

Hubungan Ekspresi Transforming Growth Factor- β 1, Fibroblast Activated Protein, pola Tumor-Associated Collagen Signature dan derajat Tumor-Infiltrating Lymphocytes terhadap Grading International Society of Urological Pathology pada Clear Cell Renal Cell Carcinoma

Dina Kharismawaty, Delyuzar, Lidya Imelda Laksmi, Betty, Joko S Lukito, Jessy Chrestella

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran,
 Universitas Sumatera Utara
 Medan

Received : 27-04-2022

Accepted : 08-06-2022

Published : 30-01-2023

Penulis korespondensi: Dr. dr. Delyuzar, M.Ked (PA), Sp.PA(K)

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
 Jalan Universitas No. 1, Medan.

E-mail: dr_delyuzar@yahoo.com, dinarumaisa@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang

Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) merupakan kanker yang sangat agresif dan sering didiagnosis pada stadium lanjut. Komponen stroma disekitar tumor diduga memberikan kontribusi yang besar terhadap penemuan tersebut.

Metode

Penelitian analitik dengan desain *cross sectional* terhadap 23 spesimen histologi yang didiagnosis ccRCC berdasarkan data dari rekam medis/arsip patologi pada tahun 2012-2021. Masing-masing spesimen telah dipulas dengan pewarnaan hematoksilin and eosin, immunohistokimia TGF- β dan FAP serta *trichrome Masson*. Uji Fisher's exact test ($p < 0,05$) digunakan untuk menilai hubungan ekspresi seluruh variabel dengan *grading ISUP*

Hasil

Kasus terbanyak merupakan *high grade ccRCC* (87%) sampel, diantaranya 73,9% sampel terekspresi TGF- β kuat, 82,7% sampel terekspresi FAP intratumoral positif, 78,3% sampel terekspresi FAP stroma positif, 47,8% sampel menunjukkan pola TACS-3, 56,5% sampel dengan derajat TILs stroma positif dan 47,8% sampel dengan derajat TILs intratumoral negatif. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara seluruh variabel tersebut dengan *grading ISUP* pada ccRCC ($p < 0,05$).

Kesimpulan

Ekspresi TGF- β 1, FAP intratumoral dan stroma, pola TACS dan derajat TILs intratumoral dan stroma tidak berhubungan secara signifikan dengan *grading ISUP* pada penderita ccRCC.

Kata kunci: TGF- β 1, FAP, TACS, TILs, ISUP grading, ccRCC.

The Association Between Expression of Transforming Growth Factor- β 1, Fibroblast Activated Protein, Pattern of Tumor-Associated Collagen Signature and Degree of Tumor-Infiltrating Lymphocytes to Grading International Society Of Urological Pathology in Clear Cell Renal Cell Carcinoma

ABSTRACT

Background

Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is a very aggressive cancer and is often diagnosed at an advanced stage. The stromal component around the tumor is thought to have contributed greatly to these findings.

Methods

Analytical study with cross sectional design on 23 histological specimens diagnosed by ccRCC based on data from medical records/pathology archives in 2012-2021. Each specimen was stained with hematoxylin and eosin, TGF- β and FAP immunohistochemistry and Masson's trichrome. Fisher's exact test ($p < 0.05$) was used to assess the association between the expressions of all variables with the ISUP grading.

Results

Most cases were high grade ccRCC (87%) samples, of which 73.9% samples expressed strong TGF- β , 82.7% samples expressed positive intratumoral FAP, 78.3% samples expressed positive stromal FAP, 47.8% showed a TACS-3-pattern, 56.5% of samples with positive stromal TILs and 47.8% of samples with negative intratumoral TILs. There was no significant association between all of these variables and the ISUP grading of the ccRCC ($p < 0.05$).

Conclusion

Expression of TGF- β 1, intratumoral and stromal FAP, TACS pattern and the degree of intratumoral and stromal TILs were not significantly associated with ISUP grading in ccRCC.

Keywords: TGF- β 1, FAP, TACS, TILs, ISUP grading, ccRCC.

PENDAHULUAN

Kanker ginjal diketahui merupakan penyebab kematian tertinggi dari seluruh keganasan pada traktus urinarius.¹ Secara global, kanker ini termasuk dalam 15 besar kanker terbanyak dari 36 jenis kanker lainnya.² Pada negara-negara dengan *human development index (HDI)* tinggi dan sangat tinggi, tampaknya terjadi penurunan insiden dari tahun ke tahun, di mana pada tahun 2018, angka kejadian kanker ginjal diperkirakan sebesar 8,1 per 100.000 penduduk, kemudian turun menjadi 7,8 per 100.000 penduduk pada tahun 2020. Data tersebut bertolak belakang dengan negara-negara *HDI* sedang dan rendah, termasuk Indonesia, angka kejadian diperkirakan cenderung tetap tinggi yaitu sebesar 1,8 per 100.000 penduduk.^{2,3} Hal ini telah diprediksi oleh Du *et al* dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa angka kejadian kanker ginjal di negara-negara maju akan terus menurun hingga tahun 2030, namun pada negara-negara berkembang, angka kejadian justru akan terus meningkat secara persisten.⁴ Indonesia sendiri, hingga saat ini belum memiliki data kanker ginjal yang terperinci pada setiap sentra kesehatan di masing-masing provinsi, akan tetapi *Global Burden of Cancer (GLOBOCAN)* telah melaporkan angka kejadian kanker ginjal di Indonesia pada tahun 2018 ditemukan sebanyak 2.112 kasus, kemudian meningkat menjadi 2.394 kasus pada tahun 2020, begitu juga dengan angka kematian yang meningkat dari 1.225 kasus menjadi 1.358 kasus.^{5,6} *Renal Cell Carcinoma (RCC)* adalah sekelompok keganasan yang berasal dari epitel ginjal dan dibedakan berdasarkan karakteristik sel (seperti: morfologi, arsitektur, perubahan molekular, struktur embriologi dan penyakit ginjal yang mendasarinya). *Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC)* merupakan salah satu sub tipe histologi *RCC* yang paling umum ditemukan.⁷⁻⁹ Sub tipe ini menduduki urutan pertama dari 4 sub tipe terbanyak pada *RCC*, yaitu sebesar 75,93%.¹⁰ Tumor ini sering didiagnosis pada stadium lanjut dengan tingkat kelangsungan hidup 5 tahun hanya sebesar 12%.¹¹

Pada tahun 1889 seorang ahli bedah bernama Steven Paget menulis satu teori cikal bakal konsep metastasis yang mengumpamakan *tumor microenvironment (TME)* seperti “seed and soil”.¹² Konsep ini menjelaskan bahwa interaksi “seed” dianalogikan sebagai sel-sel

kanker dan “soil” sebagai sel-sel stroma (contoh: *CAF* dan *TILs*), *ECM* dan faktor pertumbuhan terlarut yang berada di sekitar tumor, merupakan istilah majemuk bagi terminologi “karsinoma”.¹³ Selama beberapa dekade, penatalaksanaan *ccRCC* hanya terpusat pada eliminasi sel-sel kanker, seperti terapi bedah maupun terapi sistemik. Namun, kegagalan terapi karena radioresisten dan kemoresisten kerap ditemukan sehingga mempengaruhi prognosis penderita *ccRCC*. Berbeda pada masa sekarang, penelitian klinis dengan agen penghambat *TGF- β* sangat menjanjikan keberhasilan efek antitumor apabila digunakan secara kombinasi dengan terapi kanker lainnya. Meskipun saat ini imunoterapi anti *programme death ligand-1 (PD-L1)* telah mencapai hasil klinis yang luar biasa untuk beberapa pasien dengan kanker stadium lanjut, namun resistensi terapi masih ditemukan pada beberapa kasus. Aktivasi *TGF- β* dan *CAF* di *TME*, dianggap sebagai penentu respon yang buruk terhadap blokade *PD-1/PD-L1*.¹⁴

TGF- β merupakan pemain utama selama proses tumorigenesis karena memberikan berbagai efek untuk mempertahankan jalur fungsional terhadap perkembangan kanker. Mekanisme kerja *TGF- β* di *TME* sangat kompleks dan terkadang *paradox* sehingga diperlukan banyak analisis genetik. Jalur yang paling fenomenal adalah ketika *TGF- β* mampu mengaktifkan *CAF* dari sekian banyak tipe sel-sel stroma pada organ solid.¹⁵ Pada penelitian sebelumnya, *FAP* yang merupakan salahsatu biomarker *CAF* yang tersering digunakan, diketahui berhubungan erat dengan *grading* dan ukuran tumor. Bahkan dalam penelitian multi-variat dijumpai hubungan *FAP* dengan tingkat agresifitas sel-sel kanker lebih kuat daripada *grading* dan *staging ccRCC*.(solano,lopez)^{16,17} Mazur *et al* menemukan peranan *FAP* dalam memproduksi matriks kolagen fibrilar terutama tipe 1 yang akan memicu proses patologi pada suatu stroma kanker.¹⁸

Alasan inilah mendorong para peneliti untuk membuktikan bahwa setiap komponen stroma dengan fungsi berbeda dan saling tumpang tindih tersebut memiliki peranan yang sama penting terhadap perkembangan dan progresifitas kanker sehingga pengembangan terapi target memfokuskan pada pendekatan sel-sel stroma dan *ECM* sebagai bagian yang tidak

terpisahkan dalam penatalaksanaan eradi-kasi kanker mulai diprioritaskan.¹⁹⁻²³ Penelitian yang komprehensif mengkaitkan peranan *TGF- β* bersama *TILs*, *FAP* dan deposisi kolagen terhadap perkembangan tumor masih sulit ditemukan terutama pada kasus-kasus *RCC*. Dalam penelitian ini, peneliti mencoba mencari hubungan dari beberapa komponen *TME* terhadap perkembangan *ccRCC*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian ini adalah slaid/blok paraffin dari penderita yang didiagnosis sebagai *ccRCC* di RSUP Haji Adam Malik Medan pada rentang waktu tahun 2012-2021 sebanyak 23 sampel. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah jaringan hasil biopsi dan operasi ginjal yang didiagnosis secara histopatologi sebagai *clear cell renal cell carcinoma*, data klinis yang lengkap meliputi: umur, jenis kelamin, ukuran tumor dan *grading ISUP*.

Blok parafin dipotong secara serial dan dilakukan 4 pewarnaan. Pewarnaan hematoksilin dan eosin untuk menilai *TILs* dan *grading ISUP*, imunohistokimia *TGF- β 1* (*Bioenzy, poly-clonal rabbit antibody*, pengenceran 1:200) dengan kontrol positif dari jaringan karsinoma payudara, imunohistokimia *FAP* (*Bioenzy, seprase poly-clonal antibody*, pengenceran 1:100) dengan kontrol positif dari jaringan karsinoma kolorektal dan histokimia *trichrome Massons* (*ScyTek Laboratories, Inc, USA*) untuk menilai *TACS*. Selanjutnya semua slaid dilakukan *review* bersama dua orang ahli patologi dengan menggunakan mikroskop *Olympus CX23*.

Ekspresi *TGF- β 1* adalah ekspresi penanda imunohistokimia *TGF- β 1* (sitokin pleiotropik) yang berfungsi meregulasi proses selular dan molekular sel-sel tumor.²⁴ Penilaiannya dilakukan secara semikuantitatif berdasarkan intensitas dan persentase warna coklat yang terekspresi pada sitoplasma sel-sel tumor dengan pembesaran 40 kali pada 5 lapang pandang sediaan mikroskopik.²⁵ Berdasarkan intensitas sel-sel tumor yang terwarnai dengan antibodi *TGF- β 1* dikategorikan menjadi skor 0-3, yaitu: 0 (negatif), 1 (lemah), 2 (sedang), 3 (kuat). Persentase ekspresi *TGF- β 1* dikategorikan menjadi 0-4, yaitu: 0 (\leq 5% sel-sel tumor yang terwarnai), 1 (6-25% sel-sel tumor yang terwar-

nai), 2 (26-50% sel-sel tumor yang terwarnai), 3 (51-75% sel-sel tumor yang terwarnai), 4 (76-100% sel-sel tumor yang terwarnai). Kemudian ekspresi dihitung dari perkalian skor intensitas dengan persentase ekspresi *TGF- β 1* yang dikategorikan sebagai berikut: Ekspresi lemah apabila skor \leq 4 dan ekspresi kuat apabila skor $>$ 4.

Ekspresi *FAP* adalah ekspresi penanda imunohistokimia pada permukaan sel *CAF* yang memiliki peranan dalam memicu faktor pertumbuhan dan degradasi *ECM*.²⁶ Penilaian ekspresi *FAP* stroma dan intratumoral dilakukan secara kualitatif berdasarkan keberadaan warna coklat pada sitoplasma sel *fibroblast* dengan pembesaran 40 kali. Ekspresi *FAP* stroma dinilai pada margin invasif tumor ke stroma, sedangkan *FAP* intratumoral dinilai pada stroma di sentra sarang-sarang tumor. Keduanya dinilai secara kualitatif berdasarkan pemeriksaan mikroskopik dan dikategorikan menjadi: ekspresi negatif apabila tidak dijumpai ekspresi *FAP* dan ekspresi positif: apabila dijumpai ekspresi *FAP* baik lemah maupun kuat.¹⁶

Tumor associated collagen signature (TACS) adalah kondisi deposisi kolagen yang dibedakan berdasarkan karakteristik dan letaknya dalam *TME*. Penilaian *TACS* menggunakan teknik histokimia dengan pewarnaan *trichrome Masson*. *TACS* terbagi menjadi 3 pola, yaitu: *TACS-1*, 2 dan 3. *TACS-1* apabila dijumpai bundel kolagen di dekat massa tumor dengan struktur bergelombang "*relaxed*", *TACS-2* apabila dijumpai bundel kolagen dengan struktur paralel "*stretching*" terhadap batas massa tumor dan *TACS-3* apabila dijumpai bundel kolagen dengan struktur tegak lurus terhadap massa tumor. Ketiga pola *TACS* tersebut dinilai dengan pembesaran 100 kali dan dikategorikan menjadi *TACS 1-3*: *TACS 1* apabila dijumpai *TACS-1*, *TACS 2*: apabila dijumpai *TACS-2* dan/atau *TACS-1*, *TACS 3* apabila dijumpai *TACS-3* dan/atau *TACS-1* dan *TACS-2*.²⁷

Penilaian derajat *TILs* dilakukan berdasarkan lokasi infiltrasi sel-sel limfosit. *TILs* intratumoral didefinisikan sebagai infiltrasi sel-sel radang limfosit kedalam sarang-sarang tumor yang merupakan sentral tumor. *TILs* stroma didefinisikan sebagai infiltrasi sel-sel radang limfosit pada stroma tumor yang terdekat dengan margin invasif.^{28,29} Keduanya dinilai secara kualitatif pada pembesaran objektif 100-400 kali dan dikategorikan menjadi 0-3: derajat 0 apabila

tidak ditemukan infiltrasi sel-sel radang limfosit, derajat 1 apabila ditemukan sedikit sel-sel radang limfosit yang tersebar, derajat 2 apabila dijumpai kelompokan fokal sel-sel radang limfosit, derajat 3 apabila dijumpai kelompokan sel-sel radang limfosit berbentuk nodular atau tersebar difus.²⁸

Penilaian *grading* dilakukan berdasarkan konsensus *International Society of Urological Pathology (ISUP)*, terbagi menjadi 4 *grade*: *grade* 1 apabila anak inti tidak tampak atau anak inti tidak jelas dan berwarna basofilik pada pembesaran 400 kali, *grade* 2 apabila anak inti mencolok dan berwarna eosinofilik pada pembesaran 400 kali dan dapat terlihat meskipun tidak menonjol pada pembesaran 100 kali, *grade* 3 apabila anak inti terlihat jelas dan berwarna eosinofilik pada pembesaran 100 kali dan *grade* 4 apabila Inti pleomorfik berat, *multinucleated giant cell*, diferensiasi sarkomatoid dan rabdoid.⁹

Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak statistik. Analisis univariat untuk melihat karakteristik klinikopatologi, yaitu: jenis kelamin, umur, ukuran tumor, ekspresi *TGF- β* , ekspresi *FAP* intra-tumoral dan stroma, pola *TACS* dan derajat *TILs* intratumoral dan stroma. Analisis bivariat digunakan untuk melihat hubungan beberapa variabel independen diatas dengan *grading ISUP*. Seluruhnya menggunakan uji non parametrik *Fisher's Exact test*. Nilai $p < 0,05$ dinyatakan bermakna secara statistik.³⁰

HASIL

Tabel 1. Distribusi data klinis sampel *clear cell renal cell carcinoma*.

Karakteristik	Jumlah=n	Persentase (%)
Jenis kelamin		
Laki-laki	17	73,9
Perempuan	6	26,1
Kelompok umur, rerata \pm SB tahun	46,87 \pm 17,59	
<10 tahun	0	0
10-20 tahun	1	4,3
21-30 tahun	2	8,7
31-40 tahun	5	21,7
41-50 tahun	4	17,4
51-60 tahun	7	30,4
61-70 tahun	2	8,7
>70 tahun	2	8,7
Ukuran tumor, rerata \pm SB cm	8,513 \pm 4,73	
\leq 4 cm	5	21,7
>4- \leq 7 cm	6	26,1
>7- \leq 10 cm	5	21,7
>10 cm	7	30,4

SB: Simpangan baku

Sebagian besar penderita baik laki-laki dan perempuan dalam penelitian ini memiliki *high*

grade ccRCC, masing-masing sebanyak 15 kasus (65,2%) 5 kasus (21,7%). Hasil uji *Fisher* didapatkan nilai $p=0,616$ ($p < 0,05$). Sebagian besar penderita berumur ≤ 60 tahun dan > 60 tahun, masing-masing memiliki *high grade ccRCC* sebanyak 17 (73,9%) kasus dan 3 (13,0%) kasus. Hasil analisis *Fisher's Exact test* didapatkan nilai $p=0,453$ ($p < 0,05$). Sebagian besar penderita yang memiliki tumor *ccRCC* yang berukuran > 7 cm dan ≤ 7 cm menunjukkan *high grade ccRCC*, masing-masing sebanyak 11 (47,8%) kasus 2 (13,0%) kasus. Hasil uji *Fisher's Exact test* didapatkan nilai $p=0,466$ ($p < 0,05$). Maka secara statistik dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jenis kelamin, umur dan ukuran tumor dengan *grading ISUP* pada *ccRCC* (Tabel 2).

Tabel 2. Distribusi hubungan karakteristik klinis dengan *grading* tumor pada *clear cell renal cell carcinoma*.

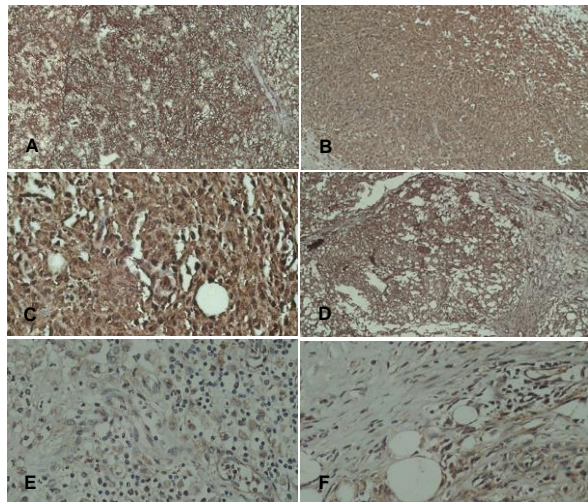
Karakteristik	Grading ISUP		Total n (%)	p
	Low grade n (%)	High grade n (%)		
Jenis kelamin				0,616
Laki-laki	2 (8,7)	15 (65,2)	17 (73,9)	
Perempuan	1 (4,3)	5 (21,7)	6 (26,1)	
Usia				0,453
≤ 60 tahun	2 (8,7)	17 (73,9)	19 (82,6)	
> 60 tahun	1 (4,3)	3 (13,0)	4 (17,4)	
Ukuran tumor				0,466
≤ 7 cm	2 (8,7)	9 (39,1)	11 (47,8)	
> 7 cm	1 (4,3)	11 (47,8)	12 (52,2)	
Total	3 (13)	20 (87)	23 (100)	

Pada penelitian ini ditemukan sebagian besar sampel menunjukkan ekspresi *TGF- β* tinggi yang terdistribusi pada *high grade ccRCC* sebanyak 19 (82,6%) kasus dan ekspresi *TGF- β* yang rendah ditemukan sebanyak 2 (8,7%) kasus yang terdistribusi merata pada semua *grading* tumor, masing-masing sebanyak 1 (4,3%) kasus. Ekspresi *TGF- β* tidak berhubungan signifikan dengan *grading ISUP* ($p=0,249$) (Tabel 4, Gambar 1A-C). Pada sebagian besar sampel menunjukkan ekspresi *FAP* intratumoral positif yang lebih banyak terdistribusi pada *high grade ccRCC* sebanyak 13 (56,5%) kasus dan ekspresi *FAP* intratumoral negatif yang hanya ditemukan sebanyak 1 (4,3%) kasus pada *high grade ccRCC*. Ekspresi *FAP* intratumoral tidak berhubungan signifikan dengan *grading ISUP* ($p=1,000$). Sebagian besar sampel menunjukkan ekspresi *FAP* stroma yang positif yang lebih banyak terdistribusi pada *high grade ccRCC* sebanyak 18 (78,3%) kasus, meskipun

ditemukan sebanyak 2 (8,7%) kasus pada *high grade ccRCC*. Ekspresi *FAP* stroma tidak berhubungan signifikan dengan *grading ISUP* ($p=0,356$) (Tabel 4, Gambar 1D-F).

Tabel 3. Distribusi sampel *clear cell renal cell carcinoma* berdasarkan karakteristik mikroskopik.

Karakteristik	Jumlah=n	Persentase (%)
Grading ISUP		
Grade I	0	0
Grade II	3	13
Grade III	6	26,1
Grade IV	14	60,9
Ekspresi TGF-β		
Lemah	2	8,7
Kuat	21	91,3
FAP intratumoral		
Ekspresi negatif	1	4,3
Ekspresi positif	22	95,7
FAP stroma		
Ekspresi negatif	3	13
Ekspresi positif	20	87
TACS		
TACS 1	3	13
TACS 2	7	30,4
TACS 3	13	56,5
TILs Intratumoral		
Negatif	1	4,3
Sedikit	11	47,8
Fokal	1	4,3
Nodular/difus	10	43,5
TILs stroma		
Negatif	0	0
Sedikit	8	34,8
Fokal	3	13
Nodular/difus	12	52,2

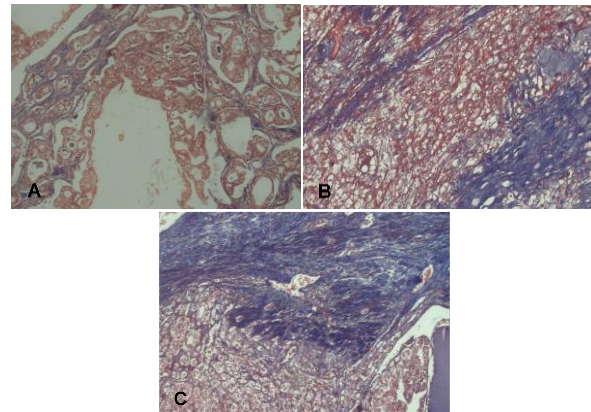


Gambar 1. Ekspresi TGF- β 1 dan FAP pada *ccRCC*. A. Ekspresi TGF- β 1 kuat, B. Ekspresi TGF- β 1 lemah, C. Ekspresi TGF- β 1 pada pembesaran kuat, D. Ekspresi FAP positif pada fibroblast intratumoral dan stroma, E. Ekspresi FAP positif pada fibroblast intratumoral, F.

Ekspresi *FAP* positif pada fibroblast stroma (A,B dan D. 40 kali. C, D dan E, 400 kali).

Tabel 4. Distribusi hubungan karakteristik mikroskopik dengan *grading ISUP* pada *clear cell renal cell carcinoma*.

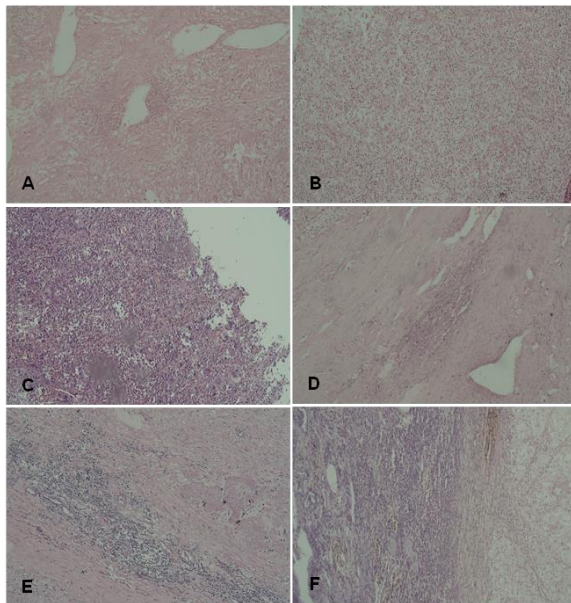
Karakteristik	Grading ISUP		Total n (%)	p
	Low grade n (%)	High grade n (%)		
TGF-β				
Lemah	1 (4,3)	1 (13,1)	2 (8,7)	0,249
Kuat	2 (8,7)	19 (73,9)	21 (91,3)	
FAP intratumoral				
Negatif	0 (0)	1 (4,3)	1 (4,3)	1,000
Positif	3 (13)	19 (82,7)	22 (95,7)	
FAP stroma				
Negatif	1 (4,3)	2 (8,7)	3 (13)	0,356
Positif	2 (8,7)	18 (78,3)	20 (87)	
Ekspresi TACS				
TACS 1/2	2 (8,7)	9 (39,1)	11 (47,8)	0,590
TACS 3	1 (4,3)	11 (47,8)	12 (52,2)	
TILs Intratumoral				
Ekspresi negatif	1 (4,3)	11 (47,8)	12 (52,2)	0,590
Ekspresi positif	2 (8,7)	9 (39,1)	11 (47,8)	
TILs stroma				
Ekspresi negatif	1 (4,3)	7 (30,4)	8 (34,8)	1
Ekspresi positif	2 (8,7)	13 (56,5)	15 (65,2)	
Total	3 (13)	20 (87)	23 (100)	



Gambar 2. TACS pada *ccRCC*. A. TACS-1, B. TACS-2, C. TACS-3 (Trichome Masson, 100 kali)

Berdasarkan Tabel 4 sebagian besar sampel menunjukkan pola TACS-1/2 dan TACS-3, keduanya terdistribusi hampir sama pada *high grade ccRCC* yaitu sebanyak 11 (47,8%) kasus dan 9 (39,1%) kasus. Namun pola TACS-1/2 lebih banyak tertampil pada *low grade ccRCC* sebanyak 2 (8,7%) kasus dibandingkan dengan *high grade ccRCC* sebanyak 1 (4,3%) kasus. Pola TACS tidak berhubungan signifikan dengan *grading ISUP* ($p=0,590$). (Tabel 4, Gambar 2). Sebagian besar sampel menunjukkan keberadaan TILs intratumoral negatif yang terdistribusi lebih banyak pada *high grade ccRCC* sebanyak

11 (47,8%). Begitu pula dengan *TILs* intratumoral positif yang terdistribusi pada *high grade ccRCC* sebanyak 9 (39,1%) kasus. Hal ini menunjukkan bahwa secara umum tidak terdapat perbedaan yang mencolok antara keberadaan *TILs* intratumoral yang positif atau negatif dengan *grading* tumor pada *ccRCC*. Keberadaan *TILs* intratumoral tidak berhubungan signifikan dengan *grading ISUP* ($p=0,590$) (Tabel 4, Gambar 3A-C).



Gambar 3. Derajat *TILs* pada *ccRCC*. A. *TILs* intratumoral sedikit, B. *TILs* intratumoral fokal, C. *TILs* intratumoral yang difus/nodular, D. *TILs* stroma sedikit, E. *TILs* stroma fokal dan, F. *TILs* stroma yang difus/nodular (H&E, 100 kali).

Sebagian besar sampel menunjukkan keberadaan *TILs* stroma positif yang terdistribusi hampir sama banyak pada *high grade ccRCC* dan *low grade ccRCC*, masing-masing sebanyak 12 (47,8%) kasus dan 9 (39,1%) kasus. Namun *TILs* stroma yang negatif juga lebih banyak terekspresi pada *high grade ccRCC* sebanyak 8 (34,8%) kasus. Hal ini menunjukkan bahwa secara umum tidak terdapat perbedaan yang mencolok antara keberadaan *TILs* stroma yang positif atau negatif dengan *grading* tumor pada *ccRCC*. Keberadaan *TILs* tidak berhubungan signifikan dengan *grading ISUP* ($p=0,466$) (Tabel 4, Gambar 3D-F).

DISKUSI

Clear cell Renal Cell Carcinoma (ccRCC) merupakan salah satu subtype *RCC* yang berasal dari tubulus proksimal ginjal dan memiliki angka kejadian sebesar 75,93%.¹⁰ *Grading* tumor merupakan salah satu metode untuk melihat *behavior* dan memprediksi prognosis penderita *ccRCC* berdasarkan gambaran histopatologi spesimen. Sistem *grading ISUP* telah menjadi pengganti dari sistem *grading Furhman* yang telah digunakan bertahun-tahun sebelumnya.^{31,32} Pada penelitian ini ditemukan sebagian besar penderita berada pada *grade IV* sebanyak 60,9% yang didominasi oleh penderita laki-laki berusia ≤ 60 tahun dan memiliki ukuran tumor > 7 cm. Hal ini sejalan dengan penelitian dengan penelitian Seker *et al* yang mengelompokkan *grading ISUP* menjadi 3 tingkatan (*low*, *intermediate* dan *high grade*) berdasarkan kombinasi 2 *grade* yang dominan dalam satu sediaan, di mana didapatkan sebagian besar penderita *high grade ccRCC* yang didominasi oleh penderita laki-laki dan memiliki ukuran tumor rata-rata > 7 cm.³³ Hasil ini berbeda dengan penelitian Dagher *et al* yang menemukan sebagian besar penderita *ccRCC* memiliki tumor *ccRCC grade II* sebanyak 50,3% yang didominasi penderita laki-laki berusia 36-88 tahun dan memiliki ukuran rata-rata tumor *ccRCC* 7,6 cm.³¹ *ccRCC* merupakan tumor primer yang memiliki gambaran histologi heterogen sehingga penilaiannya dipengaruhi banyak faktor, salah satunya *prosesing* jaringan tidak sesuai standar. Beberapa peneliti menggagas untuk dilakukan kombinasi beberapa *grade* dalam satu sediaan untuk mendapatkan penilaian *grading ccRCC* yang lebih valid.³³ Selain itu keberadaan nukleoli pada penilaian *grading ISUP* berperan penting dalam proses karsinogenesis dan berkaitan dengan *outcome* penderita kanker. Apabila terjadi perubahan morfologi dan fungsional dari nukleoli, maka akan terjadi overproduksi ribosom dan penurunan biogenesis ribosom, yang selanjutnya menyebabkan pertumbuhan dan proliferasi sel-sel tumor yang tidak terkontrol.^{34,35} Proliferasi sel yang tidak terkontrol juga berdampak pada penambahan ukuran tumor baik secara langsung maupun tidak langsung. Dalam salah satu jurnal yang ditulis oleh Narla *et al* menyebutkan bahwa ribosomopati yang dimiliki orang-orang dengan penyakit hereditier menyebabkan perubahan biogenesis dan fungsi ribosom yang akan mentranslasi protein

sehingga menghasilkan suatu fenotip tertentu.³⁶ Pada penelitian ini sebagian besar penderita *ccRCC* berusia ≤ 60 tahun dan memiliki *high grade ccRCC*. Hal ini mungkin disebabkan sebagian besar penderita *ccRCC* menunjukkan mutasi gen *VHL* yang hereditas, namun diperlukan pemeriksaan genetik yang lebih lanjut untuk membuktikannya.

Perkembangan dan progresifitas kanker tidak hanya disebabkan oleh sel kanker itu sendiri, namun disebabkan dari interaksi sel-sel kanker dengan *tumor microenvironment (TME)*. *TGF- β* merupakan sitokin *pleiotropic* didalam suatu *TME* yang selalu dijumpai pada beberapa tumor termasuk *clear cell renal cell carcinoma*.³⁷ Hingga saat ini, *TGF- β 1* merupakan isoform yang paling banyak diteliti karena sering menunjukkan overekspresi pada beberapa tumor melalui pemeriksaan immunohistokimia sehingga peneliti memilih isoform tersebut dalam penelitian ini.³⁸ Sebagian besar sampel dalam penelitian ini menunjukkan ekspresi *TGF- β 1* yang kuat hampir seluruhnya dijumpai pada *high grade ccRCC*. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *activated TGF- β* selalu dijumpai pada beberapa tumor termasuk *clear cell renal cell carcinoma*.³⁷ Mutasi gen *VHL* menyebabkan inaktivasi *pVHL* yang mencegah degradasi *HIF α* . Akumulasi *HIF α* yang berlebih-an merangsang respon seluler yang akan mengaktifkan *TGF- β mRNA* pada tingkat *post transcriptional*.³⁷

CAF merupakan kelompok sel-sel yang menunjukkan fenotip seperti *fibroblast*, akan tetapi memiliki genotip yang berbeda daripada *resident fibroblast*. Sel-sel ini dapat ditemukan berkontak langsung (*intratumoral*) atau disekitar sel-sel tumor.^{20,39} *CAF* memiliki berbagai macam peranan dalam perkembangan tumor.⁴⁰ Pada tahap awal perkembangan kanker, *CAF* diketahui membantu sel-sel kanker dengan memproduksi *matrix metalloproteinase (MMP)*, yaitu suatu enzim proteolitik yang menyebabkan terjadinya degradasi kolagen tipe IV dan akhirnya membran basal dapat ditembus oleh sel-sel kanker.⁴¹ *CAF* juga mengorganisasi *ECM* dan mengubah sifat fisik membran basal dengan menarik, meregangkan, dan melunakkan membran basal, sehingga terbuka celah untuk invasi sel-sel kanker.⁴² Pada tahap lanjut pada *intersisial*, *CAF* berperan memproduksi matriks kolagen fibrilar terutama tipe 1 yang menyebabkan kekakuan *ECM*.⁴³⁻⁴⁶ Pada penelitian ini

sebagian besar sampel menunjukkan ekspresi *FAP* *intratumoral* dan *FAP* stroma. Apabila dihubungkan dengan *grading ISUP*, ditemukan sebagian besar overekspresi *FAP* *intratumoral* dan stroma dijumpai pada tumor yang *high grade* dibandingkan yang *low grade ccRCC*. Patogenesisnya terkait dengan malfungsi gen *VHL* yang menyebabkan akumulasi *HIF1- α* . *FAP* yang mengekspresikan *CAF* memiliki efek protumorigenik sejak awal perkembangan *ccRCC*.⁹ Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian Lopez *et al* yang melaporkan bahwa ekspresi *FAP* *intratumoral* positif hanya ditemukan pada *high grade ccRCC*. Namun Ituri *et al* melaporkan bahwa tidak ada perbedaan ekspresi yang signifikan antara *FAP* *intratumoral* dan stroma dengan *grading* tumor. Ekspresi *FAP* *intratumoral* dan stroma yang cenderung dijumpai pada *grading* yang tinggi membuktikan teori di mana keberadaan *CAF* memiliki peranan dari awal perkembangan kanker disekitar tumor hingga tahap lanjut di mana kanker sudah mulai menginvasi ke stroma yang lebih jauh. Mekanisme interaksi antara *RCC* dengan *CAF* belum diketahui sepenuhnya. Chen *et al* tahun 2021 melaporkan dari penderita *high grade RCC* yang hampir seluruhnya menunjukkan kemampuan *CAF* memfasilitasi resistensi kemoterapi dan menstimulasi progresifitas tumor secara *in vitro* dan *in vivo*. Secara mekanis, ekspresi *tryptofan 2,3-dioksigenase (TDO)* yang diregulasi oleh *CAF*, menghasilkan peningkatan sekresi *kynurenine (Kyn)*. *Kyn* yang dihasilkan dari *CAF* dapat meningkatkan ekspresi *aromatic hidrokarbon receptor (AhR)*, yang pada akhirnya menghasilkan aktivasi jalur pensinyalan *AKT* dan *STAT3*. Penghambatan sinyal *AKT* mencegah proliferasi sel kanker, sedangkan penghambatan *signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)* mengembalikan resistensi obat dan migrasi kanker yang diinduksi oleh *kynurenine*.⁴⁷

Kolagen merupakan komponen terbanyak dari matriks ekstraseluler yang dihasilkan oleh *CAF* dan dapat dibuktikan keberadaannya melalui pewarnaan *trichrome Masson*.⁴⁸ Provenzano orang pertama yang menggagas *TACS* sebagai salah satu pola penilaian karakteristik dan lokasi kolagen secara kualitatif. Tumor yang letaknya radial sepanjang sel-sel tumor cenderung mempermudah invasi sel-sel tumor.⁴⁹ Pada penelitian ini, sebagian besar sampel menunjukkan *TACS-3* dibandingkan

TACS 1 dan 2. Namun apabila dikategorikan menjadi dua kelompok dan dihubungkan dengan *grading ISUP*, TACS-3 lebih banyak ditemukan pada *high grade ccRCC* sehingga tampaknya deposisi dan tata letak kolagen berkorelasi dengan kenaikan *grading* tumor meskipun didapatkan hasil statistik yang tidak signifikan. Hasil ini sejalan dengan penelitian Best *et al* yang melaporkan bahwa densitas kolagen dan tata letak kolagen yang lurus berkorelasi dengan *grade 4 RCC*.⁵⁰ Penelitian Puri pada *invasive breast carcinoma* melaporkan sebagian besar TACS-3 terekspresi pada tumor yang *high grade*.²⁷ Hasil yang berbeda ditemukan oleh Shi *et al* yang melaporkan bahwa dari beberapa jenis kolagen, hanya *collagen type IV alpha 4 chain (COL4A4)* memiliki sifat antimorigenik yang signifikan pada tumor *ccRCC*, sedangkan 4 jenis kolagen lainnya seperti *COL7A1*, *Interleukin-6 (IL6)* dan *fibronectin 1 (FN1)* memiliki kecenderungan meningkat seiring dengan kenaikan *grading* tumor. Kecenderungan penemuan deposisi kolagen yang melimpah berkorelasi dengan *high grade ccRCC*, mungkin disebabkan oleh karena proliferasi sel-sel kanker yang terlalu cepat akan merangsang CAF untuk menghasilkan sejumlah ECM (kolagen yang terbanyak).⁵¹

Kanker adalah penyakit genomik yang ditandai dengan ketidakstabilan genom sehingga terakumulasi banyak mutasi titik dan perubahan struktural. Variasi genom dapat memunculkan antigen tumor, yang dapat dikenali oleh sistem kekebalan sebagai *nonself* sehingga menimbulkan respons imun seluler.⁵² Pada penelitian TILs intratumoral, sebagian besar sampel menunjukkan infiltrasi tumor yang sedikit, sedangkan infiltrasi limfosit masif yang membentuk nodular lebih dominan pada stroma. Apabila dihubungkan dengan *grading* tumor maka sebagian besar sampel baik TILs intratumoral maupun stroma yang positif (fokal dan difus/nodular) terekspresi pada *high grade ccRCC*, meskipun ditemukan pula TILs yang negatif (negatif atau TILs sedikit) pada *high grade ccRCC*. Hal ini menunjukkan keberadaan TILs yang tinggi memiliki kecenderungan sebagai prediktor protumorigenik pada penderita *ccRCC*. Sulit menemukan penelitian yang menghubungkan derajat TILs dengan *grading ISUP* pada *ccRCC*. Penelitian Joung *et al* pada tahun 2018 menjumpai hubungan yang bermakna antara TILs intratumoral dengan peningkatan *grading*

Furhman pada *ccRCC*.²⁸ Geissler *et al* juga melaporkan hal yang serupa di mana TILs intratumoral yang tinggi lebih banyak ditemukan pada *high grade ccRCC* dibandingkan sub tipe RCC yang lain. Penelitian oleh Ghatalia *et al* pada RCC melaporkan bahwa baik TILs intratumoral dan stroma yang tinggi, keduanya berkorelasi dengan dengan *high grade* tumor dan bertolak belakang dengan angka kejadian rekurensi *ccRCC* yang rendah.⁵³ Peranan dan mekanisme sel-sel radang limfosit terhadap perkembangan tumor belum sepenuhnya diketahui. Pada awalnya sel-sel tumor mampu menekan pertumbuhan tumor, namun seiring dengan progresifitas tumor, sel-sel imun ini pun semakin infiltratif. Kemampuan tumor melarikan diri dari sel-sel imun ada hubungannya dengan peranan komponen TME, seperti: *TGF- β* , *IL-10*, *ganglioside*, *adenosin*, *reactive oxygen stress* dan *trombospondin*.⁵⁴⁻⁵⁶ Hipoksia kronik pada RCC dapat menginduksi *immunogenic cell death (ICD)* sehingga memberikan prognosis yang buruk. Kondisi ini telah terbukti menekan aktivasi TILs, menghasilkan imunosupresi dan penghindaran sel kanker.⁵⁷

KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian terhadap 23 sampel *ccRCC* ditemukan bahwa ekspresi *TGF- β 1*, ekspresi *FAP* intratumoral dan stroma, pola TACS dan derajat TILs intratumoral dan stroma tidak berhubungan secara signifikan dengan *grading ISUP* pada penderita *ccRCC*. Namun ekspresi *TGF- β* yang kuat, ekspresi *FAP* intratumoral dan intratumoral yang positif, pola TACS-3, derajat TILs intratumoral yang negatif dan TILs stroma yang positif menunjukkan kecenderungan dijumpai pada *high grade ccRCC*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Capitanio U, Coleman J, Gore JL, Sun M, Wood C, Russo P, *et al*. Epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol*. 2018;75(1):74-84.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, *et al*. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;0(0):1-41.
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL,

- Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA cancer J Clin.* 2018;68:394-424.
4. Du Z, Chen W, Xia Q, Shi O, Chen Q. Trends and projections of kidney cancer incidence at the global and national levels, 1990-2030: A Bayesian age-period-cohort modeling study. *Biomark Res.* 2020;8(1):1-10.
 5. International Agency for Research on Cancer (IARC). Indonesia-Global Cancer Observatory [Internet]. The global cancer observatory. 2020. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>
 6. International Agency for Research on Cancer (IARC). Indonesia GLOBOCAN 2018 [Internet]. The global cancer observatory. 2019. Available from: <http://gco.iarc.fr/>
 7. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, *et al.* The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver classification of renal neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2013; 37(10): 1469-89.
 8. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO classification of tumours of the urinary System and male genital organs. *J Urol.* 2016;70(1):p.93-105.
 9. Moch H, Steven B, Delahunt B, Eble J, Egevad L, Grignon D, *et al.* Clear cell renal cell carcinoma. In: Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE, editors. *World Health Organization Classification of Tumours WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs.* 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2016. p. 18-21.
 10. Abdel-Rahman O. Impact of histological subtype on outcomes of renal cell carcinoma patients. *J Drug Assess.* 2018;7(1):14-20.
 11. Padalaa SA, Barsouk A, Thandrac KC, Saginalad K, Mohammeda A, Vakitie A, *et al.* Epidemiology of renal cell carcinoma. *World J Oncol.* 2020;11(3):79-87.
 12. Paget S. Distribution of secondary growths in cancer of breast. *Lancet.* 1989;(21):571-3.
 13. Erdogan B, Mingfang A, White LM, Means AL, Brewer BM, Yang L, *et al.* Cancer-associated fibroblasts promote directional cancer cell migration by aligning fibronectin. *J Cell Biol.* 2017;216(11):3799-3816.
 14. Ganesh K, Massagué J. TGF- β inhibition and immunotherapy: checkmate. *Immunity.* 2018;48(4):626-8.
 15. Calon A, Tauriello DVF, Batlle E. TGF-beta in CAF-mediated tumor growth and metastasis. *Semin Cancer Biol.* 2014;25:15-22.
 16. Solano-Iturri JD, Errarte P, Etxezarraga MC, Echevarria E, Angulo J, López JI, *et al.* Altered tissue and plasma levels of fibroblast activation protein- α (FAP) in renal tumours. *Cancers (Basel).* 2020;12(11):1-16.
 17. López JI, Errarte P, Erramuzpe A, Guarch R, Cortés JM, Angulo JC, *et al.* Fibroblast activation protein predicts prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Hum Pathol.* 2016;54:100-5.
 18. Mazur A, Holthoff E, Vadali S, Kelly T, Post SR. Cleavage of type I collagen by fibroblast activation protein- α enhances class A scavenger receptor mediated macrophage adhesion. *PLoS One.* 2016;11(3):1-16.
 19. Gascard P, Tistry TD. Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy. *GENES Dev.* 2016;30:1002-19.
 20. Ishii G, Ochiai A, Neri S. Phenotypic and functional heterogeneity of cancer-associated fibroblast within the tumor microenvironment. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;99:186-96.
 21. Shiga K, Hara M, Nagasaki T, Sato T, Takahashi H. Cancer-associated fibroblasts: their characteristics and their roles in tumor growth. *Cancers (Basel).* 2015;(7):2443-58.
 22. Bolling M. Tumor microenvironment derived biomarkers in renal cell cancer. *Karolinska Institutet Stockholm Sweden;* 2017.
 23. Heidegger I, Pircher A, Pichler R. Targeting the tumor microenvironment in renal cell cancer biology and therapy. *Front Oncol.* 2019;9:1-11.
 24. Boguslawska J, Kryst P, Poletajew S, Piekuelko-witkowska A. *Genitourinary Cancers.* *Cells.* 2019;8:1-40.
 25. Ji F, Fu SJ, Shen SL, Zhang LJ, Cao QH, Li SQ, *et al.* The prognostic value of combined TGF- β 1 and ELF in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* 2015;15(1):1-11.
 26. Teichgräber V, Monasterio C, Chaitanya K, Boger R, Gordon K, Dieterle T, *et al.* Specific inhibition of fibroblast activation protein (FAP)- α prevents tumor progression in vitro. *Adv Med Sci.* 2015;60(2):264-72.

27. Puri M. Role of cancer associated adipocytes (CAA) and tumour associated collagen structures (TACS) in breast cancer cell invasion and metastasis. University of Otago; 2018.
28. Joung JW, Oh KH, Lee SJ, Kim YA, Jung HJ. Significance of intratumoral fibrosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol Tradit Med.* 2018;52:323-30.
29. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, *et al.* Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors. Vol. 24, *Advances In Anatomic Pathology.* 2017. p. 1-32.
30. Dahlan MS. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. 6th ed. Jakarta: Epidemiologi Indonesia; 2017. p. 1-23, 100, 106, 221-39, 243-4.
31. Dagher J, Delahunt B, Rioux-leclercq N, Egevad L, Srigley JR, Coughlin G, *et al.* Clear cell renal cell carcinoma: Validation of WHO/ISUP grading. *Histopathology.* 2017;71(6):918-25.
32. Samaratunga H, Gianduzzo T, Delahunt B. The ISUP system of staging , grading and classification of renal cell neoplasia. *J Kidney Cancer VHL.* 2014;1(3):26-39.
33. Nazlı Sena S, Ozan B, Güven A, Elif Gokce D, Emine Burçin T. A New Grading for Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Combined WHO/ISUP Grading System. *Int J Pathol Clin Res.* 2020;6(2):1-7.
34. Bahadori M. New insights into connection of nucleolar functions and cancer. *Tanaffos.* 2019;18(3):173-9.
35. Stepiński D. The nucleolus, an ally, and an enemy of cancer cells. *Histochem Cell Biol.* 2018;150(6):607-29.
36. Narla A, Ebert BL. Ribosomopathies: Human disorders of ribosome dysfunction. *Blood.* 2010;115(16):3196-205.
37. Boström AK, Lindgren D, Johansson ME, Axelson H. Effects of TGF- β signaling in clear cell renal cell carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;435(1):126-33.
38. Neel J-C, Humbert L, Lebrun J-J. The dual role of TGF β in human cancer: from tumor suppression to cancer metastasis". *Int Sch Res Not.* 2018;2012:1-28.
39. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Publ Gr.* 2016;16(9):582-98.
40. Caja L, Dituri F, Mancarella S, Caballero-diaz D, Moustakas A, Giannelli G, *et al.* TGF- β and the tissue microenvironment : relevance in fibrosis and cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1-24.
41. Nissen NI, Karsdal M, Willumsen N. Collagens and Cancer associated fibroblasts in the reactive stroma and its relation to Cancer biology. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):1-12.
42. Glentis A, Oertle P, Mariani P, Chikina A, El Marjou F, Attieh Y, *et al.* Cancer-associated fibroblasts induce metalloprotease-independent cancer cell invasion of the basement membrane. *Nat Commun.* 2017;8(1):1-13.
43. Yamauchi M, Barker TH, Gibbons DL, Kurie JM. The fibrotic tumor stroma. *J Clin Invest.* 2018;128(1):16-25.
44. Bancroft JD, Layton C. Connective and Mesenchymal Tissue with Their Stain. In: Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 7th ed. Nottingham: Elsevier Ltd; 2013. p.188-214.
45. Dong S, Huang Z, Tang L, Zhang X, Zhang Y. A three-dimensional collagen-fiber network model of the extracellular matrix for the simulation of the mechanical behaviors and micro structures. *Comput Methods Biomech Biomed Engin.* 2017;5842:1-13.
46. Pankova D, Chen Y, Terajima M, Schliekelman MJ, Brandi N, Fahrenholtz M, *et al.* Cancer-associated fibroblasts induce a collagen cross-link switch in tumor stroma. *Mol Cancer Res.* 2017;14(3):287-95.
47. Chen LB, Zhu SP, Liu TP, Zhao H, Chen PF, Duan YJ, *et al.* Cancer Associated Fibroblasts Promote Renal Cancer Progression Through a TDO/Kyn/AhR Dependent Signaling Pathway. *Front Oncol.* 2021;11(March):1-10.
48. Rybinski B, Franco-barraza J, Cukierman E, Rybinski B, Franco-barraza J, Cukierman E. The wound healing, chronic fibrosis, and cancer progression triad. *Physiol Genomics.* 2014;111(46):223-44.
49. Provenzano PP, Eliceiri KW, Campbell JM, Inman DR, White JG, Keely PJ. Collagen reorganization at the tumor-stromal interface facilitates local invasion. *BMC Med.* 2006;4:1-15.
50. Best SL, Liu Y, Keikhosravi A, Drifka CR,

- Woo KM, Mehta GS, *et al.* Collagen organization of renal cell carcinoma differs between low and high grade tumors. *BMC Cancer*. 2019;19(1):1-8.
51. Shi X, Lu C. A Five Collagen-related Gene Signature to Estimate the Prognosis and Immune Microenvironment in Clear Cell Renal Cell Cancer. 2020. 0-33 p.
 52. Hansen UK, Ramskov S, Bjerregaard AM, Borch A, Andersen R, Draghi A, *et al.* Tumor-infiltrating T cells from clear cell renal cell carcinoma patients recognize neoepitopes derived from point and frameshift mutations. *Front Immunol*. 2020;11:p.1-12.
 53. Ghatalia P, Gordetsky J, Kuo F, Dulaimi E, Cai KQ, Devarajan K, *et al.* Corrections to: Prognostic impact of immune gene expression signature and tumor infiltrating immune cells in localized clear cell renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2019;7(1):1-12.
 54. Kotsafti A, Scarpa M, Castagliuolo I, Scarpa M. Reactive oxygen species and antitumor immunity-from surveillance to evasion. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1-16.
 55. Strakhova R, Cadassou O, Cros-Perrial E, Jordheim LP. Regulation of tumor infiltrated innate immune cells by adenosine. *Purinergic Signal*. 2020;16(3):289-95.
 56. Ciardiello D, Elez E, Tabernero J, Seoane J. Clinical development of therapies targeting TGF β : current knowledge and future perspectives. *Ann Oncol*. 2020;31(10):p.1336-49.
 57. Vito A, El-Sayes N, Mossman K. Hypoxia-Driven Immune Escape in the Tumor Microenvironment. *Cells*. 2020;9(4):1-20.