

## SEL PUNCA KANKER KOLOREKTAL

Noza Hilbertina<sup>1</sup> dan Jeanne Adiwinata Pawitan<sup>2</sup>

Program Doktor Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia<sup>1</sup>  
Program Doktor Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia<sup>2</sup>  
Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia<sup>2</sup>  
UPT TK Sel Punca RSCM/FKUI Jakarta, Indonesia<sup>2</sup>  
SCTE – IMERI, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia<sup>2</sup>  
nozahilbertina@gmail.com dan jeantheadiwip@gmail.com

---

### Abstract

Received : 11-04- 2021  
Revised : 14 -04-2021  
Accepted : 19-04-2021

*Background: Colorectal cancer chemotherapy and radiotherapy often fails or recurrent due to the presence of a cluster of cells with stem cell properties, i.e. colorectal cancer stem cells. Methods: To write this narrative review we searched Pubmed/Medline and Google Scholar; and included articles about colorectal cancer stem cells in term of their origin, methods of isolation and identification, and the impact of colorectal cancer stem cells on the prognosis of colorectal cancer. We analysed the data, grouped into subtitles and tables, and presented narratively. Result and discussion: Isolation and identification of colorectal cancer stem cells were done using their characteristics, such as sphere forming ability, dye exclusion, and the presence of cell surface markers. In addition, identification can be done by analysing signalling pathways, enzyme activity, transcription factors, and in vivo assay as the gold standard. Conclusion: Colorectal cancer stem cells are supposed to originate from mutated colon stem cells, and are believed to be associated with invasion and metastatic ability, and the survival of the patient..*

**Keywords:** cancer stem cells; colorectal cancer; prognosis.

### Abstrak

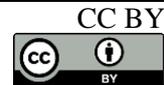
Latar belakang: Kemoterapi dan radioterapi pasien kanker kolorektal sering gagal, atau kambuh kembali, yang disebabkan adanya kelompokan sel dengan sifat sel punca yang disebut sel punca kanker kolorektal. Metode penelitian: Untuk menulis studi pustaka ini kami melakukan pencarian di Pubmed/ Medline dan Google Scholar dan memilih artikel yang berkaitan dengan sel punca kanker kolorektal, dalam hal asalnya, cara isolasi dan identifikasinya dan dampak sel punca kanker kolorektal pada prognosis kanker kolorektal. Data dianalisis, dikelompokkan dalam subjudul, dibuat tabel dan ditampilkan secara naratif. Hasil dan pembahasan: Isolasi dan identifikasi sel punca kanker kolorektal dapat dilakukan melalui berbagai sifatnya seperti kemampuan membentuk spheres, dye exclusion dan keberadaan marka permukaan sel. Selain itu, identifikasi dapat dilakukan dengan melihat jalur pensinyalan, aktifitas enzim, marka faktor

---

transkripsi dan uji *invivo* sebagai baku emas. Kesimpulan: Sel punca kanker kolorektal diduga berasal dari sel punca kolon yang mengalami mutasi dan berhubungan dengan kemampuan invasi, metastasis dan juga survival penderita kanker tersebut.

Kata kunci: sel punca kanker; kanker kolorekta; prognosis.

---



## PENDAHULUAN

Kanker Kolorektal (KKR) adalah keganasan yang berasal dari epitel yang melapisi mukosa kolon dan rektum. Berdasarkan data Globocan 2018, insiden KKR menempati urutan ketiga dari kanker tersering diseluruh dunia dan menempati urutan kedua untuk mortalitas. Pada 2018, diperkirakan ada 1.8 juta kasus baru KKR yang terdiagnosis (Bray et al., 2018). Meskipun pengobatan KKR telah banyak mengalami kemajuan, namun angka survival KKR terutama stadium lanjut masih rendah (Indonesia, 2014). Satu dari empat pasien dengan stadium konvensional yang negatif metastasis ke kelenjar limfa (Stadium I dan II menurut AJCC) dan lebih 50% pasien stadium III akan mengalami rekurensi dan atau metastasis. KKR dengan adanya metastasis memiliki prognosis yang sangat jelek dan angka survival menjadi singkat (Langan et al., 2013).

Metastasis kanker merupakan 90% penyebab kematian terkait kanker, hal ini dikarenakan pengobatan sering gagal dalam menyembuhkan kanker yang telah menyebar tersebut (Peitzsch, Tyutyunykova, Pantel, & Dubrovskaya, 2017). Terapi kanker konvensional seperti kemoterapi dan radioterapi memiliki keterbatasan sehingga mengakibatkan kegagalan terapi dan rekurensi. Ketidakmampuan terapi konvensional ini dalam mengeradikasi sel kanker secara komplit diyakini karena resistensi obat dan adanya sekelompok sel dengan properti memperbarui diri yang disebut dengan sel punca kanker (Cancer Stem Cells/CSC) (Das & Law, 2018).

Kemoterapi dan radioterapi konvensional berpotensi membunuh sel tumor yang aktif berproliferasi dan memperkecil ukuran tumor, namun terdapat sejumlah kecil sel tumor dengan fitur CSC yang bertahan dan menumbuhkan tumor kembali. Sejumlah riset klinis memperlihatkan korelasi penanda CSC dengan luaran yang jelek setelah terapi konvensional (Peitzsch et al., 2017).

Selain itu terdapat teori yang meyakini bahwa kanker merupakan penyakit sel punca. Menurut model CSC, kanker berasal dari sekelompok kecil sel kanker yang memperlihatkan kemampuan memperbarui diri, pluripotensi, serta inisiasi dan mempertahankan pertumbuhan tumor (Khalek, Gallicano, & Mishra, 2010). Sel punca kanker berperan dalam inisiasi tumor, pertumbuhan, metastasis, resistensi terapi, relaps dan prognosis yang jelek (Das & Law, 2018). CSC dapat digunakan sebagai biomarka untuk deteksi dini tumor, menentukan prognosis dan prediksi respons terhadap terapi sedangkan terapi target terhadap CSC dapat dikembangkan menjadi terapi anti kanker yang berpotensi untuk menyembuhkan (Peitzsch et al., 2017).

Berdasarkan hal tersebut maka kami akan membahas tentang sel punca KKR terkait tentang asal, cara isolasi dan identifikasi serta dampak CSC terhadap prognosis KKR

## METODE PENELITIAN

Artikel ini adalah hasil studi pustaka berupa literature review, dan untuk menulis studi pustaka ini kami melakukan pencarian data di Pubmed/ Medline dan Google Scholar.

Kriteria inklusi adalah artikel yang berkaitan dengan sel punca kanker kolorektal, dalam hal asalnya, cara isolasi dan identifikasinya dan dampak sel punca kanker kolorektal pada prognosis kanker kolorektal. Kriteria eksklusi adalah artikel yang bukan dalam bahasa Inggris atau Indonesia. Prosedur pengambilan data: hasil pencarian disaring dan dipilih hanya yang memuat data tentang KKR, yaitu tentang hal umum, asal, cara isolasi dan identifikasi serta dampak CSC terhadap prognosis KKR. Hasil pemilihan menghasilkan limabelas artikel yang dijadikan bahan studi literature ini. Data dianalisis, dikelompokkan dalam subjudul, dibuat tabel dan ditampilkan secara naratif.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil**

Pencarian menghasilkan limabelas artikel yang digunakan untuk menyusun tinjauan pustaka ini. Hal umum tentang kanker kolorektal dibahas oleh lima artikel ((Bray et al., 2018); (Langan et al., 2013); (Das & Law, 2018); (Peitzsch et al., 2017); (Khalek et al., 2010). Asal sel punca kanker kolorektal dibahas oleh dua artikel (Khalek et al., 2010). Isolasi sel punca kanker kolorektal dibahas oleh satu artikel (Han, Shi, Gong, Zhang, & Sun, 2013), identifikasi sel punca kanker kolorektal dibahas oleh empat artikel (Khalek et al., 2010); (Kemper, Grandela, & Medema, 2010); (Han et al., 2013), (Hatano et al., 2017), marka permukaan sel punca kolorektal CD44, CD133, CD24, CD29, CD26, CD166, CD 326, Lgr5, dan Bmi1 dibahas oleh tiga artikel (Fanali et al., 2014); (Kemper et al., 2010); (Hatano et al., 2017), nilai prognostik dibahas oleh satu artikel (Fanali et al., 2014), side population dibahas oleh dua artikel (Hatano et al., 2017); (Keysar & Jimeno, 2010), faktor transkripsi dibahas oleh satu artikel (Zhao, Li, & Zhang, 2017), uji *in vivo* dibahas oleh dua artikel (Hatano et al., 2017), dan kemaknaan prognostik sel punca kanker pada kanker kolorektal dibahas oleh satu artikel (Wahab, Islam, Gopalan, & Lam, 2017).

### **Pembahasan**

#### **Asal sel punca kanker kolorektal**

Sel punca kanker (CSC) memiliki karakteristik yang mirip dengan sel punca kolon normal. Sel ini memiliki kemampuan memperbarui diri dan berdiferensiasi secara menyimpang. Menurut hipotesis CSC, diduga bahwa mutasi pertama pada sel punca kolon yang terdapat pada dasar kriptal dan bertahan lama, dapat mengakumulasi mutasi onkogenik selama bertahun-tahun. Sekalinya sel bertransformasi, maka sel punca yang telah mengalami mutasi tersebut dapat membelah secara simetris dan asimetris sehingga menghasilkan CSC lainnya dan sel progenitor yang kemudian membentuk sel kanker lainnya yang tidak memiliki kemampuan memperbarui diri. Sehingga keseluruhan sarang CSC akan dipenuhi oleh sel punca mutan dan kriptal akan terisi oleh progeninya. Sel kanker yang sedang berproliferasi akan mengalami perubahan yang mengakibatkan progresi kanker (Khalek et al., 2010).

Populasi CSC di dalam massa tumor hanya 0,1-1% dari total massa tumor dan dapat dibedakan dari sel lainnya dalam tumor melalui antigen permukaan yang spesifik. Sel punca normal dan CSC berbagi karakter kepuncaan, kapasitas diferensiasi dan diferensiasi yang multipotensial. Namun CSC punya karakter yang unik yang berbeda dari sel punca normal yaitu pertumbuhan CSC tidak terkontrol. CSC dan turunannya kehilangan perangsang kontak inhibisi pertumbuhan yang menjadi karakter penting dari sel non kanker (Hui, Tang, Hu, & Zhao, 2011).

Selama kemoterapi konvensional, maka sel yang telah berdiferensiasi atau sedang berdiferensiasi akan mudah dimatikan sedangkan sel punca dikarenakan sifat kepuncaan dan inaktifnya menjadi tidak terpengaruh dan bisa lolos dari kemoterapi tersebut.

Keadaan ini diyakini sebagai sumber bibit kanker dan menyebabkan kekambuhan dan metastasis kanker (Hui et al., 2011).

#### **Isolasi sel punca kanker kolorektal**

Berbagai uji dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi sel punca kanker kolorektal, yang beberapa diantaranya dapat digunakan untuk isolasi maupun identifikasi. Isolasi CSC dari massa tumor atau sel lestari dan identifikasi stem-like CSC melalui beragam metode penting untuk penelitian inisiasi tumor, perkembangan tumor, serta diagnostik dan terapeutik tumor, karena adanya kemiripan dengan sel punca normal maka marka permukaan selnya juga dapat digunakan untuk mengisolasi CSC. Metode yang dapat digunakan antara lain kemampuan membentuk spheres pada medium non-adherent, kemampuan exclusion dye karena adanya over ekspresi transporter efflux, ekspresi marka permukaan sel yang spesifik dan jalur pensinyalannya, aktifitas enzim intraselular dan klonogenisitas (Han et al., 2013).

#### **Isolasi berdasarkan marka sel punca**

Marka utama yang digunakan untuk isolasi, identifikasi dan purifikasi dari CSC adalah molekul adhesi permukaan sel (seperti CD133, CD24, CD44), enzim sitoprotektif (seperti ALDH), faktor transkripsi (seperti OCT-4, SOX-2) dan pompa efflux obat/drug efflux pumps (seperti ATP-binding cassette/ABC, drug transporter and multidrug resistance transporter/MDR1). Analisis flow cytometry, analisis Fluorescence-Activated Cell Sorting/ FACS, analisis Polymerase Chain Reaction/ PCR dan analisis pulsan immunofluoresen berbasis marka spesifik CSC digunakan secara luas untuk mengisolasi, purifikasi dan karakterisasi dari CSC (Han et al., 2013).

#### **Isolasi CSC berdasar kemampuan pembentukan bangunan bulat (spheres)**

Salah satu fitur penting dari CSC sebagaimana sel punca normal adalah membentuk spheres atau tumbuh dalam bentuk koloni bulat pada medium bebas serum atau medium soft, sehingga dapat diisolasi.

#### **Identifikasi sel punca kanker kolorektal**

Beberapa penanda telah dikaitkan dengan fenotipe CSC. Penelitian dengan menggunakan analisis flow cytometry dan pembentukan spheroid pada kultur sel untuk mengidentifikasi marka permukaan yang berkorelasi dengan fenotipe tumorigenik sel punca melibatkan molekul CD133, CD44, CD34, CD24, epithelial-specific antigen (ESA), CD166, CD29, Lgr5, nuclear  $\beta$ -catenin, EpCAM, CD49f dan ALDH (Khalek, et al, 2010). Identifikasi CSC pada KKR dapat membantu dalam mempelajari peranan sel ini dalam menginisiasi dan mengatur pertumbuhan tumor (Kemper et al., 2010).

Strategi untuk mendeteksi sel kanker kolon yang memiliki fenotipe stem cell-like/ tumor initiating dapat dilakukan secara in vitro dengan metode berdasarkan marka yang umum untuk CSC, yaitu: uji marka permukaan CSC, marka sel punca intestinal (aktif dan istirahat), Hoechst dye exclusion (Side Population (SP)cells) dan deteksi aktifitas enzimatis ALDH1 (Han et al., 2013) dan (Hatano et al., 2017).

Selain itu juga dapat digunakan marka migrating CSC, marka faktor transkripsi yang terkait dengan kepuncaan seperti faktor Yamanaka yang mencakup Oct4, c-Myc, Sox2 dan Klf4, (Khalek, et al, 2010) marka jalur sinyal terkait kepuncaan (stemness-related pathways), dan pengukuran ekspresi gen CSC, serta uji fungsional seperti uji pembentukan spheres pada medium bebas serum atau medium agar yang juga digunakan untuk isolasi CSC (Han et al., 2013).

#### **Marka permukaan sel CSC**

Protein permukaan sel berguna dalam isolasi dan identifikasi dari tumor-initiating cancer cells. Berdasarkan adanya protein spesifik pada permukaan sel maka analisis flow cytometry membagi sel kanker menjadi dua populasi yaitu populasi yang memiliki properti kepuncaan (CSC) dan populasi yang tidak memiliki properti kepuncaan. Berikut

beberapa marka permukaan yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi CSC pada kanker kolorektal, yaitu: CD44, CD133, CD24, CD29, CD26, CD 166, dan CD326.

CD44 merupakan famili dari protein transmembrane yang mencakup sedikitnya 20 varian yang dihasilkan oleh alternative splicing dan modifikasi post translational. CD44 adalah molekul adhesi sel yang memungkinkan interaksi sel-sel dan sel-matrik ekstraselular melalui ikatannya dengan ligan utama yaitu asam hialuronat. Protein ini terlibat dalam homing kelenjar limfa, aktivasi limfosit, myelopoiesis, lymphopoiesis dan angiogenesis. CD44s merupakan isoform yang banyak diekspresikan oleh sel normal dan sel kanker, sedangkan CD44v adalah isoform yang terutama diekspresikan oleh sel kanker (Fanali, et al, 2014). CD44 telah digunakan sebagai marka untuk mengisolasi CSC dari banyak tumor solid seperti kanker payudara, kepala dan leher, pankreas dan juga kanker kolon. Sel kanker kolon yang disortir untuk CD44+ menunjukkan tumorigenesitas tinggi terutama dalam kombinasi dengan CD133+, sedangkan sel dengan CD44- tidak dapat membentuk tumor baru pada mencit imunodefisien. CD44 juga dapat dikombinasikan dengan marka sel punca mesenkimal yaitu CD166 (ALCAM). Sel kanker kolon dengan CD44+CD166+ menunjukkan kemampuan membentuk tumor yang lebih tinggi dibandingkan dengan CD44+CD166- atau CD44- CD166 (Kemper et al., 2010).

Ekspresi CD44v6 sering ditemukan pada kanker kolon stadium lanjut dan berhubungan dengan prognosis yang lebih buruk. CD44v6 berikatan dengan Hepatocyte Growth Factor (HGF) dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Interaksi ini penting dalam aktivasi ras dan angiogenesis pada kanker. Selanjutnya perubahan pada sinyal selular dan lingkungan mikro berkontribusi dalam kemampuan inisiasi tumor dari sel kanker. Ekspresi CD44v6 dapat diinduksi oleh Rho Kinase (ROCK) inhibitor atau myosin II inhibitor. Peningkatan ekspresi CD44 mengakibatkan peningkatan properti CSC pada sel kanker kolon. Temuan ini mendukung teori interkonversi dari kepuncaan kanker yaitu CSC berdiferensiasi menjadi non-CSCs sedangkan non-CSCs dapat menjadi CSCs melalui reaktifasi marka sel punca (Hatano et al., 2017).

CD44 menjadi penting dalam mempertahankan kepuncaan dari kolorektal CSC karena terlibat dalam aktivasi reseptor tirosin kinase yaitu c-Met. Fenotipe permukaan EpCAM<sup>high</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD166<sup>+</sup> diusulkan sebagai alternatif dari positifitas CD133 untuk seleksi CSC kolon. Sel KKR dengan CD44+ menunjukkan proliferasi yang lebih tinggi, lebih banyak pembentukan koloni, kurangnya apoptosis spontan dan resistensi lebih tinggi terhadap kematian sel yang diinduksi obat dibandingkan dengan CD44- (Fanali et al., 2014).

### **CD133/Prominin-1**

CD133 dikenal juga sebagai Prominin-1 merupakan glikoprotein transmembran yang termasuk ke dalam famili prominin yang mempengaruhi fungsi multiselular termasuk kepuncaan, tumorigenesis, kemo/radioresisten, metabolisme, autofagi dan apoptosis (Hatano, et al, 2017). Pada awalnya CD133 dikenal sebagai marka protein permukaan dari subset sel punca dan sel progenitor hematopoietik, progenitor endotelial yang berasal dari sumsum tulang yang terlibat dalam angiogenesis postnatal, inflamasi dan regenerasi. Selanjutnya CD133 juga teridentifikasi pada beberapa jaringan normal manusia dan pada CSC dari tumor solid seperti otak, kolon, hati, paru dan prostat (Fanali et al., 2014).

CD133 merupakan marka CSC kolon yang pertama kali teridentifikasi, namun pemakaiannya sebagai marka CSC masih kontroversial. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa ekspresi CD133 tidak hanya terbatas kepada CSC tetapi juga diekspresikan oleh sel tumor yang berdiferensiasi. Pengamatan terhadap ekspresi AC133, suatu epitope pada permukaan sel yang mengalami penurunan pada CSC yang berdiferensiasi dan berkorelasi dengan hilangnya klonogenesitas. Peristiwa ini tidak terjadi bersamaan dengan perubahan pada aktifitas promoter CD133, mRNA splice variant, ekspresi protein

ataupun ekspresi permukaan sel dari CD133. Sebaliknya terlihat bahwa pada peristiwa diferensiasi CSC terjadi perubahan pada glikosilasi CD133. Sehingga AC133 dapat digunakan untuk mendeteksi epitope yang mengalami glikosilasi atau glikosilasi yang berbeda yang menyebabkan CD133 dipertahankan didalam sel (Kemper et al., 2010). Pemilihan sel kanker kolon berdasarkan positifitas AC133, suatu epitope pada protein CD133, dapat mengidentifikasi populasi tumorigenik dan klonogenik (Kemper et al., 2010). Sehingga marka CSC yang paling penting adalah epitope AC133, bukan protein CD133 (Hatano et al., 2017).

Eksresi CD133 juga ditemukan pada sel normal dari saluran cerna dan tidak hanya terbatas pada kompartemen sel punca. Selain itu sel kanker kolon metastatik yang CD133+ ataupun CD133- menunjukkan kemampuan yang sama untuk membentuk tumor (Kemper et al., 2010). Meskipun peranan fungsional dari CD133 masih kontroversial namun sejumlah riset memperlihatkan peranan diagnostik dan prognostik serta jalur sinyal intraselularnya. Adapun kemaknaan prognostik dari CD133 terangkum dalam Tabel 1. Pengetahuan tentang mekanisme pengaturan hulu dari CD133 dan aktivasi molekular hilir berguna dalam pengembangan terapi target terutama yang langsung terhadap CSC untuk mencegah rekurensi, metastasis dan resistensi kemoterapi pada pasien KKR.

**Tabel 1. Nilai prognostik dari CD133**  
(Fanali et al., 2014)

Marka	Kemaknaan Prognostik
CD133	<p>Luaran yang jelek dan risiko metastasis lebih tinggi.</p> <p>Marka prognostik independen untuk survival.</p> <p>Berhubungan dengan resistensi CSC terhadap kemoterapi berbasis 5FU pada KKR.</p> <p>Berhubungan dengan resistensi terhadap radioterapi konvensional pada KKR.</p> <p>Prediksi rekurensi jauh setelah kemoradioterapi pada pasien kanker kolon.</p> <p>Tumorigenesitas yang tinggi dari sel KKR CD133+ dibandingkan sel CD133- karena interaksinya dengan cancer-associated fibroblast (CAFs) melalui sinyal parakrin aksis CXCR4-SDF1</p> <p>Faktor risiko untuk survival yang jelek pada pasien kanker kolon stadium II dan III.</p> <p>Berhubungan dengan mutasi K-Ras dan B-Raf pada pasien KKR.</p>

CD24 atau dikenal juga sebagai antigen tahan panas (heat stable antigen) adalah B cell-related short glycoprotein yang ekspresinya berhubungan dengan beberapa tipe kanker. CD24 pertama kali nya digunakan sebagai marka CSC pada kanker payudara. Sel kanker dengan fenotipe CD24-/low dengan CD44++ dan atau ESA+ memiliki kemampuan tumorigenik yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok dengan CD24+. Namun sebaliknya, CD24+ adalah marka CSC untuk kanker ovarium dan pankreas. Penelitian klinis pada kanker kolon melaporkan bahwa ekspresi CD24 berhubungan dengan diferensiasi. Keadaan ini menimbulkan dugaan tentang CD24 memiliki peranan yang berbeda pada kanker yang berbeda, untuk itu fungsi CD24 pada kanker masih perlu diteliti lebih lanjut (Hatano et al., 2017).

CD29 dikenal juga sebagai integrin  $\beta 1$ , suatu reseptor permukaan sel yang membantu perlekatan ke matriks ekstraselular seperti kolagen, fibronektin dan laminin. Ekspresi yang tinggi dari CD29 teramati pada sel punca normal berbagai organ. Pada kolon, CD29 diekspresikan tinggi pada bagian bawah dari kripta tempat sel punca dan sel

progenitor tersimpan. Delesi kondisional dari CD29 menyebabkan hiperplasia dan displasia pada epitel intestinal dan berhubungan dengan peningkatan sinyal TCF4 dan menurunnya sinyal hedgehog. Protein CD29 diduga merupakan regulator kunci dari proliferasi dan dipertahankan oleh modulasi transduksi sinyal yang spesifik. CD29 menarik perhatian sebagai marka CSC yang berhubungan dengan kemoresistensi dan metastasis terutama pada kanker payudara (Hatano et al., 2017).

Sel CSC kolon dengan CD133+CD29+ secara biologi ditandai dengan kemampuan memperbarui diri, proliferasi dan diferensiasi. Ekspresi CD29 berhubungan dengan survival pada pasien KKR. Hilangnya ekspresi CD29 berasosiasi dengan stadium lanjut dan prognosis jelek serta ekspresi CD29 menurun pada lesi metastatik meskipun peneliti lainnya menduga bahwa kombinasi CD29 dengan CD49b mungkin berkontribusi dalam didapatnya potensi metastatik pada sel KKR. Selanjutnya ekspresi CD29 menjadi identifikasi populasi sel KKR yang lebih resisten terhadap radio dan kemoterapi (Fanali et al., 2014).

CD26 disebut juga sebagai dipeptidyl peptidase IV, merupakan protein transmembran dengan aktifitas serine protease dan terapi target baru untuk diabetes tipe 2. Penelitian Pang dkk, yang dikutip dari Hatano dkk, memperlihatkan bahwa sel kanker kolon dengan CD26+ mampu menginisiasi pembentukan tumor dan metastasis ke hati. Knockdown CD26 pada sel CD26+ menurunkan kemampuan invasi, aderen, migrasi dan pembentukan tumor. Perubahan ini berhubungan dengan penurunan ekspresi faktor terkait Epithelial–Mesenchymal Transition (EMT) dan phosphorylated integrin  $\beta$ 1. Penelitian klinis lainnya menunjukkan bahwa ekspresi CD26 berhubungan dengan prognosis yang jelek dari kanker kolon (Hatano et al., 2017).

CD166 merupakan molekul adhesi sel leukosit aktif (Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule/ ALCAM) termasuk kedalam famili immunoglobulin yang menjadi ligan untuk CD6, marka sel limfosit T dan timosit. Protein ini berhubungan dengan aktivasi sel limfosit T (Hatano et al., 2017). Selain dari sel hematopoitik, ekspresi CD166 dilaporkan pada bermacam jaringan dan sel termasuk epitel tertentu, limfoid, sel mieloid, fibroblas, neuron, hepatosit, sel asinar dan pulau pankreas. CD166 juga ditemukan pada tumor payudara, paru, kolon, kanker prostat dan melanoma (Fanali et al., 2014).

Dalerba dkk menemukan bahwa CD166 merupakan marka tambahan untuk CSC yang diisolasi dari kanker kolon (Hatano et al., 2017). Ekspresi CD166 pada kanker kolon diperiksa oleh beberapa grup penelitian, memberikan hasil yang berbeda. Namun hasil tersebut sebagiannya dikonfirmasi oleh penelitian terakhir bahwa ekspresi CD166 merupakan marka prognostik positif untuk survival pasien KKR. Ekspresi CD166 pada KKR diferensiasi baik menimbulkan dugaan bahwa protein ini berperan pada stadium awal dari tumorigenesis. CD166 juga terlibat dalam adhesi sel-sel dan sel-matriks, sehingga hilangnya CD166 berhubungan dengan berkurangnya adhesi sel dan potensi metastatik yang lebih tinggi dari tumor (Fanali et al., 2014).

Protein CD166 diduga berkontribusi dalam identifikasi CSC kolorektal namun peranannya dalam tumorigenesis KKR dan penggunaannya sebagai marka CSC masih perlu diteliti lebih lanjut (Fanali et al., 2014).

CD326 atau Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM) adalah protein transmembran yang mempengaruhi banyak proses selular termasuk proliferasi, diferensiasi dan kematian sel dan diekspresikan secara luas pada beberapa tipe sel normal ataupun ganas. Molekul ini juga terdeteksi pada sel punca normal, sel progenitor dan sel penguji kanker (Hatano et al., 2017), yang diisolasi dari karsinoma kolon, payudara, pankreas dan prostat (Fanali et al., 2014).

EpCAM menunjukkan gradien ekspresi yang nyata dari kripta hingga apex dari villi kolon normal. Perkembangan adenoma berkaitan dengan peningkatan ekspresi EpCAM dan overekspresi pada KKR (Fanali et al., 2014). Sel dengan EpCAMhigh/CD44+ dapat

menumbuhkan tumor bila ditransplantasikan ke mencit NOD/SCID dibandingkan dengan EpCAM<sup>low</sup>/ CD44. Selain itu juga diduga bahwa resistensi kemoterapi dapat juga disebabkan oleh adanya CSC EpCAM<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup> karena tumor residual setelah kemoterapi kaya dengan sel ini (Fanali et al., 2014).

Marka sel punca intestinal aktif atau Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 5 (Lgr5) adalah reseptor untuk protein R-spondin yang merepresentasikan agonist yang disekresikan oleh jalur sinyal kanonik Wnt/ $\beta$ -catenin. Lgr5 merupakan anggota glikoprotein reseptor hormonal yang mencakup reseptor follicle-stimulating dan reseptor luteinizing hormone (Fanali et al., 2014). Lgr5 merupakan marka sel punca intestinal yang aktif dan merupakan target hilir dari jalur kanonik Wnt, serta berperan penting dalam mempertahankan kepuncaan pada kript intestinal. Pada satu penelitian dilaporkan bahwa sel intestinal yang diisolasi dan mengekspresikan Lgr5 memperlihatkan properti sel punca dan satu sel tunggal dapat menumbuhkan organoids intestinal pada kultur 3D. Temuan lainnya menunjukkan bahwa sel intestinal Lgr5 (-) memiliki plastisitas yang memungkinkan mereka untuk mengalami dediferensiasi menjadi sel punca Lgr5<sup>+</sup> dan menjadi sel yang dapat menginisiasi tumor melalui aktivasi Wnt yang dimediasi oleh sinyal NF- $\kappa$ B (Hatano et al., 2017). Lgr5 menunjukkan ekspresi yang tinggi pada adenoma kolorektal dan KKR, yang menunjukkan peranannya pada stadium awal dan stadium lanjut dari tumorigenesis yaitu invasi dan metastasis. Ekspresi yang tinggi dari Lgr5 berkorelasi dengan karakteristik mesokimal dari sel tumor yaitu tingginya ekspresi vimentin dan rendahnya ekspresi miR-200c serta peningkatan invasivitas dan metastasis kelenjar limfa (Fanali et al., 2014).

#### **Marka sel punca intestinal istirahat**

Fraksi lainnya dari sel punca intestinal terletak pada posisi ke-4 hitungan inti sel paneth dari dasar kripti. Posisi ke-4 yang terletak secara langsung di atas sel paneth mengandung DNA Label-Retaining Cells, dimana sel minor ini hidup lama dan berada dalam keadaan quiescent (Hatano et al., 2017).

Bmi1 (B lymphoma Mo-MLV insertion region 1) adalah anggota dari grup gen polycomb yang mengatur aktifitas proliferasi pada sel punca normal dan kanker, multipotensi dari sel punca hematopoietik dan sel progenitor yang multipoten. Ekspresi Bmi1 pada intestin berhubungan dengan posisi ke-4 dari sel kripti. Ekspresi Bmi1 penting untuk inisiasi tumor, kemampuan memperbarui diri dari sel kanker kolon manusia. Penekanan Bmi1 menghambat pertumbuhan sel tumor sehubungan dengan berkurangnya fraksi sel penginisiasi tumor. Dari hal ini diduga bahwa kemaknaan fungsional dari Bmi1 adalah mempertahankan properti sel punca pada sel kanker kolon. Penelitian klinis melaporkan bahwa ekspresi Bmi1 adalah prediktor negatif pada kanker kolon. Marka sel punca quiescent lainnya yang berhubungan dengan tumorigenesis kolon adalah Homeodomain-Only Protein (HOPX), Doublecortin-Like Kinase 1(DCLK1), Telomerase Reverse Transcriptase (TERT), serta Leucine-Rich Repeats and Immunoglobulin-Like Domain Protein 1 (LRIG1). Namun fungsi detil dan kemaknaan klinisnya masih perlu diteliti lagi (Hatano et al., 2017).

#### **Side Population**

Side Population (SP) adalah populasi minor dari suatu jenis sel dengan kemampuan mengeluarkan/ extrude zat warna pengikat DNA (Hoechst 33342) (Hatano et al., 2017). Hoechst 33342 adalah pewarna DNA yang digunakan untuk analisis Flow Cytometry sel hidup. Meskipun Hoechst dapat melakukan penetrasi pada membran sel yang utuh, namun secara aktif akan dikeluarkan kembali oleh sel yang memiliki ATP-dependent ABC transporters sehingga sel tersebut terlihat tidak berfluoresensi saat analisis flow cytometry dan dikenal sebagai side population. Hoechst dapat digunakan untuk mengisolasi atau mengidentifikasi populasi SP, yang merupakan CSC (Keysar et al, 2010). Kemampuan untuk efflux zat warna terkait erat dengan family ABC transporter

(ATP-Binding Cassette/ ABC) yang berkontribusi dalam resistensi terhadap bahan sitotoksik. Aktivasi sejumlah transporter yaitu ABCC1 (MDR1), ABCF2, ABCB2, ABCC7 dan ABCA5 meningkat pada SP beragam sel, yang bervariasi dari satu tumor dengan tumor lainnya. Karakteristik SP adalah meningkatkan proliferasi, klonogenitas, tumorigenitas dan resisten terhadap doxorubicine, mitoxanotone, topotecan, SN-38 dan methotrexate (Keysar & Jimeno, 2010).

Pada sel lestari kanker kolon, SP merupakan 0,4% dari total sel kanker dan menunjukkan resistensi terhadap agen kemoterapi. Metode alternatif untuk mengidentifikasi fenotipe SP cell-like adalah dengan mendeteksi ABC transporter. Ekspresi ABC transporter pada kanker kolon berhubungan dengan resistensi obat (Hatano et al., 2017).

#### **Aktifitas Aldehyde Dehydrogenase (ALDH)1**

ALDH1 adalah anggota famili gen ALDH yang mengkatalisis oksidasi aldehid termasuk asetaldehid dan retinal (retinaldehyde). ALDH1 yang diekspresikan pada sel punca normal dan atau sel progenitor berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel melalui aktivasi sinyal retinoid. ALDH1 memiliki properti antioksidan untuk mengurangi reactive oxygen species yang berasal dari aldehid. Aktifitas yang tinggi dari ALDH1 diidentifikasi sebagai marka CSC pada bermacam tipe kanker termasuk kanker kolon. Pemahaman peranan fungsional dari ALDH1 pada kanker penting untuk mengembangkan diagnostik baru dan metode terapeutik dalam onkologi klinis (Hatano et al., 2017).

Pada sel lestari kanker payudara, sel ALDH+ lebih mudah membentuk koloni, membentuk tumor dan menjadi kemoresisten dibandingkan dengan sel CD44+/CD24- sedangkan kelompok sel CD44+/CD24-/ALDH- tidak mampu membentuk tumor sama sekali. Pada kanker kolon, aktifitas ALDH memperkaya populasi sel yang didefinisikan dengan CD44+, CD133+, dan CD44+/CD166+. Selain berperan penting dalam pensinyalan sel, ALDH juga berperan khusus dalam oksidasi aldehid toksik. Fungsi ini krusial untuk usia panjang dari sel punca juga menjadi kunci untuk resistensi CSC terhadap kemoterapi terutama yang menghasilkan intermediet aldehid toksik (Fanali et al., 2014). Knockdown shRNA dan siRNA dari ALDH1 pada xenografts kolorektal dan sel paru masing-masingnya dapat mengsensitisasi CSC ALDH+ terhadap terapi cyclophosphamide dan 4-hydroperoxycyclophosphamide (Keysar & Jimeno, 2010).

#### **Marka migrasi sel punca kanker**

Konsep Migrating CSC (MCSC) menjelaskan bahwa metastasis yang merupakan tahapan akhir dari proses malignansi dan penyebab utama dari mortalitas pasien kanker. MCSC memiliki karakteristik sel punca dan juga fenotip migratori yang diinduksi oleh EMT. Proses EMT dan Mesenchymal-Epithelial Transition (MET) berperan utama dalam perkembangan embrionik, homeostasis jaringan, recovery jaringan dan karsinogenesis. EMT pada suatu kanker teramati pada perbatasan jaringan tumor dan jaringan normal. Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan kemampuan metastatik dibutuhkan lingkungan mikro yang spesifik selain pensinyalan sel internal yang menyimpang. Sel kanker pada area invasi terdepan menunjukkan ekspresi  $\beta$ -catenin nukleus yang kuat yang mengaktifkan gen terkait EMT melalui sinyal Wnt. Matriks ekstraselular dan faktor yang disekresikan oleh lingkungan mikro tumor juga dapat menginduksi EMT pada sel kanker. Kandidat yang memungkinkan untuk marka MCSC adalah termasuk penginduksi EMT selain marka permukaan CSC lainnya. Induksi EMT didahului oleh hilangnya E-cadherin yang merupakan tahap awal dalam transformasi dari fenotip epitel menjadi mesenkimal. Namun demikian sulit untuk membedakan antara marka MCSC dengan penginduksi EMT karena kompleksnya mekanisme yang mendasari EMT. sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut tentang faktor terkait EMT pada kanker kolon sebelum digunakan secara klinis nantinya (Hatano et al., 2017).

### **Marka faktor transkripsi terkait kepuncaan**

Telah dilaporkan ada 25 faktor transkripsi (TF) yang diekspresikan oleh sel punca. Dari sebanyak itu, maka OCT4, SOX2, KLF4, Nanog dan SALL4 merupakan pengatur utama untuk mempertahankan sel punca embrionik dan kemampuan memperbarui diri. Keempat TF tersebut diekspresikan secara kuat pada sel punca embrionik dan tetap silenced pada sel somatik normal kecuali pada sekelompok kecil populasi sel punca dewasa. Telah diketahui bahwa TF yang spesifik embrionik ini diekspresikan secara abnormal pada sampel tumor manusia, sehingga diduga bahwa terdapat sel punca kanker. Ekspresi TF berhubungan dengan luaran ketahanan hidup pasien pada tipe tumor tertentu, dengan demikian kadar ekspresinya dapat digunakan dalam menilai prognosis pasien (Zhao et al., 2017).

### **Marka jalur sinyal terkait kepuncaan**

Jalur sinyal untuk mempertahankan sel punca, memperbarui diri dan diferensiasi terlibat dalam perkembangan embrionik dan homeostasis jaringan dewasa. Kanker seringkali memperlihatkan aktifitas menyimpang pada jalur sinyal ini. Adapun jalur sinyal yang terlibat dalam berbagai pengaturan CSC adalah: Jalur Hedgehog (Hh), Notch, JAK/STAT, PI3K/Akt/mTOR dan Wnt/ $\beta$ -catenin (Zhao et al., 2017).

Jalur Hh merupakan jalur utama dalam pengaturan perkembangan embrionik vertebrata dan berperan penting dalam mempertahankan sel punca, diferensiasi sel, polaritas jaringan, proliferasi sel dan EMT. Pensinyalan Hedgehog telah diimplikasikan secara luas pada kemampuan memperbarui diri dan penentuan nasib CSC serta dipertimbangkan sebagai terapi target potensial pada kanker payudara dan pankreas (Zhao et al., 2017).

Jalur Notch berperan penting dalam penentuan nasib sel punca dan angiogenesis. Sinyal Notch terutama terlibat dalam komunikasi sel-sel di antara sel berdekatan melalui reseptor transmembran dan ligan. Pada CSC, jalur Notch mengontrol imunitas tumor dan mempertahankan populasi CSC. Jalur ini sering mengalami disregulasi pada kanker sehingga menguntungkan untuk survival tumor. Pada tipe tumor tertentu, aktivasi jalur ini membantu CSC dalam mempertahankan populasinya di dalam tumor, menginduksi EMT dan mendapatkan sifat kemoresisten (Zhao et al., 2017).

Jalur JAK/STAT penting dalam respon imun yang dimediasi sitokin dan diketahui terlibat dalam banyak proses biologi seperti proliferasi, apoptosis, migrasi dan pengaturan sel punca. Sel kanker juga menunjukkan disregulasi dari jalur ini. Pengaturan yang ketat dari jalur ini diperlukan untuk mempertahankan sel punca dan memperbarui diri (Zhao et al., 2017).

Jalur PI3K/Akt/mTOR atau jalur sinyal Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/Akt dan Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) penting dalam proliferasi sel punca, metabolisme dan diferensiasi. Jalur ini sering tidak sempurna pada kanker manusia (Zhao et al., 2017).

Jalur Wnt/ $\beta$ -catenin diinduksi oleh ligan Wnt dan sangat conserved, sehingga berperan penting dalam pengaturan diferensiasi dan pluripotensi sel punca. Disregulasi jalur ini berhubungan erat dengan ekspansi sel punca dan sel progenitor serta karsinogenesis (Zhao et al., 2017).

### **Uji in vivo**

Karena uji in vitro yang telah disebutkan di atas tidak cukup untuk menunjukkan bahwa sel yang dideteksi adalah CSC karena sel punca normal dan sel progenitor juga memiliki karakteristik yang sama dengan CSC dan uji tersebut tidak dapat memperlihatkan propagasi tumor, maka diperlukan uji in vivo. Populasi sel yang memiliki sifat kepuncaan selanjutnya diuji secara in vivo dengan cara menginjeksikan

kepada nude mice untuk menilai kemampuan pembentukan tumornya (Hatano et al., 2017).

Uji in vivo dianggap sebagai baku emas, misalnya uji transplantasi serial pada hewan model untuk melengkapi hasil uji invitro dalam mengidentifikasi CSC. Uji transplantasi serial pada hewan model perlu untuk mengkonfirmasi karakteristik CSC berupa kemampuan memperbaiki diri dan propagasi tumor. Sel tumor dari manusia atau xenograft ditransplantasikan pada mencit immunocompromised (NOD/SCID) kemudian dipantau pembentukan tumornya, selanjutnya sel tumor yang tumbuh ditransplantasikan ke mencit lainnya untuk melihat kapasitas memperbaiki diri dan pembentukan tumor (Han et al., 2013).

**Kemaknaan prognostik sel punca kanker pada kanker kolorektal**

CSC dapat mengatur invasi kanker, metastasis jauh, resistensi terapi pada KKR serta juga berkontribusi dalam rekurensi kanker pasien KKR. Dengan demikian CSC memiliki implikasi yang penting dalam prognosis pasien KKR. Adapun implikasi prognostiknya dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Kemaknaan Marka Sel Punca Kanker terhadap Prognosis**  
(Wahab et al., 2017)

Nama Marka	Fungsi	Peranan terhadap prognosis KKR
ALDH1	Enzim detoksifikasi dan bertanggung jawab terhadap oksidasi aldehyd intraseluler.	Overekspresinya berhubungan dengan pelepasan sel kanker, metastasis jauh, grade yang lebih tinggi dan survival pasien yang buruk.
CD24	Molekul adhesi sel.	Peningkatan ekspresinya berkorelasi dengan survival pasien yang buruk.
CD44	Glikoprotein permukaan sel dan terlibat dalam adhesi dan migrasi, berperan juga dalam progresi malignan dari adenoma menjadi karsinoma.	Penurunan atau hilangnya ekspresi berhubungan dengan survival yang buruk.
CD133	Pengaturan kepuncaan dan berhubungan dengan sel primitive dan glikoprotein transmembran.	Peningkatan ekspresi protein dan mRNA berhubungan dengan survival yang buruk.
CD166	Molekul adhesi sel, terlibat dalam perpanjangan neuronal, hematopoiesis embriogenik, angiogenesis embriogenik dan berhubungan dengan perkembangan adenoma menjadi karsinoma.	Overekspresi dan ekspresi yang irregular berhubungan dengan pemendekan survival.
EpCAM	Adhesi sel, berperan dalam dalam jalur cadherin-catenin dan jalur Wnt.	Penurunan ekspresi berhubungan dengan metastasis kelenjar limfa,

		margin tumor infiltratif, grade kanker yang lebih tinggi, invasi vaskular, metastasis jauh dan survival yang buruk.
Lgr5	Berhubungan dengan sel punca istestinal dan target hilir dari jalur Wnt.	Ekspresi yang lebih tinggi berhubungan dengan metastasis kelenjar limfa, metastasis jauh dan survival yang buruk.
Nanog	Regulator transkripsi, memperbarui diri sendiri.	Peningkatan ekspresi berhubungan dengan metastasis kelenjar limfe dan survival yang buruk.
SOX-2	Faktor transkripsi dan mengatur pembaruan diri atau pluripotensi dari sel yang tidak berdiferensiasi.	Overekspresi berhubungan dengan rekurensi dan survival bebas penyakit yang singkat.
Oct 4	Pengaturan kepuncaan.	Ekspresinya berkorelasi negative dengan kedalaman invasi kanker, metastasis kelenjar limfa dan invasi limfatik.

---

## KESIMPULAN

Sel punca kanker kolorektal diduga berasal dari sel punca kolon yang mengalami mutasi. Isolasi dan identifikasi sel punca kanker kolorektal dapat dilakukan melalui berbagai sifatnya seperti kemampuan membentuk spheres, dye exclusion dan keberadaan marka permukaan sel. Selain itu, identifikasi dapat dilakukan dengan melihat jalur pensinyalan, aktifitas enzim, marka faktor transkripsi, dan uji in vivo sebagai baku emas. Adanya sel punca kanker kolorektal berhubungan dengan kemampuan invasi, metastasis dan juga survival penderita kanker tersebut.

## BIBLIOGRAPHY

- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424.
- Das, M., & Law, S. (2018). Role of tumor microenvironment in cancer stem cell chemoresistance and recurrence. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 103, 115–124.

- Fanali, C., Lucchetti, D., Farina, M., Corbi, M., Cufino, V., Cittadini, A., & Sgambato, A. (2014). Cancer stem cells in colorectal cancer from pathogenesis to therapy: controversies and perspectives. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(4), 923.
- Han, L., Shi, S., Gong, T., Zhang, Z., & Sun, X. (2013). Cancer stem cells: therapeutic implications and perspectives in cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 3(2), 65–75.
- Hatano, Y., Fukuda, S., Hisamatsu, K., Hirata, A., Hara, A., & Tomita, H. (2017). Multifaceted interpretation of colon cancer stem cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1446.
- Hui, H., Tang, Y., Hu, M., & Zhao, X. (2011). Stem cells: general features and characteristics. In *Stem cells in clinic and research*. IntechOpen.
- Indonesia, K. K. K. K. (2014). *Pengelolaan Karsinoma Kolorektal, Suatu Panduan Klinis Nasional*. Sumber: [Http://Download.Ikabdi.Org/Panduan\\_KKR\\_\(Radioterapi\\_updated\).Doc](http://Download.Ikabdi.Org/Panduan_KKR_(Radioterapi_updated).Doc).
- Kemper, K., Grandela, C., & Medema, J. P. (2010). Molecular identification and targeting of colorectal cancer stem cells. *Oncotarget*, 1(6), 387.
- Keysar, S. B., & Jimeno, A. (2010). More than markers: biological significance of cancer stem cell-defining molecules. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(9), 2450–2457.
- Khalek, F. J. A., Gallicano, G. I., & Mishra, L. (2010). Colon cancer stem cells. *Gastrointestinal Cancer Research: GCR*, (Suppl 1), S16.
- Langan, R. C., Mullinax, J. E., Raiji, M. T., Upham, T., Summers, T., Stojadinovic, A., & Avital, I. (2013). Colorectal cancer biomarkers and the potential role of cancer stem cells. *Journal of Cancer*, 4(3), 241.
- Peitzsch, C., Tyutyunnykova, A., Pantel, K., & Dubrovskaya, A. (2017). Cancer stem cells: the root of tumor recurrence and metastases. *Seminars in Cancer Biology*, 44, 10–24. Elsevier.
- Wahab, S. M. R., Islam, F., Gopalan, V., & Lam, A. K. (2017). The identifications and clinical implications of cancer stem cells in colorectal cancer. *Clinical Colorectal Cancer*, 16(2), 93–102.
- Zhao, W., Li, Y., & Zhang, X. (2017). Stemness-related markers in cancer. *Cancer Translational Medicine*, 3(3), 87.