

Perbandingan Pengekspresan Antigen Kluster Pembezaan dalam Subjenis Tumor dan Darah Periferi Pesakit Kanser Gaster

(Comparison of Cluster of Differentiation Antigens Expression in Tumor Subtypes and Peripheral Blood of Gastric Cancer Patients)

ASIF SUKRI¹, ALFIZAH HANAFIAH^{2*}, NIK RITZA KOSSAI³, MOHAMAD AZNAN SHUHAILI³, MUSTAFA MOHAMMED TAHER³ & RAJA AFFENDI RAJA ALI⁴

¹Jabatan Sains Biologi dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

²Jabatan Mikrobiologi Perubatan dan Imunologi, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, 56000 Cheras, Kuala Lumpur, Malaysia

³Jabatan Surgeri, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, 56000 Cheras, Kuala Lumpur, Malaysia

⁴Sekolah Perubatan dan Sains Kesihatan, Sunway University, Bandar Sunway, 47500 Petaling Jaya, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 30 April 2024/Diterima: 10 Julai 2024

ABSTRAK

Kanser gaster adalah salah satu kanser utama yang paling banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia. Diagnosis dan prognosis kanser gaster adalah sukar untuk dibuat dan kebanyakan pesakit didiagnos dengan kanser ini pada peringkat yang teruk. Prognosis kanser gaster adalah berlainan berdasarkan kepada subjenis kanser gaster dan jangkitan *Helicobacter pylori*. Antigen kluster pembezaan (CD) boleh digunakan sebagai biopenanda untuk diagnosis dan prognosis penyakit kronik kerana pengekspressannya yang berubah mengikut tahap penyakit. Objektif kajian ini adalah untuk membuat perbandingan pengekspresan antigen CD dalam sel darah periferi dan sel adenokarsinoma pesakit kanser gaster dan menentukan peranan CD55 dalam rembesan interleukin-8 (IL-8) oleh sel selanjara. Sampel darah periferi dan tumor telah diambil daripada pesakit kanser gaster. Sampel kemudian diproses untuk mendapatkan ampaian sel tunggal. Imunofenotip antigen CD telah dijalankan menggunakan slaid mikroatur DotScan™. Penenyapan CD55 telah dibuat menggunakan RNA pengganggu kecil (siRNA). Sembilan belas antigen CD, kebanyakan daripadanya adalah penanda untuk sel B, diekspres secara lebih tinggi dalam tumor subjenis kardia berbanding subjenis bukan kardia. CD182 dan CD125 merupakan reseptor interleukin yang penting, diekspres lebih tinggi dalam subjenis bukan kardia daripada subjenis kardia. Pengekspresan 32 antigen CD yang lebih tinggi dapat diperhatikan dalam tumor subjenis difus berbanding subjenis usus. CD29 dan CD73 diekspres dengan tinggi dalam sarkoma gastrointestinal. Perbandingan pengekspresan antigen CD menunjukkan CD11a dan CD49d diekspres sama tinggi dalam darah dan tumor. Penenyapan CD55 mengawal pengeluaran IL-8 dalam sel yang dijangkiti oleh *H. pylori* secara bergantung kepada kehadiran gen berkaitan sitotoksin (*cagA*). Kajian ini menunjukkan perbezaan pengekspresan antigen CD dalam pelbagai subjenis kanser gaster dan berpotensi dijadikan biopenanda untuk diagnosis kanser gaster secara tidak invasif.

Kata kunci: CD55; *Helicobacter pylori*; kanser gaster; kluster pembezaan

ABSTRACT

Gastric cancer is one of the major cancers that cause the most deaths worldwide. Diagnosis and prognosis of gastric cancer are difficult to make, and most patients are diagnosed with this cancer at an advanced stage. The prognosis of gastric cancer varies depending on the subtype of gastric cancer and the infection of *Helicobacter pylori*. Cluster of differentiation (CD) antigens can be used as biomarkers for the diagnosis and prognosis of chronic diseases because their expression changes according to the disease stage. The objective of this study was to compare the expression of CD antigens in peripheral blood cells and adenocarcinoma cells of gastric cancer patients and to determine the role of CD55 in the secretion of interleukin-8 (IL-8) in gastric epithelial cells. Peripheral blood and tumor samples were collected from gastric cancer patients. The samples were then processed to obtain single-cell suspensions. Immunophenotyping of CD antigens was performed using DotScan™ microarray slides. CD55 silencing was performed using small interfering RNA (siRNA). Nineteen CD antigens, most of which are markers for B cells, were expressed higher in cardia than non-cardia subtypes. CD182 and CD125, important interleukin receptors, were expressed higher in non-cardia than cardia subtypes. Higher expression of 32 CD antigens was observed in diffuse subtypes compared to intestinal subtypes. CD29 and CD73 were highly expressed in gastrointestinal sarcoma. Comparison of CD antigen expression showed CD11a and CD49d expressed equally high in blood and tumor. CD55 knockdown regulated IL-8

secretion in cells infected by *H. pylori* in a cytotoxin-associated gene (*cagA*)-dependent manner. This study demonstrates differences in CD antigen expression in various subtypes of gastric cancer and the potential for them to be used as non-invasive biomarkers for gastric cancer diagnosis.

Keywords: CD55; cluster of differentiation; gastric cancer; *Helicobacter pylori*

PENGENALAN

Kanser gaster merupakan kanser ke-enam paling kerap didiagnos di dunia dan penyebab ke-empat kematian yang disebabkan oleh kanser dengan kebanyakan kes kanser gaster dikesan di negara sedang membangun (Sung et al. 2021). Teknik mengesan kanser gaster termasuk teknik invasif seperti endoskopi gastrousus dan pengambilan biopsi tisu yang disyaki tumor gaster bagi tujuan pemeriksaan histopatologi. Sehingga kini, rawatan kanser gaster yang popular adalah operasi dan kemoterapi. Faktor penyebab kanser gaster adalah diet, genetik perumah, jangkitan *Helicobacter pylori*, status sosio-ekonomi, kumpulan etnik dan kepelbagaian mikrobiota perut (Thrift, Wenker & El-Serag 2023). Lebih 90% kanser gaster adalah adenokarsinoma (Rawla & Barsouk 2019). Adenokarsinoma gaster boleh dibahagikan kepada beberapa subjenis berdasarkan pemeriksaan patologi dan lokasi tumor. Melalui pemeriksaan patologi, adenokarsinoma gaster boleh dikategorikan sebagai jenis 'intestinal' atau 'diffuse' manakala melalui pengelasan berdasarkan lokasi anatomi, adenokarsinoma gaster boleh dikelaskan sebagai jenis kardia ataupun bukan kardia (Thrift, Wenker & El-Serag 2023). Kesemua subjenis adenokarsinoma gaster tersebut berbeza bagi faktor etiologi patogenesis. Jangkitan *H. pylori* apabila tidak dirawat akan mempunyai kaitan yang kuat dengan patogenesis kanser gaster, selain turut menyumbang kepada gastritis, ulser peptik dan ulser bukan peptik (Usui et al. 2023). Pengekspresan protein CagA telah ditunjukkan penting dalam perkaitan dengan kanser gaster kerana protein tersebut merupakan protein onkogen yang terlibat dalam gangguan isyarat sel normal dan keradangan dalam perut yang disebabkan oleh rembesan sitokin IL-8 (Takahashi-Kanemitsu et al. 2020).

Oleh kerana kanser gaster selalunya dikesan pada peringkat teruk, saringan awal kanser gaster adalah digalakkan. Oleh sebab itu, penggunaan penanda biologi yang mampu mengesan kanser gaster pada peringkat awal adalah penting. Antara contoh makromolekul yang berpotensi sebagai penanda biologi kanser termasuk gen tertentu organisma seperti onkogen, mikroRNA dan protein tertentu. Antigen kluster pembezaan (CD) merupakan antigen protein yang diekspres pada kebanyakan sel dan sehingga kini, terdapat 417 antigen CD yang telah dikelaskan (Kužilková et al. 2022). Antigen CD adalah penanda penting dalam pengelasan jenis sel seperti sel imun dan sel yang sedang dalam proses pembezaan (Tian et al. 2022). Fungsi antigen CD termasuk sebagai perantara pelekatan sel dengan sel yang lain, perhubungan sel dan perantara isyarat sel. Antigen CD adalah penting dalam

menentukan perubahan status penyakit (Zhou et al. 2010) dan mempunyai potensi tinggi sebagai penanda biologi penyakit. Pemprofilan antigen CD menggunakan mikroatur antibodi DotScan™ dapat memprofil lebih 100 antigen CD dalam satu masa (Belov et al. 2001). Sehingga kini, slaid DotScan™ telah digunakan dalam memprofil antigen CD penyakit seperti leukemia, kanser kolon, jangkitan HIV dan jangkitan Hepatitis C dalam pemindahan hati (Belov et al. 2001; Rahman et al. 2015; Wu et al. 2007; Zhou et al. 2010). Kajian lepas telah menunjukkan pengekspresan antigen CD yang mempunyai kepentingan dalam patogenesis kanser gaster (Hanafiah et al. 2023; Sukri et al. 2022). Namun kajian tersebut tidak membuat perbandingan pengekspresan antigen CD daripada tisu tumor dan darah periferi pesakit. Perbandingan ini adalah penting untuk pembangunan teknik diagnosis kanser gaster yang tidak invasif. Objektif kajian ini adalah untuk membuat perbandingan pengekspresan antigen CD dalam sel darah periferi dan sel adenokarsinoma pesakit kanser gaster dan menentukan peranan CD55 dalam rembesan IL-8 oleh sel selanjut.

BAHAN DAN KAEDAH

PENGUMPULAN SAMPEL KANSER GASTER

Pengumpulan dan pemprosesan sampel kanser gaster telah diterangkan dalam kajian yang lepas (Hanafiah et al. 2023; Sukri et al. 2016). Secara ringkasnya, sampel kanser gaster iaitu tisu adenokarsinoma yang diperolehi daripada pembedahan (n=6) dan sampel darah periferi daripada pesakit kanser gaster (n=4) telah diambil untuk dimasukkan ke dalam kajian ini.

IMUNOFENOTIP SEL

Imunofenotip sel untuk menentukan pengekspresan antigen CD menggunakan slaid DotScan™ (MedSaic Pty Ltd., Australia) telah dijalankan berdasarkan kajian terdahulu (Hanafiah et al. 2023; Sukri et al. 2016). Tahap pengekspresan antigen CD telah dibahagikan kepada tiga berdasarkan kepada ketumpatan pengikatan sel kepada antibodi CD. Pengekspresan adalah rendah apabila ketumpatan pengikatan sel kurang 20, sederhana apabila pengikatan sel ber julat antara 20-50 dan tinggi apabila ketumpatan pengikatan sel melebihi 50. Analisis data telah dilakukan berdasarkan kepada perubahan lipatan antigen CD dalam kanser gaster dan tisu normal atau pesakit bukan kanser gaster.

KULTUR SEL SELANJAR AGS

Pengkulturan sel selanjara kanser gaster iaitu AGS telah dijalankan dengan menggunakan medium sel RPMI 1640 (Gibco, USA) yang ditambah dengan 10% serum fetus lembu (Gibco) dan 1% antibiotik penisilin dan streptomisin (Gibco). Sel tersebut dieram pada suhu 37 °C dan 5% CO₂ sehingga pertumbuhan sel mencapai 90% konfluen.

KULTUR *Helicobacter pylori*

Kultur *Helicobacter pylori* dalam ampaian telah dilakukan seperti dalam kajian lepas (Sukri et al. 2022). Strain *H. pylori* yang digunakan dalam uji kaji ini adalah A783, C507, J99, ATCC 43526, HP644 dan C90. Kesemua strain bakteria ini telah dicirikan genotip *cagA* dalam kajian lepas menggunakan kaedah tindak balas berantai polimerase (PCR) (Sukri et al. 2022). Strain A783 merupakan strain yang tidak mempunyai *cagA* dalam genom manakala strain yang lain mempunyai *cagA*.

PENYENYAPAN ANTIGEN CD55

Penyenyapan antigen CD dilakukan dengan menggunakan kaedah daripada pembekal (Life Technologies, USA). Sel selanjara AGS dikultur di dalam kelalang T25. Kemudian, kepekatan sel AGS dihitung dan kepekatan dipiawaiakan kepada 1×10^5 sel/mL. Sel AGS kemudian dikultur di dalam plat telaga-24. Setiap telaga dimasukkan sel AGS pada kepekatan 1×10^5 sel/mL dan dikultur dengan media RPMI 1640 tanpa antibiotik dan serum. Selepas 24 jam, medium diaspirat dan diganti dengan medium RPMI 1640 baharu. Sel dipastikan mempunyai konfluensi 60-80%. siRNA antigen-antigen CD kemudian dibancuh dalam air bebas RNase dan kepekatan ditetapkan pada 10 µM/µL. Kemudian, 3 µL reagen Lipofectamine RNAiMAX dicairkan dalam 50 µL medium Opti-MEM (Gibco) manakala 1 µL siRNA dicairkan dalam 50 µL medium Opti-MEM. Selepas itu, cairan Lipofectamine RNAiMAX dan cairan siRNA dicampur bersama pada nisbah 1:1 dan dieram selama 5 minit pada suhu bilik. Campuran 50 µL siRNA dan Lipofectamine dimasukkan ke dalam setiap telaga yang mengandungi sel AGS. Sel yang ditransfeksi dieram selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan karbon dioksida 5%. Penjujukan siRNA CD55 yang digunakan dalam uji kaji ini adalah GGCAGUCAUUGGUCAGAUAtt (bebenang pengekodan) dan UAUCUGACCAUUGACUGCCct (bebenang antipengekodan). Transkripsi songsang tindak balas berantai polimerase telah digunakan untuk menentukan sama ada transfeksi berjaya atau tidak.

ASAI SITOKIN IL-8

Asai sitokin bagi medium daripada sel yang dikultur bersama strain *H. pylori* menggunakan prosedur asai

ELISA yang diterangkan oleh pembekal (Elabscience, USA). Sampel piawaian kawalan disediakan dengan mencairkan larutan pekat 2000 pg/mL masing-masing kepada 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 dan 0 pg/mL. Ketumpatan optik dibaca pada 450 nm dan lengkung piawai dijana. Kepekatan sitokin IL-8 ditentukan dengan lengkung piawai berdasarkan sampel piawaian kawalan. Semua sampel diuji secara duplikat.

HASIL DAN PERBINCANGAN

TABURAN ANTIGEN CD BERDASARKAN LOKASI ANATOMI TUMOR

Sel yang diambil daripada lokasi kardia (n=2) dan bukan kardia (n=4) menunjukkan ikatan kuat terhadap CD11a, CD29, CD44, CD49d dan CD49f. Sel daripada subjenis kardia menunjukkan pengekspresan tinggi terhadap penanda sel B (CD19, CD38 dan immunoglobulin permukaan (sIg)), CD71, CD27, CD39 dan CD55. Kedua-dua sel daripada subjenis kardia dan bukan kardia menunjukkan ikatan lemah ke sederhana terhadap antibodi CD bagi penanda sel T (reseptor sel T δ/γ , α/β , CD1a-8, CD25 dan CD28), penanda sel pembunuh semula jadi (CD56 dan CD57) dan penanda sel B seperti CD20 ke CD24 (Rajah 1).

Analisis data berdasarkan perubahan lipatan menunjukkan 19 antigen CD diekspres lebih 2 lipatan dalam sel subjenis kardia berbanding sel subjenis bukan kardia. Dua belas daripada sembilan belas antigen CD yang diekspres melebihi 2 lipatan dalam sel subjenis kardia berbanding sel subjenis bukan kardia merupakan penanda sel B. Sementara itu, dalam sel subjenis bukan kardia, 2 antigen CD diekspres melebihi 2 lipatan berbanding sel subjenis kardia dan 2 antigen tersebut adalah penanda bagi interleukin iaitu CD182 (interleukin 8 reseptor beta) dan CD125 (interleukin 5 reseptor alfa).

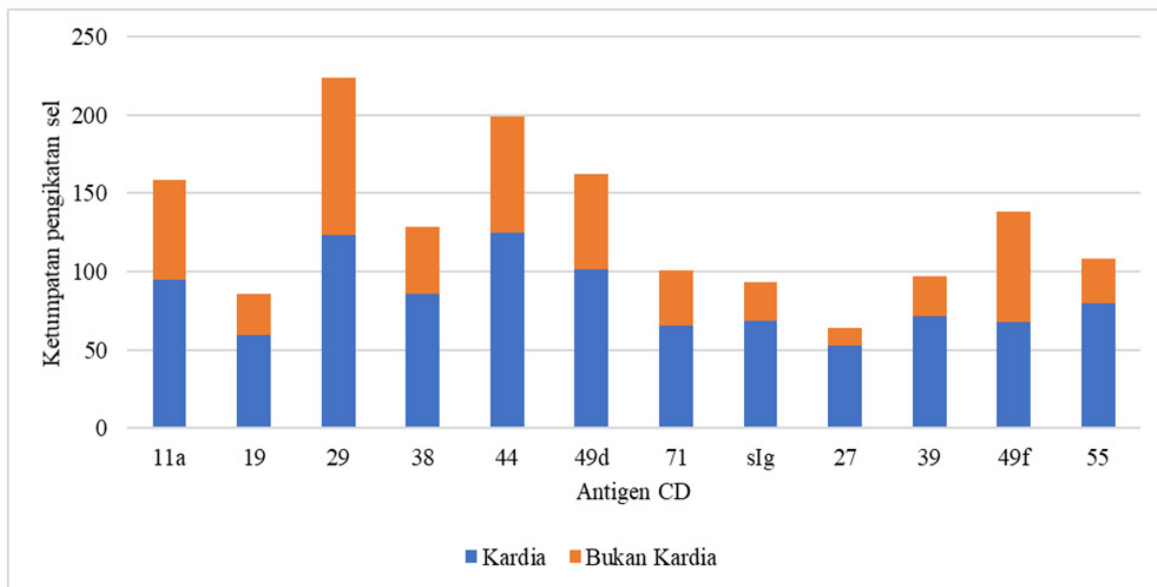
Dalam kajian ini, keputusan menunjukkan antigen CD seperti CD11a, CD29, CD44, CD49d dan CD49f yang berfungsi dalam pelekatan sel, isyarat sel, migrasi sel dan perhubungan sel diekspres secara tinggi dalam kedua-dua jenis sel yang diekstrak daripada tumor kardia dan bukan kardia. Kajian lepas menunjukkan antigen CD tersebut mempunyai kepentingan dalam pembentukan kanser gaster dan patogenesis *H. pylori* (Bertaux-Skeirik et al. 2015; Fukamachi et al. 2013; Michetti et al. 2000). Keputusan kajian ini juga menunjukkan lebih banyak antigen CD yang diekspres secara tinggi dalam kanser gaster jenis kardia berbanding jenis bukan kardia. Keadaan ini menunjukkan patogenesis kanser gaster jenis kardia adalah lebih kompleks berbanding kanser gaster jenis bukan kardia. Menariknya, dua daripada enam antigen CD yang diekspres lebih tinggi dalam kanser gaster jenis bukan kardia berbanding jenis kardia merupakan reseptor sitokin iaitu CD125 dan CD182. CD125 merupakan reseptor unit alfa

IL-5 (IL-5R α) manakala CD182 merupakan reseptor unit beta IL-8 (IL-8R β). IL-5 adalah sitokin penting dalam mengawal atur fungsi tindak balas sel eosinofil, sel B dan sel basofil. Kajian telah menunjukkan membran proksimal yang kaya dengan prolina pada IL-5R α adalah penting dalam pengawalan pengekspressan proto-onkogen dan fosforilasi protein tirosina dalam sel (Takaki et al. 1994). IL-8 adalah sitokin penting dalam proses pengaktifan dan kemotaksis sel imun. Pengekspressan IL-8R β yang tinggi pada pesakit kanser gaster telah dikaitkan dengan prognosis kanser gaster yang teruk (Wang et al. 2015). Kepekatan sitokin dalam darah dan polimorfisme sesetengah gen sitokin telah ditunjukkan sebagai faktor risiko terhadap kanser gaster (Epplein et al. 2013). Kajian lepas telah menunjukkan polimorfisme pada nukleotida tunggal gen sitokin menyumbang kepada risiko kanser gaster bukan kardia (El-Omar et al. 2003; Kim et al. 2012). Berbanding dengan kanser gaster kardia, risiko kanser gaster jenis bukan kardia dipengaruhi oleh jangkitan *H. pylori* (Kamangar et al. 2006). Turun naik rembesan sitokin dalam perut adalah penting dalam menyingkirkan *H. pylori*. Polimorfisme pada nukleotida tunggal gen sitokin mempengaruhi kadar transkripsi gen kepada salinan mRNA dan seterusnya mempengaruhi kepekatan rembesan protein sitokin yang diterjemahkan daripada salinan mRNA (El-Omar et al. 2000). Kajian yang telah dilakukan ke atas polimorfisme sitokin IL-1 β menunjukkan polimorfisme pada bes IL-1 β -511 (C kepada T) dan IL-1 β -31 (C kepada T) menyumbang kepada rembesan sitokin IL-1 β yang lebih

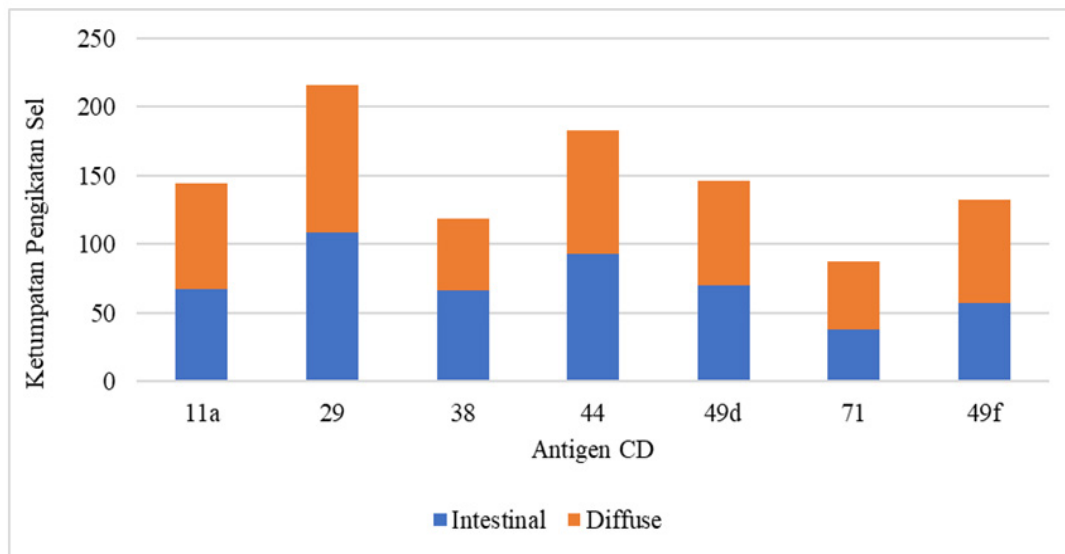
banyak dalam perut. Perkara ini menyebabkan kepada penurunan asid perut kerana IL-1 β merupakan perencat asid perut dan membantu pertumbuhan *H. pylori*. Selain itu, rembesan sitokin IL-1 β yang banyak juga menyebabkan pemusnahan sel perut dan menggalakkan pembentukan lesi pra-kanser (El-Omar et al. 2000). Kajian kepustakaan menunjukkan kajian ke atas polimorfisme CD125 dan CD182 serta sumbangannya kepada kanser gaster bukan kardia masih belum dilakukan. Pengekspressan CD125 dan CD182 secara tinggi pada pesakit kanser gaster jenis bukan kardia ini mungkin menyumbang kepada keradangan bahagian perut bukan kardia yang disebabkan oleh jangkitan *H. pylori*. Keradangan yang bertujuan pada mulanya untuk menyingkirkan *H. pylori* lama-kelamaan menyumbang kepada kemusnahan sel-sel perut dan kemudian membentuk lesi kanser. Kajian lanjut bagi mengenal pasti kepentingan sitokin-sitokin tersebut dalam populasi Malaysia adalah penting dalam menghuraikan kepentingan mereka dalam patogenesis kanser gaster.

TABURAN ANTIGEN CD BERDASARKAN UJIAN HISTOPATOLOGI

Sel daripada subjenis 'intestinal' (n=2) dan 'diffuse' (n=4) mempunyai ikatan yang kuat terhadap CD11a, CD29, CD38 (penanda sel B), CD44, CD49d dan CD49f. CD71 diekspres tinggi pada sel tumor subjenis 'diffuse' (Rajah 2).



RAJAH 1. Perbezaan pengekspressan untuk sesetengah antigen CD yang diekspres secara tinggi dalam tisu kanser gaster subjenis kardia atau bukan kardia



RAJAH 2. Perbezaan pengekspresan sesetengah antigen CD yang diekspres secara tinggi dalam tisu subjenis kanser gaster 'intestinal' atau 'diffuse'

Kedua-dua subjenis menunjukkan ikatan lemah terhadap penanda sel T (δ/γ , α/β , CD1a-8, CD25 dan CD28) dan penanda sel pembunuh semula jadi (CD56 dan CD57). Kedua-dua kumpulan juga menunjukkan ikatan sederhana terhadap CD19 (penanda sel B) dan ikatan sel lemah terhadap penanda sel B yang lain (CD20 ke CD24). Dua puluh sembilan antigen CD diekspres lebih 2 lipatan dalam sel daripada subjenis 'diffuse' berbanding sel daripada subjenis 'intestinal'. Walau bagaimanapun, terdapat satu antigen CD yang diekspres lebih tinggi (lebih 2 lipatan) dalam subjenis 'intestinal' iaitu CD56 yang merupakan penanda sel pembunuh semula jadi. Kesemua sel adenokarsinoma mengekspres antigen CD penanda sel T dan sel pembunuh semula jadi pada tahap rendah ke sederhana.

Keputusan kajian menunjukkan lebih banyak antigen CD diekspres secara tinggi dalam kanser gaster jenis 'diffuse' berbanding jenis 'intestinal'. Keadaan ini menunjukkan perbezaan antara patogenesis kanser gaster berdasarkan histologi dan patogenesis kanser gaster adalah lebih kompleks dalam jenis 'diffuse' berbanding 'intestinal'. Patogenesis jenis 'diffuse' dipengaruhi oleh faktor genetik manakala patogenesis jenis 'intestinal' dipengaruhi oleh jangkitan *H. pylori* dan mengikut tapak jalan Correa (Machlowska et al. 2020). Hanya penanda sel NK (CD56) ditemui mempunyai pengekspresan lebih tinggi dalam jenis 'intestinal' berbanding 'diffuse'. Sel NK adalah sel imun yang penting bagi mengenal pasti dan meneutralkan sel tumor. Selain itu, sel NK juga penting dalam penyediaan imuniti penyuai perumah melalui rembesan sitokin IFN- γ (Vivier et al. 2012). Kajian telah mengaitkan kekurangan sel NK dalam darah periferi dengan risiko ke

atas kanser (Imai et al. 2000). Berdasarkan kepada kajian kepustakaan, keputusan uji kaji ini adalah pertama yang mendapati penanda sel NK (CD56) diekspres secara tinggi pada pesakit kanser gaster 'intestinal' berbanding pesakit kanser gaster 'diffuse'. Pengekspresan penanda sel NK yang tinggi pada pesakit kanser gaster 'intestinal' berbanding pesakit kanser gaster 'diffuse' boleh dijelaskan melalui kajian lepas yang menunjukkan pesakit kanser gaster 'intestinal' mempunyai prognosis yang lebih baik berbanding pesakit kanser gaster 'diffuse' (Qiu et al. 2013). Kajian yang dijalankan oleh Ishigami et al. (2000) menunjukkan pesakit kanser gaster yang mempunyai penyusupan sel NK yang tinggi dikaitkan dengan prognosis kanser gaster yang lebih baik berbanding pesakit dengan penyusupan sel NK yang rendah. Sel aktif NK sitotoksik yang diubah suai secara genetik berupaya bertindak sebagai sel anti-tumor terhadap kanser gaster dan memberi prognosis lebih baik terhadap pesakit kanser gaster berbanding sel NK pada keadaan rehat (Mimura et al. 2014). Kajian lanjut terhadap peranan sel NK dalam kanser gaster adalah perlu kerana prognosis pesakit kanser gaster jenis 'intestinal' adalah lebih baik berbanding prognosis kanser jenis 'diffuse' (Qiu et al. 2013).

Immunofenotip sel daripada subjenis sarkoma gastrousus menunjukkan sel yang mengekspres tinggi terhadap CD29 dan CD73 (enzim metabolisma nukleotida) dan pengekspresan sederhana terhadap CD135. Sel daripada subjenis tumor tersebut juga menunjukkan ekspresi rendah terhadap semua penanda sel T, sel pembunuh semula jadi dan sel B. Lebih kurang 1% tumor gastrousus terdiri daripada sarkoma gastrousus (Nilsson et al. 2005). Mutasi pada proto-onkogen *C-KIT* adalah

kerap dilaporkan dalam sarkoma gastrousus dengan lebih kurang 80% tumor sarkoma gastrousus mempunyai mutasi *C-KIT* (Corless 2014). Imunofenotip sel kanser daripada pesakit sarkoma gastrousus menemukan pengekspresan tinggi antigen CD seperti CD29 dan CD73. Pengekspresan tinggi gen CD29 (integrin $\beta 1$) telah dilaporkan dalam sampel tumor sarkoma gastrousus (Tsumuraya et al. 2010). Manakala, kepentingan CD73 dalam patogenesis kanser sarkoma gastrousus masih belum dilaporkan. Namun, CD73 adalah molekul penting dalam merencat tindak balas anti tumor perumah. Adenosina yang dihasilkan oleh CD73 merencat pengaktifan NF κ B dan sekali gus menghalang rembesan sitokin pro-keradangan bagi tujuan pengaktifan sel imun yang penting dalam penyingkiran sel tumor (Antonioni et al. 2016). Keadaan ini menunjukkan bahawa antigen CD tersebut berpotensi sebagai penanda biologi penyakit tersebut. Kajian lepas menunjukkan penggunaan CD117 dan CD34 sebagai penanda biologi sarkoma gastrousus (Zhao & Yue 2012). Profil pengekspresan antigen CD yang berlainan antara sel sarkoma gastrousus dan sel adenokarsinoma menunjukkan patogenesis berlainan antara kedua-dua penyakit tersebut.

PERBANDINGAN PENGEKSPRESAN ANTIGEN KLUSTER PEMBEZAAN DALAM DARAH PERIFERI DAN SEL ADENOKARSINOMA

Rajah 3 menunjukkan perbandingan pengekspresan antigen CD dalam darah periferi dan tumor pesakit kanser gaster. Terdapat enam antigen CD yang diekspres lebih tinggi dalam darah periferi pesakit kanser gaster berbanding sel tumor. Manakala CD38 diekspres secara tinggi dalam tisu (sel tumor) dan CD tersebut diperhatikan tidak diekspres secara tinggi dalam darah periferi pesakit kanser gaster. CD38 merupakan antigen yang juga diekspres secara tinggi dalam kebanyakan tumor kanser lain (Konen, Fradette & Gibbons 2019) dan berpotensi untuk dijadikan sebagai biopenanda untuk diagnosis kanser gaster secara invasif. Menariknya, CD11a, CD29, CD49d dan CD49f masing-masing diekspres sama tinggi dalam darah periferi dan sel tumor pesakit kanser gaster. Semua antigen CD tersebut merupakan antigen yang penting dalam pelekatan sel (Kalina et al. 2019). Antigen CD mempunyai potensi untuk dibangunkan sebagai biopenanda tidak invasif bagi diagnosis kanser gaster.

KESAN PENYENYAPAN CD55 TERHADAP REMBESAN IL-8 OLEH SEL AGS

Dalam kajian ini, CD55 telah dipilih untuk kajian lanjutan kerana ia telah diekspres dengan tinggi dalam darah dan tisu pesakit kanser gaster. Penyenyapan ekspresi gen CD55 oleh siRNA mengubah rembesan IL-8 dalam sel AGS yang dijangkiti strain-strain *H. pylori*. Seperti dalam Rajah 4, strain C507, HP644, C877 dan C90 meningkatkan secara ketara rembesan IL-8 ($P < 0.01$; ujian t Student) dalam sel

ditransfeksi dengan siRNA CD55, manakala rembesan IL-8 oleh sel AGS ditransfeksi dengan CD55 and dijangkiti strain ATCC43526 adalah menurun secara signifikan ($P < 0.01$; ujian t Student). Sebaliknya, dalam sel AGS yang ditransfeksi dengan siRNA CD55 dan dijangkiti strain A783, rembesan IL-8 menurun tetapi tidak signifikan ($P = 0.08$; ujian t Student).

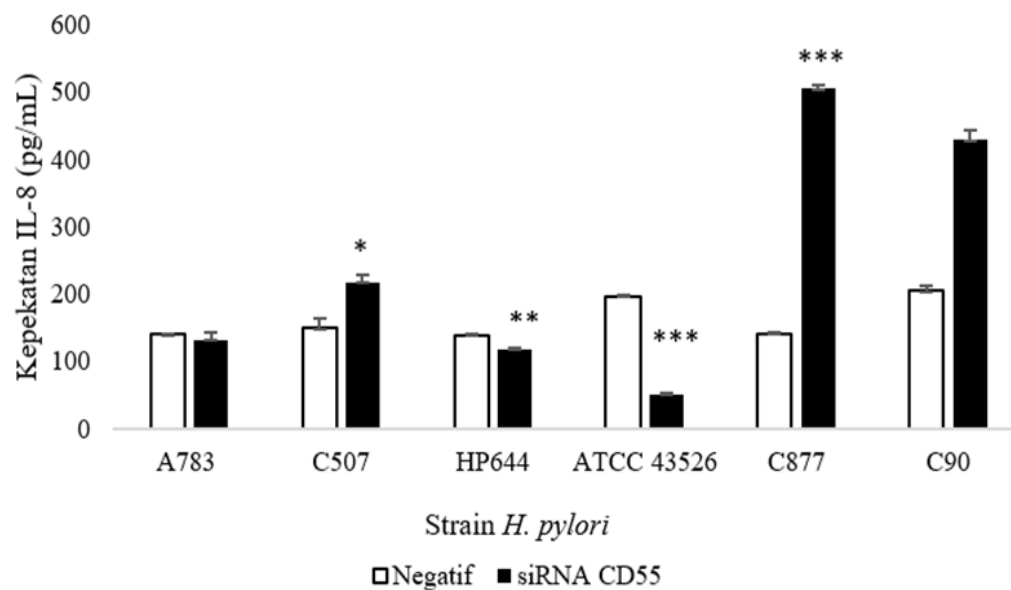
Antigen CD mempunyai kepentingan dalam interaksi dan pelekatan antara sel. Pelekatan *H. pylori* ke atas sel epitelium gaster merupakan salah satu strategi patogenesis bakteria ini dalam mengkolonisasi sel untuk tujuan karsinogenesis kanser gaster (Hatakeyama & Higashi 2005). Sehingga kini, tapak pelekatan *H. pylori* pada sel epitelium masih tidak jelas. Kajian lepas telah menunjukkan kepentingan antigen CD seperti integrin, 'carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules' (CEACAM) dan CD55 dalam pelekatan *H. pylori* ke atas sel epitelium serta kepentingan fungsi antigen tersebut sebagai tapak pelekatan sistem rembesan jenis IV (T4SS) untuk translokasi CagA ke dalam sel dan seterusnya mengganggu isyarat sel (Koniger et al. 2016). Uji kaji ini dijalankan bagi menentukan sama ada penyenyapan dalam pengekspresan antigen CD mengubah pelekatan *H. pylori* pada sel epitelium gaster.

Menariknya, penyenyapan CD55 menyebabkan perubahan yang signifikan dalam rembesan IL-8 oleh sel AGS apabila sel AGS dijangkiti strain *H. pylori* yang positif *cagA*. Namun, dalam sel AGS yang dijangkiti dengan strain *H. pylori* negatif *cagA*, perubahan rembesan IL-8 oleh sel AGS tidak berubah secara signifikan. Perkara ini menunjukkan strain *H. pylori* positif *cagA* memerlukan CD55 untuk tujuan patogenesis melalui rembesan IL-8, manakala strain negatif *cagA* tidak memerlukan antigen untuk tujuan patogenesis tersebut. Selain itu, faktor motif EPIYA tidak mempengaruhi kesan penyenyapan CD55 ke atas rembesan IL-8 oleh sel AGS kerana kedua-dua strain *H. pylori* jenis Barat dan Asia Timur merangsang perubahan IL-8 yang signifikan (peningkatan atau penurunan rembesan IL-8) apabila sel AGS disenyapkan dengan siRNA CD55. CD55 telah ditunjukkan sebagai reseptor penting pelekatan *H. pylori*. Selain itu, CD55 juga merupakan penanda biologi sel kanser tunjang. Pembentukan sel kanser tunjang telah ditunjukkan berkait dengan strain *H. pylori* positif *cagA* dan bukan dengan strain *H. pylori* negatif *cagA*. Walau bagaimanapun, uji kaji ini tidak dapat menjawab persoalan mengapa sesetengah strain *H. pylori* positif *cagA* meningkatkan rembesan IL-8, manakala sesetengah strain yang lain mengurangkan rembesan IL-8 oleh sel AGS. Keputusan uji kaji ini menunjukkan faktor motif EPIYA protein CagA tidak dapat menjelaskan fenomena ini kerana terdapat strain Barat dan Asia Timur yang mengurangkan rembesan IL-8 dan terdapat juga strain Barat yang meningkatkan rembesan IL-8 oleh sel AGS apabila sel AGS disenyapkan dengan siRNA CD55. Terdapat faktor virulen lain *H. pylori* seperti *cagPAI*, fosforilasi protein CagA apabila translokasi

TCRa/b	11a	22	37	49d	62P	88	134	27	73	212	279
TCRg/d	11b	23	38	49e	64	94	135	39	180	213a	281
1a	11c	24	40	52	69	102	138	121a	182	218a	282
2	13	25	41	54	66c	103	154	49f	183	166	283
3	14	28	42a	56	71	117	235a	124	184	255	284
4	15	29	43	57	77	120a	30	125	186	259	285
5	16	32	44	60	79a	122	10	127	191	266	287
7	19	33	45	61	79b	126	33	137	150	267	288
8	20	34	45RA	62L	80	128	34	147	195	268	314
9	21	36	45RO	62E	86	130	83	55	210	278	

Warna merah menunjukkan pengekspresan antigen CD tinggi dalam darah tetapi rendah atau sederhana dalam tumor; Warna hijau menunjukkan pengekspresan antigen tinggi dalam tisu, rendah atau sederhana dalam darah; Warna ungu menunjukkan pengekspresan antigen sama tinggi dalam darah dan tumor; Kotak yang tidak berwarna adalah pengekspresan antigen CD adalah mewakili antigen CD dengan pengekspresan antigen CD yang tidak berbeza secara signifikan dalam darah periferi dan tumor pesakit kanser gaster

RAJAH 3. Perbandingan pengekspresan antigen CD dalam darah periferi dan tumor pesakit kanser gaster



*nilai $P < 0.05$, **nilai $P < 0.01$ dan ***nilai $P < 0.0001$. Perbandingan dalam jangkitan strain *H. pylori* A783 adalah tidak signifikan

RAJAH 4. Rembesan IL-8 dalam sel selanjur AGS yang disenyapkan dengan siRNA CD55 dan dijangkiti pelbagai strain *H. pylori*

CagA ke dalam sel berlaku dan protein luar membran yang mungkin boleh menjelaskan fenomena ini. Kajian yang dilakukan oleh Beswick et al. (2005) menunjukkan CD74 merupakan antigen penting dalam merangsang rembesan IL-8 oleh *H. pylori* dan rangsangan tersebut tidak bergantung kepada *cagPAI*. Rembesan IL-8 oleh sel AGS yang dijangkiti *H. pylori* juga turut bergantung kepada pengekspresan protein NF κ B (Keates et al. 1997). Kajian telah menunjukkan pengaktifan protein NF κ B yang kemudiannya melekat pada penjujukan unsur tindak balas untuk tujuan rembesan IL-8 berlaku melalui pelbagai cara seperti translokasi protein CagA dan peptidoglikan ke dalam sel (Lamb & Chen 2010). Isyarat melalui peptidoglikan untuk pengaktifan NF κ B adalah melibatkan protein Nod1 manakala isyarat sel melalui protein CagA adalah melalui fosforilasi protein CagA pada tapak motif EPIYA dengan protein tirosina kinase. Sehingga kini, proses pengaktifan NF κ B melalui isyarat sel yang dirangsang oleh peptidoglikan atau fosforilasi CagA masih tidak dapat dijelaskan secara tepat. Alasan mengapa *H. pylori* memilih peptidoglikan atau CagA sebagai agen untuk pengaktifan NF κ B adalah terbuka untuk perbincangan lanjut (Lamb & Chen 2010).

KESIMPULAN

Penemuan ini menunjukkan implikasi yang signifikan dalam diagnosis dan prognosis kanser gaster. Pengetahuan tentang corak pengekspresan antigen CD oleh subjenis kanser gaster dapat membantu dalam pembangunan biopenanda untuk diagnosis tanpa pembedahan yang membolehkan pengesanan awal dan intervensi yang lebih berkesan. Tambahan pula, pemahaman tentang peranan CD55 dalam pengaturan pengeluaran IL-8 boleh membuka jalan untuk terapi yang berfokus pada pesakit dengan jangkitan *H. pylori* yang berkaitan dengan risiko kanser gaster yang lebih tinggi. Oleh itu, hasil kajian ini berpotensi untuk pembangunan teknik bukan invasif untuk diagnosis kanser gaster.

PENGHARGAAN

Kajian ini disokong oleh geran penyelidikan daripada Kementerian Sains, Teknologi, dan Inovasi (MOSTI) di bawah skim geran Science Fund (no. geran 02-01-02-SF0958) dan Universiti Kebangsaan Malaysia di bawah geran GUP (no. geran GUP-2016-075). Pihak pengarang mengucapkan ribuan terima kasih kepada En. Abdul Hamdy Abdul Hamid, Pn. Maslini Ismail, dan Pn. Haslina Mahbob atas bantuan mereka dalam sel kultur. Semua pengarang menyatakan tiada konflik kepentingan.

RUJUKAN

- Antonioli, L., Yegutkin, G.G., Pacher, P., Blandizzi, C. & Haskó, G. 2016. Anti-CD73 in cancer immunotherapy: Awakening new opportunities. *Trends Cancer* 2(2): 95-109.
- Belov, L., de la Vega, O., dos Remedios, C.G., Mulligan, S.P. & Christopherson, R.I. 2001. Immunophenotyping of leukemias using a cluster of differentiation antibody microarray. *Cancer Research* 61: 4483-4489.
- Bertaux-Skeirik, N., Feng, R., Schumacher, M.A., Li, J., Mahe, M.M., Engevik, A.C., Javier, J.E., Peek Jr., R.M., Ottemann, K., Orian-Rousseau, V., Boivin, G.P., Helmuth, M.A., & Zavros, Y. 2015. CD44 plays a functional role in *Helicobacter pylori*-induced epithelial cell proliferation. *PLoS Pathogens* 11(2): e1004663.
- Beswick, E.J., Pinchuk, I.V., Suarez, G., Sierra, J.C. & Reyes, V.E. 2006. *Helicobacter pylori* CagA-dependent macrophage migration inhibitory factor produced by gastric epithelial cells binds to CD74 and stimulates procarcinogenic events. *Journal of Immunology* 176(11): 6794-6801.
- Corless, C.L. 2014. Gastrointestinal stromal tumors: what do we know now? *Modern Pathology* 27: S1-S16.
- El-Omar, E.M., Rabkin, C.S., Gammon, M.D., Vaughan, T.L., Risch, H.A., Schoenberg, J.B., Stanford, J.L., Mayne, S.T., Goedert, J., Blot, W.J., Fraumeni Jr., J.F. & Chow, W.H. 2003. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology* 124(5): 1193-1201.
- El-Omar, E.M., Carrington, M., Chow, W.H., McColl, K.E., Bream, J.H., Young, H.A., Herrera, J., Lissowska, J., Yuan, C.C., Rothman, N., Lanyon, G., Martin, M., Fraumeni Jr., J.F. & Rabkin, C.S. 2000. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 404: 398-402.
- Epplein, M., Xiang, Y.B., Cai, Q., Peek Jr., R.M., Li, H., Correa, P., Gao, J., Wu, J., Michel, A., Pawlita, M., Zheng, W. & Shu, X.O. 2013. Circulating cytokines and gastric cancer risk. *Cancer Causes Control* 24(12): 2245-2250.
- Fukamachi, H., Seol, H.S., Shimada, S., Funasaka, C., Baba, K., Kim, J.H., Park, Y.S., Kim, M.J., Kato, K., Inokuchi, M., Kawachi, H., Yook, J.H., Eishi, Y., Kojima, K., Kim, W.H., Jang, S.J. & Yuasa, Y. 2013. CD49^{high} cells retain sphere-forming and tumor initiating activities in human gastric tumors. *PLoS ONE* 8(8): e72438.
- Hanafiah, A., Sukri, A., Kosai, N.R., Shuhaili, M.A., Mohammed Taher, M. & Raja Ali, R.A. 2023. Immunophenotyping of gastritis, gastric ulcer and gastric cancer using a cluster of differentiation (CD) antibody microarray. *Sains Malaysiana* 52(1): 187-197.

- Hatakeyama, M. & Higashi, H. 2005. *Helicobacter pylori* CagA: A new paradigm for bacterial carcinogenesis. *Cancer Science* 96(12): 835-843.
- Imai, K., Matsuyama, S., Miyake, S., Suga, K. & Nakachi, K. 2000. Natural cytotoxic activity of peripheral-blood lymphocytes and cancer incidence: an 11-year follow-up study of a general population. *Lancet* 356(9244): 1795-1799.
- Ishigami, S., Natsugoe, S., Tokuda, K., Nakajo, A., Che, X., Iwashige, H., Aridome, K., Hokita, S. & Aikou, T. 2000. Prognostic value of intratumoral natural killer cells in gastric carcinoma. *Cancer* 88(3): 577-583.
- Kalina, T., Fišer, K., Pérez-Andrés, M., Kuzílková, D., Cuenca, M., Bartol, S.J.W., Blanco, E., Engel, P. & van Zelm, M.C. 2019. CD maps-dynamic profiling of CD1-CD100 surface expression on human leukocyte and lymphocyte subsets. *Frontiers in Immunology* 10: 2434.
- Kamangar, F., Cheng, C., Abnet, C.C. & Rabkin, C.S. 2006. Interleukin-1B polymorphisms and gastric cancer risk--a meta-analysis. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 15(10): 1920-1928.
- Keates, S., Hitti, Y.S., Upton, M. & Kelly, C.P. 1997. *Helicobacter pylori* infection activates NF-kappa B in gastric epithelial cells. *Gastroenterology* 113(4): 1099-1109.
- Kim, J., Cho, Y.A., Choi, I.J., Lee, Y.S., Kim, S.Y., Shin, A., Cho, S.J., Kook, M.C., Nam, J.H., Ryu, K.W., Lee, J.H. & Kim, Y.W. 2012. Effects of *interleukin-10* polymorphisms, *Helicobacter pylori* infection, and smoking on the risk of noncardia gastric cancer. *PLoS ONE* 7(1): e29643.
- Konen, J.M., Fradette, J.J. & Gibbons, D.L. 2019. The good, the bad and the unknown of CD38 in the metabolic microenvironment and immune cell functionality of solid tumors. *Cells* 9(1): 52.
- Koniger, V., Holsten, L., Harrison, U., Busch, B., Loell, E., Zhao, Q., Bonsor, D.A., Roth, A., Kengmo-Tchoupa, A., Smith, S.I., Mueller, S., Sundberg, E.J., Zimmermann, W., Fischer, W., Hauck, C.R. & Haas, R. 2016. *Helicobacter pylori* exploits human CEACAMs via HopQ for adherence and translocation of CagA. *Nature Microbiology* 2: 16188.
- Kužílková, D., Puñet-Ortiz, J., Aui, P.M., Fernández, J., Fišer, K., Engel, P., van Zelm, M.C. & Kalina, T. 2022. Standardization of workflow and flow cytometry panels for quantitative expression profiling of surface antigens on blood leukocyte subsets: An HCDM CDMaps initiative. *Front Immunol.* 13: 827898.
- Lamb, A. & Chen, L.F. 2010. The many roads traveled by *Helicobacter pylori* to NFkB activation. *Gut Microbes.* 1(2): 109-113.
- Machlowska, J., Baj, J., Sitarz, M., Maciejewski, R. & Sitarz, R. 2020. Gastric cancer: Epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies. *International Journal of Molecular Sciences* 21(11): 4012.
- Michetti, M., Kelly, C.P., Kraehenbuhl, J.P., Bouzourene, H. & Michetti, P. 2000. Gastric mucosal $\alpha_4\beta_7$ -integrin - positive CD₄ T lymphocytes and immune protection against *Helicobacter* infection in mice. *Gastroenterology* 119(1): 109-118.
- Mimura, K., Kamiya, T., Shiraishi, K., Kua, L.F., Shabbir, A., So, J., Yong, W.P., Suzuki, Y., Yoshimoto, Y., Nakano, T., Fujii, H., Campana, D. & Kono, K. 2014. Therapeutic potential of highly cytotoxic natural killer cells for gastric cancer. *International Journal of Cancer* 135(6): 1390-1398.
- Nilsson, B., Bümbling, P., Meis-Kindblom, J.M., Odén, A., Dortok, A., Gustavsson, B., Sablinska, K. & Kindblom, L.G. 2005. Gastrointestinal stromal tumors: The incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era--a population-based study in western Sweden. *Cancer* 103(4): 821-829.
- Qiu, M-Z., Cai, M-Y., Zhang, D-S., Wang, Z-Q., Wang, D-S., Li, Y-H. & Xu, R-H. 2013. Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. *Journal of Translational Medicine* 11: 58.
- Rahman, W., Tu, T., Budzinska, M., Huang, P., Belov, L., Chrisp, J.S., Christopherson, R.I., Warner, F.J., Bowden, D.S., Thompson, A.J., Bowen, D.G., Strasser, S.I., Koorey, D., Sharland, A.F., Yang, J.Y., McCaughan, G.W. & Shackel, N.A. 2015. Analysis of post-liver transplant Hepatitis C virus recurrence using serial cluster of differentiation antibody microarrays. *Transplantation* 99(9): e120-e126.
- Rawla, P. & Barsouk, A. 2019. Epidemiology of gastric cancer: Global trends, risk factors and prevention. *Przegląd Gastroenterologiczny* 14(1): 26-38.
- Sukri, A., Hanafiah, A., Kosai, N.R., Mohammed Taher, M. & Mohamed, R. 2022. New insight on the role of *Helicobacter pylori* cagA in the expression of cell surface antigens with important biological functions in gastric carcinogenesis. *Helicobacter* 27(5): e12913.
- Sukri, A., Hanafiah, A., Kosai, N.R., Mohammed Taher, M. & Mohamed Rose, I. 2016. Surface antigen profiling of *Helicobacter pylori*-infected and -uninfected gastric cancer cells using antibody microarray. *Helicobacter* 21(5): 417-427.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 71(3): 209-249.
- Takahashi-Kanemitsu, A., Knight, C.T. & Hatakeyama, M. 2020. Molecular anatomy and pathogenic actions of *Helicobacter pylori* CagA that underpin gastric carcinogenesis. *Cellular & Molecular Immunology* 17(1): 50-63.

- Takaki, S., Kanazawa, H., Shiiba, M. & Takatsu, K. 1994. A critical cytoplasmic domain of the interleukin-5 (IL-5) receptor α chain and its function in il-5-mediated growth signal transduction. *Molecular and Cellular Biology* 14(11): 7404-7413.
- Thrift, A.P., Wenker, T.N. & El-Serag, H.B. 2023. Global burden of gastric cancer: Epidemiological trends, risk factors, screening and prevention. *Nature Reviews Clinical Oncology* 20(5): 338-349.
- Tian, H.F., Xing, J., Tang, X.Q., Chi, H., Sheng, X.Z. & Zhan, W.B. 2022. Cluster of differentiation antigens: Essential roles in the identification of teleost fish T lymphocytes. *Marine Life Science & Technology* 4(3): 303-316.
- Tsumuraya, M., Kato, H., Miyachi, K., Sasaki, K., Tsubaki, M., Akimoto, K. & Sunagawa, M. 2010. Comprehensive analysis of genes involved in the malignancy of gastrointestinal stromal tumors. *Anticancer Research* 30(7): 2705-2715.
- Usui, Y., Taniyama, Y., Endo, M., Koyanagi, Y.N., Kasugai, Y., Oze, I., Ito, H., Imoto, I., Tanaka, T., Tajika, M., Niwa, Y., Iwasaki, Y., Aoi, T., Hakozaiki, N., Takata, S., Suzuki, K., Terao, C., Hatakeyama, M., Hirata, M., Sugano, K., Yoshida, T., Kamatani, Y., Nakagawa, H., Matsuda, K., Murakami, Y., Spurdle, A.B., Matsuo, K. & Momozawa, Y. 2023. Helicobacter pylori, homologous-recombination genes, and gastric cancer. *The New England Journal of Medicine* 388(13): 1181-1190.
- Vivier, E., Ugolini, S., Blaise, D., Chabannon, C. & Brossay, L. 2012. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer. *Nature Reviews Immunology* 12(4): 239-252.
- Wang, Z., Liu, H., Shen, Z., Wang, X., Zhang, H., Qin, J., Xu, J., Sun, Y. & Qin, X. 2015. The prognostic value of CXC-chemokine receptor 2 (CXCR₂) in gastric cancer patients. *BMC Cancer* 15: 766.
- Wu, J.Q., Wang, B., Belov, L., Chrisp, J., Learmont, J., Dyer, W.B., Zaunders, J., Cunningham, A.L., Dwyer, D.E. & Saksena, N.K. 2007. Antibody microarray analysis of cell surface antigens on CD4⁺ and CD8⁺ T cells from HIV⁺ individuals correlates with disease stages. *Retrovirology* 4: 83.
- Zhao, X. & Yue, C. 2012. Gastrointestinal stromal tumor. *Journal of Gastrointestinal Oncology* 3(3): 189-208.
- Zhou, J., Belov, L., Huang, P.Y., Shin, J.S., Solomon, M.J., Chapuis, P.H., Bokey, L., Chan C., Clarke, C., Clarke, S.J. & Christopherson, R.I. 2010. Surface antigen profiling of colorectal cancer using antibody microarrays with fluorescence multiplexing. *Journal of Immunological Methods* 355(1-2): 40-51.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: alfizah@ppukm.ukm.edu.my