

· 综述 ·

肿瘤研究的新热点——EB 病毒

陈 莉¹综述,朱远源²审校

关键词:EB 病毒;感染;肿瘤

中图分类号:R73-37 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)10-0750-05

0 引言

EB 病毒(Epstein-Barr virus,EBV)属于 疱疹病毒亚科的成员之一,是人类一种特异性嗜淋巴细胞性疱疹病毒。它主要通过人类唾液传播,因此呼吸道是 EB 病毒潜伏的最大场所。在发展中国家感染期较早,约 3~5 岁已达高峰,80% 以上的 5 岁儿童 EB 病毒血清学阳性。根据血清学调查,我国 3~5 岁儿童 EB 病毒 VCA-IgG 抗体阳性率达 90% 以上,幼儿感染后多数无明显症状,或引起轻症咽炎和上呼吸道感染;而在发达国家,由于卫生条件较好,只有 40%~50% 的 5 岁儿童的 EB 病毒血清学阳性,其感染常推迟至青年^[1],15~20 岁到高峰^[2]。根据调查的结果,世界人口的 90% 以上都存在 EB 病毒的潜伏感染,或成为 EB 病毒携带者^[3]。更重要的是 EB 病毒感染与越来越多的人类恶性肿瘤有关,应用原位杂交证明了携带高拷贝 EB 病毒除了能转化淋巴细胞外,也能赋予肿瘤细胞一定的生长优势,使其成为优势细胞群,呈现转化特征。EB 病毒引发了全球癌症的 1%,并占有所有感染性癌症的 5.6%^[4]。根据国际癌症研究署对致癌因子的分类标准,EB 病毒被列在第一组致癌因子中^[5]。

1 EBV 感染与疾病的关系

临床 EB 病毒感染往往引起感染性多脏器损害,以肝脏损害最多见,占 25%;心脏占 4.1%;血液系统占 2.5%;肾、脑等损害也有发现。现在明确的是:EB 病毒除与鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma,NPC)、多种淋巴瘤的发生有关^[6],也与肺癌^[7]、胃癌^[8]、子宫颈癌^[9]、口腔腺体肿瘤、肾肿瘤、胸腺瘤等多种肿瘤的发生有关。

据 WHO 统计,大约 80% 的 NPC 发生在中国^[10]。Burkitt 淋巴瘤是非洲儿童的一种常见恶性

肿瘤,多发生在 15 岁以前,死亡率很高^[11]。NPC 与 Burkitt 淋巴瘤的发生具有明显的地区限制,说明这些疾病的发生还有着其他协同因素。因此,EB 病毒与促癌物等其他因素的协同作用值得进一步研究。

1987 年 Begin 等^[12]报道了首例与 EB 病毒有关的肺淋巴上皮瘤样癌;Lung 等^[7]以支气管脱落细胞为材料进行 EB 病毒检测,发现 EB 病毒感染与肺癌发生有关;国内张雷等^[13]对北京市各种类型的肺癌蜡块标本 87 例进行 EB 病毒检测,结果显示肺癌组织中 EB 病毒感染率达 59.8%,发现肺癌组织中 EB 病毒感染拷贝数明显高于癌旁肺组织,并提出 EB 病毒感染与肺癌细胞的生物学特性及肺癌的发展有关;冯新珠等^[14]研究发现肺癌患者血清中 IgG 抗体和癌组织中的 EB 病毒增高,并呈正相关,说明血细胞和癌组织中的 EB 病毒与肺癌的发生、进展有一定关系^[14];但贾心善^[15]用 EBER-1 分子杂交法检查沈阳市 58 例肺癌,结果均为阴性,可见 EB 病毒感染有明显的地区差。

已知约 10% 的普通胃腺癌^[8],80% 以上的胃淋巴上皮样癌^[16]和 35% 的残胃癌发病与 EB 病毒感染有关^[17],故称这类胃癌为 EB 病毒相关性胃癌(Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma,EBVaGC)。在全球每年新增近 90 万例胃癌患者中,EBVaGC 的绝对数字远远超过其他 EB 病毒相关肿瘤的病例。研究发现 EB 病毒和 EBVaGC 癌变存在一定的关系:首先在所有 EBVaGC 癌细胞中都有 EB 病毒的表达,而在癌周正常和高度增生的黏膜细胞中则检测不到 EB 病毒的表达^[18];其次,EB 病毒以附加体的形式存在于感染细胞核内,即线状双链 DNA 形成游离环状分子,且 EB 病毒末端重复序列的数目一致,提示肿瘤系单一感染 EB 病毒的癌细胞单克隆增生所致;第三,有证据表明与其他 EB 病毒相关肿瘤相似,EBVaGC 临床诊断前患者血清存在高效价的抗病毒抗体,提示 EBVaGC 发生之前存在活动的 EB 病毒感染。

早在 1993 年 Landers 等^[19]在 18 例子宫颈癌组织中发现有 8 例有 EB 病毒感染;同年 Se Thoe

收稿日期:2007-04-24;修回日期:2008-06-19

作者单位:1. 216001 江苏南通大学医学院病理教研室;
2. 美国 Biomix Biotechnologies (NT) Co., Ltd

作者简介:陈莉(1956-),女,硕士,教授,主要从事肿瘤病理学研究

等^[20]用同样的方法在 63 例子宫颈癌组织中检出 EB 病毒 DNAs;郭邑等^[21]在 2003 年发现 56 例子宫颈癌患者肿瘤中有 EB 病毒感染,该实验还发现,宫颈癌组 EB 病毒阳性率明显高于正常宫颈组,结果支持了 EB 病毒感染可能与子宫颈癌的发病有关。

最近的研究发现 EB 病毒个别编码蛋白可使淋巴细胞永生,并在 EB 病毒有关的其他淋巴瘤发病中发挥主要作用。如霍奇金淋巴瘤、接受免疫抑制治疗的器官移植患者的淋巴瘤、艾滋病人的中枢神经系统淋巴瘤、以及皮下脂膜炎样 T 细胞淋巴瘤等^[6]。

2 EB 病毒生物学性状

EB 病毒为圆形、直径 180 nm,基本结构包括核样物、衣壳和囊膜三部分。核样物为直径 45 nm 的致密物,主要有双股线性 DNA,其长度随不同毒株而异,平均为 17.5×10^4 bp,分子量 10^8 D。衣壳为 20 面体立体对称,由 162 个壳微粒组成。EB 病毒在细胞核内装配好的病毒颗粒在穿过核膜时获得病毒的囊膜,通过细胞质中的高尔基体等内膜系统,包裹在细胞的运输小体中,从细胞膜上芽生释放。囊膜由感染细胞的核膜组成,其上有病毒编码的膜糖蛋白,有识别淋巴细胞上的 EB 病毒受体,及与细胞融合等功能。此外在囊膜与衣壳之间还有一层蛋白被膜。EB 病毒在细胞中的生活周期可分为潜伏期、立即早期、早期、病毒 DNA 复制期和晚期。感染 B 淋巴细胞的大部分病毒都处于潜伏状态。此时病毒的线状 DNA 环化形成游离于细胞染色体外的附加体(episome),其结果导致受感染细胞的转化获得永生化的能力。EB 病毒仅能在 B 淋巴细胞中增殖,可使其转化,能长期传代。

被病毒感染的细胞可产生各种抗原,能刺激机体产生相应的抗体。EB 病毒的抗原成分有:EB 病毒核抗原(EBV-specified nuclear antigens,EBNA)包括 EBNA1、2、3A、EBNA4(3B)、EBNA6(3C)和 EBNA5(leader protein,LP)等 6 类。早期抗原(early antigen,EA)分为两类:一类在细胞核和胞浆中广泛存在的称为弥散型早期抗原(EA-D);另一类大部分在核附近的细胞质中,称为局限型早期抗原(EA-R)。EA-D 和 EA-R 都不是由单一的抗原构成的,而是由多种抗原构成的复合物。病毒的晚期抗原主要有组成病毒核衣壳的病毒衣壳抗原(viral capsid antigens,VCA)、淋巴细胞识别病毒靶抗原(viral target antigen L YDMA)和病毒的晚期膜抗原(membrane antigens,MA)。MA 包括潜伏膜蛋

白(latent membrane proteins,LMP1、-2A 和-2B),以及编码 BamHI—A 片段区的 BARTs 和不翻译为蛋白的小 RNA 分子 EBER。LMP1 分子大小为 60~66 kD,是由 386 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白,包括一个由 24 个氨基酸残基组成的 N 末端和一个与信号传导密切联系的由 200 个氨基酸残基组成的羧基端胞浆域及 6 个跨膜疏水结构域。跨膜区能在胞膜上聚合,这对于 LMP1 发挥其生物学效应具有重要意义;EBER(The genome of EBV encodes two Epstein-Barr virus-associated small RNAs,EBER),不具聚腺苷酸尾巴,有 EBER1(166 bases)及 EBER2(172 bases)二种。已证明抗 MA 的抗体能中和 EB 病毒,但是体液免疫系统仅能阻止外源性病毒感染,却不能消灭病毒的潜伏感染。处于这种状态下的病毒只表达大约 10 种左右的病毒蛋白,主要有 EBNA1、2、3A、3B、LP、3C、LMP1、LMP2A、LMP2B。

3 EB 病毒致病性

EB 病毒是由感染的唾液腺淋巴细胞通过细胞对细胞接触而实现首次对口咽部上皮细胞的感染,并在这些细胞中进行活跃复制,新分泌出来的病毒颗粒可以穿过旁边的膜或感染的宿主 B 淋巴细胞传播给其他的上皮细胞。虽然 EB 病毒可刺激 B 细胞增殖,同时也形成了一种针对 EB 病毒抗原的强 T 细胞获得性免疫反应,在有免疫活性的宿主身上,EB 病毒感染有效的被保存下来。由于正常的免疫监视功能,潜伏感染的 EB 病毒被控制在相对静止状态,病毒的持久性正是通过潜伏性而实现。EB 病毒感染主要通过病毒与细胞表面的病毒受体 CD21 来完成的。CD21 又称作 CR2 或 C3dR,其本身是补体片段 C3d 的受体。B 淋巴细胞表面有 CD21 分子,而大部分的上皮细胞表面未发现。但当 CD21 分子人为地插入表皮细胞表面后,这些细胞可被 EB 病毒感染,产生有感染的病毒颗粒。并进入血液循环而造成全身性感染。

遭受感染的 B 淋巴细胞可有二种命运:(1)因溶解感染而被消灭,释出大量病毒颗粒,并感染周边上皮细胞与 B 淋巴细胞,将感染扩大;(2)成为转化的淋巴细胞并开始增殖。溶解感染及转化淋巴细胞都在其细胞表面表达有病毒抗原,故可由 EB 病毒特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T cells,CTL)将之清除。但部分的转化淋巴细胞可因无病毒抗原表达而移行为 0 型潜伏感染,作为记忆 B 淋巴细胞而保留下来。此种记忆 B 淋巴细胞可因抗原刺激等契机而被激活,其中 EB 病毒活化则能进

一步感染周边上皮细胞与 B 淋巴细胞,或由二次性 CTL 应答而被迅速清除。上皮细胞感染几乎全是溶解感染,此时生成的 EB 病毒排泄于唾液中而成为传染源。潜伏感染于记忆 B 淋巴细胞中的 EB 病毒是否被激活,取决于病毒的表达和宿主防御机制之间的抗争。在免疫抑制期间,机体免疫功能低下,潜伏的 EB 病毒活化形成的复发感染,常伴有临床上的明显疾患,包括淋巴瘤和其他肿瘤的发生。EB 病毒潜伏感染激活有三种可能的途径:(1)快反应形式,接进入溶解感染状态;(2)迟发反应形式,胞转变成淋巴母细胞样形态;(3)不进入溶解感染状态,病毒潜伏感染仅少量病毒复制。EB 病毒相关肿瘤都能检出 EB 病毒潜伏感染状态基因产物,而血清学检查抗体水平升高,说明有 EB 病毒溶解感染。

在 EB 病毒溶解性感染的细胞里,BV-DNA 呈线状形式。潜伏性感染时,BV-DNA 通过基因组末端连接而环化,以游离体形式存在,大多数 Burkitt 淋巴瘤和鼻咽癌可检测;同时 EBV-DNA 也可整合至细胞染色体,它的整合与染色体异常紧密关联,可导致一些与细胞生长、肿瘤形成有关的重要基因表达异常,促进细胞恶性转化^[22]。其可能机制:一方面肿瘤细胞存在染色体不稳定性,经常发生 DNA 的重组,EB 病毒因此整合到 DNA 已受到损伤的部位;另一方面 EB 病毒整合可以提高染色体的不稳定性,引起更深层次的基因水平变化。目前已证实 EB 基因组的整合可影响到一些癌基因与抑癌基因的功能^[23-24]。

3.1 EBNA EBNA-1 结合到 EB 病毒的 oriP 上(EB 病毒的 DNA 复制起点 P),使 EB 病毒的 DNA 得以在细胞核中维持。同时 EBNA-1 还激活其他 EBNA 基因的转录。多伦多大学的研究人员已经确定 EBNA1 通过与细胞中的特殊蛋白结合而干扰细胞生长调节,并使细胞“永生化”,最终使人患上某种癌症,EBNA-1 对于 EB 病毒潜伏状态的维持是必须的。EBNA-2 可激活 LMP-1, LMP-2 和 CD21、CD23 和 C-fgr 基因表达。CD23 分子是 B 细胞的生长调节因子之一^[24],而 C-fgr 是 Src 原基因家族的一员,它编码一种蛋白激酶,可能是调节 B 细胞生长的重要调节物质。EBNA3 为 CTL 主要靶位,可激活 CD21 基因表达,EB 病毒的潜伏蛋白还激活某些 B 细胞基因的表达。

3.2 EBER EBER 大量存在于潜伏期细胞核中,是细胞体外转化所不可缺少的。它普遍大量表达于 EB 病毒相关性癌细胞中,对于肿瘤的恶变与凋亡抵抗性有重要作用。有研究揭示 EBER 与同 IFN 抗病毒活性相关的双股链 RNA 依赖性蛋白激酶

(PKR)相结合而可抑制该激酶活性^[25]。在切片中见到中~大的淋巴细胞或核型不规则的细胞呈 EBER 阳性,提示该细胞已经发生活化和转化,表明这些细胞不是潜伏状态的细胞。如果是在疾病状态,EBER 阳性的细胞数量会增多,一张切片至少大于 3~5 个。因此,潜伏状态和疾病状态的 EB 病毒感染在 EBER 阳性的细胞形态和数量上都有所不同。

某些化学因素(如 TPA、丁酸等)和抗 IgM 抗体等多种物质刺激导致 EB 病毒立即早期蛋白的 BZLF1 基因的表达,它在 EB 病毒从潜伏周期进入繁殖周期的过程中起着关键作用。其产物 ZEBRA 上调了包括自身基因内的立即早期基因包括的表达。立即早期基因产物进一步激活 EB 病毒早期基因的表达,包括 EB 病毒自身的 DNA 聚合酶和 TK 激酶的表达,为病毒 DNA 的复制、晚期结构蛋白的表达奠定基础。

3.3 LMP-1 LMP-1 目前被广泛认为是 EB 病毒的致癌基因,它能够促进增殖、抑制分化、引起细胞发生恶性转化。随着对 LMP1 分子结构研究的深入,对其介导的信号转导通路及生物学功能研究取得了突破性进展。LMP1 有可能成为 EB 病毒相关肿瘤治疗的分子靶标。

LMP-1 在 B 细胞永生上起最重要的作用。现知,CIM0 配体 IL-4 的 B 细胞活化同 EB 病毒的 B 淋巴细胞活化机制非常相似,即可认作 LMP-1 模拟介导 CIM0,而形成细胞激活的信号传导系统。LMP1 作为不需要配体的持续活化的膜蛋白能够模拟 CD40 分子(TNF 的受体),募集肿瘤坏死因子受体家族成员来介导其对细胞凋亡的调控。CD40 对细胞生长的调节是受到它与配体的结合,而 LMP-1 能够不断刺激细胞生长信号的传递,使细胞的生长失去控制。LMP-1 的羧基末端细胞质内的 2 个区:CTAR1(carboxy terminal activating region 1,194~231AA 位中),通过 TRAF2(tumor necrosis factor receptor associated factor 2)介导大约 25%NF- κ B 激活,并通过 TRAF3 直接上调 EGFR 的表达;另一个位于 351~386 位的 CTAR2,它与 TRADD(tumor necrosis factor associated dead domain)作用可介导 75%的 NF- κ B 激活,活化的 NF- κ B 调节 p53、CyclinD1、MMP9 等下游基因的表达^[26],因 CTAR1 与 CTAR2 在淋巴细胞永生上甚为重要,又被命名转化效应部位(transformation effector site,TES),而在其活性表达上认为 NF- κ B 活化最为重要^[27]。活化的 NF- κ B 通过调节凋亡相关蛋白的表达来调控细胞凋亡,LMP1 通过调节细胞内

信号传导通路,反式激活细胞内凋亡相关分子,介导线粒体通路和死亡受体通路两条细胞凋亡通路,从而实现其对凋亡的调控;同时 LMP-1 在表皮细胞中表达能够改变细胞的形态,在 B 淋巴细胞中能够抑制细胞的程序死亡。还能增强癌基因 bcl-2 的表达。说明 LMP-1 具有促进细胞凋亡和抑制细胞凋亡双重生物学效应。

变异的 EB 病毒 LMP1 基因(BNLF1 基因)普遍被认为是肿瘤发生过程中一个重要的癌基因。LMP-1 基因外显子 1 编码的多肽(N 末端区)和外显子 3 编码的多肽(C 末端区)是肿瘤发生过程中非常重要的跨膜和胞膜内功能域。林素暇等^[27]研究发现:广州地区鼻咽癌中 EB 病毒 LMP-1 基因的序列变异类型以 Xho⁻loss/de1 LMP1 占主导;它的 N-末端区 Xho⁻酶切位点的丢失很可能是在 C-末端区 30 bp 缺失的基础上发生的;4 种序列变异类型可能代表了 NPC 癌变过程中 EB 病毒在宿主内演变的 4 个时相。有研究指出 NPC 患者可以把有可能更具致癌性的 EB 病毒变异型(比如 Xho⁻loss/de1-LMP1)分泌到唾液中去,重新感染其他个体,结果使流行地区的正常人群携带的有可能更具致癌性的 EB 病毒变异型的比率与非流行地区相比较发生了改变,这将导致流行地区与非流行地区人群携带的 EB 病毒出现所谓的地域性差异^[28]。

张志伟等^[29]用 pLNSX-pLNSX-LMP1 和 pLNSX-LMP1-TTRADD 质粒分别与 E-Cadherin 报告基因共转染 293 细胞,检测 LMP1 对 E-Cadherin 启动子活性的影响。结果显示:抑制 E-Cadherin 启动子活化可能是 EBV-LMP1 下调 E-Cadherin 蛋白表达、促 CNE2 细胞迁移的机制之一。TRADD 结合位点是 LMP1 导致 CNE2 细胞迁移、表型改变和 E-Cadherin 表达抑制的功能区域,提示 LMP-1 可能直接参与了 NPC 的发生发展与侵袭转移。同时还发现 LMP1 体外转化的人角质细胞系 BHEK1 不仅产生了形态学改变,而且获得了体内致瘤的恶性表型,LMP1 表达阳性的人鳞癌细胞系 SCC12 的分化也受到明显抑制,还能够使肾上皮细胞(MDCK)产生形态学转化和浸润性生长^[30]等。

4 EB 病毒感染的诊断和治疗进展

目前主要有原位 PCR 和 RT-PCR 技术、荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)、酶联免疫吸附试验^[31],对 EBV-DNA 以及 EBNA_s、LMP_s 和 EBER_s 或其他转录产物进行检测。

原位杂交检测中所用靶基因是 EBV-DNA BamHF_W、EBER1,少部分是 Pol-1 与 LMP-2 片

段,它可探查经甲醛固定、石蜡包埋的 NPC 标本,能在肿瘤细胞原位检测 EB 病毒的存在,具有定位准确、特异性强的特点。但是探针价格昂贵;为避免浪费试剂,常选择的 NPC 组织较小;有时 NPC 组织固定欠佳,组织中核酸的变性、弥散,有效结合点减少,染色可能会出现阳性标记弱,甚至假阴性。免疫组化检测常用 EB 病毒编码的 LMP-1 膜蛋白,它不能检测出病毒的定位和转录数量。但由于免疫组化方法相对于原位杂交有步骤简单、操作方便、检测灵敏度比较高、价格便宜等优点,可以把它作为一项 EB 病毒的初筛手段,待免疫组化阳性后再用原位杂交方法排除假阳性可能。两种方法联合应用会减少假阳性及假阴性的机会,从而提高检测的准确性。

由于 NPC 外周血循环的游离 EBV-DNA 的拷贝数随着全身化疗周期的进行呈现动态的变化,所以检测 NPC 患者 EBV-DNA 的表达水平对判断病灶残留、复发、转移、判断治疗的敏感性、或作为综合治疗方案及时更改、确认以及判断疗效、预后均有重要的指导意义,已经成为 NPC 诊治中重要的血清分子标志物。Lo 等^[32]采用定量 PCR 技术研究发现:96% 的 NPC 患者血浆中能够检测到 EBV-DNA 的表达,晚期较早期的表达水平明显增高,在放疗结束 1 月后,肿瘤被抑制者 EBV-DNA 保持低水平,而复发者则再次升高。同时对 EBV-DNA 代谢动力学特征分析显示:在放疗过程中 EBV-DNA 的生物半衰期为 3.8 天。To 等^[33]证实:手术完全切除 NPC 患者血浆中的 EBV-DNA 的表达水平,随访 6.7 天后下降至 0,其中位半衰期为 139 min,若血浆中能够检测到 EBV-DNA 的表达水平,则绝大多数出现临床复发,可以推测:检测 NPC 患者血浆中 EBV-DNA 的表达水平,一方面能够敏感反应疗效与转归;另一方面还能够判断临床放、化疗的敏感性及近期疗效。Makitie 等^[34]研究指出:检测 NPC 患者外周血 EBV-DNA 的拷贝数与正电子发射计算机断层显像(PET)检查对监测局部复发或远地转移具有一致性。这为 NPC 患者治疗后检测病灶残留、评价疗效、判断复发、转移以及预后提供了一种新的无创敏感的方法。Lin 等^[35]研究表明:NPC 治疗前血浆中 EBV-DNA 的表达率为 94.95%,而健康者及治愈后均为 0,且治疗前血浆中 EBV-DNA 表达水平 1 500 拷贝/ml 的总生存率及无复发生存率明显低于 < 1 500 拷贝/ml 者,放疗结束后 1 周血浆中能够检测到 EBV-DNA 表达者的总生存率及无复发生存率明显低于不能检测到 EBV-DNA 表达者。

对于 EBV 感染的预防已有二种疫苗问世,一种为我国用痘病毒载体同时表达 EBV gp320 和 HBsAg 抗原,重点使用在 NPC 高发区;另一种为提纯的病毒 gp320 膜蛋白,正在英国大学生患者中作小规模接种,以期观察该疫苗是否能降低传染性单核细胞增多症的发病率。

由于 EB 病毒与多种疾病的发生有关,所以 EB 病毒可作为一个有前途的病毒特异免疫治疗靶。分子靶向治疗患者外周血中或肿瘤组织中 EBV-DNA 将是治疗 EB 病毒感染的较好思路。

参考文献:

- [1] Evans AS. Viral infections of humans: epidemiology and control, Plenum Publishing Corporation[M]. New York, 1976. 209-233.
- [2] 姜可伟,王杉,杜如昱. EB 病毒感染上调胃癌 BGC823 细胞的增殖和侵袭能力[J]. 中华普通外科杂志, 2006, 21(1): 69-72.
- [3] Miller G. Epstein-Barr virus: Biology, pathogenesis, and medical aspect [A]. In: Fields BN, Knipe DM ed. Virology [M]. 2nd ed. Raven Press. New York, 1990. 1921-1952.
- [4] Negro F. The paradox of Epstein-Barr virus-associated hepatitis[J]. Hepatology, 2006, 44(5): 839-841.
- [5] 周小鸽. EB 病毒小 RNA 检测的临床病理学意义[J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(6): 1-3.
- [6] 张立新,何乐健,赵佩云. 儿童皮肤非何杰金淋巴瘤与 EB 病毒的相关性研究[J]. 中国皮肤性病杂志, 2005, 19(10): 600-602.
- [7] Lung ML, Lam WK, So SY, et al. Evidence that respiratory tract is major reservoir for Epstein-Barr virus [J]. Lancet, 1985, 1(8434): 889-892.
- [8] Takada K. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma[J]. Mol Pathol, 2000, 53(5): 255-261.
- [9] Qiu K, Tomita Y, Hishimoto M, et al. Epstein-barr virus in gastric carcinoma in Suzhou, China and Osaka, Japan: association with clinico-pathologic factors and HLA-subtype[J]. Int J Cancer, 1997, 71(2): 155-158.
- [10] Parkin DM, Stjernsward J, Muir CS. Estimate for the worldwide frequency of twelve major cancer[J]. Bull WHO, 1984, 62(2): 163-182.
- [11] Magrath I. The pathogenesis of Burkitt's lymphoma[J]. Adv Cancer Res, 1990, 55: 133-270.
- [12] Begin LR, Eskandari J, Joncas J, et al. Epstein-barr virus related lymphoepithelioma-like carcinoma of lung[J]. J Surg Oncol, 1987, 36(4): 280-283.
- [13] 张雷,刘鸿瑞,王志永,等. EB 病毒感染及感染拷贝数与肺癌的关系[J]. 中华病理学杂志, 1995, 24(3): 132-134.
- [14] 冯新珠,敖亚洲,薛承岩. 肺癌患者咽部、血液、癌组织 EB 病毒感染及其关系初探[J]. 中国肿瘤临床, 2005, 32(5): 261-264.
- [15] 贾心善. EB 病毒与相关肿瘤研究的新进展[J]. 日本病理学会会志, 1998, 87: 352.
- [16] Eurke AP, Yen TS, Shekitka KM, et al. Lymphaepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction[J]. Mol Pathol, 1990, 3(3): 377-380.
- [17] Yamamoto N, Tokunaga M, Uemura Y, et al. Epstein-Barr virus and gastric remnant cancer[J]. Cancer, 1994, 74(3): 805-809.
- [18] Zur Haasen A, Van Rens BP, Van Beek J, et al. Epstein-Barr virus in gastric carcinomas and gastric stump carcinomas: a late event in gastric carcinogenesis[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 487-491.
- [19] Landers RJ, O'Leary JJ, Crowley M, et al. Epstein-Barr virus in normal, pre-malignant, and malignant lesions of the uterine cervix [J]. J Clin Pathol, 1993, 46(10): 931-935.
- [20] Se Thoe SY, Wong KK, Pathmanathan R, et al. Elevated secretory IgA antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) and presence of EBV-DNA and EBV receptors in patients with cervical carcinoma [J]. Gynecol Oncol, 1993, 50(2): 168-172.
- [21] 郭邑,吕申,张朝,等. 子宫颈癌中 EB 病毒蛋白的检测[J]. 中华妇产科杂志, 2003, 38(3): 171-172.
- [22] 高建明,李小玲,李桂源. EB 病毒 DNA 整合与细胞癌变[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2005, 15(4): 30-38.
- [23] Luo WJ, Takakuwa T, Ham MF, et al. Epstein-Barr virus is integrated between REL and BCL-11A in American Burkitt lymphoma cell line (NAB-2) [J]. Lab Invest, 2004, 84(9): 1193-1199.
- [24] Swendeman S, Thorley-Lawson DA. The activation antigen BLAST-2, when shed, is an autocrine BCGF for normal and transformed B cells[J]. EMBO J, 1987, 6(6): 1637-1642.
- [25] 高田野,林紫雯,姚桢. EB 病毒感染与致癌[J]. 日本医学介绍, 2006, 27(4): 162-164.
- [26] Izumi KM, Kaye KM, Kieff ED. The Epstein-Barr virus LMP1 amino acid sequence that engages tumor necrosis factor receptor associated factors is critical for primary B lymphocyte growth transformation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(4): 1447-1452.
- [27] 林素暇,宗永生,张敏. 鼻咽癌中 EB 病毒 LMP1 基因的序列变异[J]. 中华病理学杂志, 2005, 34(12): 791-794.
- [28] Burrows JM, Bromham L, Woolfit M, et al. Selection pressure-driven evolution of the Epstein-Barr virus encoded oncogene LMP1 in virus isolates from Southeast Asia[J]. J Virol, 2004, 78(13): 7131-7137.
- [29] 张志伟,贺智敏,周敏. EBV-LMP1 促 CNE2 细胞迁移的作用机制[J]. 中南大学学报(医学版), 2006, 31(4): 470-473.
- [30] Kim KR, Yoshizaki T, Miyamori H, et al. Transformation of Madin-Darby canine kidney (MDCK) epithelial cells by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) induces expression of Ets1 and invasive growth [J]. Oncogene, 2000, 19(14): 1764-1771.
- [31] 苏犁云,徐锦,孙家娥,等. EB 病毒感染实验室诊断方法探讨[J]. 检验医学, 2006, 21(5): 51-53.
- [32] Lo YM, Leung SF, Chan LY, et al. Kinetics of plasma Epstein-Barr virus DNA during radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Res, 2000, 60(9): 2351-2355.
- [33] To EW, Chan KC, Leung SF, et al. Rapid clearance of plasma Epstein-Barr virus DNA after surgical treatment of nasopharyngeal carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(9): 3254-3259.
- [34] Makitie AA, Reis PP, Irish J, et al. Correlation of Epstein-Barr virus DNA in cell-free plasma, functional imaging and clinical course in locally advanced nasopharyngeal cancer: a pilot study [J]. Head Neck, 2004, 26(9): 815-822.
- [35] Lin JC, Wang WY, Chen KY, et al. Quantification of plasma Epstein-Barr virus DNA in patients with advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. N Engl J Med, 2004, 350(24): 2461-2470.

[编辑:周永红;校对:马福元]