

Laporan Penelitian

## Hubungan kadar IL-8 dan IL-10 yang berpengaruh terhadap progresifitas karsinoma nasofaring

\*Eka Savitri, \*\*Sofia Mubarika Haryana

\* Department of Ortholaryngology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University

\*\* Department of Biomolecular/ Histology, Fakultas Medicine, Gajah Mada University

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Karsinoma nasofaring (KNF) adalah keganasan epitelial yang banyak dijumpai pada populasi Cina dan Asia Tenggara termasuk Indonesia. Virus Epstein Barr (EBV) terbukti berasosiasi kuat dengan karsinoma nasofaring. Beberapa protein virus seperti EBER, LMP1, LMP2 ditemukan pada jaringan dan darah penderita kanker nasofaring. Selain itu terjadi peningkatan kadar antibodi terhadap protein virus IgA (VCA-p18+EBNA-1) pada mayoritas pasien. Peningkatan plasma EBV DNA merupakan *marker* yang penting adanya penyakit dan untuk monitoring progresifitas penyakit. Parameter lain serum/ plasma yaitu kadar Interleukin-8 (IL-8) dan interleukin-10 (IL-10) juga terlibat didalam progresifitas karsinoma nasofaring. **Tujuan:** penelitian ini untuk melihat hubungan kadar IL-8 dan IL-10 dengan stadium dari karsinoma nasofaring. **Metode:** Penelitian ini bersifat potong lintang (*cross sectional study*) pendekatan survei eksploratif dengan 39 pasien karsinoma nasofaring dan kontrol 29 orang sehat dalam penelitian ini. Nilai kadar plasma IL-8 dan IL-10 diperiksa dengan ELISA. **Hasil:** menunjukkan terdapat korelasi positif antara IL-8 dan IL-10 terhadap progresifitas KNF. **Kesimpulan:** IL-8 berhubungan dengan progresivitas karsinoma nasofaring. Rasio IL-8 dan IL-10 dapat digunakan menilai prognosis KNF. Bila hasil rasio IL-8:IL-10>1 menunjukkan tendensi buruk, oleh karena itu mungkin dapat diusulkan sebagai faktor prediktor karsinoma nasofaring.

**Kata kunci:** Karsinoma nasofaring, IL-8, IL-10.0

### ABSTRACT

**Background:** Nasopharyngeal cancer (NPC) is an epithelial malignancy, prevalent in Chinese populations and Southeast Asia including Indonesia. Epstein Barr Virus (EBV) has been association with nasopharyngeal cancer. Viral gene products namely EBER, LMP1, LMP2 and EBNA'S have been found in nasopharyngeal cancer tissues. In addition increase of IgA (VCA-p18+EBNA-1) in the majority of patients. most often found in nasopharyngeal cancer tissues with an increase in IgA antibody titer of viral proteins (VCA-p18+EBNA -1) in the majority of patients. The increase of plasma of EBV DNA load is an important marker of disease and for monitoring its progression. Other parameters of serum/ plasma is level of Interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) which also involved in nasopharyngeal cancer progression. **Purpose:** to find out the relationship level of interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in relation with the stadium of nasopharyngeal cancer. **Method:** A cross sectional study with exploratif survey was conducted 39 patients of NPC, controls 29 healthy subjects included in this study. The value of plasma levels of IL-8 and IL-10 examined by ELISA. **Result:** There was a positive correlation between IL-8 and IL-10 against the progression of NPC. **Conclusion:** IL-8 and is a marker of NPC and the progression of the disease. The ratio of IL-8 and IL-10 can be used to assess prognosis of NPC. Ratio of IL-8:IL-10 > 1 indicates a poor prognosis.

**Keywords:** Nasopharyngeal, cancer, IL-8, IL-10

**Alamat korespondensi:** Eka Savitri, email: ekasapan@yahoo.com. Hp. 0811418853. Sofia M. Haryana, email:sofia.mubarika@gmail.com. Hp: 0811258392

## PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring (KNF) adalah keganasan epitelial yang merupakan neoplasma dengan insidensi tersering pada traktus aerodigestif bagian atas. Epidemiologi KNF sangat unik, yaitu sangat jarang ditemukan pada populasi Eropa, namun banyak ditemukan di China (terutama China bagian selatan), Asia Tenggara, dan Afrika. Di Indonesia angka insidens KNF sebesar 4,7/100.000 penduduk pertahun dengan perbandingan antara pria dan wanita sebesar 2-3:1. Di Indonesia hampir 80% penderita KNF terdiagnosis pada usia produktif 30-59 tahun, dengan kecenderungan peningkatan insidensi dengan bertambahnya umur.<sup>1</sup> Insidensi di Makassar propinsi Sulawesi Selatan periode Januari 2004-Juni 2007, didapatkan 33% dari keganasan di bagian telinga, hidung dan tenggorok.<sup>2</sup>

Epstein-Barr virus (EBV) terbukti berhubungan erat dengan kejadian KNF. Protein produk gen virus dapat dideteksi pada jaringan KNF pada mayoritas penderita yaitu *Latent membrane protein 1* (LMP1), *latent membrane protein 2* (LMP2), *Epstein-Barr Nuclear Antigen1-6* (EBNA 1-6), juga dijumpai peningkatan titer antibodi IgA protein virus *viral capsid antigen* (VCA) dan *early-antigen* (EA) atau IgA VCA-p18+EBNA-1.<sup>3,4</sup>

Interaksi virus dan sekresi IL-8, terbukti dihubungkan dengan aktifitas LMP1. Teraktivasinya IL-8 dan IL-10 akan berpengaruh terhadap jalur angiogenesis dan agresivitas penyakit.<sup>5,6</sup> LMP1 juga terbukti memacu proses aktivasi (*cascade*) *p38* mitogen-activated protein kinase (*MAP kinase*) dan kemudian memacu aktivasi berbagai gen termasuk IL-8 dan IL-10. Jalur aktivasinya adalah melalui aktivasi *Cytokines Tumor Necrosis factor Activating Receptor1,2* (CTAR1,2), *Tumor Necrosis Factor Receptor Associated factor* (TRAF), *TNFReceptor-Associated Death Domain* (TRADD), selanjutnya berpengaruh terhadap jalur *Jun N kinase* (JNK) dan

*Activating Protein* (AP1) yang pada akhirnya memacu IL-8 dan IL-10 menjadi lebih aktif.

Sitokin protein IL-8 terbukti berperan dalam proses inflamasi, tumorigenesis, angiogenesis, melalui pembentukan *microvessel* pada tumor dan metastasis. IL-8 dapat memacu adesi endotel, memicu migrasi transendotelial, dan mengaktivasi netrofil. Selain itu, IL-8 dapat berperan sebagai faktor kemotaktik terhadap infiltrasi sel T sehingga akan menambah infiltrasinya pada jaringan KNF. Penelitian peran IL-8 telah terbukti pada melanoma maligna meningkatkan potensi metastatiknya. Namun pada Kanker Nasofaring peran IL-8 ini belum jelas diketahui. Diduga, interaksi dan komunikasi internal antara *downstream* (molekul dibawahnya) molekul LMP1 dan CD40 ternyata dapat memacu ekspresi JNK dan AP1 yang pada akhirnya akan memacu angiogenesis, inflamasi, progresifitas dan metastasis akibat sitokin IL-6 dan IL-8 yang dihasilkannya.<sup>7,8</sup>

Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa *Viral Load* dapat digunakan untuk menentukan prognostik KNF, serta merupakan *marker* penting untuk progresifitas serta sebagai monitor rekurensi pasien-pasien KNF. Penelitian Tan Eng Lai et al<sup>9</sup> menunjukkan bahwa peningkatan EBVDNA *Load* berkorelasi dengan kadar IL-6 & IL10. Oleh karena IL-8 dan IL-10 juga terpacu melalui aktivasi LMP-1 pada KNF, maka *viral load*, kadar IL-8 dan IL-10, kemungkinan dapat digunakan dalam menentukan progressifitas dan metastasis. Kombinasi ke-3 faktor tersebut diasumsikan mempunyai potensi untuk digunakan sebagai faktor prognosis KNF

Selain itu, apabila diketahui jalur aktivasi IL-8 dan IL-10 melalui p38-MAPK terbukti berperan pada KNF maka jalur tsb dapat digunakan sebagai *biology targeted therapy* pada KNF suatu pengobatan masa depan yang sangat diharapkan.

## METODE

Penelitian ini adalah studi potong lintang (*cross sectional study*) dengan pendekatan survei eksploratif. Sampel harus memenuhi kriteria inklusi. Sampel adalah penderita kanker nasofaring berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, hasil biopsi histopatologi, radiologi CT-Scan Nasofaring, Thorak foto, USG hati, dan *Bone-survey* yang berobat ke Divisi Onkologi-Bedah Kepala Leher Departemen THT-KL FK UNHAS/RS Wahidin dan setuju untuk diikuti penelitian, setelah dijelaskan dan menandatangani persetujuan (*informed consent*).

## HASIL

Penelitian dilakukan pada 50 kasus penderita karsinoma nasofaring dan 29 kontrol tidak menderita karsinoma nasofaring. Dilakukan

Penderita dieksklusi bila tidak kooperatif dan dijumpai keganasan lain selain KNF. Jumlah sampel sebanyak 39 pasien karsinoma nasofaring dan kontrol 29 orang sehat dalam penelitian ini. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah plasma darah penderita KNF dan orang sehat. Kadar plasma IL-8 dan IL-10 diperiksa dengan ELISA.

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar propinsi Sulawesi selatan. Dimulai pada Bulan November 2006 s/d Juni 2008.

pemeriksaan darah untuk menilai IL-8 dan IL-10 pada kasus KNF yang masuk dalam kriteria inklusi sisa 39 dan 29 kontrol.

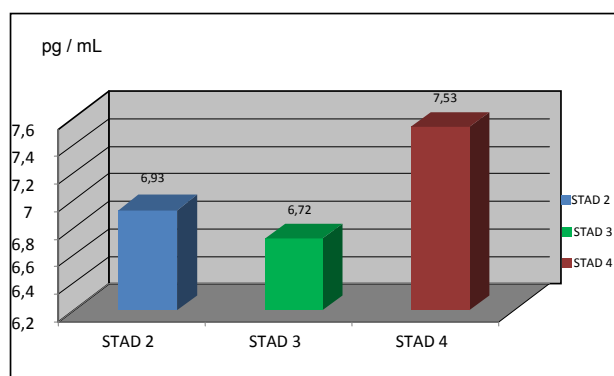
**Tabel 1. Distribusi kasus berdasar status histopatologi**

Status histopatologis (WHO)	N	%
Type I : (Karsinoma sel skuamosa berkeratinisasi)	1	2,6
Type II : (Karsinoma berdeferensiasi tidak berkeratinisasi)	13	33,3
Type III: (Anaplastik)	25	64,1

Dari tabel 1, gambaran histopatologi berdasarkan WHO 1979, WHO tipe III sebanyak: 25 orang ( 64,1 %), WHO tipe II: 13 orang ( 33,3 %) dan WHO tipe I: 1 orang (2,6%) pada penelitian ini.

### Kadar IL-8 berdasar stadium KNF

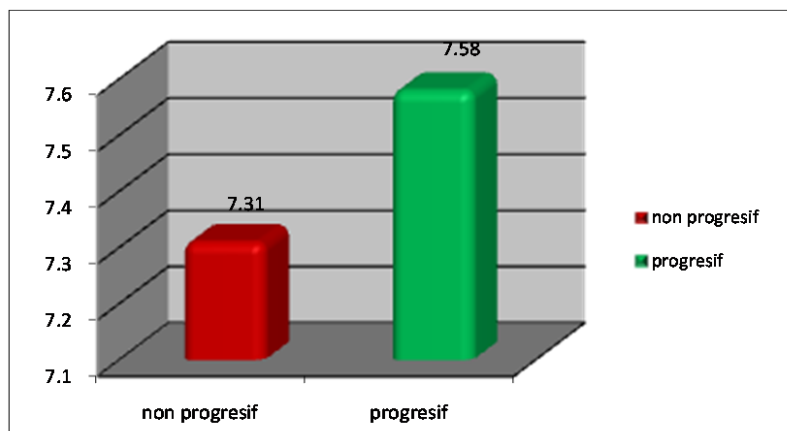
Bila dilakukan analisis dengan perbedaan kadar IL-8 pada masing-masing kelompok KNF berdasar stadium, maka ditemukan hasil sebagai berikut:



**Gambar 1. Kadar IL-8 berdasar stadium KNF**

Pada gambar 1, terlihat kadar IL-8 lebih tinggi pada stadium 4 ( 7,56 pq/mL),

dari pada stadium 3 (6,72 pq/mL), dan stadium 2 (6,93 pq/mL).



**Gambar 2.** Kadar IL-8 berdasar progresifitas

Dari gambar 2, dilihat dari hasil yang diperoleh dapat dibuat kesimpulan sementara bahwa terdapat kecenderungan meningkatnya kadar IL-8 pada yang progresif. walaupun secara statistik tidak bermakna.

Di antara mediator inflamasi, beberapa sitokin dan chemokine, seperti *tumor necrosis factor* (TNF), Interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) merupakan sitokin yang berperan pada tumorigenesis. Pada *inflammation-like microenvironment* (pada daerah sekitar tumor), interaksi antara sel T cytotoxic (CTL) dan sel tumor penting dalam pertumbuhan KNF. Interaksi tersebut dapat

diperantarai oleh beberapa chemokine atau sitokin. Cara lain interaksi dapat melibatkan kontak sel melalui *ligand-receptor binding*, sebagai contoh tumor-infiltrating T sel dapat memberikan *survival signal* pada sel-sel KNF melalui CD40-CD40 *ligand interaction*, mencegah sel tumor dari CD95-triggered *apoptosis*. Penelitian Harijadi et al<sup>10</sup> telah menunjukkan adanya korelasi antara tingginya infiltrasi intra tumoral sel T (CTL) dengan prognosis buruk pada KNF, penelitian ini mendukung dugaan bahwa infiltrasi sel T berpengaruh pada progresifitas KNF.

**Tabel 2.** Analisis kadar IL-10 berdasar stadium KNF

Perbandingan antar stadium	Kadar IL-10 pg/ mL	P
Stadium II-III	8,19 (8,01) - 7,35 (5,06)	0.866
II-IV	8,19 (8,01) - 5,63 (4,47)	0.581
III-IV	7,35 (5,06) - 5,63 (4,47)	0.179

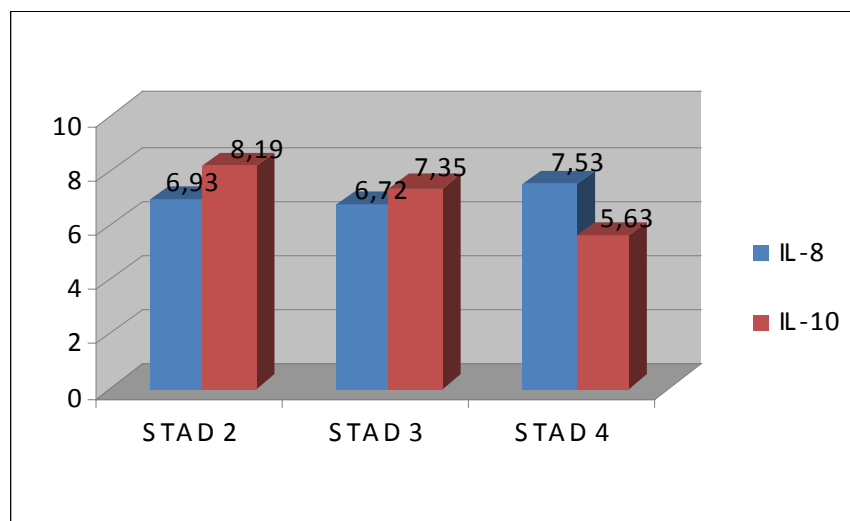
Catatan: p dihitung dengan uji U Man Whitney.

Kadar IL-10 pada stadium II relatif lebih tinggi dibandingkan stadium III, namun kadar pada stadium III lebih tinggi dibandingkan stadium IV. Jadi dalam penelitian ini diperoleh bahwa kadar IL-10 lebih tinggi pada stadium lebih awal

kemudian menurun pada stadium lebih lanjut. Hasil penelitian Kis et al<sup>11</sup> bahwa ternyata di dalam serum individu yang terinfeksi Epstein-Barr diproduksi human Interleukin 10 (IL-10) selain virus Epstein Barr juga mengekspresikan protein BCRF1

yang mempunyai aktivitas mirip IL-10 sehingga disebut pula sebagai *Viral* IL-10 (v-IL-10). Deteksi IL-10 menggunakan recombinant IL-10 menunjukkan ekspresi yang rendah (50X>kecil) dan ternyata setelah diteliti hal ini disebabkan karena efek hambatan blocking Antibodi dari vIL-10 terhadap reseptor IL-10. Selain itu juga dibuktikan bahwa afinitas ikatan antara vIL-10 dengan IL-10 R 1000X> rendah. Hal ini mungkin dapat menjelaskan pada penelitian kami ekspresi IL-10 pada stadium yang lebih tinggi hasilnya lebih rendah, oleh karena walaupun pada stadium lebih tinggi, jumlah copy virus bertambah banyak maka produksi vIL-10 juga akan meningkat pula. V-IL10 kemudian akan bertindak sebagai

blocking antibodi terhadap IL-10 untuk berikatan dengan reseptor IL-10. Ikatan antara reseptor dengan vIL-10 walaupun sangat lemah yang telah dibuktikan pada penelitian terdahulu oleh Kis et al,<sup>11</sup> namun hal ini akan menyebabkan kadar hIL-10 yang dideteksi secara ELISA juga rendah kadarnya; sedangkan pada stadium lebih rendah karena jumlah v-IL-10 lebih rendah (pada keadaan ini jumlah virus yang beredar diasumsikan lebih rendah dibandingkan hIL-10 maka pada pemeriksaan secara ELISA diperoleh kadar hIL10 lebih tinggi Untuk kepastiannya ekspresi IL-10R pada jaringan/sirkulasi perlu untuk diperiksa. Kami berasumsi bahwa semakin tinggi stadium semakin tinggi blocking antibodi v IL-10.



**Gambar 3.** Rasio IL-8 dan IL-10 berdasarkan stadium KNF

Dari gambar 3, hasil yang diperoleh dapat dibuat kesimpulan sementara bahwa terdapat

kecenderungan meningkatnya kadar IL-8 sesuai peningkatan stadium.

**Tabel 3.** Rasio IL-8 dan IL-10 berdasar sifat progresifitas penyakit

	Rasio IL8/10 > 1	Rasio IL8/10 ≤ 1	Total
Progresif	5 (22,7%)	0 (0,0%)	5 (16,13%)
Tidak progresif	17 (77,3%)	9 (100%)	26 (83,87%)
	22	9	31

P = 0,155 (Fisher test)

Apabila dibandingkan kejadian progresif diperoleh 2 kelompok yaitu kelompok pertama dengan Rasio IL-8:IL-10  $>1$  dan kelompok kedua progresif dengan Rasio IL-8:IL-10  $<1$  adalah sebesar 22,7%:0%. Bila titik potong 1 ini dijadikan cut of point maka rasio  $>1$  menunjukkan kondisi lebih buruk dibandingkan yang rasio  $<1$  dalam hal progresifitas. Kondisi ini menunjukkan kemungkinan untuk menggunakan Rasio IL-8:IL-10 sebagai Rasio yang bersifat prognostik menunjukkan progresifitas.

## PEMBAHASAN

RS Wahiddin Makassar 33% dari total kanker di Bagian THT. Kanker Nasofaring biasanya terjadi lebih banyak pada pria, pada usia produktif antara 35–50 tahun. Namun pada akhir-akhir ini ditemukan banyak kasus anak dan usia muda. Selain itu, bukti-bukti penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan berkaitan dengan hubungan antara EBV-Individu-sistem imun pada geografik yang berbeda. Kadar IgG dan IgA yang bervariasi. Juga *Viral Load* yang berbeda bermakna. Dari penelitian yang dilakukan di Yogyakarta menunjukkan kecenderungan yang berbeda dengan penelitian awal yang kami lakukan,<sup>2</sup> dalam hal *Viral load* DNA. Selain itu tipe EBV, *polymorphisme* EBV genome, HLA Class 1, dihubungkan dengan EBV di Yogyakarta menunjukkan gambaran berbeda dan hasil publikasi di tempat lain. Selain itu, masih sedikit diketahui peran sitokin dalam infeksi EBV dikaitkan dengan KNF khususnya dihubungkan dengan prognosis. LMP-1 yang bersifat onkogenik terbukti berperan pada berbagai *pathway internal* yang berkaitan dengan pengaturan sistem imun melalui jalur NFkB<sup>4</sup> yang pada akhirnya berkaitan dengan stimulasi sistem imun humoral untuk produksi antibodi (IgG, IgA terhadap VCA, EA, EBNA's)<sup>7,11,12</sup> atau selular imun respons terkait dengan presentasi epitop EBV pada MHC class 1 yang akan dikenali oleh CTL. *Marker*

prognosis sangat diperlukan selain VCA-p18 dan EBNA-1, *preliminary study* yang kami lakukan ternyata membuktikan bahwa jumlah kopi *viral load* DNA EBV sangat tinggi pada kasus KNF di Makassar (Eka-Savitri).<sup>14</sup> Oleh karena kespesifikan kasus KNF di Makassar tersebut, kami bertujuan untuk menganalisis lebih lanjut hubungan antara IL-8 dan IL-10 untuk digunakan sebagai biomarker prognosis KNF Makassar.

## Rasio IL-8 dan IL-10 dihubungkan dengan progresifitas penyakit

Efektor utama untuk infeksi EBV adalah sel T CD 8<sup>+</sup>. Sel T meningkat sampai 50% pada fase litik. Pada fase latent sel CD 8<sup>+</sup> mencapai ekspansi maksimal. Pada waktu fase litik terjadi penurunan ekspresi MHC class I dan class 2.<sup>15</sup> Selama fase litik dan fase latent, sel CD 8<sup>+</sup> dapat dijumpai pada sirkulasi darah 1-5%.<sup>16</sup> Antigen EBV pada fase litik dan fase latent berbeda dapat dikenali oleh sel T CD 8. Ada 2 *immediate early antigen* yaitu BZLF1 dan BRLF1 dan 3 *early lytik antigen* yaitu BMLF1, BMRF1 dan BALF2. Kemudian pada fase latent EBNA 3 protein yaitu EBNA3A, EBNA 3B dan EBNA 3C merupakan antigen yang dikenali oleh CD8 T sel. Selain itu LMP2 merupakan target antigen dari CD 8 respons. Antigen latent dan litik yaitu EBNA1, EBNA3, BZLF1 dan BMLF1 itu menstimulasi 0,3% CD 4 sel. EBNA1 selalu dikenali oleh sel T CD4 dan dapat memacu respon lebih baik dari pada yang lain sehingga EBNA1 digunakan sebagai test serologi<sup>17</sup> CD4 itu jarang mengenali EBNA3 dan LMP2 sedangkan LMP1 jarang dikenal oleh CD8. Sebagian besar CD4<sup>+</sup> T sel yang mengenali LMP1 itu akan mensekresi IL-10 yang bersifat immunosupresi.<sup>18</sup> Sedangkan Sebagian lain CD4<sup>+</sup> dapat mensekresi sitokin yang lain terutama Interferon gamma, termasuk IL-4,5,6.

IL8 memacu NFKB activation melalui TRAF2 independen dan jalur TRAF6 dependen kemudian diikuti rekrutmen IRAK dan IKK.

Sedangkan IL-10 menghambat aktivasi makrofag dan sel dendrit dengan demikian melibatkan dalam kontrol reaksi *immune innate* dan *immunity cell mediated*. IL-10 menghambat respons *immune host*, terutama respons yang melibatkan makrofag. IL-10 mempunyai 4  $\alpha$  *helical globular* domain dan berikatan dengan reseptor tipe II *cytokine*. IL-10 dihasilkan utamanya oleh aktivasi makrofag, T *lymphocyte* dan beberapa tipe sel non *lymphoid* seperti *keratinocyte*.

Efek biologi IL-10 hasil dari kemampuan menghambat beberapa fungsi aktivasi makrofag. Pendapat sebelumnya mengatakan respon makrofag terhadap mikroba dengan sekresi sitokin dan *ekspresi constimulator* yang meningkatkan aktivasi cell T dan *immunity cell mediated*.

Perbandingan kejadian progresif dengan rasio IL-8:IL-10 >1 dibanding non-progresif dengan rasio IL-8:IL-10 <1 adalah sebesar 22,7%:0%. Bila titik potong 1 dijadikan *cut of point* maka rasio >1 menunjukkan kondisi lebih buruk dibandingkan yang rasio <1 dalam hal progresifitas. Kondisi ini menunjukkan kemungkinan untuk menggunakan rasio IL-8:IL-10 sebagai rasio prognostik untuk menunjukkan progresifitas ( tabel 4).

Pada gambar 3 pada pasien KNF stadium 2 dan 3, kadar IL-10 tinggi tetapi pada stadium 4 lebih rendah. Bisa dijadikan prognostik dan *follow up* pengobatan. Bila hasil rasio IL-8:IL-10 >1 menunjukkan prognostik buruk, KNF menjadi progresif, dapat dinilai kembali pengobatan yang diberikan, apakah perlu perbaikan dosis atau alternatif penggantian jenis obat yang diberikan.

Kesimpulan hasil penelitian ini, IL-8 merupakan *marker* adanya karsinoma nasofaring dan progresifitas penyakit dan rasio IL-8 dan IL-10 dapat digunakan untuk menilai prognosis

KNF. Hasil rasio IL-8:IL-10 >1 menunjukkan prognosis buruk.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Chien YC, Chen CJ. Epidemiology and etiology of nasopharyngeal carcinoma: gene-environment interaction. In Bishop J, Huang P, Jhonson PJ, Sham JST, Soo KC, editors. *Cancer Reviews. Inaugural Issue*. World Scientific. New Jersey. London. Singapore. Hongkong: Baltimore; 2003. p. 1-20
2. Punagi AQ, Savitri E. Profil karsinoma nasofaring di Rumah Sakit Pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin periode Januari 2004-Juni 2007. Makassar: Bagian THT Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin; 2007.
3. Brooks L, Thomas JA. The significance of Eipstein-Barr virus in the pathogenesis of lymphoid and epithelial neoplasma. *Current Diagn Pathol* 1995; 2:127-98.
4. Brooks L, Yao QY, Rickinson AB, Young LS, et al. Eipstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: coexpression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts. *J Virol* 1992; 5:2689-97.
5. Khabir A, Karray H, Rodriguez S, Rosé M, Daoud J, Frikha M, et al. EBV latent membrane protein 1 abundance correlates with patient age but not with metastatic behavior in north African nasopharyngeal carcinomas. *J Virol* 2005; 2:2-39.
6. Lai HC, Hsiao JR, Chen CW, Wu SY, et al. Endogenous latent membrane protein 1 in Epstein-Barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells attracts T lymphocytes through upregulation of multiple chemokines. *J Virol* 2010; 405(2):465-73.
7. Yoshizaki T, Horikawa T, et al. Induction of interleukin-8 by Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 and its correlation to angiogenesis in nasopharyngeal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7:1946-51.

8. Manna SK, Ramesh GT, et al. Interleukin-8 Induces nuclear transcription factor-kB through a TRAF6-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005; 280(8):7010-21.
9. Tan EL, Selvaratnam G, Kananathan R, Sam CK. Quantification of Eipstein-Barr virus DNA load, interluekin-6, interleukin-10, transforming growth factor- $\beta$ I and steam cell factor in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Bio Med Cancer* 2006; 24(6):227.
10. Harijadi H, Oudejans, Kummer JA, et al. High numbers of granzyme B/CD8 positif tumour-infiltrating lymphocytes in nasopharyngeal carcinoma biopsies predict rapid fatal outcome in patients treated intent. *J pathol* 2002; 198:468-75.
11. Kis LL, Nishikawa J, Takahara M, et al. The in vitro EBV-infected subline of KMH2, derived from Hodgkin Lymphoma, expresses only EBNA-1: CD40-ligand and IL-4 induce LMP-1 but not EBNA-2. *Int J Cancer* 2005; 113:937-45.
12. Hsu M, Wu SY, Chang SS, Su IJ, Tsai CH, Lai SJ, et al. Epstein-Barr virus lytic transactivator Zta enhances chemotactic activity through induction of interleukin-8 in nasopharyngeal carcinoma cells. *J Virol* 2008; 8:3679-88.
13. Fachiroh J, Bambang H, Harijadi, Dewi KP, Haryana S, Middeldrop J, et al, Non-Invasive diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: nasopharyngeal brushings reveal high Epstein-Barr virus DNA load and carcinoma-specific viral BARF1 mRNA. *Int J Cancer* 2005; 119:608-14.
14. Savitri E. Ekspresi interleukin-8, interleukin-10 dan viral load Epstein-Barr sebagai indikator prognostik pada kanker nasofaring. Disertasi. Makassar: Program Doktor UNHAS; 2009.
15. Hislop AD, Annels NE, Gudgeon NH, Leese AM, Rickinson AB. Epitope-specific evolution of human CD8(+) T cell responses from primary to persistent phases of Epstein-Barr virus infection. *J Exp Med.* 2002; 195:893-905.
16. Callan MF, Tan L, Annels N, et al. Direct visualization of antigen-specific CD8 + T cells during the primary immune response to Epstein-Barr virus In vivo. *J Exp Med* 1998; 187:1395-402.
17. Khanna R, Burrows SR, Thomson SA, et al. Class I processing-defective Burkitt's lymphoma cells are recognized efficiently by CD4+ EBV-specific CTLs. *J Immunol* 1997; 158:3619-25.
18. Marshall NA, Vickers M A, Barker RN. Regulatory T cells secreting IL10 dominate the immune response to EBV latent membrane protein 1. *J Immunol* 2003; 170:6183-9.