

O PAPEL DO VÍRUS EPSTEIN-BARR NA TUMORIGÊNESE HUMANA

THE ROLE OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN HUMAN TUMORIGENESIS

Alfredo Ribeiro-Silva¹ & Sérgio Zucoloto²

¹Médico Assistente. Serviço de Patologia. Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCFMRP/USP). ²Docente. Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

CORRESPONDÊNCIA: Alfredo Ribeiro-Silva. Serviço de Patologia. Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Av. Bandeirantes, 3900–Campus Universitário - USP. CEP 14048-900 Ribeirão Preto – SP, Brasil. E-mail: ardsilva@rpa.fmrp.usp.br. FAX: 0xx(16)6330095. Fone: 0xx(16)6023240

RIBEIRO-SILVA A & ZUCOLOTO S. O papel do vírus Epstein-Barr na tumorigênese humana. **Medicina, Ribeirão Preto**, 36: 16-23, jan./mar. 2003.

RESUMO: O vírus Epstein Barr, também conhecido pela denominação inglesa, Epstein-Barr vírus ou simplesmente EBV, é um vírus da família Herpes, que causa a mononucleose infecciosa, em humanos. Existe forte correlação entre a infecção latente pelo EBV e o desenvolvimento de diversos tumores malignos, como o linfoma de Burkitt, a doença de Hodgkin, o linfoma B e o carcinoma nasofaríngeo. Há, também, evidências de que o EBV possa estar associado a outras neoplasias malignas, principalmente a carcinomas gástricos, carcinomas mamários, leiomiomas, linfomas T e carcinomas *linfoepitelioma-like* de glândulas salivares, pulmão e timo. Várias das proteínas expressas pelo EBV atuam diretamente, como oncogene, estimulando a proliferação das células infectadas. Além disso, o DNA viral, ao integrar-se ao genoma do hospedeiro, pode causar mutações em genes reguladores do ciclo celular, sobretudo no gene supressor, tumoral, p53, favorecendo o aparecimento de células neoplásicas.

UNITERMOS: Infecção. Herpesvirus 4 Humano. Neoplasias.

1- INTRODUÇÃO

O vírus Epstein-Barr, mais conhecido pela denominação inglesa, Epstein-Barr Vírus (EBV), foi descoberto, em 1964, por um estudo de microscopia eletrônica, de cultura de células obtidas de linfoma de Burkitt⁽¹⁾. Quatro anos após, em 1968, demonstrou-se que o EBV era o agente etiológico da mononucleose infecciosa⁽²⁾.

O vírus Epstein-Barr é um membro da família Herpes. O genoma viral encontra-se dentro de um nucleocapsídeo, que, por sua vez, é envolto pelo envelope viral. O genoma do EBV consiste de uma molécula de DNA linear, de 172 quilobases, que codifica, aproximadamente, 100 proteínas virais. Durante a

replicação viral, essas proteínas são importantes para a regulação da expressão dos genes virais, para a replicação do DNA viral, para formar a estrutura de componentes estruturais do vírion e para modular a resposta imune do hospedeiro⁽³⁾.

O EBV infecta mais de 90% da população mundial⁽⁴⁾. A taxa de endemicidade para o vírus Epstein-Barr varia conforme a região geográfica, sendo extremamente elevada no Norte da África (Argélia e Tunísia) e extremamente baixa no Norte da Europa (Dinamarca e Holanda). O Brasil é considerado um país de endemicidade intermediária entre aquelas duas regiões⁽⁴⁾. A infecção ocorre, geralmente, na infância e é assintomática na maioria dos casos, persistindo de forma latente durante toda a vida do indivíduo. Nos

países industrializados, a infecção primária, muitas vezes, ocorre na adolescência ou mesmo na fase adulta, causando uma doença linfoproliferativa, denominada mononucleose infecciosa⁽⁵⁾. Mais de 50% dos pacientes com mononucleose infecciosa apresentam febre, linfadenopatia e faringite. Menos de 10% apresentam esplenomegalia, petéquias no palato e hepatomegalia. Normalmente, a doença é autolimitada. Raramente, prolonga-se por mais de seis meses, quando passa a ser denominada infecção crônica, ativa, pelo EBV⁽⁵⁾.

A infecção de humanos pelo EBV, usualmente, ocorre pelo contato com secreções orais. O vírus se replica nas células da orofaringe e, praticamente em todos os pacientes que apresentam sorologia positiva, pode-se detectar o vírus na saliva⁽⁶⁾.

2- INFECÇÃO LATENTE PELO VÍRUS EPSTEIN-BARR

Os estudos iniciais sugeriam que o vírus se replicava nas células epiteliais da orofaringe, para, posteriormente, infectarem as células B⁽⁷⁾. Estudos posteriores comprovaram que, na realidade, as células B da orofaringe, e não as células epiteliais, representam o sítio primário da infecção⁽⁸⁾. A infecção de células epiteliais pelo EBV *in vitro* resulta em replicação ativa e lise da célula infectada. Por outro lado, infecção *in vitro* do EBV, em células B, resulta em infecção latente com imortalização das células infectadas⁽⁹⁾.

Para o vírus entrar na célula B, o envelope glicoprotéico gp350 liga-se ao receptor viral (molécula CD21) na superfície da célula B. Além disso, moléculas da classe II do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) servem como cofator para a infecção das células B⁽¹⁰⁾. Pacientes com agamaglobulinemia ligada ao X não possuem células B maduras, não sendo infectados pelo vírus nem *in vitro* nem *in vivo*⁽¹¹⁾.

Acredita-se que os locais de persistência do EBV, no indivíduo, sejam as células B, latentes de memória. Em adultos normais, de 01 a 50 células B por milhão estão infectadas pelo EBV e, em cada indivíduo, o número de células infectadas latentes permanece estável por anos⁽¹²⁾.

Cerca de 100 genes virais são expressos durante a replicação, mas apenas 10 são expressos *in vitro* nas células B, infectadas, latentes: seis proteínas nucleares (EBNAs), duas proteínas de membrana (LMPs) e dois tipos de RNA não translado (EBERs). Essa diminuição no número de proteínas virais limita o reconhecimento das células infectadas pelas células T, citotóxicas⁽¹³⁾.

A proteína do antígeno nuclear 1 do EBV (EBNA1) liga-se ao DNA viral, fazendo com que o genoma viral permaneça na célula infectada como um episomo circular⁽¹⁴⁾. Desempenha, portanto, um papel central na manutenção da infecção latente pelo EBV. O EBNA 1 é necessário para a replicação do genoma viral e é um fator regulador chave, na transcrição dos genes latentes, de infecção⁽¹⁵⁾. A proteína transcrita do EBNA1 é separada em um domínio N-terminal em um domínio C-terminal, por uma seqüência repetitiva de glicina, glicina e alanina. Essa seqüência inibe a apresentação do antígeno ao complexo maior de histocompatibilidade, inibindo a resposta imune do hospedeiro ao EBV. Além disso, essa seqüência aumenta a meia-vida do EBNA1⁽¹⁶⁾. A expressão do EBNA-1, em carcinomas, correlaciona-se com um pior prognóstico⁽¹⁷⁾.

O antígeno nuclear 2 do EBV (EBNA2) aumenta a expressão das proteínas de membrana latente 1 e 2 (LMP1 e LMP2), assim como das proteínas celulares que contribuem para o crescimento das células B⁽¹⁸⁾. Existem 3 subunidades do EBNA3: EBNA3a, EBNA3b e EBNA3c⁽³⁾. O antígeno nuclear 3 do EBV (EBNA3) também regula a expressão de genes celulares, aumentando a habilidade do EBNA2 em regular o LMP1⁽¹⁹⁾.

O LMP2 previne a reativação do EBV latente nas células infectadas, através do bloqueio da fosforilação da quinase de tirosina⁽²⁰⁾. A expressão do LMP2, em camundongos transgênicos, faz com que células B não transformadas sobrevivam mesmo na ausência da sinalização normal para receptores de células B⁽²¹⁾.

Através da análise gênica é possível distinguir os tipos A e B do EBV, porque as seqüências dos genes EBNA-2, EBNA-3a, EBNA-3b e EBNA-3c são diferentes entre si⁽²²⁾. O tipo A do EBV é muito mais eficiente em imortalizar as células B dos linfomas do que o tipo B⁽²³⁾, mas acredita-se que o tipo B só é capaz de transformar células B, em indivíduos imunodeficientes⁽²⁴⁾. No Brasil e nos países ocidentais, o tipo A é o prevalente, enquanto, na África Equatorial, o tipo B é o mais freqüentemente detectado⁽²⁵⁾.

3- ASSOCIAÇÃO ENTRE O VÍRUS EPSTEIN-BARR E NEOPLASIAS

Em 1970, O DNA do vírus Epstein-Barr foi detectado em tecidos de pacientes com carcinoma nasofaríngeo⁽²⁶⁾. Na década de 1980, o EBV foi associado ao linfoma não Hodgkin e à leucemia de células pilosas, em pacientes com a síndrome da imunode-

ficiência adquirida (AIDS)^(27,28). Desde então, o EBV tem sido identificado em vários tumores, incluindo as síndromes linfoproliferativas de células B, o linfoma de células T e a doença de Hodgkin^(29,30). Em 1997, o EBV foi classificado pela *International Agency for Research on Cancer*, como um carcinógeno de grau I. Carcinógenos de grau I são todos os agentes que, comprovadamente, causam neoplasias em humanos⁽³¹⁾.

Também existem evidências de que o EBV possa estar associado a outros tumores malignos, como o carcinoma gástrico, o carcinoma mamário, o leiomiossarcoma, em pessoas imunodeprimidas, e o carcinoma *linfoepitelioma-like* de glândulas salivares, pulmão, timo, trato hepatobiliar e esôfago^(32/38). O papel do EBV, na etiopatogênese dessas neoplasias, particularmente em relação ao carcinoma mamário e hepatocelular, necessita ser mais bem investigado⁽³⁹⁾.

O carcinoma *linfoepitelioma-like* do pulmão está fortemente associado a infecção pelo EBV, em pacientes asiáticos; entretanto, a mesma associação não foi verificada em ocidentais, sugerindo que possam existir diferenças étnicas na susceptibilidade ao desenvolvimento de neoplasias pelo EBV⁽⁴⁰⁾. De fato, um estudo, envolvendo várias etnias residindo em um mesmo local na Malásia, evidenciou diferenças importantes na incidência de linfoma não Hodgkin, associado ao EBV⁽⁴¹⁾. Além disso, a expressão do EBV, em carcinomas gástricos, é semelhante em japoneses que residem no Japão e em japoneses que residem no Brasil⁽⁴²⁾. Esses dados sugerem que a susceptibilidade genética ao EBV seja mais importante do que as diferenças geográficas.

A detecção dos marcadores de infecção latente varia de doença para doença, seguindo 4 tipos de

expressão, conforme especificado na Tabela I⁽¹³⁾. A porcentagem de casos positivos para o EBV, em cada uma das doenças que já foram associadas a esse vírus, varia enormemente, conforme atesta a Tabela II⁽⁴³⁾.

4- MECANISMOS DE TUMORIGÊNESE

As células com infecção latente podem perder o controle de proliferação por mecanismos ainda pouco conhecidos, provavelmente relacionados a disfunções do sistema imunológico⁽⁴⁴⁾. Sabe-se que o gene BZLF1 do EBV desempenha um papel chave nesse processo⁽⁴⁵⁾.

Existem evidências de que o EBNA1 possa atuar diretamente, como um oncogene⁽⁴⁶⁾. A expressão do EBNA-1 pode ser detectada em amostras de tecido parafinado através do método imunoistoquímico (Figura 1A). Virtualmente, o EBNA1 é expresso em todos tecidos neoplásicos, associados ao EBV, mas o nível de expressão varia grandemente entre os tumores⁽⁴⁷⁾. O EBNA2 induz a ativação do ciclo replicativo do EBV e sua expressão é essencial para a transformação neoplásica, de linfócitos B⁽⁴⁸⁾. O EBNA3c é essencial para a transformação neoplásica de linfócitos B, porque regula a transcrição de genes envolvidos no processo de imortalização dessas células, como o RBP-Jkappa e HDAC1. Além disso, o EBNA3c interfere no ciclo da ciclina/cdk-Rb-E2F, que, normalmente, regula a progressão do ciclo celular, estacionando a célula na fase G1⁽⁴⁹⁾. Recentemente, verificou-se que o EBNA3c inibe, especificamente, a proteína supressora de metástases Nm23, favorecendo a progressão maligna, com metástases das neoplasias associadas ao EBV⁽⁵⁰⁾. A inibição do Nm23 é mais acentuada

Tabela I: Tipos de expressão dos genes latentes, do vírus Epstein-Barr

Latência	EBNA1	EBNA2	EBNA3	LMP1	LMP2	EBER	Doença
Tipo 1	+	-	-	-	-	+/-	Linfoma de Burkitt. Carcinoma mamário.
Tipo 2	+	-	-	+	+	+	Carcinoma de nasofaringe. Doença de Hodgkin . Linfoma T.
Tipo 3	+	+	+	+	+	+	Doenças linfoproliferativas .Mononucleose infecciosa.
Tipo 4	-	-	-	+	+	+	Portador saudável.

Legenda: EBNA, antígeno nuclear do vírus Epstein-Barr; LMP, proteína latente de membrana; EBER RNA, codificado do vírus Epstein-Barr. + expressa o gene, - não expressa o gene, +/- pode ou não expressar o gene.

Tabela II Porcentagem de casos positivos para o Epstein-Barr em patologias associadas a esse vírus

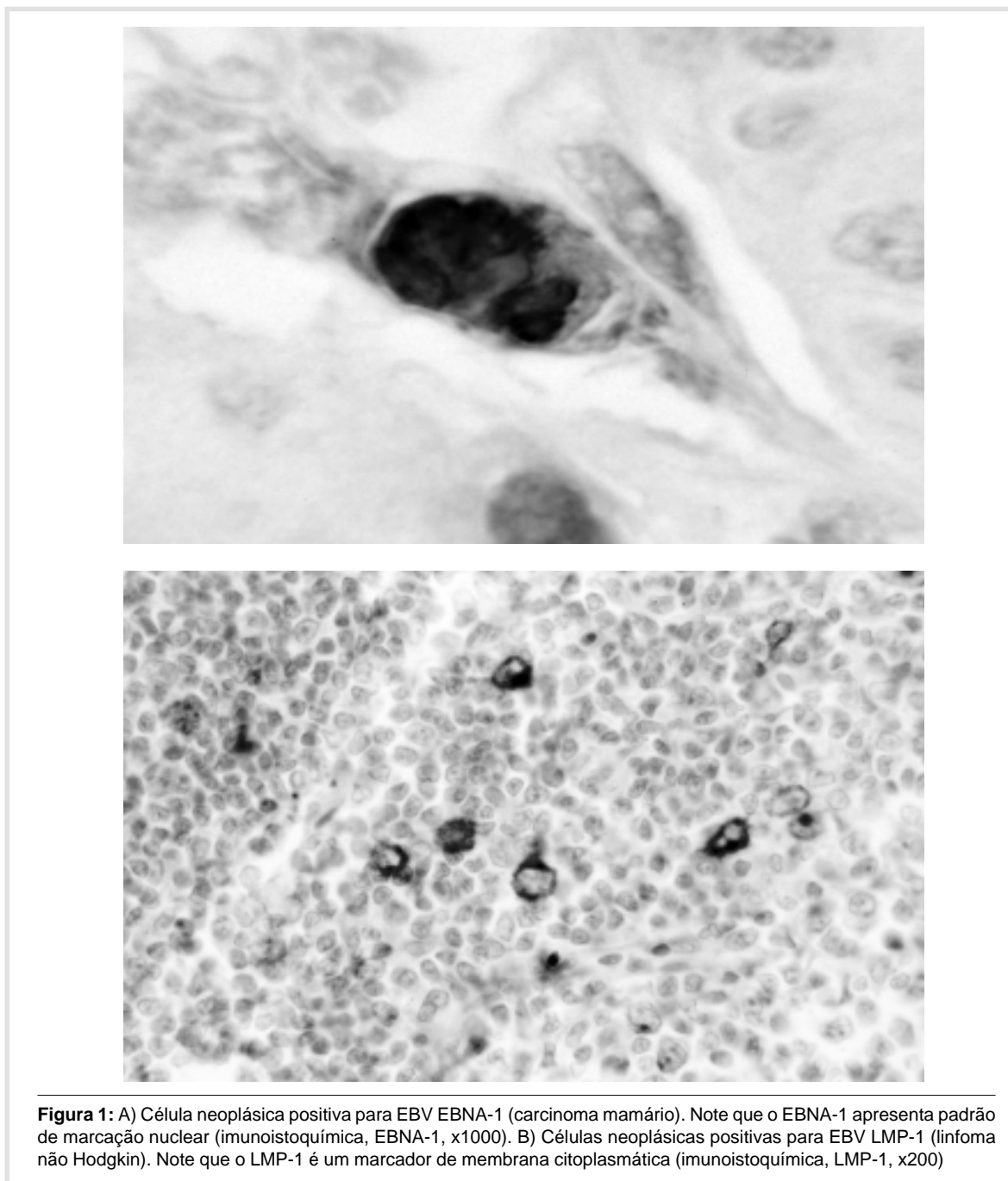
Doença	Porcentagem
Patologias benignas	
Mononucleose infecciosa	>99%
Leucoplaquia pilosa, oral	>95%
Pseudotumor inflamatório	40%
Linfomas não Hodgkin e neoplasias associadas a imunodeficiências	
Linfoma não Hodgkin (todos os subtipos)	5%
Linfoma não Hodgkin, relacionado a AIDS	40%
Linfoma cerebral (relacionado a AIDS)	95%
Linfoma cerebral (pacientes imunocompetentes)	5%
Desordem linfoproliferativa pós-transplante	95%
Linfoma de Burkitt (África)	>95%
Linfoma de Burkitt (América do Norte)	20%
Linfoma de Burkitt (relacionado a AIDS)	30%
Linfoma (imunodeficiência primária)	Maioria
Granulomatose linfomatóide	Maioria
Linfoma T periférico	40%
Linfoma T/NK nasal	>95%
Tumor de músculo liso, relacionado a AIDS	>95%
Doença de Hodgkin	
Doença de Hodgkin (todos os subtipos)	40%
Doença de Hodgkin (celularidade mista)	70%
Doença de Hodgkin (esclerose nodular)	20%
Doença de Hodgkin (predominância linfocitária)	<5%
Doença de Hodgkin (depleção linfocitária)	50%
Doença de Hodgkin (relacionada a AIDS)	>95%
Carcinomas	
Carcinoma de nasofaringe (Ásia)	>95%
Carcinoma de nasofaringe (América do Norte)	75%
<i>Linfoepitelioma-like</i>	Maioria
Adenocarcinoma gástrico	7%
Carcinoma mamário	0 a 51%

nos carcinomas mamários e nos linfomas de Burkitt, associados ao EBV⁽⁵⁰⁾.

O gene do antígeno nuclear 4 do EBV (EBNA4) está frequentemente mutado na doença de Hodgkin, no carcinoma gástrico e em linfomas associados ao EBV, sugerindo que possa ter algum papel na etiopatogenia dessas neoplasias⁽⁵¹⁾.

Uma deleção característica de 30 pares de base foi identificada na extremidade 3' do gene que codifica a proteína latente, de membrana 1 (LMP1). Essa deleção foi, inicialmente, detectada em carcinomas de nasofaringe, sendo associada a maior agressividade do tumor⁽⁵²⁾. O LMP1 atua como um oncogene e a expressão dessa proteína, em camundongos transgênicos, resulta em linfomas de células B⁽⁵³⁾. Isso porque o LMP1 induz um sinal que mimetiza a forma ativa da molécula de superfície CD40, nas células B⁽⁵⁴⁾. O mesmo efeito não é verificado em linfócitos T, sugerindo que o EBV promove linfomas T por mecanismos que não dependem do LMP1⁽⁵⁵⁾. O LMP1 se liga ao receptor do fator de necrose tumoral, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, em linfomas positivos para EBV. Isso resulta na ativação do fator de transcrição nuclear kB (NF-kB), na ativação do *c-jun*, na regulação de moléculas de adesão celular, na produção de citocinas e na proliferação de células B⁽⁵⁶⁾.

Durante o processo de transformação neoplásica, o LMP1 ativa os receptores do fator de necrose tumoral, com ativação dos genes NF- γ B, AP-1 E JAK3/STAT. Isso leva à proliferação de linfócitos com supressão da capacidade de formar centros germinativos, formando linfomas⁽⁵⁷⁾. A proteína LMP-1 é importante para a transformação neoplásica, podendo ser detec-



tada em tecidos parafinados pelo método imunohistoquímico (Figura 1B). Entretanto, o LMP-1, geralmente, não é mais expresso, quando o tumor já está muito avançado, sugerindo que não desempenha papel relevante na manutenção da neoplasia ⁽⁵⁸⁾.

Os dois tipos de RNA não traduzidos do EBV (EBER) não codificam proteínas, mas podem atuar como oncogenes, além de bloquear a apoptose ⁽⁵⁹⁾.

Além das proteínas de infecção latente do EBV terem atividade oncogênica direta, o DNA viral pene-

tra no genoma do hospedeiro, podendo causar mutações somáticas em genes que regulam o ciclo celular⁽⁶⁰⁾. O p53 é um gene regulador, chave, do ciclo celular e, em condições normais, impede que células com lesão no DNA sofram divisão mitótica, além de induzir apoptose. Por isso, o p53 é considerado um “gene supressor tumoral”. Quando mutado, o gene perde sua ação regulatória, favorecendo o desenvolvimento de neoplasias malignas⁽⁶¹⁾. Mutações no p53 foram detectadas no linfoma de Burkitt e nos carcino-

mas gástrico e de cabeça e pescoço, associados ao EBV, mas não no linfoma B de pacientes imunodeprimidos^(62,63). Além disso, o carcinoma da nasofaringe, que é a neoplasia mais fortemente associada ao EBV, raramente apresenta mutações no p53⁽⁶⁴⁾. Esses dados sugerem que o vírus Epstein-Barr pode ter vários mecanismos de ação, cuja importância varia conforme o tecido alvo. Sob esse raciocínio, um desses mecanismos seria induzir mutação no p53, importante no linfoma de Burkitt e nos carcinomas gástrico e de cabeça e pescoço, mas não no carcinoma de nasofaringe.

5- CONCLUSÃO

Existe forte associação entre a infecção latente pelo vírus Epstein-Barr e o desenvolvimento de tumores malignos em humanos. Várias das proteínas expressas pelo EBV atuam diretamente como oncogene, estimulando a proliferação das células infectadas. Além disso, o DNA viral, ao integrar-se ao genoma do hospedeiro, pode causar mutações em genes reguladores do ciclo celular, sobretudo no gene supressor, tumoral, p53, favorecendo o aparecimento de células neoplásicas.

RIBEIRO-SILVA A & ZUCOLOTO S. The role of Epstein-Barr virus in human tumorigenesis. **Medicina, Ribeirão Preto**, 36: 16-23, jan./march, 2003.

ABSTRACT: The Epstein-Barr virus, also known simply as EBV, is a virus of Herpes family that causes the infectious mononucleosis in humans. There is strong relationship between the latent infection by EBV and the development of several malignant tumors like Burkitt's lymphoma, Hodgkin disease, lymphoma of B cells and nasopharyngeal carcinoma. There are also evidences that the EBV might be associated to others malignant neoplasms mainly gastric carcinomas, mammary carcinomas, leiomyosarcomas, lymphomas of B cells and "lymphoepithelioma-like" carcinomas of salivary glands, lung and thymus. Many of the proteins expressed by the EBV act directly as a oncogene, stimulating the proliferation of the infected cells. Besides, the viral DNA, when integrated to host genome, may cause mutations in regulatory genes of cell cycle, over all the tumor suppressor gene p53, favoring the emergence of neoplastic cells.

UNITERMS: Infection. Herpesvirus 4, Human. Neoplasms.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - EPSTEIN MA; ACHONG BG & BARR YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. **Lancet** 1: 702-703, 1964.
- 2 - HENLE G; HENLE W & DIEHL V. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. **Proc Natl Acad Sci USA** 59: 94-101, 1968.
- 3 - BAUMFORTH KR; YOUNG LS; FLAVELL KJ; CONSTANDINOU C & MURRAY PG. The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. **J Clin Pathol: Mol Pathol** 52: 307-322, 1999.
- 4 - CRAWFORD DH. Biology and disease associations of Epstein-Barr virus. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci** 356: 461-473, 2001.
- 5 - EVANS AS. Clinical syndromes associated with EB virus infection. **Ann Intern Med** 18: 77-93, 1972.
- 6 - YAO QY; RICKINSON AB & EPSTEIN MA. A re-examination of the Epstein-Barr virus carrier state in healthy seropositive individuals. **Int J Cancer** 35: 35-42, 1985.
- 7 - ALLDAY MJ & CRAWFORD DH. Role of epithelium in EBV persistence and pathogenesis of B-cell tumours. **Lancet** 1: 855-857, 1988.
- 8 - NIEDOBITEK G; AGATHANGGELOU A; HERBST H; WHITEHEAD L; WRIGHT DH & YOUNG LS. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells. **J Pathol** 182: 151-159, 1997.
- 9 - SIXBEY JW; VESTERINEN EH; NEDRUD JG; RAAB-TRAUB N; WALTON LA & PAGANO JS. Replication of Epstein-Barr virus in human epithelial cells infected in vitro. **Nature** 306: 480-483, 1983.
- 10 - LI Q; SPRIGGS MK; KOVATS S; TURK SM; COMEAU MR; NEPOM B & HUTT-FLETCHER LM. Epstein-Barr virus uses HLA class II as a cofactor for infection of B lymphocytes. **J Virol** 71: 4657-4662, 1997.
- 11 - FAULKNER GC; BURROWS SR; KHANNA R; MOSS DJ; BIRD AG & CRAWFORD DH. X-linked agammaglobulinemia patients are not infected with Epstein-Barr virus: implications for the biology of the virus. **J Virol** 73: 1555-1564, 1999.

- 12 - BABCOCK GJ; DECKER LL; VOLK M & THORLEY-LAWSON DA. EBV persistence in memory B cells in vivo. **Immunity** **9**: 395-404, 1998.
- 13 - COHEN JI. Epstein-Barr virus infection. **N Engl J Med** **343**: 481-492, 2000.
- 14 - YATES J; WARREN N; REISMAN D & SUGDEN B. A cis-acting element from the Epstein-Barr viral genome that permits stable replication of recombinant plasmids in latently infected cells. **Proc Natl Acad Sci USA** **81**: 3806-3810, 1984.
- 15 - LEIGHTER & SUGDEN B. EBNA-1: a protein pivotal to latent infection by Epstein-Barr virus. **Rev Med Virol** **10**: 83-100, 2000.
- 16 - YOUNG LS; DAWSON CW & ELIOPOULOS AG. The expression and function of Epstein-Barr virus encoded latent genes. **J Clin Pathol: Mol Pathol** **53**: 238-247, 2000.
- 17 - MURRAY PG; LISSAUER D; JUNYING J; DAVIES G; MOORE S; BELL A; TIMMS J; ROWLANDS D; MCCONKEY C; REYNOLDS GM; GHATAURA S; ENGLAND D; CAROLL R & YOUNG LS. Reactivity with A monoclonal antibody to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 defines a subset of aggressive breast cancers in the absence of the EBV genome. **Cancer Res** **63**: 2338-2343, 2003.
- 18 - JOHANNSEN E; KOH E; MOSIALOS G; TONG X; KIEFF E & GROSSMAN SR. Epstein-Barr virus nuclear protein 2 transactivation of the latent membrane protein 1 promoter is mediated by J kappa and PU1. **J Virol** **69**: 253-262, 1995.
- 19 - LIN J; JOHANNSEN E; ROBERTSON E & KIEFF E. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3c putative repression domain mediates coactivation of the LMP1 promoter with EBNA2. **J Virol** **76**: 232-242, 2002.
- 20 - MILLER CL; BURKHARDT AL; LEE JH; STEALEY B; LONGNECKER R; BOLEN JB & KIEFF E. Integral membrane protein 2 of Epstein-Barr virus regulates reactivation from latency through dominant negative effects on protein-tyrosine kinases. **Immunity** **2**: 155-166, 1995.
- 21 - CALDWELL RG; WILSON JB; ANDERSON SJ & LONGNECKER R. Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. **Immunity** **9**: 405-411, 1998.
- 22 - SAMPLE J; YOUNG L; MARTIN B; CHATMAN T; KIEFF E; RICKINSON A & KIEFF E. Epstein-Barr virus types 1 and 2 differ in the EBNA-3a, EBNA-3b and EBNA-3c genes. **J Virol** **64**: 4084-4092, 1990.
- 23 - RICKINSON AB; YOUNG LS & ROWE M. Influence of Epstein-Barr virus nuclear antigen EBNA-2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. **J Virol** **61**: 1310-1317, 1987.
- 24 - SHIBATA D; WEISS LM; HERNANDEZ AM; NATHWANI BN; BERNSTEIN L & LEVINE AM. Epstein-Barr virus-associated non-Hodgkin's lymphoma in patients infected with human immunodeficiency virus. **Blood** **81**: 2102-2109, 1993.
- 25 - CHEN WG; CHEN YY; BACCHI MM; BACCHI CE; ALVARENGA M & WEISS LM. Genotyping of Epstein-Barr virus in Brazilian Burkitt's lymphoma and reactive lymphoid tissue. Type A with a high prevalence of deletions within the latent membrane protein gene. **Am J Pathol** **148**: 17-23, 1996.
- 26 - ZUR HAUSEN H; SCHULTE-HOLTHAUSEN H; KLEIN G; HENLE W; HENLE G; CLIFFORD P & SANTESSON L. EBV DNA in biopsies of Burkitt's tumours and anaplastic carcinomas of the nasopharynx. **Nature** **228**: 1056-1058, 1970.
- 27 - ZIEGLER JL; DREW WL; MINER RC; MINTZ L; ROSENBAUM E; GERSHOW J; LENNETTE ET; GREENSPAN J; SHILLITOE E; BECKSTEAD J; CASAVANT C & YAMAMOTO K. Outbreak of Burkitt's-like lymphoma in homosexual men. **Lancet** **2**: 631-633, 1982.
- 28 - GREENSPAN JS; GREENSPAN D; LENNETTE ET; ABRAMS DI; CONANT MA; PETERSEN V & FREESE UK. Replication of Epstein-Barr virus within the epithelial cells of oral "hairy leukoplakia, an AIDS-associated lesion. **N Engl J Med** **313**: 1564-1571, 1985.
- 29 - JONES JF; SHURIN S; ABRAMOWSKY C; TUBBS RR; SCIOTTO CG; WAHL R; SANDS J; GOTTMAN D; KATZ BZ & SKLAR J. T-cell lymphomas containing Epstein-Barr viral DNA in patients with chronic Epstein-Barr virus infections. **N Engl J Med** **318**: 733-741, 1988.
- 30 - WEISS LM; MOVAHED LA; WARNKE RA & SKLAR J. Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. **N Engl J Med** **320**: 502-506, 1989.
- 31 - NIEDOBITEK G. The Epstein-Barr virus: a group 1 carcinogen? **Virch Arch** **435**: 79-86, 1999.
- 32 - VORTMEYER AO; KINGMA DW; FENTON RG; CURTI BD; JAFFE ES & DURAY PH. Hepatobiliary lymphoepithelioma-like carcinoma associated with Epstein-Barr virus. **Am J Clin Pathol** **109**: 90-95, 1998.
- 33 - BONNET M; GUINEBRETIERE JM; KREMMER E; GRUNEWALD V & BENHAMOU E; CONTESSO G; JOAB I. Detection of Epstein-Barr virus in invasive breast cancers. **J Natl Cancer Inst** **91**: 1376-1381, 1999.
- 34 - JENG Y-M; CHEN C-L & HSU H-C. Lymphoepithelioma-like cholangiocarcinoma: an Epstein-Barr virus-associated tumor. **Am J Surg Pathol** **25**: 516-520, 2001.
- 35 - KIJIMA Y; HOKITA S; TAKAO S; BABA M; NATSUGOE S; YOSHINAKA H; ARIDOME K; OTSUJI T; ITOH T; TOKUNAGA M; EIZURU Y & AIKOU T. Epstein-Barr virus involvement is mainly restricted to lymphoepithelial type of gastric carcinoma among various epithelial neoplasms. **J Med Virol** **64**: 513-518, 2001.
- 36 - HOSHIKAWA Y; SATOH Y; MURAKAMI M; MAETA M; KAIBARA N; ITO H; KURATA T & SAIRENJI T. Evidence of lytic infection of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-positive gastric carcinoma. **J Med Virol** **66**: 351-359, 2002.
- 37 - KANG GH; LEE S; KIM WH; LEE HW; KIM JC; RHYU MG & RO JY. Epstein-Barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. **Am J Pathol** **160**: 787-794, 2002.
- 38 - CHEN PC; PAN CC; HSU WH; KA HJ & YANG AH. Epstein-Barr virus-associated lymphoepithelioma-like carcinoma of the esophagus. **Hum Pathol** **34**: 407-411, 2003.
- 39 - HERRMANN K & NIEDOBITEK G. Epstein-Barr virus-associated carcinomas: facts and fiction. **J Pathol** **199**: 140-145, 2003.
- 40 - CASTRO CY; OSTROWSKI ML; BARRIOS R; GREEN LK; POPPER HH; POWELL S; CAGLE PT & RO JY. Relationship between Epstein-Barr virus and lymphoepithelioma-like carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of 6 cases and review of the literature. **Hum Pathol** **32**: 863-872, 2001.
- 41 - PEH S-C. Host ethnicity influences non-Hodgkin's lymphoma subtype frequency and Epstein-Barr virus association rate: the experience of a multi-ethnic patient population in Malaysia. **Histopathology** **38**: 458-465, 2001.

- 42 - KORIYAMA C; AKIBA S; IRIYA K; YAMAGUTI T; HAMADA GS; ITOH T; EIZURU Y; AIKOU T; WATANABE S; TSUGANE S & TOKUNAGA M. Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma in Japanese Brazilians and non-Japanese Brazilians in São Paulo. **Jpn J Cancer Res** **92**: 911-917, 2001.
- 43 - GULLEY ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. **J Mol Diagn** **3**: 1-10, 2001.
- 44 - KNECHT H; BERGER C; ROTHENBERGER S; ODERMATT BF & BROUSSET P. The role of Epstein-Barr virus in neoplastic transformation. **Oncology** **60**: 289-302, 2001.
- 45 - KRAUS RJ; MIROCHA SJ; STEPHANY HM; PUCHALSKI JR & MERTZ JE. Identification of a novel element involved in regulation of the lytic switch BZLF1 gene promoter of Epstein-Barr virus. **J Virol** **75**: 867-877, 2001.
- 46 - WILSON JB; BELL JL & LEVINE AJ. Expression of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 induces B cell neoplasia in transgenic mice. **EMBO J** **15**: 3117-3126, 1996.
- 47 - OUDEJANS JJ; DUKERS DF; JIWA NM; VAN DEN BRULE AJ; GRASSER FA; DE BRUIJN PC; HORSTMAN A; VOS W; VAN GORP J; MIDDELDRP JM & MEIJER CJ. Expression of Epstein-Barr virus encoded nuclear antigen 1 in benign and malignant tissues harbouring EBV. **J Clin Pathol** **49**: 897-902, 1996.
- 48 - FUJIWARA S. Epstein-Barr virus nuclear protein 2-induced activation of the EBV-replicative cycle in Akata cells: analysis by tetracycline-regulated expression. **Curr Top Microbiol Immunol** **258**: 35-50, 2001.
- 49 - SUBRAMANIAN C; KNIGHT JS & ROBERTSON ES. The Epstein-Barr nuclear antigen EBNA3c regulates transcription, cell transformation and cell migration. **Front Biosci** **7**: 704-716, 2002.
- 50 - SUBRAMANIAN C; COTTER MA & ROBERTSON ES. Epstein-Barr virus nuclear protein EBNA-3C interacts with the human metastatic suppressor Nm23-H1: a molecular link to cancer metastasis. **Nat Med** **7**: 350-355, 2001.
- 51 - CHU PG; CHANG KL; CHEN WG; CHEN YY; SHIBATA D; HAYASHI K; BACCHI C; BACCHI M & WEISS LM. Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen (EBNA)-4 mutation in EBV-associated malignancies in three different populations. **Am J Pathol** **155**: 941-947, 1999.
- 52 - CHEN ML; TSAI CN; LIANG CL; SHU CH; HUANG CR; SULITZEANU D; LIU ST & CHANG YS. Cloning and characterization of the latent membrane protein (LMP) of a specific Epstein-Barr virus variant derived from nasopharyngeal carcinoma in the Taiwanese population. **Oncogene** **7**: 2131-2140, 1992.
- 53 - KULWICHIT W; EDWARDS RH; DAVENPORT EM; BASKAR JF; GODFREY V & RAAB-TRAUB N. Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice. **Proc Natl Acad Sci USA** **95**: 11963-11968, 1998.
- 54 - UCHIDA J; YASUI T; TAKAOKA-SHICHIJO Y; MURAOKA M; KULWICHIT W; RAAB-TRAUB N & KIKUTANI H. Mimicry of CD40 signals by Epstein-Barr virus LMP1 in B lymphocyte responses. **Science** **286**: 300-303, 1999.
- 55 - XU J; AHMAD A & MENEZES J. Preferential localization of the Epstein-Barr virus (EBV) oncoprotein LMP-1 to nuclei in human T cells: implications for its role in the development of EBV genome-positive T-cell lymphomas. **J Virol** **76**: 4080-4086, 2002.
- 56 - LIEBOWITZ D. Epstein-Barr virus and a cellular signaling pathway in lymphomas from immunosuppressed patients. **N Engl J Med** **338**: 1413-1421, 1998.
- 57 - KNECHT H; BERGER C; ROTHENBERGER S; ODERMATT BF & BROUSSET P. The role of Epstein-Barr virus in neoplastic transformation. **Oncology** **60**: 289-302, 2001.
- 58 - OHSHIMA K; SUZUMIYA J; KANDA M; HARAOKA S; KAWASAKI C; SHIMAZAKI K & KIKUCHI M. Genotypic and phenotypic alterations in Epstein-Barr virus-associated lymphoma. **Histopathology** **35**: 539-550, 1999.
- 59 - KOMANO J; MARUO S; KUROZUMI K; ODA T & TAKADA K. Oncogenic role of Epstein-Barr virus-encoded RNAs in Burkitt's lymphoma cell line Akata. **J Virol** **73**: 9827-9831, 1999.
- 60 - HAUSEN HZ. Oncogenic DNA viruses. **Oncogene** **20**: 7820-7823, 2001.
- 61 - HOLLSTEIN M; SIDRANSKY D; VOGELSTEIN B & HARRIS CC. P53 mutations in human cancers. **Science** **253**: 49, 1991.
- 62 - CHAN WY; CHAN EKL & CHOW JHS. Epstein-Barr virus-associated gastric lymphomas are distinct from mucosa-associated lymphoid tissue-type lymphomas: genetic abnormalities of p53 gene. **Diagn Mol Pathol** **10**: 153-160, 2001.
- 63 - YANG HJ; CHO YJ; KIM HS; CHANG MS; SUNG MW & KIM WH. Association of p53 and BCL-2 expression with Epstein-Barr virus infection in the cancers of head and neck. **Head Neck** **23**: 629-636, 2001.
- 64 - CROOK T; NICHOLLS JM; BROOKS L; O'NIONS J & ALLDAY MJ. High level expression of deltaN-p63: a mechanism for the inactivation of p53 in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma (NPC)? **Oncogene** **19**: 3439-3444, 2000.

Recebido para publicação em 26/12/2002

Aprovado para publicação em 31/03/2003