



Review: Single Chain Fragment Variable sebagai Pemandu Diagnosis dan Terapi Bertarget Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Kanker Payudara

(Review: single chain fragment variable as breast cancer human epidermal growth factor receptor 2 diagnosis and therapy guide compound)

Miranda Priskila*, & Ellin Febrina

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa barat, Indonesia

ABSTRACT: Single chain fragment variable (scFv) is a recombinant antibody consisting of an antigen-binding (Fab) antibody fragment with a very small size of about 26-27 kDa. In general, scFv is stable, encoded by a single gene so that it will facilitate genetic modification. Compared with complete antibodies, scFv which has similar antigen binding activity has other advantages such as small size, better penetration into blood vessels and tissues, and lower immunogenicity. Therefore, scFv has a very good potential to be used as a guide compound for diagnosis and therapy of disease. The results of various studies show that scFv anti-HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) can be used as a guide in the diagnosis of HER2+ breast cancer using either Magnetic Resonance Imaging (MRI) or positron-emission tomography (PET). In HER2 receptor-targeted breast cancer therapy, anti-HER2 scFv also has the potential to be used as a guide for immunotoxins, antibody-drug conjugate (ADC), prodrugs, and pretargeted radioimmunotherapy (PRIT).

Keywords: scFv; HER2+ breast cancer; targeted therapy; targeted diagnostics.

ABSTRAK: Single chain fragment variable (scFv) merupakan antibodi rekombinan yang terdiri dari bagian fragmen *antigen-binding* (Fab) antibodi dengan ukuran sangat kecil sekitar 26-27 kDa. Secara umum scFv bersifat stabil, dikode oleh satu gen sehingga akan mempermudah modifikasi genetik. Dibandingkan dengan antibodi lengkap, scFv yang memiliki aktivitas pengikatan antigen yang serupa memiliki kelebihan lain diantaranya adalah ukurannya yang kecil, penetrasi ke pembuluh darah dan jaringan yang lebih baik, serta imunogenisitas yang lebih rendah. Oleh karena itu, scFv memiliki potensi yang sangat baik untuk digunakan sebagai senyawa pemandu diagnosis maupun terapi penyakit. Hasil dari berbagai penelitian menunjukkan scFv anti-HER2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) dapat digunakan sebagai pemandu pada diagnosis kanker payudara HER2+ baik menggunakan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI) ataupun *positron-emission tomography* (PET). Pada terapi kanker payudara bertarget reseptor HER2, scFv anti HER2 juga memiliki potensi digunakan sebagai pemandu untuk imunotoksin, *antibody drug conjugate* (ADC), prodrug, dan *pretargeted radioimmunotherapy* (PRIT).

Kata kunci: scFv; kanker payudara HER2+; terapi target; diagnosis target.

Pendahuluan

Kanker adalah keadaan ketika sel tumbuh tidak terkendali dan dapat menghancurkan sel-sel dalam tubuh. Kanker payudara tercatat sebagai kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia. Jumlah kasus kanker payudara pada tahun 2020 mencapai 65.858 kasus dan angka kematian 22.430 [1].

Salah satu jenis kanker payudara adalah kanker payudara HER2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) positif (HER2+) yang merupakan kanker yang selnya memiliki overekspresi gen *HER2* (juga dikenal sebagai *HER2/neu* dan *ErbB2*), anggota dari reseptor transmembran tirosin

kinase (RTKs). Overekspresi reseptor HER2 ditemukan pada 15-25% pasien yang didiagnosis kanker payudara [2]. Dibandingkan dengan kanker payudara HER2- kanker payudara HER2+ menunjukkan sifat yang lebih agresif, mortalitas yang lebih tinggi, dan kekambuhan yang lebih cepat [3]. Adanya metode diagnosis kanker target yang dapat mendeteksi HER2 pada sel kanker secara spesifik dan kuantitatif akan membantu penetapan diagnosis kanker dan pemilihan regimen terapi yang paling tepat bagi pasien [4].

Trastuzumab merupakan antibodi yang digunakan

Article history

Received: 13 Juli 2022
Accepted: 19 Mei 2023
Published: 24 August 2023

Access this article



*Corresponding Author: Miranda Priskila

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Kec. Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat 45363 | Email: Miranda19001@mail.unpad.ac.id

untuk terapi standar kanker payudara HER2+. Saat ini trastuzumab digunakan dalam kombinasi dengan kemoterapi. Pada pasien yang menggunakan kombinasi terapi tersebut ditemukan 30% pasien mengalami resistensi trastuzumab dan penyakit kambuh kembali. Selain itu, hampir setiap pasien stadium akhir mengalami resistensi dan kebanyakan pasien kambuh yang mengalami resistensi seiring berjalannya waktu akan menyerah pada penyakitnya [5].

Antibodi merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh yang berfungsi menetralkan obyek asing seperti bakteri dan virus. Antibodi atau imunoglobulin pada manusia merupakan protein berbentuk seperti huruf Y yang terdiri dari dua antibodi rantai ringan (*light chain*, VL) dan dua rantai berat (*heavy chain*, VH) identik. Molekul lengkap antibodi memiliki tiga komponen fungsional yaitu *fragment antigen binding domains (Fabs)* dan *fragment crystallizable (Fc)*, kedua domain tersebut dihubungkan oleh bagian *Hinge* [6].

Teknik DNA rekombinan dapat digunakan untuk membuat scFv (*Single Chain Fragment Variable*), suatu antibodi rekombinan yang terdiri dari bagian Fabs terkecil dari antibodi (26-27 kDa) dimana VL dan VH dihubungkan oleh peptida. Secara umum scFv bersifat stabil, memiliki ukuran yang kecil sehingga memberikan keuntungan dibanding antibodi lengkap, dan dikode hanya oleh satu gen sehingga mempermudah modifikasi genetik [7]. ScFv dapat diproduksi dalam organisme prokariot seperti *Escherichia coli* sehingga biaya produksi yang diperlukan lebih kecil dibandingkan antibodi lengkap yang umumnya diproduksi pada lini sel mamalia [8].

Tetapi dibalik kelebihanannya scFv memiliki kelemahan seperti waktu paruh yang pendek dalam plasma yang dapat menghambat aktivitasnya dalam terapi [9]. Dalam artikel ini kami mereviu potensi dan kemajuan penelitian dalam memanfaatkan scFv sebagai pemandu diagnosis dan terapi kanker payudara HER2+.

Metode Penelitian

Sumber data yang digunakan pada reviu artikel ini berasal dari artikel penelitian tentang scFv dan kanker payudara HER2+ dari sumber internasional sebagai sumber data utama. Strategi pencarian data yang digunakan adalah mencari artikel melalui website pencari jurnal online seperti *google scholar*, *pubmed*, juga jurnal *Nature* dan *e-Journal Springer* dari layanan *e-journal UNPAD*. Pencarian sumber data menggunakan kata kunci *scFv anti-HER2*; *scFv anti-HER2 for breast cancer HER2+ therapy*; dan *scFv anti-HER2 for breast cancer HER2+ diagnosis*. Selanjutnya dilakukan

pemilihan pustaka yang relevan secara manual dari artikel penelitian yang diperoleh.

Kriteria inklusi pada reviu artikel ini adalah jurnal internasional dan nasional *open access* atau yang dapat diakses dengan layanan *e-journal UNPAD*; membahas penelitian *in silico*, *in vitro*, dan *in vivo* tentang penggunaan scFv untuk diagnosis dan terapi kanker payudara HER2+; dan diterbitkan dalam kurun waktu 2012-2022. Kriteria eksklusinya meliputi jurnal yang penelitiannya selain terhadap sel kanker HER2+ dan jurnal yang tidak ditulis dalam bahasa Indonesia atau Inggris. Hasil reviu artikel dirangkum dalam [Tabel 1](#) dengan kata kunci "pengujian scFv".

Hasil dan Diskusi

scFv anti-HER2 Sebagai Pemandu pada Diagnosis Kanker Payudara HER2+

Sampai saat ini belum ada teknik pencitraan yang memiliki sensitivitas dan spesifitas yang cukup untuk memberikan dampak signifikan pada manajemen kanker payudara HER2+ [10]. Teknik pencitraan *immune-PET* dengan menggunakan trastuzumab menunjukkan kesuksesan pada diagnosis kanker payudara tetapi penggunaan antibodi yang lengkap memiliki kekurangan seperti panjangnya waktu paruh dan sirkulasi dalam darah, penetrasi ke dalam sel kanker tidak efisien, penyebaran ke organ selain target, lokalisasi dan iradiasi, juga panjangnya waktu tunggu (*acquisition window*) sebelum dapat terdeteksi (sekitar 4-5 hari) [11]. Untuk mengatasi kekurangan ini Chen et al. (2018) membuat kombinasi scFv anti-HER2 dengan nanopartikel silika ultra kecil yaitu DFO-scFv-PEG-Cy5-C' *dots* yang ditandai radioisotop Zr-89. Ukuran dari nanopartikel bertanda yang didapatkan adalah < 7,3 nm. Ultra nanopartikel ini memiliki *uptake* ke dalam hati dan renal yang rendah ~5% ID/g (dosis yang diinjeksi/gram jaringan) ke dalam hati dibandingkan ⁸⁹Zr-DFO-Trastuzumab yaitu > 10% ID/g [12] dan <2% ID/g ke dalam renal. Diprediksikan ekskresi totalnya selama 72 jam adalah 70% ID. *Uptake* ke dalam sel tumor target 13,22±2,9% ID/g dengan rasio T/M (*tumor to muscle*) 11,4±4,6 diujikan pada tikus. DFO-scFv-PEG-Cy5-C' *dots* memiliki *imaging acquisition window* yang cukup singkat yaitu 4-24 jam setelah injeksi sehingga dapat mengurangi kemungkinan kesalahan interpretasi diagnosis karena Zr-89 secara natural akan terakumulasi pada tulang. Dosis efektif seluruh tubuh dari nanopartikel ini adalah ~0,2mSv per MBq atau sekitar sepertiga dari ⁸⁹Zr-DFO-Trastuzumab [10].

Penelitian lain terhadap [⁶⁸Ga]Df-anti-HER2 scFv

Tabel 1. Pengujian scFv anti-HER2 sebagai senyawa pemandu diagnosis dan terapi kanker payudara HER2+

No.	Tujuan	Senyawa Uji	Sel Kanker	Metode	Hasil	Sumber
1.	Diagnosis	SPIONS-Cy-PEG-scFv (4D5-Cys)	BT-474'	<i>In vitro</i>	Uptake nanopartikel dengan scFv lebih tinggi dua kali dibandingkan tanpa scFv dalam waktu 60 menit dan lebih dari tiga kali dalam waktu 240 menit	[14]
				<i>In vivo</i>	Memiliki tingkat spesifisitas yang tinggi terhadap sel kanker HER2+ merupakan ligan penargetan yang efisien untuk tujuan pencitraan magnetik.	
2.	Diagnosis	DFO-scFv-PEG-Cy5-C'	BT-474'	<i>In vivo</i>	Dosis efektif seluruh tubuh untuk diagnosis dengan PET adalah ~ 0.2mSv per MBq sekitar sepertiga ⁸⁹ Zr-DFO-Trastuzumab	[10]
3.	Diagnosis	Ga-Df-anti-HER2 scFv (4D5-C10)	-	<i>In vivo</i>	Dapat memvisualisasi kanker HER2+ dengan baik, dapat memantau perubahan ekspresi HER2 setelah terapi.	[13]
4.	Terapi	T-scFv(SA1)-DM1 T-scFv(SA2)-DM1.	SKBR-3'	<i>In vivo</i>	Menunjukkan aktivitas sitotoksik yang baik pada sel kanker SKBR-3 dengan IC50 1.05 ± 0.03 untuk T-scFv(SA1)-DM1 dan 1.10 ± 0.09 nM untuk T-scFv(SA2)-DM1	[21]
5.	Terapi	Herceptin scFv-PE Herceptin scFv-PE-STXA	SKBR-3' MCF-7''	<i>In vitro</i>	Imunotoksin yang diuji menunjukkan spesifitas yang tinggi terhadap sel kanker HER2+ dibandingkan sel kanker HER2-	[20]
6.	Terapi	CXCR4si-scFv (e23sFv-9R)	BT-474'	<i>In vitro</i>	scFv dapat menjadi senyawa pemandu sehingga gen CXCR4si dapat memasuki sel kanker payudara HER2+, mengurangi proliferasi dan metastasis juga menginduksi apoptosis.	[23]
				<i>In vivo</i>	Pada hewan tikus yang diinduksi kanker payudara menunjukkan CXCR4si-e23sFv-9R tidak menimbulkan sitotoksik sistemik dan tidak mengaktifkan respon imun <i>innate</i> .	
7.	Terapi	DFF40-scFv Cytc-scFv	SK- BR- 3'BT-474'	<i>In vitro & In vivo</i>	Keberadaan scFv menunjukkan aktivitas immunoapoptosis spesifik pada sel kanker HER2+ melalui apoptosis endogen tanpa mempengaruhi aktivitas sel normal.	[24]
8.	Terapi	CNOB /HChrR dalam EV-scFv (ML39)	BT-474' MCF-7''	<i>In vitro</i>	<i>Prodrug</i> HChrR yang dimasukkan ke dalam Vesikel Ekstraseluler (VE) kemudian ditandai dengan scFv untuk terapi kanker payudara HER2+ menunjukkan ikatan yang spesifik pada sel kanker HER2+ dan tidak berikatan dengan sel HER2- berdasarkan pengamatan secara mikroskopik dan <i>flow cytometry</i>	[26]
				<i>In vivo</i>	Pemberian HChrR dalam EV-ML39 bersama dengan CNOB menyebabkan penghentian pertumbuhan tumor kanker payudara implan HER2+ pada tikus <i>athymic</i>	

No.	Tujuan	Senyawa Uji	Sel Kanker	Metode	Hasil	Sumber
9.	Terapi	FNY-scFv-EED (4D5scFvZZ)	T6-17''	<i>In vitro</i>	Dengan pewarnaan Annexin V, dan analisis sel dengan FACS diketahui terjadi pengurangan sel hidup 60.6% dibandingkan kontrol setelah diberi perlakuan selama 2 hari dengan 4D5scFvZZ-IFNY	[25]
				<i>In vivo</i>	mampu mengurangi pertumbuhan tumor yang diimplan pada tikus sebanding dengan dosis yang diberikan.	
10.	Terapi	Trastuzumab scFv - PE24	SKBR-3' dan BT-474'	<i>In vitro</i>	scFv- PE24 (suatu toksin) menunjukkan toksisitas tinggi pada sel kanker HER2+ dengan konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan pada sel HER2-	[19]
			MDA-MB-231'' dan MCF-7''			
11.	Terapi	scFv- Cotinine terkonjugasi histidine dipeptide- ¹²⁵ I	KPL-4' MDA-MB231''	<i>In vivo</i>	Kompleks protein fusi tandem scFv Fc dengan peptida ¹²⁵ I-cotinine dapat terlokalisasi pada sel tumor HER2+ tikus tapi tidak pada tikus yang diinduksi sel tumor HER2-. Protein ini berpotensi digunakan sebagai PRIT (Pre-targeted Radioimmunothe-rapy).	[27]
12.	Terapi	Trastuzumab scFv-CdtB	-	<i>In silico</i>	Hasil pengujian menggunakan server ZDOCK menunjukkan bahwa imunotoksin scFv- Cj-CdtB memiliki afinitas dan spesifisitas yang tinggi untuk berikatan dengan reseptor HER2.	[18]

Keterangan :

' : HER2+; '' : HER2-

menunjukkan visualisasi sel kanker HER2+ dengan baik pada tikus. [⁶⁸Ga]Df-anti-HER2 scFv menjanjikan untuk evaluasi kanker HER2+ dengan pencitraan PET *in vivo* (prosedur dilakukan pada makhluk hidup), kecuali pasien menjalani terapi dengan trastuzumab. Klirens ginjal [⁶⁸Ga]Df-anti-HER2 scFv adalah 5,44% ID/g selama 3 jam tetapi memiliki rasio tumor/darah yang rendah juga akumulasi pada ginjal yang tinggi [\[13\]](#).

Sementara itu, Alric et al. (2018) melakukan penelitian pada sistem nano yang terdiri dari *superpara-magnetic iron oxide nanoparticles* (SPIONs, suatu agen pengontras MRI untuk pencitraan kanker) di-coat oleh polietilen glikol (PEG) kemudian pada permukaannya ditambahkan 7 fragmen scFv anti-HER2 (4D5-Cys). Ketika dibandingkan dengan nanopartikel (NP) tanpa scFv penambahan scFv pada permukaan NP tidak mengganggu sifat fisikokimia dari partikel. Pengujian secara *in vitro* (pengujian di luar makhluk hidup dengan kondisi terkontrol) dengan *immunofluorescence labelling* untuk mengetahui reaktivitas scFv terhadap sel kanker payudara HER+ SK-BR3 menunjukkan scFv tidak terdenaturasi juga memiliki spesifitas untuk sel kanker HER2+. Uji *in vitro* dengan menggunakan instrumen *cytometry* menunjukkan *uptake* NP-scFv ke dalam sel kanker

BT-474 dua kali lebih tinggi dibandingkan NP tanpa scFv dalam waktu 60 menit. Setelah 240 menit *uptake* NP-scFv tiga kali lebih tinggi dibanding NP.

Penelitian secara *in vivo* juga dilakukan pada tikus betina Balb-C yang diinjeksi 10 juta sel BT-474 dan diinkubasi selama 6 minggu Pada waktu 15 menit intensitas *grey level* NP-scFv turun hingga 65±13% sedangkan NP tetap sekitar 100%, semakin rendah intensitas *grey level* semakin tinggi akumulasi di organ target. Setelah 1 jam intensitas NP-scFv meningkat menjadi sekitar 71±13% tetapi NP tetap sekitar 98 ± 22%. NP-scFv juga menunjukkan intensitas yang stabil setelah 24 jam, tingkat spesifisitas yang tinggi terhadap sel kanker HER2+, dan dapat berfungsi sebagai ligan penargetan yang efisien untuk tujuan pencitraan magnetik. Meskipun demikian NP-scFv diduga tertahan lebih lama dalam ginjal dibanding NP dan kedua nanoprobe ditemukan dalam hati dan limpa [\[10\]](#). Hasil penelitian oleh Ding et al. (2016) terhadap scFv-IONPs pada sel kanker pankreas dengan overekspresi HER2 juga menunjukkan hasil yang serupa scFv-IONPs memungkinkan pencitraan MRI tumor spesifik HER2 secara *in vivo* dan berpotensi kuat sebagai agen pengontras MRI untuk kanker HER2+ [\[15\]](#).

scFv anti-HER2 Sebagai Pemandu pada Terapi Kanker Payudara HER2+

Hasil penelitian secara *in vivo*, *in vitro*, dan *in silico* (pengujian dilakukan dengan menggunakan teknologi komputer) menunjukkan scFv anti-HER2 berpotensi sebagai pemandu pada imunotoksin dan *antibody drug conjugate* (ADC). Imunotoksin adalah molekul yang terdiri dari antibodi sebagai pemandu yang terikat dengan toksin yang sitotoksik. [16]. Efisiensi dari suatu imunotoksin bergantung pada kesuksesan toksin mengalami endositosis ke dalam sel. Proses endositosis tersebut bergantung pada interaksi scFv dan reseptor [17].

Penelitian secara *in silico* yang dilakukan pada Trastuzumab scFv-CdtB (subunit toksin bakteri yang diperoleh dari *Campylobacter jejuni*) menunjukkan tidak ada perubahan pada struktur sekunder protein ikatan scFv-CdtB yang diamati dengan menggunakan server GOR V (*Garnier-Osguthorpe-Robson V*). Pengujian *docking* dengan menggunakan server ZDOCK untuk protein dengan struktur 3D yang dipilih menggunakan *software* I-TASSER (*Iterative Threading ASSEMBLY Refinement*) menunjukkan bahwa imunotoksin scFv-Cj-CdtB memiliki afinitas dan spesifisitas yang tinggi untuk berikatan dengan reseptor HER2 [18].

Pada penelitian *in vitro* scFv dari trastuzumab yang dikonjugasi dengan PE24 (toksin) menggunakan N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionat (SPDP) menunjukkan toksisitas pada tingkat pikomolar untuk sel SKBR-3 dan BT-474 (HER2+). Pengujian pada sel MDA-MB-231 dan MCF-7 (HER2-) menunjukkan toksisitas yang jauh lebih rendah yaitu pada tingkat nanomolar [19].

Hasil yang sama ditunjukkan pada penelitian imunotoksin scFv (Herceptin)-PE-STX dan scFv (Herceptin)-PE. Setelah diinkubasi selama 48 jam dengan sel kanker SKBR-3, scFv (Herceptin)-PE-STX menunjukkan pengurangan proliferasi sel 15%, 27,3%, 36%, 46% dan 54% pada konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 µg/ml. Pada scFv (Herceptin)-PE pengurangan proliferasi sel sebesar 22,7%, 33,3%, 40%, 52% dan 60% pada konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 µg/ml. IC₅₀ scFv (Herceptin)-PE-STX dan scFv (Herceptin)-PE adalah 21,25 dan 19,98 µM. Pada sel MCF-7 tidak diamati pengaruh sitotoksitas dari kedua protein tersebut selain pada konsentrasi 75 dan 100 µg/ml yang menunjukkan sitotoksitas spesifik dari imunotoksin yang diuji [20].

Antibody-drug conjugates (ADC) adalah obat yang terdiri dari 3 komponen yaitu antibodi sebagai pemandu, obat, dan *linker* yang menghubungkan keduanya untuk memastikan pelepasan obat dan antibodi terjadi di sel target [21]. Trastuzumab deruxtecan (Enhertu[®]) adalah

salah satu ADC baru yang dirancang untuk mengobati tumor HER2 heterogen. Penelitian terhadap ADC DS-8201a menunjukkan ADC berpotensi sebagai obat kanker HER2+ [22]. Penggunaan antibodi utuh pada ADC memiliki batasan yaitu rendahnya penetrasi ke dalam sel atau jaringan. Hang Zhang et al. (2017) membentuk dua jenis ADC yang terdiri dari scFv Anti-HER2 HAS dan turunan maytansine dari DM1, kedua ADC tersebut adalah T-SA1-DM1 dan T-SA2-DM1. T-SA1 mengandung satu VL dan VH sedangkan T-SA2 mengandung sepasang VL dan VH yang dibuat berdasarkan sekuen asam amino trastuzumab. Berdasarkan pengujian secara *in vivo* pada model mencit yang diinduksi kanker HER2+ kedua ADC tersebut memiliki aktivitas pengikatan spesifik dan afinitas pengikatan yang sama dengan antibodi tidak terkonjugasinya, tetapi scFv-HSA-DM1 menunjukkan aktivitas antitumor yang lebih baik dibandingkan antibodi lengkap meskipun pada dosis yang lebih rendah. Inhibisi pertumbuhan tumor yang signifikan diamati dengan pemberian 20 mg/kg T-SA1-DM1 atau T-SA2-DM1 pada tikus. Pada kelompok perlakuan T-SA1-DM1 tiga dari enam tikus menunjukkan remisi lengkap tanpa pertumbuhan kembali kanker. Eksperimen tolerabilitas dilakukan sebelum eksperimen aktivitas antitumor pada tikus menunjukkan toleransi yang baik pada dosis 30 mg/kg dengan pemberian melalui injeksi intravena. Penelitian secara *in vivo* menunjukkan kedua ADC memiliki aktivitas sitotoksik yang baik pada sel kanker SKOV3 dan SKBR-3 (HER2+) tetapi sebaliknya pada sel MCF-7 dan MDA-MB-231 (HER2-) tidak atau hanya menunjukkan sedikit aktivitas sitotoksik [21].

Penelitian pada kombinasi scFv (e23sFv-9R) dengan *short interfering RNAs* (siRNAs) yaitu CXCR4si juga menunjukkan hasil yang positif. scFv dapat menghantarkan CXCR4si secara spesifik ke sel kanker payudara HER2+ dan bertahan di dalam sel selama setidaknya 36 jam sehingga ekspresi gen *CXCR4* terhambat, mengurangi proliferasi dan metastasis sel juga menginduksi apoptosis sel kanker payudara HER2+ secara *in vitro*. Secara *in vivo* pada tikus CXCR4si-e23sFv-9R tidak menimbulkan sitotoksik sistemik dan tidak mengaktifkan respon imun *innate* [23].

Kombinasi scFv dengan protein faktor fragmentasi DNA terkait apoptosis endogen (DFF40) dan *tandem repeat* sitokrom c berdasarkan *caspase-3 responsive peptide* (DEVD) juga menunjukkan hasil serupa dimana DFF40-scFv dan Cytc-scFv menargetkan sel kanker payudara HER2+ (SKBR-3 dan BT-474) secara spesifik dibandingkan sel kanker HER2- (MDA-MB-231 dan MCF-7). Setelah masuk ke dalam sel secara spesifik, protein terkait apoptosis

memulai jalur apoptosis endogen, yang secara signifikan mengurangi imunogenisitas dan efek samping toksik dari terapi [24].

Pendekatan imunoterapi yang tertarget untuk tumor HER2+ dengan menggunakan protein FN γ -scFv-EED (4D5scFvZZ) secara *in vitro* menunjukkan pengurangan sel hidup 60,6% dibandingkan kontrol setelah diberi perlakuan selama dua hari lalu diamati dengan pewarnaan Annexin V dan FACS. Secara *in vivo* pada dosis yang sangat rendah protein tersebut menunjukkan aktivitas yang lebih baik daripada antibodi anti-HER2, bahkan aktif pada tumor yang resisten terhadap terapi antibodi anti-HER2. Aktivitas protein tidak dipengaruhi tingkat ekspresi reseptor IFN γ dalam sel kanker [25].

ScFv anti-HER2 juga dapat ditambahkan sebagai pemandu pada *prodrug*. Enzim HChr6 yang dapat mengubah CNOB menjadi bentuk aktifnya yaitu MCHB dimasukkan ke dalam vesikel ekstraseluler (EV) yang telah ditandai dengan scFv anti-HER2 yaitu ML39. Hasil pengujian secara *in vitro* menunjukkan pemberian HChr6 dalam EV-scFv bersamaan dengan CNOB menghasilkan obat yang memberikan efek sitotoksik spesifik terhadap sel kanker HER2+. Secara *in vivo* pemberian senyawa tersebut dapat menyebabkan penghentian pertumbuhan tumor kanker payudara implan HER2+ pada tikus *athymic* [26].

Penelitian juga menunjukkan manfaat scFv pada *pre-targeted radioimmunotherapy* (PRIT). Pada PRIT antibodi yang dapat berikatan pada target dan hapten yaitu scFv anti-HER2-scFv anti-cotinine diinjeksikan terlebih dahulu. Setelah terdistribusi dan mencapai target ¹²⁵I-cotinine diinjeksikan, dimana senyawa berlabel radioaktif akan terlokalisasi pada target sedangkan senyawa radioaktif yang tidak terikat akan dikeluarkan dengan cepat dari sistem sirkulasi. Pengamatan dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dan *radioimmunoassay* (RIA) menunjukkan scFv Fc *fusion protein* dapat berikatan dengan reseptor HER2 dan cotinine. Pengamatan dengan *single-photon emission computerized tomography* (SPECT) menunjukkan kompleks scFv dan ¹²⁵I-cotinine terlokalisasi pada sel tumor HER2+ 4 jam setelah injeksi scFv dan peningkatan aktivitas radioaktif dapat diamati 1 jam setelah injeksi ¹²⁵I-cotinine. Pada tikus yang diinduksi tumor HER2- tidak teramati adanya sinyal radioaktif [27].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil revidu artikel scFv anti-HER2 dapat digunakan sebagai pemandu pada diagnosis kanker payudara HER2+ baik menggunakan MRI ataupun PET. Sebagai pemandu terapi kanker payudara scFv

memiliki potensi digunakan pada imunotoksin, *antibody-drug conjugate*, *prodrug*, dan *Pre-targeted Radioimmunotherapy* (PRIT). Penelitian pada senyawa scFv-HSA-DM1 bahkan menunjukkan aktivitas yang lebih baik dibandingkan menggunakan antibodi lengkap. Pemanfaatan dari scFv masih perlu diteliti lebih lanjut terkait efektivitas dan toksisitasnya dibandingkan terapi yang ada saat ini.

Referensi

- [1]. Globocan. Indonesian Fact Data Sheet [Internet]. 2020 [cited 2022 May 18]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>
- [2]. Harbeck N, Gnant M. Breast cancer. *Lancet*. 2017;389(10074):1134–50. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31891-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31891-8)
- [3]. Arteaga CL, Engelman JA. ERBB receptors: From oncogene discovery to basic science to mechanism-based cancer therapeutics. *Cancer Cell*. 2014;25(3):282–303. <https://doi.org/10.1016/j.CCR.2014.02.025>
- [4]. Chung A, Cui X, Audeh W, Giuliano A. Current status of anti-her2 therapies: predicting and overcoming herceptin resistance. 2013; <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2013.04.001>
- [5]. Merry CR, McMahon S, Forrest ME, Bartels CF, Saiakhova A, Bartel CA, et al. Transcriptome-wide identification of mRNAs and lincRNAs associated with trastuzumab-resistance in HER2-positive breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(33):53230–44. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.10637>
- [6]. Chiu ML, Goulet DR, Teplyakov A, Gilliland GL. Antibody Structure and Function: The Basis for Engineering Therapeutics. *Antibodies* 2019, Vol 8, Page 55. 2019;8(4):55. <https://doi.org/10.3390/ANTIB8040055>
- [7]. Satheeshkumar PK. Expression of Single Chain Variable Fragment (scFv) Molecules in Plants: A Comprehensive Update. *Mol Biotechnol*. 2020;62(3):151–67. <https://doi.org/10.1007/S12033-020-00241-3/FIGURES/4>
- [8]. Grilo AL, Mantalaris A. The Increasingly Human and Profitable Monoclonal Antibody Market. *Trends Biotechnol*. 2019;37(1):9–16. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2018.05.014>
- [9]. Kang TH, Jung ST. Reprogramming the Constant Region of Immunoglobulin G Subclasses for Enhanced Therapeutic Potency against Cancer. *Biomolecules*. 2020;10(3). <https://doi.org/10.3390/BIOM10030382>
- [10]. Chen F, Ma K, Madajewski B, Zhuang L, Zhang L, Rickert K, et al. Ultrasmall targeted nanoparticles with engineered antibody fragments for imaging detection of HER2-overexpressing breast cancer. *Nat Commun* 2018 91. 2018;9(1):1–11. <https://doi.org/10.1038/S41467-018-06271-5>
- [11]. Ulaner GA, Hyman DM, Ross DS, Corben A, Chandralapaty S, Goldfarb S, et al. Detection of HER2-Positive Metastases in Patients with HER2-Negative Primary Breast Cancer Using 89Zr-Trastuzumab PET/CT. *J Nucl Med*. 2016;57(10):1523–8. <https://doi.org/10.2967/JNUMED.115.172031>
- [12]. Laforest R, Lapi SE, Oyama R, Bose R, Tabchy A, Marquez-Nostra B V, et al. [89Zr]Trastuzumab: Evaluation of Radiation Dosimetry, Safety, and Optimal Imaging Parameters in Women with HER2-Positive Breast Cancer. *Mol Imaging Biol* 2016 186. 2016;18(6):952–9. <https://doi.org/10.1007/S11307-016-0951-Z>
- [13]. Ueda M, Hisada H, Temma T, Shimizu Y, Kimura H, Ono M, et al. Gallium-68-Labeled Anti-HER2 Single-Chain Fv Fragment: Development and In Vivo Monitoring of HER2 Expression. *Mol Imaging Biol*. 2015;17(1):102–10. <https://doi.org/10.1007/S11307-014-0769-5/FIGURES/4>

- [14]. Alric C, Hervé-Aubert K, Aubrey N, Melouk S, Lajoie L, Mème W, et al. Targeting HER2-breast tumors with scFv-decorated bimodal nanoprobes. *J Nanobiotechnology*. 2018;16(1). <https://doi.org/10.1186/S12951-018-0341-6>
- [15]. Ding N, Sano K, Kanazaki K, Ohashi M, Deguchi J, Kanada Y, et al. In Vivo HER2-Targeted Magnetic Resonance Tumor Imaging Using Iron Oxide Nanoparticles Conjugated with Anti-HER2 Fragment Antibody. *Mol Imaging Biol* 2016 186. 2016;18(6):870–6. <https://doi.org/10.1007/S11307-016-0977-2>
- [16]. Allahyari H, Heidari S, Ghamgosha M, Saffarian P, Amani J. Immunotoxin: A new tool for cancer therapy. *Tumor Biol*. 2017;39(2):1–11. <https://doi.org/10.1177/1010428317692226>
- [17]. Raja SM, Desale SS, Mohapatra B, Luan H, Soni K, Zhang J, et al. Marked enhancement of lysosomal targeting and efficacy of ErbB2-targeted drug delivery by HSP90 inhibition. *Oncotarget*. 2016;7(9):10522. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.7231>
- [18]. Vafadar A, Taheri-Anganeh M, Jamali Z. In Silico Design and Evaluation of scFv-CdtB as a Novel Immunotoxin for Breast Cancer Treatment Analysis of Suitable Signal Peptides for Designing a Secretory Thermostable Cyanide Degrading Nitrilase: An in Silico Approach View project Methotrexate View p. *Artic Int J Cancer Manag*. 2020; <https://doi.org/10.5812/ijcm.96094>
- [19]. Lee S, Park S, Nguyen MT, Lee E, Kim J, Baek S, et al. A chemical conjugate between HER2-targeting antibody fragment and Pseudomonas exotoxin A fragment demonstrates cytotoxic effects on HER2-expressing breast cancer cells. *BMB Rep*. 2019;52(8):496–501. <https://doi.org/10.5483/BMBREP.2019.52.8.250>
- [20]. Goleij Z, Mahmoodzadeh Hosseini H, Sedighian H, Behzadi E, Halabian R, Sorouri R, et al. Breast cancer targeted/ therapeutic with double and triple fusion Immunotoxins. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;200:105651. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105651>
- [21]. Zhang H, Wang Y, Wu Y, Jiang X, Tao Y, Yao Y, et al. Therapeutic potential of an anti-HER2 single chain antibody–DM1 conjugates for the treatment of HER2-positive cancer. *Signal Transduct Target Ther* 2017 21. 2017;2(1):1–11. <https://doi.org/10.1038/SIGTRANS.2017.15>
- [22]. Ogitani Y, Hagihara K, Oitate M, Naito H, Agatsuma T. Bystander killing effect of DS-8201a, a novel anti-human epidermal growth factor receptor 2 antibody–drug conjugate, in tumors with human epidermal growth factor receptor 2 heterogeneity. *Cancer Sci*. 2016;107(7):1039–46. <https://doi.org/10.1111/CAS.12966>
- [23]. Jiang K, Li J, Yin J, Ma Q, Yan B, Zhang X, et al. Targeted delivery of CXCR4-siRNA by scFv for HER2(+) breast cancer therapy. *Biomaterials*. 2015;59:77–87. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2015.04.030>
- [24]. Lu D, Guo Y, Hu Y, Wang M, Li C, Gangrade A, et al. Fusion of apoptosis-related protein Cytochrome c with anti-HER-2 single-chain antibody targets the suppression of HER-2+ breast cancer. *J Cell Mol Med*. 2021;25:10638–49. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17001>
- [25]. Zhang H, Lam L, Nagai Y, Zhu Z, Chen X, Ji MQ, et al. A targeted immunotherapy approach for HER2/neu transformed tumors by coupling an engineered effector domain with interferon- γ . *Oncoimmunology*. 2018;7(4):e1300739. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1300739>
- [26]. Wang J-H, Forterre A V, Zhao J, Frimannsson DO, Delcayre A, Antes TJ, et al. Anti-HER2 scFv-Directed Extracellular Vesicle-Mediated mRNA-Based Gene Delivery Inhibits Growth of HER2-Positive Human Breast Tumor Xenografts by Prodrug Activation. *Mol Cancer Ther*. 2018;17(5):1133–42. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0827>
- [27]. Yoon S, Kim YH, Kang SH, Kim SK, Lee HK, Kim H, et al. Bispecific Her2 \times cotinine antibody in combination with cotinine-(histidine)2-iodine for the pre-targeting of Her2-positive breast cancer xenografts. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(2):227–33. <https://doi.org/10.1007/S00432-013-1548-4/FIGURES/5>



Copyright © 2023 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)