

Artikel Review: Interaksi Silang Pensinyalan WNT dan TGF- β pada Kanker Paru dengan MikroRNA sebagai Mayoritas Regulator

Nita Rahmasari¹, Melisa I. Barliana², Riezki Amalia^{3,4}

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia,

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia,

³Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, ⁴Pusat Unggulan Iptek-Inovasi Pelayanan Kefarmasian, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

Abstrak

Posisi pertama untuk kejadian dan mortalitas kanker paru di dunia saat ini masih menjadi tantangan untuk menemukan dan mengembangkan terapi potensial bagi pasien kanker paru. Pemahaman pada tingkat molekular mengenai progres tumor pada kanker sangat diperlukan untuk menemukan rejimen terapi yang efektif; terdapat perubahan genetik pada berbagai jalur pensinyalan pengatur proses biologi yang terlibat selama karsinogenesis. Pensinyalan WNT dan TGF- β telah banyak diidentifikasi pada beberapa penelitian, khususnya mengenai interaksi keduanya dalam tumorigenesis paru, namun belum cukup diulas secara jelas. Oleh karena itu, dilakukan pengkajian terhadap 10 artikel riset yang diakses secara online melalui database MeSH PubMed dengan kata kunci “Receptors, Wnt/Wnt Signaling Pathway/Wnt Proteins” AND “Receptors, Transforming Growth Factor beta/Transforming Growth Factor beta” AND “Lung Neoplasms/Small Cell Lung Carcinoma/Carcinoma, Non-Small-Cell Lung”, untuk menyusun ulasan mengenai interaksi silang keduanya pada kanker paru secara lebih jelas. Secara menyeluruh, interaksi silang antara pensinyalan WNT dan TGF- β meregulasi pemrograman Cancer Stem Cell (CSC) dan Epithelial–Mesenchymal Transition (EMT) selama tumorigenesis dan prognosis kanker paru yang berdampak pada metastasis, peningkatan agresivitas, serta kemoresistensi tumor. Interaksi silang pensinyalan WNT dan TGF- β pada kanker paru dapat terjadi secara langsung pada tingkat kompleks transkripsi mereka ataupun dengan melibatkan suatu mediator penting, yang sebagian besarnya diperankan oleh mikroRNA. Terdapat berberapa mikroRNA yang telah teridentifikasi baik pada kanker paru dalam meregulasi interaksi silang antara pensinyalan WNT dan TGF- β , seperti miR-1827, miR-3127-5p, dan miR-128-3p. Pembahasan ini mengimplikasikan peluang yang tinggi pada penekanan kedua jalur WNT dan TGF- β secara simultan dan efektif dengan menargetkan suatu molekul yang berpotensi untuk kanker paru.

Kata kunci: Interaksi silang pensinyalan, kanker paru, pensinyalan TGF- β , pensinyalan WNT

Review Article: Crosstalk between WNT and TGF- β signaling in Lung Cancer with MicroRNA as Majority of Regulators

Abstract

The discovery and development of potential therapies to reduce the incidence and mortality of lung cancer is still a challenge. Consequently, identifying an effective therapeutic regimen is necessary for tumor progression in cancer at the molecular level due to genetic changes in various signaling pathways that regulate the biological processes involved during carcinogenesis. WNT and TGF- β signaling have been widely identified in several studies, with regards to the interaction of both in pulmonary tumorigenesis although they have not been adequately reviewed clearly. Hence, an assessment of 10 research articles was conducted online through the MeSH PubMed database with the keywords “Receptors, Wnt/Wnt Signaling Pathway/Wnt Proteins” AND “Receptors, Transforming Growth Factor beta/Transforming Growth Factor beta” AND “Lung Neoplasms/Small Cell Lung Carcinoma/Carcinoma, Non-Small-Cell Lung”, to compile an overview of the crosstalk. Furthermore, the crosstalk between WNT and TGF- β signaling regulates the programming of Cancer Stem Cell (CSC) and Epithelial–Mesenchymal Transition (EMT) during tumorigenesis and prognosis of lung cancer that leads to metastasis, increased aggressiveness, and tumor chemoresistance. The crosstalk of WNT and TGF- β signaling in lung cancer can occur directly at the level of their transcription complex or by involving an important mediator, most of which is played by microRNA. There are several microRNAs identified in regulating crosstalk between WNT signaling and TGF- β , such as miR-1827, miR-3127-5p, and miR-128-3p. The discussion implies a high opportunity for the simultaneous and effective suppression of both WNT and TGF- β pathways by targeting a molecule that has the potential for lung cancer.

Keywords: Lung cancer, signaling crosstalk, TGF- β signaling, WNT signaling

Korespondensi: Riezki Amalia, PhD., Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat 45363, Indonesia, email: riezki.amalia@unpad.ac.id

Naskah diterima: 17 Mei 2020, **Diterima untuk diterbitkan:** 13 Agustus 2020, **Diterbitkan:** 30 Maret 2021

Pendahuluan

Angka kejadian kanker paru dilaporkan menempati posisi pertama untuk kasus kanker pada pria Indonesia bahkan dunia.^{1,2} Pada tahun 2018, kanker paru berkontribusi untuk jumlah kasus baru tertinggi (11,6%) serta menjadi penyebab atas mortalitas tertinggi (18,4%) dari total kasus di seluruh dunia.² Terdapat dua jenis utama kanker paru, yaitu kanker paru sel kecil (KPSK) atau *small cell lung cancer* dan kanker paru bukan sel kecil (KPBSK) atau *non-small cell lung cancer*.³ KPSK dilaporkan jarang terjadi, yakni hanya sebesar 15–20% dari seluruh kasus kanker paru namun merupakan bentuk yang lebih agresif serta metastasis yang lebih cepat,⁴ sementara kasus KPBSK lebih umum terjadi yakni sebesar 80–85% dari semua kasus kanker paru dengan perkembangan penyakit yang lambat.^{5,6}

Kanker merupakan istilah umum untuk sekelompok besar penyakit yang ditandai dengan abnormalitas dan tidak terkontrolnya pertumbuhan sel dengan potensi menginvasi bagian tubuh yang berdekatan dan dapat bermetastasis ke organ lain.⁷ Progres tumor yang berkembang menjadi kanker dapat disebabkan oleh perubahan genetik dalam jalur pensinyalan yang mengatur proliferasi, motilitas, metabolisme, dan ketahanan sel, yang bervariasi diberbagai jenis tumor dan individu.^{8,9} Adanya tingkat variasi yang cukup besar dalam perubahan tersebut serta rendahnya tingkat kelangsungan hidup relatif selama lima tahun setelah diagnosis kanker paru (<21%)^{10,11} menekankan urgensi pemahaman tentang biologi molekular tumor seperti perubahan gen dan jalur pensinyalan pada semua jenis kanker, termasuk kanker paru untuk mengidentifikasi kemungkinan terapi potensial baru dan efektif.⁹

Dari total sepuluh jalur pensinyalan yang telah diketahui sering mengalami perubahan genetik pada kanker, perubahan yang terjadi

dalam jalur pensinyalan *Wingless/Int* (WNT) merupakan perubahan yang paling bervariasi.⁹ Disregulasi pensinyalan WNT terlibat dalam berbagai perkembangan tumor, metastasis, serta kemoresisten pada berbagai kanker, termasuk kanker paru.^{11,12} Sementara itu, faktor pertumbuhan penting yang memainkan peran esensial seperti *Transforming Growth Factor* (TGF-β) juga dilaporkan mengalami disregulasi pada jalur pensinyalannya dalam karsinogenesis, termasuk berperan dalam memicu pertumbuhan tumor, meningkatkan invasi tumor, dan metastasis.¹³ Interaksi silang pensinyalan WNT dengan pensinyalan TGF-β terbukti memainkan peran yang penting dalam banyak proses biologi termasuk penentuan kelangsungan hidup sel selama perkembangan, homeostatis, respon terhadap cedera dan tumorigenesis, namun interaksi silang ini belum terdefinisikan dengan baik termasuk pada kanker paru.^{14,15} Oleh karena itu, fokus artikel *review* ini adalah membahas interaksi silang antara jalur pensinyalan WNT dengan TGF-β pada kanker paru.

Metode

Metode yang digunakan pada artikel *review* ini (Gambar 1) adalah mengkaji berbagai artikel riset yang diakses secara *online* pada database MeSH PubMed dengan kata kunci “*Receptors, Wnt/Wnt Signaling Pathway/Wnt Proteins*” AND “*Receptors, Transforming Growth Factor beta/Transforming Growth Factor beta*” AND “*Lung Neoplasms/Small Cell Lung Carcinoma/Carcinoma, Non-Small-Cell Lung*”. Sebanyak 16 artikel didapatkan dari hasil pencarian tersebut dan sejumlah enam artikel tereksklusi disebabkan oleh riset yang dilakukan: bukan pada sel *line*, spesimen kanker paru,⁵ ataupun tidak terdapat interaksi antara pensinyalan WNT dan TGF-β.¹ Selanjutnya 10 artikel digunakan sebagai sumber penulisan utama pada artikel *review* ini dan dilakukan analisis data untuk

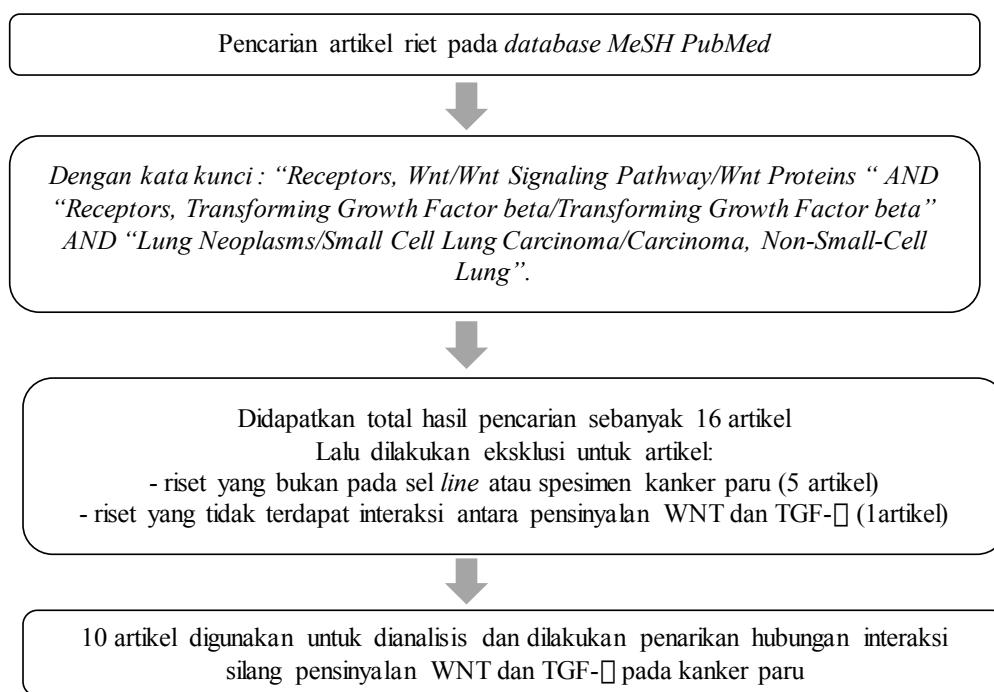
mendapatkan hubungan antara pensinyalan WNT dan TGF- β pada kanker paru.

Pensinyalan WNT

Jalur pensinyalan WNT merupakan jalur transduksi sinyal yang memainkan peran sebagai mediator sentral yang secara kritis terlibat dalam pengaturan berbagai fungsi seluler selama perkembangan embrionik dan masa dewasa.^{16,17} Dalam hal ini, pensinyalan WNT merupakan pengontrol berbagai aspek perkembangan yang meliputi proliferasi sel, diferensiasi sel, penentuan kelangsungan hidup sel, apoptosis, migrasi dan polaritas sel selama perkembangan, serta pemeliharaan sel induk pada orang dewasa.^{18,19,20} Disregulasi yang kompleks dari pensinyalan WNT adalah elemen penting dari karsinogenesis paru, yang mengendalikan tidak hanya proses karsinogenik, tetapi juga vaskularisasi tumor, respon terhadap obat, dan perkembangan penyakit,^{21,22} yang memiliki dampak terhadap peningkatan agresivitas tumor dan resistensi

terhadap kemoterapi dan radiasi.²³

WNT merupakan morfogen gliko-lipoprotein termodifikasi lipid,²¹ dengan 350–400 asam amino²⁴ yang dibutuhkan selama pengembangan paru dalam penentuan kelangsungan hidup sel, proliferasi sel, dan kontrol pembelahan sel asimetris.²⁵ Pada orang dewasa, pensinyalan WNT sangat penting dalam pemeliharaan sel untuk mengatur homeostasis jaringan termasuk pada paru-paru.^{21,25} Setidaknya telah diketahui terdapat 19 protein WNT²⁶ yang berperan sebagai ligan dan berinteraksi dengan salah satu anggota dari keluarga reseptor utamanya, *Frizzled* (FZD).^{23,24} WNT mengaktifkan reseptor permukaan sel spesifik pada sel-sel terdekat untuk memperoleh respons seluler yang diklasifikasikan menjadi dua jalur pensinyalan utama, yaitu jalur kanonikal atau dependen β -catenin (jalur WNT/ β -catenin), dan jalur non-kanonikal atau independen β -catenin yang meliputi jalur WNT/PCP (*Planar Cell Polarity*) dan WNT/Ca²⁺.^{17,18,21} Masing-masing pensinyalan tersebut berjalan sesuai konteks seluler dan profil reseptor,



Gambar 1 Metode Penulisan Artikel Review

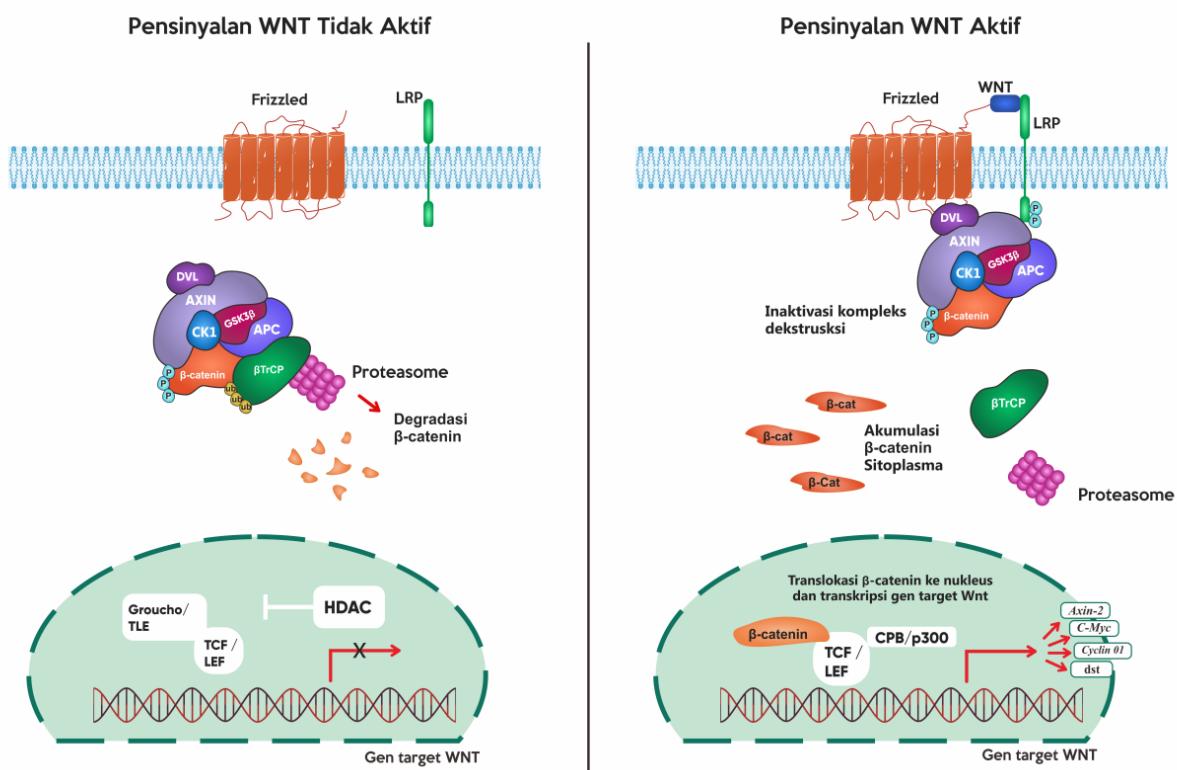
termasuk ligan WNT1, WNT2, WNT3a, WNT7b dan WNT8 yang mengaktifkan pensinyalan WNT/ β -catenin, sementara WNT4, WNT5a, WNT7a, WNT11 dan WNT16 sebagian besar terkait pensinyalan independen β -catenin.^{18,21}

Jalur kanonikal WNT

Peran pensinyalan WNT yang diteliti pada paru sebagian besar berfokus pada pensinyalan kanonikal (WNT/ β -catenin), dengan β -catenin merupakan kunci pensinyalan ini, seperti terlihat pada Gambar 2. Stabilitas β -catenin diatur oleh kompleks protein multimerik atau kompleks penghancur (*Destruction Complex*, DC) yang terdiri dari protein perancah *Axis Inhibition Protein* (AXIN), penekan tumor *Adenomatous Polyposis Coli* (APC) dan

dua kinase serin-treonin aktif, yaitu *Casein kinase-1* (CK1) dan *Glycogen synthase kinase-3* (GSK3).^{24,27} Dengan tidak adanya ligan WNT kanonik, β -catenin yang terikat pada AXIN difosforilasi secara berurutan oleh CK1 dan GSK3 pada ujung-N di situs serin dan treonin. β -catenin yang terfosforilasi kemudian diubiquitinasi oleh β -Transduction repeat-Containing Protein (β TrCP) dan terdegradasi oleh proteasome sehingga menurunkan level β -catenin sitoplasma.^{18,23,28} Dengan tidak adanya β -catenin di nukleus, kompleks represif yang mengandung TCF/LEF dan TLE/Groucho (*transducing-like enhancer protein*) kemudian merekrut HDAC untuk menekan target gen.²⁹

Sementara itu, aktivasi jalur WNT/ β -catenin dimulai pada saat terjadi pengikatan ligan WNT kanonik yang disekreksikan



Gambar 2 Pensinyalan Kanonikal WNT

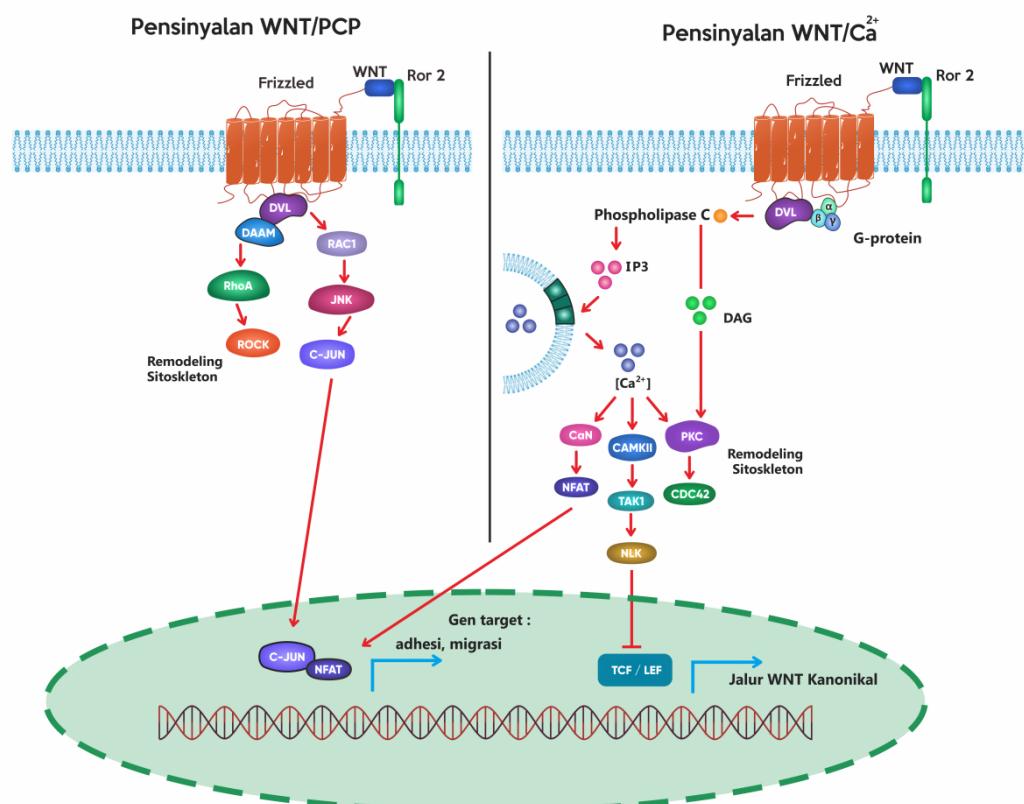
Ketika pensinyalan tidak aktif, β -catenin akan terdegradasi oleh kompleks destruktif (kiri) dan ketika pensinyalan aktif, degradasi β -catenin terhambat sehingga akumulasinya menyebabkan translokasi β -catenin ke nukleus untuk memulai transkripsi gen target WNT (kanan)^{24,29}

dengan reseptor utama FZD dan ko-reseptor dari keluarga reseptor lipoprotein densitas rendah, yaitu *Lipoprotein Receptor-Related Protein 5* dan *6* (*Lrp5/6*).³⁰ Reseptor *seven-pass transmembrane Frizzled* (FZD) sangat penting untuk hampir semua pensinyalan WNT, dimana terdapat domain kaya sistein (*Cysteine-Rich Domain*, CRD) pada ujung-N ekstraseluler yang berfungsi sebagai domain pengikatan WNT.^{17,18} Pengikatan ligan WNT terhadap FZD/LRP selama pensinyalan mengarah pada fosforilasi LRP dan merelokasi DC ke membran sel.²⁶ *Dishevelled* (DVL) yang teraktivasi kemudian mengikat bagian sitoplasma FZD dan memediasi pengikatan LRP dengan AXIN. Ubiquitinasi β -catenin oleh β TrCP dan degradasi oleh proteasome menjadi terhambat dalam kompleks yang utuh, yang mengakibatkan kompleks menjadi jenuh oleh bentuk β -catenin terfosforilasi,

dan mengarah pada akumulasi β -catenin yang baru disintesis di sitoplasma dan secara bebas bermigrasi ke nukleus.³¹ Selanjutnya, β -catenin membentuk kompleks dengan faktor transkripsi *T-cell Factor* (TCF) dan *Lymphoid Enhancer-Binding Factor* (LEF) dengan menggeser kompleks TLE/Groucho serta terjadi perekutan ko-aktivator transkripsional termasuk *cAMP-Response Element-Binding* (CREB)-Binding Protein (CBP) dan p300, untuk mengaktifkan transkripsi gen target pensinyalan WNT, seperti *Axin2*, *c-Myc*, *cyclin D1*.^{23,27} Ekspresi gen target pensinyalan WNT kanonik diatur dengan mengontrol jumlah ko-aktivator transkripsional β -catenin.²⁴

Jalur non-kanonikal WNT

Jalur non-kanonik dapat dikategorikan menjadi dua cabang, yaitu jalur WNT/PCP dan jalur



Gambar 3 Pensinyalan Non-kanonikal WNT

Jalur WNT/PCP (kiri) dan jalur WNT/Ca²⁺ (kanan) yang mengatur remodeling sitoskeleton, adhesi dan migrasi sel^{19,24}

WNT/Ca²⁺²⁴ yang lebih umum dikaitkan dengan diferensiasi, polaritas sel, dan migrasi (Gambar 3).¹⁹ Jalur PCP non-kanonik mengatur berbagai perilaku seluler termasuk polaritas sel planar dan pergerakan sel selama gastrulasi.²⁴ Aktivasi jalur PCP dimulai ketika ligan WNT kanonikal, seperti WNT11,²¹ mengikat reseptor ROR-FZD secara independen dari LRP,²⁴ yang kemudian melibatkan DVL serta *Disheveled-Associated Activator of Morphogenesis 1* (DAAM1) untuk mengaktifkan GTPase kecil seperti *Ras homolog gene family member A* (RhoA) dan *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1* (RAC1). RhoA lebih lanjut mengaktifkan *Rho-associated Coiled-Coil-Containing Protein Kinase 1* (ROCK), sedangkan RAC1 mengaktifkan *Jun N-terminal Kinase* (JNK),^{19,24} sehingga menginisiasi remodeling sitoskeleton dan aktivasi transkripsi gen target yang bertanggung jawab untuk motilitas,²¹ adhesi sel, dan migrasi.¹⁹

Dalam jalur WNT yang bergantung Ca²⁺ ini, ligan WNT5a sebagai aktuator yang paling terkenal²¹ berikatan dengan reseptor FZD dan koresp收受or RYK atau ROR.¹⁹ Reseptor ROR-FZD yang teraktivasi secara langsung berinteraksi dan mengaktifkan protein G-heterotrimerik (G α , β , γ), DVL, dan *phospholipase C* (PLC), dan mengarah pada peningkatan konsentrasi Ca²⁺ intraseluler dari retikulum endoplasma¹⁷ yang diinduksi oleh (*inositol 1,4,5-triphosphate*) (IP3).¹⁹ Ca²⁺ yang dilepaskan lalu mengaktifasi: i) *Calcium/Calmodulin Mediated Kinase II* (CaMKII) yang mengarah pada blokade pensinyalan WNT kanonik dengan melalui penghambatan β -catenin/TCF, ii) *phosphatase calcineurin* (CaN) yang mengarah pada proses adhesi dan migrasi, dan iii) *Protein Kinase C* (PKC) yang mengarah pada remodeling sitoskeleton aktin.^{19,23,24}

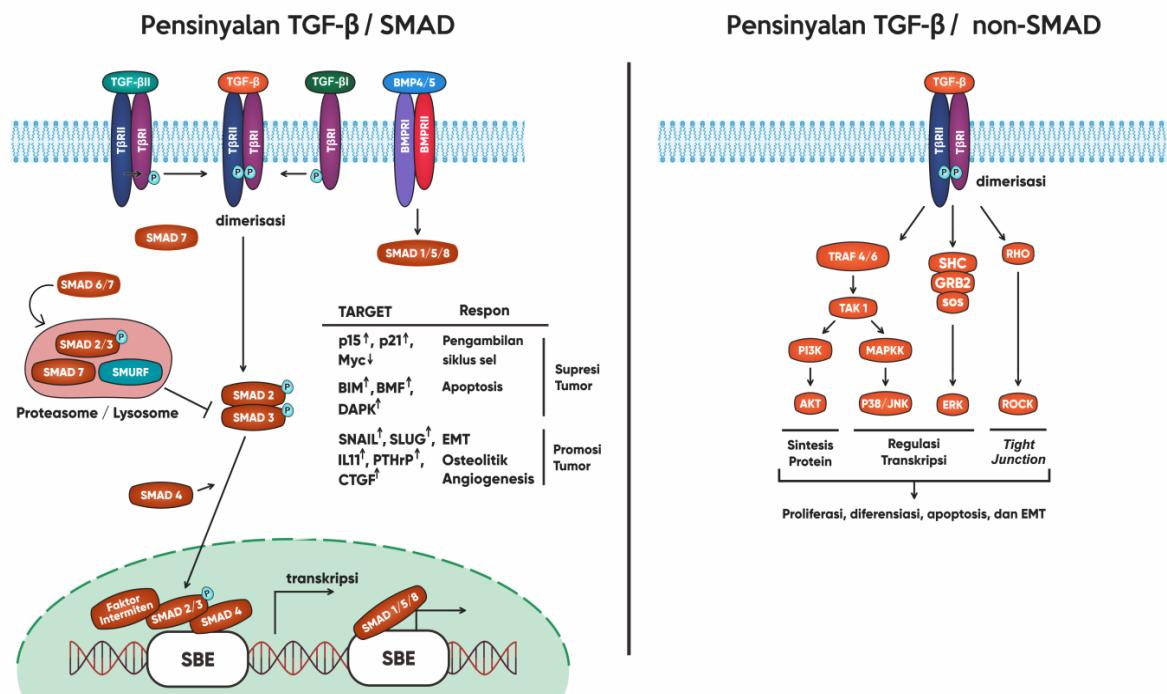
Pensinyalan TGF- β

Superfamili *Transforming Growth Factor*

(TGF- β) merupakan kelompok besar sitokin dengan 32 anggota, termasuk TGF- β s, aktivin, inhibin, nodal, *Growth and Differentiation Factors* (GDF), dan *Bone Morphogenetic Proteins* (BMP).^{32,33} Masing-masing memiliki peran penting dalam banyak proses seluler, khususnya dalam perkembangan embrionik dan homeostatis jaringan dewasa,³⁴ homeostatis dan toleransi imun³⁵ serta terlibat dalam tumorigenesis dengan fungsi ganda TGF- β sebagai supresor dan promotor tumor.³⁶⁻³⁸ Selama fase awal pembentukan tumor, TGF- β menunjukkan peran supresor yang kuat dengan menghambat perkembangan siklus sel dan menginduksi apoptosis,³⁹ sedangkan pada fase perkembangannya, sel-sel tumor secara bertahap menjadi resisten terhadap efek antimitogeniknya dan TGF- β dapat beralih menjadi promotor tumor, memfasilitasi *Epithelial–Mesenchymal Transition* (EMT), angiogenesis tumor, invasi dan metastasis.^{11,58} Pensinyalan TGF- β memainkan peran sentral dalam fibrosis jaringan dan tumorigenesis, dengan peningkatan regulasi ligan TGF- β diamati pada berbagai jenis penyakit paru utama, termasuk fibrosis paru, emfisema, asma bronkial, dan kanker paru-paru.^{41,42}

TGF- β merupakan faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam perkembangan jaringan dan homeostasis paru, termasuk terlibat dalam interaksi epitel-mesenkim selama morfogenesis dan alveolarisasi percabangan paru.³³ Berdasarkan kesamaan urutan dan kriteria fungsional, 32 anggota superfamili TGF- β dikelompokkan menjadi subfamili TGF- β dan BMP, dengan subfamili TGF- β terdiri atas tiga ligan TGF- β (TGF- β 1, 2, dan 3), aktivin A dan B, nodal, GDF1, 3, 8, 9, dan 11.³⁵

Aktivasi jalur pensinyalan TGF- β dimulai ketika ligan dimer TGF- β berinteraksi dengan pasangan reseptor transmembran permukaan sel spesifik dengan aktivitas serin/treonin kinase intrinsik.^{16,43} yang dikenal sebagai reseptor tipe I (T β RI) dan tipe II (T β RII).³⁹



Gambar 4 Pensinyalan TGF- β

Jalur kanonikal TGF- β dimulai ketika ligan TGF- β mengaktifkan kompleks reseptör T β RII dan T β RI yang menyebabkan fosforilasi SMAD2 dan SMAD3 serta pembentukan kompleks dengan SMAD4 untuk bertranslokasi ke nukleus dan memulai transkripsi gen target TGF- β (kiri) dan jalur non-kanonikal TGF- β yang mengaktifkan beberapa kinase (kanan)^{45,46}

Tiga ligan reseptör TGF- β telah diidentifikasi, yaitu TGF- β 1, 2, dan 3, yang sebagian besar memiliki aktivitas biologis yang serupa tetapi tidak identik secara *in vitro*.¹⁸ Selain itu, pensinyalan ini juga melibatkan protein SMAD sebagai mediator hilir yang penting.³⁴ SMAD2 dan SMAD3 merupakan substrat untuk reseptör subfamilia TGF- β , sedangkan SMAD1, SMAD5, dan SMAD8 merupakan substrat untuk reseptör subfamilia BMP; yang selanjutnya disebut sebagai *receptor-regulated SMAD* (R-SMAD).³⁹ Sama seperti pensinyalan WNT, jalur pensinyalan TGF- β juga terbagi menjadi jalur kanonikal atau dependen SMAD dan jalur non-kanonikal atau independen SMAD.^{35,39}

Jalur kanonikal TGF- β

Jalur kanonikal TGF- β (Gambar 4) dimulai ketika stimulasi ligan TGF- β menyebabkan

aktivasi T β RII, yang selanjutnya membentuk kompleks heteromer dengan T β RI⁴¹ (juga disebut sebagai *Activin receptor-like Kinase*; ALK) dan mengarah pada rekrutmen dan fosforilasi (aktivasi) reseptör ini.⁴⁴ Di samping itu, dimerisasi kedua reseptör juga dapat terjadi ketika terdapat pengikatan TGF- β 1 dengan T β RI.⁴⁵ Pada gilirannya, aktivasi T β RI memfosforilasi SMAD2 dan SMAD3 pada residu serin di C-terminal sehingga terjadi pembentukan kompleks heterodimerik dan trimerik⁴⁶ dengan *common SMAD* (*co-SMAD*), yang dinamakan SMAD4.⁴⁴⁻⁴⁷ Hal ini menjadi penyebab terjadinya translokasi kompleks ke nukleus dan berikatan dengan *SMAD-binding element* (SBE) pada promotor gen target, bertindak sebagai faktor transkripsi dalam pengaturan ekspresi gen target TGF- β .⁴⁵

Dalam perkembangannya, sel-sel tumor membutuhkan faktor-faktor intermiten untuk berikatan dengan kompleks regulator SMAD

pada promotor dalam melakukan peralihan fungsi dari supresor menjadi promotor tumor melalui mediasi transkripsi gen yang terkait dengan EMT, stemness, dan proliferasi.^{48,49} Contoh dari faktor-faktor tersebut adalah *paraspeckle component 1* (PSPC1).⁵⁰ Sel-sel normal atau kanker stadium awal dilaporkan tidak memiliki faktor-faktor intermiten, sehingga aktivasi kompleks regulator SMAD mendukung promosi transkripsi gen penekan tumor.⁵⁰ Sementara itu, penghambatan SMAD (*inhibitory SMAD*; I-SMAD) diperankan oleh SMAD6 dan SMAD7⁵¹ yang menekan fosforilasi dan translokasi SMAD2/3 ke nukleus, dengan SMAD7 terlibat dalam ubiquitinasi dan degradasi TβRI⁴⁷ serta pSMAD2/3C dengan bantuan ligase E3, seperti SMURF1, SMURF2, NEDD4-2, atau WWP1.^{36,39}

Jalur non-kanonikal TGF-β

TGF-β mengarahkan beberapa efek biologis dalam jalur non-kanonikalnya dengan cara menginduksi beberapa jalur pensinyalan melalui aktivasi SMAD jalur TGF-β independen.³² Aktivasi pensinyalan TGF-β non-kanonik dimulai dengan pengikatan TGF-β terhadap reseptornya yang menstimulasi berbagai kinase, termasuk *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K)/protein kinase B (PKB/AKT), *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *nuclear factor κβ* (NF-κβ), *Ras homolog* (Rho), *TGF-β1 activated kinase 1* (TAK1), *tumor necrosis factor receptor-associated factor 4* dan *6* (TRAF4, TRAF6), yang di antaranya terdapat fokus utama pada tiga pertama sinyal yang dilaporkan memiliki relevansi tertinggi dengan TGF-β dalam perkembangan kanker.^{35,52} SMAD terdiri dari dua domain dan sebuah daerah penghubung (*linker region*), dan kinase tersebut mampu untuk memfosforilasi daerah penghubung SMAD2/3, yang merupakan wilayah antara domain *N-terminus Mad-homology 1* (MH1) dan *C-terminus MH2* dari protein SMAD.⁴³

Pensinyalan yang didasarkan pada fosforilasi wilayah penghubung didefinisikan sebagai pensinyalan non-kanonikal atau independen SMAD⁴⁵ (Gambar 4).

Interaksi antara pensinyalan WNT dengan TGF-β pada kanker paru

Studi tentang jalur pensinyalan dan jaringan yang memodulasi interaksinya (Tabel 1) masih terus dilakukan dalam mengembangkan dan menyajikan karakteristik *Cancer Stem Cell* (CSC) untuk mendapatkan perancangan regimen pengobatan yang efektif. Hal tersebut dikaitkan dengan adanya perubahan dinamis pada tingkat penanda permukaan sel CSC,⁵³ serta adanya perubahan genetik yang berbeda-beda dari onkogen/penekan tumor yang mencirikan variasi fenotip sel penyebar tumor paru sehingga mempersulit efektivitas dalam penghambatan CSC³⁴ yang berkontribusi dalam kekambuhan tumor, penyebaran sel kanker, serta perkembangan resistensi terhadap kemoterapi atau terapi radiasi.^{42,54} Di antara jalur pensinyalan yang diketahui, interaksi silang antara pensinyalan WNT dan TGF-β dilaporkan terjadi di berbagai tingkatan dan telah disorot sebagai pemain penting dalam proses pembentukan dan pemeliharaan CSC serta pengembangan EMT.³⁴

Lebih dari 80% kasus kanker paru terjadi pada orang yang merokok, namun sekitar 10–25% kasus kanker paru juga terjadi pada orang yang tidak pernah merokok.⁵⁵ Hal tersebut menunjukkan kompleksnya kanker paru yang bukan hanya bersumber dari faktor genetik, namun juga adanya interaksi dengan faktor lingkungan, termasuk komponen asap rokok yang dapat mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan seluler dan meningkatkan anti-apoptosis serta proliferasi sel.^{56,57} Seperti yang dilaporkan oleh Xi *et al.* (2013) bahwa pemaparan kondensat asap rokok (KAR) secara signifikan dapat menekan miR-487b

Tabel 1 Interaksi Silang antara Pensinyalan WNT dan TGF-β pada Kanker Paru, Baik Secara Langsung pada Kompleks Transkripsi atau dengan Keterlibatan Suatu Mediator Penting

No.	Model Pengujian	Interaksi	Sumber
1.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> Calu-6, H841, H358, dan spesimen sel kanker paru primer, serta pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	TGFB1 dan TCF1 memediasi penekanan miR-487b yang diinduksi oleh kondensat asap rokok, mengarah pada peningkatan fenotipe <i>stemness</i> dari kanker paru (<i>cancer stem cell, CSC</i>).	(58)
2.	Secara <i>in vitro</i> dengan beberapa sel <i>line</i> kanker paru dan pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	Supresor tumor kanker paru, GATA4, meningkatkan regulasi beberapa miRNA yang menargetkan mRNA TGFB2 dan menyebabkan penurunan regulasi WNT7B yang akhirnya memicu penuaan sel.	(59)
3.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> 95D dan dengan analisis database <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (KEGG).	Penghambatan miR-125b menginduksi apoptosis dan <i>G1/S phase arrest</i> serta menurunkan kemampuan invasif tumor secara <i>in vitro</i> , melalui perannya dalam meregulasi interaksi jalur WNT dan TGF-β yang diprediksikan dengan database KEGG.	(62)
4.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> A549 dan pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	<i>Secreted frizzled-related protein 1</i> (sFRP1) ditemukan menghambat EMT (transisi epitelial-mesenkimal) yang diinduksi TGF-β1 dan metastasis tumor melalui penghambatan jalur WNT.	(64)
5.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> A549 dan SK-Lu1.	miRNA-1827 menargetkan komponen jalur WNT/PCP serta menginhibisi jalur TGF-β dan TβRII (SMAD 2/3) dalam penghambatan EMT.	(66)
6.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> A549, H1299, dan HEK-293T, dan pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	Rendahnya ekspresi miR-3127-5p terbukti mendukung EMT yang diinduksi TGF-β melalui aktivasi jalur pensinyalan WNT/FZD4/β-catenin.	(68)
7.	Secara <i>in vitro</i> dengan beberapa sel <i>line</i> kanker paru dan pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	Peningkatan regulasi miR-128-3p menginduksi pemrograman CSC dan EMT melalui penghambatan terhadap inhibitor pensinyalan WNT/β-catenin dan TGF-β.	(42)
8.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> RWGT2, MDA-MB-231, HS5, dan pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	TCF dan SBE memediasi interaksi silang antara pensinyalan WNT dan TGF-β dalam meregulasi Gli2 dan PTHrP yang mengarah pada metastasis tulang kanker paru KPBSK karsinoma dan kanker payudara.	(71)
9.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> A549, H1299, H23, dan pemodelan <i>in vivo</i> dengan tikus.	CuB menghambat migrasi dalam model EMT yang diinduksi TGF-β melalui penghambatan jalur WNT/β-catenin.	(72)
10.	Secara <i>in vitro</i> dengan sel <i>line</i> A549.	CX-4945 menghambat peralihan cadherin yang diinduksi TGF-β serta menghambat aktivasi dari molekul pensinyalan utama yang terlibat dalam regulasi keseluruhan proses EMT, termasuk pada jalur SMAD (SMAD2/3, TWIST, dan SNAIL), non-SMAD (Akt dan ERK), dan WNT (β-catenin).	(73)

dan menjadi penyebab dari ekspresi berlebih dari gen targetnya (SUZ12, BMI1, WNT5A, MYC, dan KRAS) yang mengarah pada peningkatan proliferasi, migrasi, invasi, dan neoangiogenesis, serta penurunan tingkat kelangsungan hidup.⁵⁸ Tingkat ekspresi miR-487b diregulasi oleh interaksi pensinyalan TGF- β dan WNT, dengan TGFB1 dan TCF1 memediasi penekanan miR-487b yang diinduksi oleh KAR, mengarah pada peningkatan fenotipe *stemness* dari kanker paru (CSC).⁵⁸ Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Gao *et al.* (2019) menunjukkan bahwa pensinyalan WNT dan TGF- β secara negatif diregulasi oleh GATA4, yaitu suatu penekan tumor esensial yang menginduksi penuaan sel-sel kanker paru, namun sering ditemukan inaktif dalam sel kanker paru.⁵⁹ Ekspresi ektopik GATA4 mengarah pada peningkatan regulasi miRNA (miRNA-32, miRNA-301b, miR-320a, dan miR-590) yang mengakibatkan penurunan level mRNA TGFB2. Pembungkaman (*knockdown*) TGFB1, TGFB2, SMAD2, atau SMAD4 mengakibatkan penurunan regulasi WNT7B dan akhirnya memicu penuaan sel-sel kanker paru.⁵⁹ Kanker paru dengan GATA4 inaktif cenderung memiliki sumbu pensinyalan TGF- β -TGFBRs-SMAD-WNT yang hiperaktif, menunjukkan adanya potensi terapi baru dari suatu inhibitor sumbu pensinyalan tersebut untuk pasien kanker paru yang kekurangan GATA4.⁵⁹

MicroRNA (miRNA) merupakan sebuah molekul RNA non-koding berukuran kecil (21–25 nukleotida) yang berikatan dengan 3'-*untranslated region* (3'-UTR) dari mRNA target, dan menjadi penyebab terhambatnya proses translasi *messenger RNA* (mRNA) dan degradasi mRNA sehingga berimplikasi pada regulasi ekspresi gen transkripsi dan pascatranskripsi.^{3,60} Suatu miRNA tunggal diketahui dapat menargetkan beberapa RNA *messenger*, sehingga disregulasi miRNA dapat memengaruhi banyak jalur pensinyalan

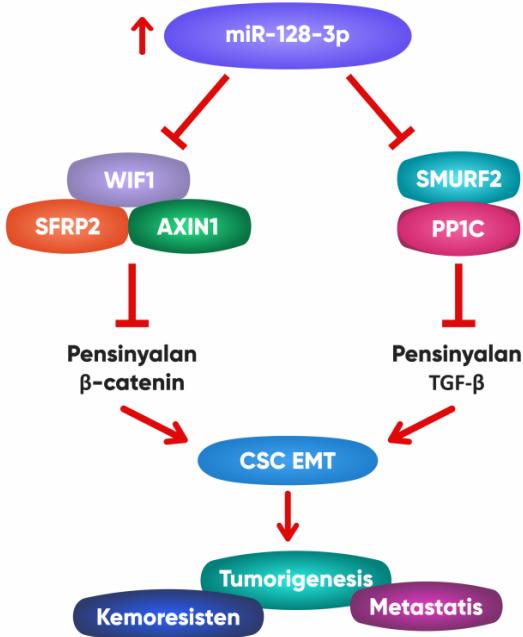
yang sering dikaitkan dengan *onset* dan perkembangan penyakit atau keganasan, termasuk mengarah pada pembentukan kanker paru dan metastasisnya.^{3,6} Pentingnya miRNA sebagai mediator pluripotensi, diferensiasi, dan keganasan sel punca, termasuk dalam pembentukan CSC,⁵⁸ ditunjukkan dari banyaknya hasil penelitian yang menyoroti peran miRNA, khususnya yang terlibat pada karsinogenesis paru. Wang *et al.* (2015) telah menunjukkan peran miRNA lainnya, miR-125b, yang secara signifikan teregulasi tinggi pada sel kanker paru, dengan penghambatan terhadap miR-125b sebagai onkogen pada kanker paru menginduksi apoptosis dan *G1/S phase arrest* serta menurunkan kemampuan invasif tumor.⁶² Yang menarik adalah, melalui *database Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), diprediksikan bahwa miR-125b terlibat dalam regulasi beberapa jalur terkait karsinogenesis, termasuk jalur pensinyalan WNT dan TGF- β dengan skor hubungan tertinggi untuk miR-125b, dengan DVL3 dan ACVR1C (terlibat dalam aktivasi reseptor TGF- β dan transmisi sinyal ke SMAD2) diduga merupakan gen target miR-125b.⁶²

Interaksi silang pensinyalan WNT dan TGF- β selanjutnya mengarah pada transisi epitelial-mesenkimal (EMT), dengan EMT dan transformasi sel merupakan peristiwa paling awal dalam perkembangan tumor solid pada berbagai sel kanker dan terbukti mendasari proses perkembangan agresivitas kanker jinak menjadi ganas.^{61,63} EMT pada kasus KPBSK telah dihubungkan dengan proses pembentukan CSC, resistensi obat,^{42,50} metastasis,⁶⁴ dan prognosis yang buruk.^{36,65} Pengambilalihan fenotip mesenkimal oleh sel-sel epitel tumor yang terjadi selama EMT berkaitan dengan perubahan morfologi sel, peningkatan kapasitas untuk migrasi, invasi ke stroma sekitarnya, dan metastasis melalui aliran darah dan sistem limfatik.^{63,65} Di antara beberapa sitokin yang terlibat dalam EMT,

TGF- β 1 merupakan faktor paling kuat yang dapat menginduksi EMT secara independen dalam berbagai jenis sel kanker, khususnya dalam stadium lanjut kanker manusia.⁶⁴ Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh Ren *et al.* (2013), suatu inhibitor endogen jalur WNT, *secreted frizzled-related protein 1* (sFRP1), ditemukan teregulasi rendah pada kanker paru dan menunjukkan penghambatan terhadap EMT yang diinduksi TGF- β 1 dan metastasis tumor pada sel *line* kanker paru manusia baik secara *in vitro* maupun *in vivo* melalui penghambatan jalur WNT.⁶⁴ Pemulihan ekspresi sFRP1 menunjukkan aktivitas antitumor yang dapat membalikkan EMT, sehingga sFRP1 mungkin menjadi bimarker potensial untuk pengobatan kanker paru, khususnya KPBSK.⁶⁴

Adapun peran miRNA dalam EMT dan metastasis yang berkaitan dengan interaksi silang pensinyalan WNT dan TGF- β pada kanker paru telah banyak diidentifikasi, seperti yang ditemukan oleh Ho *et al.* (2014), bahwa terdapat beberapa miRNA yang terkait dengan migrasi tumor, invasi, serta sifat angiogenik pada kanker paru manusia, seperti miRNA-1827 yang ditemukan teregulasi rendah dalam kanker paru. miRNA-1827 diduga berperan sebagai inhibitor endogen untuk TGF- β dan T β RII,⁶⁶ serta berperan juga dalam menghambat beberapa komponen jalur WNT/PCP (WNT5A, FZD3, Daam1, DVL3) yang memfasilitasi terjadinya EMT melalui ekspresi gen terkait polaritas dan motilitas sel.^{42,66,67} Sementara itu, peran miR selanjutnya dalam EMT yang berkaitan dengan interaksi pensinyalan WNT dan TGF- β juga terdapat pada miR-3127-5p⁶⁸ dan miR-128-3p,⁴² dengan keduanya terlibat sebagai miRNA supresor tumor pada KPBSK dan ekspresi mereka berkaitan dengan kekambuhan tumor dan prognosis yang buruk.^{42,68} Hasil penelitian menunjukkan rendahnya ekspresi miR-3127-5p terbukti mendukung EMT yang diinduksi TGF- β melalui aktivasi jalur pensinyalan

WNT/FZD4/ β -catenin, mengarah pada potensi miR-3127-5p sebagai target terapi untuk metastasis KPBSK.⁶⁸ Sementara itu, miR-128-3p telah teridentifikasi lebih baik pada beberapa hasil penelitian, dengan miR-128-3p merupakan salah satu mikroRNA yang paling sering teregulasi pada kanker paru.⁴² Karakteristik miR-128-3p yang sudah diketahui lebih baik, menunjukkan peran yang berbeda-beda di setiap stadium kanker paru, mengarah pada fungsi miR-128-3p sebagai: i) *biomarker* baru untuk kanker paru stadium awal (stadium I dan II),⁶⁹ ii) supresor tumor yang berkaitan dengan angiogenesis dan limfanogensis,⁶ serta iii) penginduksi CSC dan EMT pada stadium akhir.⁴² Zhang *et al.* (2017) menunjukkan miR-128-3p secara signifikan teregulasi tinggi pada KPBSK stadium akhir,^{42,70} dengan peningkatan regulasi miR-128-3p diketahui menginduksi pemrograman CSC dan EMT⁴² (Gambar 5) melalui: i) penurunan peran Axin1, SFRP2, WIF1, SMURF2 dan PP1c sebagai inhibitor pensinyalan WNT/ β -catenin dan TGF- β , ii) menyebabkan overaktivasi pensinyalan mereka melalui akumulasi dominan β -catenin dan SMAD2/3 di nukleus, dan berakhir pada iii) rendahnya tingkat E-chaderin serta tingginya tingkat Vimentin dan CD34. Yang penting, antagonisme miR-128-3p berpotensi membalikkan metastasis dan kemoresisten sel KPBSK yang sangat ganas, melalui reaktivasi pensinyalan WNT/ β -catenin dan TGF- β sehingga menunjukkan miR-128-3p sebagai target terapi potensial untuk KPBSK.⁴² Sementara terkait dengan metastasis tumor, Johnson *et al.* (2014) melaporkan interaksi pensinyalan WNT dan TGF- β ditemukan berkaitan dengan *parathyroid hormone-related protein* (PTHRP) yang merupakan regulator penting dalam destruksi tulang akibat metastasis tulang dari kanker payudara dan paru.⁷¹ TGF- β merangsang produksi PTHRP sebagian melalui faktor transkripsi Gli2, sementara regulasi Gli2 dan PTHRP



Gambar 5 Overaktivasi Pensinyalan WNT/β-catenin dan TGF-β oleh miR-128-3p Meregulasi Metastasis dan Kemoresistensi pada Sel KPBSK⁴²

mengalami peningkatan akibat dari aktivasi pensinyalan WNT yang bergantung pada β-catenin/WNT3a dalam sel kanker osteolitik, dan interaksi ini dimediasi melalui TCF dan SBE dalam promotor Gli2. Hal ini menunjukkan pentingnya terapi potensial yang menargetkan jalur pensinyalan WNT itu sendiri maupun menargetkan interaksi WNT dan TGF-β dalam mengembangkan terapi potensial untuk menghambat respons metastasis tulang.⁷¹

Shukla *et al.* (2016) telah melaporkan temuan mereka mengenai potensi terapi baru untuk kanker paru dengan mekanisme yang diketahui menargetkan pensinyalan WNT dan TGF-β; terjadi penghambatan migrasi dalam model EMT yang diinduksi jalur TGF-β oleh potensi anti-metastasis dan anti-angiogenik dari cucurbitacin B (CuB) pada KPBSK melalui kemampuan penghambatan terhadap pensinyalan WNT/β-catenin.⁷² Hal ini selanjutnya mengarah pada penghambatan

metastasis, angiogenesis, serta *stemness* dalam KPBSK.⁷² Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kim dan Hwan Kim (2013), dilaporkan bahwa potensi terapi untuk penyakit terkait EMT dan metastasis kanker berhasil ditunjukkan oleh inhibitor CK2, CX-4945, dengan menargetkan pensinyalan WNT dan TGF-β yang mengarah pada penghambatan migrasi dan invasi pada sel kanker paru A549.⁷³ CX-4945 menghambat peralihan cadherin yang diinduksi oleh TGF-β serta menghambat aktivasi dari molekul pensinyalan utama yang terlibat dalam regulasi keseluruhan proses EMT, termasuk pada jalur SMAD (SMAD2/3, TWIST, dan SNAIL), non-SMAD (Akt dan ERK), dan WNT (β-catenin).⁷³ Peralihan cadherin terjadi berdasarkan karakteristik khusus EMT yang mengalami penurunan penanda epitel E-cadherin, namun mengalami peningkatan pada penanda mesenkimal seperti vimentin, fibronektin, dan N-cadherin yang teregulasi tinggi.^{36,61}

Simpulan

Secara menyeluruh, interaksi silang antara pensinyalan WNT dan TGF- β meregulasi pemrograman CSC dan EMT selama tumorigenesis dan prognosis kanker paru yang berdampak terhadap metastasis, peningkatan agresivitas tumor, serta kemoresistensi. Interaksi silang pensinyalan WNT dan TGF- β pada kanker paru dapat terjadi secara langsung pada tingkat kompleks transkripsi mereka ataupun dengan melibatkan suatu mediator penting, yang sebagian besarnya diperankan oleh mikroRNA. Diketahui terdapat beberapa mikroRNA yang telah teridentifikasi baik pada kanker paru dalam meregulasi interaksi silang antara pensinyalan WNT dan TGF- β , seperti miR-1827, miR-3127-5p, dan miR-128-3p. Pembahasan ini mengimplikasikan peluang yang tinggi pada penekanan kedua jalur WNT dan TGF- β secara simultan dan efektif dengan menargetkan suatu molekul yang berpotensi untuk kanker paru.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Padjadjaran dan Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat dan Inovasi Universitas Padjadjaran yang telah memberikan pendanaan untuk menyusun artikel *review* ini melalui Hibah Internal Unpad-Percepatan Lektor Kepala tahun 2020. Selain itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Unggulan Inovasi Pelayanan Kefarmasian Universitas Padjadjaran atas dukungan terhadap penulisan artikel ini.

Pendanaan

Penulisan artikel *review* ini didanai oleh Hibah Internal Universitas Padjadjaran-Percepatan Lektor Kepala tahun 2020 yang diberikan kepada Riezki Amalia dengan nomor kontrak 1427/UN6.3.1/LT/2020.

Konflik Kepentingan

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hari kanker sedunia 2019 [Diakses pada: 1 April 2020]. Tersedia dari: <https://www.depkes.go.id/article/view/1902010003/hari-kanker-sedunia-2019.html>
2. World Health Organization. Press release latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018 [Diakses pada: 1 April 2020]. Tersedia dari: <https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf>
3. Wu KL, Tsai YM, Lien CT, Kuo PL, Hung JY. The roles of microRNA in lung cancer. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7):1–25. doi: 10.3390/ijms20071611
4. Zhang Z, Zhou Y, Qian H, Shao G, Lu X, Chen Q, et al. Stemness and inducing differentiation of small cell lung cancer NCI-H446 cells. *Cell Death Dis.* 2013;4(5): 1–13. doi: 10.1038/cddis.2013.152
5. Chanvorachote P, Chamni S, Ninsontia C, Phiboonchaiyanan PP. Potential anti-metastasis natural compounds for lung cancer. *Anticancer Res.* 2016;36(11): 5707–17. doi: 10.21873/anticancerres.11154
6. Hu J, Cheng Y, Li Y, Jin Z, Pan Y, Liu G, et al. MicroRNA-128 plays a critical role in human non-small cell lung cancer tumourigenesis, angiogenesis and lymphangiogenesis by directly targeting vascular endothelial growth factor-C. *Eur J Cancer.* 2014;50(13):2336–50. doi: 10.1016/j.ejca.2014.06.005
7. World Health Organization. Cancer

- [Diakses pada: 1 April 2020]. Tersedia dari: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
8. Amalia R, Abdelaziz M, Puteri MU, Hwang J, Anwar F, Watanabe Y, et al. TMEPAI/PMEPA1 inhibits Wnt signaling by regulating β -catenin stability and nuclear accumulation in triple negative breast cancer cells. *Cell Signal.* 2019;59 (March):2433. doi: 10.1016/j.cellsig.2019.03.016
 9. Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, Chatila WK, Luna A, La KC, et al. Oncogenic signaling pathways in the cancer genome atlas. *Cell.* 2018;173(2): 321–37.e10. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.035
 10. Lu T, Yang X, Huang Y, Zhao M, Li M, Ma K, et al. Trends in the incidence, treatment, and survival of patients with lung cancer in the last four decades. *Cancer Manag Res.* 2019;11:943–53. doi: 10.2147/CMAR.S187317
 11. Teng Y, Wang X, Wang Y, Ma D. Wnt/ β -catenin signaling regulates cancer stem cells in lung cancer A549 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;392(3):373–9. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.01.028
 12. Zhang J, Tian X-J, Xing J. Signal transduction pathways of EMT induced by TGF- β , SHH, and WNT and their crosstalks. *J Clin Med.* 2016;5(4):41. doi: 10.3390/jcm5040041
 13. Syed V. TGF- β signaling in cancer. *J Cell Biochem.* 2016;117(6):1279–87. doi: 10.1002/jcb.25496
 14. Zhou B, Liu Y, Kahn M, Ann DK, Han A, Wang H, et al. Interactions between β -catenin and transforming growth factor- β signaling pathways mediate epithelial- mesenchymal transition and are dependent on the transcriptional co-activator cAMP-response element-binding protein (CREB)-binding protein (CBP). *J Biol Chem.* 2012;287(10):7026–38. doi: 10.1074/jbc.M111.276311
 15. Minoo P, Li C. Cross-talk between transforming growth factor- β and Wingless/Int pathways in lung development and disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010; 42(6):809–12. doi: 10.1016/j.biocel.2010.02.011
 16. Janda CY, Waghray D, Levin AM, Thomas C, Garcia KC. Structural basis of Wnt recognition by frizzled. *Science.* 2012;336(6090):59–64. doi: 10.1126/science.1222879
 17. Rios-Esteves J, Haugen B, Resh MD. Identification of key residues and regions important for porcupine-mediated Wnt acylation. *J Biol Chem.* 2014;289(24): 17009–19. doi: 10.1074/jbc.M114.561209
 18. Rudloff S, Messerschmidt D, Kemler R. Wnt signaling in development, vol. 2, handbook of cell signaling, 2/e. 2010. doi: 10.1016/B978-0-12-374145-5.00228-X
 19. Duchartre Y, Kim YM, Shrestha S, Dennerlein J, et al. The Wnt signaling pathway in cancer. *Physiol Behav.* 2018; 176(1):139–48
 20. Niehrs C, Acebron SP. Mitotic and mitogenic Wnt signalling. *EMBO J.* 2012; 31(12):2705–13. doi: 10.1038/emboj.2012.12
 21. Rapp J, Jaromi L, Kvell K, Miskei G, Pongracz JE. WNT signaling—lung cancer is no exception. *Respir Res.* 2017;18 (1):1–16. doi: 10.1186/s12931-017-0650-6
 22. Kinoshita T, Goto T. Molecular mechanisms of pulmonary fibrogenesis and its progression to lung cancer: A review. *Int J Mol Sci.* 2019;20(6):1461. doi: 10.3390/ijms20061461
 23. Stewart DJ. Wnt signaling pathway in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(1):1–11. doi: 10.1093/jnci/djt356
 24. Ng L, Kaur P, Bunnag N, Suresh J, Sung I, Tan Q, et al. WNT signaling in disease. *Cells.* 2019;8(8):826. doi: 10.3390/cells8

- 080826
25. Nusse R, Fuerer C, Ching W, Harnish K, Logan C, Zeng A, et al. Wnt signaling and stem cell control. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2008;73:59–66. doi: 10.1101/sqb.2008.73.035
 26. Nusse R. Human wnt genes [Diakses pada: 1 April 2020]. Tersedia dari: <http://web.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/human>
 27. Nusse R, Clevers H. Wnt/β-catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell.* 2017;169(6): 985–99. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.016
 28. Gao C, Xiao G, Hu J. Regulation of Wnt/β-catenin signaling by posttranslational modifications. *Cell Biosci.* 2014;4(1):1–20. doi: 10.1186/2045-3701-4-13
 29. Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene.* 2017;36(11):1461–73. doi: 10.1038/onc.2016.304
 30. Baarsma HA, Königshoff M. “WNT-er is coming”: WNT signalling in chronic lung diseases. *Thorax.* 2017;72(8):746–59. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209753
 31. Clevers H, Nusse R. Wnt/β-catenin signaling and disease. *Cell.* 2012; 149(6): 1192–205. doi: 10.1016/j.cell.2012.05.012
 32. Zi Z. Molecular engineering of the TGF-β signaling pathway. *J Mol Biol.* 2019;431(15):2644–54. doi: 10.1016/j.jmb.2019.05.022
 33. Saito A, Horie M, Nagase T. TGF-β signaling in lung health and disease. *Int J Mol Sci.* 2018;19(8):2460. doi: 10.3390/ijms19082460
 34. Luo K. Signaling cross talk between TGF-β/Smad and other signaling pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(1):a022137. doi: 10.1101/cshperspect.a022137
 35. Batlle E, Massagué J. Transforming growth factor-β signaling in immunity and cancer. *Immunity.* 2019;50(4):924–40. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.024
 36. Xie F, Ling L, Van Dam H, Zhou F, Zhang L. TGF-β signaling in cancer metastasis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2018;50(1):121–32. doi: 10.1093/abbs/gmx123
 37. Pickup M, Novitskiy S, Moses HL. The roles of TGFβ in the tumour microenvironment. *Nat Rev Cancer.* 2013; 13(11):788–99. doi: 10.1038/nrc3603
 38. Saito A, Horie M, Micke P, Nagase T. The role of TGF-β signaling in lung cancer associated with idiopathic pulmonary fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3611. doi: 10.3390/ijms19113611
 39. Vander Ark A, Cao J, Li X. TGF-β receptors: In and beyond TGF-β signaling. *Cell Signal.* 2018;52(August):112–20. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.09.002
 40. Chae DK, Ban E, Yoo YS, Kim EEK, Baik JH, Song EJ. MIR-27a regulates the TGF-β signaling pathway by targeting SMAD2 and SMAD4 in lung cancer. *Mol Carcinog.* 2017;56(8):1992–8. doi: 10.1002/mc.22655
 41. Ying Z, Tian H, Li Y, Lian R, Li W, Wu S, et al. CCT6A suppresses SMAD2 and promotes prometastatic TGF-β signaling. *J Clin Invest.* 2017;127(5):1725–40. doi: 10.1172/JCI90439
 42. Cai J, Fang L, Huang Y, Li R, Xu X, Hu Z, et al. Simultaneous overactivation of Wnt/β-catenin and TGFβ signalling by miR-128-3p confers chemoresistance-associated metastasis in NSCLC. *Nat Commun.* 2017;8(May 2017):15870. doi: 10.1038/ncomms15870
 43. Chrysanthakopoulos NA, S Dareioti N. Molecular abnormalities and cellular signaling pathways alterations in lung cancer. *Med Dent Res.* 2018;1(1):1–11. doi: 10.15761/MDR.1000105
 44. Cheruku HR, Mohamedali A, Cantor DI, Tan SH, Nice EC, Baker MS. Transforming growth factor-β, MAPK and Wnt signaling interactions in colorectal cancer. *EuPA*

- Open Proteomics. 2015;8:104–15. doi: 10.1016/j.euprot.2015.06.004
45. Ahmadi A, Najafi M, Farhood B, Mortezaee K. Transforming growth factor- β signaling: Tumorigenesis and targeting for cancer therapy. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):12173–87. doi: 10.1002/jcp.27955
46. Colak S, ten Dijke P. Targeting TGF- β signaling in cancer. *Trends in Cancer*. 2017;3(1):56–71. doi: 10.1016/j.trecan.2016.11.008
47. Luo X, Ding Q, Wang M, Li Z, Mao K, Sun B, et al. In vivo disruption of TGF- β Signaling by Smad7 in airway epithelium alleviates allergic asthma but aggravates lung carcinogenesis in mouse. *PLoS One*. 2010;5(4):e10149. doi: 10.1371/journal.pone.0010149
48. Yeh HW, Lee SS, Chang CY, Lang YD, Jou YS. A new switch for TGF β in cancer. *Cancer Res*. 2019;79(15):3797–805. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2019
49. Lebrun J-J. The dual role of TGF β in human cancer: From tumor suppression to cancer metastasis. *ISRN Mol Biol*. 2012;2012:381428. doi: 10.5402/2012/381428
50. Yeh HW, Hsu EC, Lee SS, Lang YD, Lin YC, Chang CY, et al. PSPC1 mediates TGF- β 1 autocrine signalling and Smad2/3 target switching to promote EMT, stemness and metastasis. *Nat Cell Biol*. 2018;20(4):479–91. doi: 10.1038/s41556-018-0062-y
51. Lin L, Tu H Bin, Wu L, Liu M, Jiang GN. MicroRNA-21 regulates non-small cell lung cancer cell invasion and chemosensitivity through SMAD7. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(6):2152–62. doi: 10.1159/000445571
52. Papa E, Weller M, Weiss T, Ventura E, Burghardt I, Szabó E. Negative control of the HGF/c-MET pathway by TGF- β : A new look at the regulation of stemness in glioblastoma article. *Cell Death Dis*. 2017;8(12):3210. doi: 10.1038/s41419-017-0051-2
53. Phi LTH, Sari IN, Yang YG, Lee SH, Jun N, Kim KS, et al. Cancer stem cells (CSCs) in drug resistance and their therapeutic implications in cancer treatment. *Stem Cells Int*. 2018;2018:5416923. doi: 10.1155/2018/541692
54. Hirata N, Yamada S, Sekino Y, Kanda Y. Tobacco nitrosamine NNK increases ALDH-positive cells via ROS-Wnt signaling pathway in A549 human lung cancer cells. *J Toxicol Sci*. 2017;42(2):193–204. doi: 10.2131/jts.42.193
55. Ahmad A, Gadgeel SM. Lung cancer and personalized medicine: Novel therapies and clinical management, preface. *Adv Exp Med Biol*. 2016;893:v–vi.
56. Whang YM, Jo U, Sung JS, Ju HJ, Kim HK, Park KH, et al. Wnt5a is associated with cigarette smoke-related lung carcinogenesis via protein kinase C. *PLoS One*. 2013;8(1):e53012. doi: 10.1371/journal.pone.0053012
57. Wen J, Fu JH, Zhang W, Guo M. Lung carcinoma signaling pathways activated by smoking. *Chin J Cancer*. 2011;30(8):551–8. doi: 10.5732/cjc.011.10059
58. Xi S, Xu H, Shan J, Tao Y, Hong JA, Inchauste S, et al. Cigarette smoke mediates epigenetic repression of miR-487b during pulmonary carcinogenesis. *J Clin Invest*. 2013;123(3):1241–61. doi: 10.1172/JCI61271
59. Gao L, Hu Y, Tian Y, Fan Z, Wang K, Li H, et al. Lung cancer deficient in the tumor suppressor GATA4 is sensitive to TGFBR1 inhibition. *Nat Commun*. 2019;10(1):1665. doi: 10.1038/s41467-019-09295-7
60. Ong J, Timens W, Rajendran V, Algra A, Spira A, Lenburg ME, et al. Identification of transforming growth factor-beta-regulated microRNAs and

- the microRNATargetomes in primary lung fibroblasts. *PLoS One.* 2017;12(9):e0183815. doi: 10.1371/journal.pone.0183815
61. Lindsey S, Langhans SA. Crosstalk of oncogenic signaling pathways during epithelial-mesenchymal transition. *Front Oncol.* 2014;4:358. doi: 10.3389/fonc.2014.00358
62. Wang X, Zhang Y, Fu Y, Zhang J, Yin L, Pu Y, et al. MicroRNA-125b may function as an oncogene in lung cancer cells. *Mol Med Rep.* 2015;11(5):3880–7. doi: 10.3892/mmr.2014.3142
63. Puisieux A, Brabletz T, Caramel J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nat Cell Biol.* 2014;16(6):488–94. doi: 10.1038/ncb2976
64. Ren J, Wang R, Huang G, Song H, Chen Y, Chen L. SFRP1 inhibits epithelial-mesenchymal transition in A549 human lung adenocarcinoma cell line. *Cancer Biother Radiopharm.* 2013;28(7):565–71. doi: 10.1089/cbr.2012.1453
65. Xiao W, Zhong Y, Wu L, Yang D, Ye S, Zhang M. Prognostic value of microRNAs in lung cancer: A systematic review and meta analysis. *Mol Clin Oncol.* 2019;10(1):67–77. doi: 10.3892/mco.2018.1763
66. Ho CS, Yap SH, Phuah NH, In LLA, Hasima N. MicroRNAs associated with tumour migration, invasion and angiogenic properties in A549 and SK-Lu1 human lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer.* 2014;83(2):154–62. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.11.024
67. Otsuki Y, Saya H, Arima Y. Prospects for new lung cancer treatments that target EMT signaling. *Dev Dyn.* 2018;247(3):462–72. doi: 10.1002/dvdy.24596
68. Yang Y, Sun Y, Wu Y, Tang D, Ding X, Xu W, et al. Downregulation of miR-3127-5p promotes epithelial-mesenchymal transition via FZD4 regulation of Wnt/β-catenin signaling in non-small-cell lung cancer. *Mol Carcinog.* 2018;57(7):842–53. doi: 10.1002/mc.22805
69. Pan J, Zhou C, Zhao X, He J, Tian H, Shen W, et al. A two-miRNA signature (miR-33a-5p and miR-128-3p) in whole blood as potential biomarker for early diagnosis of lung cancer. *Sci Rep.* 2018;8(1):16699. doi: 10.1038/s41598-018-35139-3
70. Li M, Fu W, Wo L, Shu X, Liu F, Li C. MiR-128 and its target genes in tumorigenesis and metastasis. *Exp Cell Res.* 2013;319(20):3059–64. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.07.031
71. Johnson RW, Merkel AR, Page JM, Ruppender NS, Guelcher SA, Sterling JA. Wnt signaling induces gene expression of factors associated with bone destruction in lung and breast cancer. *Clin Exp Metastasis.* 2014;31(8):945–59. doi: 10.1007/s10585-014-9682-1
72. Shukla S, Sinha S, Khan S, Kumar S, Singh K, Mitra K, et al. Cucurbitacin B inhibits the stemness and metastatic abilities of NSCLC via downregulation of canonical Wnt/β-catenin signaling axis. *Sci Rep.* 2016;6:21860. doi: 10.1038/srep21860
73. Kim J, Hwan Kim S. CK2 inhibitor CX-4945 blocks TGF-β1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in A549 human lung adenocarcinoma cells. *PLoS One.* 2013;8(9):e74342. doi: 10.1371/journal.pone.0074342