

# PERANAN CYCLIN D1 DAN VEGF TERHADAP RESPONS RADIOTERAPI PADA KARSINOMA NASOFARING TIDAK BERDIFERENSIASI STADIUM LANJUT

Ade Apon Nurhidayat, Afiati, Hermin Aminah Usman, Bethy Suryawathy Hernowo

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran/RSUP Hasan Sadikin,  
Bandung, Indonesia

## ABSTRACT

**Background:** *Nasopharyngeal carcinoma has a high incidence and mortality rate in Southeast Asia and Indonesia. Radioresistance is a major obstacle to successful treatment of nasopharyngeal carcinoma. DNA repair in the cell cycle and angiogenesis factors affects the response of tumor cells to radiotherapy. Cyclin D1 that functions in the cell cycle process and VEGF as an angiogenesis factor are considered to play a role in the occurrence of radioresistance. The objective of this study is to find the association between immunoexpression of Cyclin D1 and VEGF with radiotherapy response in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma.*

**Methods:** *This study used a retrospective case control analysis design, secondary data from medical records of patients diagnosed as undifferentiated nasopharyngeal carcinoma who received complete radiotherapy at the Radiation Oncology Department Dr Hasan Sadikin Bandung were taken. There were 44 samples divided into radiosensitive (22 samples) and radioresistant (22 samples) groups. Immunohistochemical examination of Cyclin D1 and VEGF was performed on paraffin blocks of patients' nasopharyngeal biopsy. Data analysis using Chi-Square test with  $p \leq 0.05$  and OR 95% CI.*

**Results:** *Cyclin D1 expressed strongly in 86.4% of the radioresistant group and 59.1% in the radiosensitive group ( $p < 0.05$ ) and the OR 4,385 (0.993-19.356), VEGF was strongly expressed in 77.3% of the radioresistant group and 54.5% in the radiosensitive group ( $p > 0.05$ ).*

**Conclusion:** *There were significant association between Cyclin D1 with radiotherapy response in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. The stronger immunoexpression of Cyclin D1, the higher likelihood of radioresistancy. VEGF immunoexpression showed no significant association with radiotherapy response.*

**Key words:** *cyclin d1, nasopharyngeal carcinoma, radiotherapy, VEGF*

## ABSTRAK

### Latar Belakang

Karsinoma nasofaring merupakan keganasan yang memiliki angka insidensi dan mortalitas yang tinggi di Asia Tenggara dan Indonesia. Radioresistensi menjadi hambatan utama dalam keberhasilan penanganan karsinoma nasofaring. Perbaikan DNA dalam siklus sel dan faktor angiogenesis mempengaruhi respons sel tumor terhadap radioterapi. Cyclin D1 yang berfungsi dalam proses siklus sel dan VEGF sebagai faktor angiogenesis dianggap berperan dalam terjadinya radioresistensi. Penelitian ini bertujuan mencari hubungan antara imunoekspresi Cyclin D1 dan VEGF dengan respons radioterapi pada karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi.

### Metode

Penelitian ini menggunakan desain analisis *retrospective case control* menggunakan data sekunder dari rekam medis pasien yang didiagnosis sebagai karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi yang mendapat radioterapi lengkap di Departemen Radiasi Onkologi RSUP Dr Hasan Sadikin Bandung. Terdapat 44 sampel yang dibagi menjadi kelompok radiosensitif (22 sampel) dan radioresisten (22 sampel) berdasarkan respons radioterapi. Deteksi ekspresi Cyclin D1 dan VEGF dilakukan dengan pemeriksaan imunohistokimia pada blok paraffin sediaan biopsi nasofaring pasien tersebut. Analisis data menggunakan uji Chi-Square dengan nilai  $p \leq 0.05$  dan Odds Rasio CI 95%.

### Hasil

Cyclin D1 terekspresi kuat 86.4% pada kelompok radioresisten dan 59.1% pada kelompok radiosensitive ( $p < 0.05$ ) dan Odds Rasio 4.385 (0.993-19.356) sedangkan VEGF terekspresi kuat 77.3% pada kelompok radioresisten dan 54.5% pada kelompok radiosensitive ( $p > 0.05$ ).

### Kesimpulan

Terdapat hubungan secara signifikan antara Cyclin D1 dengan respons radioterapi pada karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi. Semakin kuat imunoekspresi Cyclin D1 maka semakin tinggi kemungkinan terjadinya radioresistensi. Imunoekspresi VEGF tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan respons radioterapi.

**Kata kunci** : cyclin d1, karsinoma nasofaring, radioterapi, VEGF

## PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan keganasan yang berasal dari epitel nasofaring. Keganasan ini memiliki angka kejadian yang tinggi di daerah Asia Timur dan Tenggara.<sup>1</sup> Berdasarkan GLOBOCAN 2012, secara global terdapat 87.000 kasus baru muncul setiap tahunnya.<sup>2</sup> Di Indonesia, KNF merupakan salah satu jenis keganasan yang sering ditemukan, berada pada urutan ke-4 kanker terbanyak setelah kanker payudara, kanker leher rahim, dan

kanker paru, serta merupakan keganasan yang paling sering di daerah kepala dan leher. Insidensi KNF di Indonesia sekitar 6.2 per 100.000 penduduk per tahun dengan 13.000 kasus baru per tahun. Karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi merupakan subtipe yang paling banyak ditemukan sekitar 90%-95% di daerah endemik seperti di Asia termasuk di Indonesia.<sup>3</sup>

Radioterapi menjadi pilihan utama pengobatan KNF tidak berdiferensiasi

karena sensitivitasnya yang baik terhadap radioterapi dan letak anatomi nasofaring yang sulit untuk dilakukan pembedahan.<sup>4</sup> Radioterapi merupakan pengobatan terpilih yang telah diakui sejak lama dan dilakukan di berbagai sentra dunia. Hasil radioterapi untuk stadium dini sebenarnya cukup baik, respons lengkap sekitar 80%-100%, namun untuk stadium lanjut, respons radioterapi menurun tajam dengan angka kesintasan hidup 5 tahun yang kurang dari 40% karena meningkatnya kejadian radioresistensi.<sup>5, 6</sup>

Kejadian radioresistensi merupakan proses yang bertingkat (*multistage*) dengan melibatkan banyak gen. Fraksi gen yang berperan dalam kontrol siklus sel, apoptosis/antiapoptosis dan perbaikan DNA dipercaya memiliki peranan penting dalam kerusakan DNA yang disebabkan oleh radiasi, tetapi mekanisme terjadinya radioresistensi pada tingkat molekuler belum diketahui secara pasti.<sup>7, 8</sup> Kerusakan DNA yang disebabkan oleh radiasi berhubungan dengan regulasi pada siklus sel.<sup>9</sup>

Cyclin D1 merupakan tipe cyclin yang paling berhubungan dengan gen yang terlibat dalam siklus sel. Cyclin D1 merupakan protein inti yang berikatan dengan CDK4/CDK6 membentuk kompleks cyclin D1-CDK4/6, yang terlibat dalam proses fosforilasi protein retinoblastoma (pRb) pada fase G1 dan S siklus sel dan berperan penting dalam membantu perbaikan DNA sel.<sup>10, 11</sup>

Radioresistensi sel tumor juga berhubungan dengan proses angiogenesis. Pertumbuhan tumor yang cepat dapat menyebabkan terjadinya hipoksia sehingga

sel tumor mengaktifkan mekanisme *survival* yaitu dengan mengaktifkan *vascular endothelial growth factor* (VEGF), yang menyebabkan peningkatan proliferasi pembuluh darah dan angiogenesis. Pembuluh-pembuluh darah baru yang terbentuk memfasilitasi penyediaan oksigen dan nutrisi untuk sel-sel tumor. Keadaan ini dapat menyebabkan terjadinya radioresistensi pada sel-sel tumor. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) merupakan protein angiogenik yang berperan dalam pertumbuhan sel-sel endotel dan pembuluh darah tumor.<sup>12, 13</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari hubungan imunoekspresi Cyclin D1 dan VEGF dengan respons radioterapi pada karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi.

## METODE PENELITIAN

### Sampel

Sampel penelitian ini menggunakan data sekunder dari rekam medis pasien yang didiagnosis sebagai karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi stadium IV yang mendapat radioterapi lengkap di Departemen Radiasi Onkologi RSUP Dr Hasan Sadikin Bandung periode 2012-2016. Terdapat 44 sampel yang memenuhi syarat kriteria inklusi yang kemudian dibagi menjadi kelompok radiosensitif dan radioresisten berdasar atas respons radioterapi menurut kesepakatan *Response Evaluation Criteria in Solid Tumours* (RECIST). Menurut kriteria RECIST respons radioterapi terbagi menjadi respons komplit, parsial, stabil, dan progresif. Respons komplit dimasukkan ke dalam kelompok radiosensitif, sedangkan

respons parsial, stabil dan progresif dimasukkan ke dalam kelompok radioresisten.<sup>14</sup> Kelompok radiosensitif sebanyak 22 sampel dan kelompok radioresisten sebanyak 22 sampel. Pemeriksaan imunohistokimia Cyclin D1 dan VEGF dilakukan pada blok paraffin sediaan biopsi nasofaring pasien dari 2 kelompok tersebut. Sediaan blok paraffin tersedia dari rekam medis Departemen Patologi RSUP Hasan Sadikin Bandung, Indonesia.

#### Imunohistokimia (IHK)

Prosedur standar pewarnaan IHK menggunakan antibodi Cyclin D1 (Clone SP4, Biocare, USA) dan antibodi VEGF (Clone EP117Y, Biocare, USA). Intensitas imunoekspresi Cyclin D1 dan VEGF dinilai dengan skala 0-3 (0, tidak berwarna; 1+, berwarna lemah; 2+, berwarna sedang; 3+, berwarna kuat) dan distribusi dinilai dengan skala 0-4 (0, negatif; 1+, <20%; 2+, 20-50%; 3+, 50-80%; 4+, >80%). Penilaian imunoekspresi Cyclin D1 dan VEGF ditentukan berdasar atas jumlah perkalian

intensitas dan distribusi dengan total histoskor lemah 0-4 dan kuat dengan histoskor 6-12.<sup>10, 15</sup> Hasil pulasan imunohistokimia diperiksa oleh 2 orang spesialis patologi anatomi menggunakan mikroskop cahaya jenis Olympus BX53.

#### Analisis Statistik

Data penelitian dianalisis menggunakan uji Chi Square SPSS 22.0 untuk *windows*. Hasil signifikan berdasar atas perhitungan statistik bila didapatkan nilai  $p \leq 0.05$ .

#### HASIL PENELITIAN

Distribusi karakteristik subjek penelitian terdiri dari usia, jenis kelamin, stadium berdasarkan respons radioterapi dapat dilihat pada tabel 1. Pada kelompok usia didapatkan kasus terbanyak pada rentang usia 40-60 tahun sebanyak 24 kasus (55%). Berdasar atas jenis kelamin, pria lebih banyak daripada wanita yaitu sebanyak 32 kasus (73%). Stadium yang terbanyak adalah stadium IVB sebanyak 27 kasus (61.4%) dan stadium IV dengan metastasis ke kelenjar getah bening sebanyak 36 kasus (82%).

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian berdasarkan respons radioterapi

Variabel	Kelompok respons radioterapi	
	Sensitif N=22	Resisten N=22
Usia		
<40 tahun	6(27.3%)	7(31.8%)
40-60 tahun	11(50.0%)	13(59.1%)
>60 tahun	5(22.7%)	2(9.1%)
Jenis Kelamin		
Laki-laki	14(63.6%)	18(81.8%)
Perempuan	8(36.4%)	4(18.2%)
Stadium		

IVA		
T4N0M0	5(22.7%)	3(13.6%)
T4N1-2M0	5(22.7%)	4(18.2%)
IVB		
Semua T N3 M0	12(54.5%)	15(68.2%)
IVC		
Semua T Semua N M1	0(0.0%)	0(0.0%)

Tabel 2. Hubungan imunoekspresi Cyclin D1 dengan respons radioterapi

Variabel	Kelompok		OR(CI95%)	Nilai P
	Respons Radioterapi			
	Sensitif N=22	Resisten N=22		
Penilaian Imunoekspresi Cyclin D1			4.385(0.993-19.356)	0.042**
Lemah (0-4)	9(40.9%)	3(13.6%)		
Kuat (6-12)	13(59.1%)	19(86.4%)		

Tabel 2 menunjukkan hubungan imunoekspresi Cyclin D1 dengan respons radioterapi yang memperlihatkan hubungan signifikan secara statistik dengan nilai  $p=0,042$  dan Odds Rasio 4.385 (0.993-19.356). Pada pasien dengan Cyclin D1

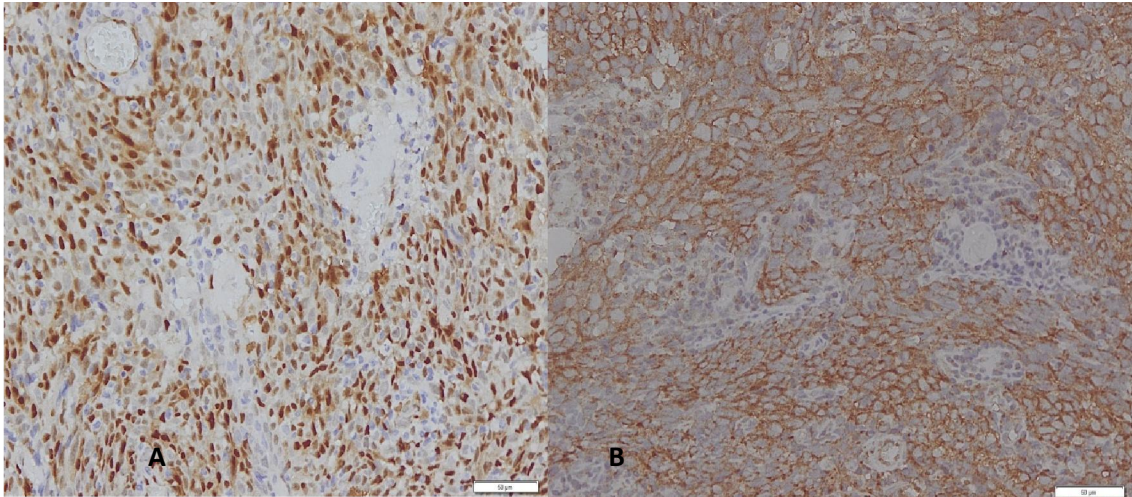
yang terekspresi kuat memiliki kemungkinan untuk terjadinya radioresistensi 4.385 kali lebih besar daripada pasien dengan ekspresi Cyclin D1 yang lemah.

Tabel 3. Hubungan imunoekspresi VEGF dengan respons radioterapi

Variabel	Kelompok		OR(CI95%)	Nilai P
	Respons Radioterapi			
	Sensitif N=22	Resisten N=22		
Penilaian Imunoekspresi VEGF			2.833(0.770-10.430)	0.112
Lemah (0-4)	10(45.5%)	5(22.7%)		

Kuat (6-12)	12(54.5%)	17(77.3%)
-------------	-----------	-----------

Tabel 3 menunjukkan hubungan imunoekspresi VEGF dengan respons radioterapi yang memperlihatkan hubungan yang tidak signifikan dengan nilai  $p=0,112$ .



Gambar 1. Imunoekspresi Cyclin D1 dan VEGF pada Karsinoma Nasofaring. (A) Cyclin D1 ekspresi kuat, (B) VEGF ekspresi kuat. (Pembesaran 400X)

## DISKUSI

Pada penelitian ini diperoleh kasus terbanyak berada dalam rentang usia 40–60 tahun sebanyak 24 kasus (55%) dengan jumlah kasus laki-laki 3 kali lebih banyak daripada wanita. Hal ini sesuai dengan penelitian Peterrson dkk.<sup>1</sup> yang menyatakan bahwa pada populasi tinggi terjadinya KNF, insidensinya meningkat setelah usia 30 tahun dan mencapai puncak pada rentang usia 40-60 tahun, dengan jenis kelamin laki-laki 2 sampai 3 kali lebih banyak daripada wanita. Pada penelitian ini juga didapatkan 36 kasus (82%) stadium IV telah bermetastasis ke kelenjar getah bening. Hal ini sesuai dengan penelitian Xuan<sup>16</sup> yang menemukan sebagian besar KNF stadium IV telah bermetastasis ke kelenjar getah bening.

Pemeriksaan imunoekspresi Cyclin D1 pada sampel penelitian ini seluruhnya menunjukkan ekspresi yang positif, 32 (72.7%) kasus terekspresi kuat dan 12 (27.3%) kasus terekspresi lemah. Perbandingan ekspresi Cyclin D1 pada kelompok radiosensitif dan kelompok radioresiten menunjukkan nilai signifikan ( $p=0,043$ ) dengan Odds Ratio 4.385 (0.993-19.356). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi Cyclin D1 dengan respons radioterapi. Pasien dengan ekspresi Cyclin D1 yang kuat mempunyai kemungkinan resistensi terhadap radioterapi sebanyak 4.385 (0.993-19.356) dibandingkan dengan pasien yang memiliki ekspresi Cyclin D1 yang lemah. Hal ini terjadi kemungkinan disebabkan karena kerusakan DNA oleh

radiasi mengaktivasi jalur AKT/Cyclin D1/CDK4. Jalur AKT ini memfasilitasi terjadinya perbaikan DNA pada sel kanker sehingga mendukung *survival* sel kanker dan selanjutnya berperan dalam menyebabkan terjadinya radioresistensi.<sup>11,</sup>

17

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian-penelitian terdahulu. Penelitian Fu dkk.<sup>10</sup> menunjukkan perbedaan signifikan antara ekspresi Cyclin D1 yang kuat pada kelompok respons radioterapi yang sensitif dan pada kelompok yang tidak sensitive ( $p < 0.05$ ). Pasien dengan ekspresi Cyclin D1 yang lemah lebih sensitif terhadap radiasi. Cyclin D1 yang terekspresi kuat menyebabkan pemendekan fase G1-S pada siklus sel sehingga terjadi proliferasi sel yang tidak terkontrol dan mendukung pertumbuhan sel tumor. Kerusakan DNA yang diinduksi oleh radiasi juga dapat mengaktifkan Cyclin D1 untuk membantu proses perbaikan DNA sehingga dapat meningkatkan *survival* sel tumor sehingga menyebabkan resistensi terhadap radioterapi.<sup>10</sup> Depleksi Cyclin D1 pada Sel HeLa karsinoma servix dan sel H2009 kanker paru secara signifikan meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap radiasi. Hal ini disebabkan Cyclin D1 mungkin berperan dalam perbaikan DNA yang rusak.<sup>18</sup> Cyclin D1 merupakan kunci penting untuk progresi siklus sel melalui fase G1 yang berhubungan dengan respons radiasi yang buruk.<sup>19</sup> Penurunan Cyclin D1 pada kanker esofagus dapat memperlambat pertumbuhan sel tumor dan dapat mengurangi kapasitas perbaikan DNA sel tumor. Inhibisi terhadap Cyclin D1

dapat mencegah perbaikan DNA sel kanker.<sup>20</sup>

Pada penelitian ini imunoekspresi VEGF seluruhnya menunjukkan ekspresi yang positif, 29 (65.9%) kasus terekspresi kuat dan 15 (34.1%) kasus terekspresi lemah. Hasil dari penelitian ini tidak terdapat hubungan yang signifikan secara statistik antara imunoekspresi VEGF dengan respons radioterapi ( $p = 0,117$ ). Hal ini mungkin disebabkan karena keadaan hipoksia yang menginduksi HIF $\alpha$  dan mengakibatkan radioresistensi terjadi melalui beberapa jalur. Jalur-jalur tersebut adalah jalur HIF1 $\alpha$ /VEGF, jalur HIF $\alpha$ /CXCL12, jalur HIF $\alpha$ /Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) dan jalur HIF $\alpha$ /TGF $\beta$ /integrin. Jalur HIF $\alpha$ /VEGF dan jalur HIF $\alpha$ /CXCL12 menginduksi terjadinya angiogenesis dan vaskulogenesis. Jalur HIF $\alpha$ /Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) menginduksi angiogenesis dan memelihara homeostasis vaskular, sedangkan jalur HIF $\alpha$ /TGF $\beta$ /integrin dapat menyebabkan *survival* sel endotel terhadap efek radiasi.<sup>21</sup> Pada penelitian ini kemungkinan faktor lain yang menginduksi terjadinya angiogenesis selain VEGF seperti yang telah disebutkan di atas, lebih dominan dalam menyebabkan terjadinya radioresistensi sehingga pada penelitian ini didapatkan hubungan yang tidak bermakna antara VEGF dengan respons radioterapi.

Pada karsinoma nasofaring disebutkan bahwa faktor oksigen saja tidak cukup untuk memprediksi radiosensitivitas, masih banyak faktor biologik lain yang berperan.<sup>22</sup> Selain itu jumlah faktor angiogenik mempengaruhi jalur terjadinya

radioresistensi. Sel tumor dengan jumlah faktor angiogenik yang sedikit akan mengalami radioresistensi melalui jalur hipoksia, sedangkan sel tumor yang memiliki jumlah faktor angiogenik yang banyak akan mengalami radioresistensi melalui jalur intrinsik adan faktor iskemik. Mekanisme ini dapat menyebabkan ekspresi VEGF tidak terdeteksi dalam terjadinya radioresistensi.<sup>23</sup>

Faktor-faktor tersebut di atas selain dapat menginduksi terjadinya angiogenesis juga dapat mempengaruhi terjadinya metastasis karsinoma nasofaring ke kelenjar getah bening.<sup>16, 24, 25</sup> Ekspresi CXCL12 meningkat pada kasus karsinoma nasofaring dengan metastasis kelenjar getah bening dibandingkan dengan kasus tanpa metastasis ke kelenjar getah bening. CXCL12 yang membentuk ikatan dengan CXCR4/CXCR7 dapat mempengaruhi migrasi, invasi dan survival dari sel-sel karsinoma nasofaring.<sup>24</sup> TGFβ dapat berfungsi sebagai protoonkogen pada stadium lanjut dengan menstimulasi angiogenesis dan menginduksi *epithelial mesenchymal tumor* (EMT) yang berperan

untuk invasi dan metastasis sel tumor.<sup>25</sup> Ekspresi integrin αv berhubungan signifikan dengan terjadinya metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma nasofaring. Integrin merupakan molekul yang berpartisipasi dalam invasi, metastasis, angiogenesis dan survival sel-sel tumor.<sup>16</sup> Pada penelitian ini didapatkan 82% kasus telah bermetastasis ke kelenjar getah bening. Hal ini menunjukkan bahwa faktor-faktor tersebut mungkin lebih dominan daripada VEGF dalam menyebabkan terjadinya radioresistensi sehingga pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara VEGF dengan respons radioterapi.

## KESIMPULAN

Terdapat hubungan signifikan antara Cyclin D1 dengan respons radioterapi pada karsinoma nasofaring tidak berdiferensiasi. Semakin kuat ekspresi Cyclin D1 semakin besar kemungkinan terjadinya radioresistensi. Ekspresi VEGF tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan respons radioterapi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Petersson F. Nasopharyngeal carcinoma: A review. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2015;1-20.
2. Torre L, Bray F, Siegel R, Ferlay J, Tieulement J, Jemal A. *Global Cancer Statistics, 2012*. *Cancer J Clin*. 2015;65:87-108.
3. Adham M, Kurniawan A, Muhtadi A, Roezin A, Hermani B, Gondhowiardjo et al. Nasopharyngeal Carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation. *Chin J Cancer*. 2012;31(4):185-96.
4. Zhang L, Chen Q, Liu H, Tang L, Mai H. Emerging treatment options for nasopharyngeal carcinoma. *Drug Design, Development and Therapy*. 2013;7:37-52.
5. Yang S, Chen J, Guo Y, Lin H, Zhang Z, Feng G et al. Identification of prognostic biomarkers for response to radiotherapy by DNA microarray in nasopharyngeal carcinoma patients. *Inter Jour Oncol*. 2012;40:1590-100.



6. Yusuf M, Romdhoni AC, Kentjono WA, Rantam FA. Ekspresi protein P53 dan HSP70 pada sel punca karsinoma nasofaring yang resisten terhadap radioterapi. *ORLI*. 2014;44:122-30.
7. Lin H CZ, Chen Z, Zhu XD, Li L, Qu S, Zhao W et al. Serum CD166: A novel biomarker for predicting nasopharyngeal carcinoma response to radiotherapy. *Oncotarget*. 2017:1-10.
8. Feng XP, Yi H, Li MY, Li XH, Yi B, Zhang P et al. Identification of Biomarkers for Predicting Nasopharyngeal Carcinoma Response to Radiotherapy by Proteomics. *Cancer Res*. 2010:3450-62.
9. White L. Predictive Biomarkers of Cellular Radiosensitivity for Clinical Radiotherapy Treatment (Doctoral Thesis). Dublin Institute of Technology. 2016.
10. Fu SM, Xu MX, Lin SM, Liang Z, Cai JH. Association of cyclin D1 and survivin expression with sensitivity to radiotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Genet Mol Res*. 2014;13:3502-9.
11. Shimura T. Acquired Radioresistance of Cancer and the AKT/GSK3 $\beta$ /cyclinD1 Overexpression Cycle. *J Radiat Res*. 2011;52:539-44.
12. Chen Z, Xu XH. Combining antiangiogenic therapy and radiation in nasopharyngeal carcinoma. *Saudi Med J*. 2015;36:659-64.
13. Hsu HW, Wall NR, Hsueh CT, Kim S, Ferris RL, Chen CS et al. Combination antiangiogenic therapy and radiation in head and neck cancers. *Oral Oncology*. 2014;50:19-26.
14. Padhani AR, Ollivier L. The RECIST criteria: implications for diagnostic radiologists. *The British Journal of Radiology*. 2001;74:983-6.
15. Rizzardi A, Johnson A, Vogel R, Pambuccian S, Henriksen J, Skubitz A et al. Quantitative comparison of immunohistochemical staining measured by digital image analysis versus pathologist visual scoring. *Diagnostic Pathology*. 2012;7:42.
16. Xuan SH, Zhoua Y, Pan JQ, Zhu W, Xu P. Overexpression of integrin  $\alpha v$  in the human nasopharyngeal carcinoma associated with metastasis and progression. *Cancer Biomarkers*. 2013;13:323-8.
17. Shimura T. Activation of the AKT/cyclin D1/Cdk4 survival signaling pathway in radioresistant cancer stem cells. *Oncogenesis*. 2012:1-9.
18. Jirawatnotai S, Hu Y, Michowski W, Elias J, Beck S, Bienvenu F et al. A function for cyclin D1 in DNA repair uncovered by protein interactome analyses in human cancers. *Nature*. 2011;474:230-3.
19. Milas L AT, Akimoto T, Hunter NR, Mason K, Buchmiller L, Yamakawa M et al. Relationship Between Cyclin D1 Expression and Poor Radioresponse of Murine Carcinomas. *Int J Radiation Oncology Biol*. 2002;52:514-21.
20. Su H, Jin X, Shen L, Fang Y, Fei Z, Zhang X et al. Inhibition of cyclin D1 enhances sensitivity to radiotherapy and reverses epithelial to mesenchymal transition for esophageal cancer cells. *Tumor Biol*. 2015:1-9.
21. Barker HE, Paget J, Khan A, Harrington K. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nature*. 2015;15:409-25.
22. Hendarsih E, Oehadian A, Sumantri R, Supandiman I, Hernowo B. Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor dan Ekspresi Tissue Factor berdasarkan Respons Terapi Kemoradiasi Cisplatin pada Penderita Karsinoma Nasofaring Stadium Lanjut. *MKB*. 2015:49-54.

23. Homer J, Stafford G. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C in early laryngeal cancer: relationship with radioresistance. *Clin Otolaryngol.* 2001;26:498-504.
24. Qiao N, Wang L, Wang T, Li H. Inflammatory CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis mediates G-protein signaling pathway to influence the invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma cells. *Tumor Biol.* 2016;37:8169-79.
25. Wu Y, Shen Z, Wang K, Ha Y, Lei H, Jia Y et al. High FMNL3 expression promotes nasopharyngeal carcinoma cell metastasis: role in TGF- $\beta$ 1- induced epithelia-to-mesenchymal transition. *Scientific Report.* 2017;7:1-14.