

Peran dan Fungsi CXC Receptor-4 (CXCR-4) pada Keganasan

**Florinda Ilona
Endah Zuraidah**

*Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia
Jakarta*

ABSTRAK

CXCR4 (CXC chemokine receptor 4) adalah reseptor kemokin yang termasuk kedalam famili *G protein couple cell surface receptors* (GPCR). CXCR4 merupakan reseptor fisiologis terhadap *CXC chemokine stromal cell-derived factor* (SDF-1, disebut juga CXCL12) sebagai ligannya. Ikatan CXCL12 dengan CXCR4 menginduksi signal intraseluler melalui beberapa jalur divergen yang menghasilkan beberapa respon biologis seperti kemotaksis, sel survival, proliferasi sel, peningkatan kalsium intraseluler dan regulasi transkripsi gen. CXCR4 diekspresikan pada beberapa jenis sel termasuk limfosit, stem sel hematopoietik, sel endotelial, sel epitelial dan sel kanker. CXCR4 memediasi terjadinya migrasi, invasi dan adhesi sel kanker. CXCR4 juga berperan dalam metastasis ke organ lain yang mengekspresikan CXCL12 seperti paru, hati, otot skeletal, otak, ginjal, jantung, kulit dan sumsum tulang. Kadar ekspresi CXCR4 dapat diukur dengan menggunakan teknik PCR dan pemeriksaan imunohistokimia dari biopsi tumor primer. Ekspresi CXCR4 lebih tinggi pada jaringan kanker dibandingkan pada jaringan normal. Analisis ekspresi CXCR4 dapat memberikan informasi untuk memprediksi terjadinya metastasis dan sebagai target terapi yang potensial bagi pasien dengan kanker.

Kata kunci : CXCR4, CXCL12/SDF-1, kanker, metastasis.

PENDAHULUAN

CXCR4 (*CXC chemokine receptor 4*) adalah suatu reseptor kemokin yang termasuk famili *G protein couple cell surface receptors* (GPCR). CXCR4 merupakan reseptor fisiologis terhadap *CXC chemokine stromal cell-derived factor* (SDF-1, disebut juga CXCL12) sebagai ligannya. Kemokin merupakan peptida dengan berat 8-12 kDa, berfungsi sebagai sitokin kemoatraktan yang berpengaruh dalam aktivasi, diferensiasi dan *trafficking* sel. Kemokin berikatan dengan spesifik *G-protein-coupled seven-span transmembrane receptors* yang diklasifikasikan menjadi 4 grup berdasarkan jumlah dan lokasi *N-terminal cysteine residues*, yaitu CXC, CC, C, Cx3C. Klasifikasi berdasarkan jenis ligannya antara lain, reseptor CXC berikatan dengan ligan CXC, reseptor CC berikatan dengan ligan CC, dst. Saat ini sudah lebih dari 50 kemokin dan 20 reseptor kemokin yang telah diketahui. Reseptor kemokin memiliki kemampuan menginduksi migrasi sel secara langsung searah gradien sitokin kemotaktik (proses ini dikenal dengan kemotaksis) seperti limfosit, monosit, neutrofil, sel endotel, stem sel mesenkim dan sel-sel ganas. Interaksi antara reseptor dan kemokin menstimulasi migrasi dan pengaturan sel ke berbagai kompartemen jaringan.

CXC chemokine stromal cell-derived factor(SDF-1, biasa dikenal sebagai CXCL12) adalah kemokin homeostatik yang berfungsi sebagai regulator *trafficking* sel hematopoietik. CXCL12 diekspresikan di beberapa organ seperti paru, hati, otot skeletal, otak, ginjal, jantung, kulit dan sumsum tulang. CXCL12 berperan sebagai signal darurat untuk regenerasi dan perbaikan jaringan.

Sekresi CXCL12 juga berhubungan dengan kerusakan jaringan seperti pada infark jantung, iskemi ekstremitas, kerusakan liver toksik, perdarahan masif, radiasi dan kerusakan jaringan akibat kemoterapi dengan meningkatkan ekspresi dan sekresi CXCL12 yang penting untuk rekrutmen CXCR4 dan sel progenitor ke tempat dimana jaringan beregenerasi.¹⁻⁴

CXCR4 secara luas diekspresikan pada sel hematopoietik (seperti CD34+ HSC, limfosit-T, limfosit-B, monosit dan makrofag, neutrofil dan eosinofil) dan organ (otak, paru, colon, jantung, sumsum tulang, lien, timus), endotelial, epitelial, sel saraf, kelenjar getah bening, kelenjar pituitary dan kelenjar adrenal, juga pada keadaan patologis seperti pada trauma arteri karotis dan plak aterosklerosis. CXCR4 juga merupakan reseptor *strain human immunodeficiency virus-1 (HIV-1)*.⁵⁻⁸

Pada beberapa studi yang menggunakan hewan percobaan, menunjukkan bahwa CXCR4 berperan dalam proses pertumbuhan janin, proses hematopoiesis dan organogenesis.^{1,5,6}

CXCR4 juga diekspresikan pada beberapa jenis kanker, seperti kanker payudara, kanker pankreas, kanker paru, kanker prostat, melanoma, neuroblastoma, kanker colon, rhabdomyosarkoma dan kanker ginjal.¹ Dari data eksperimental didapatkan CXCR4 memediasi terjadinya migrasi, invasi, dan adhesi sel kanker. CXCR4 juga berperan dalam metastasis sel kanker ke organ lain yang mengekspresikan SDF-1/CXCL12.^{9,10}

Analisis ekspresi CXCR4 dapat dilakukan dengan pemeriksaan PCR dan imunohistokimia. Ekspresi CXCR4 dapat digunakan sebagai target terapi bagi pasien kanker.

Tujuan dari penulisan tinjauan pustaka ini adalah untuk mengetahui peran dan mekanisme CXCR4 pada keganasan.

Regulasi CXCR4

Ekspresi CXCR4 dan CXCL12 tertinggi berada pada sel hematopoetik, serta diekspresikan secara luas pada berbagai stem sel, diantaranya stem sel hematopoetik, stem sel endotel, stem sel hati, stem sel neural, stem sel epitel pigmen retina, dan stem sel embrionik, hal ini menjelaskan mengapa sel-sel tumor mengekspresikan CXCR4 dan mengapa peneliti berpendapat bahwa sel ganas mungkin berasal dari CXCR4 yang diekspresikan oleh stem sel normal. Sel-sel tersebut tidak hanya mengekspresikan

CXCR4 pada permukaan sel namun juga dengan mengikuti gradien CXCL12. CXCL12/CXCR4 pada masa pertumbuhan penting untuk perpindahan sel progenitor selama hematopoiesis embrionik, organogenesis, vaskularisasi dan regenerasi jaringan.⁶

Ikatan CXCL12 dengan CXCR4 mengaktifkan *signaling pathways* yang menghasilkan beberapa respon seperti kemotaksis, sel survival, proliferasi sel, peningkatan kalsium intraseluler dan regulasi transkripsi gen (gambar 1). Seperti yang telah disebutkan bahwa CXCR4 merupakan reseptor *G-protein coupled (GPCR)*, yang berkaitan dengan *intracellular heterotrimeric G-protein* pada permukaan bagian dalam membran plasma. *G-protein heterotrimeric* terdiri dari subunit $G\alpha$, $G\beta$ dan $G\gamma$. $G\alpha$ memiliki empat bentuk yang berbeda yaitu $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ dan $G\alpha_{12}$ dimana tiap bentuknya memiliki fungsi dan mengaktifkan *downstream signaling pathways* yang berbeda dan meneruskan signal GPCR ke jalur/rute yang berbeda pula.^{6,11}

Subunit $G\alpha_s$ menstimulasi *adenyl cyclase* untuk menghasilkan *cyclic AMP (cAMP)* dengan mengaktifkan Protein kinase A (PKA) yang berperan mengaktifkan faktor transkripsi. Sementara $G\alpha_i$ menghambat *adenyl cyclase*.⁶

$G\beta\gamma$ melalui PLC mengaktifasi *phosphatidylinositol* yang menghidrolisis PIP2 menjadi *Diacylglycerol (DAG)* dan *Inositol Triphosphate (IP3)* yang akan meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler dan mengaktifasi protein kinase (PKC) untuk memfasilitasi kemotaksis seluler. CXCR4 juga memediasi kemotaksis dengan melibatkan PI3 kinase (PI3K) yang dapat diaktivasi oleh $G\beta\gamma$ dan subunit $G\alpha_q$. Aktivasi PI3K menyebabkan terjadinya fosforilasi Pyk-2 (*Proline rich Kinase 2*), FAK (*Fokal Adhesion Kinase*) dan Crk. Kemotaksis juga dapat dimediasi oleh PKC melalui MAPK atau melalui $G\alpha_i$ yang meneruskan sinyal melalui Erk1/2.⁶

PI3K dapat mengaktifasi AKT yang berperan sebagai *key role* pada survival dan proliferasi sel tumor. Dalam survival sel tumor juga ditemukan peranan p38 dan Erk1/2. CXCL12 juga meregulasi sel survival melalui dua mekanisme, yaitu inaktivasi kematian sel pasca translasi dan dengan meningkatkan transkripsi gen sel survival. Sinyal melalui jalur $G\alpha_i$ menstimulasi terjadinya transkripsi dan ekspresi gen melalui aksis PI3K-AKT-NF- κ B serta melalui MEK1/2 dan Erk 1/2.^{2,6,12}

Ikatan CXCR4 dengan ligannya mengakibatkan fosforilasi pada *serine site* oleh *G-protein receptor kinases* (GRK). Proses ini diikuti oleh pengambilan β -arrestin dan clathrin yang memediasi endositosis.⁶

Ekspresi dan Regulasi CXCR4 pada keganasan

Kemokin CXCL12 dan reseptornya CXCR4 pertama kali diidentifikasi sebagai regulator *trafficking* sel B dari pasien dengan kronik lymphocytic leukemia. Setelah itu, CXCR4 diketahui juga berperan dalam regulasi *trafficking* dan invasi sel kanker payudara ke tempat metastasisnya.⁵

Interaksi antara CXCR4 dengan sel kanker sangat kompleks. Ekspresi CXCR4 rendah pada jaringan normal di sekitar jaringan yang terkena kanker. Keadaan ini mungkin disebabkan adanya perubahan dalam pembuluh darah, seperti menurunnya kadar oksigen yang mengakibatkan kondisi hipoksia pada sel selama pertumbuhan tumor. Hipoksia mengaktifkan HIF-1 (*Hypoxia-Inducible Factor-1*) dan menghambat protein supresor tumor VHL (Von Hippel-Lindau) sehingga meningkatkan ekspresi target gen termasuk CXCR4 pada karsinoma sel renal.^{1,4,5,10,13}

Banyak studi menyebutkan bahwa ikatan CAF (*Carcinoma-Associated Fibroblasts*) dan CXCL12 tidak hanya menstimulasi pertumbuhan sel kanker secara langsung melalui reseptor CXCR4, dan secara tidak langsung melalui *matrix metalloproteinase* (MMP) yang memediasi perbaikan jaringan tapi juga merekrut sel progenitor endothelial ke dalam tumor dan menstimulasi neoangiogenesis. Fibroblas ditemukan pada karsinoma, dan istilah CAF (*Carcinoma-Associated Fibroblasts*) merupakan komponen utama dari *microenvironment* sel tumor. Seperti pada fungsi normalnya yang timbul pada saat proses inflamasi dan penyembuhan luka melalui *remodelling* dan *repair*, CAF memicu angiogenesis dan degradasi matriks ekstraseluler melalui peningkatan sekresi CXCL12 dan MMP-1 (*Matrix Metalloproteinase-1*). MMPs dapat meningkatkan ketidakstabilan epitel normal yang mengakibatkan formasi tumor. MMPs adalah enzim utama yang bertanggung jawab untuk degradasi matriks ekstraseluler yang merupakan barrier fisik untuk invasi sel kanker.¹⁴ Sinyal CXCR4/CXCL12 pada CAFs aktif pada berbagai fungsi sel seperti

migrasi sel tumor, adhesi, proliferasi, dan sekresi MMPs.^{1,3,5,9}

Peningkatan ekspresi CXCR4 juga dipengaruhi oleh peningkatan kadar VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dan aktivasi NF- κ B (*Nuclear Factor Kappa B*), khususnya selama pertumbuhan kanker serta turut memicu terjadinya invasi dan metastasis sel tumor.⁵

Lebih jauh, onkoprotein seperti PAX3-FKHR dan RET/PTC juga menginduksi ekspresi CXCR4. Fusi PAX3-FKHR meningkatkan migrasi dan adhesi sel rhabdomyosarkoma sementara RET/PTC menginduksi ekspresi CXCR4 dan meningkatkan kemampuan transformasi sel kanker payudara (Gambar 2).⁹

Regulasi CXCR4 pada metastasis

Sel kanker meninggalkan tumor primer (sel induk kanker) masuk ke dalam sirkulasi. Interaksi antara reseptor permukaan sel tumor dengan molekul adhesi sel endotel berpengaruh pada penangkapan sel tumor dan ekstravasasi selama metastasis melalui pembuluh darah. Sel tumor yang mengekspresikan CXCR4 tiba di *homing site* yang ekspresinya tinggi terhadap SDF-1 seperti kelenjar getah bening, paru, hati, dan sumsum tulang melalui pembuluh darah perifer atau pembuluh limfe lalu melekat pada sel endotel, menyerang jaringan, berproliferasi dan ekspansi ke daerah/lokasi lain dengan lingkungan yang mendukung (Gambar 3).¹⁴

CXCL12 juga memediasi CAF untuk menstimulasi *Epithelial-to-Mesenchymal transition* (EMT) pada tumor primer. EMT penting untuk progresi dari lokal karsinoma menjadi malignansi invasif, yang berhubungan dengan hilangnya diferensiasi epitelial dan meningkatnya mesenkimal fenotip. Beberapa studi telah membuktikan hubungan molekuler antara EMT dan *self-renewal* dan memperlihatkan bahwa sel kanker yang mengalami EMT akan meningkatkan fenotip stem sel kanker dan tumorigenesis.⁵

Analisis Ekspresi Kadar CXCR4

Kadar CXCR4 dapat dianalisis dengan *Kuantitatif Real Time PCR* (Gambar 4) dan pemeriksaan imunohistokimia dari biopsi tumor primer dan jaringan normal.^{15,16} Ekspresi mRNA CXCR4 ditemukan pada jaringan kanker payudara maupun jaringan normal, namun lebih tinggi pada kanker dibandingkan pada jaringan normal. Pada pemeriksaan imunohistokimia, sel kanker pada jaringan tumor terwarnai lebih kuat

dibandingkan dengan sel normal, terutama pada sitoplasma dan membran sel tumor (Gambar 5).¹⁷

Studi Y-C Sua *et al.* (2006) menunjukkan bahwa ekspresi CXCR4 yang tinggi di sitoplasma berhubungan dengan pasien kanker dengan metastasis ke KGB sedangkan ekspresi CXCR4 yang tinggi di inti sel berhubungan dengan penderita kanker tanpa metastasis ke KGB, dan memiliki prognosis yang lebih baik (gambar 6).¹⁸

Saat ini beberapa studi menunjukkan hubungan yang signifikan antara ekspresi CXCR4, lima tahun *overall survival* (OS) dan tingkat *disease-free survival* (DFS) pada pasien kanker payudara. Ekspresi CXCR4 juga berhubungan dengan kelenjar getah bening dan metastasis jauh. Sehingga CXCR4 memiliki nilai prognostik yang signifikan untuk pasien dengan kanker payudara. Diperlukan studi lanjutan untuk mengetahui peran CXCR4 dalam memprediksi metastasis kanker payudara ke organ spesifik, menjelaskan perubahan CXCR4 selama proses terapi kanker dan apakah perubahan tersebut secara signifikan bermakna untuk terapi dan prognosis, dan untuk mengevaluasi aplikasi CXCR4 sebagai bio-marker prognosis dan terapi target untuk kanker payudara.¹⁹

RINGKASAN

Salah satu faktor penting yang mempengaruhi prognosis pasien dengan kanker adalah perkembangan metastasisnya. Peran CXCR4 sebagai reseptor dari CXCL12 dalam mempengaruhi metastasis mulai dimengerti. Ekspresi CXCR4 pada sel kanker penting dalam tumorigenesis dan metastasis kanker dari tumor primer ke organ lain searah dengan gradien CXCL12 yang disekresi oleh organ tersebut. Tingkat ekspresi CXCR4 memiliki hubungan dengan metastasis kanker payudara ke KGB dan metastasis jauh. Analisis ekspresi CXCR4 dapat memberikan informasi untuk memprediksi metastasis ke KGB dan dapat menjadi terapi target yang potensial bagi pasien dengan kanker.

Aplikasi *in vivo* dari CXCR4-neutralizing antibodi atau siRNA dengan target gen CXCR4 menghambat metastasis dan pertumbuhan sel kanker payudara dan prostat. Pernah dilaporkan bahwa pemakaian anti antibodi CXCR4 atau antagonisnya untuk memblokir interaksi antara CXCR4 dan ligan SDF-1 dapat mengurangi/membatasi metastasis kanker payudara ke

kelenjar getah bening dan paru pada percobaan hewan.

Studi mengenai faktor faktor yang berpengaruh pada metastasis tumor terutama CXCR4 diharapkan akan terus berkembang sehingga dapat mencegah metastasis tumor primer ke organ lain dan memberikan harapan hidup serta nilai prognostik yang baik bagi penderita kanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cojoc M, Peitzsch C, Trautmann F, Polishchuk L, Telegeev G, Dubrovskaya A. Emerging targets in cancer management: role of the CXCL12/CXCR4 axis. Dovepress. 2013; 1347-61.
2. Lataillade JJ, Domenech J, Kerdilès MCLB. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)/CXCR4 couple plays multiple roles on haematopoietic progenitors at the border between the old cytokine and new chemokine worlds: survival, cell cycling and trafficking. Eur Cytokine Netw. 2004; 15: 177-88.
3. Liekens S, Schols D, Hatse S. CXCL12-CXCR4 axis in angiogenesis, metastasis and stem cell mobilization. Current Pharmaceutical Design 2010; 16: 3903-20.
4. Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, *et al.* CXCL12/CXCR4/CXCR7 chemokine axis and cancer progression. NIH Public Access. 2010; 29: 709-22.
5. Furusato B, Mohamed A, Uhlen M, Rhim JS. CXCR4 and cancer. Pathology International. 2010; 60: 497-505.
6. Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1) / CXCR4 pathway in cancer. Clin Cancer Res. 2010; 16: 2927-31.
7. Mukherjee D, Zhao J. The role of chemokine receptor CXCR4 in breast cancer metastasis. Am J Cancer Res. 2013; 3: 46-57.
8. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran: Pathologic basis of disease, 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010 p. 238-41.
9. Weitzenfeld P, Baruch AB. The chemokine system, and its CCR5 and CXCR4 receptors, as potential targets for personalized therapy in cancer. Elsevier. 2013.
10. Tannock I, Hill R, Bristow R. The basic science oncology, Mc Graw Hill Education. 5th ed, 2013. 227- 35.
11. Wong D, Korz W. Translating an antagonist of chemokine receptor CXCR4: From Bench

- to Bedside. Clin Cancer Res 2008; 14: 7975-80.
12. Sobolika T, Su YJ, Wells S, Ayers GD, Cook RS, Richmond A. CXCR4 drives the metastatic phenotype in breast cancer through induction of CXCR2 and activation of MEK and PI3K pathways. MboC Article. 2013
 13. Shim H, Lau SK, Devi S, Yoon Y, Cho HT, Liang Z. Lower expression of CXCR4 in lymph node metastases than in primary breast cancers: potential regulation by ligand-dependent degradation and HIF-1 α . Elsevier Biochemical and Biophysical Research Communications. 2006: 252-8.
 14. Hamdani C, Maria FH, Nurjati CS. Patologi Molekuler. Jakarta: Badan Penerbit FKUI. 2012; 140-7.
 15. Nynke S, Berg VD, Buckle T, Kuil J, Wesseling J, Leeuwen FWB. Immunohistochemical detection of the CXCR4 expression in tumor tissue using the fluorescent peptide antagonist Ac-TZ14011–FITC1,2. Translational Oncology. 2011; 4: 234-40.
 16. Toyozawa S, Yamamoto Y, Ishida Y, Kondo T, Nakamura Y, Furukawa F. Immunohistochemical analysis of CXCR4 expression in fibrohistiocytic tumors. Acta Histochem Cytochem. 2010; 43: 45-50.
 17. Kang H, Watkins G, Jones AD, Mansela RE, Jiang WG. The elevated level of CXCR4 is correlated with nodal metastasis of human breast cancer. Elsevier. 2005; 14: 360-7.
 18. Su YC, Wu MT, Huang CJ, Hou MF, Yang SF, Chai CY. Expression of CXCR4 is associated with axillary lymph node status in patients with early breast cancer. Elsevier. 2006; 15: 533-9.
 19. Zhang Z, Ni C, Chen W, Wu P, Wang Z, Yin J, *et al.* Expression of CXCR4 and breast cancer prognosis: a systematic review and meta-analysis. BMC Cancer. 2014; 14: 49.