

Relationship between TIM-3 Immune Response Expression and Nasopharyngeal Carcinoma Histopathology

Vina Andita Harahap¹, Farhat^{1*}, Siti Nursiah¹, Ashri Yudhistira¹, Ramlan Sitompul¹, Juliandi Harahap¹

¹Department of Otorhinolaryngology and Head Neck Surgery, Faculty of Medicine, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia;

Article History

Received : December 15th, 2025

Revised : December 25th, 2025

Accepted : December 29th, 2025

*Corresponding Author:

Farhat, Department of Otorhinolaryngology and Head Neck Surgery, Faculty of Medicine, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia;

Email: farhat@usu.ac.id

Abstract: Nasopharyngeal carcinoma is a malignancy of the nasopharyngeal epithelium that is often diagnosed at an advanced stage and is associated with impaired immune regulation in the tumor microenvironment. T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3) is an immune checkpoint molecule that plays a role in suppressing the antitumor immune response. This study aims to analyze the relationship between TIM-3 immune response expression and the histopathological type of nasopharyngeal carcinoma. An analytical study with a cross-sectional design was conducted on 40 paraffin blocks of nasopharyngeal carcinoma patients at H. Adam Malik General Hospital, Medan, selected by consecutive sampling. TIM-3 expression was analyzed using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) with the calculation of ΔCT values against the control gene β -actin. Univariate analysis was used to describe the characteristics of the subjects, while bivariate analysis used the Kruskal–Wallis test to assess the relationship between TIM-3 expression and histopathological type. The majority of subjects were male (65%) with a mean age of 48.2 ± 11.1 years. The most common histopathological type was non-keratinizing squamous cell carcinoma (90%). The mean TIM-3 expression was 4.3 ± 1.6 with a median of 4.8 (–0.1–6.7), and 97.5% of samples showed increased expression. The Kruskal–Wallis test showed no significant correlation between TIM-3 expression and histopathological type ($p = 0.452$). It was concluded that TIM-3 expression is generally increased in nasopharyngeal carcinoma, but is not significantly associated with histopathological type. Further research is needed to evaluate the biological role and therapeutic potential of TIM-3 in this disease.

Keywords: Histopatologi, immune checkpoint, karsinoma nasofaring, TIM-3, RT-PCR.

Pendahuluan

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan keganasan epitel nasofaring yang termasuk dalam kelompok kanker kepala dan leher dengan distribusi geografis yang khas. Insidensinya relatif rendah secara global, namun meningkat secara signifikan di wilayah endemik seperti Asia Tenggara dan Cina Selatan (Sung et al., 2021). Di Indonesia, KNF termasuk salah satu kanker dengan beban morbiditas yang tinggi dan sering terdiagnosis pada stadium lanjut. Secara histopatologis,

KNF diklasifikasikan menurut World Health Organization (WHO) menjadi karsinoma sel skuamosa berkeratinisasi, tidak berkeratinisasi, dan tidak berdiferensiasi (WHO, 2017). Tipe tidak berkeratinisasi dan tidak berdiferensiasi memiliki hubungan erat dengan infeksi virus Epstein–Barr (EBV), yang berperan dalam transformasi maligna serta modulasi respons imun tumor (Tsao et al., 2014).

Perkembangan KNF tidak hanya dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan, tetapi juga oleh interaksi

kompleks antara sel tumor dan tumor microenvironment (TME). Lingkungan mikro tumor pada KNF ditandai oleh infiltrasi limfosit yang melimpah dan ekspresi berbagai molekul immune checkpoint, mencerminkan terjadinya immune escape (Chen et al., 2019). Salah satu molekul yang mendapat perhatian adalah T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3), suatu regulator negatif respons imun yang diekspresikan pada sel T efektor, sel T regulator, dan sel imun lainnya (Anderson et al., 2016). Ekspresi TIM-3 yang meningkat berkaitan dengan fenomena T cell exhaustion dan penurunan aktivitas sitotoksik terhadap sel tumor.

Pada berbagai tumor padat, termasuk kanker kepala dan leher, overekspresi TIM-3 dikaitkan dengan progresi penyakit dan prognosis yang lebih buruk (Wolf et al., 2020). Beberapa penelitian pada KNF menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi TIM-3 berhubungan dengan stadium klinis lanjut dan potensi metastasis (Li et al., 2018). Namun demikian, hubungan antara ekspresi TIM-3 dan tipe histopatologi KNF masih belum sepenuhnya dijelaskan. Oleh karena itu, analisis terhadap hubungan tersebut penting untuk memperluas pemahaman mengenai peran biologis TIM-3 sebagai biomarker maupun target imunoterapi pada KNF.

Bahan dan Metode

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa blok jaringan formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) yang berasal dari pasien dengan diagnosis histopatologis karsinoma nasofaring. Blok parafin tersebut menjadi sumber utama isolasi materi genetik untuk analisis molekuler. Jaringan tumor yang terkandung di dalam blok parafin selanjutnya diproses untuk pemeriksaan ekspresi gen T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3) menggunakan metode real-time polymerase chain reaction (RT-PCR).

Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian mencakup data klinis dan perangkat laboratorium yang mendukung analisis molekuler. Data klinis diperoleh dari catatan rekam medis dan status penelitian pasien

yang memuat variabel sesuai dengan kebutuhan penelitian. Sampel jaringan yang digunakan berupa blok parafin utuh dengan kualitas yang memadai untuk analisis. Proses pemeriksaan ekspresi gen dilakukan menggunakan seperangkat bahan dan reagen untuk RT-PCR, meliputi kit isolasi RNA untuk mengekstraksi RNA total dari jaringan parafin, reagen reverse transcription untuk sintesis complementary DNA (cDNA), primer spesifik untuk gen TIM-3, serta pewarna fluoresen interkalasi seperti EvaGreen yang digunakan dalam proses amplifikasi dan deteksi kuantitatif.

Desain dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan studi potong lintang (*cross sectional*). Penelitian dilaksanakan di Departemen THT-KL FK USU/RSUP H. Adam Malik Medan dan Departemen Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan dan Laboratorium Terpadu FK USU. Pengumpulan data dilakukan pada periode September–Oktober 2024.

Komite Etik Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Sumatera Utara dengan nomor 759/KEPK/USU/2024.

Populasi dan Sampel

Populasi adalah seluruh blok parafin dari pasien KNF yang diagnosisnya ditegakkan secara histopatologi yang diperoleh dari Departemen Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan. Blok parafin tersebut berasal dari pasien yang berobat ke divisi Onkologi-Bedah Kepala Leher Departemen THT-KL FK USU/RSUP H. Adam Malik Medan. Pada penelitian ini sampel adalah blok parafin dari pasien KNF yang berobat ke Subdivisi Onkologi-Bedah Kepala Leher Departemen THT-KL FK USU/RSUP H. Adam Malik Medan yang telah memenuhi kriteria inklusi sebanyak 40 sampel.

Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi meliputi pasien dengan diagnosis histopatologis karsinoma nasofaring yang memiliki data rekam medis lengkap dan terdokumentasi sesuai variabel penelitian, yaitu jenis kelamin, usia, tipe histopatologi, luas invasi tumor, status pembesaran kelenjar getah bening

regional, serta stadium klinis. Selain itu, pasien belum pernah menjalani terapi radioterapi maupun kemoterapi sebelum pengambilan sampel jaringan. Adapun kriteria eksklusi mencakup blok parafin yang tidak representatif atau tidak adekuat untuk analisis molekuler. Pasien dengan riwayat keganasan primer lain selain karsinoma nasofaring juga dikeluarkan dari penelitian untuk menghindari potensi bias terhadap hasil analisis.

Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel penelitian dilakukan dengan *non-probability consecutive sampling*.

Prosedur Kerja Pemeriksaan RT-PCR

Isolasi RNA

Isolasi RNA dilakukan dari jaringan formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) menggunakan protokol ekstraksi berbasis kolom sesuai petunjuk kit komersial. Proses diawali dengan penambahan 500 μ L mineral oil ke dalam tabung yang berisi sampel, kemudian diinkubasi pada suhu 80°C selama 1 menit dan divortex selama 15 detik untuk membantu proses deparafinasi. Selanjutnya ditambahkan 100 μ L lysis buffer dan dilakukan sentrifugasi pada 10.000 RCF selama 15 detik. Sebanyak 10 μ L Proteinase K ditambahkan ke dalam sampel, kemudian diinkubasi pada suhu 56°C selama 15 menit untuk proses pencernaan protein, dilanjutkan inkubasi pada suhu 80°C selama 1 jam.

Sampel kemudian didinginkan pada suhu 4°C selama 1 menit dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 menit. Tahap berikutnya adalah penambahan 30 μ L DNase untuk menghilangkan kontaminasi DNA, diikuti inkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Sebanyak 325 μ L BL buffer dan 200 μ L isopropanol (100%) ditambahkan ke dalam sampel, kemudian dilakukan sentrifugasi pada 10.000 RCF selama 15 detik. Larutan dipindahkan ke kolom pemurnian dan disentrifugasi kembali. Tahap pencucian dilakukan dengan penambahan 500 μ L etanol sebanyak dua kali, masing-masing disentrifugasi 10.000 RCF selama 30 detik. RNA kemudian dielusi menggunakan 50 μ L nuclease-free water dan disentrifugasi pada 16.000 RCF selama 1 menit. RNA hasil isolasi disimpan pada suhu dingin hingga digunakan.

Sintesis cDNA

Sintesis complementary DNA (cDNA) dilakukan melalui proses reverse transcription dengan total volume reaksi 20 μ L sesuai komposisi kit. Campuran reaksi dipipet secara homogen, kemudian masing-masing tabung PCR diberi label dan divortex serta spin down sebelum dimasukkan ke dalam thermal cycler. Program reaksi diatur sesuai protokol kit dengan pengaturan volume 20 μ L dan suhu inkubasi sesuai komposisi reaction mix. Setelah proses selesai, konsentrasi cDNA diukur menggunakan spektrofotometer untuk memastikan kualitas dan kuantitas hasil sintesis.

Pemeriksaan Real-Time PCR

Sebelum amplifikasi, cDNA diencerkan dengan nuclease-free water. Primer TIM-3 dan β -actin dilarutkan serta diencerkan menggunakan buffer TE sesuai konsentrasi kerja. Campuran reaksi (cocktail) RT-PCR disiapkan dengan komposisi SsoFast EvaGreen SuperMix 10 μ L, primer forward 1 μ L, primer reverse 1 μ L, nuclease-free water 7 μ L, dan 1 μ L template cDNA, sehingga total volume 20 μ L per reaksi. Campuran tanpa template dibagi masing-masing 19 μ L ke dalam tabung RT-PCR 0,1 mL, kemudian ditambahkan 1 μ L cDNA pada setiap tabung. Tabung ditutup rapat, divortex, dan spin down sebelum dimasukkan ke dalam alat real-time PCR (Rotor-Gene Qiagen). Program amplifikasi diatur sesuai kondisi denaturasi, annealing, dan ekstensi yang telah ditentukan. Analisis ekspresi gen dilakukan dengan mengukur nilai cycle threshold (CT). Ekspresi relatif TIM-3 dihitung menggunakan metode Δ CT terhadap gen kontrol endogen β -actin.

Pemeriksaan Real-Time PCR

Data yang telah dikumpulkan diolah dan dianalisis menggunakan program Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Analisis dilakukan secara bertahap sesuai dengan tujuan penelitian. Analisis univariat digunakan untuk menggambarkan karakteristik masing-masing variabel penelitian. Variabel yang bersifat kategorik disajikan dalam bentuk distribusi frekuensi dan persentase. Sementara itu, variabel numerik disajikan dalam bentuk nilai rerata dan standar deviasi apabila berdistribusi normal, serta dilengkapi dengan nilai minimum dan maksimum untuk memberikan gambaran sebaran

data secara menyeluruh. Analisis bivariat dilakukan untuk menilai hubungan antara variabel independen dan variabel dependen. Dalam penelitian ini, hubungan antara ekspresi respons imun TIM-3 dan tipe histopatologi tumor pada karsinoma nasofaring dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis. Uji ini dipilih karena data ekspresi gen merupakan data numerik yang tidak berdistribusi normal dan dibandingkan pada lebih dari dua kelompok tipe histopatologi. Tingkat kemaknaan statistik ditetapkan pada nilai $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik Demografi dan Klinis Pasien Karsinoma Nasofaring

Penelitian ini dilakukan pada blok parafin dari 40 pasien karsinoma nasofaring yang berobat ke Subdivisi Onkologi-Bedah Kepala Leher Departemen THT-KL FK USU/RSUP H. Adam Malik Medan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Blok parafin pasien KNF tersebut diperoleh dari Departemen Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan, kemudian dilakukan pemeriksaan PCR di Laboratorium Terpadu FK USU untuk menilai ekspresi respon imun TIM-3. Karakteristik demografi dan klinis pasien karsinoma nasofaring dapat dilihat pada Tabel 1.

Subjek berjenis kelamin laki-laki berjumlah sebanyak 26 orang (65,0%) sedangkan subjek perempuan berjumlah 14 orang (35,0%). Rerata usia subjek adalah 48 tahun dengan usia termuda 26 tahun dan usia tertua berusia 70 tahun. Berdasarkan pemeriksaan histopatologi sebagian besar menunjukkan tipe *Non Keratinizing SCC* sebanyak 36 orang (90,0%), tipe *Undifferentiated Carcinoma* berjumlah 3 orang (7,5%) dan tipe *Keratinizing SCC* berjumlah 1 orang (2,5%).

Pemeriksaan perluasan tumor (T) berdasarkan hasil CT-Scan menunjukkan terbanyak dengan T3 berjumlah 15 orang (37,5%), diikuti T4 berjumlah 14 orang (35,0%), T2 berjumlah 8 orang (20,0%) dan T1 berjumlah 3 orang (7,5%). Demikian juga hasil pemeriksaan CT-Scan terhadap pembesaran kelenjar getah bening leher (N), menunjukkan yang terbanyak adalah pasien dengan N2 berjumlah 28 orang (70,0%), diikuti oleh N3

pada 7 orang (17,5%), N1 berjumlah 4 orang (10,0%) dan N0 berjumlah 1 (2,5%).

Tabel 1. Karakteristik demografi dan klinis pasien karsinoma nasofaring

Karakteristik Demografi dan Klinis	n = 40
Jenis Kelamin, n (%)	
Laki-laki	26 (65,0%)
Perempuan	14 (35,0%)
Usia, tahun	
Rerata (SD)	48,2 (11,1)
Median (Min-Mak)	48,5 (26-70)
Tipe Histopatologi, n (%)	
<i>Keratinizing SCC</i>	1 (2,5%)
<i>Non Keratinizing SCC</i>	36 (90,0%)
<i>Undifferentiated Carcinoma</i>	3 (7,5%)
Perluasan tumor (T), n (%)	
T1	3 (7,5%)
T2	8 (20,0%)
T3	15 (37,5%)
T4	14 (35,0%)
Pembesaran kelenjar getah bening (N), n (%)	
N0	1 (2,5%)
N1	4 (10,0%)
N2	28 (70,0%)
N3	7 (17,5%)
Stadium, n (%)	
I	0
II	1 (2,5%)
III	19 (47,5%)
IV	20 (50,0%)

Berdasarkan penentuan stadium klinis penyakit berdasarkan klasifikasi AJCC edisi ke-8. Stadium klinis mayoritas stadium IV berjumlah 20 orang (50,0%), stadium III berjumlah 19 orang (47,5%) dan stadium I berjumlah 1 orang (2,5%) dan tidak dijumpai stadium I dan stadium 0.

Ekspresi Respon Imun TIM-3

Pada Tabel 2 dan Tabel 3 menampilkan hasil ekspresi respon imun TIM-3 berdasarkan hasil pemeriksaan PCR dari blok parafin.

Tabel 2. Ekspresi respon imun TIM-3

Ekspresi Respon Imun TIM-3	n = 40
Rerata (SD)	4,3 (1,6)
Median (Min-Mak)	4,8 (-0,1-6,7)

Ekspresi respon imun TIM-3. Rerata ekspresi respon imun TIM-3 dari seluruh subjek

dalam studi ini adalah 4,3 (SD = 1,6). Ekspresi respon imun TIM-3 yang terendah dijumpai pada nilai -0,1 dan nilai tertinggi 6,7.

Tabel 3. Ekspresi respon imun TIM-3 berdasarkan nilai Δ CT TIM-3

Ekspresi Respon Imun TIM-3	n = 40
Ekspresi TIM-3 meningkat	39 (97,5)
Ekspresi TIM-3 menurun	1 (2,5)

Ekspresi respon imun TIM-3 ini diperoleh berdasarkan nilai Δ CT TIM-3 Pada penelitian ini ekspresi TIM-3 meningkat yaitu 39 (97,5%) sampel dan ekspresi TIM-3 menurun yaitu 1 (2,5%) sampel.

Hubungan Ekspresi Respon Imun TIM-3 dengan tipe histopatologi pada karsinoma nasofaring

Data pada Tabel 4 dibawah ini menampilkan hasil analisis hubungan antara ekspresi respon imun TIM-3 dengan tipe histopatologi *Keratinizing SCC*, *Non-Keratinizing SCC*, *Undifferentiated Carcinoma*.

Tabel 4. Hubungan ekspresi respon imun TIM-3 dengan tipe histopatologi pada karsinoma nasofaring

Tipe Histopatologi	n (%)	Ekspresi respon imun TIM-3		p-value
		Rerata (SD)	Median (Min-Mak)	
<i>Keratinizing SCC</i>	1 (2,5)	2,3 (-)	2,3 (2,3-2,3)	0,452*
<i>Non-Keratinizing SCC</i>	36 (90,0)	4,3 (1,6)	4,9 (-0,1-6,7)	
<i>Undifferentiated Carcinoma</i>	3 (7,5)	4,7 (1,0)	4,7 (3,7-5,7)	

Pembahasan

Karakteristik Demografi Subjek Penelitian

Studi observasional ini melibatkan subjek penelitian sebanyak 40 orang yang memenuhi kriteria eligibilitas inklusi dan eksklusi. Pada subjek penelitian tersebut, jenis kelamin yang dominan ditemukan adalah laki-laki dengan jumlah sebanyak 26 orang (65%) dengan sisanya dilengkapi oleh jenis kelamin perempuan dengan jumlah sebanyak 14 orang (35%). Hasil pada penelitian ini menunjukkan kemiripan dengan studi terdahulu, di mana prevalensi penderita kanker nasofaring lebih umum dan sering ditemukan pada jenis kelamin laki-laki dengan perbandingan 2.3:1 dengan hasil yang konsisten hampir di seluruh bagian dunia. Beberapa faktor penyebab perbedaan prevalensi ini umumnya adalah gaya hidup seperti merokok dan paparan terhadap zat karsinogenik pada pekerjaan yang lebih berisiko (Zhang et al., 2023). Studi

Subjek dengan *keratinizing SCC* dijumpai sejumlah 1 orang (2,5%) dengan rerata ekspresi respon imun TIM-3 adalah 2,3. Subjek dengan *non-keratinizing SCC* ditemukan sebanyak 36 orang (90%) dengan menunjukkan rerata ekspresi respon imun TIM-3 adalah 4,3, sedangkan subjek dengan *undifferentiated carcinoma* yang berjumlah 3 orang (7,5%) menunjukkan rerata ekspresi respon imun TIM-3 adalah 4,7.

Untuk mengetahui hubungan ekspresi respon imun TIM-3 berdasarkan tipe histopatologi dilakukan uji Kruskal-Wallis, diperoleh hasil p-value = 0,452, yang bermakna tidak ada hubungan ataupun perbedaan rerata ekspresi respon imun TIM-3 antara tipe histopatologi *keratinizing SCC*, *non-keratinizing SCC* dengan *undifferentiated carcinoma*. Namun hasil secara deskriptif menunjukkan ekspresi rerata ekspresi respon imun TIM-3 lebih tinggi pada *undifferentiated carcinoma* dan *non-keratinizing SCC* dibanding rerata ekspresi respon imun TIM-3 pada *keratinizing SCC*.

epidemiologi sebelumnya juga melaporkan hasil yang serupa dengan penelitian ini, yaitu terdapat jumlah kasus prevalensi karsinoma nasofaring yang lebih tinggi pada laki-laki dengan distribusi berkisar dari usia 40 hingga 59 tahun (Wong et al., 2023).

Berdasarkan usia, didapatkan rerata umur subjek penelitian yang terlibat sebesar 48,2 tahun dengan usia termuda 26 tahun dan usia tertua 70 tahun. Seluruh subjek penelitian digolongkan ke dalam kategori usia dewasa dan lansia. Seperti yang telah dikemukakan oleh beberapa ahli dan studi sebelumnya, karsinoma nasofaring lebih sering dijumpai pada usia-usia muda dan dewasa dengan sifat distribusi yang bimodal. Sifat distribusi pada usia muda dan lanjut usia ini disebabkan berbagai macam faktor, terutama faktor genetik. Namun, mutasi genetik seiring meningkatnya usia tidak dapat menjelaskan secara mendalam mengenai alasan tingginya angka kasus karsinoma nasofaring. Salah satu hal yang dapat menjelaskan penyebab

sifat bimodal ini adalah sifat dari infeksi EBV yang rentan didapatkan ketika usia muda dan menyebabkan gangguan sistem imun secara kronis dan berujung kepada pembentukan massa tumor karsinoma nasofaring (Yu *et al.*, 2022).

Berdasarkan tipe histopatologi, didapatkan jenis karsinoma nasofaring terbanyak yang dijumpai berupa tipe non-keratinizing SCC dengan jumlah sebanyak 36 orang (90%) dan diikuti oleh undifferentiated carcinoma dengan jumlah sebanyak 3 orang (7.5%) dan keratinizing SCC pada 1 orang (2.5%) saja. Beberapa hasil analisis oleh studi-studi yang ditemukan sebelumnya menunjukkan hasil yang sejalan dengan hasil penelitian ini, di mana tipe histopatologi tersering karsinoma nasofaring yang umum dijumpai adalah tipe non-keratinizing SCC, dengan angka selisih persentase 3.8% di daerah non-endemis di dunia dalam tiga dekade terakhir (Van Velsen *et al.*, 2024). Dalam ruang lingkup yang lebih sempit, penelitian di Jawa pada tahun 2023 menunjukkan tipe karsinoma nasofaring jenis non-keratinizing SCC sebanyak 82%. Hal ini dapat disebabkan oleh tingginya angka kesintasan hidup pada tipe karsinoma nasofaring jenis ini sehingga pencatatan angka prevalensi menjadi lebih tinggi dibandingkan pada tipe lainnya yang memiliki angka kesintasan hidup yang lebih buruk (Liemiyah *et al.*, 2024).

Berdasarkan perluasan tumor nasofaring, didapatkan jenis perluasan tumor nasofaring terbanyak yang dijumpai berupa T3 dengan jumlah sebanyak 15 orang (37.5%) dan diikuti oleh T4 pada 14 orang (35%), T2 pada 8 orang (20%), dan T1 pada 3 orang (7.5%). Jenis perluasan tumor pada karsinoma nasofaring bervariasi pada setiap penderitanya, tergantung jenis karsinoma dan kecepatan pertumbuhan sel tumor yang difasilitasi oleh lingkungan mikro tumor. Pada stadium T3 dan T4, umumnya ukuran tumor jauh lebih besar dan dapat menyebabkan gejala klinis yang bervariasi dan mudah dikenal, seperti epistaksis, obstruksi kavum nasi, hingga terganggunya pendengaran akibat penutupan saluran tuba eustasius oleh massa karsinoma nasofaring (Shah and Nagalli, 2024).

Hasil penelitian ini didukung oleh studi epidemiologi yang dilakukan pada tahun 2021 silam yang mendapatkan hasil perluasan tumor paling tinggi pada jenis T3 dan T4 sebanyak 42.1% dan 36.2%, yang diikuti oleh T2 sebanyak 12.75% dan T1 sebanyak 8.95%. Studi yang sama tersebut juga menyimpulkan bahwa dengan kecanggihan modalitas diagnostik untuk karsinoma nasofaring

menyebabkan adanya perluasan tumor pada stadium lanjut menjadi lebih mudah terdeteksi. Teori ini menggambarkan bahwasanya saat ini karsinoma nasofaring yang paling sering ditemukan adalah karsinoma nasofaring dengan tipe perluasan tumor jenis lanjut (Dominguez *et al.*, 2021).

Berdasarkan pembesaran kelenjar getah bening (N), didapatkan penyebaran karsinoma nasofaring terbanyak yang dijumpai berupa N2 dengan jumlah sebanyak 28 orang (70%) dan diikuti oleh N3 pada 7 orang (17.5%), N1 pada 4 orang (10%), dan N0 pada 1 orang (2.5%). Jenis perluasan KGB pada karsinoma nasofaring bervariasi pada setiap penderitanya, tergantung jenis karsinoma dan ukuran tumor (Ho *et al.*, 2012). Pada stadium N3, umumnya ukuran tumor jauh lebih besar dan dapat menyebar secara berlanjut ke kelenjar getah bening lain yang ada di struktur sekitarnya dan menjadi lebih mudah untuk dideteksi. Secara umum, hasil penelitian ini serupa dengan penelitian oleh Alsafadi pada tahun 2020 yang lalu di Saudi Arabia, dimana N2 dijumpai pada 45 orang (42.1%), yang diikuti dengan N3 pada 32 orang (29.9%), N1 pada 20 orang (18.7%), dan N0 pada 10 orang (9.3%) (Alsafadi *et al.*, 2020). Baik penelitian ini, maupun penelitian tersebut mengimplikasikan bahwasanya terdapat kemungkinan tren yang sama dalam keterlibatan KGB pada penderita karsinoma nasofaring di Asia.

Berdasarkan penentuan stadium klinis penyakit berdasarkan klasifikasi AJCC edisi ke-8. Stadium klinis mayoritas stadium IV berjumlah 20 orang (50,0%), stadium III berjumlah 19 orang (47%) dan stadium II berjumlah 1 orang (2,5%) dan tidak dijumpai stadium I dan stadium 0. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian oleh Li pada tahun 2021 yang menunjukkan kemiripan dalam distribusi stadium karsinoma nasofaring. Banyaknya jumlah penderita karsinoma nasofaring pada stadium lanjut dapat disebabkan oleh berbagai hal yang berkaitan dengan pasien dan keterlambatan dalam penegakan diagnosis, yang pada akhirnya memfasilitasi ukuran tumor karsinoma nasofaring menjadi stadium lanjut. (Li *et al.*, 2021).

Ekspresi Respon imun TIM-3

TIM-3 merupakan salah satu immunoregulator penting yang termasuk ke dalam famili TIM, suatu glikoprotein yang terdapat pada permukaan sel dengan struktur khusus. Ekspresi dari TIM-3 melibatkan respon

imun pada sel Th1, sel Th17, monosit, sel dendritik, dan makrofag, di mana protein ini berhubungan dengan pengurangan jumlah sel-T CD8+ melalui mekanisme kerja yang berbeda. Selain itu, TIM-3 juga dianggap memiliki peran sebagai immune checkpoint dan berpotensi besar untuk menjadi salah satu target pada imunoterapi kanker (Homayouni et al., 2016; Xiao et al., 2020). Keterlibatan TIM-3 tidak hanya terbatas pada fungsi imunologis saja dan dapat terlihat pada beberapa jenis sel kanker, seperti kanker paru, kanker serviks, karsinoma hepatoselular, dan kanker prostat (Wu et al., 2017). Namun, fungsi dan peran TIM-3 berbeda-beda pada tiap jenis tumor.

Kadar TIM-3 pada kanker paru menjadi penanda progresivitas tumor yang ditunjukkan melalui perubahan kadar jumlah sel NK pada sirkulasi sistemik. Pada kanker prostat, TIM-3 dapat menghambat dan mempromosikan pertumbuhan tumor, sedangkan pada kanker renal, TIM-3 dapat menghambat imunitas sel tubuh terhadap pertumbuhan sel kanker. Pada kanker ovarium, TIM-3 dapat menurunkan fungsi dan jumlah kelompok sel T. Pada kanker serviks, TIM-3 dapat mempermudah terjadinya metastasis (Xu dkk., 2022). Pada karsinoma nasofaring, TIM-3 juga disebutkan memiliki fungsi utama yang mirip pada kanker jenis lainnya.

Hasil pada penelitian ini ekspresi respon imun TIM-3 ini diperoleh berdasarkan nilai Δ CT TIM-3, jika nilai Δ CT TIM-3 positif, menunjukkan ekspresi TIM-3 menurun, semakin besar nilai Δ CT TIM-3 negatif, maka semakin menurun ekspresi TIM-3. Pada penelitian ini ekspresi respon imun TIM-3 didapati ekspresi meningkat yaitu 39 sampel dan ekspresi menurun yaitu 1 sampel.

Penelitian oleh Xiao pada tahun 2020 menggunakan metode histopatologi dengan pewarnaan untuk menunjukkan ekspresi respon imun TIM-3 yang meningkat, sedangkan penelitian oleh (Xie et al., 2023) pada tahun 2023 menggunakan index Jorden untuk memisahkan tinggi rendahnya nilai ambang batas ekspresi gabungan TIM-3/TIGIT atau TIM-3/2B4.

Jumlah kasus karsinoma nasofaring berhubungan dengan variasi wilayah geografis dan berbagai jenis ras yang memiliki kerentanan yang berbeda. Dalam penentuan diagnosis, faktor penentu yang paling kuat berasal dari analisis

pribadi faktor genetik, dan faktor kebiasaan dan gaya hidup. Grup ras dan etnis dapat menunjukkan perbedaan rata-rata yang signifikan dalam prevalensi penyakit, derajat keparahan penyakit, prognostikasi penyakit, dan respon pengobatan (Mountain, J. L., & Risch, N. 2014; Salehiniya, dkk., 2018).

Hubungan Ekspresi respon imun TIM-3 dengan Tipe Histopatologi Karsinoma Nasofaring

Hasil penelitian ini, tidak terdapat adanya hubungan antara ekspresi respon imun TIM-3 dengan tipe histopatologi pada karsinoma nasofaring dengan hasil uji Kruskal-Wallis, diperoleh hasil p-value = 0,452. Kanker nasofaring memiliki 3 klasifikasi sub tipe histopatologis yang telah diklasifikasikan oleh WHO, yaitu *keratinizing squamous cell carcinoma* (KSCC), *non-keratinizing squamous cell carcinoma* (NKSCC), dan *undifferentiated carcinoma* (UC). Penelitian terbaru membuktikan bahwasanya ekspresi respon imun TIM-3 mengalami peningkatan signifikan pada sel imun yang terdapat pada lingkungan mikro tumor KSCC dibandingkan tipe lainnya. Yang et al. (2021) membuktikan bahwa penurunan jumlah sel T pada penderita *keratinizing squamous cell carcinoma* lebih tinggi, menyebabkan penurunan drastis pada produksi sitokin dan aktivitas sitotoksik yang dimediasi sistem imun. Pada tipe *keratinizing squamous cell carcinoma*, proses keratinisasi sel kanker berperan pada proses pembuatan tumor-associated macrophages (TAM) yang memfasilitasi penyebaran dan perkembangan sel tumor.

Pada kanker nasofaring tipe NKSCC, TIM-3 meningkat pada sel T dan sel NK yang diinfiltrasi oleh sel kanker nasofaring dengan penyebab EBV. Aktivasi dari immune checkpoint dengan TIM-3 dapat diakibatkan oleh EBV latency-associated proteins seperti latent membrane protein 1 (LMP1) yang terdapat pada *non-keratinizing squamous cell carcinoma*. Pada tipe *undifferentiated carcinoma*, dijumpai mekanisme yang hampir sama dengan tipe *non-keratinizing squamous cell carcinoma*. Penelitian oleh Wu et al. (2023) telah menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi respon imun TIM-3 ini berhubungan dengan supresi fungsi sel T secara signifikan. Perbedaan hasil pada penelitian ini

dengan penelitian sebelumnya dapat diakibatkan beberapa faktor yang berhubungan dengan subjek penelitian, seperti perbedaan antara, jumlah subjek penelitian, usia, dan jenis kelamin. Selain itu, tidak adanya riwayat pengobatan juga dianggap berhubungan dengan tingginya nilai TIM-3, meskipun hubungan kedua variabel tersebut tidak selalu jelas berhubungan (Acharya, Sabatos-Peyton, and Anderson, 2020).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, mayoritas subjek adalah laki-laki sebanyak 26 orang (65%), sedangkan perempuan berjumlah 14 orang (35%). Rerata usia sampel adalah $48,2 \pm 11,1$ tahun, dengan rentang usia 26 hingga 70 tahun. Temuan ini menunjukkan bahwa karsinoma nasofaring dalam penelitian ini lebih banyak dijumpai pada laki-laki usia dewasa hingga lanjut usia. Selain itu, hampir seluruh sampel (97,5%) menunjukkan peningkatan ekspresi respons imun T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3), yang mengindikasikan adanya keterlibatan molekul immune checkpoint tersebut dalam dinamika mikro-lingkungan tumor karsinoma nasofaring.

Analisis hubungan antara ekspresi TIM-3 dan tipe histopatologi menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna. Meskipun demikian, secara deskriptif rerata ekspresi TIM-3 cenderung lebih tinggi pada tipe *undifferentiated carcinoma* dan *non-keratinizing squamous cell carcinoma* dibandingkan dengan tipe *keratinizing squamous cell carcinoma*. Temuan ini mengindikasikan adanya variasi tingkat ekspresi berdasarkan karakteristik histologis tumor, namun perbedaan tersebut belum menunjukkan signifikansi statistik dalam penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada institusi dan fakultas atas dukungan fasilitas dan lingkungan akademik yang kondusif. Apresiasi juga diberikan kepada para pembimbing atas arahan dan masukan ilmiah selama proses penelitian. Ucapan terima kasih disampaikan kepada tenaga medis, staf laboratorium, serta seluruh partisipan yang telah berkontribusi dalam pengumpulan dan

pengolahan data. Dukungan rekan sejawat dan keluarga turut diapresiasi atas motivasi yang diberikan hingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

Referensi

- Acharya, N., Sabatos-Peyton, C., & Anderson, A. C. (2020). Tim-3 finds its place in the cancer immunotherapy landscape. *Journal for immunotherapy of cancer*, 8(1), e000911. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-000911>
- Alsafadi, N., Alqarni, M. S., Attar, M., Mgaray, R., & Bokhari, A. (2020). Nasopharyngeal Cancer: Prevalence, Outcome, and Impact on Health-Related Quality of Life at Princess Norah Oncology Center, Jeddah, Saudi Arabia. *Cureus*, 12(5), e8199. <https://doi.org/10.7759/cureus.8199>
- American Joint Committee on Cancer. (2018). *AJCC cancer staging manual* (8th ed., Part 1, pp. 213–219)
- Anderson, A.C., Joller, N., & Kuchroo, V.K. (2016). Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*, 44(5), 989–1004.
- Chen, Y. P., Chan, A. T. C., Le, Q. T., Blanchard, P., Sun, Y., & Ma, J. (2019). Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet* (London, England), 394(10192), 64–80. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30956-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30956-0)
- Dominguez AR, Cirauqui B, Castano AG, Cabellos RA, Maseda AC, Fernandez BC, Rey LI, Casadevall JR and Arrazubi V. (2021). SEOM-TTC clinical guidelines in nasopharynx cancer (2021). *Clinical guidelines in oncology*. [Doi.org/10.1007/s12094-022-02814](https://doi.org/10.1007/s12094-022-02814).
- Ho, F. C., Tham, I. W., Earnest, A., Lee, K. M., & Lu, J. J. (2012). Patterns of regional lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis of clinical evidence. *BMC cancer*, 12, 98. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-98>
- Homayouni, V., Ganjalikhani-Hakemi, M., Rezaei, A., Khanahmad, H., Behdani, M., & Lomedasht, F. K. (2016). Preparation and characterization of a novel nanobody against T-cell immunoglobulin and mucin-

- 3 (TIM-3). *Iranian journal of basic medical sciences*, 19(11), 1201–1208.
- Liemiyah, R. et al. (2024). 'Epidemiological Characteristics and 3-year Overall Survival Outcome of Nasopharyngeal Cancer in Central Java: A Single Institution Retrospective Study', *Indonesian Journal of Cancer*, 18(2), pp. 143–155. Available at: <https://doi.org/10.33371/ijoc.v18i2.1083>.
- Mountain, J. L., & Risch, N. (2014). Assessing genetic contributions to phenotypic differences among racial and ethnic groups. *Nature genetics*, 36(Suppl 11), S48–S53.
- Salehiniya, H., Mohammadian, M., Mohammadian-Hafshejani, A., & Mahdaviifar, N. (2018). Nasopharyngeal cancer in the world: epidemiology, incidence, mortality and risk factors. *WCRJ*, 5(1), e1046
- Shah, A. B., & Nagalli, S. (2024). *Nasopharyngeal Carcinoma*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
- Tsao, S.W., Tsang, C.M., & Lo, K.W. (2014). Epstein–Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 369(1644), 20130570.
- Van Velsen, J. S., van der Vegt, B., Plaat, B. E. C., Langendijk, J. A., Epskamp-Kuijpers, C. C. H. J., van Dijk, B. A. C., & Oosting, S. F. (2024). Nasopharyngeal carcinoma: nationwide trends in subtype-specific incidence and survival over 3 decades in a non-endemic area. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 150(2), 49. <https://doi.org/10.1007/s00432-023-05547-8>
- Wolf, Y., Anderson, A.C., & Kuchroo, V.K. (2020). TIM3 comes of age as an inhibitory receptor. *Nature Reviews Immunology*, 20(3), 173–185.
- Wong, K. Y., Basri, H., Wong, Y. L., Wahab, M., Haji Kipli, N. P., Niap, I., & Ooi, C. H. (2023). Epidemiology of Nasopharyngeal Carcinoma in Sarawak, East Malaysia. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 24(8), 2817–2822. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2023.24.8.2817>
- World Health Organization. (2017). *WHO classification of head and neck tumours* (4th ed.). Lyon: IARC Press.
- Wu, J., Lin, G., Zhu, Y., (2017). Low TIM3 expression indicates poor prognosis of metastatic prostate cancer and acts as an independent predictor of castration resistant status. *Scientific Reports*, 7, 8869. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09484-8>
- Wu, M., Wu, A., Zhang, X., Li, Y., Li, B., Jin, S., Dong, Q., Niu, X., Zhang, L., Zhou, X., Du, J., Wu, Y., Zhai, W., Zhou, X., Qiu, L., Gao, Y., & Zhao, W. (2023). Identification of a novel small-molecule inhibitor targeting TIM-3 for cancer immunotherapy. *Biochemical pharmacology*, 212, 115583. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115583>
- Xiao, Y., Qing, J., Li, B., Chen, L., Nong, S., Yang, W., Tang, X., & Chen, Z. (2020). TIM-3 Participates in the Invasion and Metastasis of Nasopharyngeal Carcinoma via SMAD7/SMAD2/SNAIL1 Axis-Mediated Epithelial-Mesenchymal Transition. *OncoTargets and therapy*, 13, 1993–2006. <https://doi.org/10.2147/OTT.S237222>
- Xie, X., Feng, Y., Fan, P., Dong, D., Yao, X., Peng, Y., & Wang, R. (2023). Increased co-expression of TIM-3 with TIGIT or 2B4 on CD8+ T cells is associated with poor prognosis in locally advanced nasopharyngeal carcinoma. *Biomolecules & biomedicine*, 23(4), 584–595. <https://doi.org/10.17305/bb.2022.8562>
- Xu, J. Y., Wei, X. L., Wang, Y. Q., & Wang, F. H. (2022). Current status and advances of immunotherapy in nasopharyngeal carcinoma. *Therapeutic advances in medical oncology*, 14, 17588359221096214. <https://doi.org/10.1177/17588359221096214>
- Yang, F., Zeng, Z., Li, J., Ren, X., & Wei, F.

-
- (2021). TIM-3 and CEACAM1 are Prognostic Factors in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 619765. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.619765>
- Yu, H., Yin, X., Mao, Y., Chen, M., Tang, Q., & Yan, S. (2022). The global burden of nasopharyngeal carcinoma from 2009 to 2019: an observational study based on the Global Burden of Disease Study 2019. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 279(3), 1519–1533. <https://doi.org/10.1007/s00405-021-06922-2>
- Zhang, Y., Rumgay, H., Li, M., Cao, S., & Chen, W. (2023). Nasopharyngeal Cancer Incidence and Mortality in 185 Countries in 2020 and the Projected Burden in 2040: Population-Based Global Epidemiological Profiling. *JMIR public health and surveillance*, 9, e49968. <https://doi.org/10.2196/49968>