

Sel Punca Kanker Payudara sebagai Target Terapi: Implikasi Biomarker dan Pewarnaan Imunohistokimia dalam Pendekatan Terapi

Risti Sifa' Fadhillah
ristisifa@apps.ipb.ac.id

Pendahuluan

Kanker payudara merupakan keganasan epitel duktus maupun lobulus jaringan payudara yang terjadi akibat kegagalan dalam koordinasi fungsi gen.¹ Saat ini, kanker payudara merupakan penyebab kematian kedua akibat kanker pada wanita setelah kanker serviks dan merupakan kanker yang paling banyak ditemui di antara wanita. Menurut data GLOBOCAN oleh International Agency for Research on Cancer (IARC) tahun 2012, kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan persentase kasus baru (43,3%) dan persentase kematian tertinggi (12,9%) pada wanita di dunia.² Di Indonesia, World Health Organization (WHO) melaporkan pada tahun 2014 bahwa angka kejadian kanker payudara merupakan yang tertinggi dari semua kejadian kanker pada wanita Indonesia, yaitu mencapai 48.998 kasus.³ Data hasil Riset Kesehatan Dasar Kementerian Kesehatan RI pada tahun 2013 menyatakan bahwa prevalensi kanker payudara di Indonesia mencapai 0,5 dari 1000 wanita. Nilai ini termasuk cukup tinggi dibandingkan dengan penyakit kanker lainnya.

Kanker payudara muncul sebagai akibat sel-sel yang abnormal terbentuk pada payudara dengan kecepatan proliferasi tidak terkontrol dan tidak beraturan. Sel-sel tersebut merupakan hasil mutasi gen dengan perubahan-perubahan bentuk, ukuran maupun fungsinya. Kanker payudara dapat mengalami metastasis ke organ lain seperti paru-paru, hati, dan otak melalui pembuluh darah. Kelenjar getah bening aksila ataupun supraklavikula membesar akibat dari penyebaran kanker payudara melalui pembuluh getah bening dan tumbuh di kelenjar getah bening.⁴

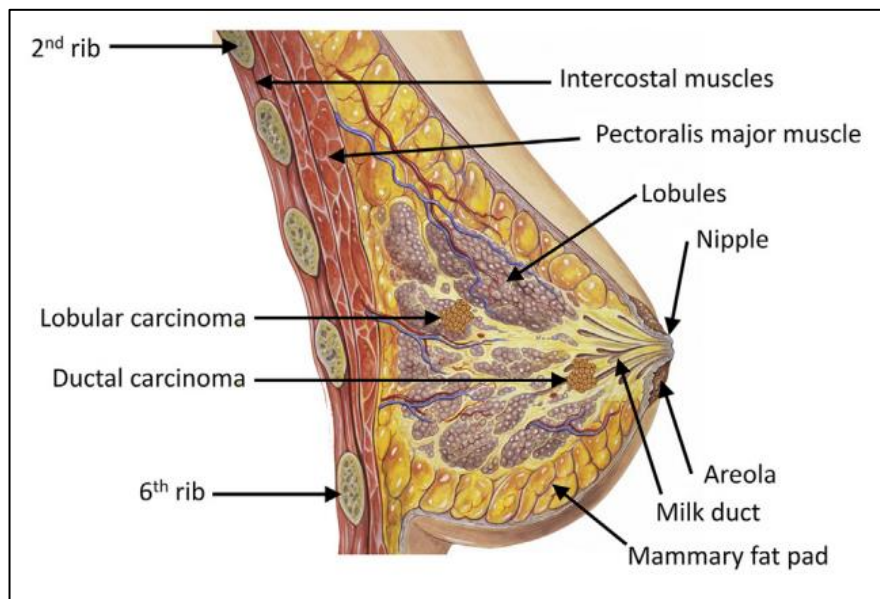
Akhir-akhir ini perkembangan teori sel punca kanker yang sangat cepat telah membantu memahami heterogenitas dari tumor termasuk kanker payudara. Pada tahun 2003, telah dapat diisolasi sel-sel induk kanker dari tumor padat payudara yang selanjutnya disebut sebagai sel punca kanker payudara. Berbagai macam metode dan strategi pengobatan dapat dilakukan untuk mengobati kanker, seperti intervensi lokal (pembedahan/radioterapi) dan sistemik (kemoterapi/terapi hormon atau *targeted treatments*). Adanya sel punca kanker payudara (*Breast Cancer Stem Cells/BCSC*) diduga turut berperan dalam kekambuhan kanker payudara setelah proses terapi. BCSC merupakan populasi sel kecil yang memiliki karakteristik unik seperti pembaruan diri (*self-renewal*), tingkat proliferasi tinggi, dan kemampuan untuk menghasilkan garis keturunan sel kanker yang heterogenik. Untuk itu, penulisan artikel ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai asal sel induk kanker payudara, karakteristik seluler dan molekuler terkait, jalur sinyal, mekanisme resistensi terapi dan identifikasi sel punca kanker payudara dengan menggunakan beberapa penanda khusus.

Kanker Payudara

Kanker payudara adalah suatu penyakit keganasan dimana terjadi pertumbuhan sel akibat adanya onkogen sel normal menjadi sel kanker pada jaringan payudara.¹ Kanker payudara disebabkan oleh proses keganasan akibat pertumbuhan sel abnormal yang tidak terkendali pada jaringan payudara, baik itu pada jaringan epitel duktus atau lobulus payudara, dan memiliki kapasitas untuk menyerang jaringan sekitarnya dan menyebar ke organ lain yang disebut metastasis.⁴

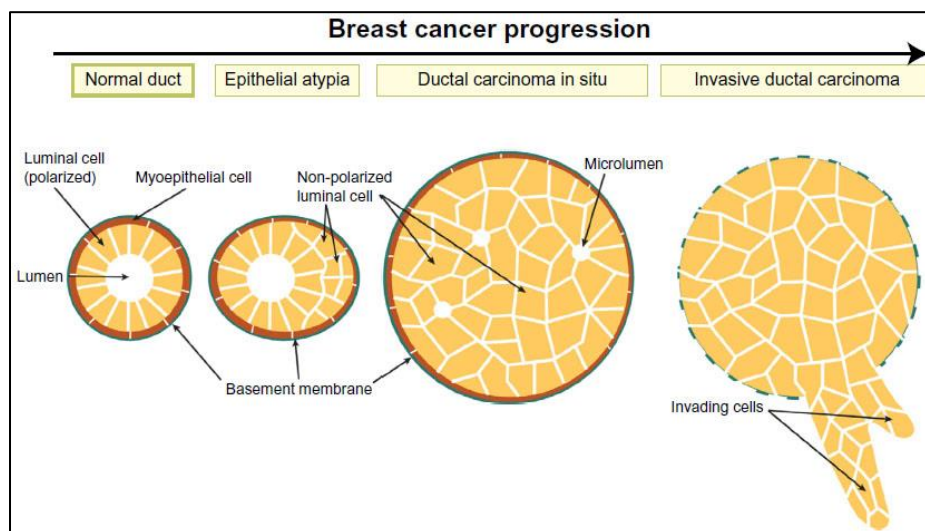
Secara umum, payudara manusia tersusun dari dua jenis jaringan, yaitu jaringan kelenjar dan jaringan stromal. Jaringan kelenjar meliputi lobus dan duktus, sedangkan jaringan stromal tersusun atas jaringan ikat dan jaringan lemak.⁵ Payudara terdapat dalam fasia superfisialis dinding toraks ventral yang berkembang menonjol tegak dari subklavikula sampai dengan *costae* atau *intercostae* kelima sampai keenam.⁵

Payudara manusia tersusun atas 20 lobus, yang masing-masingnya memiliki saluran air susu (duktus laktiferus) dan bermuara pada sinus laktiferus. Setiap lobus terbagi menjadi lobulus yang lebih kecil, yang masing-masingnya memiliki saluran hasil percabangan dari duktus laktiferus, yaitu duktulus. Setiap lobulus dan duktulus pasangannya disebut juga *terminal ductal lobular units* (TDLU) yang tersusun atas sel epitel dan sel mioepitelial/basal, dengan lobulus dilapisi oleh sel epitel kelenjar yang memproduksi air susu, sedangkan saluran duktulus dilapisi oleh sel epitel luminal. Jaringan stromal payudara manusia tersusun atas sel fibroblas, endotel, adiposit, dan hematopoietik.^{6,7}



Gambar 1. Anatomi payudara manusia dan lokalisasi kanker payudara.⁶ Payudara manusia terletak dalam fasia superfisialis dinding torak ventral yang berkembang menonjol tegak dari subklavikula sampai dengan *costae* atau *intercostae* kelima sampai keenam.

Tumorigenesis kanker payudara diawali dengan tahap inisiasi. Pada sel yang terinisiasi, terjadi berbagai perubahan genetik dan epigenetik yang dapat meningkatkan laju proliferasi sel (hiperproliferasi). Perubahan genetik dan epigenetik tambahan pada tahap promosi tumor dapat memicu proliferasi lebih lanjut sehingga terjadi sel-sel tersebut mengalami hiperplasia. Proliferasi sel tanpa henti menyebabkan tumor berprogresi menjadi karsinoma-in-situ yang ditandai dengan adanya ekspansi klonal sel. Dengan dukungan lingkungan mikro sekitarnya, karsinoma dapat menjadi karsinoma invasif dan menginvasi jaringan sekitar hingga mencapai pembuluh darah dan bermetastasis ke tempat yang baru.⁷



Gambar 2. Progresi karsinogenesis kanker payudara.⁸ Gambaran penampang melintang suatu duktus memperlihatkan hilangnya integritas epitel.

Berdasarkan gambaran molekulernya, Perou et al. mengklasifikasikan kanker payudara menjadi lima sub tipe, yaitu luminal A, luminal B, *HER2-positive*, *basal-like*, dan *normal-like*.⁹ Analisis imunohistokimia (IHK) digunakan untuk memeriksa ekspresi tiga jenis reseptor pada kanker payudara, yaitu reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR), dan reseptor faktor pertumbuhan manusia (*Human Epidermal Growth Factor Receptor/HER*)2. Sekitar 70-80% dari kanker payudara termasuk dalam sub tipe luminal yang mengekspresikan reseptor hormon, baik itu ER, PR, ataupun keduanya. Sebanyak 10-15% termasuk dalam sub tipe *HER2-positive*, sedangkan 15-25% sisanya merupakan sub tipe *basal-like* yang tidak mengekspresikan ketiga jenis reseptor yang sering disebut sebagai *triple-negative*.^{6,9}

Keragaman sub tipe kanker payudara dijelaskan oleh teori yang menyatakan bahwa keberadaan sekumpulan sel asal yang dipengaruhi baik oleh perubahan genetik maupun epigenetik akan memproduksi sel-sel baru yang kemudian berdiferensiasi dan menghasilkan heterogenitas sel kanker. Sel asal tersebut dinamakan sel punca kanker (*Cancer Stem Cell/CSC*).

Intrinsic subtype		Clinicopathologic surrogate definition				
		ER	PR	HER2	Ki-67	Recurrence risk ^{a)}
Luminal A	Luminal A-like	+	+ ^{b)}	–	Low <14%	Low (if available)
Luminal B	Luminal B-like ^{c)} (HER2-negative)	+	– or low	–	High	High (if available)
	Luminal B-like (HER2-positive)	+	Any	Over-expressed or amplified	Any	NA
ErbB-2 overexpression	HER2-positive (non-luminal)	Absent	Absent	Over-expressed or amplified	NA	NA
Basal-like	Triple negative (ductal)	–	–	–	NA	NA

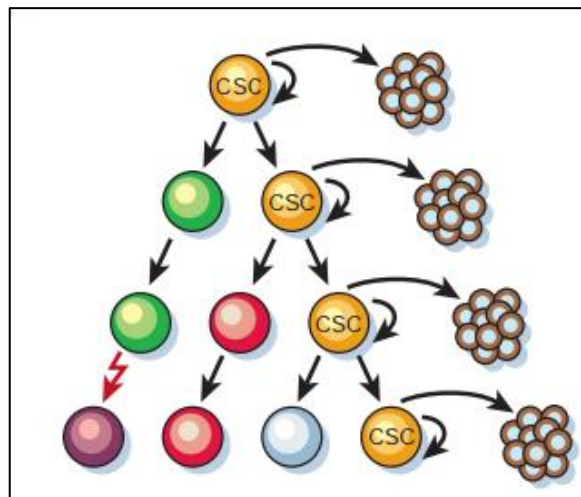
Tabel 1. Klasifikasi subtype kanker payudara.⁹

Sel Punca Kanker Payudara (*Breast Cancer Stem Cells/BCSC*)

Sel Punca Kanker (CSC) dan Asal Mulanya

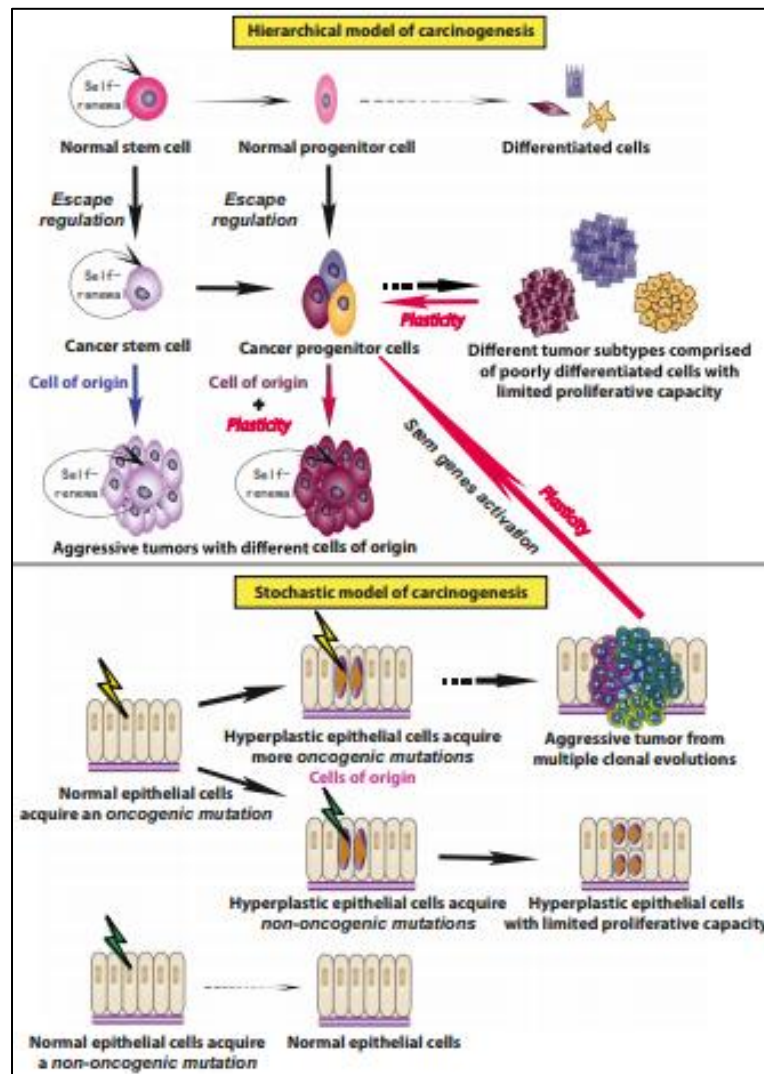
Banyak penelitian menyimpulkan bahwa populasi sel kanker memiliki hierarki seperti sel normal. Tingkat tertinggi dari hierarki sel kanker ditempati oleh subpopulasi sel yang terbukti berpotensi melakukan pembelahan identik (*self-renewal*) seperti sel punca normal. Subpopulasi sel tersebut diduga bertanggungjawab terhadap terjadinya pertumbuhan kanker, kekambuhan, serta proses resistensi terhadap kemoterapi dan radiasi, yang kemudian dikenal dengan sel punca kanker/*Cancer Stem Cells (CSC)*.¹⁰

Seperti halnya sel punca normal, CSC memproduksi sel melalui pembelahan sel secara asimetris yang menghasilkan satu progenus yang mempertahankan sifat kepuncaannya, sedangkan progenus lainnya akan berdiferensiasi dan mengalami berbagai pembelahan sel yang menyebabkan heterogenitas sel tumor.^{10,11}



Gambar 3. Pembelahan Sel Tumor secara Asimetris.¹⁰ Sel tumor bersifat heterogen dan hanya kelompok sel punca kanker (CSC, kuning) yang memiliki kemampuan untuk berproliferasi secara cepat dan membentuk tumor baru.

Terdapat dua teori kemunculan sel punca kanker. Teori pertama (*hierarchical*) menyatakan bahwa mutasi onkogenik terjadi pada sel punca atau sel progenitor normal yang menyebabkan sel tersebut dapat memproduksi sel-sel tumor. Teori kedua (*stochastic*) menyatakan bahwa mutasi onkogenik terjadi pada sel somatik yang menyebabkan sel mampu melakukan pembaruan diri seperti sel punca normal.^{11,12}

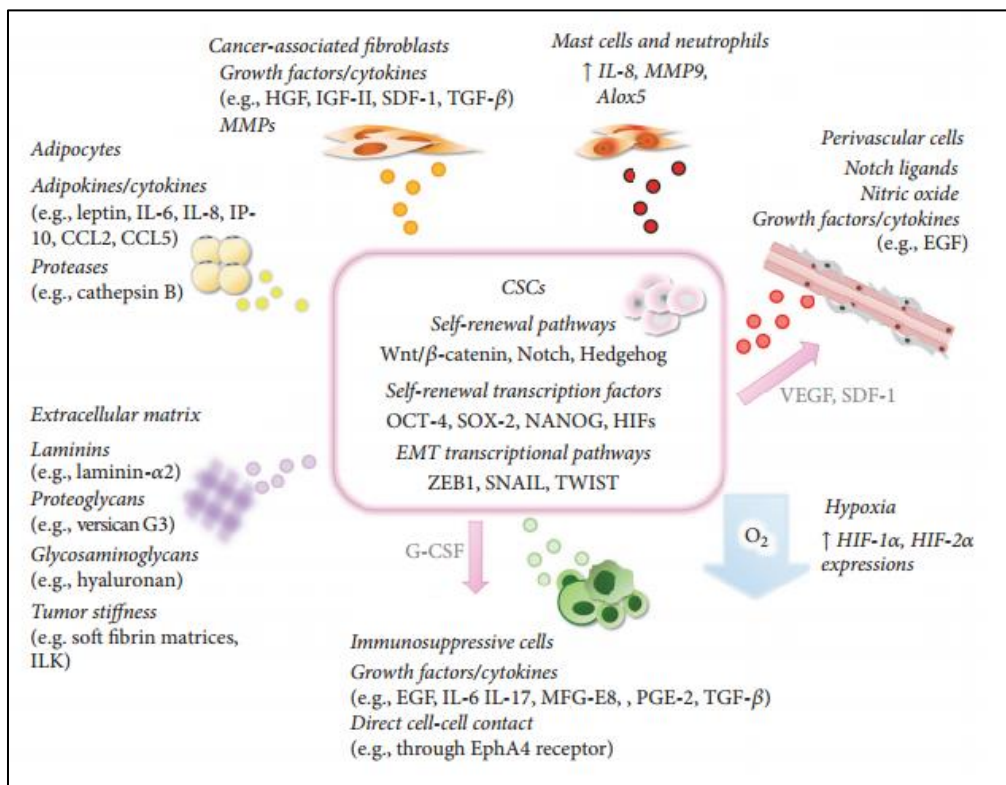


Gambar 4. 2 Teori Asal Mula Sel Punca Kanker.¹² Dicontohkan dengan jaringan epitel, sel punca kanker dapat berasal dari sel punca normal mengalami mutasi atau teraktivasi gen pembaruan diri atau jaringan sehat yang mengalami mutasi onkogenik.

Niche CSC

Proses pembaruan diri dan pemeliharaan sel punca kanker, seperti halnya sel punca normal, diregulasi secara ketat oleh suatu lingkungan mikro yang berada di sekitar sel punca kanker (*tumor microenvironment*), atau dikenal dengan sebutan *niche*. Niche memproduksi berbagai macam molekul, seperti faktor pertumbuhan dan sitokin, yang akan mengaktifkan

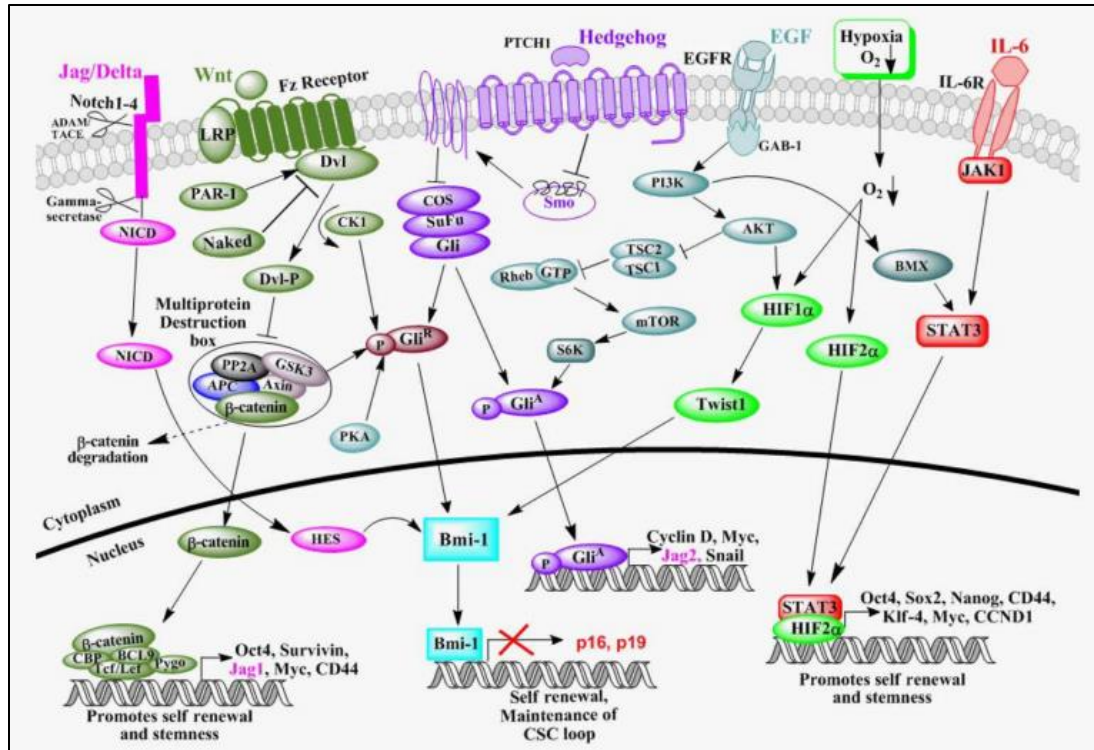
pensinyalan yang diperlukan untuk mempertahankan sifat kepuncaan sel punca kanker dan mencegah diferensiasi sel.^{12,13}



Gambar 5. *Cross-talk* antara Sel Punca Kanker dengan Niche.¹²

Jalur Persinyalan Sel Punca Kanker

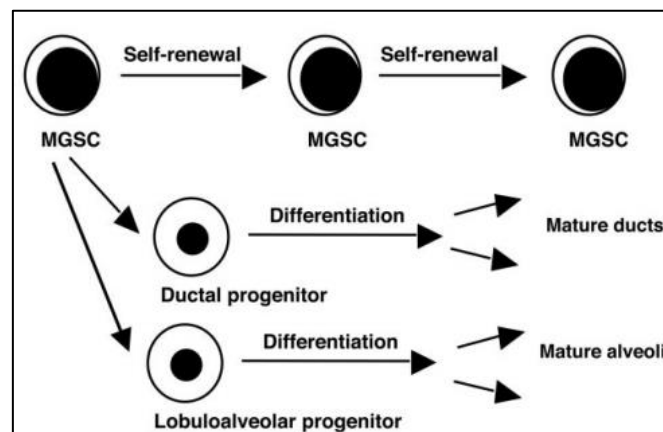
Terdapat tiga jalur pensinyalan pada sel punca kanker, yaitu jalur Wnt/ β -catenin, Hedgehog, dan Notch.¹⁴ Ketiga jalur ini juga terlibat dalam pembentukan sel punca normal. **Jalur persinyalan Wnt/ β -catenin**, selain penting dalam proses embriogenesis, juga terlibat dalam semua proses kepuncaan, seperti pembaruan diri, proliferasi dan diferensiasi sel. Kaskade pensinyalan dimulai ketika molekul Wnt ekstraseluler berikatan dengan reseptor Frizzled, yang menyebabkan terjadinya inhibisi dari degradasi β -catenin sehingga terjadinya translokasi β -catenin ke dalam nucleus yang akan memulai proses transkripsi gen-gen proliferasi dan diferensiasi sel.¹⁴ Pada **jalur persinyalan Sonic hedgehog (Shh)**, Bmi1, gen target *downstream* dari pensinyalan tersebut akan menghambat aktivasi gen p16INK4A dan p14ARF yang akan mencegah *senescence* sel punca kanker payudara dengan mempertahankan pensinyalan cyclin D/Cdk4 dan mendegradasi p53.¹⁴ Pensinyalan Shh dimulai ketika ligan berikatan dengan reseptor Patched (PTCH) sehingga faktor transkripsi Gli akan diaktivasi oleh protein Smoothened (SMO) yang akan memulai proses transkripsi gen-gen target seperti Bmi1.¹⁴ Reseptor Notch penting dalam proses pembaruan diri sel punca kanker lewat **jalur persinyalan Notch**. Interaksi antara ligan *Delta/Jagged* menyebabkan pemotongan bagian intraseluler reseptor Notch yang akan melakukan translokasi ke nukleus untuk kemudian mengikat faktor transkripsi CSL, sehingga proses transkripsi gen-gen target dapat dimulai.¹⁴



Gambar 6. Cross-talk antara Jalur Persinyalan Sel Punca Kanker.¹⁵ Ketiga jalur persinyalan yang berperan dalam pembentukan sel punca kanker mengalami beberapa persilangan dengan beberapa kaskade sinyal lain yang saling berhubungan.

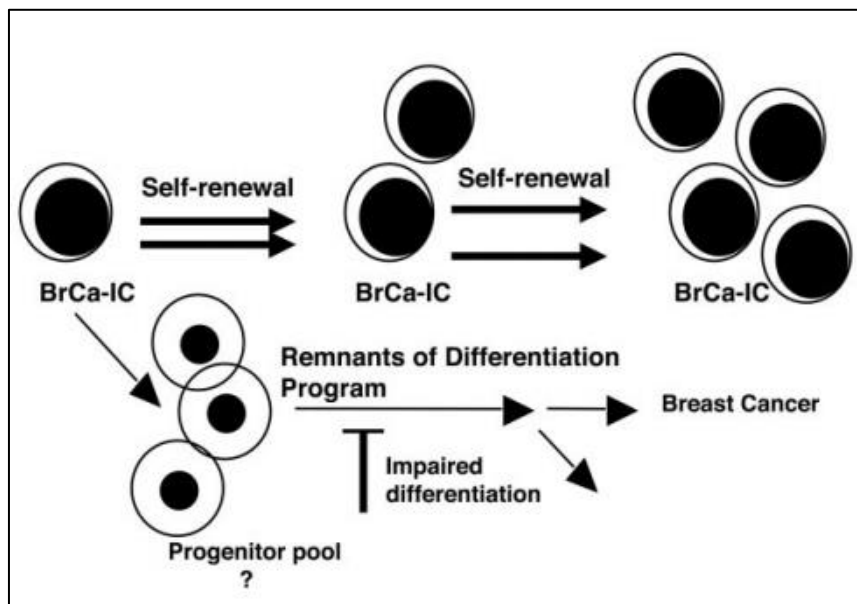
Sel Punca Kanker Payudara (BCSC)

Pada teori hierarki sel punca kanker payudara, hanya sel punca kanker payudara yang memiliki kemampuan pembaruan sel tinggi dan kemampuan untuk dapat berkembang yang akan menghasilkan progenitor garis keturunan. Meskipun dua progenitor utama yang terikat dengan garis keturunan kehilangan kemampuan pembaruan diri, kedua progenitor tersebut masih dapat berproliferasi dan berdiferensiasi secara cepat. BCSC dan progenitornya dapat memiliki kemampuan meregenerasi kelenjar mammae dengan transplantasi secara in vivo.¹⁶



Gambar 7. Representasi Skematis Teori Pembentukan BCSC.¹⁶

Breast cancer-initiating cell (BrCa-IC) menjadi kunci untuk memahami asal mula kanker payudara. BrCa-IC berperan dalam 'memelihara' keberadaan kanker payudara. Meskipun BrCa-IC memiliki kapasitas untuk memperbarui diri, mereka juga dapat mengalami maturasi atau berdiferensiasi menjadi sel kanker payudara yang kehilangan kemampuannya untuk mempertahankan tumor tersebut.¹⁶ Beberapa sel tersebut mungkin masih memiliki kemampuan berproliferasi tinggi yang mengindikasikan sel progenitor, tapi telah kehilangan kemampuannya dalam mempertahankan tumor setelah transplantasi. Sel kanker payudara yang terdiri dari sebagian besar jaringan tumor mempertahankan sisa-sisa hasil diferensiasi sel normal.¹⁶



Gambar 8. Gambaran Organisasi Tumor Kanker Payudara secara Hierarki.¹⁶

Penelitian yang dilakukan oleh Al Hajj dkk. pada tahun 2003 menghasilkan bukti pertama yang menunjukkan keberadaan sel punca kanker payudara (*breast cancer stem cells*, BCSC), yaitu dengan cara mengisolasi populasi sel dari kanker payudara primer manusia dengan menggunakan metode *fluorescence-activated cell sorting* (FACS) berdasarkan penanda permukaan sel berupa CD44, CD24, dan *epithelial surface antigen* (ESA), atau yang sekarang dikenal dengan *epithelial cell adhesion molecule* (EpCAM). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ketika sel kanker ditransplantasikan ke mencit yang imunodefisiensi, terdapat 100 sel yang mengekspresikan CD44 dan ESA (sel berfenotip $CD44^{+}/CD24^{-}/rendah/EpCAM^{+}$) yang dapat menginisiasi tumor secara konsisten. Sel berfenotip tersebut juga terbukti memproduksi sel anak dengan fenotip yang sama ($CD44^{+}/CD24^{-}/rendah/EpCAM^{+}$) maupun fenotip lainnya, menunjukkan bahwa sel punca kanker payudara mengalami pembelahan sel secara asimetris.¹⁷

Penanda lain yang digunakan untuk mengidentifikasi sel punca kanker payudara selain CD44 dan CD24 yang umum digunakan adalah enzim dehidrogenase aldehida (*aldehyde dehydrogenase*, ALDH) 1. Penelitian oleh Ginestier et al. pada tahun 2007 melaporkan bahwa sel kanker payudara yang memiliki aktivitas enzim ALDH1 yang tinggi memiliki kemampuan yang menyerupai sel punca seperti kemampuan tumorigenik, memperbarui diri, serta memproduksi sel-sel baru dengan heterogenitas tinggi.¹⁸

Identifikasi Sel Punca Kanker Payudara (BCSC)

Identifikasi penanda biologis merupakan salah satu tahap terpenting dalam menetapkan BCSC. Studi mengenai penanda molekuler berkontribusi dalam karakterisasi dan isolasi subpopulasi BCSC. Pemahaman yang lebih baik terhadap penanda sel punca yang terekspresikan pada kanker payudara dapat membantu penemuan target terapi baru. Penanda BCSC yang paing umum digunakan adaah CD44, CD24, ALDH, dan EpCAM.^{19,20} Untuk penanda BCSC lain yang baru ditemukan masih didiskusikan lebih lanjut.

Biomarkers	Characteristics	References
CD44	Cellular adhesion	(8,9)
	Intracellular signalling process	
	Cellular proliferation	
	Tumour angiogenesis	
	Migration and differentiation	
	Invasive properties in breast cancer	
CD24	Cellular adhesion	(12)
	Tumour metastasis and proliferation	
	Poor prognosis marker when applied independently	
ALDH1	Cellular proliferation and differentiation	(13)
	Poor prognosis marker when applied independently	
CD133	Cellular differentiation	(14)
CD49f	Cellular distribution of basal and endothelial cells	(15,16)
	Tumour initiation	
	Tumour metastasis	
CD61	Tumour initiation	(15,16)
CD44 ⁺ /CD24 ⁻ Lin ⁻	First marker isolated from BCSCs population	(17)
	Tumourigenic potential	
	Retain heterogeneity	
CD44 ⁺ /CD49f ⁺ /CD133/2 ⁺	Tumourigenic potential	(18)
	Self-renewal	
	Retain heterogeneity in breast cancer	
BCSC, breast cancer stem cell.		

Tabel 2. Penanda biologis (*biomarker*) BCSC.¹⁹

CD44 dan CD24 sebagai Penanda BCSC

CD44 merupakan protein membran sel multifungsi yang terlibat dalam interaksi antar sel dan sel dengan matriks ekstraseluler dengan ikatan hyaluronan (HA). Ligan CD44 yang lain, yaitu kolagen, fibronectin, fibrinogen, laminin, kondroitin sulfat, addressin mukosal vaskular, serglisin, osteopontin, rantai MHC kelas II, L-selektin, dan E-selektin. Sebagaimana ekspresi CD44 tersebar luas pada tubuh, dan juga memiliki ligan yang umum, pengikatan CD44 pada ligannya seringkali bergantung pada stimulus eksternal. *Splicing* alternatif dan glikosilasi protein dapat memperbanyak jumlah isoform CD44 dengan berbagai ukuran (85-230 kDa), fungsi, dan lokalisasi jaringan.²¹

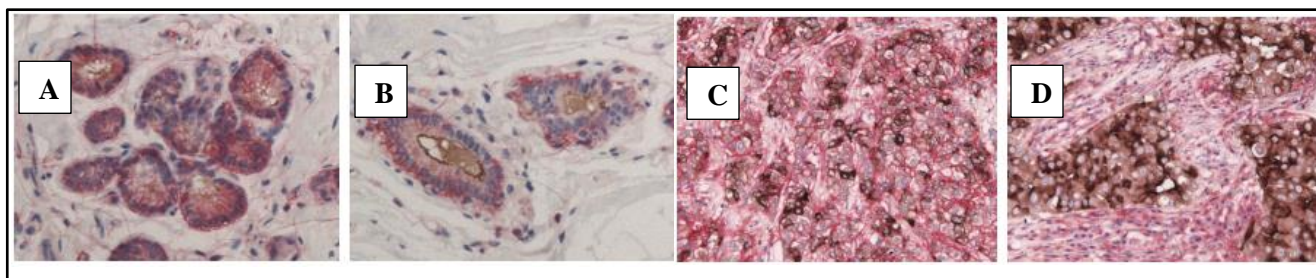
Pada jaringan payudara normal, ekspresi CD44 telah diketahui secara imunohistokimia (IHK) berada pada lapisan myoepitel, dengan sel epitel yang lain merupakan CD44⁻. CD44 pertama kali diketahui terlibat dalam kanker ketika cell line nonmetastatik memperoleh potensi metastatiknya setelah ditransfeksi dengan CD44c4-c7, varian CD44 yang sebelumnya ditemukan terekspresi pada tikus yang terkena adenokarsinoma pankreas metastatik. CD44s berperan dalam adhesi, motilitas, dan invasi sel kanker payudara, sedangkan CD44v6 hanya terlibat dalam motilitas sel. CD44 berperan dalam tumorigenesis dengan melakukan pembentukan koloni yang lebih efisien melalui peningkatan adhesi pada ligan-ligan pada lingkungan sekitarnya.²¹

Sama seperti CD44, CD24 merupakan molekul adhesi seluler terglykosilasi, dengan kisaran berat molekul 30-70kDa. Molekul tersebut pertama kali dideskripsikan sebagai protein permukaan sel B, namun kemudian ditemukan terekspresi pada berbagai sel hematopoietik, otak yang berkembang dan pankreas, begitu pula dengan kelompok sel epitel seperti keratinosit dan sel tubular ginjal.²¹

Pada sel normal, CD24 diduga terlibat dalam maturasi sel B dan penentuan progenitor limfoid T dan B untuk bertahan dan berproliferasi. CD24 juga merupakan molekul kostimulator sel T yang penting, walaupun mekanismenya masih belum diketahui. Oligosakarida yang berikatan dengan CD24 berperan sebagai ligan untuk P-selektin, molekul adhesi sel yang diekspresikan oleh sel endotel pembuluh darah dan platelet. Interaksi tersebut dapat memfasilitasi invasi tumor melalui pembuluh darah.²¹

Keberadaan CD24 diketahui dapat meningkatkan dan menghambat invasi sel kanker payudara. Hasil studi menunjukkan bahwa *down-regulasi* CD24 memiliki keterkaitan terhadap meningkatnya invasi *cell lines* kanker payudara, namun beberapa studi lain menunjukkan hasil yang kontradiktif seperti yang dilakukan oleh Lim dkk. pada tahun 2005 terhadap tikus glioma. Belum diketahui secara pasti bagaimana CD24 dapat menjadi penanda CSC, namun molekul tersebut dapat memengaruhi tumorigenesis sel, dan fungsi molekul tersebut dalam perkembangan BCSC harus ditelaah lebih lanjut.²¹

Ekspresi CD44⁺ dan CD24^{-rendah} sering digunakan bersamaan dengan pewarnaan IHK *double-staining* sebagai penanda sel punca kanker payudara.²² Pada payudara normal, pewarnaan ganda tersebut menunjukkan ekspresi CD44 membran pada sel myoepitel, walaupun juga terdapat beberapa ekspresi oleh sel luminal. CD24 berlokalisasi menuju permukaan apikal sel luminal dan juga mewarnai sekresi intra-luminal. Pada BCSC, pewarnaan dengan penanda tersebut terlihat sangat kuat dibandingkan payudara normal (gambar 9).



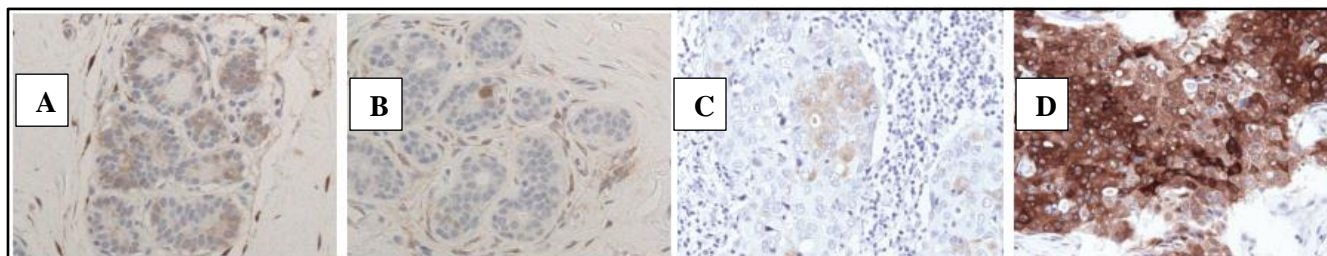
Gambar 9. Pewarnaan IHK CD44⁺/CD24^{-rendah} sebagai Penanda Sel Punca pada Jaringan Payudara Normal dan pada Karsinoma Invasif. ²²(A dan B) *double immunostaining* pada CD44 (merah) dan CD24 (coklat) menunjukkan ekspresi CD44 pada sel myoepitel dan beberapa sel luminal. CD24 mewarnai membran apikal luminal dan inti sekresinya. (C) Pewarnaan CD44 membran (merah) dan sitoplasmik (coklat) pada sel karsinoma invasif dengan perbedaan proporsi sel positif, didominasi oleh CD44⁺/CD24^{-rendah} dan (D) sel-sel yang mengekspresikan CD24 saja.

ALDH sebagai Penanda BCSC

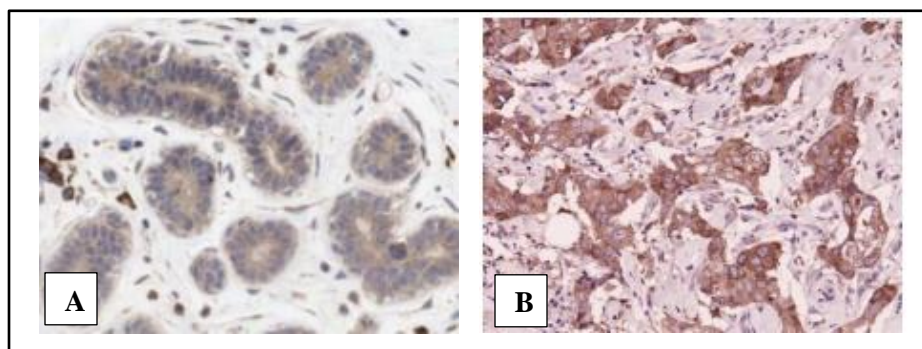
Aldehida dehidrogenase (ALDH) merupakan bagian dari kelompok besar enzim yang memiliki peran terpenting dalam metabolisme aldehida. Enzim ALDH banyak ditemukan pada tahap proliferasi dan diferensiasi sel serta embriogenesis. Enzim tersebut berperan mengkatalisis oksidasi gugus aldehida menjadi asam karboksilat dengan bantuan koenzim *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADP) ataupun NAD.²³ Enzim tersebut berperan dalam mengurangi kadar *reactive oxygen species* (ROS) dan mencegah timbulnya stress oksidatif, sehingga bisa dikatakan bahwa enzim ALDH merupakan enzim antioksidan yang memiliki fungsi detoksifikasi.^{23,24}

Peran utama enzim ALDH adalah sebagai regulator dalam proses sintesis asam retinoat (*retinoic acid*, RA) pada tahap kedua, yaitu oksidasi metabolit dari retinol (vitamin A). Sebelumnya retinol telah dioksidasi oleh enzim retinol dehidrogenase, yang akan menghasilkan trans-retinal yang kemudian akan dioksidasi kembali oleh enzim ALDH dan menghasilkan RA, yang akan bertranslokasi menuju nukleus. RA akan berikatan dengan reseptor retinoid X (*retinoid-x-receptor/RXR*) dan berikatan pada DNA di bagian promotor (*retinoic acid response element/RARE*), dan proses transkripsi gen-gen yang memicu diferensiasi sel, *cell cycle arrest*, dan apoptosis dapat dimulai.²³

Anggota dari enzim ALDH yang sering digunakan sebagai penanda BCSC adalah ALDH1A1 dan ALDH1A3.²² Pada jaringan normal, Ekspresi ALDH1A1 yang kuat terlihat pada sel luminal pada TDLU. Hampir semua sel stromal pada jaringan payudara normal mengekspresikan ALDH1A1. ALDH1A3 terekspresikan sangat sedikit pada sitoplasma sel epitel dan stromal payudara.²⁴



Gambar 10. Pewarnaan IHK ALDH1A1 sebagai Penanda Sel Punca pada Jaringan Payudara Normal dan pada Karsinoma Invasif.²²(A) Pewarnaan jaringan payudara normal pada sel luminal (B) Pewarnaan jaringan payudara normal pada keseluruhan lobulus (C) Pewarnaan jaringan kanker payudara dengan tingkat ekspresi ALDH1A1 yang rendah (D) Pewarnaan jaringan kanker payudara dengan tingkat ekspresi ALDH1A1 yang tinggi.



Gambar 11. Pewarnaan IHC ALDH1A3 sebagai Penanda Sel Punca pada Jaringan Payudara Normal (A) dan pada Karsinoma Invasif (B).²²

Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM) sebagai Penanda BCSC

Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) atau yang dikenal dengan CD326 dan *epithelial specific antigen* (ESA), merupakan glikoprotein transmembran tipe I yang terekspresikan di beragam jaringan epitel.²⁰ EpCAM pada mulanya diusulkan sebagai molekul adhesi antarsel, namun hasil studi terbaru menunjukkan bahwa EpCAM juga terlibat dalam persinyalan sel, proliferasi, migrasi, diferensiasi dan metastasis. Studi klinis menyatakan bahwa tingkat ekspresi EpCAM pada kanker payudara sangat tinggi dan kelebihan ekspresi molekul tersebut dikaitkan dengan prognosis yang buruk. Al Hajj dkk. melaporkan bahwa frekuensi sel yang menginisiasi sel tumor lebih tinggi 10 kali lipat pada BCSC EpCAM⁺ dibandingkan dengan EpCAM⁻.¹⁷ Oleh karena itu, kini EpCAM dijadikan sebagai penanda BCSC permukaan sel yang digunakan dalam identifikasi dan isolasi sel punca kanker pada beberapa tipe kanker selain kanker payudara.

Penanda BCSC lain

Penanda biologis lain yang terlibat di dalam pengidentifikasian BCSC yaitu CD133 yang dapat ditemukan pada kanker payudara tripe-negative dan tumor BRCA-1.²¹ Fungsi spesifik dari ekspresi CD133 pada sel kanker masih belum diketahui secara pasti, tapi diketahui berkaitan dengan pengikatan kolesterol, dan diduga terlibat dalam persinyalan Hedgehog yang bertanggungjawab dalam diferensiasi sel dan *epithel-mesenchymal transition* (EMT). Desgroseiller dkk. pada tahun 2014 melaporkan bahwa CD49f dan CD61 memiliki keterkaitan dengan hal-hal yang dapat menginisiasi tumor melalui studi kanker payudara mencit.²¹

Regulasi MicroRNA terhadap BCSC

MicroRNA (miRNA) merupakan berkas asam ribonukleat (RNA) tunggal berukuran kecil (panjang antara 21 hingga 25 nukleotida) regulator berukuran pendek yang tidak menyandi (*non-coding RNA*) yang menghambat peran (*downregulate*) gen sasarannya pada tahap pasca-transkripsi dari ekspresi gen, dan biasanya terderegulasi pada kanker.¹⁹ Akhir-akhir ini diketahui bahwa miRNA dapat di-upregulasi atau di-downregulasi pada kanker payudara. Deregulasi ekspresi miRNA berkaitan dengan karsinogenesis dan resistensi terapi populasi BCSC.¹⁹

Kehilangan miR200c seringkali dikaitkan dengan tumorigenesis BCSC dan sel punca payudara normal. Jurmeister dkk. pada tahun 2012 melaporkan bahwa downregulasi miR-200c dapat memicu terjadinya kanker payudara untuk berinvasi dan bermigrasi.²⁵ Oleh karena itu, perlakuan terhadap progresi metastatik kanker payudara dapat dikembangkan dengan mengekspresikan ulang miR-200c. Selain itu, penekanan ekspresi miR-205 dalam populasi

BCSC menunjukkan resistensi terapi MiR-141 juga ter-downregulasi pada BCSC, yang berkontribusi dalam dediferensiasi BCSC yang berimbas kepada peningkatan jumlah populasi sel tersebut. Penurunan ekspresi miR-34a pada kanker payudara manusia menunjukkan penurunan sifat kepuncaan sel. Penelitian yang dilakukan Kang dkk. pada tahun 2015 menyatakan bahwa miR-34a melibatkan jalur persinyalan Notch-1 dalam mempertahankan kepuncaan sel populasi BCSC, yang secara tidak langsung menunjukkan bahwa jalur miR-34a/Notch-1 berpotensi menjadi target terapi BCSC.²⁶

Selain itu, peningkatan ekspresi let-7 miRNA terlibat dalam karsinogenesis dan perkembangan tumor BCSC. Sun dkk. pada tahun 2016 menemukan bahwa isoform let-7c berhubungan dengan jalur persinyalan Wnt in vivo dalam regulasi pembaruan BCSC. MiR-1 juga berkaitan dengan jalur persinyalan Wnt yang sangat penting dalam agresivitas kanker payudara. Hampir dari semua penelitian tersebut dapat dijadikan referensi untuk perkembangan terapi kanker dengan menggunakan miRNA, namun masih dibutuhkan studi lebih lanjut terhadap mekanisme yang meregulasi kepuncaan BCSC.

Terapi Kanker yang Menargetkan BCSC

Kebanyakan terapi konvensional yang sudah dilakukan dalam pengobatan kanker dapat mengeliminasi tumpukan tumor primer, tapi belum dapat memberikan hasil klinis terhadap pasien. Hal ini disebabkan karena terapi konvensional mempunyai keterbatasan dalam mengeliminasi populasi BCSC, yang dapat menyebabkan kekambuhan pada kanker payudara. Oleh karena itu, strategi terapi BCSC telah dikembangkan seperti menargetkan biomarker khusus, jalur persinyalan dan miRNA, yang bersifat lebih efektif terhadap pengobatan kanker secara selektif.¹⁹

Nanopartikel yang mengkapsulasi decitabine dosis rendah telah dikembangkan oleh Li dkk. pada tahun 2015 untuk membuat respon kemoterapi terhadap populasi CSC menjadi lebih peka dengan meningkatkan aktivitas ALDH.²⁷ Pada studi yang sama, perlakuan kombinasi nanopartikel dengan decitabine dosis rendah dan doxorubicin menunjukkan penurunan populasi CSC secara signifikan dengan tingginya ekspresi ALDH in vitro dan menunjukkan sensitivitas BCSC terhadap obat yang diberikan.²⁷ Sebagai tambahan, aplikasi *multifunctionalized iron oxide magnetic nanoparticles* (MNP) dengan antibodi anti-CD44 dan turunan gemcitabine menunjukkan pengaruh signifikan terhadap sel kanker CD44⁺. Dengan ini, MNP dapat berpotensi dalam mengeliminasi BCSC.¹⁹

Selain menargetkan *biomarker*, nanopartikel juga memengaruhi jalur persinyalan yang meregulasi CSC. Terapi spesifik nanopartikel telah dirancang untuk menargetkan jalur persinyalan khusus yang meregulasi kepuncaan populasi BCSC seperti jalur Wnt/ β -catenin, Notch, dan Hh. Aplikasi sistem penghantaran obat nanopartikel terbukti lebih efisien, memiliki efek samping lebih kecil, dan spesifisitas CSC terhadap pengobatan lebih besar, walaupun penelitian lebih lanjut masih dibutuhkan untuk keselamatan dalam pengaplikasiannya secara in vivo.

Mekanisme Resistensi Terapi BCSC

Terdapat beragam mekanisme resistensi terapi BCSC seperti pada gambar 12. Protein Transporter ATP-binding cassette (ABC) terlibat dalam transpor senyawa dan molekul kecil keluar sel, dan berperan penting dalam pembentukan homeostasis kimiawi dan kelangsungan hidup sel dalam berbagai macam lingkungan, seperti sel punca normal, plasenta, sel epitel sistem pencernaan dan sel endotel. Transporter ABC juga penting dalam *multidrug resistance* (MDR)

pada berbagai jenis kanker. Tiga dari 49 transpor ABC yang telah diketahui merupakan regulator MDR, seperti glikoprotein P (P-gP), multidrug resistance protein 1 (MDR1), dan protein resistensi kanker payudara. Protein transpor tersebut terekspresikan sangat tinggi pada kanker payudara, yang berakibat dibawanya obat-obatan sitotoksik keluar sel dengan menggunakan ATP.²⁸

Selain keberadaan protein ABC, aktivitas ALDH juga terlibat dalam mekanisme resistensi terapi BCSC. ALDH menginduksi radioresistensi CSC baik dengan membuang ROS secara langsung maupun dengan menghasilkan senyawa antioksidan *nicotinamide dinucleotide* (fosfat) secara tidak langsung. Aktivitas ALDH1 dan tiga isoformnya membuat sel dapat memetabolisme siklofosfamid dan analognya seperti ifosfamid, mafosfamid, dan 4-hidroperoksi siklofosfamid, dan mendetoksifikasi aldofosfamid menjadi karboksifosfamid. Selain dapat bertambah jumlahnya setelah kemoterapi, sel ALDH+ juga menghasilkan resistensi terhadap paclitaxel dan epirubicin.²⁸

Radioterapi dan berbagai macam obat kemoterapi dapat merusak DNA melalui beragam mekanisme, seperti penghambatan sintesis DNA (methoxerate), penghambatan topoisomerase (daunorubicin, doxorubicin), dan pembentukan *cross-link* DNA (carboplatin, cisplatin, oxaplatin) yang menyebabkan kegagalan DNA *repair* sehingga menyebabkan kematian sel.

Perbedaan tingkat oksigen sangat mendasari terjadinya reaksi intraseluler. ROS, radikal bebas aktif yang diproduksi selama metabolisme oksigen, terlibat dalam proliferasi, migrasi, penyembuhan luka, dan angiogenesis. Jumlah ROS yang berlebihan dihasilkan sebagai akibat dari paparan radiasi, yang diikuti dengan interaksi komponen sel seperti DNA, protein, dan lipid, yang berujung kematian sel. Sel normal dan sel kanker menghasilkan jumlah produksi dan kehilangan ROS yang seimbang dengan menggunakan katalase, glutathione peroksidase, superoksida dismutase, dan thioredoxin. BCSC memiliki mekanisme spesifik untuk melindungi efek genotoksik ROS dengan cara meningkatkan ROS *scavenging* dan menurunkan tingkat produksi ROS. Pentingnya ROS *scavenging* muncul ketika pengobatan dengan buthionine sulfoximine (BSO) dapat menurunkan tingkat radioresistensi dengan turunya potensi klonogenik CSC. BSO mendorong terjadinya proses tersebut dengan menghambat glutamate cysteine ligase.²⁸

Penutup

Kanker payudara merupakan penyakit keganasan epitel duktus maupun lobulus jaringan payudara yang terjadi akibat kegagalan dalam koordinasi fungsi gen. Saat ini, kanker payudara merupakan penyebab kematian kedua akibat kanker pada wanita setelah kanker serviks dan merupakan kanker yang paling banyak ditemui pada wanita. Pada kanker payudara ditemukan heterogenitas populasi tumor yang diketahui disebabkan oleh adanya sel-sel yang memiliki sifat kepuncaan, yang disebut sel punca kanker payudara (*Breast Cancer Stem Cells/BCSC*). BCSC tersebut dapat diidentifikasi keberadaannya pada sel kanker dengan menggunakan beberapa penanda biologis khusus (*biomarker*) dengan pewarnaan imunohistokimia (IHK). Adanya BCSC diduga turut berperan dalam kekambuhan kanker payudara setelah proses terapi, oleh karena itu pengobatan kanker dengan menjadikan BCSC sebagai target terapi dapat dilakukan.

Namun bagaimanapun, teori asal mula BCSC masih belum dapat dibuktikan untuk menjelaskan inisiasi kanker tersebut. Selain itu, belum terdapat biomarker universal yang spesifik untuk mengidentifikasi kanker payudara. Meskipun begitu, studi lebih lanjut mengenai pendekatan terapi nanopartikel harus dilakukan, untuk dapat memastikan keselamatan

penerapannya secara in vivo. Penelitian mengenai CSC tak diragukan lagi dapat memberikan pemahaman yang lebih baik terhadap BCSC yang dapat mendukung perkembangan target terapi baru dan terus memperkaya strategi terapi yang sudah ada.

Daftar Pustaka

1. Cancer.org [Internet]. What Is Breast Cancer?. New York: American Cancer Society; c2018 [diupdate 2018; diakses 1 Apr 2018]. Tersedia di: <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/about/what-is-breast-cancer.html>.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*. 2015;136(5):E359-86.
3. Cancer Country Profiles 2014: Indonesia. World Health Organization, 2014.
4. Pathology.jhu.edu [Internet]. Types of Breast Cancer. Baltimore: John Hopkins University.; c2012-2015 [diupdate 2015; diakses 1 Apr 2018]. Tersedia di: <http://pathology.jhu.edu/breast/types.php>.
5. Pathology.jhu.edu [Internet]. Anatomy and Physiology of the Breast. Baltimore: John Hopkins University; c2012-2015 [diupdate 2015; diakses 1 Apr 2018]. Tersedia di: <http://pathology.jhu.edu/breast/anatomy.php>
6. Bydoun M, Marcato P, Dellaire G. *Breast Cancer Genomics* 2013. 213-32.
7. McDermott SP, Wicha MS. Targeting breast cancer stem cells. *Molecular Oncology*. 2010;4(5):404-19.
8. Chatterjee SJ, McCaffrey L. Emerging role of cell polarity proteins in breast cancer progression and metastasis. *Breast cancer* (Dove Medical Press). 2014;6:15-27.
9. Cho N. Molecular subtypes and imaging phenotypes of breast cancer. *Ultrasonography* (Seoul, Korea). 2016;35(4):281-8.
10. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(6859):105-11.
11. Cariati M, Purushotham AD. Stem cells and breast cancer. *Histopathology*. 2008;52(1):99-107.
12. Placks V, Kong N, Werb Z. The Cancer Stem Cell Niche: How Essential Is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells? *Cell Stem Cell*. 2015;16(3):225-38.
13. Clarke MF, Fuller M. Stem Cells and Cancer: Two Faces of Eve. *Cell*. 2006;124(6):1111-5.
14. Alison MR, Murphy G, Leedham S. Stem cells and cancer: a deadly mix. *Cell and tissue research*. 2008;331(1):109-24.
15. Singh AK, Arya RK, Maheshwari S, Singh A, Meena S, Pandey P, dkk. Tumor heterogeneity and cancer stem cell paradigm: updates in concept, controversies and clinical relevance. *International journal of cancer*. 2015;136(9):1991-2000.
16. Dick JE. Breast cancer stem cells revealed. *PNAS*. 2003;100(7):3547-49.
17. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(7):3983-8.
18. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, dkk. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell stem cell*. 2007;1(5):555-67.

19. Sin WC, Lim CL. Breast cancer stem cells—from origins to targeted therapy. *Stem Cell Investig.* 2017;4:96.
20. Hiraga T, Ito S, Nakamura H. EpCAM expression in breast cancer cells is associated with enhanced bone metastasis formation. *Int J Cancer.* 2016 Apr 1;138(7):1698-708.
21. Chu JE, Allan AL. Cancer Stem Cells in Breast Cancer. dalam *Cancer Stem Cells in Solid Tumors, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine* oleh Allan AL: Springer Science+Business Media; 2011.
22. Ali HR, Dawson SJ, Blows FM, Provenzano E, Pharoah PD, Caldas C. Cancer stem cell markers in breast cancer: pathological, clinical and prognostic significance. *Breast Cancer Res.* 2011;13(6):R118.
23. Duan JJ, Cai J, Guo YF, Bian XW, Yu SC. ALDH1A3, a metabolic target for cancer diagnosis and therapy. *Int J Cancer.* 2016;139(5):965-75.
24. Marcato P, Dean CA, Giacomantonio CA, Lee PW. Aldehyde dehydrogenase: its role as a cancer stem cell marker comes down to the specific isoform. *Cell cycle (Georgetown, Tex).* 2011;10(9):1378-84.
25. Jurmeister S, Baumann M, Balwierz, dkk. MicroRNA200c Represses Migration and Invasion of Breast Cancer Cells by Targeting Actin Regulatory Proteins FHOD1 and PPM1F. *Mol Cell Biol* 2012;32:633-51.
26. Kang L, Mao J, Tao Y, dkk. MicroRNA-34a suppresses the breast cancer stem cell-like characteristics by downregulating Notch1 pathway. *Cancer Sci* 2015;106:700-8.
27. Li B, Lu Y, Wang H, dkk. MiR-221/222 enhance the tumorigenicity of human breast cancer stem cells via modulation of PTEN/Akt pathway. *Biomed Pharmacother* 2016;79:93-101.
28. Zarrini AB, Khazaei MR, Khazaei M. New Findings on Breast Cancer Stem Cells: A Review. *J Breast Cancer* 2015;18(4):30

