

SISTEM UBIQUITIN-PROTEASOM DAN HUBUNGANNYA DENGAN KARSINOGENESIS YANG DIINDUKSI OLEH PAPILLOMAVIRUS MANUSIA

Khie Khiong

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Japan
Laboratorium Biologi Medik, Fakultas Kedokteran-Universitas Kristen Maranatha
Jl. Prof. Suria Sumantri 65 Bandung

Abstrak

Certain types of human papillomaviruses (HPV) have been etiologically associated with malignant lesion, most notably with cervical cancer. The major oncoproteins of these cancer-associated viruses are encoded by the viral E6 and E7 genes and characterization of these oncoproteins has shown that both E6 and E7 exploit the ubiquitin-proteasome system to degrade the cellular proteins.

Key words : Cancer, Ubiquitin, human papillomaviruses, protein E6, protein E7, oncoprotein.

I. Pendahuluan

Virus dan sel inang selalu memiliki interaksi yang spesifik sehingga regulasi siklus hidup sel virus sangat tergantung dengan keberadaan protein regulator yang terdapat pada sel inang. Makalah ini akan membahas salah satu interaksi spesifik antara virus dan sel inang dan hubungannya yang dapat menyebabkan kanker pada manusia.

Virus dan ubiquitin. Karena keterbatasan coding capacity pada genom virus, banyak aspek dalam siklus hidup virus yang tergantung pada interaksi spesifik antara protein virus dan protein regulator yang terdapat pada sel inang untuk memanipulasi atau memprogram ulang metabolisme sel inang sesuai dengan kebutuhan virus.

Sudah lama diketahui bahwa modifikasi protein karena pengikatan kovalen ubiquitin dan protein-protein yang berhubungan dengan ubiquitin berhubungan erat dengan pengendalian sebagian proses-proses fundamental sel. Papillomavirus manusia merupakan contoh yang paling baik mengenai kemampuan sel-sel virus untuk mengubah sistem ubiquitin-proteasom demi kepentingan virus itu sendiri (1, 2, 3)

II. Papillomavirus manusia dan kanker leher rahim

Papillomavirus manusia adalah virus DNA epiteliotropik yang memiliki genom DNA untai ganda sirkuler mendekati 8 kbp. Saat ini ada lebih dari 130 tipe dari virus ini yang telah berhasil dikarakterisasi dan dapat dikelompokkan menjadi tipe mukosa dan tipe kulit tergantung dengan jenis jaringan yang diinfeksi oleh mereka (4,5, 6).

Sudah diketahui sejak dulu bahwa infeksi oleh virus ini akan menghasilkan lesi-lesi pada epitel squamosa yang jinak yang lebih dikenal dengan sebutan kutil. Akan tetapi beberapa jenis virus ini juga berasosiasi dengan sel-sel kanker yang ganas, seperti dengan sel-sel kanker serviks.

Lebih dari 30 jenis virus ini juga berasosiasi dengan lesi pada saluran anogenital, dan oleh karena itu virus ini dapat pula dikelompokkan menjadi tipe resiko rendah atau tipe resiko tinggi, tergantung pada asosiasi mereka dengan lesi-lesi klinis (7,8). Secara umum bila dikategorikan sebagai tipe resiko rendah maka virus ini biasanya berasosiasi dengan lesi-lesi yang jinak seperti condyloma accuminata. Bila ada wanita yang terinfeksi dengan virus tipe resiko tinggi sudah dapat dipastikan bahwa secara bermakna ini akan meningkatkan resiko untuk terjadinya kanker serviks selama hidupnya (8).

Berdasarkan bukti secara epidemiologis dan secara molekuler, saat ini dapat diyakini bahwa virus tipe resiko tinggi, termasuk tipe 16 dan 18 memegang peranan etiologis dalam menimbulkan kanker serviks. Lebih dari 95 % sel-sel kanker serviks mengandung paling sedikit satu kopi genom papillomavirus tipe resiko tinggi. Akan tetapi perlu dicatat bahwa keberadaan virus ini tidak cukup untuk penyebaran progresif dari lesi-lesi yang mengandung papillomavirus dan sebagai tambahan ini sedikit sekali yang sudah dikarakterisasi, meskipun hal ini sangat diperlukan.

Karakterisasi secara molekuler menunjukkan bahwa jaringan sel kanker serviks menunjukkan bahwa genom virus ini terintegrasi ke dalam genom sel inang. Lebih

jauh lagi, ternyata gene E6 dan E7 adalah satu-satunya gen virus yang biasanya dipertahankan dan diekspresikan, dan ini menunjukkan bahwa protein-protein dari gen-gen tersebut memegang peranan penting dalam proses karsinogenesis yang diinduksi oleh papilomavirus. Penelitian dengan menggunakan kultur sel dan sistem model-hewan uji menunjukkan bahwa E6 (150 asam amino) dan E7 (100 aa) memiliki properti oncogenik (9, 10).

Karakterisasi secara biokimiawi menunjukkan bahwa baik E6 dan E7 memberikan interaksi dengan protein regulator sel negatif. E6 akan berasosiasi dengan protein supresor tumor p53 dan E7 akan berasosiasi dengan produk dari gen retinoblastoma (pRb). p53 dan pRB secara normal akan mengontrol siklus sel dan akan melindungi integritas genom. Tidak seperti kebanyakan sel-sel kanker manusia dimana p53 dan pRB akan mengalami mutasi, sebaliknya pada sel kanker serviks protein E6 dan E7 akan mengikat p53 dan pRB dan akan menetralkan fungsi normal mereka. Protein E6 akan mengikat p53 dan akan memacu degradasi p53 lewat jalur ubiquitin proteolitik dan akan menghambat fungsi pertumbuhannya. Sedangkan protein E7 akan mengikat pRB dan akan mengakibatkan penurunan level pRB dan akan menyebabkan pelepasan faktor transkripsi E2F yang tidak seimbang di dalam sel. Selain itu baik E6 dan E7 menggunakan sistem ubiquitin-proteasom dalam hal memdegradasi protein-protein supresor tersebut (11, 12, 13, 14).

III. Protein E7 dan pRB

Anggota kelompok p110^{RB} secara umum mempunyai peranan dalam meregulasi siklus sel mamalia pada masa peralihan dari tahap akhir fase G1 untuk masuk ke fase S. Secara umum p110^{RB} yang dalam bentuk aktif mereka akan berinteraksi dengan factor transkripsi E2F yang akan menginduksi ekspresi gen-gen yang berperan dalam meregulasi replikasi DNA.

Agar sel virus bisa bereplikasi, sel-sel yang terinfeksi harus dipacu agar masuk ke fase S yang sangat penting bagi sel virus untuk mengadakan replikasi DNA-nya. Sehingga secara umum diasumsikan bahwa interaksi antara protein E7 dengan pRb secara fungsional sama dengan interaksi antara pRB dengan E2F.

Interaksi antara pRB dengan protein E7 akan menyebabkan pembentukan kompleks pRB dengan E2F akan terganggu, dimana kompleks ini sangat penting untuk mereplikasi virus kanker yang ada. Akan tetapi interaksi ini tidak cukup kuat untuk menimbulkan adanya transformasi seluler. Beberapa bukti menunjukkan bahwa fenomena tersebut antara lain mutan HPV E7 tipe resiko tinggi yang memiliki kemampuan menyebabkan kompleks

pRB/E2F terganggu ternyata masih kurang pada uji transformasi pada kultur sel. Fakta yang lain adalah protein E7 yang berasal dari HPV yang tidak berasosiasi dengan lesi-lesi yang ganas dan tidak menunjukkan adanya potensial oncogenik pada uji transformasi pada kultur sel akan berikatan dengan pRB dengan efisiensi yang sama yang ditunjukkan oleh E7 pada HPV tipe resiko tinggi dalam hal mengganggu terbentuknya kompleks pRB/E2F.

IV. Protein E6 dan p53

Hampir 40% dari keseluruhan jenis tumor yang ada pada manusia disebabkan oleh mutasi gen p53. Akan tetapi pada sel-sel kanker serviks sangat jarang sekali disebabkan oleh gen p53 yang termutasi. Sehingga dari sini dapat diasumsikan bahwa interaksi antara p53 dengan protein E6 secara fungsional sama dengan inaktivasi p53 yang disebabkan karena adanya mutasi pada gen p53.

Baik pada HPV tipe resiko rendah maupun HPV tipe resiko tinggi, E6 akan berinteraksi dengan p53. Perbedaan yang terjadi adalah pada HPV tipe resiko rendah afinitas pengikatan antara E6 dan p53 menjadi akan lebih rendah bila dibandingkan dengan HPV tipe resiko tinggi. Hal ini terjadi karena E6 pada HPV resiko tinggi akan mengenali daerah pengikatan pada p53 yang lebih ekstensif dan di samping itu pula hanya HPV tipe resiko tinggi yang dapat menginduksi terjadinya degradasi p53 melalui sistem ubiquitin-proteasome.

Kalau interaksi antara protein E7 dan pRB belum jelas proses mekanismenya, tidak sama halnya dengan interaksi antara protein E6 dan p53. Maka langkah pertama yang terjadi adalah E6 akan berikatan dengan ubiquitin-ligase E6-AP. Kemudian proses dimerisasi kompleks E6/E6-AP akan berikatan dengan p53 yang akan mengakibatkan terjadinya ubiquitinasi p53 yang dimediasi oleh E6-AP bila terdapat enzim tertentu yang terkonjugasi dengan sistem ubiquitin, antara lain UbcH5, UbcH7 dan UbcH8. Akhirnya poliubiquitinasi p53 akan dikenali dan didegradasi oleh proteasome.

V. E6-AP

E6-AP dapat diisolasi dan diidentifikasi sebagai protein seluler yang akan berikatan dengan protein E6 tipe resiko tinggi. Pengikatan protein E6-AP pada protein E6 sangat penting agar protein E6 tipe resiko tinggi dapat berinteraksi atau dapat berikatan dengan p53 secara efisien (15, 16).

Karakterisasi biokimia menunjukkan bahwa protein E6-AP mempunyai fungsi sebagai Ubiquitin-ligase E3 dan merupakan anggota dari kelompok protein E3.

Kelompok protein E3 ini dikarakterisasi berdasarkan daerah C-terminal yang terkonservasi. Mutasi gen E6-AP dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi properti protein E3 yang berkaitan dengan sindrom Angelman yang merupakan *hereditary neurological disorder* (17).

VI. E6 sebagai target untuk strategi anti kanker secara molekuler

Seperti yang telah dibahas di atas bahwa E6 dan E7 merupakan oncoprotein utama dari papillomavirus manusia yang biasanya diekspresikan oleh sel-sel yang positif mengandung papillomavirus. Selanjutnya telah diketahui pula bahwa ekspresi secara kontinyu dari daerah E6/E7 dibutuhkan untuk menjaga transformasi fenotif lini sel yang berasal dari sel-sel kanker serviks (18). Oleh karena itu E6 dan E7 dapat mewakili target yang menarik untuk terapi kanker yang berasosiasi dengan papillomavirus, misalnya dengan pendekatan yang dapat mengganggu ekspresi protein-protein tersebut atau dengan pendekatan yang secara langsung dapat mengganggu aktivitas oncogenik mereka. Pertanyaan yang akan timbul adalah apakah ada potensi yang menguntungkan melakukan seleksi target Protein E6 atau E7 saja dengan kombinasi keduanya untuk tujuan terapi pengobatan.

Secara sederhana, protein E7 akan mengikat pRB dan dapat mempengaruhi protein-protein yang bekerja dalam sistem regulasi yang berkaitan dengan pRB, yang pada akhirnya akan menyebabkan deregulasi pertumbuhan sel. Induksi pertumbuhan ini mungkin akan dapat dirasakan oleh sel-sel yang dipengaruhi sebagai transduksi signal yang tidak semestinya atau yang tidak diinginkan yang secara bersamaan akan menghasilkan induksi untuk menetralkan proses-proses selular seperti apoptosis dan penuaan sel. Oleh karena itu, E7 mungkin dapat dianggap sebagai protein yang proproliferatif juga proapoptotik.

Sebaliknya E6 menunjukkan adanya properti sebagai protein yang tergantung dengan p53 juga antiapoptotik yang tidak tergantung dengan p53. Oleh karena itu E7 merangsang proliferasi, sedangkan E6 meningkatkan daya hidup atau daya tahan sel-sel yang mengandung papillomavirus yang pada akhirnya akan memacu pertumbuhan sel-sel yang mengandung papillomavirus.

Dari apa yang telah dipaparkan di atas, nampaknya E6 merupakan target yang ideal untuk pendekatan terapi secara molekuler untuk lesi-lesi yang mengandung papillomavirus.

VII. Kesimpulan

Oncoprotein E6 dan E7 adalah dua protein utama yang tetap diekspresikan pada kanker yang berasosiasi dengan HPV. Tipe HPV mempunyai resiko tinggi yang akan mensintesis oncoprotein E6 dan E7 untuk mengubah fungsi protein regulator seluler seperti p53 dan produk gen retinoblastoma. Sistem ubiquitin-proteasom merupakan sistem yang berperan dalam menginduksi karsinogenesis yang berasosiasi dengan HPV.

VIII. Daftar pustaka

- Schubert U, Ott DE, Chertova EN. Princiotta Proteosome inhibition interferes with gag polyprotein processing, release, and maturation of HIV-1 and HIV-2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97; 2000,13057-62.
- Strack B., Calistri A, Accola MA. A role for ubiquitin ligase recruitment in retrovirus release. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 2000, 13063-8.
- Patnaik A, Chau V, Wills JW. Ubiquitin is part of the retrovirus budding machinery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97,2000:13069-74.
- Barbosa MS. The oncogenic role of human papillomavirus protein. (20)*Crit Rev Oncog* 1996;7:1-18
- Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer. *Cell Mol Life Sci* 2001;58:1923-42
- Brentjens MH, Yeung-Yue KA, Lee PC. Human papillomavirus: a review. *Dermatol Clin* 2002;20:315-31
- Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM. A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus type 16 or 18. *EMBO J.*, 1991 (10):4129-35.
- Huibregtse JM, Scheffner M, Beaudenon S. Cloning and expression of the cDNA for E6-AP, a protein that mediates the interaction of human papillomavirus E6 oncoprotein with p53. *Mol Cell Biol*, 1993, 13:775-84.
- Mantovani F, Banks L. The human papilloma virus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene*, 2001, 20:7888-98.
- Munger K, Basile JR, Duensing S. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. *Oncogene* 2001;20:7888-98.

11. Scheffner M, Werner BA, Huibregtse M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus type 16 and 18 promotes the degradation p53. *Cell* 1990;63:1129-36.
12. Wu EW, Clemens KE, Heck DV. The human papillomavirus E7 oncoprotein and the cellular transcription factor E2F bind to separate sites on the retinoblastoma tumor suppressor protein. *J Virol*, 1993, (67):2402-07.
13. Jones DL, Munger K. Interactions of the human papillomavirus E7 protein with cell cycle regulators. *Semin Cancer Biol.* (7), 1996: 327-37.
14. Boyer SN, Wazer DE, Band V. E7 protein of human papillomavirus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway. *Cancer Res.* (56), 1996 : 4620-4.
15. Scheffner M. Ubiquitin, E6-AP, and their role in p53 inactivation. *Pharmacol Ther.* 1998, 78:129-39
16. Fang P, Lev-Lehman E, Tsai TF. The spectrum of mutation in UBE3A causing Angelman syndrome. *Hum Mol Genet* 1999;8:129-35.
17. Zur Hausen H. Papillomavirus infection-a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996;1228:F55-78.
18. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:690-8. .