

# Eksresi Notch1 dan ALDH1A1 pada Lesi Prostat; Hubungannya dengan Diagnosis Histopatologik, Proliferasi dan Apoptosis Sel Kanker

Paranita Ferronika, Ahmad Ghozali, Harijadi

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada  
Yogyakarta

## ABSTRAK

### Latar belakang

Kanker prostat di Indonesia menduduki peringkat ketiga di antara penyakit kanker pada laki-laki dan peringkat kelima di antara kematian akibat kanker pada laki-laki. Sangat diperlukan petanda biologis yang dapat mengidentifikasi agresivitas kanker pada lesi awal yang kemudian dapat membantu pemilihan terapi yang tepat, guna mengurangi kematian. Sel punca pada kelenjar prostat telah terbukti memiliki peran dalam inisiasi, progresivitas, dan metastasis sel kanker, meskipun masih dalam kontroversi. ALDH1A1 diusulkan untuk menjadi kandidat petanda sel punca kanker prostat. Sinyal Notch mempunyai peran penting dalam mempertahankan fenotip sel punca. Ekspresi Notch1 yang tinggi dianggap memiliki peran onkogenik pada kanker prostat. Hipotesis kami yaitu ekspresi Notch1 yang tinggi berkaitan dengan tingginya ekspresi ALDH1A1 sebagai petanda sel punca kanker, yang akan meningkatkan progresivitas kanker prostat.

### Metode

Studi ini dilakukan secara *cross-sectional* selama dua tahun (2009-2010), dengan pewarnaan IHC pada 79 jaringan blok parafin dengan diagnosis *benign prostatic hyperplasia*, *prostatic intraepithelial neoplasia*, dan kanker prostat dengan skor Gleason rendah dan tinggi. Hubungan antara Notch1 dan ALDH1A1 dianalisa dengan Chi-Square menggunakan SPSS 15,0. Hubungan Notch1 dan ALDH1A1 dengan diagnosis patologis dianalisa dengan Chi-square. Hubungan kedua petanda tersebut dengan tingkat proliferasi sel (Ki-67) dan laju apoptosis (*cleaved caspase 3*) dianalisis dengan uji Mann-Whitney. Statistik dianggap signifikan jika nilai  $p < 0,05$ .

### Hasil

Usia rata-rata pasien saat terdiagnosis adalah 69,89 tahun. Ekspresi Notch1 yang tinggi berhubungan signifikan dengan ekspresi ALDH1A1 yang tinggi ( $p < 0,001$ ). Ekspresi Notch1 dan ALDH1A1 yang tinggi juga berhubungan signifikan dengan diagnosis patologis (termasuk skor Gleason) (keduanya  $p < 0,001$ ). Pada penelitian ini juga hubungan antara ekspresi Notch1 yang tinggi dan tingkat proliferasi sel pada kanker prostat ( $p = 0,009$ ).

### Kesimpulan

Ekspresi Notch1 yang tinggi berhubungan dengan ekspresi ALDH1A1 yang tinggi. Kedua komponen tersebut diusulkan memiliki peran penting dalam perkembangan kanker prostat dan mungkin dapat digunakan menjadi petanda molekular yang penting.

**Kata kunci:** Notch1, ALDH1A1, sel punca kanker, kanker prostat

## ABSTRACT

### Background

Prostate cancer in Indonesia is the third rank cancer among males and the fifth rank cancer mortality among males. Molecular markers that can identify aggressive prostate cancer in early lesion which can help select appropriate therapy to finally reduce the mortality are therefore urgently needed. It has been proven that stem cell in prostate gland have a role in initiation, progression, and metastasis of cancer cells, although still in controversy. ALDH1 is proposed to be a suitable candidate as marker of prostate cancer stem cell. Notch signalling plays an important role in the maintenance of the stem cell phenotype. High Notch1 expression is considered to have an oncogenic role in prostate cancer. We hypothesize that high Notch1 expression is associated with high ALDH1A1 expression as a cancer stem cell marker, thus lead to progression of prostate cancer.

### Methods

A cross-sectional study during two years (2009-2010), totally 79 paraffin embedded tissues of histologic diagnosis consisting of benign prostatic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, low and high Gleason score prostate cancer were investigated using IHC staining. The association between Notch1 and ALDH1A1 were analyzed by Chi-Square test using SPSS 15.0. The associations of Notch1 and ALDH1A1 with pathological diagnosis were analyzed by Chi-square test. The association of both markers with cell proliferation rate (Ki-67) and apoptotic rate (cleaved caspase 3) were also analyzed by Mann-Whitney test. A p-value of  $< 0.05$  was considered statistically significant.

### Results

The mean age of the patients at the timing of diagnosis is 69.89 years. Notch1 expression was associated with ALDH1A1 expression ( $p < 0.001$ ). The expression of Notch1 and ALDH1A1 were found to be significantly associated with the pathological diagnosis (including Gleason score), (both  $p < 0.001$ ). Moreover, it is also found in this study that the expression of Notch1 was significantly associated with the frequency of cells proliferation in prostate cancers, ( $p = 0.009$ ).

### Conclusion

Notch1 expression is associated with ALDH1A1 expression. Those components are suggested to have an important role in prostate cancer progression and may be used as molecular markers

**Key words:** Notch1, ALDH1A1, cancer stem cell, prostate cancer

## PENDAHULUAN

Kanker prostat adalah kanker kedua yang paling sering didiagnosis pada laki-laki (899,000 kasus baru, 13,6% dari total) dan kanker kelima yang paling umum secara keseluruhan. Kanker prostat di Indonesia menduduki peringkat ketiga pada laki-laki (9033 kasus baru) dan peringkat kelima sebagai penyebab kematian akibat kanker pada laki-laki (6841 kasus).<sup>1</sup> Jumlah kasus terus meningkat selama beberapa dekade terakhir.<sup>2</sup> Terapi kanker prostat tergantung pada tahap penyakit, sehingga memberikan keluaran klinis yang bervariasi.<sup>3</sup> Oleh karena itu, sangat diperlukan petanda prognosis yang dapat mengidentifikasi agresivitas kanker prostat dalam lesi dini dan membantu memilih terapi yang tepat yang pada akhirnya mengurangi angka kematian. Namun teknik yang ada saat ini tidak cukup akurat untuk memprediksi keluaran klinis dari kanker prostat. Modalitas diagnostik yang baru harus dikembangkan.<sup>3</sup>

Dalam teori sel punca kanker (Cancer Stem Cell/CSC) didapatkan hipotesis bahwa tumorigenesis didorong oleh CSC yang mungkin berasal sel induk dewasa yang bermutasi dan didorong oleh komponen yang menunjukkan sifat sel punca.<sup>4</sup> Penelitian terbaru yang berkaitan sel punca kanker prostat mengungkapkan bahwa CSC mewakili sebagian kecil dari keseluruhan jumlah massa tumor yang bersifat jauh lebih tumorigenik dari sel keturunan mereka. Mereka juga memiliki kapasitas memperbarui diri, kemampuan metastasis yang lebih, dan rekapitulasi heterogenitas tumor dari sel tumor induk yang asli.<sup>5-8</sup> Identifikasi petanda CSC pada kanker prostat sedang banyak dikembangkan. Kandidat CSC pada kanker prostat juga sedang diusulkan. ALDH1, yang memiliki peran dalam diferensiasi awal sel punca melalui fungsinya dalam oksidasi retinol menjadi asam retinoat, telah diusulkan untuk menjadi kandidat kuat dari CSC pada prostat.<sup>9,10,11,12,13</sup> Telah terbukti bahwa sel kanker prostat dengan ALDH1 positif memiliki sifat klonogenitas dan kapasitas tumorigenik yang tinggi pada percobaan in vitro dan in vivo. Selanjutnya dalam studi klinis, ekspresi ALDH1 yang tinggi dalam kanker prostat berkorelasi positif dengan skor Gleason dan stadium patologis, dan berbanding terbalik dengan *overall survival* dan *cancer-specific survival* dari pasien.<sup>7</sup>

Bagaimana sel-sel punca kanker diinisiasi? Pertanyaan penting ini sedang diselidiki oleh banyak peneliti. Notch1, anggota keluarga reseptor permukaan Notch (Notch1-4) yang memiliki peran sebagai mediator pada "cell-cell contact", dapat memberi kita gambaran mengenai inisiasi sel punca pada kanker prostat. Secara umum aktivasi Notch dianggap berperan untuk mempertahankan potensi sel punca dan menghambat diferensiasi, sehingga dapat meningkatkan karsinogenesis.<sup>14</sup> Terdapat kontroversi mengenai fungsi Notch dalam perkembangan kanker prostat. Wang dkk telah menunjukkan bahwa Notch1 memiliki peran yang cukup potensial sebagai penekan tumor pada kanker prostat.<sup>15</sup> Sebaliknya, Brown et al. dapat membuktikan peran onkogenik dari Notch1 pada tumorigenesis prostat.<sup>16</sup> Telah terbukti bahwa ekspresi Notch berkorelasi dengan ekspresi ALDH (+) sel pada kanker paru-paru dan pankreas.<sup>17,18</sup> Hubungan antara Notch1 dan ekspresi ALDH1A1 pada kanker prostat belum didefinisikan secara jelas.

Kanker prostat menunjukkan lesi prakanker yang unik yang bernama *Prostatic Intraepithelial Neoplasia* (PIN). PIN dapat dideteksi secara mikroskopik pada laki-laki muda, prevalensi meningkat seiring usia, dan PIN mempunyai hubungan yang kuat dengan kanker dalam hal riwayat koinsidensi di kelenjar yang sama dan dalam ruang distribusi.<sup>2</sup> Lesi transisi dari kondisi jinak menjadi keganasan ini dapat digunakan sebagai model perkembangan kanker.

Dalam penelitian ini, ekspresi Notch1 dan ALDH1A1 antara epitel *Benign Prostatic Hyperplasia* (BPH), PIN, dan kanker prostat pada derajat keganasan yang berbeda akan diselidiki untuk memberi kita wawasan mengenai inisiasi kanker prostat dan perkembangannya yang dipengaruhi oleh suatu subset dari CSC. Hubungan mereka dengan kinetika sel (proliferasi sel dan apoptosis) juga akan diselidiki. Lebih penting lagi, Notch1 dan ALDH1A1 diharapkan dapat dikembangkan sebagai petanda biologis dalam perkembangan kanker prostat, dan mungkin dapat menawarkan suatu terapi target guna menyembuhkan keganasan.

**METODE PENELITIAN****Subyek**

Rancangan penelitian ini adalah kuantitatif non eksperimental, dilakukan dengan metode *cross sectional*. Masa studi dalam dua tahun (2009-2010). Tidak ada tindak lanjut atau intervensi kembali yang dilakukan dalam penelitian ini. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah jaringan blok parafin kanker prostat, PIN, dan BPH, yang telah diambil dari arsip Laboratorium Patologi RS. Dr. Sardjito. Blok parafin yang diambil dari prostat dengan metode *core biopsy* atau yang mengandung fokus tumor sangat kecil (<5 bidang pandang) dikeluarkan dari penelitian.

Ukuran sampel dalam penelitian ini ditentukan dengan mengukur jumlah kasus kanker prostat dan PIN selama 2 tahun (2009-2010) yaitu 98 kasus. Ukuran sampel penelitian ini adalah 71, yang dihitung menggunakan rumus Tjokronegoro-Sudarsono.<sup>19</sup> Ekspresi ALDH1A1 digunakan sebagai variabel yang menentukan estimasi persentase subyek. Frekuensi ekspresi ALDH1A1 dalam penelitian yang dilakukan oleh Li dkk digunakan sebagai acuan, yaitu 20%.<sup>7</sup>

Slide Hematoxylin dan Eosin diperiksa oleh dua patolog independen untuk mengklasifikasikan BPH, PIN, dan kanker prostat. Grading ditentukan dengan memakai Skor Gleason kanker prostat dan dikelompokkan menjadi kelas Gleason rendah dan Gleason tinggi seperti dijelaskan pada penelitian sebelumnya.<sup>7</sup> Pasien dengan Total Skor Gleason  $\leq 7$  dianggap sebagai Gleason kelas rendah. Sementara itu, pasien dengan Total Skor Gleason 8-10 dianggap Gleason kelas tinggi.<sup>7</sup>

**Pewarnaan imunohistokimia**

Jaringan dari blok parafin diproses dengan pewarnaan imunohistokimia (IHC) mengikuti prosedur dari manufaktur. Antibodi yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibodi monoklonal anti Notch1 (C-20, Santa Cruz, pengenceran 1:200), ALDH1A1 (EP1933Y, Biocare, pengenceran 1:200), Ki-67 (MIB1, Biocare, pengenceran 1:100), dan cleaved caspase 3 (Biocare, pengenceran 1:100). Kontrol positif diambil dari jaringan kanker payudara dengan IHC positif ALDH1A1 dan jaringan tonsil untuk Ki-67. Jaringan dari blok

parafin kanker prostat tanpa antibodi digunakan sebagai kontrol negatif.

Hasil imunohistokimia dianalisis oleh dua pemeriksa independen berdasarkan kriteria berikut.

Notch1. Lokalisasi pulasan diklasifikasikan sebagai nuklear,<sup>20</sup> sitoplasma,<sup>21,22</sup> dan membranous.<sup>21</sup> Intensitas pulasan dinilai pada lima lapang pandang besar sebagai 0 (negatif), 1 + (lemah), 2 + (menengah) atau 3 + (kuat). Persentase sel yang terpulas positif dikategorikan menjadi: 1 = 0-10% sel terpulas, 2 = 11-50% sel terpulas, 3  $\geq$  50% sel terpulas. Skor akhir diperoleh dengan mengalikan kedua skor tersebut.<sup>23</sup>

ALDH1A1. Intensitas sel yang terpulas positif ALDH1A1 di lima lapang pandang dinilai menurut skala berikut: tidak ada pewarnaan terlihat: 0, pewarnaan samar: 1, pewarnaan moderat: 2, dan pewarnaan yang kuat: 3. Persentase sel dengan pewarnaan positif dinilai sebagai 0, 1 = <10%, 2 = 10-25%, 3 = 25-50, 4 = 50-75%, dan 5  $\geq$  75%. Skor akhir diperoleh dengan mengalikan kedua skor tersebut.<sup>7</sup>

Khusus untuk menghubungkan ekspresi ALDH1A1 dan Notch1 dengan jenis lesi prostat kami menggunakan kriteria: ekspresi ALDH1A1 dan Notch1 dikelompokkan pada dua tingkat, Notch1 rendah (spesimen dengan skor akhir 0-4), dan Notch1 tinggi (spesimen dengan skor akhir 5-9).<sup>23</sup> ALDH1A1 rendah (spesimen dengan skor akhir <2 atau spesimen yang memiliki <10% sel untuk ALDH1A1 ekspresi dengan pewarnaan samar), dan ALDH1A1 tinggi (spesimen dengan skor akhir  $\geq 2$ ).<sup>7,24</sup> Ki-67 (MIB1). Ki-67 digunakan untuk mengidentifikasi sel mitosis. Skor Ki-67 dinilai berdasarkan jumlah inti yang terpulas dibanding jumlah inti tumor pada 5 lapang pandang.<sup>25</sup> Cleaved caspase 3. Cleaved caspase 3 digunakan untuk mengidentifikasi persentase sel tumor yang mengalami apoptosis. Skor apoptosis dinilai sebagai jumlah sel positif dibanding jumlah sel tumor dalam 5 lapang pandang.<sup>26</sup>

**Analisis statistik**

Perangkat lunak statistik SPSS 15.0 digunakan untuk membandingkan ekspresi ALDH1A1 dalam beberapa kelompok dengan karakteristik tertentu. Tabulasi silang diterapkan untuk menghasilkan tabel deskriptif. Perbedaan ekspresi ALDH1A1 pada kelompok usia dan diagnosis patologik diuji dengan menggunakan

uji Chi-square ( $p < 0,05$ ). Persentase sel positif untuk Ki-67 dan cleaved caspase 3 diubah dengan log dan dianalisis pada seluruh kelompok Notch1 dan ALDH1A1 dengan Mann-Whitney test ( $p < 0,05$ ). Penelitian ini telah disetujui oleh Institutional Review Board di Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Indonesia.

**HASIL**

**Karakteristik sampel**

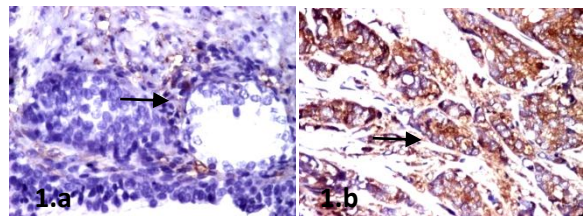
Dalam penelitian ini, 79 spesimen prostat telah dikumpulkan. Pasien memiliki usia rata-rata 69,89 tahun saat didiagnosis, dengan usia minimal 50 tahun dan maksimal 85 tahun. Di antara populasi, pasien kanker prostat memiliki usia rata-rata 70,93, dengan umur termuda dan tertua 50 dan 85 tahun. Mayoritas sampel jaringan adalah dari reseksi transurethral sebanyak 76 sampel dan sisanya (3 sampel) dari prostatektomi terbuka. Sampel tersebut sebanyak 79 sampel dikelompokkan ke dalam 16 sampel BPH, 18 sampel PIN, 20 sampel kanker prostat Gleason rendah, dan 25 sampel kanker prostat Gleason tinggi.

**Ekspresi ALDH1A1**

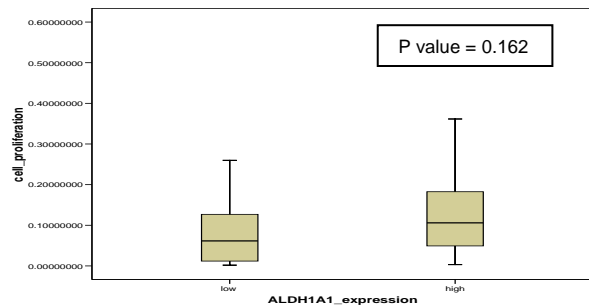
Semua jaringan BPH mengekspresikan ALDH1A1 positive  $\leq 10\%$  sel dengan intensitas pewarnaan samar (tabel 1). Dengan demikian, total skor  $> 10\%$  dapat digunakan sebagai *cut-off*. Dengan kata lain, spesimen tumor dengan skor total lebih dari 10% didefinisikan sebagai tumor dengan ekspresi ALDH1A1 tinggi. Ekspresi ALDH1A1 tinggi ditemukan pada 38% dari total sampel ( $n = 79$ ). Dua dari 18 (11,1%) sampel PIN menunjukkan ekspresi ALDH1A1 tinggi (Gambar 1.a). Di antara spesimen kanker prostat ( $n = 45$ ), ALDH1A1 tinggi diekspresikan pada 62% populasi (gambar 1.b). Dengan demikian, kami menemukan ekspresi ALDH1A1 tinggi yang berbeda antara BPH, PIN, dan kanker prostat dengan skor Gleason berbeda ( $p < 0,001$ ). Perbedaan ini juga ditemukan pada kelompok usia pasien berbeda ( $p = 0,025$ ). Di antara spesimen kanker prostat, ekspresi ALDH1A1 tidak berhubungan secara signifikan dengan proliferasi sel kanker dan apoptosis (Grafik 1 dan 2).

Tabel 1. Pewarnaan IHC ALDH1A1 pada 79 spesimen prostat dengan karakteristik klinikopatologi yang berbeda

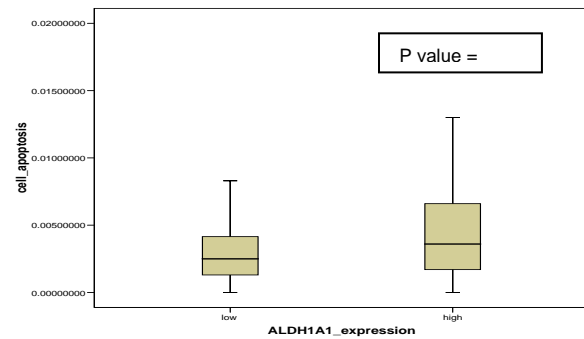
Karakteristik	Jumlah sampel	Ekspresi ALDH1A1		P value
		Rendah	Tinggi	
Kasus	79	49	30	
Umur (tahun)				0.025
$\leq 65$	28	22(78.6%)	6(21.4%)	
$> 65$	51	27(52.9%)	24(47.1%)	
Diagnosis Patologis				0.000
BPH	16	16(100%)	0	
PIN	18	16(88.9%)	2(11.1%)	
Ca prostat (Gleason $\leq 7$ )	20	10(50%)	10(50%)	
Ca prostat (Gleason 8-10)	25	7(28%)	18(72%)	



Gambar 1. ALDH1A1 diekspresikan pada beberapa sel PIN (1.a) dan banyak sel kanker prostat (1.b)



Grafik 1. Hubungan antara ekspresi ALDH1A1 dan proliferasi sel kanker pada 45 spesimen kanker prostat.



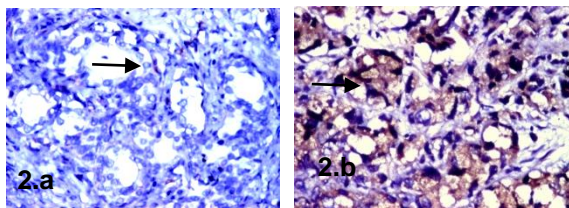
Grafik 2. Hubungan antara ekspresi ALDH1A1 dan apoptosis sel kanker pada 44 spesimen kanker prostat.

**Ekspresi Notch1**

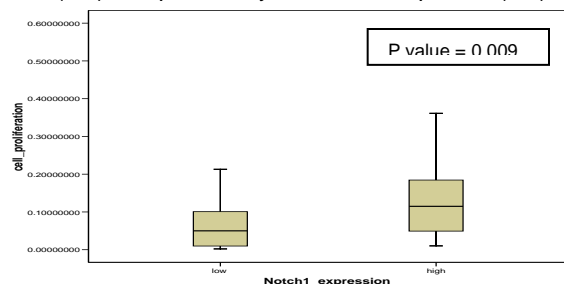
Pada penelitian ini, ekspresi Notch1 dikelompokkan dalam dua tingkatan, Notch1 rendah (spesimen dengan skor akhir 0-4), dan Notch1 tinggi (spesimen dengan dengan skor akhir 5-9). BPH dan PIN memberikan ekspresi Notch1 rendah (gambar 2.a). Ekspresi Notch1 tinggi hanya ditemukan pada spesimen kanker prostat (gambar 2.b). Ekspresi Notch1 (tabel 2) berhubungan signifikan dengan diagnosis patologis ( $p < 0,001$ ,  $n=79$ ) dan umur pasien ( $p=0,037$ ,  $n=79$ ). Seperti yang terlihat dalam (grafik 3), ekspresi Notch1 secara signifikan berhubungan dengan proliferasi sel kanker ( $p=0,013$ ,  $n=45$ ), dan tingkat proliferasi sel yang lebih tinggi ditemukan dalam kelompok ekspresi Notch1 tinggi. Namun, ekspresi Notch1 tinggi ini tidak berhubungan signifikan dengan proporsi sel yang mengalami apoptosis (grafik 4).

Tabel 2. Pulasan IHC Notch1 pada 79 spesimen prostat dengan karakteristik klinikopatologi berbeda

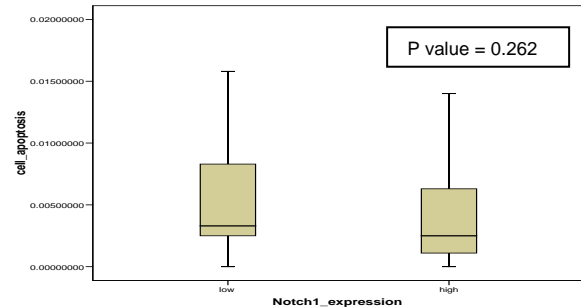
Karakteristik	Jumlah sampel	Ekspresi Notch1		P value
		Rendah	Tinggi	
Kasus	79	50	29	
Umur (tahun)				0.037
≤ 65	28	22(78.6%)	6(21.4%)	
> 65	51	28(54.9%)	23(45.1%)	
Diagnosis				0.000
BPH	16	16(100%)	0	
PIN	18	18(100%)	0	
Ca prostat. (Gleason ≤ 7)	20	15(75%)	5(25%)	
Ca prostat. (Gleason 8-10)	25	1(4%)	24(96%)	



Gambar 2. Notch1 diekspresikan pada beberapa sel PIN (2.a) dan pada banyak sel kanker prostat (2.b).



Grafik 3. Hubungan antara ekspresi Notch1 dan proliferasi sel kanker pada 45 kanker prostat



Grafik 4. Hubungan antara ekspresi Notch1 apoptosis sel kanker pada 44 spesimen kanker prostat.

**Hubungan antara ALDH1A dan Notch1.**

Ekspresi ALDH1A1 tinggi dan Notch1 tinggi tidak diekspresikan pada spesimen BPH dan PIN. Pada penelitian ini, ekspresi ALDH1A1 tinggi (tabel 3) ditemukan berhubungan signifikan dengan ekspresi Notch1 tinggi ( $p < 0,001$ ).

Tabel 3. Pulasan IHC ALDH1A1 pada 79 spesimen prostat dengan ekspresi Notch1.

Karakteristik	Jumlah sampel	Ekspresi ALDH1A1		P value
		Rendah	Tinggi	
Jumlah kasus	79	49	30	
Not.ch1				0.000
Rendah	50	42(84%)	8(16%)	
Tinggi	29	7(24.1%)	22(75.9%)	

**DISKUSI**

Dalam studi ini, pada semua spesimen BPH sel mengekspresikan ALDH1A1 <10%. Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Li dkk. Oleh karena itu, skor keseluruhan  $\geq 10\%$  dapat digunakan sebagai *cut-off* dalam penelitian ini untuk menentukan ekspresi ALDH1A1 tinggi.<sup>7</sup> Jumlah spesimen kanker prostat yang mengekspresikan ALDH1A1 lebih tinggi dari pada penelitian sebelumnya, yang hanya 20% dari populasi.<sup>7</sup> Frekuensi ekspresi ALDH1A1 yang tinggi juga telah ditemukan pada kanker ovarium, di mana 28.9% tumor terpalus 21-100% dan 44% terpalus 1-20%.<sup>27</sup>

Kami menemukan hubungan yang signifikan antara ekspresi ALDH1A1 dengan diagnosis patologik (termasuk skor Gleason) dan umur pasien. Penelitian sebelumnya telah membuktikan hubungan antara ekspresi ALDH1A1 dengan derajat keganasan tetapi tidak usia pasien.<sup>7,24</sup> Kami gagal menghubungkan ekspresi ALDH1A1 dengan proliferasi sel kanker dan apoptosis. Namun hubungan antara

ekspresi ALDH1A1 dengan derajat keganasan masih penting untuk diuraikan karena memiliki dampak yang besar ke beberapa karakteristik histopatologi dan klinis.<sup>28</sup> Adanya sel yang mengekspresikan ALDH1A1 dalam lesi jinak memerlukan perhatian khusus karena sel tersebut dapat memiliki kemampuan memperbarui diri yang tinggi seperti yang telah dibuktikan pada epitel payudara.<sup>24</sup>

Dalam teori sel punca kanker (CSC) didapatkan hipotesis bahwa CSC mungkin dipicu oleh komponen yang berperan dalam regulasi sel punca normal.<sup>4</sup> Dalam penelitian ini, kami mencoba untuk mencari tahu hubungan antara ekspresi ALDH1A1, sebagai marker CSC dengan ekspresi Notch1. Penelitian kami menunjukkan hubungan kuat antara ekspresi Notch1 dan ALDH1A. Pada penelitian sebelumnya, hubungan antara protein Notch dan sel ALDH (+) juga telah dibuktikan pada kanker paru dan pankreas.<sup>17,18</sup> Pada karsinoma paru, ekspresi Notch1 tinggi dan dua protein Notch lain; Notch2 dan Notch3 ditemukan di sel ALDH (+). Penekanan jalur Notch melalui terapi baik dengan inhibitor  $\gamma$ -seretase atau shRNA terhadap gen Notch3 mengakibatkan penurunan yang signifikan dalam sel ALDH (+) pada kanker paru, seiring dengan penurunan proliferasi sel tumor dan clonogenisitas.<sup>18</sup> Interaksi antara sel Notch dan ALDH (+) juga telah diidentifikasi pada kanker pankreas. Inhibisi transien jalur Notch mampu menghilangkan subpopulasi sel ALDH (+) pada kanker ini.<sup>17</sup>

Dalam sel normal, jalur Notch diyakini memiliki peran penting dalam perkembangan sel sebagai penentu nasib dan mempertahankan sel punca.<sup>14</sup> Korelasi antara jalur pensinyalan Notch dan peningkatan pembaruan diri telah dibuktikan oleh studi eksperimental menggunakan kultur mammosphere di MCF7, sel normal, dan jaringan kanker payudara, di mana inhibisi regulasi Jagged 1 dan mRNA Notch 3 setelah interferensi shRNA Notch3 mengurangi kapasitas mammospheres generasi pertama untuk menghasilkan generation selanjutnya.<sup>29</sup> Selain itu, juga ditemukan peningkatan regulasi Notch3 dalam populasi sel induk payudara normal dan kanker dengan sel CD44+.<sup>30</sup>

Dalam penelitian kami, skor akhir 5 digunakan sebagai angka *cut-off* untuk ekspresi Notch1.23 Ekspresi Notch1 yang tinggi hanya ditemukan pada spesimen kanker prostat. Ekspresi Notch1 ditemukan secara signifikan

berhubungan dengan diagnosis patologik dan usia pasien. Hasil kami konsisten dengan penelitian sebelumnya, yang menunjukkan potensi onkogenik Notch1 dalam proses tumorigenesis di prostat.<sup>16,31</sup> Brown dkk mengungkapkan adanya ekspresi berlebihan dari protein Notch1 pada kanker prostat dibandingkan kontrol prostat jinak.<sup>16</sup> Ekspresi dari protein Notch1 juga telah diamati pada karsinoma serviks, adenokarsinoma kolon, dan karsinoma skuamosa paru-paru.<sup>32</sup> Selain itu, kami menemukan hubungan yang signifikan antara Notch1 dan proliferasi sel kanker tetapi tidak dengan apoptosis sel kanker. Temuan ini bertentangan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wang dkk, yang menyatakan ekspresi tinggi Notch1 pada mRNA berhubungan dengan berkurangnya proliferasi sel dan peningkatan apoptosis pada prostat normal, dan menunjukkan peran supresor terhadap kanker prostat.<sup>15,33</sup> Hasil temuan yang berbeda mungkin disebabkan oleh perbedaan tingkat ekspresi Notch1 yang diperiksa. Kami dan peneliti lain yang mendukung peran onkogenik Notch1 memeriksa ekspresi Notch1 tingkat protein, sedangkan Wang dkk<sup>15,33</sup> yang menunjukkan peran Notch1 sebagai penekan tumor, memeriksa ekspresi Notch1 di tingkat mRNA. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mendefinisikan secara jelas peran Notch1 dalam perkembangan kanker prostat.

Sebagai kesimpulan, meskipun terbatasnya jumlah sampel dan metode yang digunakan, namun penelitian ini dapat memberikan sedikit pengertian mengenai pentingnya ALDH1A1 dan Notch1 dalam perkembangan kanker prostat. Perbedaan ekspresi kedua protein tersebut pada BPH, PIN, dan kanker prostat dengan skor Gleason berbeda dapat ditunjukkan. Penelitian ini dapat menyokong pernyataan ALDH1A1 dan Notch1 memiliki peran penting dalam perkembangan kanker prostat karena hubungan mereka dengan diagnosis patologik dan dengan proliferasi sel kanker. Interaksi antara komponen tersebut, meski masih diliputi kontroversi, perlu dipelajari lebih dalam. Studi lanjutan penting dilakukan untuk mengungkapkan mekanisme yang jelas tentang bagaimana sel dengan Notch1 dan ALDH1A1 positif dapat berperan dalam perkembangan kanker. Jika sel-sel induk kanker dan faktor yang meregulasi mereka bisa diidentifikasi dengan jelas, biomarker prognostik

baru dan agen terapi untuk kanker sangat mungkin untuk dikembangkan.

**KESIMPULAN**

ALDH1A1 dan Notch1 berperan penting dalam perkembangan kanker prostat.

Masih perlu penelitian lanjutan tentang mekanisme peran Notch1 dan ALDH1A1 dalam perkembangan kanker.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2001. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. IARC Press. Lyon. 2007.
3. Cookson MS, Aus G, Burnett AL, Canby-Hagino ED, D'Amico AV, Dmochowski RR, *et al*. Variation in the definition of biochemical recurrence in patients treated for localized prostate cancer: the American Urological Association Prostate Guidelines for Localized Prostate Cancer Update Panel report and recommendations for a standard in the reporting of surgical outcomes. *J Urol* 2007;177:540-5.
4. Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:895-902.
5. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005;65:10946-51.
6. Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, Li H, Bhatia B, Tang S, *et al*. Highly purified CD44(+) prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene*. 2006;25:1696-708.
7. Li T, Su Y, Mei Y, Leng Q, Leng B, Liu Z, *et al*. ALDH1A1 is a marker for malignant prostate stem cells and predictor of prostate cancer patients' outcome. *Lab Invest* 2010; 90:234-44.
8. Van Den Hoogen C, Van Der Horst G, Cheung H, Buijs JT, Lippitt JM., Guzman-Ramirez N, *et al*. High aldehyde dehydrogenase activity identifies tumor-initiating and metastasis-initiating cells in human prostate cancer. *Cancer Res* 2010;70:5163-73.
9. Magni M, Shammah S, Schiro R, Mellado W, Dalla-Favera R, Gianni AM. Induction of cyclophosphamide-resistance by aldehyde-dehydrogenase gene transfer. *Blood* 1996; 87:1097-103.
10. Yoshida A, Rzhetsky A, Hsu LC, Chang C. Human aldehyde dehydrogenase gene family. *Eur J Biochem*. 1998;251:549-57.
11. Duester G. Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin A function: production of visual pigment and retinoic acid. *Eur J Biochem*. 2000;267:4315-24.
12. Sophos NA, Vassiliou V. Aldehyde dehydrogenase gene superfamily: the 2002 update. *Chem Biol Interact*. 2003;143-44:5-22.
13. Chute JP, Muramoto GG, Whitesides J, Colvin M, Safi R, Chao NJ, *et al*. Inhibition of aldehyde dehydrogenase and retinoid signaling induces the expansion of human hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;31:11707-12.
14. Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: Cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999; 284:770-6.
15. Wang XD, Leow CC, Zha J, Tang Z, Modrusan Z, Radtke F, *et al*. Notch signaling is required for normal prostatic epithelial cell proliferation and differentiation. *Dev Biol*. 2006;290:66-80.
16. Brown MD, Gilmore PE, Hart CA, Samuel JD, Ramani VA, George NJ, Clarke NW. Characterization of benign and malignant prostate epithelial Hoechst 33342 side populations. *Prostate* 2007;67:1384-96.
17. Mullendore ME, Koorstra JB, Li YM, Offerhaus GJ, Fan X, Henderson CM., *et al*. Ligand-dependent notch signaling is involved in tumor initiation and tumor maintenance in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15: 2291-301.
18. Sullivan JP, Spinola M, Dodge M, Raso MG, Behrens C, Gao B, *et al*. Aldehyde dehydrogenase activity selects for lung adenocarcinoma stem cells dependent on notch signaling. *Cancer Res*. 2010;70:9937-48.
19. Tjokronegoro A, Sudarsono S. Metodologi penelitian bidang kedokteran. Balai Penerbit FKUI. 2007.

20. Klinakis A, Szabolcs M, Politi K, Kiaris H, Artavanis-Tsakonas S, Efstratiadis A. Myc is a notch1 transcriptional target and requisite for Notch1-induced mammary tumorigenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:9262-7.
21. Li Y, Burns JA, Cheney CA, Zhang N, Vitelli S, Wang F, Bett A, *et al*. Distinct expression profiles of notch-1 protein in human solid tumors: Implication for development of targeted therapeutic monoclonal antibodies. *Biologics*. 2010;4:163-71.
22. Hafeez BB, Adhami VM, Asim M, Siddiqui IA, Bhat KM, Zhong W, *et al*. Targeted knockdown of notch1 inhibits invasion of human prostate cancer cells concomitant with inhibition of matrix metalloproteinase-9 and urokinase plasminogen activator. *Clin Cancer Res*. 2009;15:452.
23. Sethi N, Dai X, Winter C G, Kang Y. Tumor-derived jagged1 promotes osteolytic bone metastasis of breast cancer by engaging notch signaling in bone cells. *Cancer Cell* 2011;19:192-205.
24. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, *et al*. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007;1:555-67.
25. Dhillon PK, Barry M, Stampfer MJ, Perner Sven, Fiorentino M, Fornari A, *et al*. Aberrant cytoplasmic expression of p63 and prostate cancer mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:595-600.
26. Vigneswaran N, Baucum D, Wu J, Lou Y, Bouquot J, Muller S, *et al*. Repression of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) but not its receptors during oral cancer progression. *BMC Cancer* 2007;7:108.
27. Landen CN, Goodman B, Katre AA, Steg AD, Nick AM, Stone RL, *et al*. Targeting aldehyde dehydrogenase cancer stem cells in ovarian cancer. *Mol Cancer Ther*. 2010;9:3186-99.
28. Humphrey PA. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*. 2004;17:292-306
29. Sansone P, Storci G, Giovannini C, Pandolfi S, Pianetti S, Taffurelli M, *et al*. p66Shc/Notch-3 interplay controls self-renewal and hypoxia survival in human stem/progenitor cells of the mammary gland expanded in vitro as mammospheres. *Stem Cells* 2007; 25:807-15.
30. Shipitsin M, Campbell LL, Argani P, Weremowicz S, Bloushtain-Qimron N, Yao J, *et al*. Molecular definition of breast tumor heterogeneity. *Cancer Cell* 2007;11:259-73.
31. Shou J, Ross S, Koeppen H, de Sauvage FJ, Gao WQ. Dynamics of notch expression during murine prostate development and tumorigenesis. *Cancer Res* 2001;61:7291-7.
32. Zagouras P, Stifani S, Blaumueller CM, Carcangiu ML, Artavanis-Tsakonas S. Alterations in Notch signaling in neoplastic lesions of the human cervix. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:6414-8.
33. Wang XD, Shou J, Wong P, French DM, Gao WQ. Notch1-expressing cells are indispensable for prostatic branching morphogenesis during development and regrowth following castration and androgen replacement, *J Biol Chem*. 2004;279:24733-44.