klinis fase II mereka yang menunjukkan kelangsungan hidup rata-rata 20,5 bulan dan 75% tingkat kelangsungan hidup 1 tahun pada 40 pasien dengan GBM yang diobati dengan sel LAK autologous intralesi; ini adalah satu-satunya laporan sejauh ini yang menyelidiki pasien dengan GBM yang baru didiagnosis diobati dengan sel LAK. Selain itu, pasien yang menerima sel CD31/CD161/CD561 (T-NK) dosis tinggi ditemukan memiliki peningkatan kelangsungan hidup yang lebih baik dibandingkan dengan mereka dengan jumlah sel T-NK yang lebih rendah yang mungkin dihasilkan dari penggunaan steroid selama sebulan sebelumnya. Berdasarkan temuan ini, para peneliti melakukan uji coba fase II 2-lengan secara acak menggunakan sel LAK intralesi atau *wafer carmustine* (Gliadel) serta mengikuti pengobatan standar dengan reseksi bedah dan radio dan kemoterapi dengan temozolomide (Dillman, *et al.*, 2009; Nagasawa, *et al.*, 2012).

2. Antibody-mediated immunotherapy pada glioma
 Meskipun lokalisasi antibodi polivalen untuk glioma manusia ditunjukkan pada 1960-an, imunoterapi pasif untuk neoplasma SSP tidak diakui sampai identifikasi antigen terkait tumor atau spesifik tumor, produksi MAb homogen, afinitas tinggi terhadap antigen tersebut, dan penggunaan administrasi kompartemen (intracavitary, intratumoral, atau intratekal). MAb dapat digunakan sebagai pengubah respons biologis untuk menginduksi apoptosis atau memediasi respons imun, atau sebagai sistem pengiriman untuk agen kemoterapi, toksin, atau radionukleotida. Antibodi *naked* mungkin memiliki efek langsung tanpa konjugasi dengan imunotoksin atau isotop radioaktif. Pada garis sel glioma yang tergantung pada faktor pertumbuhan autokrin, penghambatan reseptor dengan MAb yang menetralkan dapat menyebabkan apoptosis. Pengobatan garis sel glioma manusia dengan MAb ke faktor pertumbuhan fibroblast dihambat secara *in vitro* dan pertumbuhan tumor *in vivo* sekunder untuk fragmentasi DNA dan kemungkinan perampasan faktor pertumbuhan yang bergantung pada autokrin (Kono, *et al.*, 2003).

Perkembangan Imunoterapi Saat Ini

Saat ini, perkembangan imunoterapi pada terapi glioblastoma masih terus diteliti. Beberapa jenis imunoterapi telah memasuki uji klinis fase III, namun belum ada yang memasuki uji klinis fase 4. Penelitian-penelitian tersebut di antaranya adalah:

Tabel 4.2 Jenis Imunoterapi dan Fase Uji Klinisnya (Lim, *et al.*, 2018)

No	Nama Uji Klinis (<i>Trial Name</i>)	Jenis imunoterapi	Fase uji klinis
1.	ACT IV	Rindopepimut	Fase III
2.	NA (NCT00323115)	Autologous DC vaccine	Fase II
3.	HeatShock	HSPPC-96 (peptide vaccine) dengan TMZ	Fase II
4.	NA (NCT 01250470)	DC Vaccine dengan BTSC mRNA	Fase I

4.3 KESIMPULAN

Imunoterapi khususnya imunoterapi aktif memberikan hasil yang menjanjikan dalam hal OS dan PFS pasien dengan HGG khususnya glioblastoma.

4.4 TINDAK LANJUT

Melaksanakan penelitian berupa studi literatur yang telah dilakukan oleh penulis dan tim, maupun yang dilakukan oleh tim riset lain, sehingga dapat menjawab pertanyaan berikut “Apakah imunoterapi cukup efektif untuk menjadi terapi standar pada glioblastoma?”

REFERENSI

- Chao, T., Xiaowen, W., Zhiqi, L., Qi, Y., Zixiao, Y., Kun, F., Hoon, D.S.B., & Wei, H. 2015. *A Systemic Review of Clinical Trials on Dendritic-Cells Based Vaccine Against Malignant Glioma Carcinogenesis Car cinogenesis & Mutagenesis*. 6(2). <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000222>.
- Dillman, R.O., Duma, C.M., Ellis, R.A., Cornforth, A.N., Schiltz, P.M., Sharp, S.L., & Depriest, M.C. 2009. Intralesional lymphokine-activated killer cells as adjuvant therapy for primary glioblastoma. *Journal of Immunotherapy*, 32(9):914–919. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3181b2910f>.
- Han, S.J., Zygourakis, C., Lim, M. & Parsa, A.T. 2012. Immunotherapy for Glioma: Promises and Challenges. *Neurosurgery Clinics of NA*, 23(3):357–370. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2012.05.001>.
- Hayes, R.L., Arbit, E., Odaimi, M., Pannullo, S., Scheff, R., Kravchinskiy, D. & Zaroulis, C. 2001. Adoptive cellular immunotherapy for the treatment of malignant gliomas. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 39(1–2):31–42. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(01\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(01)00122-6).
- Herrlinger, U., Weller, M. & Schabet, M. 1998. New aspects of immunotherapy of leptomeningeal metastasis. *Journal of Neuro-Oncology*, 38(2–3):233–239. <https://doi.org/10.1023/A:1005948722912>.
- Jacobs, S.K., Wilson, D.J., Melin, G., Parham, C.W., Holcomb, B., Kornblith, P.L. & Grimm, E. A. 1986. Interleukin-2 and lymphokine activated killer (LAK) cells in the treatment of malignant glioma: clinical and experimental studies.

- Neurological Research*, 8(2): 81–87. <https://doi.org/10.1080/01616412.1986.11739735>.
- Kono, K., Ueba, T., Takahashi, J.A., Murai, N., Hashimoto, N., Myoumoto, A., Itoh, N. & Fukumoto, M. 2003. Erratum: In vitro growth suppression of human glioma cells by a 16-mer oligopeptide: A potential new treatment modality for malignant glioma. *Journal of Neuro-Oncology*, 64(3):283. <https://doi.org/10.1023/A:1025676400533>.
- Lim, M., Xia, Y., Bettegowda, C. & Weller, M. 2018. Current state of immunotherapy for glioblastoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 15(7):422–442. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0003-5>.
- Lopes, A., Vandermeulen, G. & Pr at, V. 2019. Cancer DNA vaccines: current preclinical and clinical developments and future perspectives. In *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* 38(Issue 1):1–24. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1154-7>.
- Nagasawa, D.T., Fong, C., Yew, A., Spasic, M., Garcia, H.M., Kruse, C.A. & Yang, I. 2012. Passive Immunotherapeutic Strategies for the Treatment of Malignant Gliomas. *Neurosurgery Clinics of North America*, 23(3):481–495. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2012.04.008>.
- Patel, M.A. & Pardoll, D.M. 2015. Concepts of immunotherapy for glioma. *Journal of Neuro-Oncology*. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1810-5>.
- Platten, M., Bunse, L., Riehl, D., Bunse, T., Ochs, K. & Wick, W. 2018. Vaccine Strategies in Gliomas. *Current Treatment Options in Neurology*, 20(5):1–9. <https://doi.org/10.1007/s11940-018-0498-1>.
- Quan, W. D. Y., & Palackdharry, C. S. (1997). Common cancers—Immunotherapy and multidisciplinary therapy: Parts III and IV. *Disease-a-Month*, 43(11):747–808. [https://doi.org/10.1016/S0011-5029\(97\)90035-3](https://doi.org/10.1016/S0011-5029(97)90035-3).
- Tjoa, B. A., & Murphy, G. P. (2000). Progress in active specific immunotherapy of prostate cancer. *Seminars in Surgical Oncology*, 18(1):80–87. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2388\(200001/02\)18:1<80::AID-SSU10>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2388(200001/02)18:1<80::AID-SSU10>3.0.CO;2-A)
- Vauleon, E., Avril, T., Collet, B., Mosser, J. & Quillien, V. 2010. Overview of cellular immunotherapy for patients with glioblastoma. *Clinical and Developmental Immunology*, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/689171>.



5

Modalitas Imunoterapi Jenis Vaksin pada Glioblastoma

5.1 PENDAHULUAN

Imunoterapi didefinisikan oleh *National Cancer Institute* (NCI) sebagai terapi biologis yang menggunakan suatu zat untuk menstimulasi atau menekan sistem respons imun tubuh untuk melawan kanker atau penyakit lainnya (National Cancer Institute, 2017). Imunoterapi dibagi lagi menjadi imunoterapi aktif dan imunoterapi pasif. Imunoterapi aktif bekerja dengan menstimulasi respons imun yang spesifik terhadap tumor melalui injeksi antigen asing melalui injeksi vaksin (termasuk jenis peptida dan yang berdasarkan sel). Sedangkan pada imunoterapi pasif, termasuk terapi antibodi dan imunoterapi adaptif, respons antitumor diberikan melalui injeksi agen-agen imunomodulator biologis novel, seperti antibodi, dan tidak secara langsung mengaktifkan respons imun tubuh (Zhou, *et al.*, 2015). Imunoterapi sudah menjadi suatu terapi kanker dan menjadi sebuah pelengkap atau penambah terhadap pembedahan, radioterapi, kemoterapi,

dan *targeted therapy* pada kanker seperti melanoma, *non-small cell lung cancer*. Tetapi, imunoterapi sendiri belum diakui sebagai penanganan glioblastoma pada praktik klinisnya, walaupun beberapa penelitian telah membuktikan adanya hubungan tumor otak dan sistem imun (Kong, *et al.*, 2018; Wahyuhadi, 2010a).

SSP yang sebelumnya dipandang sebagai daerah yang memiliki respons imun spesial tersendiri karena tidak adanya saluran limfa dan perlindungan dari *blood-brain barrier* (BBB) telah dipelajari lebih lanjut terkait sistem imunnya. Mikroglia, yang merupakan salah satu struktur sistem imun SSP, dilaporkan oleh Fonseca, *et al.* sebagai salah satu promotor dari pertumbuhan GBM dan menghipotesiskan bahwa interaksi langsung dengan GBM oleh mikroglia lah yang menyebabkan membesarnya tumor ini (Da Fonseca, *et al.*, 2016). Limfosit T yang teraktivasi pada kelenjar getah bening servikal dapat menembus BBB, memasuki SSP, dan menjadi jalur perhubungan antara SSP dan saluran limfa. Sel-sel imun beserta antigen juga dapat memengaruhi parenkim otak melalui liquor serebrospinal (LSS) dan cairan interstisial (Carare, *et al.*, 2014). Jaringan glioblastoma sendiri bisa menekan sistem imun yang menyerang jaringan tumor melalui sekresi sitokin dan ekspresi protein membran.

Penggunaan vaksin sebagai pengobatan kanker pertama kali dilaporkan oleh William B. Coley pada tahun 1891. Pada laporan tersebut, streptokokkus digunakan untuk menimbulkan respons imun terhadap pasien kanker. Setelah injeksi organisme tersebut, muncullah erisipelas yang menandakan adanya respons sistem imun yang pada akhirnya tumor pasien tersebut berkurang. Untuk 40 tahun selanjutnya, William mulai meneliti penggunaannya pada pasien tumor tulang dan sarkoma jaringan ikat (McCarthy, 2006). Jauh setelah itu, *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG), yang pada kasus onkologi digunakan untuk menangani karsinoma urotelial superfisial, digunakan untuk penanganan pada GBM pada tahun 1980 (Kong, *et al.*, 2018). Banyak studi setelah itu yang melaporkan meningkatnya waktu ketahanan hidup pada kasus GBM yang ditangani oleh metode tersebut. Salah satu contoh penanganan yang memanfaatkan bakteri adalah ImuVert, dengan bakteri *Serratia marcescens*, dengan

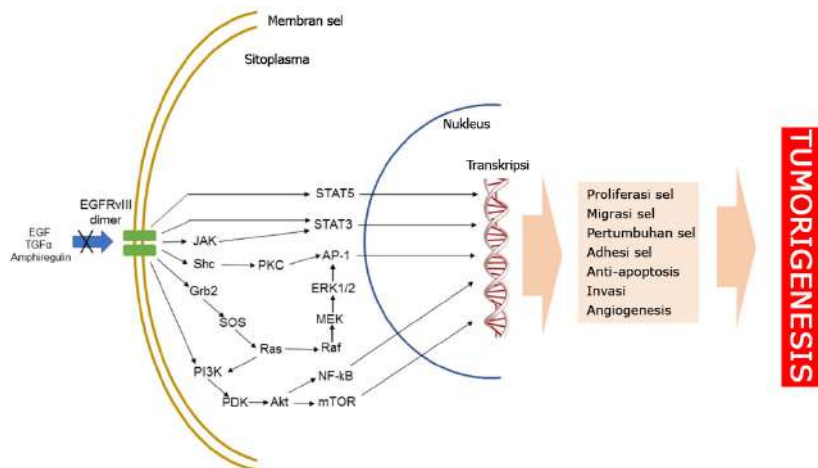
radioterapi, dan pasien-pasien ini mentolerir terapi tersebut dengan baik (Black, *et al.*, 1993). Penggunaan antigen lain, yaoti *Newcastle Disease Virus* (NDV) yang merupakan virus onkolitik dan imunomodulator, membantu peningkatan *human leukocyte antigen* (HLA) yang menginduksi produksi dari interferon yang menyebabkan apoptosis. Metode ini kemudian digunakan untuk menangani pasien dengan GBM rekuren.

Vaksin untuk glioblastoma dibagi menjadi dua jenis, yakni berbasis peptida dan yang berbasis sel. Vaksin yang berbasis peptida bekerja melalui mempresentasikan antigen-antigen yang spesifik terhadap suatu tumor tertentu dengan harapan dapat menstimulasi respons imun pasien untuk menghancurkan sel tumor (Tsukahara, *et al.*, 2016). Antigen ini merupakan protein yang ada pada jaringan tumor dan tidak didapatkan pada jaringan normal manusia. Protein ini khusus dibangun melalui gen mutan yang ada pada glioblastoma, yang dikatakan serupa pada pasien-pasien lain sehingga bisa menjadi target imunoterapi (Schumacher & Schreiber, 2015). Jenis vaksin tumor ini yang ada pada studi-studi meliputi *EGFRvIII-targeted peptide vaccines*, *heat shock protein vaccines*, serta yang menargetkan peptida jenis lainnya.

Baru-baru ini, perkembangan dalam imunoterapi telah membuka jalan bagi terapi glioblastoma. Vaksinasi berupa metode primer imunoterapi pada penanganan glioblastoma yang dapat menstimulasi respons imun tubuh yang spesifik terhadap tumor melalui injeksi antigen asing. Vaksin berbentuk peptida meliputi injeksi antigen yang spesifik terhadap suatu tumor, seperti EGFRvIII atau protein *heat-shock*.

EGFR berperan dalam tumorigenesis. Bersama dengan ErbB-2 (HER2), ErbB-3 (HER3), dan ErbB-4 (HER4), EGFR merupakan famili dari reseptor tirosin kinase dan membentuk dimer saat teraktivasi (Nevoltris, *et al.*, 2015; Normanno, *et al.*, 2006). ErbB terikat dengan banyak molekul-molekul yang berperan pada terbentuknya GBM, dan disebutkan bahwa EGFR tereksresi secara berlebihan pada setengah kasus GBM (Bai, *et al.*, 2016; Heimberger, *et al.*, 2005). EGFRvIII merupakan istilah untuk mutase pada EGFR tipe ke-3, yang didapatkan pada 20 hingga 30% pasien GBM (Gambar 1). Mutasi ini terjadi karena adanya delesi pada exon 2-7 dari

EGFT, yang berujung pada trunkasi EGFT yang memberi ruang untuk terus terproduksinya EGFT tanpa adanya ligan (Heimberger, *et al.*, 2005). Studi yang pertama kali mempelajari vaksin yang menargetkan peptida EGFRvIII dilaporkan oleh Moscatello, *et al.* pada tahun 1997 yang mendapatkan vaksin PEP-3-kLH (Rindopepimut, atau CDX-110) melalui konjugasi PEP-3, yang merupakan peptida 14-asam-amino yang berisi bagian mutan dari EGFRvIII (sekuens asam amino: LEEKKG-NYVVTDHC) ke *keyhole limpet hemocyanin* (KLH) (Moscatello, *et al.*, 1997). Metode ini bekerja melalui induksi antibodi melalui aktivasi sel T sitotoksik pada tikus. Heimberger, *et al.* melaporkan *median survival time* yang lebih tinggi pada model otak yang mengekspresikan EGFRvIII (Heimberger, *et al.*, 2002).



Gambar 5.1 Jalur-Jalur Biomolekular yang Menghubungkan EGFRvIII dengan Tumorigenesis. EGFRvIII merupakan bentuk mutan yang spesifik terhadap suatu tumor dari receptor *wild-type* yang terus teraktivasi karena ketidakmampuan untuk diaktivasi oleh ligan manapun. Pada sel glioblastoma, EGFRvIII meng-*up regulate* beberapa protein kinase dan faktor transkripsi yang mendorong mekanisme-mekanisme utama pro-onkogenik yang berujung pada stimulasi dari proliferasi, pertumbuhan, motilitas, adesi, tingkat kemampuan menginvasi, dan inhibisi apoptosis dari sel tumor. Aktivasi mekanisme-mekanisme yang dimediasi oleh EGFRvIII tersebut mendorong terjadinya tumorigenesis, pertumbuhan tumor, ekspansi, dan angiogenesis yang abnormal. Dikutip dengan modifikasi dari: *The EGFR variant III mutant as a target for immunotherapy of glioblastoma multiforme* (Chistiakov, *et al.*, 2017)

Jenis vaksin peptida lainnya adalah *heat shock proteins*, atau disingkat sebagai HSP. Protein ini merespons perubahan temperatur dan didapatkan pada bakteri, tumbuhan, dan hewan. Ekspresi dari HSP sendiri diregulasi oleh banyak jalur, dan HSP juga diekspresikan dalam jumlah yang berlebihan pada banyak kanker dan berhubungan dengan proliferasi, diferensiasi, invasi, dan metastasis sel kanker (Calderwood & Gong, 2016; Ciocca & Calderwood, n.d.) HSP pada tumor dapat menjadi target terapi dan indikator prognosis pada banyak tumor. HSP tidak bisa menimbulkan respons imun tubuh, tetapi kompleks HSP dan peptida sendiri, atau HSPPC (*HSP-peptide complex*) dapat memediasi endositosis melalui ikatan ke reseptor pada membran APC (*antigen presenting cells*) dan mengaktivasi CD4⁺ dan CD8⁺ sel T dan beberapa jalur yang memberikan sinyal APC untuk menimbulkan respons imun terhadap peptida antigen-tumor. Dibandingkan dengan vaksin yang spesifik terhadap antigen tertentu (misal vaksin yang menargetkan antigen EGFRvIII), HSP dapat mempresentasikan banyak antigen tumor dan membantu melawan hasil yang lebih buruk pada tumor yang heterogeni dan immunosupresif, walaupun spesifitasnya tidak setinggi pada vaksin yang lebih spesifik terhadap satu jenis tumor tertentu (Ampie, *et al.*, 2015).

Tipe lain dari vaksin untuk penanganan glioblastoma multiforme adalah yang jenis berbasis sel. Sel-sel autologus atau allogenis diinjeksi kembali ke tubuh pasien setelah dikembangkan dan dimodifikasi secara *in-vitro*. Prosedur ini diharapkan dapat menimbulkan atau menstimulasi respons imun spesifik untuk membunuh sel tumor. Metode ini terutama memanfaatkan sel dendritik, sel tumor sendiri sebagai vaksin, dan jenis yang berbasis tumor lainnya.

Sel dendritic/*dendritic cells* (DC) merupakan jenis sel dengan kemampuan mempresentasikan antigen paling kuat dalam tubuh manusia. Sel ini juga merupakan pembuka jalan untuk konversi respons imun *innate* menjadi *acquired* terhadap suatu antigen. Sel ini berasal dari sistem sel hematopoiesis, yang juga merupakan sel punca. Sel tersebut dimaturasi saat melalui migrasi ke kelenjar getah bening, dan berperan penting pada respons imun, diferensiasi, dan presentasi antigen eksogen/

endogen dari limfosit (Mildner & Jung, 2014). Produksi vaksin berbasis DC melalui beberapa proses, yakni mengisolasi DC dari tubuh pasien, pengenalan antigen tumor ke DC secara *in-vitro*, maturase DC melalui administrasi sitokin, dan reinjeksi DC ke tubuh pasien (Kong, *et al.*, 2018). Sejauh ini, vaksin APC yang diakui adalah Sipuleucel-T. Produk tersebut dilaporkan telah berhasil memperpanjang OS median pada pasien dengan kanker prostat selama 4 bulan (Kantoff, *et al.*, 2010).

Penggunaan vaksin DC pada GBM pertama dilaporkan pada tahun 2000 oleh Liu *et al.* Pada laporan tersebut, pasien dengan glioblastoma rekuren pada batang otak dapat bertahan hidup selama 21 bulan (Liau, *et al.*, 2000). Hingga saat ini, beberapa penelitian telah memberikan hasil yang cukup baik terkait penanganan GBM menggunakan vaksin DC, walaupun masih ada komplikasi dan efek samping dari metode ini. Komplikasi paling sering dari metode ini berupa demam, gejala flu, mual muntah, dan pembesaran kelenjar getah bening. Limfopenia dan kelainan hematologi juga dilaporkan pada beberapa studi, tetapi diperkirakan bahwa kejadian ini merupakan efek dari terapi TMZ sebagai kemoterapi utama. Uji klinis dengan skala yang cukup besar dengan vaksin DC dilakukan oleh Ardon, *et al.* pada 2012 (Ardon, *et al.*, 2010). Pada penelitian itu, vaksin DC diintegrasikan dengan regimen Stupp. PFS dan OS median adalah 10,4 dan 18,3 bulan pada seluruh pasien.

Vaksin dengan sel tumor dilakukan dengan menginjeksi langsung hasil lisis tumor atau tumor sel yang terfiksir (sebagai antigen) ke tubuh pasien (Ishikawa, *et al.*, 2007). Salah satu metode yang dilaporkan oleh Ishikawa, *et al.* berupa menginjeksi sel GBM yang difiksir oleh formalin ke tubuh pasien bersamaan dengan regimen Stupp. Pada studi yang dilakukan oleh Ishikawa, *et al.*, 24 pasien dengan terdiagnosis GBM pertama kali yang ditangani dengan metode ini memiliki median OS 22,2 bulan (Ishikawa, *et al.*, 2007).

5.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Beberapa hasil studi terkait terapi vaksin untuk glioblastoma telah dipublikasikan dan melaporkan hasil serta kejadian-kejadian toksisitasnya.

Tabel 5.1 Studi Modalitas Imunoterapi Jenis Vaksin pada Glioblastoma

Penulis	Jumlah Pasien	Kondisi	WHO Grade	Jenis Vaksin	Hasil	Toksitas
Black, 1993	15	bAA, bGBM	Grade III, IV	ImuVert	PFS = 7,8 bulan OS = 18,2 bulan	57% dengan gejala flu, 15% gejala hipotensi
Freeman, 2006	14	rGBM	Grade IV	NDV	1 pasien dengan respon baik	Demam,
Sampson, 2009	12	bGBM (EGFRvIII)	Grade IV	PEP-3-KLH	PFS = 6,8 bulan OS = 18,7 bulan	Toksitas derajat 2, tidak ada reaksi alergi atau SAE
Sampson, 2010	18	bGBM (EGFRvIII)	Grade IV	PEP-3-KLH	PFS = 14.2 bulan OS = 26 bulan	Toksitas derajat 2, lebih banyak pada reaksi pada tempat injeksi
Sampson, 2011	22	bGBM (EGFRvIII)	Grade IV	PEP-3-KLH	PFS = 15.2 bulan OS = 23.6 bulan	Reaksi alergi pada kulit (14%) dan gastrointestinal (5%)
Schuster, 2015	65	bGBM (EGFRvIII)	Grade IV	PEP-3-KLH	PFS = 12.3 bulan OS = 24.6 bulan	Reaksi tempat injeksi ($\geq 86\%$), kelelahan (26%), ruam (17%), mual (12%), pruritus (62%), nyeri kepala (85)

Penulis	Jumlah Pasien	Kondisi	WHO Grade	Jenis Vaksin	Hasil	Toksistasitas
M Weller, 2016	371	bGBM (EGFRvIII)	Grade IV	PEP-3-KLH	OS = 17,4 bulan	Reaksi tempat injeksi (eritema, pruritus, ruam). Kelelahan, mual, nyeri kepala, konstipasi pada $\geq 20\%$ pasien. 5% pasien menunjukkan edema otak
Crane, 2013	12	rHGG	Grade III, IV	HSPPC-96	OS = 11 bulan	Eritema/ indurasi ringan pada tempat injeksi (50%)
Bloch, 2014	41	rGBM	Grade IV	HSPPC-96	OS = 10 bulan	Toksistasitas minimal, berhubungan dengan injeksi
Fenstermaker, 2016	9	rGBM, <i>anaplastic glioma</i> rekuren (positif survivin)	Grade III, IV	SurVaxM	PFS = 4,1 bulan OS = 20,2 bulan	67% mengalami reaksi injeksi. Myalgia (22%), limfopenia (33%), leukopenia (33%)
Yu, 2001	7	bGBM	Grade IV	DC	OS = 15,2 bulan	Tidak ada reaksi autoimun. Demam (14%), mual (14%), muntah (14%), pembesaran KGB (14%)
J. S. Yu, 2004	8	bGBM	Grade IV	DC	OS = 31 bulan	Tidak ada reaksi autoimun. Nyeri kepala (38%), kelelahan (25%), eritema (12%), kejang (25%)

Penulis	Jumlah Pasien	Kondisi	WHO Grade	Jenis Vaksin	Hasil	Toksistas
Wheeler, 2008	34	bGBM, rGBM	Grade IV	DC	Waktu hingga kematian = 21,4 bulan	Terbatas, 3% mengalami perbesaran kelenjar getah bening
Ardon, 2012	77	bGBM	Grade IV	DC	PFS = 10,4 bulan OS = 18,3 bulan	3% pasien mengalami beragam <i>adverse events</i> . 23,3% pasien mengalami gangguan hematologi
Phuphanich, 2013	21	bGBM, rGBM	Grade IV	DC	PFS = 16,9 bulan OS = 38,4 bulan	Diare (9%), kelelahan (27%), pruritus (18%), ruam (18%), kemerahan pada kulit (9%), muntah (9%)
Prins, 2013	34	bGBM, rGBM, bAA, rAA	Grade III, IV	DC	-	Gejala flu, reaksi pada tempat injeksi, limfadenopati, dan kejadian kejang yang jarang (diperkirakan berhubungan dengan progresi tumor)
Inogés, 2017	31	bGBM	Grade IV	DC	PFS = 12,7 bulan OS = 23,4 bulan	Tidak ada <i>adverse event</i> yang dilaporkan yang disebabkan oleh vaksin

Penulis	Jumlah Pasien	Kondisi	WHO Grade	Jenis Vaksin	Hasil	Toksistas
Ishikawa, 2014	24	bGBM	Grade IV	Sel tumor dengan formalin	PFS = 8,2 bulan OS = 22,2 bulan	Iritasi kulit (68% seperti eritema, indurasi, bengkak pada daerah injeksi), demam (17%), hilang nafsu makan (4%), kejang (8%), nyeri kepala
Ramplang, 2016	45	bGBM	Grade IV	IMA950	OS = 15,3 bulan	Reaksi pada daerah injeksi, penurunan jumlah neutrophil, anafilaksis (4%)
Rosenfeld, 2010	97	bGBM	Grade IV	Poly-ICLC	OS = 17,2 bulan	Neutropenia (20,6%), leukopenia (16,5%), dan trombotopenia (9%)

Catatan: bGBM: kasus baru glioblastoma multiforme; rGBM: kasus rekuren glioblastoma multiforme; bAA: kasus *anaplastic astrocytoma*; rAA: kasus rekuren *anaplastic astrocytoma*; DC: dendritic cells; HGG: *high grade glioma*; NDV: *Newcastle Disease Virus*; PFS: *progression-free survival*; OS: *overall survival*; SAE: *serious adverse events*

Seluruh penelitian yang dikutip merupakan uji klinis fase I/II. Pada penelitian-penelitian yang dikutip di atas, berbagai jenis vaksin yang ada untuk penanganan glioblastoma multiform menunjukkan hasil yang bervariasi, tetapi secara umum memiliki PFS dan OS yang meningkat. Tetapi, terapi metode ini tidak bebas dari efek samping dan komplikasi yang mungkin terjadi. Terlepas dari hasil baik yang didapatkan pada terapi glioblastoma menggunakan imunoterapi jenis vaksin, sebuah uji klinis fase III, CheckMate 143 (NCT02017717) belum berhasil mendemonstrasikan OS yang lebih baik dari nivolumab (antibodi anti-PD-1 monoklonal) dibandingkan dengan bevacizumab, yang sudah

merupakan terapi standar, pada GBM rekuren (Kong, *et al.*, 2018). Selain itu, metode administrasi juga masih berbeda-beda dan dampak dari perbedaan metode administrasi tersebut perlu untuk dipelajari lebih lanjut untuk menstandarisasikan pengobatan ini. Berbagai macam cara pemberian vaksin ini meliputi intradermal, subkutan, intravena, intraperitoneal, dan intranodal (intralimfatik), dan intratekal (Li, *et al.*, 2018). Masih ada beberapa uji klinis yang dilakukan untuk menentukan kemampuan dan keamanan vaksin sebagai terapi GBM, dan hasil-hasil tersebut harapannya bisa menentukan lebih dalam dan jelas tentang kegunaan metode ini dibandingkan dengan terapi standar. Di masa depan, kemungkinan terapi ini bisa dikombinasikan dengan *immune checkpoint blockade*, reseksi pembedahan, kemoterapi, radioterapi, *targeted therapy*, dan imunoterapi.

Dari beberapa penelitian yang dilaporkan di atas, studi dengan jumlah pasien paling banyak dilakukan oleh Weller, *et al.*, (2016) yang meneliti PEP-3-KLH (vaksin jenis peptida yang bekerja dengan menstimulasi antibodi tubuh untuk menyerang EGFRvIII) (M Weller, *et al.*, 2016). Pada studi tersebut dilaporkan penggunaan PEP-3-KLH memiliki *overall survival* (OS) hingga 174 bulan, angka yang cukup serupa dengan OS pada terapi vaksin pada GBM rata-rata lainnya.

Sebuah meta-analisis yang dilakukan oleh Li, *et al.*, (2018) menganalisis 13 studi yang mengevaluasi efek dari vaksin berbasis sel dendritik pada pengobatan *high-grade glioma* (HGG). Pada analisis tersebut, total pasien adalah 944 dan grup yang menerima terapi vaksin DC dikomparasikan dengan grup kontrol (yang mendapatkan terapi konvensional & standar tanpa DC). Dari studi tersebut, ditemukan bahwa vaksin DC pada glioblastoma dapat secara signifikan meningkatkan OS dan PFS tanpa efek samping yang berat (Li, *et al.*, 2018). Sang peneliti menyimpulkan bahwa vaksin DC pada pasien HGG merupakan metode penanganan yang aman dan efektif untuk mengurangi mortalitas dan angka rekurensi tumor.

High-grade glioma merupakan salah satu tumor yang paling agresif dan refrakter. Walaupun banyak strategi dan usaha telah dikerahkan untuk manajemen HGG, prognosis dari penyakit ini masih kurang baik.

Salah satu aspek penting pada penanganan glioma adalah konsep BBB, yang mencegah obat-obat antikanker untuk masuk ke SSP (Pardridge, 2005). Tetapi, temuan-temuan baru mulai menemukan bahwa SSP bukan merupakan daerah yang tidak bisa dijangkau oleh sistem imun di luar areanya, tetapi lebih ke arah daerah yang secara imunologi, lebih teregulasi dibandingkan area lainnya (Negi & Das, 2017). Serupa dengan leukosit lain, DC dapat transmigrasi melalui BBB pada kondisi-kondisi tertentu melalui reseptor dan ligan yang berbeda-beda (Sagar, *et al.*, 2012).

5.3 KESIMPULAN

Terapi imunoterapi jenis vaksin untuk GBM memberikan hasil yang cukup baik untuk memperpanjang harapan hidup pasien beserta mengurangi terjadinya progresi pada penyakit. Akan tetapi, terapi ini tidak bebas dari dampak buruknya seperti komplikasi dan efek samping yang ada. Kegagalan terapi ini dalam fase uji klinis III mengindikasikan diperlukannya pembelajaran dan analisis lebih lanjut, terutama dalam skala yang lebih besar. Harapannya, temuan-temuan baru dan *update* dalam teknik dan strategi pemberian imunoterapi jenis vaksin untuk glioblastoma dapat meningkatkan efektivitas dan mengurangi efek samping serta komplikasi yang mungkin dapat terjadi.

5.4 TINDAK LANJUT

Dengan adanya penelitian-penelitian terkait dengan efek dari terapi vaksin terhadap GBM, diharapkan ke depannya terapi ini dapat lebih terstandardisasi dan membantu meningkatkan harapan hidup pasien GBM beserta mengurangi dampak buruk, morbiditas, dan mortalitasnya melalui pengobatan yang aman dan efektif. Ke depannya, bila sudah lolos uji klinis tahap lanjutan, diperlukan standardisasi untuk memilih atau menyeleksi jenis vaksin apa, indikasi dan kontraindikasi pemberian, serta metode pemberian yang terstandardisasi dengan harapan mengurangi morbiditas dan mortalitas pasien.

REFERENSI

- Ampie, L., *et al.* 2015. Heat shock protein vaccines against glioblastoma: from bench to bedside. *Journal of Neuro-Oncology*, 123(3):441–448. doi: 10.1007/s11060-015-1837-7.
- Ardon, H., *et al.* 2010. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the primary treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme: A pilot study. *Journal of Neuro-Oncology*, 99(2):261–272. doi: 10.1007/s11060-010-0131-y.
- Ardon, H., *et al.* 2012. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the standard of care treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma: Results of the HGG-2006 phase I/II trial. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 61(11): 2033–2044. doi: 10.1007/s00262-012-1261-1.
- Bai, H., *et al.* 2016. Integrated genomic characterization of IDH1-mutant glioma malignant progression. *Nat Genet.*, 48(1):59–66. doi: 10.1038/ng.3457.
- Black, K. L., *et al.* 1993. Clinical trial of Serratia marcescens extract and radiation therapy in patients with malignant astrocytoma. *Journal of Clinical Oncology*, 11(9):1746–1750. doi: 10.1200/JCO.1993.11.9.1746.
- Bloch, O., *et al.* 2014. Heat-shock protein peptide complex-96 vaccination for recurrent glioblastoma: A phase II, single-arm trial. *Neuro-Oncology*, 16(2):274–279. doi: 10.1093/neuonc/not203.
- Calderwood, S.K. and Gong, J. 2016. Heat shock proteins promote cancer: it's a protection racket. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(4):311–323. doi: 10.1016/j.tibs.2016.01.003.
- Carare, R.O., Hawkes, C.A. and Weller, R.O. 2014. Afferent and efferent immunological pathways of the brain. *Anatomy, Function and Failure. Brain, Behavior, and Immunity*, 36:9–14. doi: 10.1016/j.bbi.2013.10.012.
- Chistiakov, D.A., Chekhonin, I.V. and Chekhonin, V.P. 2017. The EGFR variant III mutant as a target for immunotherapy of glioblastoma multiforme. *European Journal of Pharmacology*, 810(June):70–82. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.05.064.
- Ciocca, D.R. and Calderwood, S.K. (no date). Implications Heat shock proteins in cancer : diagnostic, prognostic, predictive, 10(2):86–103.
- Crane, C.A., *et al.* 2013. Individual patient-specific immunity against high-grade glioma after vaccination with autologous tumor derived peptides bound to the 96 KD chaperone protein. *Clinical Cancer Research*, 19(1):205–214. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3358.

- Fenstermaker, R.A., *et al.* 2016. Clinical study of a survivin long peptide vaccine (SurVaxM) in patients with recurrent malignant glioma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 65(11):1339–1352. doi: 10.1007/s00262-016-1890-x.
- Da Fonseca, A.C.C., *et al.* 2016. Microglia in cancer: For good or for bad? *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 949:245–261. doi: 10.1007/978-3-319-40764-7_12.
- Freeman, A.I., *et al.* 2006. Phase I/II trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme. *Molecular Therapy*, 13(1):221–228. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.08.016.
- Heimberger, A.B., *et al.* 2002. Dendritic cells pulsed with a tumor-specific peptide induce long-lasting immunity and are effective against murine intracerebral melanoma: Comments. *Neurosurgery*, 50(1):164–166. doi: 10.1227/00006123-200201000-00024.
- Heimberger, A.B., *et al.* 2005. The natural history of EGFR and EGFRvIII in glioblastoma patients. *Journal of Translational Medicine*, 3:1–6. doi: 10.1186/1479-5876-3-38.
- Inogés, S., *et al.* 2017. A phase II trial of autologous dendritic cell vaccination and radiochemotherapy following fluorescence-guided surgery in newly diagnosed glioblastoma patients. *Journal of Translational Medicine*, 15(1):1–12. doi: 10.1186/s12967-017-1202-z.
- Ishikawa, E., *et al.* 2007. Clinical trial of autologous formalin-fixed tumor vaccine for glioblastoma multiforme patients. *Cancer Science*, 98(8):1226–1233. doi: 10.1111/j.1349-7006.2007.00518.x.
- Ishikawa, E., *et al.* 2014. Phase I/IIa trial of fractionated radiotherapy, temozolomide, and autologous formalin-fixed tumor vaccine for newly diagnosed glioblastoma: Clinical article. *Journal of Neurosurgery*, 121(3):543–553. doi: 10.3171/2014.5.JNS132392.
- Kantoff, P.W., *et al.* 2010. Sipuleucel T immunotherapy for CRPC. *New England Journal*, 363(5):441–422.
- Kong, Z., Wang, Y. & Ma, W. 2018. Vaccination in the immunotherapy of glioblastoma. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 14(2):255–268. doi: 10.1080/21645515.2017.1388481.
- Li, C., *et al.* 2018. Efficacy and safety analysis on dendritic cell-based vaccine-treated high-grade glioma patients: A systematic review and meta-analysis. *OncoTargets and Therapy*, 11:7277–7293. doi: 10.2147/OTT.S177768.
- Liau, L. M., *et al.* 2000. Treatment of a patient by vaccination with autologous dendritic cells pulsed with allogeneic major histocompatibility complex class

- I-matched tumor peptides. Case Report. *Neurosurgical Focus*, 9(6):1–5. doi: 10.3171/foc.2000.9.6.9.
- McCarthy, E.F. 2006. The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas. *The Iowa Orthopaedic Journal*, 26:154–158.
- Mildner, A. & Jung, S. 2014. Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity*, 40(5):642–656. doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.016.
- Moscatello, D.K., Ramirez, G. & Wong, A.J. 1997. A naturally occurring mutant human epidermal growth factor receptor as a target for peptide vaccine immunotherapy of tumors. *Cancer Research*, 57(8):1419–1424.
- National Cancer Institute. 2017. *Concept of immunotherapy*.
- Negi, N. & Das, B.K. 2017. CNS: Not an immunoprivileged site anymore but a virtual secondary lymphoid organ. *International Reviews of Immunology*, 37(1):57–68. doi: 10.1080/08830185.2017.1357719.
- Nevoltris, D., et al. 2015. Conformational nanobodies reveal tethered epidermal growth factor receptor involved in EGFR/ErbB2 predimers. *ACS Nano*, 9(2):1388–1399. doi: 10.1021/nn505752u.
- Normanno, N., et al. 2006. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene*, 366(1):2–16. doi: 10.1016/j.gene.2005.10.018.
- Pardridge, W.M. 2005. The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. *NeuroRx*, 2(1):3–14. doi: 10.1602/neurorx.2.1.3.
- Phuphanich, S., et al. 2013. Phase i trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 62(1):125–135. doi: 10.1007/s00262-012-1319-0.
- Prins, R.M., et al. 2013. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded versus autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant glioma patients. *Journal of Immunotherapy*, 36(2):152–157. doi: 10.1097/CJI.0b013e3182811ae4.
- Rampling, R. et al. 2016. A cancer research UK first time in human phase i trial of IMA950 (novel multi-peptide therapeutic vaccine) in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Clinical Cancer Research*, 22(19):4776–4785. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0506.
- Rosenfeld, M.R., et al. 2010. A multi-institution phase II study of poly-ICLC and radiotherapy with concurrent and adjuvant temozolomide in adults with newly diagnosed glioblastoma. 12(10):1071–1077.
- Sagar, D., et al. 2012. Mechanisms of Dendritic Cell Trafficking Across the Blood–brain Barrier. *J Neuroimmune Pharmacol*, 7(1):74–94. doi: 10.1007/s11481-011-9302-7.

- Sampson, J.H., *et al.* 2009. An epidermal growth factor receptor variant III-targeted vaccine is safe and immunogenic in patients with glioblastoma multiforme. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(10):2773–2779. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0124.
- Sampson, J.H., *et al.* 2010. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 28(31):4722–4729. doi: 10.1200/JCO.2010.28.6963.
- Sampson, J.H., *et al.* 2011. Greater chemotherapy-induced lymphopenia enhances tumor-specific immune responses that eliminate EGFRvIII-expressing tumor cells in patients with glioblastoma. *Neuro-Oncology*, 13(3):324–333. doi: 10.1093/neuonc/noq157.
- Schumacher, T.N. & Schreiber, R. D. 2015. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*, 348(6230):69–74. doi: 10.1126/science.aaa4971.
- Schuster, J., *et al.* 2015. A phase II, multicenter trial of rindopepimut (CDX-110) in newly diagnosed glioblastoma: The ACT III study. *Neuro-Oncology*, 17(6):854–861. doi: 10.1093/neuonc/nou348.
- Tsukahara, T., *et al.* 2016. Peptide vaccination therapy: Towards the next generation. *Pathology International*, 66(10):547–553. doi: 10.1111/pin.12438.
- Wahyuhadi, J. 2010. *Ekspresi NK - Ligand, CTL - Ligand, IL-2, IFN- Intratumoral dan hubungannya terhadap agresivitas astrositoma*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Weller, M., *et al.* 2016. Act IV: An international, double-blind, phase 3 trial of rindopepimut in newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma. *Neuro Oncol*, 18:vi17–vi8. doi: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov212.068>.
- Wheeler, C.J., *et al.* 2008. Vaccination elicits correlated immune and clinical responses in glioblastoma multiforme patients. *Cancer Research*, 68(14):5955–5964. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5973.
- Yu, J.S., *et al.* 2001. Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration. *Cancer Research*, 61(3):842–847.
- Yu, J.S., *et al.* 2004. Vaccination with tumor lysate-pulsed dendritic cells elicits antigen-specific, cytotoxic T-cells in patients with malignant glioma. *Cancer Research*, 64(14):4973–4979. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3505.
- Zhou, Q., Wang, Y. & Ma, W. 2015. The progress of immunotherapy for glioblastoma. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 11(11):2654–2658. doi: 10.1080/21645515.2015.1081727.



6

Modalitas Immunoterapi Jenis Viral Onkolitik pada Glioblastoma

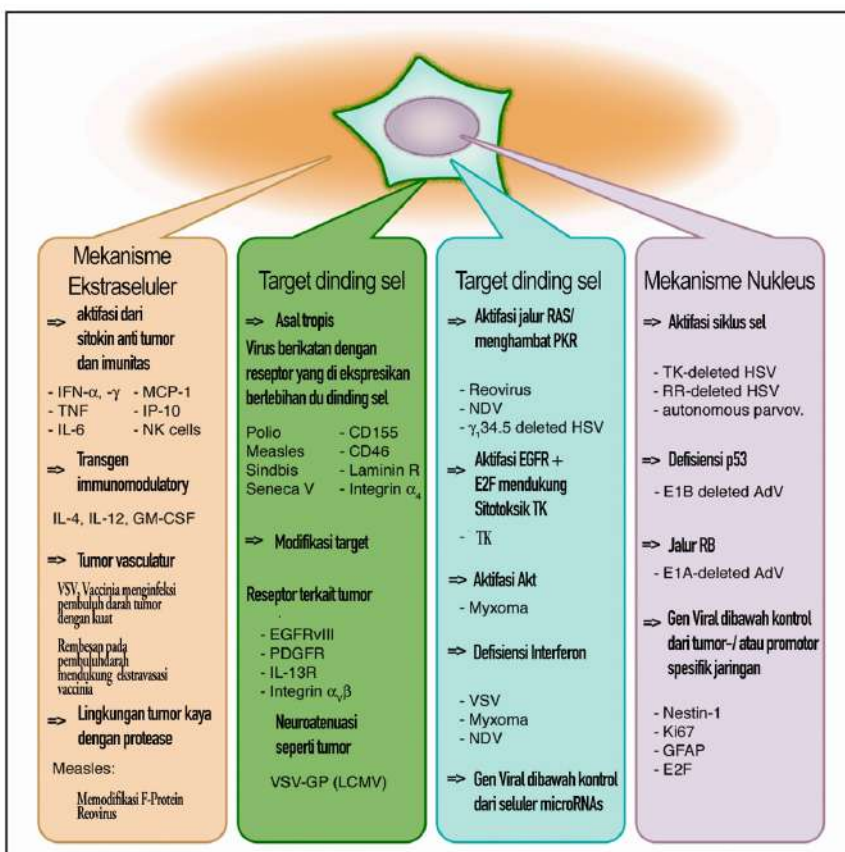
6.1 PENDAHULUAN

Dalam onkologi, penggunaan virus sebagai agen terapeutik telah dipelajari secara luas melalui dua strategi yang saling berkaitan yakni terapi gen dan viroterapi onkolitik. Perbedaan mendasar dari vektor virus yang tidak mereplikasi, viroterapi onkolitik menggunakan virus dengan potensi yang dipertahankan untuk siklus hidup virus yang masih aktif. Paradigma utama adalah replikasi virus bersifat selektif pada tumor, yang mengakibatkan kerusakan sel tumor secara litik dan pelepasan ribuan virus baru (Zhang and Liu, 2020).

Virus yang baru dilepaskan terus menginfeksi sel tumor di sekitarnya, proses ini akan menyebabkan gelombang serangan virus di seluruh tumor. Peningkatan dosis merupakan ciri khusus dari viroterapi onkolitik yang tidak ditemukan dalam bentuk pengobatan lain dan mengarah pada penguatan lokal dari efek terapeutik. Sehingga dosis awal virus yang jauh

lebih rendah secara teoritis diperlukan dibandingkan dengan pendekatan vektor virus yang tidak bereplikasi. (Wollmann, Ozduman and Van Den Pol, 2012).

Keberhasilan viroterapi onkolitik bergantung pada banyak faktor, dan formulasi onkolitik virus (OV) yang optimal akan mencakup karakteristik berikut: (1) mekanisme selektivitas tumor yang berbeda dan teridentifikasi dengan baik, (2) potensi sitolitik yang kuat dengan toksisitas nontumor yang rendah, (3) potensi aplikasi sistemik, (4) siklus replikasi yang cepat



Gambar 6.1 Mekanisme Onkolisis dan Onkotropisme Selektif. Dikutip dengan modifikasi dari: *Oncolytic virus therapy for glioblastoma multiforme: Concepts and candidates* (Wollmann, Ozduman, and Van Den Pol, 2012).

dengan penyebaran intratumoral, (5) aksesibilitas menuju rekayasa genetika, (6) pembuatan virus yang mudah dengan kemampuan produksi tinggi, (7) ketersediaan agen antivirus untuk mengendalikan penyebaran virus yang tidak diinginkan, (8) stabilitas genetik, (9) tidak ada imunitas yang sudah ada sebelumnya, dan (10) stimulasi imunitas antitumor (Wollmann, Ozduman and Van Den Pol, 2012).

Konsep dari viroterapi adalah replikasi virus yang dapat dibatasi dan hanya terjadi pada tumor dengan diikuti lisis sel tumor berikutnya. Replikasi selektif ini didasarkan pada mekanisme yang melekat atau direkayasa yang memanfaatkan kelainan sel tumor untuk replikasi virus. Pemahaman mengenai genetika glioblastoma berkembang pesat (Parsons, Jones and Zhang, 2008; Verhaak, *et al.*, 2010), begitu pula jumlah target molekuler potensial untuk interaksi virus. Mekanisme spesifik prinsip dan lokasi interaksi tumor virus selektif dalam kaitannya dengan kompartemen seluler yang berbeda (membran, sitosol, dan nukleus) ditunjukkan pada Gambar 6.1.

6.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Penelitian ini menggunakan metode studi literatur dengan rumus *searching (Oncolytic viral therapies for Glioma)* dan (*Effectivity*). Adapun hasil riset yang ditemukan untuk dikaji dan ditelaah adalah:

Tabel 6.1 Studi Modalitas Imnunoterapi Jenis Viral Onkolitik pada Glioblastoma

No	Peneliti	Penelitian
1	Allen, C., 2008	Oncolytic measles virus strains in the treatment of gliomas, <i>Expert Opinion on Biological Therapy</i> , 8(6), p. 855.
2	Alloussi, <i>et al.</i> , 2011	All reovirus subtypes show oncolytic potential in primary cells of human high-grade glioma.', <i>Oncol Rep</i> , 26, pp. 645–649.
3	Alonso, M., Cascallo, M. and Gomez-Manzano, C., 2007	ICOVIR-5 shows E2F1 addiction and potent antiglioma effect in vivo', <i>Cancer res</i> , 67, pp. 8255–8263.

No	Peneliti	Penelitian
4	Goetz, C. dan Gromeier, M., 2010	Preparing an oncolytic poliovirus recombinant for clinical application against glioblastoma multiforme', <i>Cytokine and Growth Factor Reviews</i> , 21(2-3), pp. 197-203.
5	Gromeier, M., 2000	Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma', <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> , 97(12), pp. 6803-6808.
6	Kambara, H., Okano, H. dan Chiocca, E., 2005	An oncolytic HSV-1 mutant expressing ICP34.5 under control of a nestin promoter increases survival of animals even when symptomatic from a brain tumor.', <i>Cancer Res</i> , 65, pp. 2832-2839.
7	Lun, X, 2010	Efficacy and safety/toxicity study of recombinant vaccinia virus JX-594 in two immunocompetent animal models of glioma.', <i>Mol ther</i> , 18, pp. 1927-1936.
8	Merrill, M. K., 2004	Oncolysis of Glioma 1 - CD155', <i>Cultures</i> .
9	Parsons, D., Jones, S. dan Zhang, X., 2008	n integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme', <i>Science</i> , 321, pp. 1807-1812.
10	Verhaak, R., 2010	Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1', <i>cancer cell</i> , 17, pp. 98-110.

Kandidat virus onkolitik untuk *high grade* glioma sebagai berikut:

Virus Herpes Simpleks

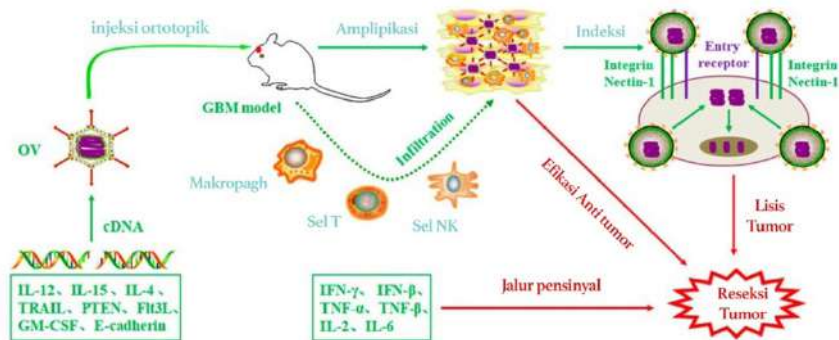
Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1) adalah anggota dari famili Herpesviridae yang merupakan patogen umum manusia yang membentuk infeksi seumur hidup melalui proses latensi. Sekitar dua pertiga populasi orang dewasa seropositif untuk HSV. Pada tahun 1991, aplikasi eksperimental pertama dari virus yang kompeten replikasi onkolitik yang dimodifikasi secara genetik untuk glioblastoma menggunakan mutan defisiensi HSV-TK, HSVdlspk, yang terbukti sangat dilemahkan dalam sel yang tidak membelah seperti neuron tetapi efektif dalam menginfeksi, membunuh, dan mereplikasi pada glioblastoma manusia U87 *in vitro* dan *in vivo* (Martuza, Malick, and Markert, 1991).

Sejak itu, banyak mutan HSV onkolitik telah diisolasi atau direkayasa, dengan R3616, HSV-1716, hrR3, G207, dan G47 Δ menjadi contoh yang paling banyak dipelajari untuk menargetkan glioblastoma. Semua fitur gen virus mutan ini dihapus atau dimanipulasi agar mengurangi neurotoksisitas tetapi tidak mengganggu infeksi sel yang aktif membelah, terutama dengan mengaktifkan sinyal jalur RAS dan menekan fungsi PKR (Coen, Kosz-Vnenchak and Jacobson, 1989).

R3616 dan HSV-1716 mengalami delesi pada kedua salinan gen virus γ_1 34.5, produk gen penting untuk neurovirulensi. Prinsip atenuasi lain digunakan oleh hrR3, mutan gen UL39 dengan fungsi RR virus yang terganggu, penting untuk sintesis nukleotida virus dalam postmitotik tetapi tidak membelah sel. Dengan melemahnya kemampuan menginfeksi neuron, R3616, HSV-1716, dan hrR3 masih efektif menginfeksi, membunuh, dan bereplikasi pada beberapa sampel glioma manusia (Mckie, *et al.*, 1996).

Selanjutnya, rekombinan HSV onkolitik generasi kedua dan ketiga diperkenalkan dengan fitur genotipe multimutated. G207 menggabungkan delesi kedua salinan gen γ_1 34.5 dengan penyisipan gen pelapor lacZ pengganggu gen ke dalam gen UL39 yang menghasilkan varian HSV yang sangat dilemahkan. Aktivitas antiglioma dalam studi praklinis dan penilaian keamanan ekstensif pada hewan pengerat dan primata bukan manusia menghasilkan uji klinis HSV onkolitik untuk glioblastoma yang dimulai pada Februari 1998 (Markert, *et al.*, 2000).

G207 juga merupakan fondasi untuk HSV G47 Δ generasi ketiga di mana mutasi ketiga telah ditambahkan. Delesi pengkodean gen untuk ICP47 menghasilkan peningkatan presentasi antigen MHC kelas I dan peningkatan infiltrasi tumor limfositik. Selain itu, delesi ini menyebabkan pergeseran promotor untuk gen US11 yang menghasilkan siklus hidup virus yang lebih cepat dan titer yang lebih tinggi dari keturunan HSV onkolitik, yang pada akhirnya meningkatkan aktivitas onkolitik G47 Δ sambil mempertahankan keamanan G207. Gen γ_1 34.5 HSV yang didelesi gen dengan imun-stimulatori IL-12 adalah dasar untuk kandidat onkolitik yang ditunjuk sebagai M002 (murine IL-12) dan M032 (IL-12 manusia) dan



Gambar 6.2 Penelitian Virus Onkolitik untuk Menghasilkan Immunomodulator Transgen sebagai Terapi Glioblastoma (Zhang and Liu, 2020)

telah terbukti meningkatkan pembunuhan sel glioma dalam model tumor syngeneic dan xenograft (Parker *et al.*, 2000).

Upaya tambahan untuk “mempersenjatai” HSV yang dilemahkan termasuk menambahkan transgen terapeutik alternatif dan/atau meningkatkan penargetan selektif tumor melalui penargetan reseptor dan promotor khusus tumor (Gambar 6.2). Transgen yang telah digunakan termasuk CYP2B1, interleukin, dan lain-lain. Untuk penargetan reseptor, dibuat HSV yang diarahkan IL-13R α 2. Selain itu, promotor nestin yang mendorong ekspresi gen virus γ _{134.5} terbukti meningkatkan selektivitas glioma (Kambara, Okano, and Chiocca, 2005).

Adenovirus (AdV)

Sebuah virus DNA beruntai ganda tanpa *envelope*, AdV adalah patogen manusia yang sangat umum yang menyebabkan gejala pernapasan bagian atas ringan dan sembuh sendiri. Rekombinan yang direkayasa secara genetik dari AdV serotipe 5 (Ad5) yang menunjukkan replikasi kondisional (CRAd) adalah beberapa OV yang paling banyak dipelajari. Genom 36 kb virus dapat dibagi menjadi 2 set gen, awal (fungsional) dan akhir (struktural). Produk gen awal berinteraksi dengan kontrol seluler dan mekanisme pertahanan serta sangat diperlukan untuk replikasi

virus dalam sel normal. Yang terpenting, protein dari wilayah gen E1A memicu sel untuk memasuki fase S dengan berinteraksi dengan protein penekan tumor retinoblastoma seluler (pRb) dan p300; Protein E1B menekan apoptosis dengan mengikat dan menonaktifkan p53, sehingga menghambat respons proapoptosisnya; Elemen E2 mengontrol replikasi DNA virus; Protein E3 melawan berbagai respons imun antivirus; dan produk gen E4 menghambat mekanisme perbaikan DNA seluler dan apoptosis (Alonso, Cascallo and Gomez-Manzano, 2007).

Ketergantungan pada mekanisme siklus sel yang diaktifkan dan tanpa hambatan untuk replikasi virus membuat AdVs dengan defisiensi E1A atau E1B replikasi menjadi tidak kompeten dalam sel normal. Gen E1B 55-kd yang bereplikasi secara kondisional menghapus mutan dl1520 Adenovirus 5 (juga dikenal sebagai ONYX-015) 5 efektif dalam membunuh sel glioma p53 mutan U373 tetapi tidak pada sel p53 normal U87. Namun, penelitian selanjutnya pada jaringan glioma yang berasal dari tumor primer sampel melaporkan peningkatan aktivitas onkolitik ONYX-015 pada xenograft glioma tipe wild p53 dibandingkan dengan mutan p53. ONYX-015 diuji dalam uji klinis glioblastoma. Selain penargetan p53, mutan Ad5 telah dikembangkan secara paralel, yang mengeksploitasi defek pada jalur Rb melalui delesi asam amino di situs pengikatan Rb E1A, 56 CRAd yang dihasilkan ditetapkan sebagai Ad-delta-24 (Alonso, Cascallo and Gomez-Manzano, 2007).

Perubahan tingkat ekspresi Rb dan p16 dilaporkan di hampir 50% glioma, dan beberapa laporan menunjukkan korelasi dengan stadium lanjut glioma. Selain itu, upaya penargetan ulang reseptor telah menghasilkan modifikasi tropisme AdV. Peptida RGD yang dimasukkan ke dalam protein serat adV yang biasanya mengikat reseptor Coxsackie-Adenovirus CAR-led sebagai gantinya ke ikatan afinitas tinggi ke integrin $\alpha v\beta 3$ dan $\alpha v\beta 5$, yang telah ditemukan pada banyak permukaan tumor. Gabungan Ad-delta-24 dengan RGD modifikasi terbukti meningkatkan mekanisme *oncolytic* melawan glioblastoma dan saat ini menjalani pengujian dalam uji klinis. Strategi penargetan ulang tambahan mencakup antibodi rantai tunggal yang diberi tag ke kenop serat AdV yang diarahkan ke

reseptor faktor pertumbuhan epidermal, yang menghasilkan penargetan glioblastoma yang sangat selektif. Generasi berikutnya dari Ad-delta-24 mencakup penambahan responsif E2F1 elemen sebagai promotor untuk E1A, membuat ekspresi adenoviral E1A bergantung pada keberadaan E2F bebas, yang biasa terlihat pada tumor. Konstruksi Ad-delta24-RGD-E2F1 ini (juga dikenal sebagai ICOVIR) menunjukkan peningkatan kemanjuran pada glioma (Alonso, Cascallo, and Gomez-Manzano, 2007).

Newcastle Disease Virus (NDV)

Virus ini merupakan *avian paramyxovirus* dengan genom RNA untai negatif yang tidak terkait dengan penyakit manusia yang serius. Lima *strain* yang meliputi MTH-68/H, 73-T, NDV-HUJ, PV701, dan V4UPM telah diuji untuk potensi onkolitik. Seperti OV lain, eksploitasi defek pada pertahanan antiviral kemungkinan memainkan peran. Jalur RAS yang diaktifkan mungkin juga berkontribusi pada onkolisis NDV. Selain itu, induksi perifer sekresi TNF- α oleh sel mononuklear dan peningkatan antirespons imun tumor telah diusulkan. Berbeda dengan kebanyakan kandidat OV lainnya, NDV menerima investigasi praklinis yang relatif sedikit sebelum diuji dalam uji klinis. Kami hanya menemukan 4 studi eksperimental glioma, bersama dengan 4 studi klinis tentang aplikasi NDV terhadap glioblastoma, dengan beberapa hasil yang dilaporkan menjanjikan (Csatary and Bakacs, 1999).

Reovirus

Reovirus adalah virus yang belum berkembang yang awalnya dijelaskan sebagai *Respiratory Enteric Orphan*, virus "yatim piatu" yang mencerminkan keyakinan bahwa virus ini tidak menyebabkan penyakit yang jelas pada manusia. Reovirus secara khas menyebabkan aktivasi yang kuat dari jalur PKR seluler. PKR pada gilirannya memblokir replikasi virus melalui penghambatan sintesis protein dan promosi apoptosis (Alloussi, *et al.*, 2011).

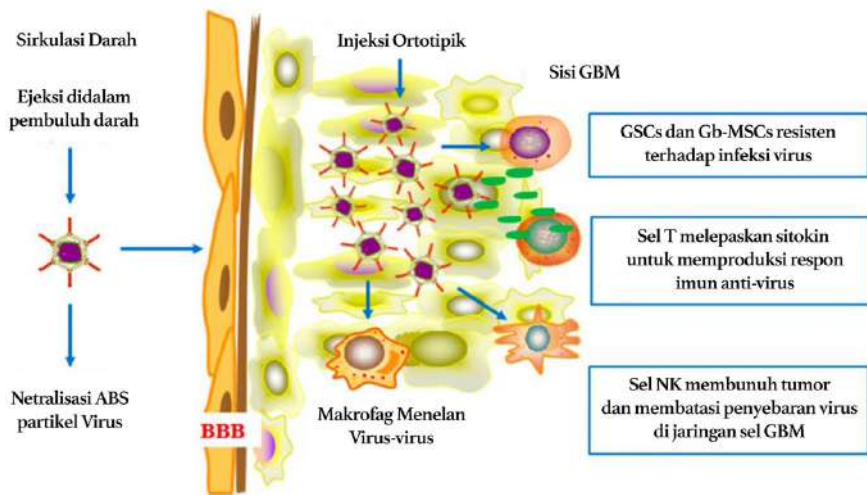
Reovirus tipe *wild* menampilkan onkoselektivitas untuk tumor dengan jalur pensinyalan Ras yang diaktifkan, sehingga menghambat fungsi PKR dan pada awalnya diaktifkan melalui reseptor tirosin kinase di hilir EGFR dan reseptor faktor pertumbuhan yang diturunkan dari platelet. Reovirus menunjukkan harapan sebagai agen antiglioma *in vitro* dan *in vivo*. Telah diteliti 16 spesimen glioma manusia dan lebih dari 80% garis sel glioma yang telah diuji rentan terhadap onkolisis reovirus. Injeksi intratumoral langsung menghasilkan onkolisis yang efektif pada xenograft glioblastoma manusia subkutan dan intrakranial pada tikus yang *immunocompromised* (Alloussi, *et al.*, 2011).

Tidak ditemukan neurotoksisitas pada model glioma hewan pengerat yang kompeten kekebalannya, dan primata bukan manusia yang diinjeksi secara intrakranial dengan *Good Manufacturing Practice* grade reovirus, hal ini membuka jalan untuk 2 uji klinis. Sebuah studi terbaru menunjukkan efek onkolitik reovirus terhadap glioma yang digeneralisasikan di antara beberapa galur reovirus, membuka kemungkinan untuk aplikasi berulang yang potensial dari serotipe reovirus (Alloussi, *et al.*, 2011).

Virus Vaccinia

Virus Vaccinia (VV) berkerabat dekat dengan *bovine poxvirus* dan merupakan agen vaksin yang digunakan untuk program pemberantasan cacar. Sejumlah *strain* VV yang beragam telah digunakan sebagai vaksin pada manusia. Dari mereka, *strain* yang sangat dilemahkan menunjukkan gangguan replikasi dan sebagian besar digunakan sebagai vektor terapi gen. Sebaliknya, *strain* VV yang kurang dilemahkan, *Western Reserve*, *Lister*, dan *Copenhagen* telah digunakan sebagai dasar untuk OV yang direkombinasi (Lun, *et al.*, 2010).

Meskipun tidak dianggap sebagai tumor selektif dalam arti sempit oleh beberapa penulis, penelitian telah menunjukkan onkopreferensi tertentu berdasarkan sel yang berubah menyediakan lingkungan yang lebih baik untuk replikasi VV. VV pertama yang dipelajari untuk aktivitas antiglioma dipersenjatai dengan transgen p53. Untuk meningkatkan onkoselektivitas, *strain* VV rekombinan dikembangkan dengan perubahan



Gambar 6.3 Faktor yang Membatasi Efektivitas Penyebaran Virus Onkolitik sebagai Terapi GBM. Dikutip dengan modifikasi dari: *Advances and potential pitfalls of oncolytic viruses expressing immunomodulatory transgene therapy for malignant gliomas* (Zhang and Liu, 2020)

yang ditargetkan pada genom VV, termasuk delesi timidin kinase (TK) dan delesi faktor pertumbuhan vaksinia (Lun, *et al.*, 2010).

Penerapan *double-delete* VVs (vvDD) dikombinasikan dengan agen immunosupresif menghasilkan kelangsungan hidup yang lama pada model rodent glioma dan injeksi intravena vvDD pada primata bukan manusia dapat ditoleransi tanpa efek samping. Baru-baru ini, VV (JX-594) dipersenjawai dengan imunomodulatorik granulosit makrofag, faktor perangsang koloni, dan LacZ yang dimasukkan dan memengaruhi gen TK, berbeda dengan fungsi makrofag umumnya yang akan menghambat onkolitik viroterapi (Gambar 6.3), jenis makrofag ini terbukti efektif dalam memperpanjang kelangsungan hidup pada model glioma hewan (Lun, *et al.*, 2010).

Poliovirus

Poliovirus adalah virus RNA beruntai positif yang berasal dari famili Picornaviridae dan merupakan agen penyebab poliomyelitis pada manusia. Neurotoksisitas virus polio dikaitkan dengan 2 faktor, yakni pengikatan selektif reseptor poliovirus PVR (atau Necl-5 atau CD155) yang diekspresikan pada neuron motorik dan *internal ribosom entry sites* (IRES) di ujung dari genom RNA virus. Salah satu penemuan penting yakni bahwa reseptor PVR/CD155 diekspresikan di sebagian besar sampel glioblastoma (Merrill, *et al.*, 2004).

Pada tahun 1996, Gromeier, *et al* memperkenalkan virus polio intergenetik yang direkayasa dengan neurotoksisitas minimal dengan mengganti urutan IRES polio dengan versi nonpatogenik dari *human rhinovirus* tipe 2. Rekayasa ini menghasilkan *Chimera Poliovirus* PV1 (RIPO) dan PVS (RIPO) (dengan *strain* vaksin polio Sabin yang dilemahkan sebagai komponen utamanya) menunjukkan potensi onkolitik yang baik terhadap glioma *in vitro* dan *in vivo* (Gromeier, *et al.*, 2000), meskipun saat ini masih terdapat kelemahan pada studi keamanan pada CD155 tikus transgenik dan primata bukan manusia (Goetz and Gromeier, 2010).

Virus Campak

Virus campak (MV) adalah virus RNA beruntai negatif yang termasuk dalam famili Paramyxoviridae dan merupakan patogen manusia yang menyebabkan penyakit campak dan dalam keadaan yang jarang menyebabkan ensefalitis berat. Meskipun laporan awal pertumbuhan MV pada sel glioma yang dibudidayakan sudah ada sejak 1975, baru pada tahun 2003 *strain* Edmonston (MV-Edm) yang sangat dilemahkan digunakan untuk vaksinasi yang luas dan terbukti memiliki nilai terapeutik potensial sebagai agen onkolitik untuk glioma (Phuong, *et al.*, 2003).

Glikoprotein 2 MV, protein hemagglutinin H dan fusion protein F, sangat penting untuk spesifisitas dan efikasi onkolitik. Mutasi pada protein H virus dari galur Edmonston menyebabkan virus yang dilemahkan menghasilkan afinitas yang tinggi terhadap reseptor CD46

seluler, yang diekspresikan secara berlebihan pada berbagai tumor (Dörig, *et al.*, 1993).

Protein F bertanggung jawab untuk fusi membran yang mengarah pada pembentukan sinkitia dan pada akhirnya, apoptosis. Pada tahun 2002, MV-Edm rekombinan direayasa untuk mengekspresikan antigen karsinoembrionik (CEA) sebagai gen reporter untuk memantau aktivitas virus *in vivo* (Peng, *et al.*, 2002). MV-CEA menunjukkan profil onkolitik dan keamanan yang menguntungkan pada sejumlah hewan model termasuk injeksi intrakranial langsung pada tikus transgenik CD46 dan primata bukan manusia yang mengarah ke permulaan uji klinis fase I untuk glioblastoma yang saat ini sedang berlangsung (Allen, *et al.*, 2008).

Virus Stomatitis

Virus stomatitis adalah virus RNA yang berasal dari famili rhabdovirus yang dikaitkan dengan penyakit ringan pada hewan ternak. Infeksi pada manusia jarang terjadi dan biasanya tanpa gejala. Sebagai salah satu virus yang paling sensitif terhadap interferon (IFN), infeksi dengan cepat dikendalikan oleh sel-sel normal yang memiliki respons antivirus yang dimediasi oleh IFN. Virus stomatitis vesikular diperkenalkan sebagai kandidat onkolitik yang kuat pada tahun 2000 ketika terbukti bahwa IFN yang sangat baik dari VSV memiliki efek terhadap penyimpangan yang sering terjadi di jalur IFN dalam sel tumor; sejumlah besar tumor ditargetkan dan dilisiskan oleh VSV, termasuk glioblastoma. Namun, pada penelitian lain menunjukkan bahwa semakin tinggi gradasi astrositoma, ekspresi CTL-Ligand dan IFN- γ makin rendah, namun tidak ada perbedaan pada ekspresi NK-ligand (Wahyuhadi, 2010).

Virus stomatitis vesikular memiliki spesies dan tropisme jaringan yang sangat luas karena ikatan reseptor di banyak tempat, dan tidak terbatas pada mutasi transformasi spesifik seperti p53, ras, atau myc. Berbagai jenis kanker telah berhasil ditargetkan dalam studi praklinis. Tropisme luas ini sangat penting mengingat latar belakang mutasi yang heterogen dari GBM. Dalam studi terbaru, kami menganalisis kerentanan panel garis sel glioblastoma manusia terhadap infeksi VSV dan menemukan

berbagai tingkat gangguan interferon pada tumor ini tetapi tidak pada sampel nontumor otak manusia (Wollmann, Robek and Pol, 2007).

Dalam model glioma ortotopik di otak hewan pengerat, VSV diterapkan secara sistemik terbukti secara selektif menargetkan dan menginfeksi tidak hanya sebagian besar tumor tetapi juga kluster sel glioma satelit jarak jauh. Batasan upaya saat ini untuk mengembangkan VSV untuk aplikasi terapeutik potensial dalam terapi glioblastoma adalah neurotoksisitas potensial yang diamati pada beberapa model hewan pengerat. Akibatnya fokus penelitian difokuskan pada strategi pelemahan, yang telah menghasilkan beberapa mutan dengan neurotoksisitas yang rendah. Misalnya, VSVM51 adalah mutan yang menghasilkan respons interferon yang ditingkatkan, dan VSV-p1-GFP menampilkan kecepatan replikasi yang berkurang (Wollmann, *et al.*, 2010).

Penelitian lain saat ini mengembangkan VSV yang direplikasi dalam kultur glioblastoma menghasilkan isolasi VSV-rp30, varian bermutasi dengan peningkatan infektivitas tumor dan potensi litik. Baru-baru ini, sebuah konstruksi VSV baru pseudotyped dengan glikoprotein dari virus limfositik choriomeningitis menggantikan VSV's. Protein G alami diperkenalkan dengan neurotoksisitas yang berkurang secara signifikan pada tikus (Neurotropism, *et al.*, 2011).

Virus stomatitis vesikuler baru-baru ini telah disetujui untuk uji klinis sebagai vektor vaksin untuk *human immunodeficiency virus* dan sedang dalam pengembangan praklinis sebagai agen onkolitik untuk sejumlah kanker perifer. Sebanyak 109 kerabat dekat VSV adalah virus Maraba, yang baru-baru ini unggul dalam studi perbandingan potensi onkolitik dari berbagai varian rhabdovirus. Di antara garis tumor yang menjadi target adalah human glioblastoma SNB19 (identik dengan U-373), yang sangat rentan terhadap infeksi virus Maraba (Brun, *et al.*, 2009).

Autonomous Parvovirus

Merupakan virus DNA untai tunggal kecil yang tidak terselubung, anggota famili Parvoviridae, dan dengan pengecualian parvovirus manusia B19, tidak patogen pada manusia. Parvovirus dapat dibagi menjadi

dependovirus, seperti adenoassociated virus (AAV), yang memerlukan koinfeksi dengan adenovirus, herpesvirus, atau virus penolong lain untuk replikasi, dan parvovirus otonom yang mereplikasi virus lain secara independen pada sel permisif. Persyaratan utama untuk replikasi virus adalah ketergantungan yang melekat pada replikasi sel. Selain itu, gangguan PKR dalam sel yang ditransformasikan telah diusulkan untuk memfasilitasi infeksi parvovirus produktif. Parvovirus H1 tikus telah dipelajari secara ekstensif untuk glioblastoma onkolisis *in vitro* dan *in vivo* dan saat ini sedang diuji dalam studi klinis fase I untuk glioblastoma di Jerman. Parvovirus lain, menjadi sasaran studi infektivitas dasar pada kultur glioblastoma, tetapi belum maju ke studi *in vivo* (Wollmann, Tattersall and Pol, 2005).

Virus Myxoma

Myx termasuk dalam famili Poxviridae dan merupakan patogen spesifik spesies kelinci Eropa. Dengan demikian, penyakit dan kekebalan yang sudah ada sebelumnya pada manusia belum pernah dilaporkan. Namun, Myx diketahui memiliki kemampuan untuk menghilangkan *barrier* spesies yang secara selektif menginfeksi beragam sel tumor manusia. Oncotropisme terbukti didasarkan pada penyimpangan terkait tumor seperti ekspresi berlebih dari Akt (Wang, *et al.*, 2006).

Defek pada jalur interferon juga berkontribusi pada infeksi permisif miksuma pada sel spesies *non-host*. Myx menginfeksi sejumlah besar jalur sel glioma manusia dan glioma pada spesimen operasi manusia; kelangsungan hidup yang diperpanjang secara signifikan diamati pada model xenograft glioma intrakranial yang diinjeksi Myx dengan *immunocompromised*. Dalam model glioma imunokompeten, injeksi intratumoral dari Myx efektif dalam hubungannya dengan modulator imun rapamycin (Lun, Alain and Zemp, 2010).

Seneca Valley Virus

SVV-001 pada awalnya ditemukan sebagai kultur sel sitolitik kontaminan. Isolasi dan *sequencing* lanjutan mengungkapkan hubungan yang kuat

dengan *porcine picornaviruses*, virus RNA untai tunggal kecil. Virus diketahui tidak menyebabkan penyakit apapun pada manusia atau hewan, tetapi pengujian pada tumor manusia mengungkapkan spektrum yang luas dari aksi sitolitik, terutama pada tumor dengan fitur neuroendokrin. Namun, *cell line* glioblastoma manusia sebagian besar resisten (hanya 2 dari 9 baris terinfeksi secara substansial) (Morton, *et al.*, 2010).

Namun demikian, membahas virus ini dalam konteks viroterapi glioblastoma bermanfaat karena dua alasan. Pertama, virus ini menunjukkan afinitas yang kuat untuk tumor pediatrik, dan tingkat respons 50% (2/4) pada glioblastoma ditemukan di *panel cell line* Pediatric Preclinical Testing Program. Kedua, medulloblastoma, tumor otak pediatrik yang paling umum, sangat ditargetkan oleh SVV. Virus juga menargetkan sel induk kanker CD133⁺. Dalam perkembangan yang sangat cepat dari isolasi virus hingga pengujian klinis, 3 uji klinis dimulai untuk SVV saat ini (Yu, *et al.*, 2011).

Virus Sindbis Alfavirus

Virus dari famili *Togaviridae* ini merupakan virus RNA untai positif dengan burung sebagai inang alami dan nyamuk sebagai vektor pemindahannya. Infeksi pada manusia dapat terjadi setelah penularan melalui gigitan nyamuk. SIN tipe liar bersifat neurotropik, menyebabkan ensefalitis pada tikus, tetapi juga menampilkan tropisme inheren untuk sel tumor, yang dikaitkan dengan salah satu reseptor permukaan yang diperlukan untuk infeksi virus Sindbis, yakni reseptor laminin berafinitas tinggi 67-kd (Wang, *et al.*, 1992).

Reseptor ini telah terbukti diekspresikan secara berlebihan pada berbagai jenis kanker dan sering berkorelasi dengan fitur onkologi yang lebih agresif. Sebagai patogen yang ditularkan melalui darah, ia stabil dalam aliran darah dan cocok untuk aplikasi sistemik. Strain SIN laboratorium yang dilemahkan AR339 telah dipelajari sebagai agen onkolitik untuk berbagai jenis kanker. Laboratorium kami menguji AR339 pada glioblastoma dan menemukan infeksi produktif pada sel

U87 manusia tetapi tidak ada infeksi pada lini kedua, MO59J (Wollmann, Tattersall and Pol, 2005).

6.3 KESIMPULAN

Dalam onkologi, penggunaan virus sebagai agen terapeutik telah dipelajari secara luas dalam 2 strategi yang saling berkaitan: terapi gen dan viroterapi onkolitik. Replikasi virus bersifat selektif pada tumor, yang mengakibatkan kerusakan sel tumor secara litik dan pelepasan ribuan virus baru. Virus yang baru dilepaskan terus menginfeksi sel tumor di sekitarnya, secara teoritis menyebabkan dan mempertahankan gelombang serangan virus di seluruh tumor. Penggunaan dosis ini merupakan ciri unik dari viroterapi onkolitik yang tidak ditemukan dalam bentuk pengobatan lain dan mengarah pada penguatan lokal dari efek terapeutik. Akibatnya, dosis awal virus yang jauh lebih rendah secara teoritis diperlukan dibandingkan dengan pendekatan vektor virus yang tidak bereplikasi (Wollmann, Ozduman and Van Den Pol, 2012).

Konsep yang menentukan dari viroterapi adalah replikasi virus yang dapat dibatasi dan hanya terjadi pada tumor dengan diikuti lisis sel tumor berikutnya. Replikasi selektif ini didasarkan pada mekanisme yang melekat atau direayasa yang memanfaatkan penyimpangan/kelainan sel tumor untuk memperbanyak virus. Mekanisme spesifik prinsip dan lokasi interaksi tumor virus selektif dalam kaitannya dengan kompartemen seluler yang berbeda yaitu mekanisme ekstraselular, permukaan sel target, mekanisme sitotoksik, dan mekanisme nuklear. Adapun beberapa kandidat virus onkolitik untuk *high grade* glioma meliputi virus herpes simpleks, reovirus, adenovirus, virus vaccinia, *newcastle disease virus*, virus polio, virus campak, virus stomatitis. *autonomous parvovirus*, virus myxoma, *seneca valley virus*, virus sindbis alfavirus.

6.4 TINDAK LANJUT

Terapi viral onkolitik pada glioblastoma sampai saat ini masih berada pada tahapan *trial* dengan berbagai macam virus, rekayasa genetik, dan aplikasi yang diterapkan. Berbagai jenis hasil *trial* menunjukkan beragam hasil baik yang menunjukkan hasil bermakna maupun tidak. Oleh karenanya beberapa hal yang sebaiknya dilakukan adalah:

1. Meneruskan *clinical trial* yang masih berlangsung
2. Melakukan pemusatan penelitian pada virus yang sudah melewati fase 1 dan fase 2
3. Memilih secara selektif virus-virus baru berdasarkan studi ketat *in silico*, *in vivo* dan *in vitro*
4. Memprioritaskan keamanan pasien dalam pengembangan terapi viral onkolitik.

REFERENSI

- Allen, C., *et al.* 2008. Oncolytic measles virus strains in the treatment of gliomas. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 8(Issue:2):213-220. doi: 10.1517/14712598.8.6.855.
- Alloussi, S., *et al.* 2011. All reovirus subtypes show oncolytic potential in primary cells of human high-grade glioma. *Oncol Rep*, 26:645–649.
- Alonso, M., Cascallo, M. and Gomez-Manzano, C. 2007. ICOVIR-5 shows E2F1 addiction and potent antiglioma effect *in vivo*. *Cancer Res*, 67:8255–8263.
- Brun, J., *et al.* 2009. Identification of Genetically Modified Maraba Virus as an Oncolytic Rhabdovirus. *Molecular Therapy*. 18(8):1440–1449. doi: 10.1038/mt.2010.103.
- Coen, D., Kosz-Vnenchak, M. and Jacobson, J. 1989. Thymidine kinase negative herpes simplex virus mutants establish latency in mouse trigeminal ganglia but do not reactivate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86(12):4736-4740.
- Csatary, L. and Bakacs, T. 1999. Use of Newcastle disease virus vaccine (MTH68/H) in a patient with high-grade glioblastoma. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 281:1588–1589.
- Dörig, R.E., *et al.* 1993. The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell*, 75(2):295–305. doi: 10.1016/0092-8674(93)80071-L.

- Goetz, C. and Gromeier, M. 2010. Preparing an oncolytic poliovirus recombinant for clinical application against glioblastoma multiforme. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. Elsevier Ltd, 21(2-3):197-203. doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.02.005.
- Gromeier, M., et al. 2000. Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12):6803-6808. doi: 10.1073/pnas.97.12.6803.
- Kambara, H., Okano, H. and Chiocca, E. 2005. An oncolytic HSV-1 mutant expressing ICP34.5 under control of a nestin promoter increases survival of animals even when symptomatic from a brain tumor. *Cancer Res*, 65:2832-2839.
- Lun, X., et al. 2010. Efficacy and safety/toxicity study of recombinant vaccinia virus JX-594 in two immunocompetent animal models of glioma. *Mol ther*, 18:1927-1936.
- Lun, X., Alain, T. and Zemp, F.J. 2010. Myxoma Virus Virotherapy for Glioma in Immunocompetent Animal Models: Optimizing Administration Routes and Synergy with Rapamycin Myxoma Virus Virotherapy for Glioma in Immunocompetent Animal Models: Optimizing Administration Routes and Synergy with Rap. *Cancer Research*. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1510.
- Markert, J.M., et al. 2000. Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Therapy*, pp. 867-874.
- Martuza, R., Malick, A. and Markert, J. 1991. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science*, 252:854-856.
- Mckie, E.A., et al. 1996. Selective in vitro replication of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) ICP34. 5 null mutants in primary human CNS tumours-evaluation of a potentially effective clinical therapy. *British Journal of Cancer*, 1:745-752.
- Merrill, M.K., et al. 2004. Oncolysis of glioma 1-CD155. *Neuro-Oncology*. doi: 10.1215/S11528517.
- Morton, C.L., et al. 2010. Initial testing of the replication competent seneca valley virus (NTX-010) by the pediatric preclinical testing program. *Pediatric Blood Cancer*, (May):295-303. doi: 10.1002/pbc.
- Neurotropism, M., et al. 2011. Pseudotyping vesicular stomatitis virus with lymphocytic choriomeningitis virus glycoproteins enhances infectivity for glioma. *Journal of Virology*, 85(11):5679-5684. doi: 10.1128/JVI.02511-10.

- Parker, J.N., *et al.* 2000. Engineered herpes simple virus expressing IL-12 in the treatment of experimental murine brain tumors. *Proc Natl Acad Sci*. doi: 10.1073/pnas.04055789.
- Parsons, D., Jones, S. and Zhang, X. 2008. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*, 321:1807–1812.
- Peng, K.W., *et al.* 2002. Non-invasive in vivo monitoring of trackable viruses expressing soluble marker peptides. *Nature Medicine*, 8(5):527–531. doi: 10.1038/nm0502-527.
- Phuong, L.K., *et al.* 2003. Use of a vaccine strain of measles virus genetically engineered to produce carcinoembryonic antigen as a novel therapeutic agent against glioblastoma multiforme. *Cancer Research*, 63(10):2462–2469.
- Verhaak, R., *et al.* 2010. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell*, 17:98–110.
- Wahyuhadi, J. 2010. *The expression of NK-ligand, CTL-ligand, IL-2, IFN- γ intratumoral and the relation to the astrocytoma aggressivity*. Airlangga University.
- Wang, G., *et al.* 2006. Infection of human cancer cells with myxoma virus requires Akt activation via interaction with a viral ankyrin-repeat host range factor. *Proc Natl Acad Sci*.
- Wang, K., *et al.* 1992. High-affinity laminin receptor is a receptor for sindbis virus in mammalian cells. *Journal of Virology*, 66(8):4992–5001.
- Wollmann, G., *et al.* 2010. Some attenuated variants of vesicular stomatitis virus show enhanced oncolytic activity against human glioblastoma cells relative to normal brain cells. *Journal of Virology*, 84(3):1563–1573. doi: 10.1128/JVI.02040-09.
- Wollmann, G., Ozduman, K. and Van Den Pol, A.N. 2012. Oncolytic virus therapy for glioblastoma multiforme: Concepts and candidates. *Cancer Journal*, 18(1):69–81. doi: 10.1097/PP0.0b013e31824671c9.
- Wollmann, G., Robek, M.D. and Pol, A.N. Van Den. 2007. Variable deficiencies in the interferon response enhance susceptibility to vesicular stomatitis virus oncolytic actions in glioblastoma cells but not in normal human glial cells. *Journal of Virology*, 81(3):1479–1491. doi: 10.1128/JVI.01861-06.
- Wollmann, G., Tattersall, P. and Pol, A.N. Van Den. 2005. Targeting human glioblastoma cells : comparison of nine viruses with oncolytic potential. *Journal of Virology*, 79(10):6005–6022. doi: 10.1128/JVI.79.10.6005.

- Yu, L., *et al.* 2011. A single intravenous injection of oncolytic picornavirus SVV-001 eliminates medulloblastomas in primary tumor-based orthotopic xenograft mouse models. *Neuro-Oncology*, 13(1):14–27.
- Zhang, Q. and Liu, F. 2020. Advances and potential pitfalls of oncolytic viruses expressing immunomodulatory transgene therapy for malignant gliomas. *Cell Death and Disease*. Springer US. doi: 10.1038/s41419-020-2696-5.



7

Modalitas Immunoterapi Jenis *Immune Checkpoint Inhibitor* pada Glioblastoma

7.1 PENDAHULUAN

Glioblastoma mempunyai sifat unik karena memengaruhi sistem imun penderita, baik secara sistemik maupun lingkungan mikro di sekitar tumor melalui ekspresi zat-zat immunosupresan yang tampak pada Tabel 7.1 (McGranahan, *et al.*, 2017).

7.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

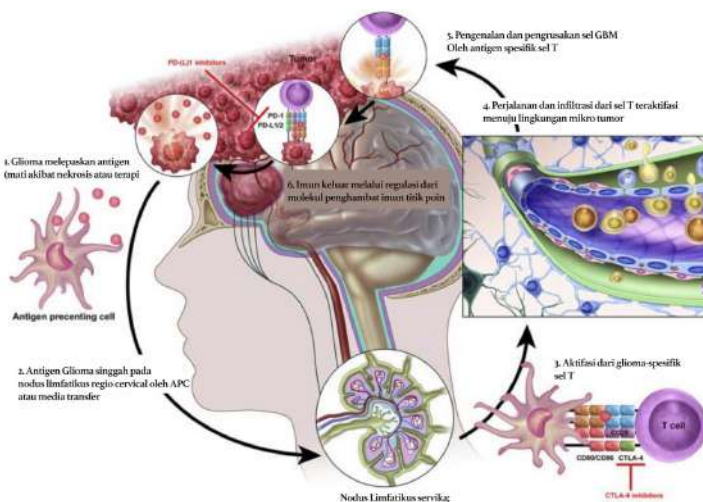
Terapi *immune checkpoint inhibitor* pada glioblastoma yang saat ini paling banyak diteliti adalah penggunaan antibodi yang memblok protein *cytotoxic T lymphocyte antigen-4* (CTLA-4) dan PD-1 (Lim, *et al.*, 2018).

Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 adalah molekul inhibisi yang menghambat aktivasi sel T dengan cara berikatan dengan reseptor CD80 dan CD86 pada di mana ikatan antara molekul dan reseptor ini

Tabel 7.1 Immunosupresan Dimediasi Tumor (McGranahan, et al., 2017)

Mutasi Tumor	Efek pada Fungsi Imun
Menurunkan MHC I	Menurunkan deteksi oleh sel T
Sekresi TGF-β	Menghambat mediasi apoptosis yang dimediasi sistem imun dengan mengfiltrasi limfosit
IL-10	Menurunkan fungsi DC dan Sel T sitotoksik
PGE-2	Menurunkan fungsi MHC II pada APC, melawan aktivasi Sel T, merangsang Treg
PD- L1	Menghambat aktivasi sel T
STAT3	Menurunkan diferensiasi DC, meningkatkan produksi sel T FOXP3+

MHC, major histocompatibility complex; TGF- β , transforming growth factor beta; IL-10, interleukin 10; DC, dendritic cell; PGE 2, Prostaglandin E2; APC, antigen-presenting cells; PD-L1, programmed death ligand 1; STAT3, Signal transducer and activator of transcription 3; FOXP3+, Forkhead Box P3; Treg, regulatory T cells.

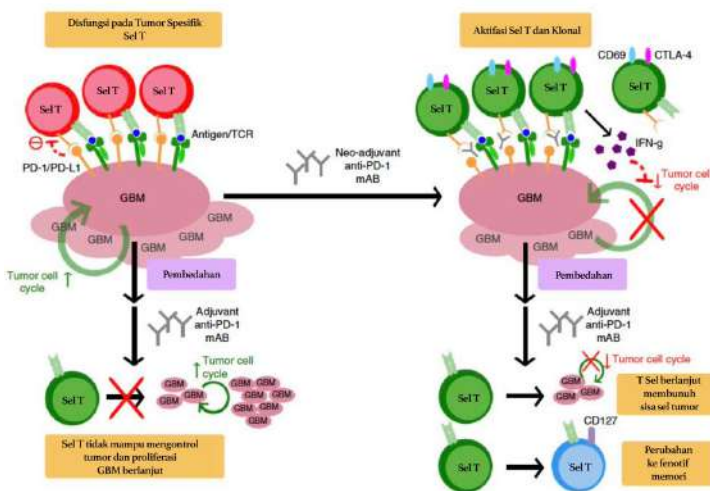


Gambar 7.1 Siklus Kanker dan Imunitas pada Glioblastoma (Desai, et al., 2019). 1. Kematian sel tumor melepaskan antigen yang kemudian akan dikenali oleh APC; 2. Antigen glioblastoma dibawa oleh APC ke kelenjar getah bening di leher; 3. Aktivasi sel T sitotoksik oleh APC; 4. Sel T yang telah aktif menginfiltrasi sel tumor; 5. Sel tumor dikenali oleh sel T spesifik yang telah aktif; 6. Sel tumor lolos dari sistem imun melalui molekul immune checkpoint inhibitor. Dikutip dengan modifikasi dari: History and current state of immunotherapy in glioma and brain metastasis (McGranahan, et al., 2017).

lebih kuat afinitasnya dibandingkan ikatan dengan reseptor CD28 yang dibutuhkan untuk mengaktivasi sel T. Molekul ini diproduksi oleh Treg dan fungsi utamanya adalah proteksi natural dari autoimmunitas (McGranahan, *et al.*, 2017).

PD-1 adalah reseptor pada permukaan sel T sitotoksik dan memainkan peranan penting pada mekanisme pelarian dari sistem imun, di mana reseptor ini membatasi aktivitas sel T, meningkatkan toleransi imun, dan menurunkan autoimmunitas. Jika reseptor ini berikatan dengan ligan, dalam hal ini PD-L1, maka reseptor ini akan teraktivasi. Ligan tersebut pada umumnya terdapat dalam konsentrasi yang sedikit, namun sangat meningkat pada glioblastoma (McGranahan, *et al.*, 2017).

Ada beberapa mekanisme yang diajukan untuk menjelaskan kerja *neoadjuvant* blokade PD-1 pada GBM rekuren. Salah satunya dengan memungkinkan modulasi klonotipe reseptor sel T (TCR) dengan aktivasi sistemik dan seleksi klonal sel T spesifik tumor. Selengkapnya dijelaskan pada Gambar 7.2 di bawah.



Gambar 7.2 Mekanisme yang diusulkan dari blokade PD-1 *neoadjuvant* pada glioblastoma multiforme (GBM) berulang. Dikutip dengan modifikasi dari: *Neoadjuvant anti-PD-1 immunotherapy promotes a survival benefit with intratumoral and systemic immune responses in recurrent glioblastoma* (Cloughesy, *et al.*, 2019).

Pada gambar di atas, tampak limfosit yang menginfiltrasi tumor, jika ada, menjadi tidak efektif melalui aksis PD-1 PD L1. Blokade PD-1 *neoadjuvant* melepaskan pos pemeriksaan ini, memungkinkan modulasi klonotipe reseptor sel T (TCR) dengan aktivasi sistemik dan seleksi klonal sel T spesifik tumor. Aktivasi sel T tersebut pada gilirannya mengatur pensinyalan terkait interferon- γ , sementara menurunkan regulasi gen-gen terkait siklus sel tumor. Setelah operasi dan dengan pemberian antibodi monoklonal anti-PD-1 *adjuvant* yang berkelanjutan, sel T spesifik tumor terus menghilangkan sel tumor sisa dan mulai beralih ke fenotipe memori T. Pada kelompok khusus *adjuvant*, pembedahan terjadi sebelum pelepasan blokade pos pemeriksaan. Karena beban antigenik sisa berkurang, modulasi TCR menjadi kurang kuat dan lebih sedikit sel T spesifik tumor yang diaktifkan. Dengan lebih sedikit sel T spesifik tumor, sel tumor yang tersisa dapat berkembang biak dengan lebih cepat (Cloughesy, *et al.*, 2019).

Penelitian ini menggunakan metode studi literatur dengan rumus *searching (glioblastoma OR gbm) and (immune checkpoint inhibitor)*. Adapun hasil riset yang ditemukan untuk dikaji dan ditelaah adalah:

Tabel 7.2 Studi Modalitas Immunoterapi Jenis *Immune Checkpoint Inhibitor* pada Glioblastoma

No	Peneliti	Penelitian
1	Carter, 2016	Ipilimumab and Bevacizumab in Glioblastoma.
2	Chamberlain, 2017	Nivolumab for patients with recurrent glioblastoma progressing on bevacizumab: A retrospective case series
3	Omuro, 2018	Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: Results from exploratory phase I cohorts of CheckMate 143.
4	Mantica, 2018	Retrospective study of nivolumab for patients with recurrent high grade gliomas.
5	Lukas, 2018	Clinical activity and safety of atezolizumab in patients with recurrent glioblastoma.
6	Cloughesy, 2019	Neoadjuvant anti-PD-1 immunotherapy promotes a survival benefit with intratumoral and systemic immune responses in recurrent glioblastoma
7	Schalper, 2019	Neoadjuvant nivolumab modifies the tumor immune microenvironment in resectable glioblastoma.

Modalitas Imunoterapi Jenis *Immune Checkpoint Inhibitor* pada Glioblastoma dan Penggunaan Klinisnya

Ipilimumab (antibodi monoklonal IgG1 manusia) merupakan terapi *targeting* terhadap CTLA-4, telah disetujui untuk terapi pada pasien *melanoma* metastasis, *renal cell carcinoma*, dan *ca colorectal* (Desai, *et al.*, 2019).

Ipilimumab adalah antibodi monoklonal IgG1 yang sepenuhnya *humanised* yang mempotensiasi respons sel-T antitumor dengan memblokir antigen-4 limfosit-T sitotoksik, regulator negatif kritis (*checkpoint*) sel-sel T. Sampai saat ini, sebagian besar pengalaman klinis dan data kemanjuran dari ipilimumab digunakan dalam tata laksana melanoma ganas metastatik, yang telah menjadi pengobatan standar yang menghasilkan kelangsungan hidup jangka panjang bahkan pada subset pasien dengan penyakit lanjut. Ipilimumab juga menunjukkan respons pada pasien dengan melanoma maligna dan metastasis otak, menyoroiti kemanjuran dalam sistem saraf pusat. Ipilimumab telah diberikan dengan aman bersamaan dengan bevacizumab pada melanoma, dengan bukti kemanjuran sinergis dan toksisitas yang dapat dikelola jika dibandingkan dengan ipilimumab saja. Uji penggunaan ipilimumab pada kasus glioblastoma baru-baru ini menunjukkan bahwa 31% pasien dengan penyakit berulang memiliki respons radiografi parsial terhadap pengobatan berdasarkan kriteria, dan 31% lainnya memiliki penyakit yang stabil. Pengobatan ditoleransi dengan baik, dengan pengobatan dihentikan sebelum selesai karena efek samping pada dua pasien (Carter, *et al.*, 2016).

Nivolumab, pembrolizum, dan cemiplimab adalah antibodi anti PD-1 yang telah disetujui sebagai terapi pada beberapa tumor solid dan sedang diteliti kegunaannya pada glioblastoma (Desai, *et al.*, 2019).

Pada suatu studi retrospektif terbesar yang mengevaluasi pasien dengan glioma derajat tinggi berulang yang berulang yang diobati dengan nivolumab yang sebelumnya dirawat dengan berat dengan operasi reseksi ulang, iradiasi ulang, dan kemoterapi termasuk bevacizumab, terdapat 50 pasien yang diikuti pada studi ini. Tidak ada pasien yang menunjukkan respons lengkap atau parsial, tetapi 72% pasien mengalami penyakit

yang stabil pada penilaian 2 bulan. Dalam penelitian ini, 18 (34%) pasien memiliki bukti radiografi perkembangan dalam 3 bulan pertama setelah memulai nivolumab. 10 dari 18 tetap stabil secara klinis, menunjukkan pseudoprogresi imunoterapi, meskipun pemindaian otak MRI ulang dilakukan hanya pada 4 dari 18 pasien. Durasi rata-rata penyakit stabil adalah 3,8 bulan dalam pengaturan refraktori bevacizumab. PFS median adalah 4,3 bulan, sedangkan OS median adalah 6,5 bulan sejak dimulainya nivolumab, yang sebanding dengan hasil dalam intervensi terapeutik yang diterbitkan sebelumnya pada pasien refrakter bevacizumab. Mirip dengan penelitian lain yang mengevaluasi penghambat *checkpoint*, profil toksisitas dapat dikelola dan tidak ada toksisitas yang tumpang tindih dengan bevacizumab yang telah diamati (Mantica, *et al.*, 2018).

Kesimpulan dari studi tersebut harus mengingatkan beberapa keterbatasan penelitian ini. Sebagai tinjauan retrospektif, ada batasan dalam pemilihan, pengambilan sampel, dan penarikan kembali bias. Sampel pasien juga tidak biasa mengenai jumlah pasien yang menerima reseksi ulang dan iradiasi ulang dalam pengaturan penyelamatan. Pasien juga lebih muda dengan usia rata-rata 55 tahun, dan 23 (43%) pasien memiliki tumor kortikal hemisfer non-dominan. Sampel sangat heterogen dengan berbagai jalur terapi sebelumnya. Pasien ditugaskan untuk terapi sesuai dengan pilihan terbaik dokter. Nivolumab diberikan kepada pasien tanpa pengetahuan tentang ekspresi tumor pada ligan PD1 atau PDL-1 atau beban mutasi. Banyak pasien dalam penelitian ini menerima steroid bersamaan yang setara dengan deksametason 2 mg atau kurang saat pengobatan dimulai, yang mungkin mengganggu kemanjuran. Selain itu, pemberian dosis steroid berikutnya setelah pemberian nivolumab tidak dicatat. Terlepas dari keterbatasan ini, penelitian ini menunjukkan bahwa pengobatan dengan nivolumab memiliki profil keamanan yang dapat dikelola yang konsisten dengan obat PD-1 lainnya (Mantica, *et al.*, 2018).

Buah studi fase 2 *single-arm* dilakukan mengeksplorasi kelayakan, keamanan, dan efek imunobiologis dari blokade PD-1 pada pasien yang menjalani operasi untuk glioblastoma dengan nivolumab. Pada studi ini dilakukan uji pemberian dan dosis pembedahan nivolumab diikuti dengan

nivolumab pasca operasi hingga perkembangan penyakit atau toksisitas yang tidak dapat diterima pada 30 pasien (27 operasi *salvage* untuk kasus berulang dan 3 kasus operasi primer untuk pasien yang baru didiagnosis). Ketersediaan jaringan tumor sebelum dan sesudah pemberian dosis nivolumab dan dari pasien tambahan yang tidak menerima nivolumab memungkinkan evaluasi perubahan dalam lingkungan mikro imun tumor menggunakan beberapa analisis molekuler dan seluler. Nivolumab *neoadjuvant* menghasilkan peningkatan ekspresi transkrip kemokin, infiltrasi sel imun yang lebih tinggi, dan keragaman klonal TCR yang meningkat di antara limfosit T yang menginfiltrasi tumor, mendukung efek imunomodulator lokal dari pengobatan. Meskipun tidak ada manfaat klinis yang dibuktikan setelah operasi penyelamatan, dua dari tiga pasien yang diobati dengan nivolumab sebelum dan sesudah operasi primer tetap hidup 33 dan 28 bulan kemudian (Schalper, *et al.*, 2019).

Pada studi fase 1 dari penggunaan ipilimumab dan nivolumab sebagai terapi tunggal maupun kombinasi pada glioblastoma rekuren, didapatkan bahwa toksisitas terapi kombinasi lebih tinggi namun dengan *median overall survival* yang tidak jauh berbeda (12 bulan median overall survival 40% vs 30 %) (Omuro, Vlahovic, Lim, Sahebjam, Baehring, Voloschin, *et al.*, 2018). Studi fase 3 terhadap penggunaan nivolumab terhadap bevacizumab sedang dilakukan karena temuan keamanan pemberian nivolumab sebagai terapi tunggal dan *median overall survival* yang lebih baik dibandingkan terapi standar. CheckMate-143 merupakan suatu studi RCT yang membandingkan terapi nivolumab dan bevacizumab pada glioblastoma rekuren. Hasil awal analisis pada 369 pasien, sayangnya tidak memberikan pemanjangan median *overall survival* dari pemberian nivolumab jika dibandingkan dengan bevacizumab (9.8 bulan pada nivolumab dan 10 bulan pada bevacizumab). Kombinasi nivolumab dengan radioterapi pada studi Checkmate-498 gagal menunjukkan pemanjangan dari *overall survival* pasien dengan glioblastoma *unmethylated* MGMT kasus baru dibandingkan dengan terapi kombinasi temozolamide dan radioterapi (D.A. Reardon, *et al.*, 2017).

Kombinasi ipilimumab dan nivolumab juga telah pernah diteliti baru-baru ini. Hasil dari uji klinis prospektif dari inhibitor *checkpoint* imun pada pasien dengan GBM, yang dikategorikan sebagai populasi dengan prognosis buruk dan sedikit pilihan pengobatan, monoterapi nivolumab lebih baik ditoleransi daripada nivolumab dalam kombinasi dengan ipilimumab dan dipilih untuk kohort fase 3 (kohort 2) dari CheckMate 143. Studi yang disajikan di sini juga menemukan bahwa ekspresi *tumor cell* PD-L1 adalah umum di jaringan GBM dan tidak ada hubungan yang terdeteksi antara penggunaan steroid awal dan respons objektif dengan nivolumab + ipilimumab. Selain itu, penilaian neuropatologi menunjukkan bahwa inhibitor *checkpoint* imun dapat meningkatkan infiltrat inflamasi pada beberapa pasien dengan tumor SSP. Namun, mengingat keterbatasan analisis kasus tunggal yang tidak terkontrol dan retrospektif, tidak jelas apakah hasil dalam kasus ini semata-mata karena efek pengobatan atau perjalanan alami dan/atau heterogenitas penyakit (Omuro, Vlahovic, Lim, Sahebjam, Baehring, Cloughesy, *et al.*, 2018).

Nivolumab juga telah diteliti sebagai terapi untuk GBM rekuren yang berkembang pasca pemberian bevacizumab. Suatu studi retrospektif kecil yang dilakukan pada tahun 2017 menunjukkan manfaat minimal dengan nivolumab setelah perkembangan penyakit pasca bevacizumab pada pasien dengan GBM rekuren, sebuah temuan yang sebelumnya tidak didokumentasikan dalam literatur, dan menimbulkan pertanyaan apakah terapi saat ini memerlukan pekerjaan dalam pengaturan ini. Mungkin pasien dengan GBM refraktori pasca bevacizumab akan lebih baik ditatalaksana dengan perawatan suportif hanya di mana toksisitas terkait pengobatan akan berkurang yang dengan demikian dapat meningkatkan kualitas akhir hidup (Chamberlain & Kim, 2017).

Agen imunoterapi lain, atezolizumab adalah antibodi monoklonal anti-PD-L1 yang direkayasa dan *humanized* yang menargetkan PD-L1 dan memblokir interaksinya dengan PD-1 dan B7.1, menghidupkan kembali kekebalan antikanker. Selain itu, penargetan langsung PD-L1 dengan atezolizumab dapat mempertahankan homeostasis imun di jaringan normal dengan membiarkan interaksi antara PD-1 dan program *death-*

ligand 2 (PD-L2) tetap utuh Kemanjuran klinis dan keamanan atezolizumab telah dibuktikan pada banyak jenis kanker, dan menyebabkan persetujuan dari atezolizumab oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan AS sebagai terapi lini kedua untuk pasien dengan kanker paru non-sel kecil stadium lanjut atau metastatik dan kanker urothelial (Herbst, *et al.*, 2014).

Sebuah studi fase 1a yang baru-baru ini dilakukan menunjukkan bahwa atezolizumab dapat ditoleransi dengan baik pada pasien dengan GBM. Hasil terbaru ini menunjukkan kurangnya kemanjuran klinis dengan monoterapi antibodi anti-PD-1 pada pasien yang *biomarker-unselected* dengan GBM berulang. Profil keamanan yang menguntungkan mendukung studi kombinasi dengan atezolizumab pada populasi ini, terutama pada pasien yang mungkin tidak memerlukan steroid bersamaan. Pilihan potensial untuk studi kombinasi dengan atezolizumab di GBM berulang termasuk terapi radiasi, kemoterapi (temozolomide, lomustine), imunoterapi lain, dan bevacizumab. Masing-masing menargetkan bagian berbeda dari respons imun antitumor, dan dalam kombinasi dengan atezolizumab, dapat membantu memperkuat kekebalan antikanker pada GBM berulang (Lukas, *et al.*, 2018).

Agen lain yang digunakan adalah pembrolizumab. Pembrolizumab, antibodi monoklonal anti-PD-1, telah menunjukkan manfaat sebagai monoterapi pada berbagai jenis kanker, tetapi terutama dalam pengaturan adjuvan. Namun, studi kanker payudara metastasis praklinis menyarankan bahwa penghambatan pos pemeriksaan kekebalan neoajuvan dapat menghasilkan peningkatan dan tanggapan kekebalan antitumor yang berkelanjutan, menghasilkan manfaat kelangsungan hidup dibandingkan terapi adjuvan saja. Konsep tersebut baru-baru ini divalidasi oleh studi klinis kecil pada kanker paru-paru yang dapat dioperasi, uji coba acak kecil pada melanoma¹⁹ serta uji coba fase 2 pada melanoma yang membandingkan nivolumab neoadjuvan dengan nivolumab neoajuvan dengan ipilimumab. Semua penelitian menunjukkan peningkatan respons sel T dan manfaat klinis dengan inhibisi *checkpoint* neoajuvan (Cloughesy, *et al.*, 2019).

Untuk melihat efeknya pada kasus glioblastoma rekuren, Konsorsium Uji Klinis Fase Awal Ivy Foundation melakukan uji klinis multi-institusi secara acak untuk mengevaluasi respons imun dan kelangsungan hidup setelah terapi neoajuvan dan/atau ajuvan dengan pembrolizumab pada 35 pasien dengan glioblastoma berulang yang dapat dioperasi. Pasien yang diacak untuk menerima pembrolizumab neoadjuvan, dengan terapi ajuvan lanjutan setelah operasi, secara signifikan memperpanjang kelangsungan hidup secara keseluruhan dibandingkan dengan pasien yang secara acak menerima blokade protein 1 (PD-1) kematian sel terprogram pasca operasi saja. Blokade PD-1 neoadjuvan dikaitkan dengan peningkatan regulasi ekspresi gen terkait sel T dan interferon, tetapi regulasi menurun ekspresi gen terkait siklus sel di dalam tumor, yang tidak terlihat pada pasien yang menerima terapi ajuvan saja. Induksi fokal dari kematian terprogram 1 dalam lingkungan mikro tumor, peningkatan ekspansi klonal sel T, penurunan ekspresi PD-1 pada sel T darah perifer dan penurunan populasi monositik diamati lebih sering pada kelompok neoajuvan daripada pasien yang diobati hanya dalam pengaturan ajuvan. Penemuan ini menunjukkan bahwa pemberian neoajuvan dari blokade PD-1 meningkatkan respons imun antitumor lokal dan sistemik dan mungkin merupakan pendekatan yang lebih efektif untuk pengobatan tumor otak yang mematikan ini (Cloughesy, *et al.*, 2019).

Pada kasus metastatic melanoma, data yang didapat dari analisis jangka panjang menyatakan bahwa efek ipilimumab menunjukkan angka bertahan hidup hingga 10 tahun, sebuah angka yang sangat menakjubkan bila dibandingkan dengan terapi konvensional yang angka bertahan hidupnya hanya mencapai 8-10 bulan (Hodi, *et al.*, 2010). Ekspansi dari penggunaan terapi ini pada kasus tumor otak primer, terutama glioblastoma, membutuhkan kombinasi dengan terapi lain. Studi pendahuluan penggunaan ipilimumab dengan kombinasi bevacizumab pada kasus glioblastoma menunjukkan tidak ada efek samping grade 4 yang terjadi, namun 2 dari 20 pasien terpaksa dihentikan terapinya karena munculnya efek samping. Selain itu, sebuah studi kecil menunjukkan hanya 6 dari 20 kasus mengalami progresi dari tumor dalam 3 bulan

pertama yang merupakan suatu hasil yang menjanjikan dalam penggunaan ipilimumab sebagai terapi glioblastoma dan beberapa studi lain juga masih dalam tahap penelitian (Agarwalla, *et al.*, 2012).

Toksisitas dan perhatian terhadap komplikasi yang serius, jika reaksi imun tidak terkontrol terjadi di dalam otak, sebuah studi dilangsungkan untuk secara spesifik mempelajari keamanan dan aktivitas ipilimumab pada populasi dengan metastasis sistem saraf pusat. Studi ini membagi populasi tersebut menjadi 2 kelompok, kelompok yang menggunakan steroid dan tidak. Efek samping *grade* 3 dan 4 lebih sedikit terjadi pada kelompok dengan steroid, namun secara keseluruhan efek samping dapat dibandingkan antara 2 kelompok tersebut. Sampai saat ini belum jelas apakah steroid mengganggu efektivitas dari ipilimumab (Di Giacomo, *et al.*, 2015; Margolin, *et al.*, 2012).

Tantangan utama dalam penggunaan klinis *checkpoint* inhibitor adalah menjaga keseimbangan antara respons imun dan inflamasi dengan respons autoimun, baik pada target spesifik terapi maupun pada lokasi yang jauh dari target terapi. Selalu ada kewaspadaan yang muncul untuk respons inflamasi pada tumor otak karena adanya risiko edema serebri dan peningkatan tekanan intrakranial berhubungan dengan tumor atau inflamasi. Terdapat pula beberapa laporan munculnya efek samping autoimun neurologis dari terapi *checkpoint* inhibitor seperti *hypophysitis*, *encephalitis*, *demyelinating polyneuropathy*, dan *encephalomyelitis* (Conry, *et al.*, 2015; McGranahan, *et al.*, 2017).

Beberapa laporan kasus menyimpulkan bahwa terapi anti PD-1 dapat efektif pada pasien dengan glioblastoma. Pertama, nivolumab dilaporkan berhasil mendapatkan hasil jangka panjang pada pasien dewasa dengan glioblastoma rekuren (Roth, *et al.*, 2017). Kedua, sebuah laporan kasus yang dipublikasi pada tahun 2016 melaporkan hasil yang impresif dan bertahan dalam jangka panjang dari respons nivolumab pada kasus rekuren glioblastoma pediatri (Bouffet, *et al.*, 2016). Laporan kasus yang lain juga menyatakan bahwa pasien dewasa dengan glioblastoma yang tersebar secara luas menunjukkan respons terhadap pemberian pembrolizumab (Johanns, *et al.*, 2016).

Hingga saat ini, dari studi-studi yang ditelaah oleh peneliti, *immune checkpoint inhibitor* menunjukkan efek yang terbatas pada kasus glioblastoma, dan gagal menunjukkan perbaikan angka bertahan hidup dari pasien. Oleh karena itu, masa depan imunoterapi harus berfokus pada aplikasi multi modalitas untuk mengaktivasi respons imun spesifik tumor baik lokal maupun sistemik pada kasus glioblastoma (Brahm, *et al.*, 2020).

7.3 KESIMPULAN

Hasil studi kami dari ketujuh literatur menunjukkan bahwa banyak agen kemoterapi yang sudah diuji pada uji klinis tahap 1, 2, maupun 3 untuk sebagai terapi ajuvan maupun neoajuvan pada glioblastoma, terutama pada kasus rekuren. Sebagian besar studi menunjukkan bahwa pemberian agen blokade PD-1, *immune checkpoint inhibitor* tersering yang menjadi target, sebagai ajuvan maupun neoajuvan, meningkatkan respons imun antitumor lokal dan sistemik dan mungkin merupakan pendekatan yang lebih efektif untuk pengobatan tumor otak yang mematenkan ini. Walaupun demikian, hasil uji sejauh ini masih belum memberikan gambaran yang jelas dan pasti tentang kemanfaatan dari *immune checkpoint inhibitor* sehingga diperlukan studi lebih lanjut pada agen *immune checkpoint inhibitor* mengenai kebermanfaatannya pada pasien GBM.

7.4 TINDAK LANJUT

Diperlukan studi lebih lanjut mengenai penggunaan *immune checkpoint inhibitor* sebagai bagian dari terapi pada kasus glioblastoma, terutama glioblastoma rekuren. Alternatif lainnya, efektivitas agen *immune checkpoint inhibitor* juga dapat dinilai dengan melakukan uji meta analisis pada studi-studi yang telah dilakukan sebelumnya.

REFERENSI

- Agarwalla, P., *et al.* 2012. Sequential Immunotherapy by vaccination with GM-CSF-expressing glioma cells and CTLA-4 blockade effectively treats established murine intracranial tumors. *Journal of Immunotherapy*, 35(5):385–389. doi: 10.1097/CJI.0b013e3182562d59.
- Bouffet, E., *et al.* 2016. Immune checkpoint inhibition for hypermutant glioblastoma multiforme resulting from germline biallelic mismatch repair deficiency. *Journal of Clinical Oncology*, 34(19):2206–2211. doi: 10.1200/JCO.2016.66.6552.
- Brahm, C.G., *et al.* 2020. The current status of immune checkpoint inhibitors in neuro-oncology: A systematic review. *Cancers*, 12(3):1–16. doi: 10.3390/cancers12030586.
- Carter, T., *et al.* 2016. Ipilimumab and Bevacizumab in Glioblastoma. *Clinical Oncology*, 28(10):622–626. doi: 10.1016/j.clon.2016.04.042.
- Chamberlain, M.C. and Kim, B.T. 2017. Nivolumab for patients with recurrent glioblastoma progressing on bevacizumab: a retrospective case series. *Journal of Neuro-Oncology*, 133(3):561–569. doi: 10.1007/s11060-017-2466-0.
- Cloughesy, T.F. *et al.* 2019. Neoadjuvant anti-PD-1 immunotherapy promotes a survival benefit with intratumoral and systemic immune responses in recurrent glioblastoma. *Nature Medicine*, 25(3):477–486. doi: 10.1038/s41591-018-0337-7.
- Conry, R.M., Sullivan, J.C. and Nabors, L.B. 2015. Ipilimumab-induced encephalopathy with a reversible splenic lesion. *Cancer Immunology Research*, 3(6):598–601. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0035.
- Desai, K., Hubben, A. and Ahluwalia, M. 2019. The role of checkpoint inhibitors in glioblastoma. *Targeted Oncology*, 14(4):375–394. doi: 10.1007/s11523-019-00655-3.
- Di Giacomo, A.M. *et al.* 2015. Three-year follow-up of advanced melanoma patients who received ipilimumab plus fotemustine in the Italian network for tumor biotherapy (NIBIT)-M1 phase II study. *Annals of Oncology*, 26(4):798–803. doi: 10.1093/annonc/mdu577.
- Herbst, R.S., *et al.* 2014. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*, 515(7528):563–567. doi: 10.1038/nature14011.
- Hodi, F.S., *et al.* 2010. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *New England Journal of Medicine*, 363(8):711–723. doi: 10.1056/NEJMoa1003466.

- Johanns, T.M., *et al.* 2016. Immunogenomics of hypermutated glioblastoma: A patient with germline POLE deficiency treated with checkpoint blockade immunotherapy. *Cancer Discovery*, 6(11):1230–1236. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-0575.
- Lim, M., *et al.* 2018. Current state of immunotherapy for glioblastoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 15(7):422–442. doi: 10.1038/s41571-018-0003-5.
- Lukas, R.V., *et al.* 2018. Clinical activity and safety of atezolizumab in patients with recurrent glioblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*, 140(2):317–328. doi: 10.1007/s11060-018-2955-9.
- Mantica, M., *et al.* 2018. Retrospective study of nivolumab for patients with recurrent high grade gliomas. *Journal of Neuro-Oncology*, 139(3):625–631. doi: 10.1007/s11060-018-2907-4.
- Margolin, K., *et al.* 2012. Ipilimumab in patients with melanoma and brain metastases: An open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*, 13(5):459–465. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70090-6.
- McGranahan, T., Li, G. and Nagpal, S. 2017. History and current state of immunotherapy in glioma and brain metastasis. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 9(5):347–368. doi: 10.1177/1758834017693750.
- Omuro, A., Vlahovic, G., Lim, M., Sahebjam, S., Baehring, J., Voloschin, A., *et al.* 2018. Nivolumab +- Ipilimumab En Glioblastoma. doi: 10.1093/neuonc/nox208/4587521.
- Omuro, A., Vlahovic, G., Lim, M., Sahebjam, S., Baehring, J., Cloughesy, T., *et al.* 2018. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase I cohorts of CheckMate 143. *Neuro-Oncology*, 20(5):674–686. doi: 10.1093/neuonc/nox208.
- Reardon, D.A., *et al.* 2017. OS10.3 randomized phase 3 study evaluating the efficacy and safety of nivolumab vs bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: CheckMate 143. *Neuro-Oncology*, 19(Suppl.3):iii21–iii21. doi: 10.1093/neuonc/nox036.071.
- Roth, P., Valavanis, A. and Weller, M. 2017. Long-term control and partial remission after initial pseudoprogression of glioblastoma by anti-PD-1 treatment with nivolumab. *Neuro-Oncology*, 19(3):454–456. doi: 10.1093/neuonc/now265.



8

Modalitas Immunoterapi Jenis *Chimeric Antigen Receptor* Sel T pada Glioblastoma

8.1 PENDAHULUAN

Glioblastoma (GBM), glioma derajat IV WHO, adalah tumor otak yang memiliki sifat paling merusak pada orang dewasa (Xie, *et al.*, 2014). Kemampuan intrinsik sel tumor tunggal untuk menginvasi jaringan otak normal menghambat eradikasi pada tindakan pembedahan, yang diperkirakan mengakibatkan kekambuhan lokal dini secara lebih cepat dan kematian. Pilihan pengobatan saat ini untuk GBM termasuk operasi pengangkatan maksimal, radioterapi, dan kemoterapi. Namun, tingkat kelangsungan hidup secara keseluruhan tidak berubah secara signifikan selama dekade terakhir (Xie, *et al.*, 2014).

Penerapan Transfer sel adoptif (ACT) menggunakan limfosit autologous untuk mengobati kanker dimulai pada tahun 1988 pada pasien melanoma metastatis. Sementara uji coba awal melaporkan respons keseluruhan pada sekitar 34% pasien (Rosenberg, *et al.*, 1994), penelitian

selanjutnya menunjukkan bahwa limfodepleksi sebelum ACT dapat secara signifikan meningkatkan tingkat respons sekitar 50% dari pasien (Dudley, *et al.*, 2002; Morgan, *et al.*, 2013). Selama periode yang sama, reseptor sel T (TCR) yang direkayasa secara genetika dieksplorasi untuk mencapai respons sel T yang adekuat yang pada akhirnya menyebabkan munculnya terapi sel T reseptor antigen chimeric (CAR) (Sadelain, 2015) (June *et al.*, 2018; Sadelain, 2015). Pada tahun 2017, CD19-CAR (tisagenlecleucel) menjadi terapi sel CAR-T pertama yang disetujui FDA untuk merawat pasien dengan leukemia limfoblastik akut (ALL) sel B yang kambuh atau refrakter (O'Leary, *et al.*, 2019).

Upaya pertama berbasis ACT untuk terapi GBM dimulai sekitar 40 tahun yang lalu ketika beberapa laporan kasus menunjukkan bahwa infus leukosit autologus ke dalam rongga reseksi pada saat reseksi tumor dapat meningkatkan kelangsungan hidup pasien tanpa toksisitas (Steinbok, *et al.*, 1984; Vaquero, *et al.*, 1989). Namun, pendekatan ini kurang spesifik. Untuk mengatasi hal ini, sel T rekayasa genetika telah dihasilkan untuk secara khusus menargetkan antigen terkait tumor otak (TAA) dan telah menunjukkan hasil praklinis yang menjanjikan. Untuk GBM, reseptor alfa 2 interleukin-13 (IL13R α 2) menjadi target sel-T CAR pertama yang diuji di klinik untuk ekspresi berlebih spesifik pada tumor, tetapi tidak pada jaringan normal (Miao, *et al.*, 2015). Reseptor faktor pertumbuhan epidermal varian III (EGFRvIII) (Morgan, *et al.*, 2012), faktor pertumbuhan epidermal 2 pada manusia (HER2) (Ahmed, *et al.*, 2010) dan karsinoma hepatoseluler penghasil eritropoin A2 (EphA2) (Miao, *et al.*, 2015) juga dikembangkan sebagai target utama untuk penekanan ekspresi berlebihan di GBM tetapi tidak di jaringan otak yang sehat. Target lain yang baru dikembangkan termasuk ganglioside 2 (GD2) (Golinelli, *et al.*, 2020; Mount *et al.*, 2018), B7-H3 (Majzner, *et al.*, 2019) dan chlorotoxin (D. Wang, *et al.*, 2020). Meskipun semua target ini telah menunjukkan hasil praklinis yang menjanjikan dan dievaluasi dalam uji klinis, kurangnya kemanjuran klinis menunjukkan bahwa modifikasi genetik dan kombinasi terapeutik diperlukan untuk mencapai respons yang lebih baik. Dalam ulasan ini, kami akan memperkenalkan struktur CAR dasar dan pengoptimalannya,

target utama yang ada dalam pengembangan praklinis dan klinis untuk menargetkan GBM, dan strategi kombinasi untuk meningkatkan efikasi sel-T CAR (D. Wang, *et al.*, 2020).

8.2 METODE, HASIL KAJIAN, DAN DISKUSI

Penelitian ini menggunakan metode studi literatur dengan rumus *searching (Chimeric antigen receptor T-Cell therapy in Glioblastoma) and (Effectivity)*. Adapun hasil riset yang ditemukan untuk dikaji dan ditelaah adalah:

Tabel 8.1 Studi Modalitas Imunoterapi Jenis Chimeric Antigen Receptor Sel T pada Glioblastoma

No	Peneliti	Penelitian
1	Abate-Daga, D. dan Davila, M. L. 2016	CAR models: Next-generation CAR modifications for enhanced T-cell function, <i>Molecular Therapy - Oncolytics</i>
2	Ahmed, N. 2010	HER2-specific T cells target primary glioblastoma stem cells and induce regression of autologous experimental tumors, <i>Clinical Cancer Research</i> , 16(2), pp. 474–485
3	Chmielewski, M. dan Abken, H. 2015	TRUCKs: The fourth generation of CARs, <i>Expert Opinion on Biological Therapy</i> , 15(8), pp. 1145–1154.
4	Cho, J. H., Collins, J. J. dan Wong, W. W. 2018	Universal Chimeric Antigen Receptors for Multiplexed and Logical Control of T Cell Responses, <i>Cell</i> , 173(6), pp. 1426-1438.e11.
5	Dudley, M. E. 2002	Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes, <i>Science</i> , 298(5594), pp. 850–854.
6	Garrido, F. 2016	The urgent need to recover MHC class I in cancers for effective immunotherapy, <i>Current Opinion in Immunology</i> , 39, pp. 44–51.
7	Golinelli, G. 2020	Targeting GD2-positive glioblastoma by chimeric antigen receptor empowered mesenchymal progenitors, <i>Cancer Gene Therapy</i> , 27(7–8), pp. 558–570.
8	Guedan, S. 2018	Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation', <i>JCI insight</i> , 3(1), pp. 1–17.
9	Han, X. 2019	Multi-antigen-targeted chimeric antigen receptor T cells for cancer therapy, <i>Journal of Hematology and Oncology</i> , 12(1), pp. 1–10

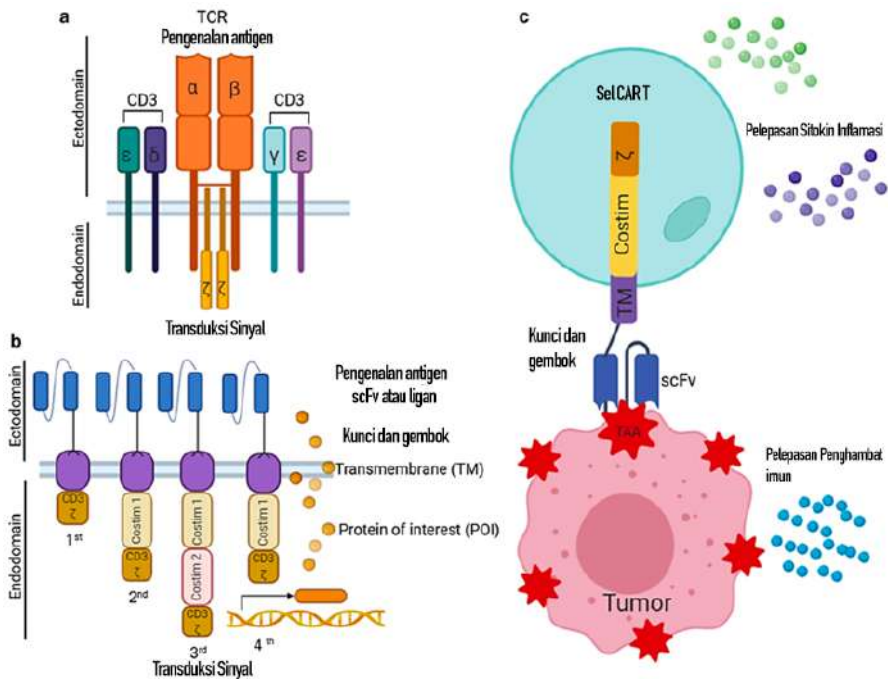
No	Peneliti	Penelitian
10	Hegde, M. 2013	Combinational Targeting offsets antigen escape and enhances effector functions of adoptively transferred T cells in glioblastoma, <i>Molecular Therapy</i> , 21(11), pp. 2087–2101
11	Hegde, M. 2016	Tandem CAR T cells targeting HER2 and IL13Ra2 mitigate tumor antigen escape, <i>Journal of Clinical Investigation</i> , 126(8), pp. 3036–3052
12	June, C. H. 2018	CAR T cell immunotherapy for human cancer, <i>Science</i> , 359(6382), pp. 1361–1365.

Desain dan Pengoptimalan CAR T

Sel T memainkan peran penting dalam respons imun yang dimediasi sel. Aktivasi sel T membutuhkan dua sinyal: (i) TCR mengenali dan mengikat peptida antigen yang disajikan pada *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yang kontak dengan permukaan sel penyaji antigen atau sel tumor, serta (ii) sel T co-pensinyalan stimulasi modul, seperti CD28, 4-1BB, dan OX40 yang mengikat ke ligan yang diekspresikan pada sel penyaji antigen. Telah diterima dengan baik bahwa sel T memainkan peran penting dalam pengawasan kekebalan, suatu fungsi untuk mendeteksi dan menghilangkan sel tumor dari inang. Dibandingkan dengan TCR, CAR adalah molekul sintesis yang dirancang untuk mengekspresikan domain pengenalan antigen yang biasanya berupa fragmen variabel rantai tunggal (scFv) atau ligan yang spesifik untuk satu TAA (Gross, *et al.*, 1989). Ectodomain ini dihubungkan melalui engsel dan *spacer* ke domain transmembran dan domain pensinyalan intraseluler. Endodomain CAR terdiri atas domain aktivasi CD3 ζ (CAR generasi pertama) dan satu atau dua domain *co-stimulatory* seperti CD28, 4-1BB, atau OX40 (CAR generasi ke-2 atau ke-3). Sementara sel CAR T generasi pertama memiliki umur panjang yang terbatas dan kemanjuran membunuh tumor secara *in vivo*, sel CAR T generasi kedua dan ketiga menunjukkan peningkatan fungsi proliferasi dan efektor (Abate-Daga & Davila, 2016). Generasi ke-4 CAR selanjutnya menyusun modifikasi genetik tambahan yang memungkinkan pelepasan protein transgenik yang diinginkan (POI), seperti sitokin untuk

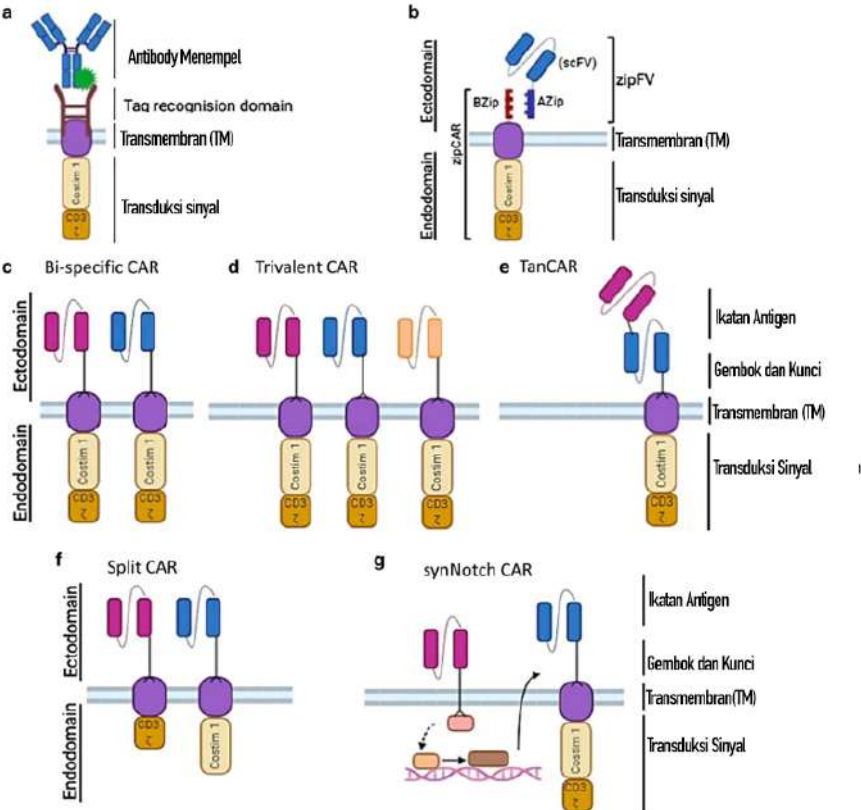
meningkatkan ekspansi dan kelangsungan hidup sel CAR T (Chmielewski & Abken, 2015).

Yang paling penting, dengan desain ini, sel CAR T dapat diarahkan kembali ke target sel tumor tertentu melalui aktivitas pembunuhan multifungsi yang dimediasi sel T tidak tergantung pada tingkat ekspresi MHC. Hilangnya ekspresi MHC kelas I dalam sel tumor adalah mekanisme umum yang menyebabkan keluarnya tumor dan resistansi terhadap imunitas sel T (Garrido, *et al.*, 2016). Fakta bahwa sel CAR T dapat mengenali dan mengikat TAA yang tidak terbatas pada ekspresi MHC kelas I membuat terapi sel CAR T menjadi pendekatan yang menarik untuk terapi antikanker.



Gambar 8.1 Prinsip Dasar dari Struktur CAR dan Sel CART Terapi. Dikutip dengan modifikasi dari: *Chimeric antigen receptor T-cell therapy in glioblastoma: charging the T cells to fight* (Land, *et al.*, 2020)

Sel CAR menunjukkan aktivitas antitumor yang menjanjikan melawan tumor padat dan otak, namun, pembuatan CAR yang menargetkan antigen tumor baru cukup rumit dan sangat memakan waktu. Sudah sangat diketahui bahwa setiap domain pengenalan antigen baru harus diuji dengan beberapa domain ko-stimulasi. Bahkan jika ditentukan dan dikarakterisasi dengan baik, domain pensinyalan mungkin tidak berfungsi penuh saat menguji dengan domain pengenalan antigen baru. Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa domain engsel dan transmembran juga memengaruhi fungsi sel CAR T spesifik antigen



Gambar 8.2 Desain CAR Optimal untuk Terapi GBM. Dikutip dengan modifikasi dari: *Chimeric antigen receptor T-cell therapy in glioblastoma: charging the T cells to fight* (Land, et al., 2020)

(Guedan, *et al.*, 2018; Morin, *et al.*, 2015). Salah satu cara untuk mengatasi tantangan tersebut adalah dengan membuat CAR universal (uCAR). Memang, beberapa kelompok telah melaporkan pembentukan uCAR. Dengan rekayasa vektor CAR untuk mengekspresikan domain pengenalan antigen yang spesifik untuk *fluorescein isothiocyanate* (FITC), Tamada, *et al.* (2012) telah melaporkan anti-FITC uCAR yang selanjutnya mengikat antibodi monoklonal bertanda FITC khusus untuk HER2, atau CD20. Yang terpenting, aktivitas anti-FITC uCAR dapat dilemahkan dengan injeksi tambahan FITC-IgG, sehingga menyediakan sakelar pengaman ketika risiko toksisitas meningkat. Studi mereka menunjukkan bahwa anti-tag CAR dapat menimbulkan aktivitas antitumor yang kuat secara *in vitro* dan *in vivo*. Namun, tidak jelas apakah desain seperti itu memengaruhi fungsi efektor sel T CAR jika dibandingkan dengan desain CAR konvensional (Tamada, *et al.*, 2012).

Studi uCAR lainnya oleh Cho, *et al.* (2018) melaporkan sistem CAR terpisah, universal dan dapat diprogram (SUPRA). Ini adalah sistem dua komponen: satu komponen adalah zipFv yang berisi scFv spesifik TAA yang dihubungkan ke leusin zipper (AZip); komponen lainnya adalah sel CAR T yang berisi ritsleting leusin ekstraseluler (BZip) ditambah domain transmembran dan domain pensinyalan intraseluler (zipCAR). Setelah domain scFv dari zipFv mengenali dan mengikat TAA spesifik pada sel tumor, BZip pada sel T zipCAR dapat mengikat ritsleting leusin AZip dari zipFv, yang mengarah ke aktivasi dan pensinyalan sel T CAR yang berfungsi penuh. Mirip dengan anti-FITC uCAR, aktivitas zipCAR dapat dilemahkan dengan injeksi peptida AZip. Dengan desain ini, penulis menghasilkan SUPRA CAR khusus untuk HER2 yang menunjukkan aktivitas membunuh tumor yang kuat dalam pengaturan tumor padat. Selain itu, mereka selanjutnya memodifikasi sistem ini untuk menargetkan banyak antigen.

Sementara kedua kelompok mendemonstrasikan sistem uCAR mereka untuk menargetkan HER2 secara eksperimental, studi khusus tumor otak diperlukan untuk mengevaluasi apakah uCAR layak untuk penggunaan klinis, mengingat lingkungan mikro tumor otak yang sangat

kompleks dan merusak. Selain itu, aktivitas biologis uCAR memerlukan kompleks stabil yang dibentuk oleh tiga komponen, bukan dua dalam CAR tradisional, meningkatkan kekhawatiran tentang stabilitas dan aktivitas fungsional saat diuji secara *in vivo*. Akhirnya, penelitian masa depan harus mengevaluasi dengan hati-hati keamanan uCAR karena kedua sistem mengandung molekul imunogenik seperti FITC dan leusin ritsleting.

CAR T yang Menargetkan Beberapa Antigen

Meskipun peningkatan jumlah target yang diuji dalam uji klinis, sel CAR T telah gagal untuk sepenuhnya memberantas tumor otak. Batasan utama dari terapi sel-T CAR T target antigen tunggal untuk GBM adalah heterogenitas dan plastisitas yang melekat pada sel tumor, yang memungkinkan beberapa sel melarikan diri dari pembunuhan sel CAR T karena hilangnya antigen yang ditargetkan. Akibatnya, sel CAR T yang menargetkan antigen gagal untuk sepenuhnya memberantas tumor otak yang mengakibatkan kekambuhan antigen-negatif seperti yang ditunjukkan oleh studi pra-klinis dan klinis (X. Han, *et al.*, 2019). Kekambuhan tersebut mendorong peneliti untuk merancang strategi dan merancang CAR yang dapat menargetkan beberapa TAA, termasuk CAR bi-spesifik, trivalen, tandem, split, dan synNotch. Di antara mereka, tiga strategi pertama telah dieksplorasi untuk menargetkan tumor otak.

Sel T CAR bi-spesifik dihasilkan oleh transduksi ganda dari dua CAR yang diarahkan terhadap dua TAA otak yang berbeda (ekspresi bersama) atau dengan menggabungkan dua populasi sel CAR T yang berbeda (sel CAR T yang dikumpulkan). Hedge, *et al.* (2013) menghasilkan sel T dengan (i) secara individual mengekspresikan CAR spesifik HER2 dan IL13Ra2; atau (ii) mengekspresikan kedua CAR, satu menargetkan setiap antigen. Mereka mengungkapkan bahwa kedua pendekatan tersebut memperoleh respons anti-tumor yang memadai, yang paling penting mencegah pelepasan antigen di GBM *in vitro* dan *in vivo*. Selain itu, sel T yang bersama-sama mengekspresikan HER2- dan IL13Ra2-CARs menunjukkan respons anti-tumor yang lebih baik bila dibandingkan dengan sel T yang

secara individual mengekspresikan kedua CAR. Kelompok yang sama mengambil langkah lebih jauh dan merancang struktur CAR trivalen yang mengkode tiga molekul CAR penuh dalam satu konstruksi. Jadi, transduksi tunggal memungkinkan mereka untuk mengekspresikan tiga CAR yang berbeda dan terpisah secara bersamaan dalam satu sel T. Dalam studi mereka, menggunakan metode ini, Hegde, *et al.*, (2016) melaporkan sistem sel CAR T trivalen untuk penargetan bersama HER2, IL13R α 2, dan EphA2; terapi sel-T CAR trivalen menghasilkan kelangsungan hidup *in vivo* yang secara signifikan lebih baik jika dibandingkan dengan sel CAR T ganda dan tunggal ketika diuji pada model xenograft yang diturunkan dari pasien.

Pendekatan penargetan multi-antigen lainnya, juga dibuat oleh kelompok yang sama, adalah CAR tandem (TanCAR). Di sini, CAR terdiri atas beberapa scFv yang ditempatkan secara tandem diikuti oleh domain engsel, transmembran, dan pensinyalan. Hedge, *et al.*, (2016) melaporkan pengembangan TanCAR yang dirancang untuk menargetkan HER2 dan IL13R α 2 terhadap GBM. Para penulis menunjukkan bahwa sel T TanCAR memiliki efek sinergis dalam menghilangkan sel glioma jika dibandingkan dengan sel CAR T yang secara individual menargetkan antigen IL13R α 2 atau HER2. Selain itu, pengikatan simultan ke kedua antigen dalam sistem TanCAR telah menunjukkan respons sitokin yang jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan yang dari pengikatan ke satu antigen saja.

CAR bi-spesifik, trivalen, dan tandem semuanya dikenal sebagai CAR «OR-gate», karena pengikatan salah satu CAR ke antigennya sudah cukup untuk mendorong aktivasi sel T penuh. Namun, menargetkan beberapa antigen dapat meningkatkan masalah keamanan terutama saat menerapi tumor padat. Lebih khusus lagi, banyak antigen yang menjadi target sel CAR T juga diekspresikan dalam sel normal pada tingkat yang rendah, meningkatkan risiko toksisitas di luar tumor sesuai target. Untuk mengatasi masalah tersebut, CAR split, juga dikenal sebagai CAR “gate-AND” dirancang. Dengan pendekatan ini, sel T direkayasa untuk mengekspresikan dua CAR berbeda, satu berisi sinyal CD3 ζ dan yang lainnya berisi sinyal ko-stimulasi. Pengenalan antigen tunggal

dalam sel normal tidak akan cukup untuk mengaktifkan sel CAR T ini, namun hanya jika terikat pada kedua antigen, yang diekspresikan secara berlebihan dalam sel tumor, sel T akan diaktifkan sepenuhnya. Meskipun tidak dilaporkan di GBM, Lanitis, *et al.* (2013) menghasilkan sel CAR T yang ikut mengekspresikan *anti- α -folate receptor (FR α) scFv-CD28 CARs* dan *anti-mesothelin scFv-CD3 ζ* . Sel T CAR gerbang-AND ini menunjukkan sekresi sitokin yang lemah terhadap sel target yang hanya mengekspresikan satu antigen secara *in vitro*. Saat diuji *in vivo*, sel T mesothelin/FR α -CAR menunjukkan kemanjuran yang kuat melawan tumor yang mengekspresikan FR α dan mesothelin secara berlebihan, tetapi tidak pada jaringan normal yang mengekspresikan mesothelin saja.

CAR synNotch adalah CAR “gate-AND” (Roybal, *et al.*, 2016). Protein Takik adalah reseptor transmembran dengan domain intraseluler yang mengandung regulator transkripsi yang dilepaskan dari membran saat diaktifkan oleh ligannya. Dengan mekanisme ini, reseptor Notch sintesis (synNotch) dirancang untuk mengikat antigen pertama untuk aktivasi sistem synNotch, yang kemudian mengaktifkan transkripsi CAR (synNotch CAR) untuk mengenali dan mengikat antigen kedua pada sel kanker. Jadi, ekspresi berlebih dari kedua antigen diperlukan untuk memberikan sinyal yang dibutuhkan untuk pembunuhan dan aktivasi sel T CAR. Sementara sistem ini telah menunjukkan fungsi *in vitro* dan *in vivo* model hewan (Morsut, *et al.*, 2016), aplikasi untuk tumor otak serta dalam uji klinis belum ditetapkan.

8.3 KESIMPULAN

Tumor otak dianggap sebagai salah satu tumor padat yang «paling sulit diobati». Dengan kemajuan terbaru dalam imunoterapi, terapi sel T CAR telah menjadi pendekatan revolusioner untuk mengobati keganasan hematologi dan memiliki potensi besar untuk tumor otak. Ulasan ini bermaksud untuk memperkenalkan interpretasi dari makalah yang paling relevan yang membahas penggunaan sel CAR T untuk pengobatan GBM,

membahas desain dan optimasi CAR, target sel CAR T utama dalam uji klinis, serta strategi yang dikembangkan untuk meningkatkan efikasi sel CAR-T dalam konteks GBM.

8.4 TINDAK LANJUT

Melaksanakan penelitian berupa studi efektivitas peran Chimeric Antigen Receptor Sel T pada tata laksana glioblastoma yang telah dilakukan oleh penulis dan tim, maupun yang dilakukan oleh tim riset lain, sehingga dapat menjawab pertanyaan berikut “Bagaimana efektivitas peran Chimeric Antigen Receptor Sel T pada tata laksana glioblastoma.

REFERENSI

- Abate-Daga, D. and Davila, M.L. 2016. CAR models: Next-generation CAR modifications for enhanced T-cell function. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 3(April):16014. doi: 10.1038/mto.2016.14.
- Ahmed, N., *et al.* 2010. HER2-specific T cells target primary glioblastoma stem cells and induce regression of autologous experimental tumors. *Clinical Cancer Research*, 16(2):474–485. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1322.
- Chmielewski, M. and Abken, H. 2015. TRUCKs: The fourth generation of CARs. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 15(8):1145–1154. doi: 10.1517/14712598.2015.1046430.
- Cho, J.H., Collins, J.J. and Wong, W.W. 2018. Universal Chimeric Antigen Receptors for Multiplexed and Logical Control of T Cell Responses. *Cell*, 173(6):1426–1438.e11. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.038.
- Dudley, M.E., *et al.* 2002. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science*, 298(5594):850–854. doi: 10.1126/science.1076514.
- Garrido, F., *et al.* 2016. The urgent need to recover MHC class I in cancers for effective immunotherapy. *Current Opinion in Immunology*, 39:44–51. doi: 10.1016/j.coi.2015.12.007.
- Golinelli, G., *et al.* 2020. Targeting GD2-positive glioblastoma by chimeric antigen receptor empowered mesenchymal progenitors. *Cancer Gene Therapy*, 27(7–8):558–570. doi: 10.1038/s41417-018-0062-x.

- Gross, G., Waks, T. and Eshhar, Z. 1989. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(24):10024–10028. doi: 10.1073/pnas.86.24.10024.
- Guedan, S., *et al.* 2018. Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation. *JCI insight*, 3(1):1–17. doi: 10.1172/jci.insight.96976.
- Han, X., *et al.* 2019. Multi-antigen-targeted chimeric antigen receptor T cells for cancer therapy. *Journal of Hematology and Oncology*, 12(1):1–10. doi: 10.1186/s13045-019-0813-7.
- Hegde, M., *et al.* 2013. Combinational Targeting offsets antigen escape and enhances effector functions of adoptively transferred T cells in glioblastoma. *Molecular Therapy*, 21(11):2087–2101. doi: 10.1038/mt.2013.185.
- Hegde, M., *et al.* 2016. Tandem CAR T cells targeting HER2 and IL13R α 2 mitigate tumor antigen escape. *Journal of Clinical Investigation*, 126(8):3036–3052. doi: 10.1172/JCI83416.
- June, C.H., *et al.* 2018. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*, 359(6382):1361–1365. doi: 10.1126/science.aar6711.
- Land, C.A., *et al.* 2020. Chimeric antigen receptor T-cell therapy in glioblastoma: charging the T cells to fight. *Journal of Translational Medicine*, 18(1):1–13. doi: 10.1186/s12967-020-02598-0.
- Lanitis, E., *et al.* 2013. Chimeric antigen receptor T Cells with dissociated signaling domains exhibit focused antitumor activity with reduced potential for toxicity in vivo. *Cancer immunology research*, 1(1):43–53. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0008.
- Majzner, R.G., *et al.* 2019. CAR T cells targeting B7-H3, a pan-cancer antigen, demonstrate potent preclinical activity against pediatric solid tumors and brain tumors. *Clinical Cancer Research*, 25(8):2560–2574. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0432.
- Miao, H., *et al.* 2015. EphA2 promotes infiltrative invasion of glioma stem cells in vivo through cross-talk with Akt and regulates stem cell properties. *Oncogene*, 34(5): 558–567. doi: 10.1038/onc.2013.590.
- Morgan, R.A., *et al.* 2012. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma. *Human gene therapy*, 23(10):1043–1053. doi: 10.1089/hum.2012.041.
- Morgan, R.A., *et al.* 2013. Cancer regression and neurological toxicity following anti- MAGE-A3 TCR gene therapy. *Journal of Immunotherapy*, 36(2):133–151. doi: 10.1097/CJI.0b013e3182829903.

- Morin, S.O., *et al.* 2015. In the absence of its cytosolic domain, the CD28 molecule still contributes to T cell activation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(14): 2739–2748. doi: 10.1007/s00018-015-1873-7.
- Morsut, L., *et al.* 2016. Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors. *Cell*, 164(4):780–791. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.012.
- Mount, C.W., *et al.* 2018. Potent antitumor efficacy of anti-GD2 CAR T cells in H3-K27M+ diffuse midline gliomas letter. *Nature Medicine*, 24(5):572–579. doi: 10.1038/s41591-018-0006-x.
- O’Leary, M.C., *et al.* 2019. FDA Approval summary: Tisagenlecleucel for treatment of patients with relapsed or refractory b-cell precursor acute lymphoblastic leukemia’, *Clinical Cancer Research*, 25(4):1142–1146. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2035.
- Rosenberg, S.A., *et al.* 1994. Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin 2. *Journal of the National Cancer Institute*, 86(15):1159–1166. doi: 10.1093/jnci/86.15.1159.
- Roybal, K.T., *et al.* 2016. Precision Tumor Recognition by T Cells with Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. *Cell*, 164(4):770–779. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.011.
- Sadelain, M. 2015. CAR therapy: The CD19 paradigm. *Journal of Clinical Investigation*, 125(9):3392–3400. doi: 10.1172/JCI80010.
- Steinbok, P. *et al.* 1984. Intratumoral autologous mononuclear cells in the treatment of recurrent glioblastoma multiforme - A phase I (toxicity) study. *Journal of Neuro-Oncology*, 2(2):147–151. doi: 10.1007/BF00177901.
- Tamada, K., *et al.* 2012. Redirecting gene-modified T cells toward various cancer types using tagged antibodies’, *Clinical Cancer Research*, 18(23):6436–6445. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1449.
- Vaquero, J., *et al.* 1989. Intratumoural injection of autologous lymphocytes plus human lymphoblastoid interferon for the treatment of glioblastoma. *Acta Neurochirurgica*, 98(1–2):35–41. doi: 10.1007/BF01407174.
- Wang, D., *et al.* 2020. Chlorotoxin-directed CAR T cells for specific and effective targeting of glioblastoma. *Science Translational Medicine*, 12(533). doi: 10.1126/scitranslmed.aaw2672.
- Xie, Q., Mittal, S. and Berens, M.E. 2014. Targeting adaptive glioblastoma: An overview of proliferation and invasion. *Neuro-Oncology*, 16(12):1575–1584. doi: 10.1093/neuonc/nou147.



9

Aplikasi Klinis Imunoterapi pada Glioblastoma di Masa Depan

Hingga saat ini, modalitas imunoterapi masih dalam tahap penelitian. Sebagian jenis imunoterapi telah memasuki uji klinis fase III, namun belum ada yang memasuki tahap uji klinis fase IV. Penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih besar untuk melihat efektivitas imunoterapi pada GBM dan efek samping yang dapat timbul akibat imunoterapi perlu dilakukan.

Terapi kombinasi saat ini sedang dikembangkan untuk memperluas target yang bisa dicapai oleh imunoterapi, salah satunya dapat mengubah glioblastoma menjadi *hot tumor*. Permasalahan yang ada saat ini adalah banyaknya jenis imunoterapi yang masih dalam fase uji klinis yang berbeda-beda, sehingga sulit dilakukan uji klinis dari terapi kombinasi dengan sampel yang besar.

Aktivasi dari sistem imun merupakan salah satu pendekatan yang berpotensi dikembangkan untuk mengatasi immunosupresi. Limfosit merupakan bagian yang penting dalam respons imun antitumor,

meskipun makrofag, sel NK, dan sel supresor (seperti *myeloid-derived suppressor cell* (MDSCs dan sel T reg) dapat menjadi target imunoterapi untuk mencetuskan imunitas antitumor.

Data preklinik menunjukkan bahwa modalitas terapi lokal lainnya dapat bersinergi dengan imunoterapi. Penggunaan terapi lokal dapat meningkatkan availabilitas dari antigen tumor dan imunoterapi. Hal tersebut dapat menjadi dasar dilakukannya kombinasi terapi. Kombinasi terapi yang mungkin dilakukan yaitu kombinasi antara imunoterapi dengan SRS, atau dengan kemoterapi lokal, terapi virus onkolitik, dan ablasi laser.

Beberapa peneliti sedang mengobservasi peran dari terapi ablasi seperti ablasi laser dan kombinasinya dengan *immune-checkpoint inhibitors*. Pada modalitas ablasi laser, kateter dimasukkan ke dalam tumor secara stereotaktik, kemudian tumor tersebut dipanaskan pada suhu tertentu yang menyebabkan kematian sel tumor, dengan tetap meminimalisasi kerusakan jaringan non-malignan sekitar. Keamanan dan efektivitas *MRI-guided laser ablation* pada glioblastoma rekuren masih dalam tahap evaluasi pada uji klinis fase I/II.

Pendekatan kemoterapi dan kaitannya dengan imunoterapi perlu dievaluasi ulang. Efek immunosupresi yang berhubungan dengan temozolomide juga dapat meningkatkan risiko infeksi pada pasien. Beberapa hasil penelitian telah mengevaluasi efek kemoterapi terhadap respons antitumor pada GBM. Contohnya, studi preklinik pada tikus menyebutkan bahwa penggunaan kemoterapi dosis tinggi dapat menurunkan respons imun antitumor yang ditimbulkan oleh antibodi anti-PD-1. Selain itu, efek immunosupresif dari kemoterapi berlangsung cukup lama pada tikus. Oleh sebab itu, efek imunoterapi yang menggunakan kemoterapi dan imunoterapi secara bersamaan belum optimal. Namun penggunaan lokal kemoterapi dan imunoterapi dilaporkan dapat memberikan efek sinergi. Mekanisme ini diperkirakan dapat terjadi akibat peningkatan antigen tumor setelah lokal kemoterapi tanpa adanya immunosupresi sistemik sehingga menyebabkan terbentuknya *augmented antigen presentation*.

IMPLIKASI KLINIS PENGGUNAAN IMUNOTERAPI
PADA KASUS GLIOBLASTOMA



Airlangga
University
Press

