

Hubungan Ekspresi Sex Determining Region Y Box 2 (SOX2) dengan Grading Histopatologi, Invasi Vaskular Intramural dan Ekstramural pada Adenokarsinoma Kolorektal

Diana Rizki, Delyuzar, T. Ibnu Alferraly, Betty, Soekimin, Joko S. Lukito
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
Jl. Universitas No. 1
Medan 20155.

Received : 22-04-2022
Accepted : 06-05-2022
Published : 22-05-2023

Penulis korespondensi: dr. Diana Rizki, SpPA, Dr. dr. Delyuzar, SpPA(K).
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
Jl. Universitas No. 1, Medan 20155.
e-mail: dr.dianarizki08@gmail.com; dr_delyuzar@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang

Angka kejadian dan kematian karsinoma kolorektal (KKR) di seluruh dunia sangat bervariasi (mencapai 10 kali lipat). Sembilan puluh persen keganasan pada kolorektal adalah jenis adenokarsinoma. Ekspresi imunohistokimia SOX2 dikaitkan dengan tumor derajat tinggi, invasi, metastasis serta prediktor prognostik pada adenokarsinoma kolorektal. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis hubungan ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan *grading* histopatologi, invasi vaskular intramural dan ekstramural pada adenokarsinoma kolorektal.

Metode

Studi analitik dengan pendekatan potong lintang terhadap 35 sampel yang berasal dari Unit Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan. Dilakukan pewarnaan imunohistokimia SOX2 *mouse monoclonal antibody* (Bioassay Technology Laboratory) serta dinilai ekspresinya dengan *low* (0-3) dan *high* (4-6). Perbedaan ekspresi dianalisis dengan uji korelasi *Chi-Square* dan *Mann-Whitney*.

Hasil

Penderita adenokarsinoma kolorektal terbanyak pada usia 51-60 tahun (34,3%), jenis kelamin laki-laki lebih banyak dijumpai (60%), lokasi tumor di rektum (40%), kedalaman invasi T3 (74,3%), *low grade* (60%), invasi vaskular intramural (40%), serta ekspresi SOX2 terbanyak didapati *high* ekspresi pada inti dan sitoplasma (84,6%) Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi SOX2 dengan *grading* histopatologi ($p=0,884$) dan invasi vaskular baik intramural maupun ekstramural ($p=0,390$).

Kesimpulan

Tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara ekspresi SOX2 dengan *grading* histopatologi dan invasi vaskular baik intramural maupun ekstramural.

Kata kunci: Sex determining region Y box 2, *grading*, invasi vaskular intramural, invasi vaskular ekstramural.

Association of Sex Determining Region Y Box 2 (SOX2) Expression with Histopathological Grading, Intramural and Extramural Vascular Invasion in Colorectal Adenocarcinoma

ABSTRACT

Background

Incidence and mortality of colorectal carcinoma (CRC) worldwide varies widely (10 times). Ninety percent colorectal malignancies are adenocarcinomas. Expression SOX2 is associated with high tumor grade, invasion, metastasis as well as a prognostic predictor of colorectal adenocarcinoma. Objective: Analyze the association of SOX2 immunohistochemistry expression with histopathological grading, intramural and extramural vascular invasion in colorectal adenocarcinoma.

Methods

Analytical study using a cross-sectional approach on 35 samples from the Anatomic Pathology Unit, H. Adam Malik Hospital, Medan. Immunohistochemical staining of SOX2 mouse monoclonal antibody (Bioassay Technology Laboratory) was performed and expression assessed as low (0-3) and high (4-6). Differences in expression were analyzed by Chi-square and Mann-Whitney correlation tests.

Results

The most patients with colorectal adenocarcinoma were at age of 51-60 years (34.3%), male sex was more common (60%), the most tumor location was in the rectum (40%), the most depth of invasion was T3 (74.3%), low grade was more common (60%), more intramural vascular invasion was found (40%), and the highest expression of SOX2 was found to high expression which mostly in the nucleus and cytoplasm (84.6%) There was no significant association between SOX2 expression and histopathological grading ($p= 0.884$) and there was no significant association between SOX2 expression and vascular invasion, both intramural and extramural ($p= 0.390$).

Conclusion

There was no significant association between SOX2 expression and histopathological grading and vascular invasion, both intramural and extramural.

Keywords: Sex determining region Y box 2, *grading*, intramural vascular invasion, extramural vascular invasion.

PENDAHULUAN

Angka kejadian dan kematian karsinoma kolorektal (KKR) di seluruh dunia sangat bervariasi (mencapai 10 kali lipat).¹ Menurut Globocan 2020, karsinoma kolorektal menempati urutan ketiga terbanyak di dunia setelah karsinoma payudara dan paru serta merupakan penyebab kematian terbanyak di dunia dengan kasus baru sekitar 1.931.590 (10%). Survei angka kejadian karsinoma kolorektal di Indonesia ditemukan sebanyak 34.189 (8,6%) kasus baru dan menduduki urutan keempat terbanyak setelah kanker payudara, servik uteri, dan paru.² Insidensi karsinoma kolorektal dari data rekam medik Rumah Sakit H. Adam Malik Medan pada beberapa tahun mengalami peningkatan yaitu di antaranya tahun 2015 (75 kasus), 2016 (83 kasus) dan 2017 (98 kasus).³

Sembilan puluh persen keganasan pada kolorektal adalah jenis adenokarsinoma. Patogenesis adenokarsinoma kolorektal pada umumnya didahului adanya riwayat lesi prekursor seperti adenoma dan displasia yang kemudian akan berkembang menjadi karsinoma hingga bermetastasis dalam beberapa dekade.^{4,5} Penelitian dalam waktu 15 tahun terakhir ini, membuktikan bahwa keganasan termasuk karsinoma kolorektal dianggap sebagai penyakit sel punca. Teori tentang *cancer stem cell* (CSC) baik primer maupun metastasis berkembang dari kelompok kecil sel tumor yang memiliki karakteristik untuk memperbaiki diri (*self-renewal*), pluripotensi, sebagai inisiasi serta pertumbuhan tumor.^{6,7}

Sex determining region Y box 2 (SOX2) merupakan protein terdiri dari 317 asam amino dan termasuk dalam famili SOX faktor transkripsi (*SRY-related high mobility group box*). SOX2 memainkan peran penting dalam pemeliharaan untuk memperbaiki diri dan pluripotensi *stem cell embryonal* dan dalam produksi pluripotent terinduksi sel punca.^{8,9} Menurut Han *et al*, ekspresi SOX2 menyebabkan *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) dan ekspresi SOX2 berhubungan dengan metastasis hati dan kelenjar getah bening pada pasien karsinoma kolorektal. Mengingat peran penting SOX2 terhadap metastasis, SOX2 memiliki potensi untuk menjadi target agen terapi baru.¹⁰

Berdasarkan uraian sebelumnya maka peneliti ingin mengetahui peranan SOX2 pada adenokarsinoma kolorektal berdasarkan *grading* histopatologi, invasi vaskular intramural dan invasi vaskular ektramural.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara studi analitik dengan pendekatan *cross sectional* yang bertujuan untuk menilai hubungan ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan *grading* histopatologi, invasi vaskular intramural dan invasi vaskular ektramural pada adenokarsinoma kolorektal. Kami meneliti 35 kasus diambil sejak tahun 2018-2020 yang berasal dari jaringan operasi kolorektal yang didiagnosis sebagai adenokarsinoma kolorektal di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara dan Unit Patologi Anatomi Rumah Sakit Adam Malik, Medan. Sampel dinilai dari blok parafin yang memenuhi kriteria inklusi dengan teknik *consecutive sampling*.

Penelitian ini menggunakan pulasan imunohistokimia SOX2 pada blok parafin yang diambil dari adenokarsinoma kolorektal. Penilaian protein SOX2 menggunakan *mouse monoclonal antibody* (*Bioassay Technology Laboratory*) dengan pulasan positif pada inti dan sitoplasma sel tumor. Skor ditentukan berdasarkan intensitas ekspresi dan persentase sel. Kategori penilaian persentase sel meliputi 0 negatif, 1+=30%, 2+=60%, 3+=60%. Kategori intensitas ekspresi meliputi 0=tidak terwarnai, 1+=lemah, 2+=sedang, 3+=kuat. Peneliti menilai ekspresi SOX2 dengan memodifikasi metode penelitian dari Neumann *et al*, di mana hasil pengolahan dari persentase dan intensitas sel dengan ekspresi *low*=nilai 0-3 dan *high*=nilai 4-6.¹¹ Kontrol positif yang digunakan yaitu jaringan dari biopsi karsinoma paru. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *Chi-Square* dan *Man-Whitney*. Nilai $p < 0,05$ dinyatakan bermakna secara statistik.

HASIL

Pada penelitian ini didapati sebanyak 35 sampel adenokarsinoma kolorektal (Tabel 1). Data usia yang diperoleh pada penelitian ini terbanyak pada usia 51-60 tahun yaitu 12 kasus (34,3%). Penderita adenokarsinoma kolorektal lebih banyak pada jenis kelamin laki-laki yaitu 21 kasus (60%) dari pada wanita 14 kasus (40%). Lokasi tumor terbanyak di rektum yaitu 14 kasus (40%). Kedalaman invasi tumor terbanyak T3 yaitu 26 kasus (74,3%), sedangkan kedalaman invasi pada T1 tidak dijumpai.

Tabel 1. Distribusi frekuensi karakteristik klinis meliputi usia, jenis kelamin, lokasi dan kedalaman invasi.

Karakteristik	Jumlah (n= 35)	Persentase (%)
Usia		
20-30 tahun	1	2,9
31-40 tahun	7	20,0
41-50 tahun	6	17,1
51-60 tahun	12	34,3
> 60 tahun	9	25,7
Jenis Kelamin		
Laki-laki	21	60,0
Perempuan	14	40,0
Lokasi		
Kolon kanan	8	22,9
Kolon kiri	13	37,1
Rektum	14	40,0
Kedalaman Invasi		
T1	0	0
T2	7	20,0
T3	26	74,3
T4	2	5,7

Grading histopatologi pada penelitian ini lebih banyak ditemukan pada *low grade* yaitu 21 kasus (60%) di bandingkan *high grade* yaitu 14 kasus (40%). Invasi vaskular dinilai berdasarkan invasi vaskular intramural dan ektramural di mana terbanyak dijumpai invasi vaskular intramural yaitu 14 kasus (40%), dan yang tidak adanya invasi vaskular intramural maupun ektramural ditemukan hanya 1 kasus (2,8%). Ekspresi SOX2 terbanyak dijumpai pada ekspresi *high* yaitu 23 kasus (61,9%) dengan ekspresi dominan dijumpai pada inti dan sitoplasma yaitu 22 kasus (84,6%) dan ekspresi *low* sebanyak 12 kasus (34,3%) dengan ekspresi dominan pada sitoplasma yaitu 7 kasus (58,3%) (Tabel 2).

Tabel 4. Korelasi ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan invasi vaskular intramural dan ektramural pada adenokarsinoma kolorektal.

Ekspresi SOX2	Invasi vaskular				p-value
	Negatif N (%)	IMVI N (%)	EMVI N (%)	IMVI & EMVI N (%)	
Ekspresi <i>low</i>	1 (8,3)	5 (41,7)	4 (33,3)	2 (16,7)	0,390
Ekspresi <i>high</i>	1 (4,4)	7 (30,4)	7 (30,4)	8 (34,8)	
Total	2	12	11	10	

*Uji Mann-Whitney U

Hasil uji korelasi memperlihatkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan invasi vaskular intramural dan ektramural di mana nilai $p=0,390$ ($p<0,05$) (Tabel 4).

Tabel 2. Distribusi frekuensi karakteristik klinis meliputi *grading* histopatologi, invasi vaskular dan ekspresi SOX2.

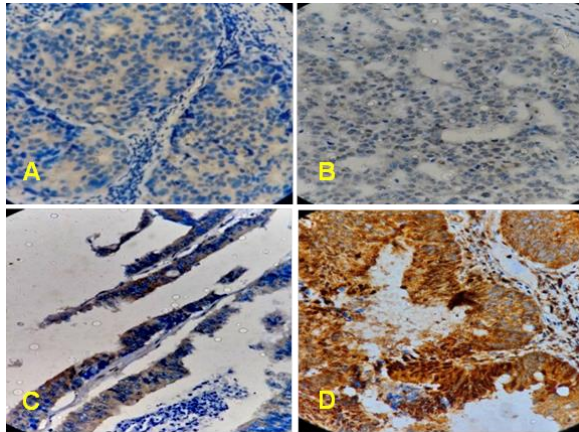
Karakteristik	Jumlah (n= 35)	Persentase (%)
<i>Grading</i> histopatologi		
<i>Low Grade</i>	21	60,0
<i>High Grade</i>	14	40,0
Invasi vaskular		
Negatif	2	5,7
IMVI	12	34,2
EMVI	11	31,5
IMVI dan EMVI	10	28,6
Ekspresi SOX2		
<i>Low</i>	12	34,3
Inti	0	0
Sitoplasma	7	58,3
Inti & sitoplasma	5	41,6
<i>High</i>	23	61,9
Inti	0	0
Sitoplasma	1	14,3
Inti & sitoplasma	22	84,6

Tabel 3. Korelasi ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan *grading* histopatologi adenokarsinoma kolorektal.

Ekspresi SOX2	<i>Grading</i> histopatologi				p-value
	<i>Low</i>		<i>High</i>		
	n	%	n	%	
Ekspresi <i>low</i>	7	58,3	14	60,9	0,884
Ekspresi <i>high</i>	5	41,7	9	39,1	
Total	12	100	23	100	

*Uji Chi Square

Hasil uji korelasi memperlihatkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan *grading* histopatologi di mana nilai $p=0,884$ ($p<0,05$) (Tabel 3).



Gambar 1. Mikroskopis ekspresi imunohistokimia SOX2. A. Ekspresi SOX2 *low* (Sitoplasma), B. Ekspresi SOX2 *low* (inti dan sitoplasma), C. Ekspresi SOX2 *high* (sitoplasma), D. Ekspresi SOX2 *high* (inti dan sitoplasma). (Pembesaran 400 kali).

DISKUSI

Kejadian karsinoma meningkat seiring dengan bertambahnya usia disebabkan oleh proses penuaan sehingga terjadi penurunan fungsi sel dan jaringan dalam mempertahankan struktur dan memperbaiki diri dan akan terjadi penumpukan kerusakan sel.¹² Maka dari itu, diperlukan *screening* pada usia ≥ 50 tahun karena memiliki risiko lebih tinggi untuk terjadinya karsinoma kolorektal. Meningkatnya angka kejadian karsinoma kolorektal pada laki-laki berhubungan dengan tingkat estradiol. Estradiol dalam jumlah normal berfungsi dalam spermatogenesis dan fertilitas. Namun, jumlah estradiol yang berlebihan menghambat sekresi protein gonadotropin seperti LH yang selanjutnya akan mengurangi sekresi *testosterone*. *Testosterone* yang tinggi terbukti memiliki hubungan dengan penurunan risiko terjadinya karsinoma kolorektal.¹³

Menurut WHO (2019), karsinoma kolorektal paling sering terjadi pada lokasi sisi kiri dan rektum. Hal ini mungkin berhubungan dengan patogenesis molekuler karsinoma kolorektal.⁴ Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Bedge *et al*, di mana T3 lebih banyak dijumpai yaitu 218 kasus selanjutnya diikuti T2 sebanyak 70 kasus, T4a 50 kasus, T1 28 kasus dan T4b 15 kasus.¹⁴ Kedalaman invasi tumor adalah penting. Kedalaman invasi dan batas reseksi lokal dari karsinoma sangat penting dalam menentukan risiko kekambuhan lokal.

Grading adenokarsinoma kolorektal pada penelitian ini ditentukan berdasarkan derajat diferensiasi menurut WHO 2019, lebih banyak ditemukan pada yang *low grade* dibandingkan *high grade*. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Nasution di RSUP H. Adam Malik Medan (2015-2017) yang membagikan derajat diferensiasi menurut WHO 2010, menemukan derajat diferensiasi terbanyak yaitu *well differentiated* sebanyak 36 kasus (44,4%) dan *moderately differentiated* sebanyak 29 kasus (35,8%) sedangkan *poorly differentiated* sedikit ditemukan yaitu 16 kasus (19,8%).³ *Grading* biasanya berhubungan dengan prognosis dan kelangsungan hidup seseorang.

Penilaian lain untuk menentukan prognosis pada adenokarsinoma kolorektal adalah dengan menilai invasi vaskular intramural (*IMVI*) dan invasi vaskular ektramural (*EMVI*). Pada penelitian ini ditemukan kasus terbanyak pada invasi vaskular intramural. Betge *et al*, menyatakan bahwa invasi vaskular (vena) terbukti menjadi prediktor yang kuat dan berhubungan terhadap *outcome*. Penderita yang mengalami invasi vaskular dua kali lebih mungkin mengalami perkembangan karsinoma lebih cepat atau meninggal dibandingkan dengan penderita yang tidak memiliki invasi vaskular.¹⁴ Penderita dengan adanya invasi vaskular lebih sering dengan obstruksi usus besar.¹⁵

SOX2 berkontribusi terhadap perkembangan karsinoma melalui kontrol fungsionalnya terhadap sel pluripotensi dan pembaruan diri. Selain itu, ekspresi SOX2 berkontribusi untuk menjaga fitur sel punca dari sel tumor, yang memiliki peran penting, dalam sifat tumorigenik.¹⁶ Pada penelitian ini menilai ekspresi imunohistokimia SOX2 pada adenokarsinoma kolorektal, di mana terbanyak dijumpai ekspresi *high* dengan dominan terwarnai pada inti dan sitoplasma (tabel 1). Pada kepustakaan mengatakan bahwa SOX2 pada perkembangan awal embrional terekspresi di inti sel namun pada tahap selanjutnya SOX2 dapat terekspresi pada sitoplasma.¹⁷ Pada salah satu kepustakaan juga menjelaskan bahwa lokasi ekspresi SOX2 di sitoplasma dijumpai pada CSC karsinoma kolorektal, dan sebaliknya pada *non-CSC* karsinoma kolorektal dijumpai SOX2 terekspresi di inti sel.¹⁸ Pada kepustakaan lain menjelaskan bahwa ekspresi SOX2 di sitoplasma berhubungan erat dengan lokasi asetilasi pada inti sel di mana sinyal SOX2 dikirim ke sitoplasma selama diferensiasi sel embrional. Pada pada

hepatocellular carcinoma menemukan ekspresi SOX2 dijumpai pada sitoplasma.¹⁷ Penelitian yang dilakukan Tong *et al*, pada retinoblastoma menemukan ekspresi SOX2 terbanyak pada sitoplasma, membran sel dan inti sel tumor.¹⁹ Ekspresi SOX2 di inti sel dan sitoplasma pada karsinoma kolorektal telah menunjukkan peningkatan level protein dengan meningkatkan kemampuan untuk pembentukan koloni, perkembangan tumor, dan migrasi.¹⁶

Penelitian ini difokuskan pada hubungan ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan *grading* histopatologi, invasi vaskular intramural dan ektramural pada adenokarsinoma kolorektal. Hasil penelitian tampak bahwa ekspresi *low* SOX2 terbanyak yaitu *high grade* (derajat diferensiasi sel yang buruk) pada adenokarsinoma kolorektal. Setelah dilakukan uji korelasi statistik tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan *grading* histopatologi adenokarsinoma kolorektal ($p > 0,05$). Pada penelitian ini terlihat bahwa semakin tinggi derajat diferensiasi maka ekspresi SOX2 rendah. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Liu *et al*, menemukan bahwa tidak terdapatnya hubungan yang bermakna antara ekspresi SOX2 dengan derajat diferensiasi/ histologi *grade* ($p = 0,256$).²⁰ Penelitian lain yang dilakukan Huang *et al*, juga melaporkan *down-regulated* SOX2 pada karsinoma gaster, dan ekspresi *low* SOX2 berperan pada prognosis yang lebih buruk.²¹ Namun, penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Chen *et al*, menemukan bahwa tingkat ekspresi SOX2 yang tinggi secara signifikan berhubungan dengan diferensiasi yang buruk (*poorly differentiation*) dan metastasis KGB serta stadium lanjut.²² Pada tingkat sub seluler, SOX2 menghambat migrasi dan invasi sel karsinoma dengan ekspresi *p21* pada inti sel.²² Ekspresi SOX2 yang tidak konsisten pada sel tumor mungkin karena heterogenitas karsinoma. SOX2 bertanggung jawab untuk menghasilkan pertumbuhan agresif tumor, invasi, dan resistensi terhadap terapi konvensional pada berbagai karsinoma.²² Pada salah satu kepustakaan menerangkan bahwa *miRNA* (*miRNA-203* dan *miRNA-126*) menekan terjadinya proses translasi sehingga menyebabkan tumorigenitas berkurang, dan pada penelitian lain menunjukkan bahwa *miRNA-429* menekan apoptosis dengan *down-regulated* SOX2.²³

Pada penelitian ini bahwa kecenderungan SOX2 terekspresi pada adenokarsinoma kolorektal yang mengalami invasi vaskular baik invasi

vaskular intramural, ektramural maupun keduanya. Namun, telah di uji statistik tidak adanya hubungan yang signifikan antara ekspresi imunohistokimia SOX2 dengan invasi vaskular intramural maupun ektramural ($p > 0,05$). Menurut peneliti, hal ini mungkin disebabkan oleh peningkatan ekspresi SOX2 dapat memicu proses terjadinya *EMT* secara tidak langsung sehingga mempermudah terjadinya invasi vaskular. Namun, penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Takeda *et al*, yang menemukan adanya hubungan yang signifikan ekspresi SOX2 dengan invasi vaskular (vena) dengan nilai $p = 0,026$ dan ekspresi SOX2 merupakan faktor prognostik yang signifikan ($p = 0,023$).²⁴ Berdasarkan kepustakaan SOX2 merupakan faktor transkripsi yang terlibat dalam migrasi sel, invasi, dan metastasis melalui aktivasi *EMT* atau jalur sinyal *Wnt*. Temuan ini menunjukkan sel karsinoma kolorektal mengekspresikan SOX2 dalam batas waktu tertentu dan SOX2 berperan dalam perkembangan dan pertumbuhan sel tumor.²⁴

KESIMPULAN

Penelitian ini tidak dijumpai hubungan yang bermakna antara ekspresi SOX2 dengan *grading* histopatologi pada penderita adenokarsinoma kolorektal serta tidak terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi SOX2 dengan invasi vaskular intramural (*IMVI*), ektramural maupun keduanya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fitzmaurice C, Allen C. Global Regional and National Cancer Incidence Mortality Years of Life Lost Years Lived with Disability and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol.* 2017; 3:524
2. Globocan. Colorectal Cancer. International Agency to Research on Cancer; 2020.
3. Nasution, N. Karakteristik Pasien Kanker Kolorektal di RSUP H. Adam Malik Medan 2015-2017. Universitas Sumatera Utara; Repositori Institusi USU. 2018; 1-83.
4. Nagtegaal, I.D., Arends, M.J., Salto-Teliez, MTumors of the Colon and Rectum. Colorectal Adenocarcinoma. In: Bosman TF, Carnero F, Hruban HR, Theise DN, editors. World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumors

- of the Digestive System. 5th ed. France. IARC Press. 2019; 177-87.
5. Rawla P, Sunkara T, and Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterology Rev.* 2019; 14 (2): 89-103.
 6. O'Connor MI, Xiang D, Shingdar S, McDonald J, Li Y, Wang T, Pu C. Cancer stem cells: A contentious hypothesis now moving forward. *cancer letter; Elsevier* 2013; 1-8.
 7. Kaufhold S, Garban H, Bonavida B. Yin Yang 1 is associated with cancer stem cell transcription factors (SOX2, OCT4, BMI1) and clinical implication. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research; Biomed Central.* 2016; 1-14.
 8. Weina, K., & Utikal, J. SOX2 and cancer: current research and its implications in the clinic. *Clin Translat Med.* 2014; 19(3), 1-10.
 9. Han X, Fang X, Lou X, Hua D, Ding W, Foltz G, Hood L. Silencing SOX2 induced epithelial-mesenchymal transition and its expression predicts liver and lymph node metastasis of CRC patients. *Plos One.* 2012; 7, 1-9.
 10. Han YT, Chen XH, Gao H, Ye JI, Wang CB. Physcion inhibits the metastatic potential of human colorectal cancer SW620 cells in vitro by suppressing the transcription factor SOX2. *Acta Pharmacologica Sinica. Original Article.* 2016; 37, 264-75.
 11. Neumann J, Bahr F, Horst D, Kriegl L, Engel J, Luque RM, *et al.* SOX2 expression correlates with lymph-node metastases and distant spread in right-sided colon cancer. *BMC Cancer.* 2011;11:518. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/11/518>
 12. Gunasekaran V, Ekawati NP, Sumadi IWJ. Karakteristik klinikopatologi karsinoma kolorektal di RSUP Sanglah, Bali, Indonesia tahun 2013-2017. *Original Article, Intisari Sains Medis.* 2019; 10(3), 552-6.
 13. Lin JH, Zhang SM, Rexrode KM, Manson JE, Chan AT, Wu K, *et al.* Association between sex hormones and colorectal cancer risk in men and women. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013; 11 (4), 419-24.
 14. Betge J, Polheimer MJ, Lindtner RA, Komprat P, Schlemmer A, Rehak P, Vieth M. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer. Prognostic Significance and Quality of Pathology Reporting. *Original Article, 2012; 628-38.*
 15. Leijssen LGJ, Dinaux AM, Amri R, Taylor MS, Deshpande V, Bordeianou LG, *et al.* Impact of intramural and extramural vascular invasion on stage II-III colon cancer outcomes. *J Surg Oncol.* 2019; 119: 749-57. Pengarangnya kurang 1 belum ditulis
 16. Talebi A, Kianersi K, Beiraghdar M. Comparison of gene expression of SOX2 and OCT4 in normal tissue, polyps, and colon adenocarcinoma using immunohistochemical staining. *Advanced Biomed Res.* 2015; 234(4): 1-20.
 17. Abaoushousha T, Mamdouh S, Hamdy H, Helal N, Khorshed F, Safwat G, *et al.* Immunohistochemical and Biochemical Expression Patterns of TTF-1, RAGE, GLUT-1 and SOX2 in HCV-Associated Hepatocellular Carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018; 19(1): 219-27.
 18. Schaijik BV, Davis PF, Wickremeseke AC, Tan ST, Itinteang T. Subcellular localisation of the stem cell markers OCT4, SOX2, NANOG, KLF4 and c-MYC in cancer: A review. *J Clin Pathol.* 2018; 71, 88-91.
 19. Tong B, Zeng J, Wu Y, Xiong W. Enhanced SOX2 expression in retinoblastoma tissues and peripheral blood is associated with the clinicopathological characteristics of the disease. *Oncol Lett.* 2015; 9: 1244-8.
 20. Liu H, Du L, Wen Z, Yang Y, Li J, Dong Z, *et al.* Sex determining region Y-box 2 inhibits the proliferation of colorectal adenocarcinoma cells through the mTOR signaling pathway. *Int J Mol Med.* 2013; 32, 59-66.
 21. Huang Y, Chen Y, Zhu L, Chen M, Huang Yu, Zhang J, *et al.* SOX2 inhibits metastasis in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2016; 142(6): 1221-30.
 22. Chen J, Chen S, Zhuo L, Zhu Y, Zheng H. Regulation of cancer stem cell properties, angiogenesis, and vasculogenic mimicry by miR-450a-5p/SOX2 axis in colorectal cancer. *Cell Death and Disease.* 2020; 11(173), 1-13.
 23. Grimm D, Bauer J, Wise P, Kruger M, Simonsen U, Wehland M, Corydon TJ. The role of SOX family members in solid tumours and metastasis. *Seminarsin Cancer Biology.* Elsevier. 2019; 1-32.
 24. Takeda K, Mizushima T, Yokoyama Y, Hirose H, Wu X, Qian Y, *et al.* SOX2 is associated with cancer stem-like properties in colorectal cancer. *Scientific Reports.* 2018; 8:1-9.