



## RESPONS IMUN SELULER TERHADAP ANTIGEN E2, E6, DAN E7 HPV16: PEMANFAATANNYA PENCEGAHAN DAN TERAPI KANKER SERVIKS

Mardhah Sastri Utami <sup>1)</sup>; Budiman Bela <sup>2</sup>

<sup>1)</sup>mardhah.sastri@ui.ac.id, Institut Kesehatan Hermina

<sup>2)</sup>budiman.bela@yahoo.com, Universitas Indonesia

### Abstract

*HPV is a group of viruses that causes cervical cancer. HPV16 causes 46-63% of cervical squamous cell carcinomas. HPV16 consists of 3 regions of the cell cycle including early region (E), long control region (LCR), and late region (L). Early region that comes from E1, E2, E4, E5, E6, and E7 proteins is involved in the viral gene expression, viral replication, and viral life cycle. Virus will express E1 and E2 proteins, then deletion occurs, and infected cells differentiate and express E6 and E7. TLR9, IFN-1, and suppression of proinflammatory cytokine expression are downregulated by E6 and E7 expression. Decreased immune response causes infected cells to differentiate into cancer cells. Prophylactic vaccination is used as prevention and control of HPV16 virus infection, but it cannot protect individuals who are already infected from the development of viral infections and abnormal cells. Therefore, a therapeutic vaccination is needed for the cancer immunotherapy. HPV16 antigens consisting E2, E6, and E7 are expected to be a good targets. E2, E6, and E7 antigens aim to activate specific cell-mediated immune responses to phagocytose infected cells. Antigens are processed by dendritic cells and then presented to MHC molecules. MHC II will stimulate the response of CD4<sup>+</sup> T cells to the proteins that will help cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells. Antigens are presented by MHC I for presentation to cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells to eliminate infected cells. E2, E6, and E7 antigens for immunotherapy to prevent the abnormal cell development so that they don't develop into cancer.*

**Keywords:** Human papillomavirus, Immunotherapy, Oncoprotein, Therapeutic vaccine,

### Abstrak

HPV merupakan kelompok virus penyebab kanker serviks. HPV16 menyebabkan 46-63% karsinoma sel skuamosa serviks. HPV16 terdiri dari 3 region siklus sel, yaitu early region (E), long control region (LCR), dan late region (L). Early region yang berasal dari protein E1, E2, E4, E5, E6, dan E7 berperan dalam ekspresi gen virus, replikasi virus, dan siklus hidup virus. Virus akan mengekspresikan protein E1 dan E2 kemudian terjadi delesi, dan sel yang terinfeksi akan berdiferensiasi dan mengekspresikan E6 dan E7. Ekspresi E6 dan E7 akan menurunkan ekspresi TLR9, IFN-1, dan supresi sitokin proinflamasi. Respons imun yang menurun menyebabkan sel yang terinfeksi berdiferensiasi menjadi sel kanker. Vaksinasi profilaksis digunakan sebagai pencegahan dan pengendalian infeksi virus HPV16, tetapi tidak dapat melindungi individu yang sudah terinfeksi dari perkembangan infeksi virus dan sel abnormal. Oleh karena itu, vaksinasi terapeutik diperlukan untuk imunoterapi kanker. Antigen HPV16 yang terdiri dari E2, E6, dan E7 diharapkan menjadi target yang baik. Antigen E2, E6, dan E7 bertujuan untuk mengaktifkan respons imun spesifik yang diperantarai sel untuk memfagositosis sel yang terinfeksi. Antigen diproses oleh sel dendritik dan kemudian disajikan kepada molekul MHC. MHC II akan merangsang respons sel T CD4<sup>+</sup> terhadap protein yang akan membantu sel T CD8<sup>+</sup> sitotoksik. Antigen disajikan oleh MHC I untuk dipresentasikan ke sel T CD8<sup>+</sup> sitotoksik untuk mengeliminasi sel yang terinfeksi. Antigen E2, E6, dan E7 untuk imunoterapi guna mencegah perkembangan sel abnormal sehingga tidak berkembang menjadi kanker.

**Kata Kunci:** Human papillomavirus, Imunoterap, Onkoprotein, Vaksin terapeutik

### PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian. Kanker menyebabkan sekitar 10 juta kematian tahun 2020 di dunia. Kanker serviks adalah penyebab paling umum keempat pada wanita di seluruh dunia, dengan perkiraan 660.000 kasus baru dan 350.000 kematian pada tahun 2022. Rentang usia wanita yang terdiagnosis kanker serviks yaitu dari usia 15 hingga 44 tahun. Penderita kanker serviks di Indonesia menempati urutan kedua terbanyak setelah kanker payudara. Data Globocan pada tahun 2020 di Indonesia, kasus baru kanker serviks berkisar 36.633 kasus (9.2%) dengan angka kematian 21.003 (9.0%) pada wanita (World Health Organization, 2020).

Infeksi Human papillomavirus (HPV) dapat ditemukan pada lebih dari 99% pada individu terdiagnosis kanker serviks. Lebih dari 200 jenis HPV telah diidentifikasi dan diklasifikasikan



sebagai HPV risiko tinggi dan HPV risiko rendah hingga kini. Sekitar lima belas jenis HPV risiko tinggi (Bernard et al., 2010). HPV 16 merupakan salah satu kelompok risiko tinggi menyebabkan kanker serviks didunia (Jalil et al., 2021). HPV tipe 16 paling umum (55.1%) terdeteksi pada kanker serviks menyebabkan 46-63% karsinoma sel skuamosa di serviks (H. J. Kim & Kim, 2017).

HPV merupakan keluarga papillomaviridae, virus untai ganda melingkar (DNA), berukuran kecil, tidak memiliki selubung virus, struktur ikosahedral dan genom berisi delapan open reading frames (ORFs). Genom HPV terdiri dari non-coding long control region (LCR) dan delapan gen penyandi protein seperti L1, L2, E1, E2, E4, E5, E6 dan E7 (Van Doorslaer et al., 2013). Selama tahap awal infeksi, virus akan mengekspresikan E1 dan E2, virus tetap episomal dan kemudian berintegrasi ke dalam genom inang. E2 berperan pada regulasi replikasi virus didalam sel yang terinfeksi dan menghasilkan ekspresi protein tahap awal (Vande Pol & Klingelhutz, 2013). Selama integrasi terjadi delesi E2, dan mengaktifkan ekspresi onkoprotein yang dikodekan HPV yaitu E6 dan E7 (Ramakrishnan et al., 2021). E6 dan E7 berperan dalam regulasi pertumbuhan sel, dan proliferasi yang tidak terkontrol (Roman & Munger, 2013). Infeksi yang terus menerus oleh HPV 16 menyebabkan sel berdiferensiasi sehingga proliferasi sel tidak terkontrol. Hal ini menyebabkan akumulasi mutasi seluler dari waktu ke waktu dan sebagai akibatnya berkembang menjadi kanker (Moody & Laimins, 2010).

Sel yang terinfeksi HPV akan menurunkan regulasi TLR9 sehingga berkurang ekspresi interferon tipe 1 untuk menghambat replikasi virus dan mengaktifkan APC, tetapi protein E6 dan E7 mengikat faktor regulator interferon 1 sehingga mencegah aktivasi IFN- $\alpha$  dan IFN- $\beta$  dan menghambat regulasi transkripsi (Stanley, 2012). Respons imun terhadap kanker serviks dapat menyebabkan virus HPV berkembang. Protein E6 dan E7 akan menghambat sistem imun adaptif dengan mencegah aktivitas antigen presenting cell (APC) yaitu sel dendritik. Sel dendritik tidak bisa mempresentasikan antigen HPV pada sel T naif dan tidak dapat aktivasi sel T. Replikasi dan migrasi HPV ke sel lain tanpa menghancurkan sel inang sehingga tidak mengaktifkan molekul inflamasi (Sasagawa et al., 2012).

Pengobatan kanker serviks dengan pembedahan, terapi radiasi, dan kemoterapi. Pengobatan ini menyebabkan efek samping yaitu kualitas hidup pasien, tingkat kekambuhan tumor yang tinggi, dan perkembangan resistensi terhadap kemoterapi (Khan, 2013). Salah satu metode pencegahan dan pengendalian virus HPV 16 adalah vaksinasi profilaksis. Tiga vaksin HPV profilaksis yang digunakan sekarang yaitu: cervarix, gardasil, dan gardasil-9, vaksin ini merupakan vaksin berbasis partikel mirip virus dan telah dikonfirmasi untuk mencegah infeksi HPV berisiko tinggi dan meminimalkan keparahan infeksi HPV. Meskipun vaksin profilaksis dapat memblokir infeksi awal HPV, tetapi tidak bisa mencegah perkembangan kanker serviks pada individu yang sudah terinfeksi (Harper & DeMars, 2017).

Vaksinasi terapeutik merangsang respons imun yang diperantarai sel T yang secara khusus menghilangkan sel-sel yang terinfeksi (Badillo-Godinez et al., 2021). E2 sebagai regulator negatif dari onkogen E6 dan E7. E6 dan E7 secara konsisten diekspresikan dan tetap aktif secara transkripsi dalam sel yang berubah pada kanker yang diinduksi HPV dan lesi prakanker (Ma et al., 2012). Sehingga protein E2, E6, dan E7 adalah target utama pengembangan vaksin terapeutik yang ideal untuk imunoterapi kanker serviks. Penargetan protein E2, E6, dan E7 yang berasal dari antigen HPV 16 bertujuan untuk mengirimkan antigen ke APC yang diproses oleh sel dendritik kemudian disajikan pada molekul major histocompatibility complex (MHC) kelas I dan kelas II untuk merangsang peningkatan respons sel T CD8<sup>+</sup> dan CD4<sup>+</sup>. HPV tipe 16 dengan antigen E2, E6, dan E7 adalah target utama pengembangan vaksin terapeutik yang ideal untuk imunoterapi kanker serviks (Yang et al., 2016). Penargetan antigen E2, E6, dan E7 yang berasal dari HPV 16 sel secara khusus menargetkan dan membunuh sel yang terinfeksi HPV. Hal ini bertujuan sebagai studi literatur



untuk pengembangan vaksin terapeutik berbasis protein yang diharapkan akan dilakukan penelitian secara bioinformatika maupun uji klinis.

## METODE

Penulisan ini menggunakan studi review literatur dari berbagai jurnal dan sumber ilmiah yang membahas tentang virus HPV, vaksin, dan penggunaan protein sebagai vaksin terapeutik. Review literatur ini dimulai dari tinjauan pustaka, tinjauan ini akan mengetahui struktur, genom, siklus hidup, dan respons imun tubuh terhadap infeksi virus HPV. Review literatur ini sebagai referensi untuk mengembangkan vaksin terapeutik dan imunoterapi pada pasien yang terinfeksi virus HPV. Penulis menggunakan google cendikia dan *PubMed* untuk mengumpulkan berbagai jurnal dari literatur yang membahas virus HPV dan vaksin.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Epidemiologi HPV dan Kanker Serviks

Infeksi human papillomavirus (HPV) tertua ditemukan pada mumi Mesir kuno pada 2400 SM. Dr. Giuseppe Ciuffo menemukan asal virus kutil dengan menginokulasi ekstrak kutil yang telah disaring melalui pori-pori kecil untuk pertama kali pada tahun 1907. Strauss pada tahun 1949 berhasil mengisolasi virus dalam bentuk kristal. Temuan mengenai asal virus papillomatosis memiliki dampak besar pada pemahaman tentang HPV (Molto & Sheldrick, 2018).

Shope dan Hurst pada tahun 1934 menghubungkan infeksi HPV pada kanker, mereka membuktikan bahwa anggota keluarga HPV menyebabkan kanker. Shope dan Hurst menggunakan model hewan dengan hewan pengerat untuk membuktikan hipotesis. Eksperimen ini memberikan pengetahuan tentang epidemiologi dan biologi molekuler penyakit dan menerbitkan bukti ilmiah pertama tentang HPV (Syrjänen & Syrjänen, 2008).

Tahun 1970 terjadi perkembangan teknik dan metode laboratorium di dunia sehingga mampu mengisolasi jaringan manusia untuk dapat mengidentifikasi partikel virus. Seluruh genom virus dari semua anggota keluarga HPV dianalisis dan diterjemahkan. Profesor Jerman Harald Zur Hausen menggambarkan potensi karsinogenik virus, dan berpendapat bahwa HPV dapat menyebabkan kanker serviks dengan dua sub tipe risiko tinggi yaitu HPV 16 dan HPV 18. Sifat karsinogenik virus HPV telah dapat diklarifikasi pada tahun 2000an. Tahun 2006 dasar ilmiah yang efektif untuk pengembangan vaksin HPV telah ditetapkan (Mavrommatis et al., 2021).

### Struktur Virus dan Genom HPV

HPV adalah keluarga Papillomaviridae. HPV kelompok virus ikosahedral kecil, tidak berselebung, terdiri dari 72 kapsomer, dan berdiameter 55nm. Genom virus adalah DNA untai ganda melingkar dengan panjang ~8.000 bp (Garbuglia et al., 2020). Papillomavirus dari manusia telah dikelompokkan menjadi: alpha (65 jenis termasuk HPV16, 18, 31, 33, dll), beta (53 jenis termasuk HPV 5, 9, 49, dll), gamma (98 jenis termasuk HPV4, 48, 50, dst.), mu (3 jenis termasuk HPV1, HPV63, dan HPV 204), dan nu (HPV41) (Bernard et al., 2010). Di antara tipe berisiko tinggi, HPV 16 merupakan genotipe yang paling sering terdeteksi pada 60,5% kasus kanker serviks, diikuti oleh HPV18 (Serrano et al., 2018).

Genom HPV16 merupakan sabuk nukleotida sepanjang 7,9 kb, tersegmentasi berdasarkan ekspresi protein yang diatur selama siklus yaitu: locus control region (LCR), early region (E), dan late region (L) (Garbuglia et al., 2020). Segmen gen dibagi oleh polydenylation (pA) (Pal & Kundu, 2020). Wilayah LCR terletak di antara open reading frames (ORFs) L1 dan E6. Wilayah LCR berisi promotor awal dan elemen pengatur yang mengontrol replikasi dan transkripsi DNA virus. Wilayah awal dimulai dari ujung 5' enam gen yang mengkode protein E1-E7 yang terlibat dalam ekspresi gen virus, replikasi dan kelangsungan hidup. Wilayah akhir



merupakan tempat dua gen mengkode protein struktural L1 dan protein kapsid L2 (Gheit, 2019).

E1 dan E2 diketahui mengatur replikasi genom virus dan transkripsi protein awal. Hilangnya E2 melalui integrasi menyebabkan peningkatan regulasi transkripsi E6 dan E7. E4 terlibat dalam reorganisasi sitoskeletal, dan E5 diketahui membantu dalam diferensiasi keratinosit dan menghindari respons imun. E6 dan E7 bertanggung jawab mengikat protein p53 dan pRb sehingga terjadi ketidakstabilan genom dan represi apoptosis (Lin et al., 2010).

Bagian pengkodean gen akhir memiliki dua bagian: L1 dan L2. L1 dan L2 berfungsi dalam perlekatan selama masuknya virus dan perakitan virion. Kode L1 untuk protein kapsid virus utama, sedangkan kode L2 untuk struktur kapsid virus minor. LCR 850 bp tidak mengandung urutan pengkodean protein tetapi berisi asal replikasi dan banyak situs pengikatan faktor transkripsi untuk transkripsi yang difasilitasi RNA polimerase II (Pal & Kundu, 2020).

### **Siklus Hidup HPV**

HPV menginfeksi keratinosit di lapisan basal epitel skuamosa berlapis melalui titik yang dapat diakses secara anatomis seperti mikrolesi pada kulit, organ genital, dan area orofaring. Protein kapsid L1 dan L2 menempel pada reseptor sel epitel yang menghasilkan pelepasan sitoplasma virus dan masuknya genomnya ke dalam nukleus virus, kemudian terjadi transkripsi dan translasi. Protein awal diekspresikan terlebih dahulu dan mengatur siklus hidup sel inang dan replikasi genom. Protein awal juga mengatur ekspresi protein akhir dengan cara yang bergantung pada diferensiasi sel. L1 dan L2 hanya diekspresikan dalam sel skuamosa dewasa. Pematangan virion terjadi setelah diferensiasi terminal sel epitel, dan pelepasannya pada akhir siklus hidup sel epitel (Zur Hausen, 2002).

Protein fase akhir L1 dan L2 menginisiasi ekspresi dua gen yg mengkode protein kapsid. Sintesis virion baru oleh HPV. Virion dilepaskan dari lapisan paling atas epitel. Virion dilepaskan menyebabkan infeksi pada sel lain. L1 dan L2 mengkode protein kapsid virus yang diperlukan untuk infeksi awal lapisan basal epitel. Setelah internalisasi virion, protein E1 dan E2 memulai diekspresikan di awal siklus hidup virus (Dillon et al., 2007). Protein HPV E1 dan E2 diperlukan untuk inisiasi replikasi DNA virus. E2 bertindak sebagai faktor inisiasi replikasi karena berikatan dengan afinitas tinggi terhadap asal HPV dan merekrut helikase E1, menghasilkan pembentukan kompleks E1-E2. (Kantang et al., 2016) Kompleks E1 dan E2 berinteraksi dengan situs ori wilayah kontrol panjang untuk memulai replikasi DNA (Bergvall et al., 2013).

Pada fase awal infeksi, genom HPV DNA berada dalam bentuk episomal yang menunjukkan aktivitas amplifikasi rendah (Burk et al., 2017). E2 memastikan pemeliharaan episomal genom HPV melalui interaksi dengan faktor seluler yaitu Protein Domain Bromo 4 (BRD4). BRD4 adalah protein terkait kromosom mitosis membantu pengikatan dengan E2. BRD4 dan E2 melokalisasi pada kromosom mitosis yang dipadatkan, dan memediasi segregasi episom (Garbuglia et al., 2020). E1 ke E4 dikodekan oleh RNA yang disambung, dan bersama dengan E5. Kemudian diterjemahkan di bawah kendali promotor awal dalam sel yang tidak berdiferensiasi, dan memfasilitasi replikasi produktif yang efisien dalam sel yang berdiferensiasi (Egawa et al., 2017).

Ketika sel-sel basal berdiferensiasi dan bermigrasi menjauh dari lapisan basal, kemudian membentuk lapisan suprabasal epitel maka terjadi salinan replikasi genom virus yang tinggi (Burk et al., 2017). Selama perkembangan virus, terjadi delesi dari E2 oleh integrasi HPV DNA ke dalam genom inang. Virus akan mengekspresikan onkoprotein yaitu E6 dan E7 (Pang & Thierry, 2013). Sel yang terinfeksi HPV setelah produksi E6 dan E7 perubahan sel yang tidak normal (Chabeda et al., 2018).

Kehadiran E5 menyebabkan aktivasi EGFR yang tidak tepat, memicu serangkaian peristiwa yang berpuncak pada produksi VEGF, sehingga mempromosikan angiogenesis, salah



satu tanda perkembangan kanker. Produksi E6 mengarah pada represi beberapa sistem pensinyalan. E6 dapat membentuk kompleks dengan mengikat protein ubiquitinasi (E6AP) yang mampu menandai degradasi penekan tumor (p53). Degradasi p53 menurunkan kadar protein supresor tumor ini (Hancock et al., 2018). Degradasi p53 tersebut membuat ekspresi Bcl-2 mengalami deregulasi, menyebabkan penghambatan kaskade pensinyalan, yaitu bax. Bax merupakan protein proapoptosis yang dapat mengikat p300, sehingga menghambat mekanisme aktivasi p53 oleh bak. Selain itu, E6 memiliki kemampuan untuk mengikat FAS dan mempercepat degradasinya. Semua mekanisme ini dipicu oleh E6 sehingga menghambat apoptosis (Stanley, 2012). Selain itu E6 mengaktifkan telomerase yang menghasilkan perpanjangan umur sel (Chabeda et al., 2018).

E7 memiliki kemampuan mengikat supresor tumor protein retinoblastoma (pRb), p107 dan p130 (Chabeda et al., 2018). Protein regulator yaitu pRb dan p130 mengatur proliferasi siklus sel melalui pengikatan faktor transkripsi E2F yang merupakan pengatur utama gen fase S (James et al., 2020). Interaksi pRb-E2F adalah pos pemeriksaan wajib bagi sel untuk melakukan perjalanan melalui transisi fase G1-S. Ketika sel tidak siap untuk memasuki fase S, protein pRb tetap terikat pada faktor transkripsi E2F untuk mencegah mereka mentranskripsi gen yang diperlukan dalam fase S (Pal & Kundu, 2020). Pengikatan ini membebaskan E2F, yang pada gilirannya dapat terus menerus menginduksi perkembangan siklus sel (Almeida et al., 2019).

Penghambatan ini berkontribusi pada proliferasi sel yang tidak terkontrol dan perkembangan transformasi sel abnormal yang terlihat pada epitel serviks yang terinfeksi HPV (Pang & Thierry, 2013). Gangguan oleh protein HPV16 mempengaruhi tidak adanya perbaikan sel dan apoptosis sel (Almeida et al., 2019). Protein E6 dan E7 menargetkan regulator siklus sel dengan mempertahankan kompetensi fase S dalam sel (James et al., 2020). E7 berfungsi sebagai onkogen dominan untuk menghasilkan tahap awal karsinoma saluran reproduksi di jaringan serviks, sedangkan E6 mempromosikan tahap selanjutnya dari perkembangan sel abnormal sehingga menjadi sel kanker (Sher et al., 2018).

Secara keseluruhan, tindakan bersama E2, E6, dan E7 mengganggu regulasi siklus sel dan sel berproliferasi. Integrasi genom virus ke dalam genom menyebabkan virus mengekspresikan E6 dan E7. Keadaan ini menyebabkan sel yang terinfeksi HPV akan terus berproliferasi dan apoptosis sel (Chabeda et al., 2018). Sel yang seharusnya apoptosis akan terus berkembang menjadi sel abnormal, menjadi lesi prakanker dan kanker. Tahap ini tidak ada protein struktural virus (L1, dan L2) yang diekspresikan pada sel terinfeksi, hanya protein E6 dan E7 (Hancock et al., 2018).

### **Patogenesis Kanker Serviks terkait HPV**

Infeksi HPV pada kanker serviks tahun 2012 mencapai >500.000 kasus yang mengakibatkan ~250.000 kematian di seluruh dunia (Ferlay et al., 2019). HPV16 dan HPV18 adalah yang paling umum menyebabkan kanker serviks. Kanker terkait HPV termasuk karsinoma sel skuamosa serviks (70%), adenokarsinoma serviks (25%), dan tumor histologi campuran (Garbuglia et al., 2020). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa >80% wanita selama masa hidup terinfeksi HPV. Sekitar 90% dari infeksi sembuh secara spontan dalam waktu 3 tahun, sementara 10% bertahan dan <1% berkembang menjadi kanker serviks. Infeksi HPV yang persisten sangat penting untuk perkembangan keganasan, karena dibutuhkan waktu yang lama (>10 tahun) untuk sel normal diubah menjadi sel kanker (Sasagawa et al., 2012).

Displasia sel skuamosa di epitel serviks secara kolektif dikenal sebagai neoplasia intraepitel serviks (CIN). CIN dapat berkembang menjadi karsinoma jika tidak diobati pada tahap awal. Displasia ringan atau CIN 1 pada sepertiga bagian bawah epitel menunjukkan displasia, CIN 2 atau displasia sedang yaitu dua pertiga dari epitel terinfeksi, dan CIN 3 dinilai ketika lebih dari dua pertiga dari seluruh ketebalan epitel terpengaruh. CIN 1 dapat pulih dari



infeksi dengan bantuan respons imun. Lesi CIN 2 dan CIN 3 secara kolektif diklasifikasikan sebagai CIN derajat tinggi (Balasubramaniam et al., 2019). Infeksi HPV derajat tinggi menyebabkan kanker serviks invasif (ICC) di mana genom virus dapat berintegrasi ke dalam genom inang (Syrjänen & Syrjänen, 2008).

### **Respons Imun terhadap HPV**

Infeksi HPV pada tubuh akan dieliminasi oleh respons imun pada kebanyakan individu sehat. Secara umum pada infeksi, sel inang mengaktifkan respons imun bawaan dan adaptif yang dikendalikan oleh major histocompatibility complex (MHC) kelas I dan II. Respons imun bawaan yang melibatkan makrofag, sel natural killer (NK), dan sel dendritik memainkan peran dalam garis pertahanan pertama melawan infeksi HPV. Imunitas bawaan adalah garis pertahanan pertama dan bertindak nonspesifik pada infeksi (X. Wang et al., 2018).

### **Imunitas Bawaan terhadap Infeksi HPV**

Respons imun bawaan memainkan peran penting selama tahap awal infeksi HPV. Imunitas bawaan adalah respons imun nonspesifik dari respons imun tubuh. Ini dimediasi oleh penghalang epitel, sistem komplemen, dan berbagai sel yang memfagositosis antigen dan menyajikannya ke sel lain atau menghancurkannya (Deligeoroglou et al., 2013). Infeksi HPV pada keratinosit yang merupakan sel imun nonprofesional menjadi target infeksi HPV, lalu mengekspresikan reseptor pengenalan pola (PRR). Virus yang berhasil melewati penghalang fisik terluar terhadap infeksi, dan mengaktifkan respons bawaan inang (Ghosh et al., 2015). Pengawasan imun epitel skuamosa serviks dikelola oleh makrofag, sel langerhans (LC), dan sel NK mencoba mengekspresikan reseptor seperti Toll-Like Receptor/ TLR (Balasubramaniam et al., 2019). LC yang berlimpah di kulit dan mukosa menangkap dan memproses antigen untuk mempresentasikannya ke sel B dan T, memunculkan imunitas bawaan dan adaptif terhadap virus (Manickam et al., 2007).

Target utama HPV resiko tinggi pada epitel skuamosa adalah keratinosit yang tidak berdiferensiasi (Karim et al., 2013). Sel-sel ini bertindak sebagai sel imun nonprofesional dengan berfungsi sebagai penghalang fisik dan mengekspresikan reseptor pengenalan pola (PRR). PRR termasuk reseptor seperti toll like receptor (TLR) yang memainkan peran penting dalam pengenalan patogen, aktivasi kekebalan bawaan dan menginduksi produksi sitokin yang diperlukan untuk pengembangan kekebalan yang efektif (Jo et al., 2016). TLR 3, 4, 7, 8, dan 9 memainkan peran utama dalam kekebalan antivirus dengan memicu produksi interferon/ IFN (Balasubramaniam et al., 2019). TLR dapat mengenali ancaman antigen endogen dan eksogen, Pattern Recognition Receptor (PAMP) dan Damage-Associated Molecular Patterns (DAMP). Aktivasi TLR memunculkan profil ekspresi proinflamasi yang meningkatkan imunitas bawaan (Decarlo et al., 2010). PAMP dan DAMP akan mengaktifkan TLR yang diekspresikan pada sel imun dan pada sel kanker. Sel-sel yang diaktifkan akan melepaskan sitokin dan kemokin (Sato et al., 2009).

HPV DNA untai ganda dikenali terutama oleh TLR 9, dan kaskade interferon (IFN- $\alpha$ , INF- $\beta$ , and INF- $\lambda$ ) (Akira & Takeda, 2004). Gen E6 dan E7 pada HPV 16 bertanggung jawab untuk menurunkan regulasi dan mengganggu pensinyalan TLR9, sehingga TLR9 tidak mampu menginduksi respons imun bawaan (Hasan et al., 2007). E6 dan E7 menekan ekspresi sitokin proinflamasi yang diinduksi TLR9. E6 dan E7 yang diekspresi berlebihan menyebabkan penurunan regulasi TLR9 sehingga aktivasi interferon terganggu, mengakibatkan pengindaran respons imun yang menyebabkan infeksi sel yang persisten (Decarlo et al., 2012).

Penelitian yang dilakukan Arnab Ghosh dkk. menunjukkan bahwa ekspresi gen TLR9 berbeda antara tahap perkembangan kanker serviks. Pada penelitian ini menyatakan bahwa TLR9 gen menunjukkan ekspresi yang lebih rendah di CIN 1 dibandingkan dengan CIN 2/3 dan ekspresi TLR9 tertinggi pada karsinoma sel (SCC) pada sampel kelompok skuamosa (Ghosh et al., 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Uzma A. Hasan dkk menyatakan bahwa



onkoprotein HPV E7 mampu mengikat Histon deasetilase 1 (HDAC1) dan mencegah asetilasi histon, sehingga menderegulasi pensinyalan TLR 9 (Hasan et al., 2013).

HPV dapat lolos dari respons imun bawaan dan berintegrasi ke dalam sel epitel. Saat memasuki sel, sel dendritik menelan virus (Torres-Poveda et al., 2014). Sel dendritik (DC) adalah leukosit yang bertanggung jawab untuk memulai respons imun spesifik antigen melalui presentasi antigen (Patente et al., 2019). Lokalisasi infeksi HPV, subtype DC yang dikenal sebagai sel Langerhans (LC) memainkan peran penting dalam memulai dan mengatur respon imun antivirus. Setelah pengenalan HPV, LC mengalami pematangan menghasilkan upregulasi ekspresi MHC, peningkatan sekresi kemokin dan sitokin, dan migrasi ke kelenjar getah bening untuk mengaktifkan sel T naif. LC membentuk sambungan ketat dengan keratinosit yang berdekatan. Kontak dekat ini dimediasi oleh E-cadherin sangat penting untuk mempertahankan LC di kulit. Namun, infeksi HPV16 mengurangi ekspresi E-cadherin pada keratinosit yang terinfeksi, mengakibatkan penipisan LC di kulit. Khususnya, ligan kemokin 20 (CCL20) diekspresikan dalam berbagai sel dan sangat penting untuk migrasi LC yang belum matang ke epidermis. Penghambatan sekresi CCL20 oleh keratinosit oleh infeksi HPV mengganggu migrasi LC ke epidermis (Kudela et al., 2021). Analisis mendalam mengungkapkan bahwa onkoprotein E7 mempengaruhi kaskade molekuler, mencegah pengikatan faktor transkripsi ke promotor CCL20 dan menghambat pensinyalan NF- $\kappa$ B. Selain itu, bukti terbaru menunjukkan bahwa sel yang mengekspresikan E6 menghambat diferensiasi monosit menjadi LC (Iijima et al., 2013).

Makrofag berasal dari monosit dan terletak di jaringan sebagai fagosit, memiliki peran penting dalam respons imun bawaan dan inisiasi. Makrofag mencerna patogen dan juga merangsang limfosit dan sel imun. Onkoprotein E6 yang diekspresikan oleh keratinosit yang terinfeksi menghambat pelepasan monosit chemoattractant protein-1 (MCP-1) dan dengan demikian memodulasi kemotaksis makrofag. Selain itu, onkoprotein E6 dan E7 mengurangi sekresi protein inflamasi makrofag 3 $\alpha$  (MIP-3 $\alpha$ ) oleh keratinosit yang terinfeksi, menghasilkan modulasi kemotaksis makrofag. Kedua protein ini muncul diregulasi secara langsung atau tidak langsung oleh HPV (Hacke et al., 2010).

Bagian penting lain dari respons imun bawaan terhadap serangan virus dikaitkan dengan sel Natural killer (NK). Sel NK adalah limfosit yang merespons dengan cepat sel-sel stres dari serangan virus atau kanker, tanpa memerlukan MHC. Penelitian yang dilakukan oleh Efthimios Deligeoroglou dkk. bahwa pada (lesi intraepitel skuamosa derajat tinggi) HSIL dan kanker serviks infeksi oleh HPV16 pada reseptor pengaktif sel NK terjadi penurunan yang mempengaruhi fungsi sitolitik (Garcia-Iglesias et al., 2009). Infeksi HPV mengatur aktivitas sel NK dalam berbagai cara. Sel yang terinfeksi HPV mengekspresikan HPV-16 E7 mengekspresikan indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1), yang memiliki peran immunosupresif dan berkontribusi terhadap penurunan aktivitas sitotoksik NK. Selain itu, reseptor natural killer 2D (NKG2D) sangat penting untuk aktivasi sel NK. Penurunan regulasi NKG2D dalam sel NK dikaitkan dengan penekanan aktivitas sitotoksik setelah infeksi HPV (Jimenez-Perez et al., 2012).

Sel yang terinfeksi virus akan melepaskan IFN- $\alpha$  dan IFN- $\beta$  untuk menghambat replikasi virus dan mengaktifkan sel natural killer (NK). Protein E6 dan E7 mengikat faktor regulator interferon 1 sehingga mencegah aktivasi IFN- $\alpha$  dan IFN- $\beta$  dan menghambat regulasi transkripsi (Stanley, 2012). Respons imun terhadap kanker serviks dapat menyebabkan virus HPV berkembang. Onkoprotein akan menghambat respons imun adaptif dengan mencegah aktivitas antigen presenting sel (APC) yaitu sel dendritik. Sel dendritik tidak bisa mempresentasikan antigen HPV pada sel T naif dan tidak dapat aktivasi sel T. Replikasi dan migrasi HPV ke sel lain tanpa menghancurkan sel inang sehingga tidak mengaktifkan molekul antiinflamasi (Sasagawa et al., 2012).



### Imunitas Adaptif terhadap Infeksi HPV

Imunitas adaptif adalah garis pertahanan kedua dan mencegah infeksi ulang. Imunitas adaptif secara khusus bereaksi terhadap protein HPV tertentu. Sel B dan sel T sebagai respon imun spesifik terhadap patogen. Sel B bertanggung jawab atas respons imun humoral. sel T terbagi dalam: sel T sitotoksik (CTL), sel Thelper, dan sel T regulator yang bertanggung jawab atas berbagai fungsi fagositosis (Deligeoroglou et al., 2013). Molekul MHC kelas I menyajikan antigen ke sel T sitotoksik dengan reseptor CD8<sup>+</sup>, sedangkan molekul MHC kelas II menyajikan antigen ke sel Thelper dengan reseptor CD4<sup>+</sup> (Balasubramaniam et al., 2019).

Sel Th1 mempromosikan cell-mediated immunity (CMI), kemudian menginduksi CTL untuk memfagositosis sel yang terinfeksi virus. Sel Th2 merangsang imunitas humoral dengan merangsang sel B untuk memproduksi antibodi. Selama infeksi HPV, kekebalan Th1 terhadap protein E2 dan E6 memainkan peran penting dalam menghilangkan infeksi HPV 16 (Sasagawa et al., 2012). Beberapa mekanisme penghindaran imun oleh infeksi HPV16 dapat memfasilitasi perkembangan kanker. HPV16 tidak membunuh sel inang selama replikasi virus sehingga tidak menghadirkan antigen virus dan tidak menginduksi peradangan. Protein E6 dan E7 menurunkan regulasi ekspresi interferon tipe 1 (IFN 1) dalam sel inang. Kurangnya sinyal kostimulator oleh sitokin inflamasi termasuk IFN selama pengenalan antigen dapat menginduksi toleransi imun daripada respons imun untuk mengeliminasi virus. Protein E5 yang disekresikan akan menurunkan regulasi ekspresi MHC kelas I, dan memfasilitasi penghindaran fagositosis oleh CTL. Mekanisme penghindaran respons imun yang lama akan mendukung virus HPV untuk mensekresikan onkoprotein sehingga menginduksi kanker serviks (Sasagawa et al., 2012).

### Vaksinasi Terapeutik untuk Pengobatan Kanker Serviks

Pencegahan infeksi HPV saat ini dengan vaksin profilaksis yaitu vaksin bivalen terhadap HPV16 dan HPV18 (Cervarix), vaksin tetravalen terhadap HPV6, 11, 16, dan 18 (Gardasil), dan vaksin non-valensi terhadap HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 (Gardasil 9) (Garbuglia et al., 2020). Ketiga vaksin ini menggunakan sistem ekspresi ragi dan dibuat dari protein L1 murni, yang dirakit untuk membentuk cangkang kosong spesifik tipe HPV virus like particle (VLP). Hanya VLP utuh yang dapat menghasilkan antibodi pelindung yang mendukung bukti bahwa epitop konformasi L1 diperlukan untuk menghasilkan antibodi penetral (Stanley, 2012). Fungsi utama dari vaksin profilaksis adalah untuk menginduksi imunitas humoral terhadap patogen target, yang pada akhirnya mengarah pada induksi antibodi dan netralisasi aktivitas patogen (Jimenez-Perez et al., 2012).

Meskipun vaksin profilaksis dapat memblokir infeksi awal HPV, tetapi vaksin ini tidak bisa mencegah perkembangan kanker serviks pada individu yang sudah terinfeksi (Harper & DeMars, 2017). Tujuan vaksin HPV profilaksis adalah menurunkan angka kejadian infeksi HPV, tetapi individu yang divaksinasi harus >50% sehingga dibutuhkan sekitar 20 tahun untuk penurunan infeksi HPV yang signifikan. Salah satu cara yang efektif untuk mengendalikan perkembangan alami dari infeksi HPV, penyakit serviks pra-invasif dan invasif pada populasi yaitu vaksinasi terapeutik yang dapat diberikan kepada individu yang sudah terinfeksi HPV untuk menurunkan insiden penyakit terkait HPV dalam bebe(Mariani & Venuti, 2010).

Wanita yang terinfeksi HPV derajat tinggi (CIN2-3) perkembangan kanker serviks dapat dicegah dengan eksisi (bedah dengan pengangkatan kanker) atau ablasi lesi prekursor tetapi mempunyai risiko kekambuhan >10% dan peningkatan risiko dua kali lipat (Sushil Kumar et al., 2015). Selain itu, pembedaan kanker memiliki kelemahan yaitu sel-sel yang ditransformasi oleh HPV tetap ada, sehingga akan memfasilitasi neoplasia berulang. Oleh karena itu, diperlukan vaksin terapeutik yang dapat sepenuhnya menghilangkan sel-sel ganas (Garbuglia et al., 2020).

Vaksin terapeutik yang akan memicu respon imun yang diperantarai sel yang kuat terhadap HPV untuk mengendalikan infeksi dan membunuh tumor (Sushil Kumar et al., 2015).



Tujuan vaksin terapeutik tidak seperti vaksin profilaksis, tujuannya adalah untuk menghasilkan limfosit T sitotoksik (CTL) spesifik antigen yang menargetkan sel yang terinfeksi patogen atau sel kanker (Sayour et al., 2017). Vaksinasi terapeutik dikembangkan sebagai strategi untuk mencegah perkembangan perkembangan sel dari lesi prakanker sampai kanker (Hancock et al., 2018).

### **Dasar Penggunaan Vaksinasi Terapeutik untuk Pengobatan Kanker Serviks**

Vaksin terapeutik menghasilkan imunitas yang diperantarai sel. Meskipun vaksin profilaksis dapat mencegah infeksi HPV tetapi tidak bisa mengobati seseorang yang terinfeksi HPV. Infeksi HPV tetap menjadi masalah di seluruh dunia perkembangan infeksi yang lama, kurangnya screening HPV pada orang yang sudah menikah, vaksin yang komersial belum mencakup semua jenis HPV, dan belum berjalannya program vaksinasi pemerintah (Garbuglia et al., 2020).

Respons imun yang dimediasi sel (CMI) sangat penting untuk membunuh sel yang terinfeksi HPV (Deligeoroglou et al., 2013). Vaksin HPV terapeutik digunakan untuk merangsang respons imun yang diperantarai sel untuk secara khusus menargetkan dan membunuh sel yang terinfeksi. Pemberian berbagai jenis vaksin HPV terapeutik menghasilkan pengiriman berbagai bentuk antigen ke dalam tubuh (Yang et al., 2016). Dalam banyak kesempatan, ketika lesi terkait HPV berkembang menjadi kanker, DNA virus HPV akan diintegrasikan ke dalam genom inang. Proses integrasi mengarah pada penghapusan banyak gen awal (E1, E2, E4, dan E5) dan akhir (L1 dan L2). Penghapusan gen L1 dan L2 selama integrasi HPV DNA membuat vaksin profilaksis tidak efektif dalam menargetkan sel yang terinfeksi (Daniel E Shumer, 2017).

Dalam pembersihan infeksi HPV yang dimediasi CMI spesifik HPV dan lesi terkait HPV, sel T CD8<sup>+</sup> yang diaktifkan adalah sel efektor yang penting karena kemampuannya mengenali dan membunuh sel yang terinfeksi virus. Sel T CD4<sup>+</sup> memainkan peran penting dengan priming generasi sel T CD8<sup>+</sup> serta mempertahankan sel T CD8<sup>+</sup>. Selain itu, sel T CD4<sup>+</sup> yang diinduksi oleh vaksin jelas memiliki peran penting dalam keberhasilan kekebalan tumor dan pemeliharaan respons memori spesifik antigen tumor jangka panjang. Oleh karena itu, vaksin HPV terapeutik yang ideal harus menginduksi respons sel T CD8<sup>+</sup> yang kuat serta respons sel T CD4<sup>+</sup> untuk memastikan efisiensinya (Wang et al., 2018).

### **Jenis Antigen yang Dimanfaatkan dalam Pengembangan Vaksin Terapeutik Kanker Serviks**

Setelah internalisasi virion, protein E1 dan E2 memulai dan mempertahankan replikasi virus. E2 penting untuk replikasi HPV dalam sel inang dan diekspresikan di awal siklus hidup virus. E2 adalah salah satu target potensial untuk vaksin yang bertujuan untuk mengobati tahap awal penyakit, seperti CIN 1 (Dillon et al., 2007). E2 diekspresikan di awal infeksi daripada E6 dan E7 pada perkembangan infeksi HPV dengan memulai replikasi virus. (Kyrgiou et al., 2016) Selain itu tanggapan terhadap E2 terkait dengan regresi CIN dan pembersihan virus (Woo et al., 2010). Protein E2 adalah target yang menarik untuk pengembangan vaksin terapeutik karena keterlibatan langsungnya dalam replikasi dan transkripsi DNA virus dan dalam pemisahan genom virus selama pembelahan sel. Sebagai faktor inisiasi replikasi, E2 mengikat dengan afinitas tinggi ke situs spesifik yang terletak pada situs ori replikasi virus untuk membantu merekrutnya ke helikase E1 (Leticia, 2020).

E6 dan E7 mendorong onkogenesis dengan menargetkan kontrol siklus sel inang. Antigen HPV E6 dan E7 secara konstitutif diekspresikan dalam lesi prakanker, dan invasif tetapi tidak ada pada sel sehat. E6 dan E7 sangat penting untuk induksi dan pemeliharaan transformasi seluler sehingga tidak mungkin hilang dalam upaya HPV menghindari respons imun. E6 dan E7 menghasilkan transformasi sel yang terinfeksi HPV dan pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali. E6 dan E7 dapat digunakan sebagai target untuk pendekatan imunoterapi untuk



pasien yang telah infeksi HPV, dan juga sebagai kandidat vaksin terapeutik yang terus dikembangkan hingga saat ini (Hancock et al., 2018).

E2 adalah protein awal yang akan memulai dan mempertahankan replikasi virus, dan berhubungan dengan ekspresi onkoprotein (Hancock et al., 2018). Penargetan protein E2 ini diharapkan akan mencegah virus untuk mengekspresikan onkoprotein, sehingga perembangan sel abnormal bisa dicegah. Onkoprotein E6 dan E7 diekspresikan secara konstan selama karsinogenesis serviks, dan dominan pada tahap yang berbeda selama perkembangan kanker. Menargetkan onkoprotein E6 dan E7 akan menjadi pendekatan yang menjanjikan untuk pengembangan vaksin terapeutik yang dapat memberikan efek terapeutik komprehensif pada kanker yang dimediasi HPV (Jo et al., 2016).. E2, E6 dan E7 merupakan protein virus sehingga meningkatkan efektifitas klinis vaksin terapeutik, dan meminimalisir adanya toleransi imun (Hancock et al., 2018).

### **Platform Vaksin Teraupetik Kanker Serviks**

Vaksin terapeutik untuk mengobati sel prakanker dan kanker serviks telah dikembangkan dengan berbagai jenis vaksin, yaitu: berbasis protein/ peptida, vaksin berbasis vektor bakteri atau virus, vaksin berbasis DNA dan vaksin berbasis sel (Daniel E Shumer, 2017).

#### ***Vaksin berbasis vektor hidup***

Vaksin berbasis vektor hidup sering dikategorikan sebagai vektor bakteri atau virus tergantung pada platform vektornya. Vektor ini menghantarkan antigen E6 dan E7 ke APC untuk menginduksi sel sitotoksik CD8<sup>+</sup> dan sel Thelper CD4<sup>+</sup>. Vektor bereplikasi di dalam tubuh dan menginduksi respons imun terhadap virus. Vaksin HPV terapeutik berbasis vektor hidup sangat imunogenik dan dapat menginduksi respons imun seluler dan humoral (Yang et al., 2016). Vaksin ini menimbulkan risiko keamanan, terutama pada individu dengan autoimun. Adanya kemungkinan resistensi terhadap vektor hidup atau ada antibodi spesifik vektor yang sudah ada sebelumnya sehingga membuat vaksin berpotensi tidak efektif (Sushil Kumar et al., 2015).

#### ***Vaksin berbasis peptida dan protein***

Vaksin berbasis peptida dan berbasis protein aman, stabil, dan mudah diproduksi. Peptida dan protein yang berasal dari antigen HPV diproses oleh sel dendritik kemudian disajikan pada molekul MHC kelas I atau kelas II untuk merangsang respons sel T CD8<sup>+</sup> dan CD4<sup>+</sup> spesifik. Vaksin berbasis protein memiliki kurang imunogen, sehingga untuk meningkatkan potensi vaksin ditambahkan adjuvan atau cell penetrating peptides (CPP) untuk sistem penghantaran. Penambahan adjuvan pada vaksin protein akan meningkatkan pemrosesan antigen secara eksogen ataupun endogen untuk mengaktifasi respons imun humoral dan seluler (Lin et al., 2010).

#### ***Vaksin berbasis asam nukleat***

Vaksin DNA dan RNA merupakan salah satu platform vaksin yang berpotensi efektif untuk aktivasi respons imun dan imunoterapi spesifik antigen. Pengembangan vaksin DNA aman, mudah diproduksi stabil, dan tidak menginduksi antibodi penetral. Vaksinasi DNA melibatkan injeksi DNA plasmid yang mengkode antigen yang diinginkan ke dalam sel inang. Vaksin ini akan memproduksi protein didalam tubuh yang diharapkan akan menjadi antigen endogen yang langsung menstimulasi respons imun humoral maupun seluler. Kelemahan vaksin DNA yaitu memiliki imunogenisitas yang rendah karena tidak mampu beramplifikasi dan menyebar dari sel yang ditransfeksi ke sel sekitarnya secara in vivo. Untuk mengatasi ini dikembangkan vaksin DNA dengan delivery systems. Vaksin RNA merupakan vaksin yang diturunkan dari RNA virus. Vaksin RNA mampu mereplikasi diri yang mengarah pada ekspresi antigen yang berkelanjutan dan peningkatan imunogenisitas. Selain itu, vaksin RNA tidak membentuk partikel virus, oleh karena itu tidak mengarah pada pembentukan antibodi



penetralsisir. Kelemahan dari vaksin replika RNA adalah mudah terdegradasi vaksin tidak dapat menstimulasi respons imun (Yang et al., 2016).

### **Vaksin berbasis sel**

Sel dendritik (DC) adalah sel penyaji antigen khusus dalam tubuh yang menginduksi respon sel T melalui jalur MHC kelas I dan II. Vaksin berbasis DC dapat berfungsi sebagai adjuvan alami untuk meningkatkan potensi imunoterapi spesifik antigen melawan kanker. Tetapi vaksin ini tidak efisien untuk produksi skala besar, teknik kultur yang bervariasi dapat menyebabkan kualitas vaksin yang tidak konsisten, dan kurangnya kriteria standar untuk evaluasi vaksin. Terakhir, rute pemberian yang paling efektif untuk vaksin berbasis DC belum ditentukan (Lee et al., 2016).

Vaksin berbasis tumor dibuat dengan mengisolasi dan dimanipulasi secara *ex vivo* untuk mengekspresikan protein modulator imun yang selanjutnya dapat meningkatkan imunogenisitasnya secara *in vivo*.<sup>81</sup> Satu keuntungan dari vaksin sel tumor adalah dapat mencakup antigen tumor yang lebih luas. Vaksin berbasis sel tumor berisiko memunculkan kanker baru pada pasien. Karena sifat vaksin ini dan potensi risikonya, potensi dan kemurnian setiap vaksin harus disesuaikan secara individual, sehingga membuat produksi menjadi mahal dan memakan waktu. Vaksin berbasis sel tumor yang ditargetkan terhadap HPV belum dikembangkan dan diuji dalam studi klinis (Yang et al., 2016).

### **Penggunaan Antigen E2, E6, dan E7 untuk Pengembangan Vaksin Teraupetik Kanker Serviks**

Penelitian yang dilakukan oleh Marij J.P. Welters dkk pada pasien karsinoma serviks HPV16 didapatkan hasil bahwa respons sel T yang diimunisasi vaksinasi E6 dan E7. Respons imun yang teraktivasi melibatkan sel T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>, dan dapat dideteksi hingga 12 bulan setelah vaksinasi terakhir. Respon sel T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> menunjukkan potensi imunoterapi dari vaksin ini (Welters et al., 2008). Basit Jabbar dkk. memprediksi peptida antigen dari HPV tipe 16 dan 18 yang dikodekan oleh gen E6 dan E7. Penelitian ini menggunakan pendekatan imunoinformatika dan pemodelan molekul dalam memprediksi epitop sel B dan sel T untuk pengembangan vaksin peptida. Beberapa kandidat peptida menghasilkan prediksi afinitas yang baik sehingga berfungsi sebagai kandidat epitop untuk pengembangan vaksin peptida HPV terapeutik (Jabbar et al., 2018).

Siklus infeksi HPV16 yang tidak menghancurkan sel keratinosit pasien sehingga menghindari aktivasi sinyal proinflamasi untuk aktivasi sel penyaji antigen (APC). Antigen diperlukan untuk merangsang perekrutan dan aktivasi APC, sel T CD4<sup>+</sup> dalam proses respons humoral, dan sel T CD8<sup>+</sup> untuk respons imun seluler. Sel T CD8<sup>+</sup> spesifik akan memfagositosis virus dan sel terinfeksi. (Jabbar et al., 2018). Harapannya vaksin terapeutik ini akan mengaktifkan respons imun seluler maupun humoral. Vaksin terapeutik mengandung antigen E2, E6, dan E7 akan dipresentasikan ke APC yaitu sel dendritik. Antigen yang berbentuk protein diproses menjadi peptida pendek/ fragmen yang lebih kecil oleh proteasom untuk dipresentasikan ke MHC kelas I di retikulum endoplasma (Yao et al., 2013). Antigen akan mengaktifkan sel T CD8<sup>+</sup> disajikan oleh reseptor sel T (TCR), sel T CD8<sup>+</sup> sitotoksik (CTL), akan mengeliminasi sel terinfeksi virus yang terinfeksi dengan mensekresi granzim B dan perforin yang menyebabkan kematian sel (Yang et al., 2016).

Antigen juga dipresentasikan ke MHC kelas II, kemudian diangkut ke permukaan sel untuk dipresentasikan ke reseptor sel T pada sel T CD4<sup>+</sup> (Yang et al., 2016). Sel T CD4<sup>+</sup> selanjutnya berdiferensiasi menjadi Thelper untuk memperkuat respons CTL serta mengaktifkan sel B humoral untuk menghasilkan antibodi penetralsisir. CTL memediasi pembunuhan antigen spesifik sel tumor. Sel T CD4<sup>+</sup> juga mensekresi sitokin seperti IFN- $\gamma$  dan IL2 yang memberi label pada sel yang terinfeksi dan ganas. Sel T CD8<sup>+</sup> yang teraktivasi hanya akan memfagositosis sel yang terinfeksi HPV, sel-sel tersebut yaitu yang sel abnormal atau sel



kanker. Diharapkan antigen E2, E6, dan E7 adalah target ideal untuk terapi vaksin karena perannya dalam mengaktifasi respons imun seluler untuk mengeliminasi sel tumor dan kanker (Hancock et al., 2018).

## PENUTUP

### Simpulan

Human papillomavirus saat menginfeksi individu akan mensekresikan gen penyandi protein awal dan akhir. Protein awal ini seperti E2 akan membantu regulasi replikasi virus pada tahap awal dan akan terdeslesi karena terjadi integrasi yang menyebabkan peningkatan protein E6 dan E7. Protein E6 dan E7 akan menyebabkan pertumbuhan sel abnormal. E6 dan E7 akan mengganggu pensinyalan TLR-9 dan menekan sekresi sitokin proinflamasi. Protein-protein yang diekspresikan ini akan menurunkan respons imun sehingga akan menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol. Beberapa mekanisme penghindaran imun oleh infeksi HPV 16 dapat memfasilitasi perkembangan kanker. HPV tidak membunuh sel inang selama replikasi virus sehingga tidak menghadirkan antigen virus dan tidak menginduksi peradangan. Protein E6 dan E7 juga menurunkan regulasi ekspresi interferon tipe 1 (IFN 1) dalam sel inang. Diharapkan antigen E2, E6, dan E7 akan menargetkan imunitas yang diperantarai sel, sehingga akan dipresentasikan ke sel penyaji antigen (APC) yaitu sel dendritik melalui fagositosis. Protein diproses menjadi peptida pendek oleh proteasom dan dimuat ke major histocompatibility complex (MHC) kelas I dan II di retikulum endoplasma. Sel T CD4<sup>+</sup> disajikan melalui molekul MHC kelas II, dan sel T CD8<sup>+</sup> sitotoksik disajikan melalui molekul MHC kelas I. Sel T CD4<sup>+</sup> membantuk aktivasi Sel T CD8<sup>+</sup> sitotoksik (CTL) dan mengaktifkan sel B humoral untuk menghasilkan antibodi penetralisir. CTL akan memfagositosis sel yang terinfeksi virus HPV dan sel abnormal. Sehingga nantinya diharapkan antigen E2, E6, dan E7 ini akan mengeliminasi sel tumor dan kanker akibat infeksi HPV 16.

### Saran

Tinjauan pustaka ini diharapkan sebagai acuan untuk menguji antigen E2, E6, dan E7 untuk pemanfaatan vaksin terapeutik. Pengujian bisa didahulukan secara bioinformatika, diharapkan kita bisa mengetahui bahwa antigen tersebut bisa mengaktifasi respons imun seluler dan keamanan dari antigen tersebut. Pengujian dengan hewan coba juga perlu dilakukan dan beberapa tahap pengujian lainnya untuk memastikan manfaat dari antigen E2, E6, dan E7.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akira, S., & Takeda, K. (2004). Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology*, 4(7), 499–511. <https://doi.org/10.1038/nri1391>
- Almeida, A. M., Queiroz, J. A., Sousa, F., & Sousa, Â. (2019). Cervical cancer and HPV infection: ongoing therapeutic research to counteract the action of E6 and E7 oncoproteins. *Drug Discovery Today*, 24(10), 2044–2057. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.07.011>
- Badillo-Godinez, O., Pedroza-Saavedra, A., Valverde-Garduño, V., Bermudez-Morales, V., Maldonado-Gama, M., Leon-Letelier, R., Bonifaz, L. C., Esquivel-Guadarrama, F., & Gutierrez-Xicotencatl, L. (2021). Induction of Therapeutic Protection in an HPV16-Associated Mouse Tumor Model Through Targeting the Human Papillomavirus-16 E5 Protein to Dendritic Cells. *Frontiers in Immunology*, 12(February), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.593161>
- Balasubramaniam, S. D., Balakrishnan, V., Oon, C. E., & Kaur, G. (2019). Key molecular events in cervical cancer development. *Medicina (Lithuania)*, 55(7). <https://doi.org/10.3390/medicina55070384>



- Bergvall, M., Melendy, T., & Archambault, J. (2013). The E1 proteins. *Virology*, 445(1–2), 35–56. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.07.020>
- Bernard, H. U., Burk, R. D., Chen, Z., van Doorslaer, K., Hausen, H. zur, & de Villiers, E. M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 401(1), 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.02.002>
- Burk, R. D., Chen, Z., Saller, C., Tarvin, K., Carvalho, A. L., Scapulatempo-Neto, C., Silveira, H. C., Fregnani, J. H., Creighton, C. J., Anderson, M. L., Castro, P., Wang, S. S., Yau, C., Benz, C., Gordon Robertson, A., Mungall, K., Lim, L., Bowlby, R., Sadeghi, S., ... Mutch, D. (2017). Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature*, 543(7645), 378–384. <https://doi.org/10.1038/nature21386>
- Chabeda, A., Yanez, R. J. R., Lamprecht, R., Meyers, A. E., Rybicki, E. P., & Hitzeroth, I. I. (2018). Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Research*, 5(August 2017), 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.pvr.2017.12.006>
- Daniel E Shumer, N. J. N. P. S. (2017). The current state of therapeutic and T cell-based vaccines against human papillomaviruses. *Physiology & Behavior*, 176(12), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.12.002>
- de Oliveira, L. M. F., Morale, M. G., Chaves, A. A. M., Demasi, M., & Ho, P. L. (2017). Expression, Polyubiquitination, and Therapeutic Potential of Recombinant E6E7 from HPV16 Antigens Fused to Ubiquitin. *Molecular Biotechnology*, 59(1), 46–56. <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9990-6>
- Decarlo, C. A., Rosa, B., Jackson, R., Niccoli, S., Escott, N. G., & Zehbe, I. (2012). Toll-like receptor transcriptome in the HPV-positive cervical cancer microenvironment. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/785825>
- Decarlo, C. A., Severini, A., Edler, L., Escott, N. G., Lambert, P. F., Ulanova, M., & Zehbe, I. (2010). IFN- $\kappa$ , a novel type I IFN, is undetectable in HPV-positive human cervical keratinocytes. *Laboratory Investigation*, 90(10), 1482–1491. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2010.95>
- Deligeoroglou, E., Giannouli, A., Athanasopoulos, N., Karountzos, V., Vatopoulou, A., Dimopoulos, K., & Creatsas, G. (2013). HPV infection: Immunological aspects and their utility in future therapy. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/540850>
- Dillon, S., Sasagawa, T., Crawford, A., Prestidge, J., Inder, M. K., Jerram, J., Mercer, A. A., & Hibma, M. (2007). Resolution of cervical dysplasia is associated with T-cell proliferative responses to human papillomavirus type 16 E2. *Journal of General Virology*, 88(3), 803–813. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82678-0>
- Egawa, N., Wang, Q., Griffin, H. M., Murakami, I., Jackson, D., Mahmood, R., & Doorbar, J. (2017). HPV16 and 18 genome amplification show different E4-dependence, with 16E4 enhancing E1 nuclear accumulation and replicative efficiency via its cell cycle arrest and kinase activation functions. *In PLoS Pathogens* (Vol. 13, Issue 3). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006282>
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144(8), 1941–1953. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
- Garbuglia, A. R., Lapa, D., Sias, C., Capobianchi, M. R., & Del Porto, P. (2020). The Use of Both Therapeutic and Prophylactic Vaccines in the Therapy of Papillomavirus



- Disease. *Frontiers in Immunology*, 11(February), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00188>
- Garcia-Iglesias, T., del Toro-Arreola, A., Albarran-Somoza, B., del Toro-Arreola, S., Sanchez-Hernandez, P. E., Ramirez-Dueñas, M., Balderas-Peña, L. M. A., Bravo-Cuellar, A., Ortiz-Lazareno, P. C., & Daneri-Navarro, A. (2009). Low NKp30, NKp46 and NKG2D expression and reduced cytotoxic activity on NK cells in cervical cancer and precursor lesions. *BMC Cancer*, 9, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-186>
- Gheit, T. (2019). Mucosal and cutaneous human papillomavirus infections and cancer biology. *Frontiers in Oncology*, 9(MAY). <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00355>
- Ghosh, A., Dasgupta, A., Bandyopadhyay, A., Ghosh, T. K., Dalui, R., Biswas, S., Banerjee, U., & Basu, A. (2015). A study of the expression and localization of toll-like receptors 2 and 9 in different grades of cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Experimental and Molecular Pathology*, 99(3), 720–724. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.11.015>
- Hacke, K., Rincon-Orozco, B., Buchwalter, G., Siehler, S. Y., Wasylyk, B., Wiesmüller, L., & Rösl, F. (2010). Regulation of MCP-1 chemokine transcription by p53. *Molecular Cancer*, 9, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-82>
- Hancock, G., Blight, J., Lopez-Camacho, C., Kopycinski, J., Pocock, M., Byrne, W., Price, M. J., Kemlo, P., Evans, R. I., Bloss, A., Saunders, K., Kirton, R., Andersson, M., Hellner, K., Reyes-Sandoval, A., & Dorrell, L. (2019). A multi-genotype therapeutic human papillomavirus vaccine elicits potent T cell responses to conserved regions of early proteins. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55014-z>
- Hancock, G., Hellner, K., & Dorrell, L. (2018). Therapeutic HPV vaccines. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 47, 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.09.008>
- Harper, D. M., & DeMars, L. R. (2017). HPV vaccines – A review of the first decade. *Gynecologic Oncology*, 146(1), 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.04.004>
- Hasan, U. A., Bates, E., Takeshita, F., Biliato, A., Accardi, R., Bouvard, V., Mansour, M., Vincent, I., Gissmann, L., Iftner, T., Sideri, M., Stubenrauch, F., & Tommasino, M. (2007). TLR9 Expression and Function Is Abolished by the Cervical Cancer-Associated Human Papillomavirus Type 16. *The Journal of Immunology*, 178(5), 3186–3197. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.5.3186>
- Hasan, U. A., Zannetti, C., Parroche, P., Goutagny, N., Malfroy, M., Roblot, G., Carreira, C., Hussain, I., Müller, M., Taylor-Papadimitriou, J., Picard, D., Sylla, B. S., Trinchieri, G., Medzhitov, R., & Tommasino, M. (2013). The Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein induces a transcriptional repressor complex on the Toll-like receptor 9 promoter. *Journal of Experimental Medicine*, 210(7), 1369–1387. <https://doi.org/10.1084/jem.20122394>
- Iijima, N., Goodwin, E. C., DiMaio, D., & Iwasaki, A. (2013). High-risk human papillomavirus E6 inhibits monocyte differentiation to Langerhans cells. *Virology*, 444(1–2), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.020>
- Jabbar, B., Rafique, S., Salo-Ahen, O. M. H., Ali, A., Munir, M., Idrees, M., Mirza, M. U., Vanmeert, M., Shah, S. Z., Jabbar, I., & Rana, M. A. (2018). Antigenic Peptide Prediction From E6 and E7 Oncoproteins of HPV Types 16 and 18 for Therapeutic Vaccine Design Using Immunoinformatics and MD Simulation Analysis. *Frontiers in Immunology*, 9(December), 3000. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03000>
- Jalil, A. T., Al-Khafaji, A. H. D., Karevskiy, A., Dilyf, S. H., & Hanan, Z. K. (2021). Polymerase chain reaction technique for molecular detection of HPV16 infections



- among women with cervical cancer in Dhi-Qar Province. *Materials Today: Proceedings*, May. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.211>
- James, C. D., Fontan, C. T., Otoa, R., Das, D., Prabhakar, A. T., Wang, X., Bristol, M. L., & Morgan, I. M. (2020). Innate Immune Gene Transcription. *Mosphere*, 5(1), 1–15. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00828-19>
- Jimenez-Perez, M. I., Jave-Suarez, L. F., Ortiz-Lazareno, P. C., Bravo-Cuellar, A., Gonzalez-Ramella, O., Aguilar-Lemarroy, A., Hernandez-Flores, G., Pereira-Suarez, A. L., Daneri-Navarro, A., & del Toro-Arreola, S. (2012). Cervical cancer cell lines expressing NKG2D-ligands are able to down-modulate the NKG2D receptor on NK cells with functional implications. *BMC Immunology*, 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-13-7>
- Jo, E. K., Kim, J. K., Shin, D. M., & Sasakawa, C. (2016). Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cellular and Molecular Immunology*, 13(2), 148–159. <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.95>
- Kantang, W., Chunsriviro, S., Muangsin, N., Poovorawan, Y., & Krusong, K. (2016). Design of peptides as inhibitors of human papillomavirus 16 transcriptional regulator E1–E2. *Chemical Biology and Drug Design*, May, 475–484. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12790>
- Karim, R., Tummers, B., Meyers, C., Biryukov, J. L., Alam, S., Backendorf, C., Jha, V., Offringa, R., van Ommen, G. J. B., Melief, C. J. M., Guardavaccaro, D., Boer, J. M., & van der Burg, S. H. (2013). Human Papillomavirus (HPV) Upregulates the Cellular Deubiquitinase UCHL1 to Suppress the Keratinocyte's Innate Immune Response. *PLoS Pathogens*, 9(5). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003384>
- Khan, K. H. (2013). DNA vaccines: Roles against diseases. *Germs*, 3(1), 26–35. <https://doi.org/10.11599/germs.2013.1034>
- Kim, H. J., & Kim, H. J. (2017). Current status and future prospects for human papillomavirus vaccines. *Archives of Pharmacal Research*, 40(9), 1050–1063. <https://doi.org/10.1007/s12272-017-0952-8>
- Kim, J. H., Kang, T. H., Noh, K. H., Bae, H. C., Kim, S. H., Yoo, Y. Do, Seong, S. Y., & Kim, T. W. (2009). Enhancement of dendritic cell-based vaccine potency by anti-apoptotic siRNAs targeting key pro-apoptotic proteins in cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cell-mediated cell death. *Immunology Letters*, 122(1), 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2008.12.006>
- Kudela, E., Liskova, A., Samec, M., Koklesova, L., Holubekova, V., Rokos, T., Kozubik, E., Pribulova, T., Zhai, K., Busselberg, D., Kubatka, P., & Biringer, K. (2021). The interplay between the vaginal microbiome and innate immunity in the focus of predictive, preventive, and personalized medical approach to combat HPV-induced cervical cancer. *EPMA Journal*, 12(2), 199–220. <https://doi.org/10.1007/s13167-021-00244-3>
- Kyrgiou, M., Athanasiou, A., Paraskevaidi, M., Mitra, A., Kalliala, I., Martin-Hirsch, P., Arbyn, M., Bennett, P., & Paraskevaidis, E. (2016). Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online)*, 354. <https://doi.org/10.1136/bmj.i3633>
- Lee, S. J., Yang, A., Wu, T., & Hung, C. F. (2016). Immunotherapy for human papillomavirus-associated. *Journal of Gynecologic Oncology*, 27(5), 1–17. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4944018/pdf/jgo-27-e51.pdf>



- Leticia, S. M. M. (2020). Cloning, Expression, and Purification of the rE2 Protein Human Papillomavirus type 16. *Protein Research & Bioinformatics*, November, 1–5. <https://doi.org/10.24966/prb-1545/100012>
- Ma, B., Maraj, B., Tran, N. P., Knoff, J., Chen, A., Alvarez, R. D., Hung, C. F., & Wu, T. C. (2012). Emerging human papillomavirus vaccines. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 17(4), 469–492. <https://doi.org/10.1517/14728214.2012.744393>
- Manickam, A., Sivanandham, M., & Tourkova, I. L. (2007). Immunological role of dendritic cells in cervical cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 601(Tindle 2002), 155–162. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-72005-0\\_16](https://doi.org/10.1007/978-0-387-72005-0_16)
- Mavrommatis, E., Lytsikas-Sarlis, P., & Troupis, T. (2021). Historical pearls of hpv research: From condyloma to cervical cancer. *Infezioni in Medicina*, 29(2), 278–283.
- Molto, E., & Sheldrick, P. (2018). Paleo-oncology in the Dakhleh Oasis, Egypt: Case studies and a paleoepidemiological perspective. *International Journal of Paleopathology*, 21(September 2017), 96–110. <https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2018.02.003>
- Moody, C. A., & Laimins, L. A. (2010). Human papillomavirus oncoproteins: Pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*, 10(8), 550–560. <https://doi.org/10.1038/nrc2886>
- Pal, A., & Kundu, R. (2020). Human Papillomavirus E6 and E7: The Cervical Cancer Hallmarks and Targets for Therapy. *Frontiers in Microbiology*, 10(January). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03116>
- Pang, C. L., & Thierry, F. (2013). Human papillomavirus proteins as prospective therapeutic targets. *Microbial Pathogenesis*, 58, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2012.11.002>
- Patente, T. A., Pinho, M. P., Oliveira, A. A., Evangelista, G. C. M., Bergami-Santos, P. C., & Barbuto, J. A. M. (2019). Human dendritic cells: Their heterogeneity and clinical application potential in cancer immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 10(JAN), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03176>
- Ramakrishnan, V., Haydu, C. De, Wilkinson, P., Hooda, U., & Giri, B. (2021). Minnelide , a prodrug , inhibits cervical cancer growth by blocking HPV-induced changes in p53 and pRb. 11(5), 2202–2214.
- Roman, A., & Munger, K. (2013). The papillomavirus E7 proteins. *Virology*, 445(1–2), 138–168. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.04.013>
- Sasagawa, T., Takagi, H., & Makinoda, S. (2012). Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 18(6), 807–815. <https://doi.org/10.1007/s10156-012-0485-5>
- Sato, Y., Goto, Y., Narita, N., & Hoon, D. S. B. (2009). Cancer cells expressing toll-like receptors and the tumor microenvironment. *Cancer Microenvironment*, 2(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1007/s12307-009-0022-y>
- Sayour, E. J., & Mitchell, D. A. (2017). Manipulation of Innate and Adaptive Immunity through Cancer Vaccines. *Journal of Immunology Research*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3145742>
- Serrano, B., Brotons, M., Bosch, F. X., & Bruni, L. (2018). Epidemiology and burden of HPV-related disease. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 47, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.006>
- Sher, Y.-P., Lee, C., Liu, S.-Y., Chen, I.-H., Lee, M.-H., Chiu, F.-F., Leng, C.-H., & Liu, S.-J. (2018). A therapeutic vaccine targeting HPV E6/E7 with intrinsic Toll-like receptor 2 agonist activity induces antitumor immunity. *American Journal of Cancer Research*, 8(12), 2528–2537.



- Stanley, M. A. (2012). Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 215–222. <https://doi.org/10.1128/CMR.05028-11>
- Sushil Kumar, S. V. A., Manash Biswas, B., & Jose, T. (2015). HPV vaccine: Current status and future directions. *Medical Journal Armed Forces India*, 71(2), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2015.02.006>
- Syrjänen, S., & Syrjänen, K. (2008). The history of papillomavirus research. *Central European Journal of Public Health*, 16(SUPPL.), S7–S13. <https://doi.org/10.21101/cejph.b0040>
- Torres-Poveda, K., Bahena-Román, M., Madrid-González, C., Burguete-García, A. I., Bermúdez-Morales, V. H., Peralta-Zaragoza, O., & Madrid-Marina, V. (2014). Role of IL-10 and TGF- $\beta$ 1 in local immunosuppression in HPV-associated cervical neoplasia. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(4), 753–763. <https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i4.753>
- Van Doorslaer, K., Tan, Q., Xirasagar, S., Bandaru, S., Gopalan, V., Mohamoud, Y., Huyen, Y., & McBride, A. A. (2013). The Papillomavirus Episteme: A central resource for papillomavirus sequence data and analysis. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 571–578. <https://doi.org/10.1093/nar/gks984>
- Vande Pol, S. B., & Klingelhutz, A. J. (2013). Papillomavirus E6 oncoproteins. *Virology*, 445(1–2), 115–137. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.04.026>
- Wang, X., Che, Y., Chen, B., Zhang, Y., Nakagawa, M., & Wang, X. (2018). Evaluation of immune responses induced by a novel human papillomavirus type 16 E7 peptide-based vaccine with Candida skin test reagent as an adjuvant in C57BL/6 mice. *International Immunopharmacology*, 56(77), 249–260. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.037>
- Welters, M. J. P., Kenter, G. G., Piersma, S. J., Vloon, A. P. G., Löwik, M. J. G., Berends-van Der Meer, D. M. A., Drijfhout, J. W., Valentijn, A. R. P. M., Wafelman, A. R., Oostendorp, J., Fleuren, G. J., Offringa, R., Melief, C. J. M., & Van Der Burg, S. H. (2008). Induction of tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell immunity in cervical cancer patients by a human papillomavirus type 16 E6 and E7 long peptides vaccine. *Clinical Cancer Research*, 14(1), 178–187. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1880>
- Woo, Y. L., Van Den Hende, M., Sterling, J. C., Coleman, N., Crawford, R. A. F., Kwappenberg, K. M. C., Stanley, M. A., & Van Der Burg, S. H. (2010). A prospective study on the natural course of low-grade squamous intraepithelial lesions and the presence of HPV16 E2-, E6- And E7-specific T-cell responses. *International Journal of Cancer*, 126(1), 133–141. <https://doi.org/10.1002/ijc.24804>
- World Health Organization. (2020). Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-\(hpv\)-and-cervical-cancer](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervical-cancer)
- Wu, C. Y., Monie, A., Pang, X., Hung, C. F., & Wu, T. C. (2010). Improving therapeutic HPV peptide-based vaccine potency by enhancing CD4+ T help and dendritic cell activation. *Journal of Biomedical Science*, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-88>
- Yang, A., Farmer, E., Wu, T. C., & Hung, C. F. (2016). Perspectives for therapeutic HPV vaccine development. *Journal of Biomedical Science*, 23(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12929-016-0293-9>
- Yao, Y., Huang, W., Yang, X., Sun, W., Liu, X., Cun, W., & Ma, Y. (2013). HPV-16 E6 and E7 protein T cell epitopes prediction analysis based on distributions of HLA-A loci



across populations: An in silico approach. *Vaccine*, 31(18), 2289–2294.  
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.02.065>

Zur Hausen, H. (2002). Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer*, 2(5), 342–350. <https://doi.org/10.1038/nrc798>