

KARAKTERISTIK EKSPRESI CD163 PADA TUMOR GANAS OVARIUM

Riana Sari Puspita Rasyid¹, Soilia Fertilita^{1*}, Raissa Nurwany², Wresnindyatsih³
Shafa Larasaty⁴, Antania Phelia Zen⁴

¹Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

²Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

³Bagian Patologi Anatomi, RSUP Mohammad Hoesin, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

⁴Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

*email : soilia.fertilita@fk.unsri.ac.id

Received 30 November 2022; accepted 30 Desember 2022; 20 Januari 2023

ABSTRAK

Immune checkpoint blockade therapy yang menjadi kandidat terapi kanker menjanjikan, menunjukkan rata-rata respon yang rendah pada kanker ovarium. Hal ini disebabkan karena heterogenitas lingkungan mikronya. Makrofag merupakan sel imun yang ditemukan di lingkungan mikro tumor ganas ovarium, salah satu subtipe nya adalah M2 yang merupakan fraksi infiltrasi terbesar di lingkungan mikro tumor kanker ovarium, bersifat protumor dan mengekspresikan CD163. Mengetahui karakteristik ekspresi CD163 pada berbagai subtype tumor ganas ovarium dengan karakter klinis berbeda dapat membantu dalam menentukan prognosis dan target terapi pada tumor ganas ovarium. Sampel penelitian adalah 60 blok parafin jaringan tumor ganas ovarium. Blok parafin diproses untuk membuat preparat jaringan, pewarnaan hematoxilin eosin dan imunohistokimia. Penghitungan sel yang mengekspresikan CD163 dilakukan di area stroma dan intratumoral pada 10 lapang pandang besar untuk setiap sampel. Hasil positif pada pewarnaan imunohistokimia diperoleh jika sitoplasma terwarnai coklat. Data karakteristik jaringan dan klinis pasien diperoleh dari rekam medis dan hasil pembacaan dokter spesialis patologi anatomi. Hasil penelitian ditemukan ekspresi CD163 area stroma relatif lebih tinggi jika dibandingkan area intra tumoral kecuali pada subtype LGSC dan terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi CD163 pada stroma dengan stadium tumor ganas ovarium.

Kata kunci: CD163, Tumor Ganas Ovarium, Lingkungan Mikro Tumor

ABSTRACT

Characteristics of CD163 expression in ovarian malignant tumors. Immune checkpoint blockade therapy, which is a promising candidate for cancer therapy, shows a low response rate in ovarian cancer. This is due to the heterogeneity of the microenvironment. Macrophages are immune cells found in the microenvironment of ovarian cancer tumors, one of the subtypes is M2 which is the largest infiltrating fraction in the microenvironment of ovarian cancer tumors, is protumor and expresses CD163. Features of CD163 expression in various subtypes of malignant ovarian tumors with different clinical characteristics can help in determining the prognosis and therapeutic targets of malignant ovarian tumors. The research sample was 60 paraffin blocks of ovarian malignant tumor tissue. Paraffin blocks were processed to make tissue preparations, staining with hematoxylin eosin and immunohistochemistry. Counting of cells expressing CD163 was performed in the stromal and intratumoral areas at 10 large visual fields for each sample. A positive result on immunohistochemical staining is obtained if the cytoplasm is brown. Data on patient tissue and clinical characteristics were obtained from medical records and readings from anatomical pathologists. The results of the study found that the expression of the CD163 stromal area was relatively higher when compared to the intra-tumor area except for the LGSC subtype and there was a significant relationship between CD163 expression in the stroma and the stage of ovarian malignant tumors.

Keywords: CD163, Ovarian Malignant Tumor, Tumor Microenvironment

1. Pendahuluan

Kanker ovarium merupakan kanker pada wanita dengan rata-rata mortalitas tertinggi. Diperkirakan pada tahun 2012, terdapat 22.280 kasus baru kanker ovarium dengan perkiraan 15.500 kematian. Hal ini disebabkan karena sebagian besar (65-75%) pasien dengan kanker ovarium didiagnosis pada stadium lanjut dan hanya 15-20% yang terbebas dari kekambuhan dalam 10 tahun.¹ Data dari RS Kanker Darmas tahun 2018 menunjukkan bahwa kanker ovarium menempati posisi ke 3 (7,84%) dari seluruh kanker pada wanita di Indonesia.²

Terapi kanker ovarium masih menjadi tantangan besar diantara keganasan ginekologi. Operasi dan kemoterapi sering tidak efektif dalam mengeliminasi lesi residual dan mencegah metastasis serta kekambuhan kanker ovarium. *Immune checkpoint blockade therapy* menunjukkan rata-rata respon yang rendah (15%) pada kanker ovarium karena heterogenitas lingkungan mikro tumornya. Heterogenitas biologi dan molekular kanker ovarium telah diketahui namun heterogenitas lingkungan mikro tumornya masih sulit dipahami.³

Sel imun merupakan komponen lingkungan mikro tumor yang sangat penting. Data meta analisis menduga bahwa pada sebagian besar kanker terdapat infiltrasi sel imun yang bersifat heterogen, terdiri atas sel imun bawaan (sel *natural killer*, makrofag, *myeloid-derived suppressor cell* atau MDSC, dan sel dendritik) dan adaptif (sel B, sel limfosit T sitotoksik, limfosit T helper, dan sel T regulator).⁴⁻⁶ Makrofag di lingkungan mikro tumor dikenal dengan istilah Tumor Associated Macrophage memiliki 2 sub tipe M1 dan M2. Penelitian oleh Gao et al (2020) menunjukkan bahwa dari semua sel imun yang diinvestigasi di lingkungan mikro tumor kanker ovarium, M2 merupakan fraksi infiltrasi terbesar (12,28%).³

Cluster Differentiation (CD) 163 telah dikonfirmasi sebagai penanda fenotip makrofag M2 yang dapat digunakan untuk membedakan makrofag M2 dan M1. Makrofag M2 lebih bersifat anti-inflamatori dan dikaitkan dengan aktivitas supresi sistem imun, mendukung

tissue remodeling, dan mendukung angiogenesis. Oleh sebab itu, makrofag M2 dianggap berfungsi sebagai agen yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan tumor (pro-tumor). Selain itu sel kanker sendiri dapat menginduksi pergeseran fenotip makrofag ke arah M2 melalui sekresi molekul sinyal tertentu. Pada kanker ovarium, kanker stem sel meningkatkan level kemokin *C-C motif Ligand 2* (CCL2), *cyclooxygenase-2* (COX-2), dan *prostaglandin-E2* (PGE-2) serta mengaktifkan jalur *Peroxisome Proliferator Activator Receptor Gamma* (PPAR γ) yang semuanya berkorelasi dengan peningkatan polarisasi menuju makrofag M2.^{7,8}

Fenotip M2 juga sering disebut sebagai Tumor Associated Macrophage (TAM). Sel ini memiliki implikasi yang kuat terhadap progresifitas dan kemoresisten kanker ovarium.⁹ *M2-like TAM* mendorong proliferasi sel kanker dan stimulasi jalur pensinyalan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang mendukung metastasis tumor.¹⁰ Beberapa studi juga telah menunjukkan bahwa kepadatan makrofag M2 khususnya sub set CD163⁺ yang tinggi pada lingkungan mikro tumor berkaitan dengan prognosis tumor ganas ovarium yang buruk dan angka harapan hidup yang rendah.¹⁰⁻¹²

2. Metode

Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan rancangan *cross sectional*. Sampel penelitian adalah 60 blok parafin jaringan tumor ganas ovarium baik jenis epitelial maupun non epitelial yang disimpan di Laboratorium Patologi Anatomi RS. Mohammad Hoesin, Palembang antara tahun 2019 - 2021. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *disproportionate stratified random sampling*. Selanjutnya, blok parafin diproses untuk membuat preparat jaringan, pewarnaan hematoksilin eosin untuk menentukan gambaran histopatologi dari jaringan tumor ganas ovarium dan pewarnaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi CD163 menggunakan Medaysis Rabbit Anti-

CD163 (EPR14336): RM 0027 (CD163 concentrated), RM 0027RTU7 (CD163 prediluted).

Penghitungan makrofag yang mengekspresikan CD163 dilakukan pada area stroma dan intratumoral. Area intratumoral mencakup area pada pulau-pulau tumor dan stroma intratumoral. Sedangkan area stroma mencakup stroma di luar pulau-pulau tumor. Penghitungan dimulai pada perbesaran kecil (40 kali) untuk memilih area dengan ekspresi CD163 paling padat, kemudian dilanjutkan dengan perbesaran besar (400 kali) untuk menghitung ekspresi CD163. Penghitungan dilakukan pada 10 lapang pandang besar untuk setiap sampel, kemudian ditentukan rata-rata ekspresi CD163 pada sampel tersebut. Hasil positif pada pewarnaan imunohistokimia jika sitoplasma terwarnai coklat. Hasil penghitungan ekspresi CD163 pada semua sampel diuji normalitas untuk menentukan *cut off*. Jika data terdistribusi normal, digunakan mean sebagai *cut off* sedangkan pada data tidak terdistribusi normal menggunakan median. Infiltrasi makrofag yang mengekspresikan CD163 dikategorikan atas infiltrasi padat dan rendah berdasarkan nilai *cut off*.

Data pasien yang meliputi usia, lateralisasi, penyebaran ke kelenjar getah bening (KGB) dan area di sekitar ovarium (tuba falopii, uterus, peritoneum, ascites, dan omentum), metastasis jauh dan stadium diperoleh dari data di Kelompok Staf Medis Patologi Anatomi dan Instalasi Rekam Medis. Selanjutnya dilakukan analisis hasil penghitungan CD163 dengan data klinis tersebut.

3. Hasil

Enam puluh blok parafin dari jaringan tumor ganas ovarium yang disimpan di Kelompok Staf Medis Patologi Anatomi, RS Muhammad Hoesin Palembang telah dipilih secara acak dan dilakukan pewarnaan hematoxylin eosin untuk menentukan subtype tumor ganas ovarium serta pewarnaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi CD163. Tabel 1. Menunjukkan karakteristik sampel tumor ganas ovarium yang diamati. Sebagian besar sampel berasal dari

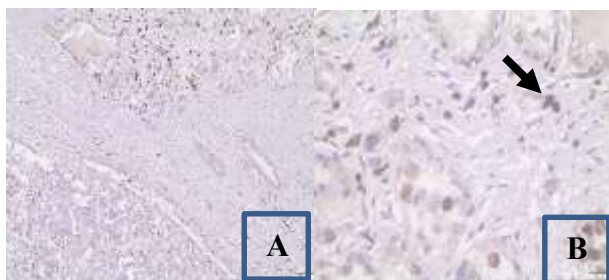
pasien usia lebih dari 30 tahun (86.7%) dengan tumor ganas ovarium unilateral (76.7%). Sedangkan ekspresi CD163 pada daerah stroma dan intra tumoral menunjukkan hasil hampir berimbang. Penentuan kepadatan ekspresi CD163 berdasarkan nilai *cut off* yang diperoleh, dimana nilai *cut off* untuk ekspresi CD 163 stroma adalah 4,35 dan intra tumoral 2,45.

Tabel 1. Karakteristik Sampel Penelitian

Karakteristik Sampel	n	%
Usia (Tahun)		
<45	22	36,7
≥45	38	63,3
Lateralisasi		
Bilateral	14	23,3
Unilateral	46	76,7
Stadium		
Awal	31	51,7
Lanjut	29	48,3
Subtipe		
Epithelial Ovarian Cancer		
HGSC	14	23,3
LGSC	5	8,3
MOC	16	26,7
EOC	11	18,3
CCC	6	10,0
Non Epithelial Ovarian Cancer	8	13,3
Ekspresi CD163		
Intra Tumoral		
Tinggi	29	48,3
Rendah	31	51,7
Stroma		
Tinggi	30	50,0
Rendah	30	50,0

HGSC (*High Grade Serous Carcinoma*), LGSC (*Low Grade Serous Carcinoma*), MOC (*Mucinous Carcinoma*), EOC (*Endometrioid Carcinoma*), CCC (*Clear Cell Carcinoma*).

Pewarnaan imunohistokimia dilakukan untuk melihat ekspresi CD 163. Hasil positif ditandai warna coklat pada sitoplasma. Jumlah sel yang mengekspresikan CD163 dihitung pada 10 lapang pandang besar untuk setiap sampel.



Gambar 1. Pewarnaan Imunohistokimia Jaringan Tumor Ganas Ovarium

A. Tampak daerah stroma dan pulau-pulau tumor serta sel-sel berwarna coklat; B. Ekspresi CD163 Positif pada Sitoplasma.

Tabel 2. Menunjukkan ekspresi CD163 berdasarkan sub tipe tumor ganas ovarium. Ekspresi CD163 area stroma relatif lebih tinggi jika dibandingkan area intra tumoral. Ekspresi CD163 tertinggi ditemukan di area stroma pada sub tipe EOC diikuti sub tipe HGSC dan MOC. Berbeda dengan sub tipe lainnya pada LGSC ekspresi CD163 ditemukan lebih tinggi di area intra tumoral dibandingkan stroma.

Tabel 2. Ekspresi CD163 berdasarkan Sub tipe Tumor Ganas Ovarium

Sub tipe	Ekspresi CD163*	
	Stroma	Intra Tumoral
Epithelial Ovarian Cancer		
HGSC	5,1 (1,3-11,7)	2,4 (1,2-8,4)
LGSC	2,6 (1,2-21)	3,1 (1,4-4,4)
MOC	4,2 (1,5-24,4)	1,8 (0,2-14,1)
EOC	6 (2-11,5)	2,5 (0,5-14,1)
CCC	3,3 (0,5-4,4)	2,45(1,2-9,9)
Non Epithelial Ovarian Cancer	4,8 (1,1-8)	3,2 (0,7-4,7)

*nilai yang digunakan adalah median (nilai minimum – nilai maksimum)

Tabel 3. Menunjukkan hubungan antara ekspresi CD163 dengan karakteristik klinikohistopatologi (lateralisasi, stadium, dan sub tipe) tumor ganas ovarium. Ditemukan hubungan yang bermakna antara ekspresi CD163 di area stroma dengan stadium tumor ganas ovarium.

Tabel 3. Hubungan Ekspresi CD163 dengan Karakteristik Klinikohistopatologi

Karakteristik	Ekspresi CD163					
	Intra Tumoral		p	Stroma		p
	T	R		T	R	
Lateralisasi						
Bilateral	7	7	1	9	5	0,2
Unilateral	23	23		21	25	
Stadium						
Lanjut	13	16	0,4	19	10	0,02*
Awal	17	14		11	20	
Sub tipe						
Epithelial Ovarian Cancer			0,5			0,9
HGSC	7	7		8	6	
LGSC	3	2		2	3	
MOC	5	11		7	9	
EOC	6	5		6	5	
CCC	3	3	2	4		
Non Epithelial Ovarian Cancer	6	2		5	3	

T: tinggi, R: rendah

*uji menggunakan *Chi Square*

4. Pembahasan

Studi mengenai karakteristik ekspresi CD163 telah dilakukan pada 60 jaringan tumor ganas ovarium. Dari sampel yang diperoleh, sebagian besar (63,3%) jaringan berasal dari pasien usia besar sama 45 tahun dan 36,7% berusia kurang dari 45 tahun. Prevalensi lebih tinggi dilaporkan oleh Shen *et al* dimana 77% pasien kanker ovarium didiagnosis pada usia lebih dari 45 tahun. Namun demikian untuk tipe non epitelial dilaporkan usia yang relatif lebih muda saat diagnosis terutama untuk sub tipe *germ cell tumor*.¹³

Kanker ovarium merupakan penyakit yang berkaitan dengan usia. Insidennya ditemukan meningkat dengan bertambahnya usia, dengan puncak insiden pada usia 50 – 60 tahun. Namun demikian beberapa penelitian melaporkan median usia pasien kanker ovarium yang berbeda-beda saat didiagnosis berdasarkan sub tipe histologinya.^{13,14}

Sebagian besar jaringan pada penelitian ini berasal dari tumor ganas ovarium unilateral dengan perbandingan antara stadium awal dan

akhir yang hampir sama. Demikian juga untuk perbandingan ekspresi CD163 tinggi dan rendah, juga ditemukan hampir sama baik di area stroma maupun intra tumoral.

Cluster Differentiation (CD) 163 telah dikonfirmasi sebagai penanda fenotip makrofag M2 yang dianggap berfungsi sebagai agen yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan tumor (pro tumor). Di samping itu, sel tumor juga diduga dapat menginduksi makrofag pada lingkungan mikro tumor agar cenderung terpolarisasi menjadi M2. Fenotip M2 yang ditandai dengan ekspresi CD163 positif merupakan penanda dari TAM.

Ekspresi CD163 berdasarkan subtipe tumor ganas ovarium menunjukkan bahwa, di area stroma, ekspresi CD163 relatif lebih tinggi dibandingkan area intra tumoral kecuali pada subtipe LGSC. Hasil ini hampir sama dengan penelitian oleh Zhang *et al* yang menyatakan bahwa TAMs lebih sering ditemukan pada tumor ganas ovarium subtipe serosa dan musinus. Pada tumor ganas ovarium subtipe serosa, TAMs cenderung berkumpul di pulau tumor dan sebaliknya, pada tumor ganas ovarium subtipe MOC, TAMs cenderung berkumpul di area stromal.¹⁵

Pada penelitian ini ada dua subtipe serosa yang diamati, yaitu HGSC dan LGSC dan hanya pada subtipe LGSC ditemukan populasi M2 intra tumoral yang lebih tinggi sedangkan pada subtipe HGSC, ditemukan lebih tinggi pada stroma. Selanjutnya, untuk subtipe MOC (musinus) ditemukan ekspresi CD163 stroma yang lebih tinggi.

Keadaan ini dapat terjadi karena beberapa faktor, salah satunya adalah akibat ekspresi profil gen dan sifat sitologi sel tumor ganas yang unik. Sel tumor ganas ovarium subtipe serosa lebih banyak menghasilkan molekul Musin 16 yang hampir dapat larut dalam serum sehingga lapisan musin disekitar pulau tumor serosa cenderung tipis. Sedangkan, sel tumor ganas ovarium subtipe MOC lebih banyak mensekresikan molekul Musin 2 dan 5 yang membentuk lapisan padat seperti gel disekitar sel tumor sehingga dapat menghambat masuknya TAMs ke pulau tumor MOC.¹⁵

Hubungan ekspresi CD163 dengan karakteristik klinikohistopatologi menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi CD163 dengan lateralisasi dan subtipe tumor ganas ovarium. Namun ditemukan hasil bermakna anatar ekspresi CD163 dengan stadium tumor ganas ovarium.

Hasil ini konsisten dengan studi oleh Heidarpour *et al*, walaupun pada studi ini hanya mengambil jaringan tumor ganas ovarium tipe serosa sebagai sampel. Hasilnya, terdapat hubungan yang signifikan antara makrofag positif CD163 dengan usia, stadium, derajat dan metastasis ke kelenjar getah bening pada pasien dengan tumor ganas ovarium tipe serosa. Studi lain oleh Yafei *et al*, juga mengindikasikan hubungan yang signifikan antara makrofag CD163 positif dengan stadium pada kanker ovarium.^{16,17}

M2 *like* TAMs yang ditandai dengan ekspresi CD163 positif memiliki implikasi yang tinggi terhadap progresifitas dan kemoresiten tumor ganas ovarium. Sel ini memfasilitasi perkembangan sel tumor termasuk penghindaran sel tumor terhadap sel imun, invasi sel tumor, migrasi dan metastasis serta proses angiogenesis.⁹ Hal ini menyebabkan peningkatan populasi M2 *like* TAMs sering dihubungkan dengan progresifitas dan stadium tumor ganas ovarium.

5. Kesimpulan

Ekspresi CD163 area stroma relatif lebih tinggi jika dibandingkan area intra tumoral kecuali pada subtipe LGSC dan terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi CD163 pada stroma dengan stadium tumor ganas ovarium.

Daftar Pustaka

1. Bridget C, Goode EL, Kalli KR, Knutson KL, DeRycke MS. The immune system in the pathogenesis of ovarian cancer. *Crit Rev Immunol*. 2013;33(2):137–64.
2. Pangribowo S. Beban Kanker di Indonesia. Pus data dan Inf kementerian Kesehat RI. 2019;8–9.

3. Gao Y, Chen L, Cai G, Xiong X, Wu Y, Ma D, et al. Heterogeneity of immune microenvironment in ovarian cancer and its clinical significance: a retrospective study. *Oncoimmunology* [Internet]. 2020;9(1). Available from: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2020.1760067>
4. Giraldo NA, Becht E, Vano Y, Sautès-Fridman C, Fridman WH. The immune response in cancer: from immunology to pathology to immunotherapy. *Virchows Arch*. 2015;467(2):127–35.
5. Barnes TA, Amir E. HYPE or HOPE : the prognostic value of infiltrating immune cells in cancer. *Br J Cancer*. 2017;117(4):451–60.
6. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer*. 2017;8(5):761–73.
7. Yin M, Shen J, Yu S, Fei J, Zhu X, Zhao J, et al. Tumor-Associated Macrophages (TAMs): A Critical Activator in Ovarian Cancer Metastasis. *Onco Targets Ther*. 2019;12:8687–99.
8. Ning F, Cole CB, Annunziata CM. Driving Immune Responses in the Ovarian Tumor Microenvironment. *Front Oncol*. 2021;10(604084):1–16.
9. Nowak M, Klink M. The Role of Tumor-Associated Macrophages in the Progression and Chemoresistance of Ovarian Cancer. *Cells*. 2020;9(5):1–12.
10. Baci D, Bosi A, Gallazzi M, Rizzi M, Noonan DM, Poggi A, et al. The ovarian cancer tumor immune microenvironment (Time) as target for therapy: A focus on innate immunity cells as therapeutic effectors. *Int J Mol Sci*. 2020;21(9):1–24.
11. Garvin S, Oda H, Arnesson LG, Lindström A, Shabo I. Tumor cell expression of CD163 is associated to postoperative radiotherapy and poor prognosis in patients with breast cancer treated with breast-conserving surgery. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2018;144(7):1253–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00432-018-2646-0>
12. Minami K, Hiwatashi K, Ueno S, Sakoda M, Iino S, Okumura H, et al. Prognostic significance of CD68, CD163 and Folate receptor- β positive macrophages in hepatocellular carcinoma. *Exp Ther Med*. 2018;15(5):4465–76.
13. Shen F, Chen S, Gao Y, Dai X, Chen Q. The prevalence of malignant and borderline ovarian cancer in pre- and post-menopausal Chinese women. *Oncotarget*. 2017;8(46):80589–94.
14. Budiana ING, Angelina M, Pelayun TGA. Ovarian cancer: Pathogenesis and current recommendations for prophylactic surgery. *J Turkish-German Gynecol Assoc*. 2019;20(1):47–54.
15. Zhang M, He Y, Sun X, Li Q, Wang W, Zhao A, et al. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients. *J Ovarian Res*. 2014;7(1):1–16.
16. Heidarpour M, Hoseini-Beheshti MS, Derakhshan M. Evaluation of the relationship between CD163 positive macrophages and prognostic factors in serous ovarian tumors. *Immunopathol Persa* [Internet]. 2020;6(2):e23–e23. Available from: <https://doi.org/10.34172/ipp.2020.23>
17. Yafei Z, Jun G, Guolan G. Correlation between macrophage infiltration and prognosis of ovarian cancer-a preliminary study. *Biomed Res*. 2016;27(2):305–12.

