

Perbedaan Ekspresi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) pada *Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor* Derajat Tinggi dan Rendah serta Hubungannya dengan Faktor Prognostik

Dewi Jantika, Nurjati Chairani Siregar, Puspita Eka Wuyung

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo
Jakarta

ABSTRAK

Latar belakang

Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST), merupakan sarkoma jaringan lunak yang prognosnya buruk karena tidak responsif terhadap kemoterapi. *Epidermal growth factor receptor* (EGFR) terlibat dalam transduksi sinyal mitogenik dan jalur proliferasi sel. Ekspresi EGFR yang tinggi pada tumor sudah dipakai untuk menentukan apakah tumor dapat diberikan terapi anti-EGFR. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat perbedaan ekspresi EGFR pada MPNST derajat tinggi dan derajat rendah serta ekspresi EGFR sebagai faktor prognostik.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang, retrospektif, deskriptif. Sampel terdiri atas 20 kasus MPNST derajat rendah dan 20 kasus MPNST derajat tinggi yang telah didiagnosis selama periode 2007-2015. Dilakukan pulasan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal EGFR. Selanjutnya dilakukan scoring berdasarkan persentase sel dengan membran dan atau sitoplasma yang berwarna coklat pada 500 sel/5 LPB: 0 (tidak terpulas), 1 (terpulas <10%), 2 (terpulas 10-30%), 3 (terpulas >30%). Perbedaan ekspresi EGFR pada MPNST derajat tinggi dan derajat rendah dianalisis menggunakan uji *chi-square*. Selain itu di analisis hubungan antara ekspresi EGFR dengan umur, lokasi dan ukuran tumor.

Hasil

Ditemukan ekspresi EGFR yang lebih tinggi pada MPNST derajat tinggi dibandingkan dengan MPNST derajat rendah yang secara statistik bermakna ($p=0,000$). Tidak ditemukan hubungan antara ekspresi EGFR dengan umur, lokasi maupun ukuran tumor.

Kesimpulan

Ekspresi EGFR yang tinggi dapat digunakan untuk dasar memberikan terapi anti-EGFR pada MPNST derajat tinggi.

Kata kunci : MPNST derajat tinggi, MPNST derajat rendah, ekspresi EGFR

ABSTRACT

Background

Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) is a sarcoma that has poor prognosis due to its unresponsive to chemotherapy, Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) is involved in mitogenic signal transduction and cell proliferation pathway. High expression of EGFR in other tumor has been used to give anti-EGFR therapy. This study was done to analyze expression of EGFR in high grade MPNST and low grade MPNST, as well as analyzing the correlation between EGFR with histopathological grading in MPNST.

Methods

Study design was cross sectional, retrospective and descriptive. Sample consist of 20 low grade MPNST and 20 high grade MPNST which were diagnosed in period between 2007-2015 in Cipto Mangunkusumo Hospital. Sample was stained with immunohistochemistry using monoclonal antibody of EGFR and scored accordingly by percentage of positive cells which has brown colour in membranous and or cytoplasm in 500 cells/5 HPF: 0 (no staining), 1 (stained in <10%), 2 (stained in 10-30%), 3 (stained in >30%). The differences of EGFR expression on MPNST was analyzed by chi-square.

Results

Expression of EGFR on high grade MPNST was higher significantly as compared to low grade MPNST ($p=0.000$).

Conclusion

High expression of EGFR maybe used as a base to give anti-EGFR therapy in high grade MPNST.

Key words : high grade MPNST, low grade MPNST and high expression EGFR

PENDAHULUAN

Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) merupakan tumor ganas jaringan lunak dengan berbagai terminologi antara lain *malignant schwannoma*, *neurilemmoma* dan *neurofibrosarcoma*. Tumor ini sering menimbulkan kesulitan dalam menegakkan diagnosis karena kemiripan gambaran histopatologik dengan *spindle cell sarcoma* lainnya seperti *synovial sarcoma monophasic*, *leiomyosarcoma* dan *fibrosarcoma*. MPNST juga harus dibedakan dengan tumor jinak saraf perifer yaitu *neurofibroma*.¹⁻²

MPNST paling sering muncul pada usia dewasa antara 20-50 tahun dan timbul secara spontan, bila terjadi pada usia muda dan berjenis kelamin laki-laki, umumnya berhubungan dengan riwayat *neurofibromatosis* sekitar 5-42%.¹⁻⁵ Lokasi MPNST tersering adalah area ekstremitas melibatkan syaraf yang berukuran sedang sampai besar, terletak didaerah bokong, paha, pleksus brakialis, lengan atas, regio paraspinal dan batang tubuh, jarang ditemukan pada daerah kepala dan leher. Tidak ada predileksi jenis kelamin pada kasus MPNST.⁴⁻⁶

Penetapan diagnosis jenis tumor jaringan lunak mengacu pada sistem grading FNCLCC (*French Federation of Cancer Centres against Cancers*) dan WHO (*World Health Organization*) *soft tissue and musculoskeletal* edisi terbaru (2013) untuk tiap tipe histologik. Sistem ini menganggap grading histologik sebagai satu faktor yang paling penting dalam menentukan angka harapan hidup selain itu lokasi kedalaman tumor ikut menentukan prognosis.⁶⁻⁸

Salah satu perubahan dasar pada sel kanker adalah adanya proliferasi sel yang tidak terkendali. Adanya aktivasi reseptor faktor pertumbuhan (*growth factor receptor*) merupakan salah satu tahap dalam proliferasi sel. *Epidermal growth factor receptor* (EGFR) memegang peranan penting pada regulasi pertumbuhan sel, diferensiasi, siklus sel, dan tumorigenesis. Pada MPNST terapi yang ada belum memuaskan. Pengetahuan tentang mekanisme tumorigenesis sangatlah diperlukan untuk memahami perilaku tumor ini. Peran EGFR pada MPNST sebagai faktor prognostik dan prediktif masih dalam perdebatan.⁹⁻¹³

Inhibitor EGFR dapat merupakan terapi potensial pada beberapa kondisi patologik yaitu proses peradangan dan kanker. Penelitian ini

bertujuan menganalisis ekspresi EGFR pada MPNST derajat tinggi dan MPNST derajat rendah, sehingga dapat digunakan sebagai marker prognostik, prediktif sekaligus pendukung diagnostik.¹⁴⁻¹⁸

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat potong lintang, konsekutif, deskriptif, dilakukan di Departemen Medik Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RSCM Jakarta pada bulan September sampai dengan november 2016. Sediaan Hematoksin dan Eosin kasus MPNST dibaca ulang, dan dikelompokkan menjadi derajat rendah dan derajat tinggi. Selanjutnya dipilih 20 kasus berurutan MPNST derajat rendah dan derajat tinggi dengan blok parafin yang mengandung cukup sel tumor. Dilakukan pulasan antibodi monoklonal EGFR untuk rabbit klon SP9 (Biocare, USA).

Ekspresi EGFR dinilai secara visual dan diberi skor semikuantitatif berdasarkan jumlah sel yang terpulaskoklat pada membran dan atau tanpa sitoplasma pada area dengan intensitas tertinggi, dihitung pada 500 sel tumor dengan menggunakan mikroskop Leica ICC 50 HD yang dilengkapi kamera dan menghitung jumlah sel: 0 (tidak terpulaskoklat), 1 (terpulaskoklat <10%), 2 (terpulaskoklat 10-30%), 3 (terpulaskoklat >30%).

Perbedaan ekspresi EGFR pada MPNST derajat tinggi dan MPNST derajat rendah dianalisis menggunakan uji statistik *Chi-square* menggunakan perangkat lunak SPSS.

HASIL

Selama periode 2007-2015 didapatkan 20 kasus MPNST derajat tinggi dan 20 kasus MPNST derajat rendah.

Pada Tabel 1 dapat dilihat data usia yang diperoleh pada penelitian ini yang paling muda adalah 13 tahun dan yang paling tua adalah 66 tahun, dengan rerata umur penderita pada kasus MPNST 42,1±13,4 tahun. Untuk memudahkan pengamatan, dilakukan pengelompokan umur menjadi 2 kelompok dengan rentang 40 tahunan. Usia penderita tumor MPNST paling banyak berada pada ≥ 40 tahun. Laki-laki berjumlah 28 orang (70%), lebih banyak dibandingkan perempuan. Lokasi tumor MPNST derajat tinggi lebih banyak ditemukan pada ekstremitas atas, sedangkan MPNST derajat rendah lebih banyak ditemukan pada daerah kepala leher dan batang tubuh. Rerata

ukuran tumor MPNST derajat rendah sebesar 11,53±6,8 cm dan rerata ukuran tumor MPNST derajat tinggi sebesar 12,6±5,59cm, dengan ukuran tumor terkecil 3 cm dan terbesar 30 cm dihitung dari diameter terbesar spesimen hasil operasi. Hasil laporan tentang batas sayatan bebas sebanyak 23 kasus (terdiri atas 12 derajat tinggi dan 11 derajat rendah), sedangkan batas tidak bebas sebanyak 4 kasus (3 derajat tinggi, 1 derajat rendah), dan tanpa data tentang batas sayatan pada 13 kasus (5 derajat tinggi dan 8 derajat rendah).

Riwayat neurofibromatosis didapatkan pada 5 kasus (4 kasus MPNST derajat tinggi dan 1 MPNST derajat rendah), usia penderita 27-66 tahun, dengan afeksi daerah wajah dan ekstremitas. Pengangkatan kelenjar getah bening dilaporkan pada 4 kasus, yaitu merupakan metastasis pada 1 kasus MPNST derajat tinggi, sedangkan 3 kasus lainnya tidak ditemukan metastasis (2 MPNST derajat tinggi dan 1 MPNST derajat rendah).

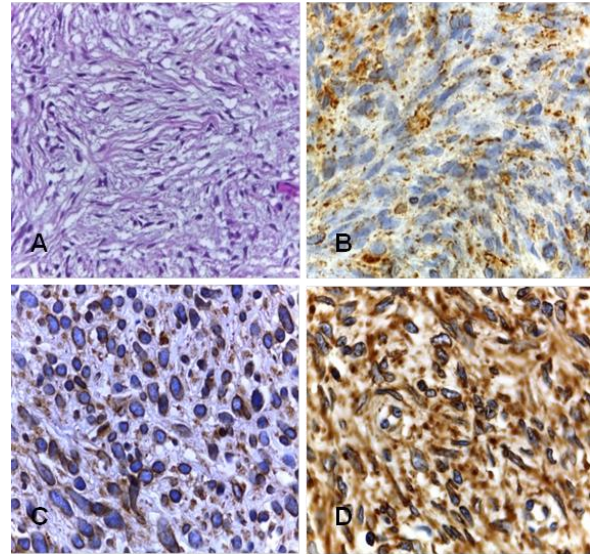
Tabel 1. Karakteristik sampel menurut tipe histologik.

Variabel	MPNST, N(%)		P
	Derajat tinggi (n=20)	Derajat rendah (n=20)	
Usia			1,000 ^a
< 40 tahun	8 (40)	8 (40)	
≥ 40 tahun	12 (60)	12 (60)	
Jenis kelamin			0,168 ^a
Laki-laki	12 (60)	16 (80)	
Perempuan	8 (40)	4 (20)	
Ukuran tumor (cm)			1,000 ^b
< 5cm	1 (5)	2 (10)	
≥ 5cm	19 (95)	18 (90)	
Lokasi tumor			0,877 ^a
Ekstremitas atas	5 (25)	3 (15)	
Ekstremitas bawah	5 (25)	5 (25)	
Kepala-leher	5 (25)	6 (30)	
Batang tubuh	5 (25)	6 (30)	
Batas sayatan			0,420 ^a
Bebas	12 (60)	11 (55)	
Tidak bebas	3 (15)	1 (5)	
Tidak ada	5 (25)	8 (40)**	

a: Uji *chi-square*, b: Uji *Fisher exact*, **Tidak dianalisis

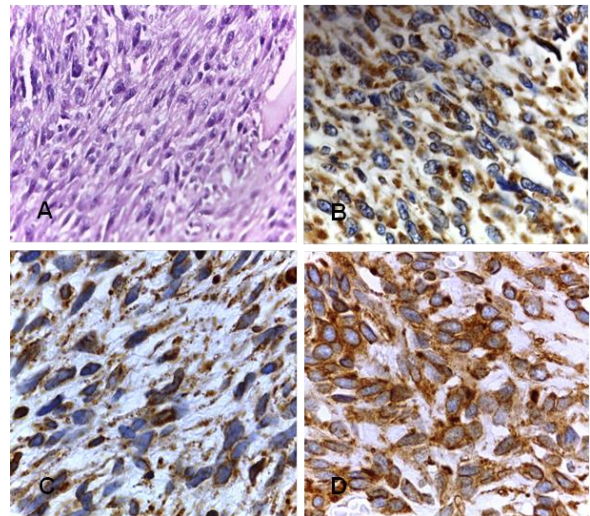
Ekspresi EGFR tinggi pada MPNST derajat rendah diperoleh sebanyak 4 kasus (20%), sedangkan 16 kasus (80%) ekspresi EGFR rendah. Pada MPNST derajat rendah didapatkan skor (+1) sebanyak 16 kasus, skor (+2) sebanyak 2 kasus dan skor (+3) sebanyak 2 kasus. Satu kasus MPNST derajat rendah dengan skor (+1) terdapat riwayat neurofibromatosis, pada laki-laki, dengan usia 47 tahun

dan predileksi di wajah. Pulasan EGFR pada MPNST derajat rendah dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. A. MPNST derajat rendah (pulasan H&E, pembesaran asli 400x); B. Ekspresi EGFR (+1) tampak ekspresi lemah-sedang pada membran sel dengan atau tanpa sitoplasma; C. Ekspresi EGFR (+2); D. Ekspresi EGFR (+3), (B-D) (EGFR, pembesaran asli 1.000x).

Pulasan EGFR pada MPNST derajat tinggi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. A. MPNST derajat tinggi (pulasan HE, pembesaran asli 400x); B. Ekspresi EGFR (+1); C. Ekspresi EGFR (+2); D. Ekspresi EGFR (+3). (B-D) (EGFR, pembesaran asli 1.000x).

Ekspresi EGFR tinggi ditemukan pada 16 MPNST derajat tinggi dan 4 dengan ekspresi EGFR rendah. Pada MPNST derajat tinggi terdapat skor (+1) sebanyak 4 kasus, skor (+2) 4 kasus dan skor (+3) sebanyak 12 kasus, yang diantaranya terdapat riwayat neurofibromatosis sebanyak 4 kasus dengan ekspresi EGFR tinggi, terdiri atas; 1 laki-laki dan 3 perempuan, dengan rentang usia 27-66 tahun, dan predileksi di wajah dan ekstremitas.

Tabel 2. Ekspresi EGFR pada MPNST dihubungkan dengan derajat keganasan dan faktor prognostik.

Variabel	Ekspresi EGFR N (%)		Nilai P
	Positif	Negatif	
MPNST			0,000 ^a
Derajat rendah	4 (20)	16 (80)	
Derajat tinggi	16 (80)	4 (20)	
Ukuran tumor (cm)			1,000 ^b
< 5 cm	1 (5)	2 (10)	
≥ 5 cm	19 (95)	18 (90)	
Lokasi tumor			0,877 ^a
Ekstremitas atas	5 (25)	3 (15)	
Ekstremitas bawah	5 (25)	5 (25)	
Kepala-leher	5 (25)	6 (30)	
Batang tubuh	5 (25)	6 (30)	
Batas sayatan			0,420 ^a
Bebas	12 (60)	11 (55)	
Tidak bebas	3 (15)	1 (5)	
Tidak ada	5 (25)	8 (40)**	

a: uji *chi-square*, b: uji *Fisher exact*, ** Tidak dianalisis

Didapatkan perbedaan bermakna ekspresi EGFR pada MPNST derajat tinggi dan MPNST derajat rendah (Tabel 2). Tidak didapatkan perbedaan bermakna bila EGFR dihubungkan dengan jenis kelamin ($p=0,168$). Demikian pula halnya dengan usia dimana ekspresi EGFR pada pasien usia <40 tahun dengan pasien usia ≥40 tahun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=1,000$). Ekspresi EGFR terhadap lokasi tumor tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,877$). Uji statistik komparasi dua kelompok tidak berpasangan Fisher digunakan pada penilaian ekspresi EGFR terhadap ukuran tumor, diperoleh hasil tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=1,000$) (Tabel 1).

DISKUSI

MPNST termasuk salah satu tumor jaringan lunak yang jarang ditemui, yang berasal dari cabang syaraf perifer minor atau mayor atau diferensiasi komponen selubung syaraf seperti

sel Schwann dan sel perineural. MPNST derajat I disebut MPNST derajat rendah, dan MPNST derajat II dan III disebut MPNST derajat tinggi.¹⁻⁸

EGFR adalah salah satu anggota keluarga *epidermal growth factor receptor* dari protein ligan ekstraseluler yang terletak pada membran sel yang berperan dalam jalur tirosin kinase. EGFR terekspresi pada beberapa keganasan dan terekspresi juga pada MPNST *cell line*, dan secara in vitro didapatkan bukti bahwa inhibisi EGFR sangat berpengaruh pada proliferasi dan survival sel Schwann. Bahwa PTEN dan EGFR sangat berperan dalam transformasi sel Schwann menjadi sel ganas.⁹⁻¹²

EGFR mempunyai peranan penting dalam tumorigenesis dan biologi keganasan/kanker pada manusia. Pada beberapa tumor dapat ditemukan mutasi dan ekspresi berlebihan patologik reseptor faktor pertumbuhan. EGFR meningkat ekspresinya pada 80% karsinoma sel skuamosa paru, 50% pada glioblastoma, 80-100% tumor kepala leher, dan lebih sedikit pada karsinoma buli dan saluran pencernaan.¹¹ Beberapa penelitian memperlihatkan overekspresi dari EGFR mempunyai hubungan bermakna terhadap tumor derajat tinggi. Meskipun ada juga penelitian yang sedikit menyatakan peran overekspresi EGFR pada derajat rendah.¹²⁻¹⁶

Aktivasi EGFR menyebabkan progresivitas siklus sel, meningkatkan migrasi sel dan mempengaruhi diferensiasi sel. EGFR juga terekspresi secara berlebihan pada banyak karsinoma dan berhubungan dengan patogenesis tumor, metastasis dan prognosis yang buruk. Ekspresi EGFR pada MPNST banyak dihubungkan dengan MPNST derajat tinggi, sehingga dapat dipergunakan untuk penilaian awal, apakah ekspresi EGFR dapat dipakai untuk memberikan terapi adjuvant. Sampai saat ini, peran EGFR dalam patogenesis terjadinya MPNST masih terus menjadi objek penelitian.¹³⁻¹⁶

Analisis statistik antara ekspresi EGFR dan derajat keganasan MPNST pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna, dimana ekspresi tinggi EGFR ditemukan pada MPNST derajat tinggi dibandingkan derajat rendah. Hal ini serupa dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa peningkatan frekuensi overekspresi EGFR seiring dengan peningkatan derajat tumor. Ekspresi EGFR yang bervariasi pada MPNST disebabkan banyak faktor, yang terpenting keberadaan gen EGFR di

MPNST, selain itu tingkat ekspresi protein EGFR berkorelasi dengan amplifikasi EGFR, NF-1, mutasi p53 dan ekspresi MDM2. Tingginya ekspresi EGFR mempunyai korelasi dengan kesintasan yang buruk, meningkatnya resistensi terhadap radiokemoterapi, karena meningkatnya metastasis dan prognosis yang buruk pada beberapa keganasan.¹⁷⁻¹⁹

Proliferasi sel sendiri merupakan suatu proses yang kompleks, yang terdiri dari beberapa tahap, mulai dari ikatan *growth factor* dengan reseptornya, aktivasi molekul sinyal transduksi di sitoplasma, aktivasi faktor transkripsi inti, sampai dengan masuknya sel dalam siklus sel dan diakhiri dengan pembelahan sel. Sehingga strategi sel kanker untuk mendapatkan *self-sufficiency* dalam sinyal pertumbuhan dapat dibagi berdasarkan, perannya dalam kaskade transduksi sinyal yang dimediasi oleh *growth factor*, dan regulasi siklus sel.⁹⁻¹²

KESIMPULAN

Ekspresi EGFR dapat digunakan untuk membedakan diagnostik dan prediktif pada derajat histopatologik MPNST, dan terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi EGFR dengan derajat histopatologik MPNST. Terdapat peningkatan ekspresi EGFR yang digunakan sebagai penilaian faktor prognostik MPNST.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kar M, Deo SVS, Shukla NK, Malik A, Gupta SD, Mohanti BK, *et al.* Malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNST)- Clinico-pathological study and treatment outcome of twenty-four cases. *World J Surg Oncol.* 2006; 4: 55.
2. Fletcher CDM, Gronchi A. Tumours of soft tissue: Introduction. In: Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F, eds. *World Health Organization classification of tumours of soft tissue and bone.* Lyon: IARC; 2013.
3. Abdul KFW, Antonescu CU, Dal Cin P, Folpe AL, Geisinger KM, Gown AM, *et al.* General consideration. In: Weiss SW, Goldblum JR, eds. *Soft tissue tumors.* Mosby: Elsevier; 2008.p.1-14
4. Anghileri M, Miceli R, Fiore M, Mariani L, Ferrari A, Mussi C. Malignant peripheral nerve sheath tumors. *Cancer.* 2006; 107: 1065-74.

5. Cunha KSG, Caruso AC, de Faria PAS, da Silva LE, Pires ARC, Geller M, *et al.* Malignant peripheral nerve sheath tumors: clinic-pathological aspects, expression of p53 and survival. *Clinics.* 2012; 67: 963-8.
6. Maki GR, Cioffi A, Merola PR, Ahn L, Garcia R, Demicco EG, *et al.* Malignant peripheral nerve sheath tumors. *The Oncologist.* 2014; 19: 193-201.
7. Abdul KFW, Antonescu CU, Dal Cin P, Folpe AL, Geisinger KM, Gown AM, *et al.* Malignant tumors of the peripheral nerves. In: Weiss SW, Goldblum JR, eds. *Soft tissue tumors.* Mosby: Elsevier; 2008.
8. Nielsen GP, Antonescu CR, Lothe RA. Malignant peripheral nerve sheath tumour. In: Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F, eds. *World Health Organization classification of tumours of soft tissue and bone.* Lyon: IARC; 2013.
9. Voldborg BR, Damstrup L, Thomsen MS, Poulsen HS. Epidermal growth factor reseptor (EGFR) and EGFR mutation, function and posible role in clinical trials. *Ann Oncol.* 1997; 8: 1197-206.
10. Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett T, Ward CW, Burgess AW. Epidermal growth factor reseptor: Mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res.* 2003; 248: 31-53.
11. Ferguson KM. A structure-based view of epidermal growth factor reseptor regulation. *Ann Rev Biophys.* 2008; 37: 353-73.
12. Baselga J, Maurizio S. The epidermal growth factor reseptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 5268-71.
13. Poulsen S, Thomsen S, Damstrup L, Voldborg R. Epidermal growth factor reseptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible in clinical trials. *Ann Oncol.* 1997;8:1197-1206.
14. Andreas VD, Mautner VF, Mawrin C, Mucha J, Okuducu F, Zietsch J, *et al.* EGFR and erbB2 in malignant peripheral nerve sheat tumors and implications for targeted therapy. *Neurooncol.* 2008: 946-56.
15. Pilotti S, Pierotti A, Losa M, Orsenigo M, Pastore E, Gronchi A, *et al.* PDGFRA, PDGFRB, EGFR, and downstream signaling activation in malignant peripheral nerve sheath tumor. *Neurooncol.* 2009: 725-35.

16. Eglinger ST, Bahleda R, Cote JF, Terrier P, Vidaud D, Cayre A, *et al.* Frequent EGFR positivity and overexpression in high-grade areas of human MPNSTs. Hindawi Publishing Corporation. 2008:1-7.
17. Keng WV, Watson AL, Rahrmann EP, Li H, Tscida BR, Moriarity BS, *et al.* Conditional inactivation of Pten with EGFR overexpression in Schwann cells models sporadic MPNST. Hindawi Publishing Corporation. 2012: 1-12.
18. Keizman D, Issakov J, Meller I, Meimon N. Expression and significance of EGFR in malignant peripheral nerve sheath tumor. J Neurooncol. 2009: 946-57.
19. Du X, Yang J, Ylipää A, Zhu Z. Genomic amplification and high expression of EGFR are key targetable oncogenic events in malignant peripheral nerve sheath tumor. J Hematol Oncol. 2013; 6: 93.