

Hubungan Ekspresi CD8 dengan Skor Diferensiasi Liposarkoma

Ida Hartati, Sjahjenny Mustokoweni*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
Surabaya***ABSTRAK****Latar belakang**

Liposarkoma merupakan keganasan jaringan lunak yang cukup sering. Di RSUD Dr. Soetomo Surabaya didapatkan 30 kasus liposarkoma dengan berbagai skor diferensiasi, dari sekitar 150 kasus keganasan jaringan lunak, dalam rentang waktu 5 tahun periode Januari 2008-Desember 2012. CD8 memiliki peran dalam proses apoptosis. Penelitian ini menganalisis hubungan ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma

Metode

Penilaian dilakukan terhadap blok parafin penderita liposarkoma yang didiagnosis di RSUD Dr. Soetomo mulai Januari 2008-Desember 2012. Sebanyak 30 sampel untuk kepentingan statistik, 18 sampel dilakukan pulasan imunohistokimia CD8. Hubungan ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma menggunakan uji korelasi Spearman.

Hasil

Ekspresi CD8 lemah pada semua skor diferensiasi (skor 1 dan 2). Uji hubungan antara ekspresi CD8 ($p=1,00$) dengan skor diferensiasi liposarkoma menunjukkan tidak didapatkan hubungan yang bermakna.

Kesimpulan

Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma.

Kata kunci: apoptosis, CD8, liposarkoma.

ABSTRACT**Background**

Liposarcoma is a common soft tissue malignancy. 30 cases with different differentiation score of liposarcoma among 150 cases of soft tissue malignancy, noted in Dr. Soetomo hospital, from January 2008-December 2012. CD8 has a role in apoptotic process, whereas HSP70 is an antiapoptotic. This study analyzed the correlation between CD8 expression with differentiation score of liposarcoma.

Methods

Assessment was performed on paraffin blocks of liposarcoma patients who were diagnosed in Dr. Soetomo Hospitals during January 2008-December 2012, there are 30 samples and 18 samples stained with CD8. Correlation between CD8 expression with differentiation score of liposarcoma analyzed with the Spearman's correlation.

Results

Expression of CD8 was weak in all differentiation score (score 1 and 2). Testing the relationship between the expression of CD8 ($p=1.00$) with differentiation score of liposarcoma showed non significant correlation.

Conclusion

There was no significant correlation between the expression of CD8 and HSP70 with differentiation score of liposarcoma

Key words: apoptotic, CD8, liposarcoma.

PENDAHULUAN

Liposarkoma adalah salah satu sarkoma jaringan lunak yang paling sering ditemukan (sekitar 9,8-16% dari seluruh sarkoma).¹ Insiden liposarkoma di USA sekitar 2,5 per satu juta penduduk dan biasa terjadi pada usia dewasa.¹ Di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dalam rentang waktu 5 tahun periode 2008-2012, didapatkan 30 kasus liposarkoma, dari sekitar 150 kasus keganasan jaringan lunak.

Berdasarkan WHO, secara histopatologik, liposarkoma dibagi menjadi empat sub-tipe/varian histologik, yaitu *well differentiated liposarcoma* (WDLS), *dedifferentiated liposarcoma* (DDLs), *myxoid liposarcoma* (MLS)/*round cell liposarcoma* (RLS) dan *pleiomorphic liposarcoma* (PLS).¹⁻³ DDLs, RLS dan PLS merupakan liposarkoma *high grade malignancy*, agresif dan cenderung metastasis. Sedangkan WDLS dan MLS adalah tumor *low grade* yang sangat jarang terjadi metastasis. Sistem *grading French Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer* (FNCLCC) berdasarkan skor diferensiasi, mitosis dan nekrosis. Pada liposarkoma ada tiga skor diferensiasi berdasarkan tipe histologik yaitu skor 1 (WDLS), skor 2 (MLS) dan skor 3 (DDLs, RLS dan PLS). Semakin tinggi skor, semakin buruk diferensiasi liposarkoma serta makin agresif.³⁻⁵

Proses karsinogenesis pada liposarkoma secara garis besar sama dengan neoplasma umumnya. Salah satunya yaitu adanya inhibisi terhadap proses apoptosis. Apoptosis adalah suatu program kematian sel. Apabila ada hambatan pada apoptosis, maka tumor akan terus tumbuh.^{4,5}

Aktivasi sistem kaspase memiliki beberapa jalur, salah satunya melalui *death receptor* (reseptor Fas) yang berikatan dengan CD8+ T cell. Peningkatan CD8+ T cell makin banyak terikat pada *death receptor*, merangsang pembentukan *death inducing signaling complex* (DISC) dan munculnya *fas associated death domain* (FADD). Hal ini mengaktivasi sistem kaspase, dimulai dari kaspase-8 kemudian kaspase-3 dan akhirnya terjadilah apoptosis, diakhiri dengan matinya sel tumor.^{4,6-9}

Sel tumor sendiri memiliki *chaperone* (pelindung) bila terjadi stress yang mengganggu sintesa protein. *Heat shock protein* (HSP) adalah salah satu jenis *chaperone*, terdiri dari beberapa jenis berdasarkan berat molekulnya seperti HSP60, 70 ataupun 90. HSP70 diyakini

berperan dalam menghambat aktivasi kaspase-3, mengakibatkan apoptosis tidak terjadi, sehingga kematian sel terhindarkan dan tumor tetap tumbuh¹⁰⁻¹². Induksi HSP70 setelah terpapar stres membuat sel tumor semakin imunogenik, menstimulasi sistem imun *innate* dan adaptif yang menimbulkan respon dari CD8+.¹³

Karena itu akan diteliti apakah dasar teori diatas bisa digunakan pula pada liposarkoma. Diperkirakan, adanya tumor akan merangsang tubuh melindungi dirinya, salah satunya melalui proses apoptosis, sehingga produksi CD8 akan meningkat. Akan tetapi sel tumor juga memiliki pertahanan diri dengan mengeluarkan HSP70 yang bertujuan menghambat apoptosis, namun sebagai imunogen makin tinggi HSP70, akan meningkatkan produksi CD8. Semakin tinggi skor diferensiasi liposarkoma, diperkirakan semakin rendah CD8 dan semakin tinggi HSP70 yang dikeluarkan.

Berdasarkan uraian di atas, diperlukan penelitian mengenai ekspresi CD pada berbagai skor diferensiasi liposarkoma. Sampai saat ini, penelitian tersebut belum pernah dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* yang dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo dengan menggunakan blok parafin yang telah didiagnosis sebagai liposarkoma di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya periode Januari 2008-Desember 2012. Data lengkap penderita diperoleh dari rekam medik penderita yang tersimpan di Rekam Medik RSUD Dr. Soetomo.

Dipilih blok parafin yang mengandung cukup sel tumor serta sel radang limfosit dan dilakukan pulasan imunohistokimia dengan menggunakan *monoclonal mouse anti human-CD8* (Lab. Dako, Denmark). Ekspresi protein CD8 dinilai secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler dan dibuat skor secara semi-kuantitatif dengan menghitung jumlah sel limfosit intratumoral yang menunjukkan imuno-reaktivitas inti pada lapang pandang besar (pembesaran 400x). Skor (-) apabila tidak tercatat; skor (+1) apabila tercatat pada 1-179 limfosit intratumoral; skor (+2) apabila tercatat pada

180-433 limfosit intratumoral; skor (+3) apabila tercatat pada 434-582 limfosit intratumoral; skor (+4) apabila tercatat pada 583-731 limfosit intratumoral dan skor (+5) apabila tercatat pada ≥ 732 limfosit intratumoral.¹⁸

Dilakukan pula pulasan imunohistokimia dengan menggunakan *concentrate monoclonal antibody for human-HSP70* (Lab. Biocare Medical, USA). Ekspresi protein HSP dinilai secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler dan dibuat skor secara semikuantitatif dengan menghitung jumlah sel tumor yang menunjukkan imunoreaktivitas pada membran dan sitoplasma dengan pembesaran 400x. Skor (-) apabila <10% sel tumor yang tercatat; skor (+1) apabila 10-20% sel tumor yang tercatat; skor (+2) apabila >20% sel tumor yang tercatat.³⁰

Data yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Hubungan antara ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma dianalisis dengan uji korelasi Spearman.

HASIL

Dari pengumpulan data menurut laporan pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama periode Januari 2008 hingga Desember 2012 didapatkan penderita liposarkoma sebanyak 30 kasus, terdiri dari 6 sampel liposarkoma skor 1, 13 sampel liposarkoma skor 2, 11 sampel liposarkoma skor 3. Dalam penelitian ini dilakukan *simple random sampling* diambil 18 sampel, terdiri atas 6 sampel liposarkoma skor 1, 6 sampel liposarkoma skor 2, 6 sampel liposarkoma skor 3.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa dari 18 usia penderita liposarkoma bervariasi dari 15 hingga 76 tahun, dengan rerata 47,6 tahun. Usia terbanyak terjadi pada rentang 40-49 tahun dan 50-59 tahun. Penderita terbanyak berjenis kelamin wanita (60%), dengan perbandingan wanita : pria sebesar 1,6 : 1. Lokasi tersering dijumpai pada ekstremitas (12/18)

Penelitian ini hanya menemukan ekspresi CD8 dengan skor di +1 dan +2 (Tabel 2).

Analisis korelasi Spearman untuk menghubungkan antara skor diferensiasi liposarkoma dengan CD8 $p=1,00$, menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma ($p=1,00$).

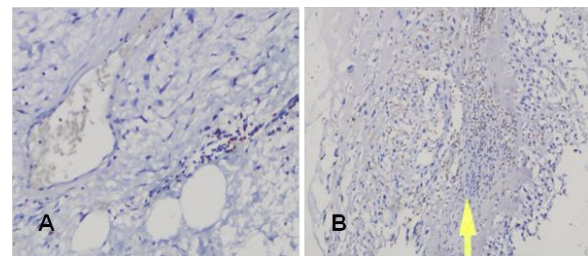
Tabel 1. Karakteristik penderita liposarkoma.

Karakteristik	Skor diferensiasi liposarkoma			
	1	2	3	Total
Umur				
10-19 th	0	0	1	1
20-29 th	0	0	0	0
Mean 47,6				
30-39 th	0	2	1	3
40-49 th	4	1	1	6
Range 15-76				
50-59 th	1	3	2	6
60-69 th	1	0	0	1
> 70th	0	0	1	1
Jenis kelamin				
Laki-laki	0	4	3	7
Perempuan	6	2	3	11
Lokasi				
Ekstremitas	5	3	4	12
Retroperitoneal	0	1	1	2
Lain-lain	1	2	1	4

Tabel 2. Ekspresi CD8 pada skor diferensiasi liposarkoma.

Ekspresi CD8	Skor diferensiasi liposarkoma		
	1	2	3
+1	3	5	4
+2	3	1	2
Total	6	6	6

Ekspresi HSP70 pada semua sampel menunjukkan hasil negatif.



Gambar 1. Liposarkoma dengan ekspresi CD8 skor +1 (A), CD8 skor +2 (B).

DISKUSI

Pada penelitian ini, kelompok umur terbanyak terjadi pada rentang 40-49 tahun dan 50-59 tahun yaitu sebesar 33%. Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang menyatakan bahwa liposarkoma lebih sering terjadi pada usia dewasa.^{1,2}

Sampel terutama adalah wanita (60%). Hal ini tidak sesuai dengan kepustakaan yang menyebutkan angka kejadian liposarkoma seimbang antara pria dan wanita,¹ hal ini mungkin disebabkan kurangnya sampel penelitian.

Pada penelitian ini, diketahui bahwa lokasi tersering liposarkoma secara umum dan

berdasar skor diferensiasi adalah pada ekstremitas (67%). Hal ini sesuai kepustakaan.¹

Penelitian ini tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma, sehingga tidak menemukan adanya perubahan ekspresi CD8. Semua skor diferensiasi liposarkoma, menunjukkan ekspresi CD8 yang sama yaitu +1 dan +2. Menurut kepustakaan pada skor 1 terjadi ekspresi CD8 yang tinggi yang semakin menurun pada skor 3.^{3,4}

Hal ini terjadi karena minimnya sel inflamasi pada liposarkoma, sehingga induksi terhadap sel T tidak terlalu kuat, juga karena adanya faktor imunitas seluler lain yang berperan diduga sel NK. Mungkin juga adanya hambatan terhadap kerja CD8 oleh molekul lain, yaitu *tumor associated macrophage* (TAM).⁸ Minimnya sel inflamasi pada liposarkoma, tidak sesuai dengan penelitian ini, karena pada tiap sediaan ditemukan adanya sel limfosit yang cukup banyak, sehingga seharusnya tidak menghambat aktivasi CD8.

Ekspresi CD8 yang rendah bisa disebabkan adanya faktor imunitas seluler lain yang berperan.^{8,9} Pada liposarkoma, mungkin sel kanker sangat sedikit mengekspresikan MHC I, sehingga reaksi CTL sangat lemah, akan tetapi memacu sel imun yang lain yaitu sel NK. Sel NK adalah limfosit yang mampu menghancurkan tumor tanpa perlu sensitisasi dan merupakan lini pertama pertahanan melawan tumor, merupakan sitotoksik, sitoplasma mengandung protein perforin dan protease granzyme seperti CD8, yang nantinya akan menginduksi apoptosis.¹⁰ Sel NK berperan dalam imunosurveilan tumor dengan merangsang kematian sel tumor secara langsung, walaupun tanpa ikatan dengan permukaan molekul dan peptida antigen. Sel tumor yang terdeteksi akan mengaktifkan sel NK dengan konsekuensi produksi sitokin dan pelepasannya.^{12,14} Beberapa sitokin tersebut antara lain TNF α , IFN γ , dan interleukin (IL-10). TNF α dan IL-10 bertindak sebagai proinflamasi dan immunosupresan. Aktivasi sel NK dan produksinya akan mempengaruhi makrofag, sel dendrit dan netro-fil, dengan efek lain muncul respon antigen spesifik sel T dan sel B.^{9,12} NK cell bersama dengan makrofag mengekspresikan reseptor Fc (FcR) yang mengikat dengan antibodi. Hal ini memungkinkan target sel NK melalui *antibody dependent cellular cytotoxicity*

(ADCC).¹⁴ Masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan peran pasti sel NK pada lipo-sarkoma.

Pada penelitian ini diduga sel kanker liposarkoma memiliki TAM, yang berfungsi pro tumoral dan mampu menghambat fungsi CD8, dengan beberapa cara. Infiltrasi sel-sel radang bisa didapatkan pada tumor, terutama makrofag dan limfosit, yang akhirnya memunculkan konsep bahwa sel radang berperan mendorong pertumbuhan dan perkembangan pada lingkungan mikro tumor.¹⁵⁻¹⁶ Makrofag merupakan sel imun yang penting dan banyak ditemukan pada stroma tumor. Mayoritas sel tumor diketahui mengandung makrofag sebagai komponen terbesar dari infiltrasi leukosit. Makrofag dalam lingkungan tumor tersebut disebut sebagai TAM, berasal dari prekursor monosit di darah tepi yang direkrut ke dalam massa tumor oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yang diproduksi oleh sel kanker dan stroma tumor. Monosit yang direkrut memasuki tumor, berdiferensiasi menjadi TAM dan terakumulasi pada area tumor yang hipoxia. Respon TAM terhadap hipoxia adalah peningkatan regulasi dari faktor transkripsi yang akan mengaktifasi gen mitogenik, angiogenik dan pro invasif. Memiliki peran dalam progresi tumor, saat TAM teraktivasi akan mengeluarkan faktor pertumbuhan, sitokin, mediator radang dan enzim proteolitik.¹⁵

Sel tumor menghasilkan kemoatraktan yaitu CCL. Peran penting CCL dalam akumulasi makrofag pada daerah tumor didukung oleh adanya level tumor derived CCL yang berhubungan dengan didaptkannya banyak TAM pada beberapa jenis adenokarsinoma. Reaksi monosit darah terhadap tumor tidak hanya diatur oleh kemokin, tapi juga oleh molekul-molekul seperti VEGF, PDGF, TGF dan M-CSF, yang mana berfungsi kemotaktik terhadap monosit/makrofag, yang juga mendorong makrofag untuk berdiferensiasi.¹⁶

TAM memiliki fungsi protumoral antara lain dengan menghasilkan faktor pertumbuhan dan *survival* untuk sel tumor (EGF, IL-6, CXCL8), faktor angiogenesis (EGF, FGF, VEGF, PDGF, TGF- β), degradasi matriks ekstraseluler serta aktifitas *remodeling* jaringan dan menekan respon imun adaptif.¹⁶⁻¹⁷

Penting dibahas pada penelitian ini adalah TAM yang memiliki kemampuan menghambat respon imun, dalam hal ini CD8.

Mekanisme yang dibahas ada dua, yaitu melalui penghambatan FasL dan produksi TGF- β .¹⁶

Beberapa cara meloloskan diri dari sistem imun antara lain ketika tumor meng-ekspresikan Fas ligand (FasL) yang menginduksi apoptosis dari Fas sel efektor imun, sehingga tumor lolos dari serangan sistem imun.¹⁷ TAM diyakini merupakan mediator yang mampu menyebabkan apoptosis dari sel imun anti tumor tanpa meningkatkan FasL terkait peradangan. TAM akan mencerna sel apoptotik yang dihasilkan sitokin pro inflamasi melalui mekanisme autokrin/parakrin yang melibatkan perkembangan TGF β 1, PGE2 dan PAF.¹⁷ Sel apoptotik yang dicerna makrofag akan mengeluarkan FasL larut, yang mampu menginduksi apoptosis leukosit. Hal ini menunjukkan bahwa TAM bersama dengan tumor FasL positif memiliki daya apoptotik tinggi terhadap sel T, sehingga dianggap bertanggung jawab terhadap *immune-escape mechanisms* pada kanker lambung.¹⁷

Mekanisme lain adalah TAM memproduksi IL-10, TGF- β dan indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), yang merupakan faktor immunosupresif. Paling utama adalah TGF- β yang secara langsung menginduksi Treg dengan interaksi antar sel melalui membran terikat TGF- β . Treg mampu menekan efek sitotoksitas dari CD8 dan berperan dalam menghindari imun sistem.¹⁸ Penelitian lain menyatakan bahwa TGF- β dan IL-10 adalah sitokin regulator imun yang dikenali dan dihasilkan oleh lingkungan mikro tumor. TGF- β sendiri merupakan sitokin immunosupresif yang menghambat respon imun termasuk imunitas anti kanker. Meskipun demikian, efek TGF- β pada sel imun tergantung pada lingkungan mikro dan sitokin serta faktor lain. TGF- β akan mensupresi IFN γ yang diproduksi Th1 dan CD8+ sel T, bersamaan dengan merangsang produksi *Foxp3+ T reg* dan diferensiasi sel Th17, yang bila berjalan bersama akan meningkatkan pertumbuhan dan progresi tumor. TGF- β juga menghambat produksi dari IL-6, TNF and IL-1 β yang mampu menghambat proses inflamasi yang berhubungan dengan kanker.¹⁹

Pada penelitian ini semua sampel menunjukkan ekspresi HSP70 negatif atau setara skor 0. HSP70 adalah *molecular chaperone* yang berfungsi menjaga kelangsungan hidup sel dengan melindungi dari proteolisis protein yang rusak. Apabila skor diferensiasi semakin meningkat, dianggap proses apoptosis tidak terjadi,

atau fungsi antiapoptotik berjalan. Dalam hal ini dapat diartikan seharusnya HSP70 semakin tinggi pada skor diferensiasi tinggi.

Pada penelitian ini tidak didapatkan ekspresi HSP70, hal ini bisa dikarenakan ada antiapoptotik lain yang bekerja pada liposarkoma, yaitu HSP90 dan HSP27, yang dihasilkan oleh HSF1 bersama dengan HSP70. HSP 90 merupakan salah satu *heat-related proteins* tersering. Perannya dalam sel kanker juga merupakan antiapoptotik dengan mekanisme kerja antara lain menstabilkan beberapa reseptor *growth factor*, seperti EGFR dan molekul sinyal termasuk protein PI3K dan AKT. Karena itu bila terjadi inhibisi pada HSP90, maka akan terjadi apoptosis melalui inhibisi jalur sinyal PI3K-AKT serta *growth factor*. Peran lain HSP90 adalah stabilisasi protein mutan *v-Src* dan p53, sehingga tampaknya HSP90 dapat berguna sebagai pelindung protein kurang stabil yang dihasilkan oleh mutasi DNA. HSP90 juga mampu menginduksi VEGF dan *nitric oxide synthase* yang penting dalam proses angiogenesis yang dibutuhkan dalam pertumbuhan tumor.²⁰

HSP27 termasuk kelompok *chaperone of small heat shock protein* (sHSP), juga mampu menghambat apoptosis. Terlibat dalam jalur apoptosis melalui interaksi dengan membran luar mitokondria dan mengganggu aktivasi dari *cytochrome c/Apaf-1* yang akhirnya menghambat aktivasi *procaspase-9*. Pada kanker payudara Hsp27 merupakan marker diagnostik yang potensial.²¹ Untuk mengetahui peran HSP90 dan HSP27 dalam liposarkoma, diperlukan penelitian lebih lanjut.

Dugaan lain adalah ekspresi CD8 yang terlalu rendah kurang adekuat untuk menimbulkan stress atau rangsangan agar terjadi proses apoptosis, sehingga sel tumor tidak merasakan adanya ancaman yang mengharuskan dirinya untuk mengeluarkan HSP70 sebagai pelindung.

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah tidak terdapat hubungan antara ekspresi CD8 dengan skor diferensiasi liposarkoma.

DAFTAR PUSTAKA

1. Weiss SW. Enzinger and Weiss's soft tissue tumors. 5th ed. St Louis: Mosby MO; 2008.
2. Andrew L, Carrie Y. Inwards. Bone Soft Tissue Pathology. Philadelphia: Saunders

- Elsevier; 2010.
3. Markku M. *Modern Soft Tissue Pathology: Tumors and non neoplastic conditions*. New York: Cambridge University Press; 2010.
 4. Robbins and Cotran. *Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.
 5. Juan Rosai. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 10th ed. New York: Mosby; 2011.
 6. Paulson KG, Iyer JG, Tegeder AR, Thibodeau R, Scheller J, Koba S, *et al*. Transcriptome-wide studies of merkel cell carcinoma and validation of intratumoral CD8+ lymphocyte invasion as an independent predictor of survival. *J Clin Oncol*. 2011; 29: 1539-46.
 7. Osamu N, Makoto S, Yoshitaka N, Kenichi S. Proliferative activity of intratumoral CD8 T-lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell carcinoma: Clinicopathologic demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res*. 2001; 61: 5132-6.
 8. Klebanoff CA, Gattinoni L, Restifo NP. CD8+ T-cell memory in tumor immunology and immunotherapy. *Immunol Rev*. 2006; 211: 214-24.
 9. Cullen SP, Brunet M, Martin SJ. Granzymes in cancer Brunet and immunity. *Cell Death Different*. 2010; 17: 616-23.
 10. Sreedhar AS, Csermely P. Heat shock proteins in the regulation of apoptosis; new strategies in tumor therapy. *Pharmacol Ther*. 2004; 101: 227-57.
 11. Zorzi E, Bonvini P. Inducible Hsp70 in the regulation of cancer cell survival: Analysis of chaperone induction, expression and activity. *Cancer* 2011; 3: 3921-56.
 12. Mosser DD. Molecular chaperones and the stress of oncogenesis. *Oncogene* 2004; 23: 2907-18.
 13. Clark PR, Me´noret A. The inducible Hsp70 as a marker of tumor immunogenicity. *Cell Stress Chaperones* 2001; 6: 121-5.
 14. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, *et al*. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*. 2011; 331: 44-9.
 15. Shih JY, Yuan A, Chen JJW, Yang PC. Tumor associated macrophage: Its role in cancer invasion and metastasis. *J Cancer Mol*. 2006; 2: 101-6.
 16. Allavena P, Sica A, Solinas G, Porta C, Mantovani A. The inflammatory micro-environment in tumor progression: The role of tumor-associated macrophages. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008; 66: 1-9.
 17. Ohno S, Inagawa H, Dhar DK, Fujii T, Ueda S, Tachibana M, *et al*. Role of tumor-associated macrophages (TAM) in advanced gastric carcinoma: The impact on fasl-mediated counter attack. *Anticancer Res*. 2005; 25: 463-70.
 18. Erreni M, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) and inflammation in colorectal cancer. *Cancer Microenvir*. 2011; 4: 141-54.
 19. Zamarron BF, Chen WJ. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int J Biol Sci*. 2011; 7: 651-8.
 20. Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR. Heat shock proteins in cancer: chaperonesoftumorogenesis. *TrendsBiochem Sci*. 2006; 31: 164-72.
 21. Sarto C, Binz PA, Mocarelli P. Heat shock proteins in human cancer. *Electrophoresis* 2000; 21: 1218-26.