

Peran *Latent Membrane Protein* (LMP) dan *MicroRNA* dalam Patogenesis Karsinoma Nasofaring yang disebabkan oleh Virus Epstein-Barr

Muhammad Muhlis R¹, Mukhlis Imanto²

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Ilmu Penyakit Telinga Hidung Tenggorokan Kepala dan Leher, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan salah satu keganasan yang sering terjadi di Indonesia dan berasal dari sel epitel skuamosa pada daerah nasofaring khususnya pada fossa rosenmuller. Angka kejadian tertinggi KNF terjadi pada negara di kawasan Asia Tenggara dan Cina bagian Selatan. Insidensi terbesar KNF di Indonesia berada di Pulau Jawa. Sampai saat ini belum banyak data yang menyebutkan penyebab dan bagaimana patogenesis terjadinya KNF secara pasti. Beberapa literatur menyebutkan KNF dapat terjadi pada orang-orang dengan faktor risiko yang tinggi yaitu jenis kelamin pria, usia 30-50 tahun, riwayat KNF pada keluarga, konsumsi makanan yang diawetkan, dan infeksi salah satu *herpesvirus*, yaitu *Epstein-Barr Virus* (EBV). Gejala yang ditimbulkan oleh pasien KNF secara spesifik dilihat sesuai dengan tempat yang terkena, yakni nasofaring, telinga, saraf, dan leher. Infeksi EBV sangat berkaitan dalam patogenesis KNF yang terbukti dari tingginya titer antivirus EBV yang diukur pada pasien KNF. Patogenesis KNF terkait EBV berhubungan dengan *latent membrane protein* (LMP) 1 dan 2 serta *microRNA*. *Latent membrane protein* 1 mengubah banyak molekul pada sel seperti *Nuclear kappa B* (NF-κB), berpengaruh terhadap metabolisme sel, serta menekan sistem antitumor seperti PTEN dan AMPK sehingga pertumbuhan sel tumor tidak terhambat. *Latent membrane protein* 2 memiliki peran dalam perubahan EBV ke fase laten dan perbanyakkan sel punca tumor. Sedangkan *microRNA* hanya memediasi sel berproliferasi, tidak mengalami apoptosis sehingga menjadi karsinogenik.

Kata kunci: EBV, karsinoma nasofaring, LMP, *microRNA*, patogenesis

The Role of Latent Membrane Protein (LMP) and MicroRNA in the Pathogenesis of Nasopharyngeal Carcinoma Caused by Epstein-Barr Virus

Abstracts

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is one of carcinomas that often happens in Indonesia and is from squamous epithelial cell in nasopharyng especially in rosenmuller fossa. The highest incidence of NPC happens in countries of Southeast Asia and the southern of China. The highest incidence of NPC in Indonesia takes place in Java Island. Till now, there is no sufficient data that mentions the causes dan pathogenesis of NPC. Several literatures state that NPC occurs in people with high risks of male gender, age of 30-50 years old, NPC in family history, consumption of preserved or canned food, and one of herpesvirus infection, Epstein-Barr Virus (EBV). The symptoms seen in patients depends on the affected organs which are divided into 4, nasopharyngeal, ears, nerves, and neck symptoms. Epstein-Barr Virus infection are strongly correlated with NPC pathogenesis proven by high titer of EBV antivirus level measured in patients with NPC. Epstein-Barr Virus related pathogenesis of NPC are associated with latent membrane protein (LMP) 1 and 2 and also *microRNA*. Latent membrane protein 1 changes many cell molecules such as Nuclear kappa B (NF-κB), influences cell metabolism, and supresses antitumor system like PTEN and AMPK so that tumor cell growth keeps occurring. Latent membrane protein 2 has the role of changing EBV to its latent phase and the producing of tumor stem cell. Meanwhile, *microRNA* only mediates cell proliferations so that apoptosis does not occur and the cells become carcinogenic.

Keywords: EBV, LMP, nasopharyngeal carcinoma, *microRNA*, pathogenesis

Korespondensi: Muhammad Muhlis Rizky, alamat: JL Lada Ujung V no 12 Bandar Lampung, HP: 081219900082, e-mail: muhlisrizky66@gmail.com

Pendahuluan

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan karsinoma yang muncul pada daerah nasofaring (area di atas tenggorok dan di belakang hidung). Karsinoma ini terbanyak merupakan keganasan tipe sel skuamosa.¹ Berdasarkan data *Global Cancer Statistics* tahun 2012, kanker nasofaring (KNF) merupakan penyakit endemik di negara-negara kawasan Asia Tenggara dan Cina bagian selatan. Insidensi KNF mencapai 6,4 per 100.000

populasi laki-laki dan 2,4 per 100.000 populasi perempuan.²

Di Indonesia, KNF terdapat dalam peringkat ke empat angka kematian tertinggi setelah kanker payudara, kanker leher rahim, dan kanker paru. Angka kematian berdasarkan jenis kelamin, KNF menempati urutan ke tiga pada pria dan pada wanita menempati peringkat ke lima. Rata-rata prevalensi KNF di Indonesia

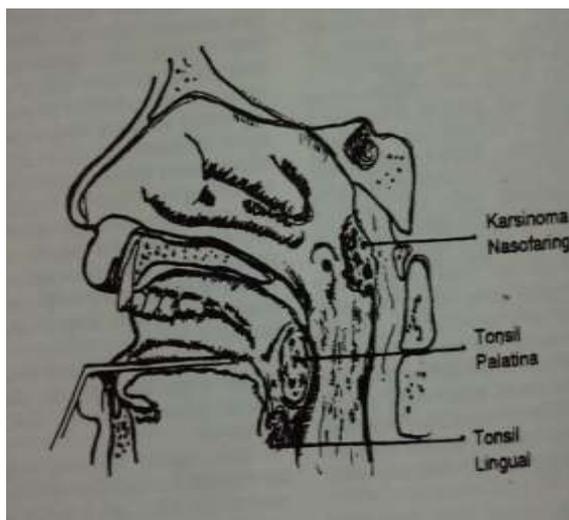
adalah 6,2 per 100.000 penduduk dengan 13.000 kasus KNF baru setiap tahunnya dan endemis pada penduduk Pulau Jawa.³

Karsinoma nasofaring berasal dari sel epitel gepeng yang berasal dari mukosa saluran pernapasan dan stroma submukosa yang mengandung jaringan limfoid dan kelenjar. Klasifikasi KNF berdasarkan pada topografi dan morfologi sel dominan yang dilihat berdasarkan tingkat diferensiasi dan keratinisasi sel, terbagi menjadi tipe berdiferensiasi berkeratin, berdiferensiasi tak berkeratin, dan tipe *undifferentiated* tak berkeratin.⁴

Faktor risiko KNF termasuk jenis kelamin pria dewasa 30-50 tahun, riwayat KNF pada keluarga, konsumsi makanan yang diawetkan, ikan asin, merokok, dan infeksi *Epstein-Barr Virus* (EBV).⁵⁻⁶ Beberapa faktor risiko tersebut memodulasi mekanisme yang berpengaruh pada karsinogenesis, proliferasi, apoptosis, kematian dan migrasi sel; mengubah proses terkait limfositik; dan menginduksi immortalisasi sel. Mekanisme efek karsinogenik EBV meliputi *latent membrane protein* (LMP) yang terdiri dari LMP1 dan LMP2 serta *microRNA*.⁷

Isi

Karsinoma nasofaring adalah suatu tumor yang timbul dari epitel nasofaring dan sering muncul pada fossa rosenmuller dan dari tempat ini akan menginvasi ke lokasi anatomis yang berdekatan.⁸



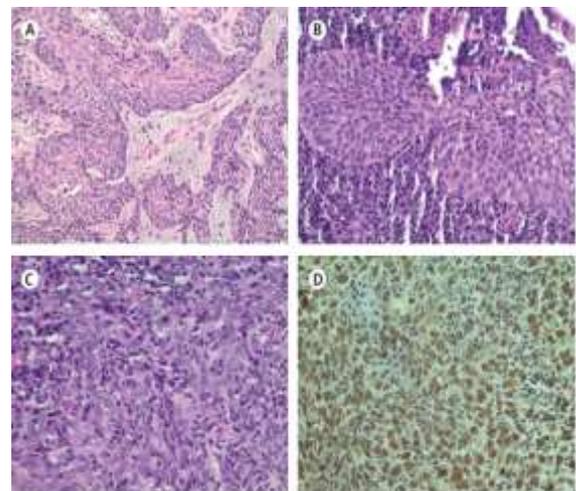
Gambar 1. Lokasi KNF pada Fossa rosenmuller.⁹

Karsinoma nasofaring dapat dipastikan disebabkan oleh infeksi EBV karena pada semua pasien KNF didapatkan titer antivirus EBV yang tinggi, selain itu dapat juga menggunakan teknik

hibridisasi in-situ untuk mendeteksi RNA EBV. Tetapi virus bukanlah satu-satunya faktor. Beberapa faktor lainnya adalah letak geografis, kebiasaan memakan makanan yang diawetkan pada musim dingin, dan genetik. Gejala dari KNF sendiri dibagi menjadi 4, yaitu gejala nasofaring, gejala telinga, gejala saraf, dan gejala mata serta metastasis ke leher atau gejala leher.⁸⁻⁹

Gejala nasofaring pada KNF berupa epistaksis atau sumbatan hidung, gangguan telinga berupa tinitis dan otalgia, sedangkan gangguan saraf adalah lesi N III, IV, dan VI. Proses karsinoma ini dapat terus mengkompresi N IV, X, XI dan XII gangguan ini disebut Sindrom Jackson. Diagnosis dapat dipastikan dengan melakukan CT-scan kepala dan leher, serologi IgA anti EA dan IgA anti VCA untuk infeksi EBV serta melakukan biopsi melalui mulut atau hidung.⁹

Secara morfologi banyak sel limfoid yang bercampur dengan sel epitel yang telah bertransformasi, tetapi KNF tetap dianggap berasal dari sel skuamosa. Berdasarkan derajat diferensiasi WHO menggolongkan KNF menjadi 3 subtipe patologis. Tumor yang mengalami diferensiasi keratin pada permukaan digolongkan sebagai tipe 1, dimana tipe 2 dan tipe 3 tidak berkeratin yang dibedakan berdasarkan ada tidaknya diferensiasi.⁸



Gambar 2. Gambaran histopatologi (a) tipe 1, karsinoma sel skuamosa berkeratin; (b) tipe 2, karsinoma sel skuamosa non keratin berdiferensiasi; (c) tipe 3, karsinoma sel skuamosa non keratin tidak berdiferensiasi; dan (d) deteksi RNA EBV dengan teknik hibridisasi in-situ.⁸

Radioterapi adalah pengobatan kuratif dan utama untuk KNF. *Intensity-modulated radiotherapy* (IMRT) adalah metode yang paling disukai karena teknik ini membuat pemberian

tumoricidal langsung ke daerah tumor sehingga meminimalisir efek ke jaringan normal disekitarnya dan mengurangi efek toksiknya. Kombinasi radioterapi dan kemoterapi adalah salah satu strategi yang dapat digunakan untuk pengobatan KNF yang tidak mengalami metastasis jauh. Ciplastin dengan dosis 30-40 mg setiap minggu atau 100 mg setiap 3 minggu adalah pilihan utamanya. Selain ciplastin ada beberapa obat yang dapat digunakan yaitu urasil ditambah tegofur dan oksaliplatin karena memiliki efikasi yang sama dengan ciplastin.⁸

Pemberian mitomycin C dan 5-fluorouracil sebelum dilakukan radiasi bersifat radiosensitizer sehingga meningkatkan harapan kesembuhan pasien KNF. Terapi pembedahan diseksi leher dilakukan jika benjolan di leher tidak menghilang pada penyinaran (residu) atau timbul kembali setelah penyinaran selesai, tetapi dengan syarat tumor induknya sudah hilang yang dibuktikan dengan pemeriksaan serologi dan radiologi serta tidak adanya metastasis jauh.⁹

Pencegahan dapat dilakukan dengan cara pemberian vaksinasi pada penduduk yang bertempat tinggal dengan risiko tinggi, migrasi ke tempat tinggal lain dan mengubah cara memasak serta melakukan tes IgA- anti VCA dan IgA anti EA untuk menemukan KNF secara lebih dini.⁹

Epstein-Barr Virus adalah herpesvirus yang memiliki genom DNA sekitar 172 kbp yang menyandi 100 gen dan terdapat dua galur utama EBA yaitu tipe A dan B. Antigen EBV dibagi menjadi tiga kelas berdasarkan siklus hidup virus saat antigen diekspresikan, antigen fase laten disintesis oleh sel yang terinfeksi fase laten, ini mencakup EBNA dan LMP. Sedangkan antigen awal mengindikasikan onset replikasi virus dan antigen akhir diproduksi dalam jumlah banyak di dalam sel yang terkena infeksi virus produktif.¹⁰

Target utama dari EBV adalah limfosit B. Ketika Limfosit B terinfeksi oleh EBV, limfosit B dibuat imortal oleh virus. EBV mengawali infeksi dengan mengikat reseptor CD3D komplemen dan langsung memasuki fase laten tanpa menjalani replikasi. Limfosit B dibuat tidak mengalami apoptosis oleh EBV mempunyai fungsi berbeda beda akibat dari ekspresi antigen virus EBV tersebut ini mencakup *Epstein-barr nuclear antigen* (EBNA), LMP, dan EBER.¹⁰

Epstein-barr nuclear antigen mempunyai peranan penting dalam infeksi infeksi dari EBV

karena berfungsi sebagai molekul yang membuat sel menjadi imortal dan juga bertanggung jawab dalam replikasi DNA EBV serta membuat sel bertransformasi menjadi karsinogenesis dengan cara merubah transkripsi pada promoter sel.¹¹

Latent membrane protein 1 adalah suatu protein integral yang dikode oleh EBV pada fase laten dan berhubungan dengan buruknya prognosis dari KNF, karena LMP-1 yang paling berpengaruh terhadap proses pertumbuhan sel tumor seperti migrasi, proliferasi, metabolisme dan tumorigenesis dengan cara mengubah beberapa protein, RNA dan jalar sinyal sel.⁷

Endothelial specific molecul (Endocan) adalah suatu molekul spesifik yang menstimulasi perubahan morfologi dan fenotif, migrasi serta invasi sel-sel endotel. Diaktifkan oleh LMP1 dengan cara menyerupai sel CD40 dan mengubah sinyal *Nuclear kappa B* (NF- κ B), MEK, *extracellular signal-regulation kinase* (ERK) dan mengkativasi cJun N-terminal kinase (JNK) yang juga berfungsi sebagai modulator pada proses apoptosis. Fosforilasi dari *insulin-like growth factor* (IGF1R) juga mengalami perubahan karena pengaruh dari LMP1 sehingga menimbulkan transformasi sel epitel.⁷⁻¹¹⁻¹²

Latent membrane protein 1 juga mampu menginduksi metilasi DNA yang mengkode *phosphatase and tension homolog* (PTEN) sehingga PTEN terhenti dan tidak mampu melakukan fungsi selular dan molekularnya sebagai tumor supresor. Selain itu LMP-1 pun membuat ekspresi *tumor necrosis factor α -induced protein 2* (TNFAIP2) meningkat, dimana hal ini memicu progresi tumor nasofaring serta menginaktivasi sistem antitumor lainnya yaitu sistem AMP *activated protein kinase* (AMPK) sehingga proliferasi dan transformasi terjadi tanpa ada hambatan apapun.⁷⁻¹²

Latent membrane protein 1 melalui NF- κ B membuat kadar *collagenase matrix metalloproteinase 9* meningkat dalam jumlah banyak. Molekul ini merupakan molekul kunci pada proses destruksi matrix ekstraselular dan juga menginduksi disekresikannya *mucin-1*, *cyclooxygenase-2*, dan faktor transkripsi dari *hypoxia-inducible factor-1 α* (HIF1 α) yang berperan dalam induksi *vascular growth factor* yang akhirnya memicu angiogenesis.¹³

Latent membrane protein 1 menstabilkan tujuh homolog faktor transkripsi HIF1 α pada E3 ligase ubiquitin, yang tugasnya untuk mengacaukan struktur protein *proyl hydroxylase*

(PHD1 dan PHD3) yang pada keadaan normal berfungsi untuk mendegradasi HIF1 α sehingga kadar HIF1 α meningkat sehingga terjadi angiogenesis untuk sel tumor.¹³

Perubahan sinyal NF- κ B juga berpengaruh terhadap *glucose transporter* (glut-1) sehingga terjadi glikolisis aerobik, proliferasi sel, dan pembentukan koloni. LMP-1 juga membuat disekresikannya ezrin, suatu membran protein yang mampu mengambil bagian dalam trasduksi dan fagositosis sel tumor. Hal ini membuat sel dapat bermetastase⁷

Sedangkan LMP-2 mempunyai peran penting yaitu membuat EBV memasuki fase laten. Tetapi LMP-2 tidak esensial dalam pertumbuhan limfosit B karena menekan diferensiasi namun memicu penyebaran dan motilitas epitel serta memperbanyak jumlah sel punca tumor.¹¹⁻¹²

Kombinasi dari EBNA-1, EBNA-2, LMP-1, dan LMP-2 adalah yang paling cocok untuk menentukan diagnosis KNF jika sampel pemeriksaan didapat melalui apusan nasofaring.¹¹

Micro RNA adalah sebuah RNA kecil non koding yang memiliki peran dalam memediasi sel untuk berproliferasi, tidak mengalami apoptosis dan menjadi karsinogenesis. MiRNAs dapat digunakan untuk KNF karena jumlahnya sangat melimpah dan disekresikan ke ekstrasel sel KNF.⁷

Varian dari *micro RNA* yang berpengaruh dalam pathogenesis KNF salah satunya adalah EBV-miR-BART1 yang diekspresikan dalam jumlah banyak akibat menurunnya kadar PTEN. EBV-miR-BART1 ini memiliki fungsi untuk meningkatkan migrasi dan invasi dari sel sel tumor sehingga terjadi metastasis dari sel KNF. miR-BART1 juga memiliki kemampuan untuk menaikkan dan menurunkan kadar gen untuk metabolisme sel.⁷

Selain miR-BART1 ada juga EBV-miR-BART11 yang berperan sebagai promotor dari respon inflamasi pada KNF karena langsung mengatur gen *forkhead box P1* (FOXP1) yang memiliki fungsi untuk merangsang diferensiasi makrofag dan menginduksi sitokin proinflamasi untuk disekresikan ke lingkungan tumor nasofaring.

Ringkasan

Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan karsinoma yang muncul pada daerah nasofaring dan sering muncul pada fossa rosenmuller. Sel asalnya adalah sel skuamosa epitel nasofaring, sehingga memiliki gejala klinis seperti epistaksis, sumbatan hidung, tinitus dan lesi *nervus cranial* III, IV dan VI. Di Indonesia, KNF terdapat dalam peringkat ke empat angka kematian tertinggi.

KNF dapat dipastikan disebabkan oleh infeksi EBV karena terdapat molekul antigen yang membuat transformasi sel epitel sehingga sel berubah menjadi karsinogenesis. Molekul molekul antigen yang berperan adalah EBNA-1, EBNA-2, LMP-1, LMP-2 dan miRNA. Berdasarkan patologisnya KNF dibagi menjadi tiga tipe yaitu tipe A, tipe B dan tipe C.

Pengobatan KNF utamanya adalah radioterapi tetapi kombinasi dengan kemoterapi seperti ciplastin juga dapat menjadi pilihan jika tidak terdapat metastasis pembedahan dilakukan untuk menghilangkan residunya atau tumor yang muncul kembali.

Simpulan

Epstein-Barr Virus adalah penyebab karsinoma nasofaring karena antigen EBNA-1 dan EBNA-2 membuat sel menjadi tidak mengalami apoptosis dan memodulasi replikasi DNA EBV. Sedangkan LMP-1 memiliki peran yang lebih kompleks mulai dari menstimulasi proliferasi dan transformasi sel dengan cara menyerupai sel CD40 dan mengganggu proses sinyal NF- κ B pada sel, lalu memicu migrasi dan invasi. LMP-1 juga berperan dalam modulasi metabolisme sel yang terinfeksi karena mengubah glut-1 dan juga menstimulasi degradasi HIF1 α , sehingga proses angiogenesis dapat terjadi tanpa ada yang menghambatnya. Sedangkan peran dari LMP-2 dalam proses pertumbuhan KNF adalah memicu perubahan EBV ke fase laten dan perbanyak sel punca tumor. Selain LMP-1 dan LMP-2 terdapat pula varian dari *microRNA* seperti miR-BART1 dan miR-BART11 yang memiliki peran dalam memediasi proliferasi sel sehingga menjadi karsinogenik yang mampu bermetastasis dan juga untuk menimbulkan reaksi inflamasi pada tumor dan lingkungan sekitarnya.

Daftar Pustaka

1. Kemenkes RI. Pedoman nasional pelayanan kedokteran kanker nasofaring. Jakarta: Komite Penanggulangan Kanker Nasional Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2015
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A, Dkk. Global cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87-108.
3. Adham M, Kurniawan AN, Muhtadi AI, Roezin A, Hermani B, Gondhowiardjo S, Dkk. Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation. *Chin J Cancer.* 2012; 31(4):185-96.
4. Sudiono J, Hasan I. DNA Epstein-Barr virus (EBV) sebagai biomarker diagnosis karsinoma nasofaring. *Dent J.* 2013; 46(3):140-7.
5. Xie SH, Yu IT, Tse LA, Au JS, Lau JS. Tobacco smoking, family history, and the risk of nasopharyngeal carcinoma: a case-referent study in Hong Kong Chinese. *Cancer Causes Control.* 2015;26 (1):913-21.
6. Jia WH, Qin HD. Non-viral environmental risk factors for nasopharyngeal carcinoma: a systematic review. *Semin Cancer Biol.* 2012; 22(2):117-26.
7. Zhang H, Wang J, Yu D, Liu Y, Kai X, Zhao X, Dkk. Role of epstein-barr virus in the development of nasopharyngeal carcinoma. *Open Med.* 2017; 12(1):171-6.
8. Chua MLK, Wee JTS, Hui EP, Chan ATC. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet.* 2016; 37(2):1012-24.
9. Roezin A, Adham M. Karsinoma nasofaring. Depok: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2012.
10. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner T A. Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: EGC; 2010
11. LAO TD, Nguyen DH, Nguyen TM, Le TAH. Molecular screening for Epstein-barr virus (EBV): Detection of genomic EBNA-1, EBNA-2, LMP-1, LMP-2 among vietnamese patient with nasopharyngeal brush sample. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017; 18(6):1675-9.
12. Kikuchi K, Inoue H, Miyazaki Y, Ide F, Kojima M, Kusama K, Dkk. Epstein-barr virus (EBV) associated epithelial and non epithelial lesion of the oral cavity. *Jpn Dent Sci Rev.* 2017; 53(3):95-109.
13. Aga M, Bentz GL, Raffa S, Torrisi MR, Kondo S, Wakisaka N, Dkk. Exosomal HIF1 α supports invasive potential of nasopharyngeal carcinoma-associated LMP1-positive exosomes. *Oncogene.* 2014;33(37):4613-22.