

# UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE ED 524

FACULTE DE PHARMACIE

Equipe de recherche UMR CNRS 7276

Thèse N° [-----]

Thèse

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Discipline / Spécialité : Immunologie, oncologie et infectiologie

Présentée et soutenue par

**Mohamad Adnan HALABI**

Le 04/10/2013

***Polymorphisme du gène *LMP1* de l'*EBV* chez des patients français atteints de lymphome *NK/T* : évolution sous traitement à base de *L-asparaginase****

Thèse dirigée par Madame le Professeur Sylvie RANGER-ROGEZ

## JURY

### Rapporteurs

Mme. Caroline BESSON      **PARIS**

M. Patrice MORAND      **GRENOBLE**

### Examineurs

M. Bernard MARIAMÉ      **TOULOUSE**

M. Jean FEUILLARD      **LIMOGES**

Mme. Sylvie ROGEZ      **LIMOGES**

M. Arnaud JACCARD      **LIMOGES**

## Remerciements

*Un proverbe africain dit : 'on ne ramasse pas la farine avec une seule main.'*

*Un autre dit : 'Le père de famille choisit un champ pour son fils mais ne le lui cultive pas.'*

*C'est pourquoi pour l'élaboration de ce travail tous les conseils ont été d'une grande utilité.*

*Tout d'abord je tiens à présenter mes remerciements à **Madame le professeur Sylvie***

**RANGER-ROGEZ** de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

*Madame, Vous m'avez apporté une aide précieuse tout au long de l'élaboration de mon travail et vous m'avez dirigé tout au long de ces années. Merci pour votre patience, votre gentillesse, enthousiasme et votre confiance. Soyez assuré de tout mon respect.*

*J'adresse mes remerciements aux rapporteurs de ma thèse*

*M. Patrice MORAND, Mme. Caroline Besson. Recevez Madame, Monsieur, mes plus sincères remerciements pour m'avoir fait l'honneur de prendre connaissance de ce travail et d'en être rapporteur. Je tiens à vous exprimer ma plus profonde reconnaissance.*

*Je voudrais exprimer ma gratitude à l'ensemble des membres du personnel du service de*

*Bactériologie-Virologie de CHU de Limoges, en particulier Emilie Guérin et Rémi*

*Moulinas, qui m'ont aidé à réaliser le séquençage à haut débit.*

*Je tiens à remercier toute l'équipe des services Microbiologie de la faculté de Médecine et de*

*la faculté de Pharmacie de Limoges, un grand merci à : Madame le Professeur Marie-*

*Laure DARDE, Madame le Docteur Jeanne COOK-MOREAU, Monsieur le Docteur*

Bertrand COURTIOUX, Madame le Docteur Sylvie DELEBASSE, Mme Roselyne  
MOUZET, Mme Martine GATET.

Bien sûr, atteindre ces objectifs n'aurait pas été possible sans l'aide des personnes qui m'ont  
côtoyé et m'ont soutenu dans la réalisation de ce travail. Merci à : Rabih Barake, Rima,  
Mona, Hazar, Nivine, Mustapha, Ahmad, Oussama pour leur disponibilité morale et pour  
leur amitié.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée pour deux amis les plus chers  
Bilal AL JAAM et Bassel ISMAIL, merci pour m'avoir aidé et encouragé, et pour m'avoir  
changé les idées quand j'en avais besoin.

*A NOUR. Merci pour ton amour, pour ton soutien, tes aides durant la thèse avec ses  
moments difficiles, ses hauts et ses bas, pour ta présence auprès de moi.*

Il me sera très difficile de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses  
personnes que j'ai pu mener cette thèse à son terme.

*Enfin, arrivé à ce niveau d'étude revient à mes très chers parents et ma sœur  
qui m'ont toujours aidé et soutenu de près et de loin...*

*Je t'aime Papa, Maman, Alaa et la petite Léa.*

LISTE DES ABREVIATIONS .....	7
<b>I. INTRODUCTION.....</b>	<b>15</b>
<b>A. LE VIRUS D'EPSTEIN-BARR OU EBV.....</b>	<b>15</b>
<i>A.1 La découverte de l'EBV</i> .....	15
<i>A.2 Epidémiologie</i> .....	16
<i>A.2.1 Répartition géographique</i> .....	16
<i>A.2.2 Age de la primo-infection</i> .....	17
<i>A.2.3 Différence de sexe</i> .....	18
<i>A.2.4 Transmission</i> .....	18
<i>A.3 Taxonomie</i> .....	19
<i>A.4 Structure du virion</i> .....	20
<i>A.5 Génome</i> .....	21
<i>A.6 L'infection par l'EBV</i> .....	23
<i>A.7 L'infection latente</i> .....	23
<i>A.7.1 Expression des gènes de latence</i> .....	23
<i>A.7.2 Les différentes latences virales</i> .....	25
<i>A.7.3 Les gènes de la phase de latence</i> .....	28
<i>A.7.4 Les ARN non-codants</i> .....	35
<i>A.7.5 Les micro-ARN d'EBV</i> .....	37
<i>A.8.1. Les gènes du cycle lytique</i> .....	38
<i>A.9 Physiopathologie de l'infection par le virus d'Epstein-Barr</i> .....	41
<i>A.9.1 L'infection cellulaire</i> .....	41
<i>A.10 Pathologie associée à l'infection in vivo par l'EBV</i> .....	47
<i>A.10.1 La primo-infection et la mononucléose infectieuse</i> .....	47
<i>A.10.2 Pathologies survenant chez l'immunodéprimé</i> .....	50
<i>A.11 Pathologies de l'hôte immunocompétent</i> .....	52
<i>A.11.1 Lymphome de Hodgkin (LH)</i> .....	52
<i>A.11.2 Le lymphome de Burkitt (BL)</i> .....	54
<i>A.11.3 Carcinome du nasopharynx (NPC)</i> .....	55
<i>A.12 Diagnostic</i> .....	56
<i>A.12.1 Test sérologique : détection des anticorps</i> .....	56
<i>A.12.2 Les méthodes de biologie moléculaire</i> .....	57
<i>A.13 Traitement</i> .....	58
<b>B. LA PROTEINE LMP1 .....</b>	<b>61</b>
<i>B.1 Le gène BNLFI</i> .....	61
<i>B.1.1 Structure génétique</i> .....	61
<i>B.1.2 Régulation de l'expression de LMP1</i> .....	62
<i>B.2. Structure</i> .....	65
<i>B.2.1 Le domaine amino-terminal</i> .....	66
<i>B.2.2 Les 6 domaines transmembranaires</i> .....	67
<i>B.2.3 Le domaine carboxy-terminal</i> .....	67
<i>B.2.4 Forme lytique de la protéine LMP1</i> .....	68
<i>B.4 Propriétés fonctionnelles de la protéine</i> .....	73
<i>B.4.1 LMP1 induit des altérations phénotypiques</i> .....	73
<i>B.4.2 LMP1 régule l'expression et la production de cytokines</i> .....	73
<i>B.4.3 LMP1 contribue au pouvoir métastatique des cellules infectées</i> .....	73
<i>B.4.4 Expression de LMP1 et fonction des lymphocytes T et NK</i> .....	74
<i>B.5 LMP1 et apoptose</i> .....	75
<b>C. LES CELLULES NK (NATURAL KILLER).....</b>	<b>75</b>

<i>C.1 Définition</i> .....	75
<i>C.2 Origine et développement des cellules NK</i> .....	77
<i>C.3 Régulation des cellules NK par les cytokines</i> .....	79
<i>C.4 Mode d'action des cellules NK</i> .....	81
<i>C.4.1 La voie des Perforine / granzymes / granulysine</i> .....	81
<i>C.4.2 L'activation de la voie des caspases cellulaires</i> .....	82
<i>C.4.3 Voie mitochondriale</i> .....	82
<i>C.4.4 La voie indépendante des caspases</i> .....	82
<i>C.4.5 Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps</i> .....	83
<i>C.4.6 L'induction de la cytotoxicité et les fonctions effectrices par les cytokines</i> .....	83
<i>C.5 Rôle des cellules NK dans le contrôle de l'EBV</i> .....	84
<b>D. LE LYMPHOME NK/T EXTRA-GANGLIONNAIRE, TYPE NASAL</b> .....	<b>85</b>
<i>D.1 Historique</i> .....	85
<i>D.2 Epidémiologie</i> .....	86
<i>D.3 Phénotype et génotype</i> .....	87
<i>D.5 L'Association avec l'EBV</i> .....	88
<i>D.6 L'expression des gènes viraux dans le NKTL</i> .....	89
<i>D.7 Caractéristiques cliniques</i> .....	90
<i>D. 8 Le traitement des lymphomes nasaux</i> .....	90
<b>ARTICLE 1</b> .....	<b>92</b>
INTRODUCTION A L'ARTICLE .....	92
MATERIEL ET METHODES .....	96
DISCUSSION .....	128
<b>SUITE DE TRAVAIL</b> .....	<b>133</b>
A. INTRODUCTION .....	134
B. MATERIELS ET METHODES .....	142
C. RESULTATS : .....	144
<b>PERSPECTIVES</b> .....	<b>153</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>156</b>
<b>LISTES DES TABLEAUX</b> .....	<b>158</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>159</b>

## Liste des abréviations

Aa : acide aminé

AAV : adenovirus associated virus

ABI : applied biosystems inc

ADN : acide désoxyribonucléique

AML1 : acute myeloid leukemia 1

AP-2 : activating protein 2

Apaf-1 : facteur d'activation de la protéase apoptotique

INF : interféron

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ATF : activating transcription factor

BART : BamHI A rightward transcripts

BCR : récepteur des lymphocytes B

BDCRB : 2-bromo-5 ,6-dichloro-1-bD-ribofuranosylbenzimidazole

BET : bromure d'éthidium

BM : bone marrow

BR-HLH : basic region-helix loop helix

CAD : deoxyribonuclease caspase-activated

CC : carcinome indifférencié du cavum

CCC : covalently closed circle

CD : cellules dendritiques

cDNA : complementary deoxyribonucleic acid

CDV : cidofovir

CG : centre germinatif

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : cellules présentatrices d'antigène

CR1 et CR2 : conserved region 1 et 2

CRE : cyclic AMP response element

CTAR-1 (2) : C-terminal activating region 1(2)

Cterm : carboxyl-terminal

CTL : cytotoxic T lymphocytes

ddNTP : didéoxynucléotides

del : délétion

DFP : diisopropylfluorophosphate

DIM : domaine d'homodimérisation

dNTP : déoxynucleotide triphosphate

E : early

EA : early antigen

EBER : Epstein-Barr encoded small RNA

EBNA : Epstein-Barr nuclear antigen

EBV : Epstein-Barr virus

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

EMSA : electromobility shift assay

ENKTL : extranodal natural killer/T-cell lymphoma

ERK : extracellular Regulated Kinase

GAR : glycine-alanine repeat

Gb : Giga base

GCV : ganciclovir

GFP : green fluorescent protein

GM-CSF : granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

HCL : chlorure d'hydrogène

HCMV : human cytomegalovirus

HDAC : histone déacétylase

HHV4 : virus herpès humain de type 4

HHV-8 : virus herpès humain de type 8

HiFi : high fidelity

HIS : hybridation *in situ*

HPV : Papillomavirus humain

HSCT : haematopoietic stem-cell transplantation

HSV : herpes simplex virus

HTLV : Human T-cell leukemia virus

IE : immediate early

IF : immunofluorescence indirecte

IGF-1 : insuline-like growth factor 1

IκB : inhibitor kappa nuclear factor-kappa B

IKK : IκB kinase

IL : interleukine

IPI : index pronostique traditionnel

IPTG : isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside

IR : internal repeats

ISRE : interferon stimulated response element

ITAM : immunoreceptor tyrosine based activation motifs



JAK : janus kinase

JEV : virus de l'encéphalite japonaise

JNK : c-Jun amino-terminal kinase

KDa : kilodalton

KSHV : herpèsvirus du sarcome de Kaposi

L : late

LANA : latency-associated nuclear antigen

LB : lymphome de Burkitt

LCL : lignées lymphoblastoïdes

LCV : lymphocryptovirus

LHc : lymphome de Hodgkin classique

LMP1 : latent membrane protein 1

LMP : protéines latentes membranaires

LTR : long terminal repeat

MDM2 : mouse double minute 2 homolog

MHV68 : herpèsvirus 68 de souris

miRNA : micro ARN

MMLV : moloney murine leukemia virus

MMP : matrix metallo proteases

MNI : mononucléose infectieuse

MSCV : murine embryonic stem cell virus

NaCl : chlorure de sodium

NFκB : nuclear factor kappa nuclear factor-kappa B

NIK : NFκB inducing kinase

NK : natural killer

NKTL : natural killer/T-cell lymphoma

NLS : nuclear localization signal

NPC : carcinome du naso-pharynx

Nt : nucleotide

Nterm : amino-terminale

OMS : organisation mondiale de la santé

ORF : open reading frame

Ori-Lyt : origine de réplication lytique

Ori-P : origine de réplication plasmidique

pb : paires de bases

PBS : phosphate buffered saline

PCR : Polymerase Chain Reaction

PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase

PK : protein Kinase

PRO : proline

PTLD : post-transplant lymphoproliferative disease

RBP-Jk : domaine d'interaction avec RBP-Jkappa

REAL : classification européenne et américaine révisée des lymphomes

RECK1 : reversion inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs 1

RIG-I : rétinoïque acidoinducible I

RIP : receptor-interacting protein

RISC : RNA induced silencing complex

RMP : récepteur mannose 6-phosphate

RPKM : Reads per kilo base per million

RS : Reed Sternberg

RT-PCR : reverse transcription - Polymerase Chain Reaction

SCID : severe combined immunodeficiency

SDS : dodécylsulfate de sodium

SFFV : spleen focus forming virus

shRNA : small hairpin RNA

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

siRNA : petits ARN interférents

SLAM : signaling lymphocyte activation molecule

SLPT : syndrome lymphoprolifératif post-transplantation

SNC : système nerveux central

SOT : transplantation d'organes solides

STAT : signalling transducer and activator of transcription

TAD : domaine de transactivation

TAP1 : transporter associated with Antigen Processing 1 and 2

TCR : T cell receptor

TCRB : benzimidazole D-ribonucléosides 2,5,6-trichloro-1-bD-ribofur anosylbenzimidazole

TES2 : transformation effector site 2

TGS : transcriptional gene silencing

TK : thymidine kinase

TLS : tissus lymphoïdes secondaires

TM : transmembrane

TNF : tumour necrosis factor

TNFR : récepteur de facteur de nécrose tumorale

TP1 : protéine terminale 1

TR : répétitions terminales

TRADD : TNF receptor associated death domain containing protein

TRAF2 : TNF receptor-associated factor 2

Tris : trishydroxyméthylaminométhane

TR-L1 : terminal repeat located LMP-1 promoter

Tween : polyoxyéthylènesorbitan monolaurate

UL: unique long

uPA : urokinase-type Plasminogen Activator

US : unique court

UV : ultra-violets

VCA : viral capsid antigen

VHB : virus de l'hépatite B

VHC : virus de l'hépatite C

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

vIL-10 : viral IL-10

VRS : virus respiratoire syncytial

VSV-G : vesicular Stomatitis Virus

VZV : varicella Zoster Virus

WB : western Blot

WHO : world health organization

Wp : promoteur W

wt : wild type



# I. INTRODUCTION

## A. Le virus d'Epstein-Barr ou EBV

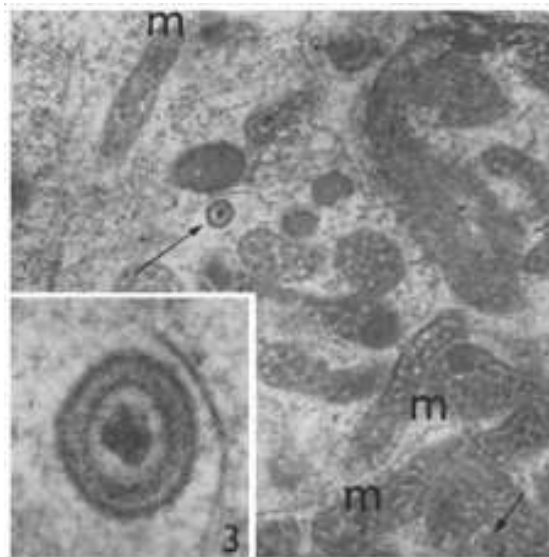
### A.1 La découverte de l'EBV

En 1957, à l'hôpital Mulago, à Kampala, en Ouganda, un chirurgien britannique nommé Denis Burkitt a été intrigué par la présentation clinique inhabituelle de tumeurs de mâchoire chez les enfants, souvent associées à des tumeurs intra-abdominales (Burkitt, 1958).

La prévalence élevée des tumeurs extra-ganglionnaires dans les zones de paludisme holoendémique a été à l'origine de son hypothèse initiale, selon laquelle la maladie pouvait être due à un agent infectieux transmis par les moustiques (Burkitt, 1962a; Burkitt, 1962b).

Une collaboration ultérieure entre Denis Burkitt et Anthony Epstein a conduit à l'élaboration d'une lignée cellulaire lymphoïde cultivée en suspension *in vitro*. Elle a été établie à partir d'un tissu frais désagrégé d'une biopsie de lymphome de Burkitt (et par la suite nommée EB1).

Un culot de lignée EB1 a été examiné par microscopie électronique par le Dr Anthony Epstein ; cette inspection a révélé que ces cellules contenaient des inclusions rondes qu'Epstein a reconnues immédiatement comme étant des particules virales (Epstein and Barr, 1964). Ces lymphoblastes possèdent une forte capacité de prolifération en culture cellulaire. L'étude des particules virales présentes dans ces cellules a permis d'identifier un nouveau membre de la famille des herpes-virus, nommé virus d'Epstein-Barr (EBV) (Epstein and Barr, 1965). L'EBV est le premier exemple d'une pathologie virale à l'origine d'un cancer humain.



**Figure 1** : Particules d'EBV visualisées en microscopie électronique dans des coupes de lignées lymphoblastoïdes (Epstein and Barr, 1965). Des particules matures délimitées par deux membranes renfermant un nucléoïde dense sont visibles (désignées par la flèche longue) ainsi que des particules immatures entourées d'une seule membrane (désignées par la flèche courte). « m » désigne les mitochondries. Dans l'insert on voit une particule virale mature mesurant environ 115 nm de diamètre.

## A.2 Epidémiologie

### A.2.1 Répartition géographique

L'EBV est présent dans plus de 95% de la population adulte à travers le monde. On distingue deux types de virus d'Epstein-Barr : le type 1 ou A et le type 2 ou B. Ces deux types de virus diffèrent dans l'organisation des gènes codants pour les protéines de latence (EBNA2, -3A, -3B et -3C) et dans leur localisation géographique. De plus, l'EBV-2 transforme les cellules B avec un rendement plus faible que l'EBV-1. Ce dernier est présent en Europe, en Amérique et en Asie et il est présent dans 85% des cas de carcinomes du nasopharynx. L'EBV-2 est présent en Afrique, plus particulièrement en Afrique équatoriale comme la Nouvelle Guinée où il est retrouvé dans plus de 90% des lymphomes de Burkitt (Young et al., 1987). Le tableau 1 décrit la répartition géographique des types d'EBV-1 et -2 dans diverses pathologies et chez des sujets sains.

Country	Patients	N	Type 1 (%)	Type 2 (%)	Both types (%)
China (Hu <i>et al.</i> , 1991)	Nasopharyngeal carcinoma	37	86	14	0
Taiwan (Shu <i>et al.</i> , 1992)	Nasopharyngeal carcinoma	53	94	4	2
Korea (Kim <i>et al.</i> , 2002)	Healthy	26	81	15	4
Japan (Kunimoto <i>et al.</i> , 1992)	Healthy	21	95	5	0
USA (Frank <i>et al.</i> , 1995)	Post-transplant lymphoproliferative disease	24	100	0	0
USA (Goldschmidts <i>et al.</i> , 1992)	HIV-positive	22	55	45	0
Alaska (Abdel-Hamid <i>et al.</i> , 1992)	Nasopharyngeal carcinoma	3	0	100	0
Argentina (Correa <i>et al.</i> , 2004)	Healthy	183	78	15	7
Brasil (Klumb <i>et al.</i> , 2004)	Burkitt's lymphoma	21	86	14	0
Central Africa (Goldschmidts <i>et al.</i> , 1992)	Burkitt's lymphoma	16	50	50	0
Papua New Guinea (Aitken <i>et al.</i> , 1994)	Burkitt's lymphoma	56	42	53	5
Western Europe (Sandvej <i>et al.</i> , 1994)	Hodgkin's disease	55	93	5	1
Australia (Kyaw <i>et al.</i> , 1992)	HIV-positive	56	27	30	43
Australia (Kyaw <i>et al.</i> , 1992)	Cardiac transplants	18	39	33	28

**Tableau I :** Répartition des types EBV-1 et -2 dans diverses pathologies et chez des sujets sains (Human Herpes viruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E *et al.*, editors. Cambridge: Cambridge University Press; 2007).

Dans la plupart des zones d'étude le type 2 est rare, il est trouvé seulement chez les sujets immunodéprimés (personnes HIV séropositives ou greffées). La détection accrue chez les individus immunodéficients a été expliquée par une exposition assez longue au virus accompagnée par une déficience immunitaire spécifique dirigée contre l'EBV. Ceci conduit à la transmission de plusieurs génotypes d'EBV (Gratama and Ernberg, 1995). Pour d'autres auteurs, la fréquence du génotype 2 chez les hémophiles HIV séropositifs est comparable à la fréquence chez les individus sains, ce qui suggère que l'immunodéficience n'est pas responsable de l'augmentation de la détection du type 2 (Yao *et al.*, 1998).

### A.2.2 Age de la primo-infection

L'âge de la primo-infection varie substantiellement dans le monde entier, et l'exposition à l'EBV est susceptible d'être due à des facteurs socio-économiques (Evans, 1971) tels que le surpeuplement ou l'hygiène (de-The *et al.*, 1975). Par exemple, alors que plus de 80% des enfants en Ouganda sont estimés séropositifs pour l'EBV à l'âge d'un an (Kafuko *et al.*, 1972), cette estimation n'est que d'environ 45% aux États-Unis d'Amérique rurale (Hsu and Glaser, 2000; Sumaya *et al.*, 1975). Alors que la primo-infection par l'EBV au cours de la petite enfance est généralement subclinique, la primo-infection par l'EBV survenant à un âge avancé de l'enfance ou dans l'adolescence peut se manifester par la mononucléose infectieuse, survenant chez environ 25-75% de cette catégorie de personnes (Evans, 1971; Hsu and



Glaser, 2000; Sawyer et al., 1971). Ceci se produit habituellement dans les pays les plus développés (Rickinson et al., 1996).

### **A.2.3 Différence de sexe**

Il n'y a aucune différence constante sur la séroprévalence de l'EBV selon le sexe chez les enfants (Golubjatnikov et al., 1973; Lang et al., 1977). Dans les pays développés, cette similitude se poursuit en début de l'adolescence, une séroprévalence plus élevée et une apparition plus tôt de la mononucléose infectieuse (MNI) chez les filles indiquent une exposition antérieure au virus (Crawford et al., 2002).

En règle générale, les titres d'anticorps semblent être plus élevés chez les femmes que chez les hommes (Wagner et al., 1994). Cette différence, qui a également été observée pour d'autres virus, confirme l'idée que contrairement aux hommes, les femmes ont une importante capacité à activer une réponse immunitaire à médiation cellulaire et à produire des anticorps suite à une infection ou une vaccination (Beagley and Gockel, 2003).

### **A.2.4 Transmission**

Le plus souvent, la transmission de l'EBV s'effectue par les sécrétions oropharyngées. Dans le cas des adolescents et des adultes qui présentent une mononucléose infectieuse (MNI), les baisers intimes ont été la principale voie de transmission qui s'est effectuée par la salive. Ainsi, les doigts ou un jouet imprégnés de salive sont considérés comme la principale voie de transmission chez les petits enfants. Cinquante ans après la découverte de l'EBV nous avons encore besoin de données pour mieux expliquer les déterminants exacts de l'infection. Parmi les adultes EBV séronégatifs, un contact étroit avec des cas de MNI, ou des séjours avec des personnes séropositives dans un espace restreint (Storrie and Sphar, 1976) peuvent conduire à des cas de séroconversion. En revanche, l'infection par l'EBV a souvent lieu chez les petits enfants de faible statut socioéconomique, dans les crèches (Chang et al., 1981) ou en partageant une chambre (Crawford et al., 2002).

L'excrétion de l'EBV dans la salive est trouvée chez 22% à 90% des personnes séropositives (Apolloni and Sculley, 1994; Ikuta et al., 2000; Ling et al., 2003). Ces auteurs ont été incapables de détecter une corrélation entre la fréquence de l'excrétion virale ou la charge virale dans la salive et la présence de l'EBV dans les cellules mononuclées périphériques du

sang (Ling et al., 2003), ce qui suggère que les facteurs responsables de la réactivation de l'EBV dans l'oropharynx sont différents de ceux qui régissent la charge virale dans le sang.

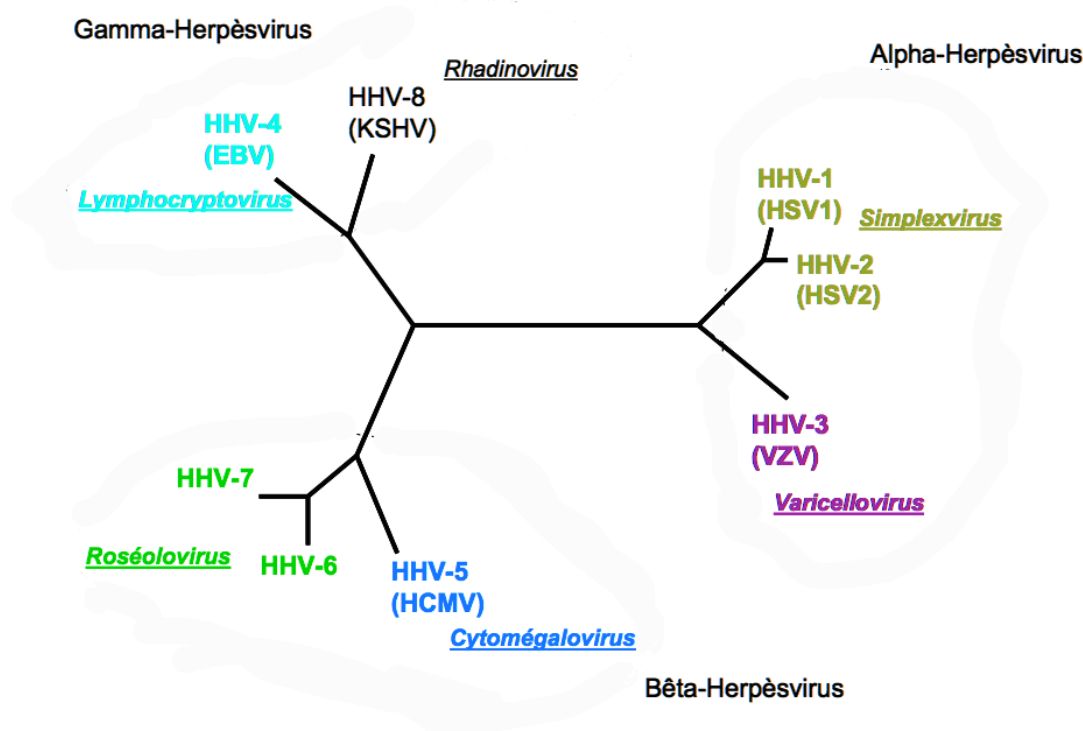
L'EBV a été détecté dans les sécrétions cervicales chez 8 à 28% des filles adolescentes et des femmes adultes, et aussi dans des échantillons de sperme (Enbom et al., 2001; Kurzen et al., 2003), mais la transmission sexuelle reste limitée. Une étude plus récente a montré que l'EBV de type 2 était beaucoup plus répandu chez les hommes homosexuels que chez les hommes hétérosexuels et qu'il est en corrélation avec le nombre de partenaires sexuels. Cependant, dans ces études, le mode exact de transmission reste inconnu car il est difficile de faire la distinction entre la transmission génitale, les contacts oro-génitaux et les baisers.

La transmission transplacentaire et la transmission par le lait maternel ont été rapportées dans de rares circonstances, et elles sont considérées comme des modes de transmission non-significatifs (Meyohas et al., 1996). L'EBV peut être transmis soit par transfusion sanguine ou suite à une transplantation d'organes (Scheenstra et al., 2004). Une unité de transfusion de globules rouges contient en moyenne deux génomes d'EBV, contrairement à une unité de sang total qui abriterait en moyenne 600 à 700 génomes d'EBV (Wagner et al., 1995). La transmission par transplantation d'organes représente un facteur de risque majeur de développement de maladie lymphoproliférative (Scheenstra et al., 2004).

### **A.3 Taxonomie**

L'EBV, virus herpès humain de type 4 (HHV4), est l'un des huit herpèsvirus humains connus, et appartient à la famille des *Herpesviridae*, sous-famille des  *$\gamma$ -herpesvirinae*, genre *Lymphocryptovirus*. C'est un agent infectieux génétiquement stable avec un grand génome d'ADN double brin, qui a évolué au cours de millions d'années afin de co-exister avec nos espèces et antécédents. La famille des *Herpesviridae* (Figure 2) est divisée en sous-familles alpha ( $\alpha$ ), bêta ( $\beta$ ) et gamma ( $\gamma$ ) notamment sur la base de l'homologie des génomes et des sites de latence. Les  *$\gamma$ -herpèsvirinae* sont divisés  $\gamma$ -1 et -2. L'herpèsvirus du sarcome de Kaposi (KSHV) et l'herpèsvirus 68 de souris (MHV68), sont des virus  $\gamma$ -2 classiques (ou *Rhadinovirus*), qui peuvent établir la latence dans les cellules B, mais ils n'ont pas la capacité autonome de stimuler la croissance des cellules B (Bilello et al., 2006). Par contre, les virus  $\gamma$ -1 (ou *Lymphocryptovirus*, LCV), constituent un genre plus récemment évolué dont les membres, qui peuvent activer indépendamment la transformation de la croissance des cellules B (Henle et al., 1968), ne se trouvent que chez les primates. L'EBV est considéré comme le prototype de ces virus. Il est trouvé exclusivement chez l'homme. Chaque espèce de primate

est infectée par un LCV très proche de l'EBV par la structure du génome et par l'organisation des gènes (Evans et al., 1968).

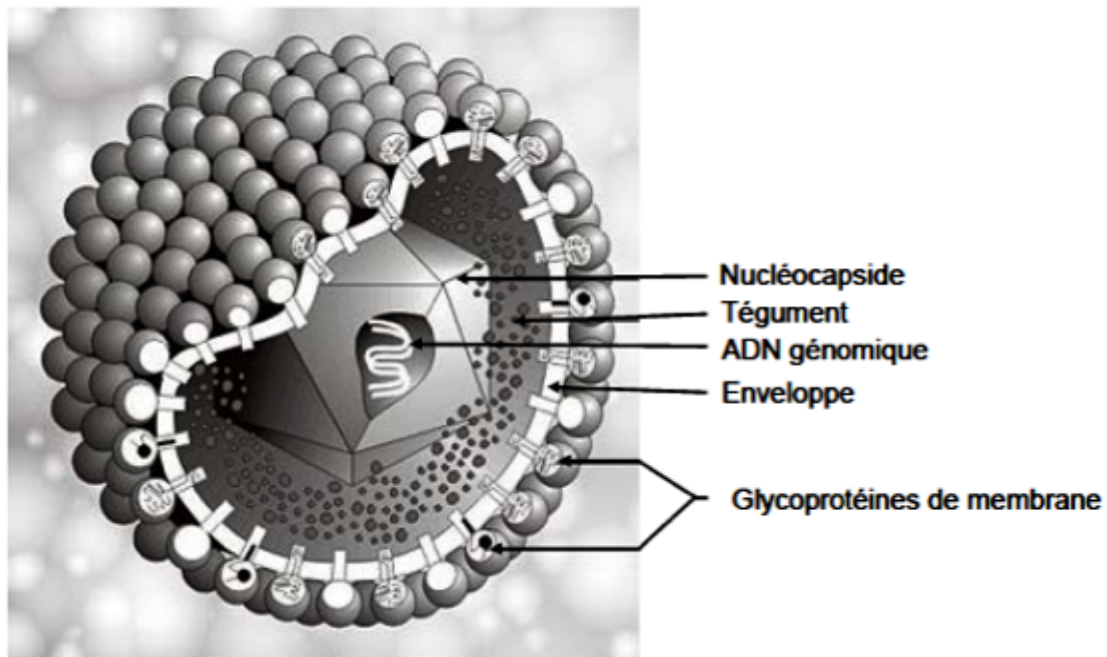


**Figure 2 :** Arbre phylogénique des herpesvirus humains (Longnecker et al., 1987).

#### A.4 Structure du virion

L'EBV possède une structure similaire aux différents membres de la famille des *Herpesviridae* (figure 3). Dans le virion, l'ADN génomique de l'EBV est un ADN double brin, linéaire, d'environ 184kb, enroulé autour de protéines basiques, l'ensemble formant le nucléoïde ou le core. Cette structure majeure est entourée d'une nucléocapside icosaédrique (20 faces et 12 sommets) de 162 capsomères (150 hexamères et 12 pentamères) d'environ 125 nm de diamètre. Le tégment est un matériel globuleux composé de protéines virales et cellulaires, réparti entre la nucléocapside et l'enveloppe (Johannsen et al., 2004). Les particules virales comportent également une enveloppe lipidique dérivée des membranes de la cellule infectée. Cette enveloppe contient aussi des glycoprotéines virales, les gp350/220 qui servent à l'attachement du virion à la surface de la cellule-hôte par interaction avec le récepteur de la fraction CR2 du complément (Fingerroth et al., 1984; Szakonyi et al., 2006; Tanner et al., 1988). D'autres glycoprotéines virales, gp42/38, gp85 (gH) et gp25 (gL) se fixent aux molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe II, elles ont

un rôle de co-récepteurs, menant à l'internalisation du virus (Molesworth et al., 2000; Mullen et al., 2002).

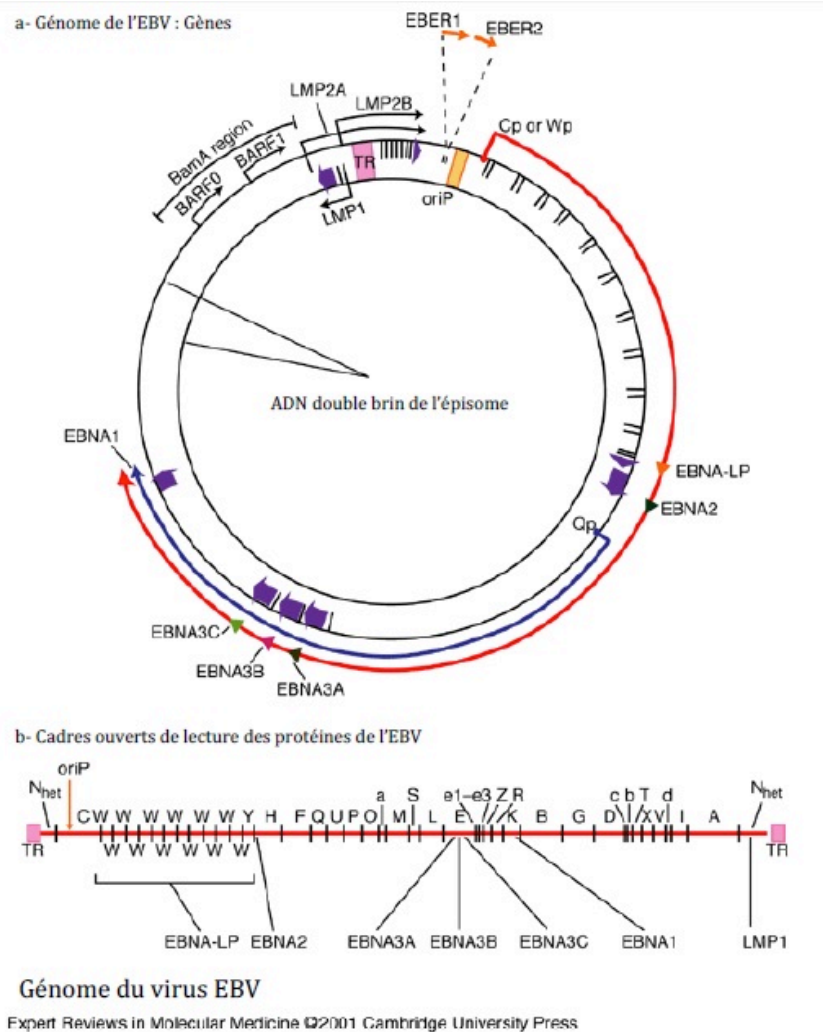


**Figure 3** : Structure du virion de l'EBV. Schéma adapté du site <http://web.njit.edu/~pkb3/>

## A.5 Génome

Le génome de l'EBV comprend un ADN double brin linéaire d'environ 184kb de long (Baer et al., 1984; Raab-Traub et al., 1980), enroulé autour d'une protéine sous forme de core toroïdale (Epstein et al., 1965). Le génome est divisé en 2 domaines uniques, un long (UL) et un court (US), séparés par des séquences répétées ; l'UL est divisé en sous-domaines. La souche B95.8 constitue le premier virus prototype qui a été entièrement cloné et séquencé (Baer et al., 1984). Le génome peut présenter de manière rare une délétion de 11.8kb (Raab-Traub et al., 1980).

Durant l'infection cellulaire, le génome de l'EBV a tendance à se circulariser en utilisant ses séquences terminales (figure 4A). Ensuite, l'ADN viral forme un épisode (CCC) (*Covalently Closed Circle*) (Adams and Lindahl, 1975) et se lie à la chromatine cellulaire. L'EBV se maintient ainsi dans la cellule-hôte sans s'intégrer à son génome. L'ADN viral peut se répliquer à partir de deux origines de réplication (figure 4B) : une origine de réplication latente (OriP), qui permet le maintien du virus sous la forme épisomique et deux origines de réplication lytique (OriLyt), qui sont actives pendant la phase productive.



**Figure 4 :** Le génome du virus EBV, modifié d'après une revue expert de médecine médicale 2001, Cambridge University. L'emplacement et la transcription des gènes de latence de l'EBV sur l'épisode de l'ADN viral double brin. L'origine de répllication du plasmide (oriP) est indiquée en orange. Les grands blocs solides (en violet) représentent les exons codants pour chacune des protéines latentes. Les flèches indiquent le sens de la transcription. Les protéines latentes comprennent les six antigènes nucléaires (EBNA1, -2, -3A, -3B et -3C, EBNA-LP) et les trois protéines latentes de membrane (LMP1, -2A, -2B). EBNA-LP est transcrite à partir d'un nombre variable d'exons répétitifs. Les gènes codants pour LMP2A et LMP2B sont composés de plusieurs exons situés de chaque côté de la répétition terminale (TR) de la région. Les flèches orange en haut représentent les ARN non-polyadénylés très transcrits EBER1 et EBER2. La ligne extérieure longue indiquée par une flèche rouge représente la forme transcriptionnelle de l'EBV au cours de la latence appelée latence III. La flèche courte qui est intérieure à la ligne bleue représente la transcription EBNA1 provenant du promoteur Qp pendant les latences I ou II. La partie B du schéma montre l'emplacement des cadres ouverts de lecture pour les protéines latentes de l'EBV (génome du prototype B95.8) sur une carte de restriction d'endonucléase BamHI. Les fragments générés par BamHI sont nommés en fonction de leur taille, A étant le plus grand. Les lettres minuscules indiquent les plus petits fragments. A noter que les protéines LMP2 sont produites à partir d'ARNm épissés de TR dans le génome de l'EBV circularisé.

Tous les isolats sont très homologues et partagent une organisation commune du génome (Nonoyama and Pagano, 1973). Cependant, il y a 2 principaux types d'EBV, appelés type 1 et type 2, qui peuvent être subdivisés en différentes souches d'EBV (Sixbey et al., 1989). Les séquences diffèrent principalement entre les types 1 et 2 du virus, sont situées sur les gènes codant pour les antigènes nucléaires d'Epstein-Barr (EBNA-2, -3A, -3B et -3C). Les souches d'EBV d'un type désigné peuvent être distinguées sur la base de changements de simples nucléotides, répétitions de séquences et, notamment, la présence ou l'absence d'une région de 30pb au sein de la protéine latente de membrane 1 (LMP1) (Khanim et al., 1996).

Bien qu'il ait été proposé que certains polymorphismes sur des gènes de l'EBV soient spécifiquement associés à certains cancers et confèrent un phénotype plus agressif, cela n'a pas été confirmé ; aucune preuve définitive ne montre qu'une souche donnée est plus «tumorigène» que l'autre. Au contraire, il semble que la majorité des polymorphismes du génome de l'EBV chez les porteurs sains du virus se trouvent à une fréquence similaire dans les tumeurs EBV<sup>+</sup> de la même région géographique (Khanim et al., 1996).

## **A.6 L'infection par l'EBV**

Comme pour tous les membres de la famille des *Herpesviridae*, deux types d'infection sont décrits : une infection latente et une infection lytique. L'**infection latente** permet le maintien du génome viral sous forme d'épisome à l'intérieur des noyaux des cellules infectées, favorisant ainsi leur prolifération et la persistance de l'EBV. L'**infection lytique** déclenche la production et la libération de nouvelles particules virales, pouvant infecter les cellules voisines.

## **A.7 L'infection latente**

### **A.7.1 Expression des gènes de latence**

L'EBV infecte et immortalise les lymphocytes B *in vitro*. Des lignées cellulaires lymphoblastoïdes ou LCL (*Lymphoblastoid Cell Lines*) sont donc obtenues. Deux phénomènes sont essentiels pendant la période de latence : le maintien du génome viral sous forme épisomique dans les noyaux cellulaires et la répression du cycle lytique. De fait, ces LCL sont très peu permissives à la réplication virale. Lors de l'infection latente, seuls quelques gènes viraux, appelés gènes de latence, sont exprimés pour donner les protéines EBNA (*Epstein-Barr Nuclear Antigen*), les protéines LMP (*Latent Membrane Protein*), les ARN EBER (*EBV-Encoded small nonpolyadenylated RNAs*) et BART (*BamHI A Rightward*

*Transcripts*). L'expression de ces gènes de latence confère à l'EBV ses propriétés d'immortalisation.

Suite à une infection *in vitro* des lymphocytes B primaires et après 12 à 16 heures, les génomes viraux circularisés apparaissent dans le noyau. À peu près au même moment, le promoteur W (Wp), active la transcription (Alfieri et al., 1991; Moss et al., 1981). L'existence de sites de liaison spécifiques d'activateurs (BSAP, ou Pax5) des cellules B, situés en amont de Wp (Tierney et al., 2000; Tierney et al., 2007) explique la spécificité des lymphocytes B à ce promoteur. Wp favorise la transcription de l'ARN viral initial, qui est épissé de manière différentielle pour générer des ARNm codants pour EBNA-LP et les protéines EBNA2. La transcription est effectuée par l'ARN polymérase II de la cellule hôte.

Après 24 à 36 heures d'infection des lymphocytes B, les niveaux de l'expression des protéines EBNA-LP et EBNA2 sont approximativement équivalents à ceux observés dans des LCL établies (Alfieri et al., 1991). Ces protéines latentes débutent à coopérer pour initier la transcription à partir du promoteur C de BamHI (Cp) (Bodescot et al., 1987; Jin and Speck, 1992). L'exclusion mutuelle des activités de Wp et Cp est le résultat d'un remplacement dominant de Wp par Cp au niveau du promoteur de transcription des EBNA (Woisetschlaeger et al., 1989).

L'expression des transcrits EBNA restants résulte du passage de Wp à Cp (Speck and Strominger, 1985). Tous les ARNm d'EBNA ont des exons en commun sur le fragment génomique W de BamHI, mais l'épissage alternatif dans un des 4 sites accepteurs de remplacement détermine la traduction en EBNA3A, 3B, 3C ou EBNA1 (Rogers et al., 1990). L'expression de ces EBNA se produit à environ 24h après l'infection et atteint un plateau après 48-72h. Une boucle de rétroaction positive médiée par EBNA2, EBNA-LP et par EBNA1 (Johannsen et al., 1996), augmente l'activité du Cp.

Dans les lignées LCL, la transcription des ARN qui codent pour les LMP est activée par EBNA2. L'expression et la régulation des LMP1 et LMP2 sont abordées plus loin sous les rubriques individuelles des gènes latents. La transcription des EBER1 et EBER2 vient en dernier, et atteint des niveaux substantiels de l'expression en 3 jours après l'infection.

Cette transcription est médiée principalement par l'ARN polymérase III. Les EBER sont les ARN d'EBV les plus exprimés dans les LCL (King et al., 1980).

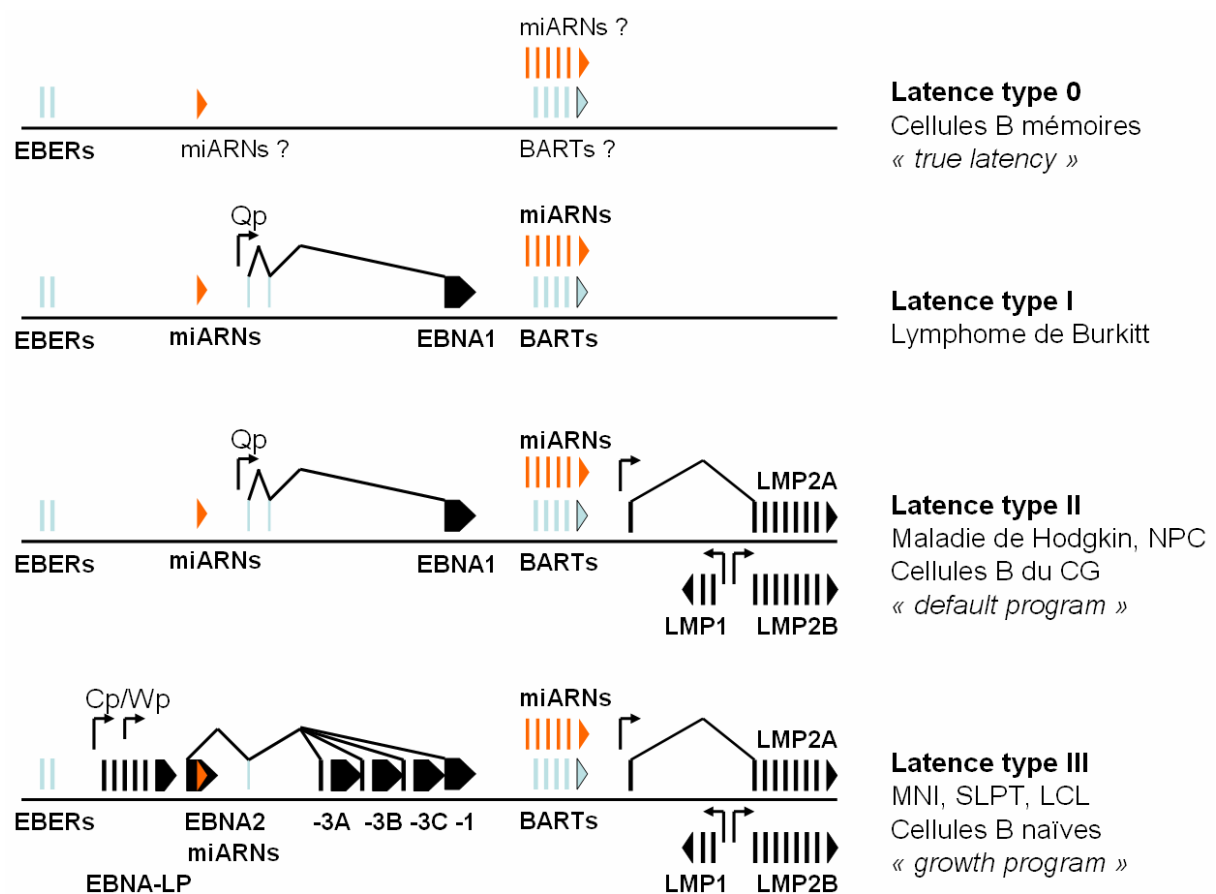
Plus récemment, un nombre relativement important de microARN d'EBV (miR) a été identifié (Cai et al., 2006; Pfeffer et al., 2004). Ces microARN sont codés par les deux

transcrits primaires: le transcrit BHRF1 qui contient le cadre de lecture ouvert (ORF) de BHRF1 ; le miR-BART, résultant d'un épissage alternatif des BART qui contiennent deux groupes de miR, désignés par groupe 1 et groupe 2, et un miRBART2 isolé à partir de l'extrémité 3 'de la BART.

#### **A.7.2 Les différentes latences virales**

Il existe différents types de latence virale selon le contexte de l'infection cellulaire et selon le jeu des gènes exprimés par l'EBV. Un tableau exact de l'expression des gènes de latence dans une tumeur peut généralement être établi en combinant une mise en évidence des protéines virales au niveau de la cellule et une RT-PCR quantitative pour analyser l'ensemble des transcrits latents exprimés. On distingue ainsi 4 types de latence : 0, I, II et III. Quel que soit le type de la latence, on observe l'expression des ARN EBER-1 et -2. Les ARN BART sont exprimés en partie dans les latences I, II et III. La nomenclature des phases de latences (I, II et III) a été établie à la suite des observations clés sur le modèle de l'expression des protéines EBNA et LMP dans le lymphome de Burkitt (BL) et les LCL (Rowe et al., 1992).





**Figure 5 :** Schéma représentant le profil de transcription des gènes viraux en fonction des différentes formes de latence (KieffEaRA. Epstein-Barr Virus and its replication. (ed 5th Edition): Lippincott-Williams & Wilkins; 2007). En bleu, sont représentés les ARN EBER et BART non codants. En orange, sont indiqués les miARN de l'EBV et en noir, les ARN codant les protéines de latence. Les principales maladies associées aux différents types de latence sont décrites. NPC, carcinome indifférencié du nasopharynx; CG, centre germinatif; MNI, mononucléose infectieuse; SLPT, syndrome lympho-prolifératif post-transplantation; LCL, lignée lymphoblastoïde.

### i. La latence de type I

La caractérisation de l'expression des gènes de latence dans les lignées cellulaires établies à partir des biopsies de BL a permis la mise en évidence de la latence de type I. EBNA1 est la seule protéine constamment exprimée dans les BL (Rowe et al., 1987) en plus des ARN non codants, EBER et BART (Brooks et al., 1993) et des miRNA (Cai et al., 2006). Ce modèle restreint est caractérisé par une activité du promoteur Q, qui règle la transcription de l'EBNA1, et qui assure le silence des promoteurs Cp, Wp, et du promoteur de LMP (Nonkwelo et al., 1996).

### ii. La latence de type II ou programme par défaut

Un modèle intermédiaire de l'expression des gènes de l'EBV a été initialement identifié dans le carcinome nasopharyngé (NPC) (Fahraeus et al., 1988; Gilligan et al., 1990),

et par la suite dans les carcinomes gastriques associés à l'EBV (Imai et al., 1994), les lymphomes de Hodgkin (LH) (Niedobitek et al., 1991) et certains lymphomes NK/T (NKTL) extra-nodaux (Chiang et al., 1996). Thorley-Lawson et al., ont montré que la réponse d'une cellule B normale à un antigène conduit à la production des cellules mémoires spécifiques de ce dernier dans la circulation périphérique durant la latence de type II assurant ainsi la fonctionnalité du centre germinale (CG). Ce qui suggère le rôle important du CG dans le développement des pathologies lymphoïdes associées à l'EBV (Thorley-Lawson, 2005).

Par ailleurs, la latence de type II est caractérisée par l'expression des protéines EBNA1 contrôlées par le promoteur Q, et comme dans le BL, l'expression d'EBNA1 est accompagnée par l'expression des EBER et des BART, mais on note en plus l'expression des LMP (LMP1, LMP2A et LMP2B). Les tumeurs dans lesquelles cette latence a été décrite proviennent des lignées cellulaires différentes dont les facteurs cellulaires régulant l'expression d'EBNA1, de LMP1 et de LMP2 ne sont pas encore définis. Il faut noter la présence d'une hétérogénéité dans les niveaux de l'expression des gènes viraux de latence pour chacun de ces cancers. Par exemple, l'expression de LMP2 dans les cellules malignes du cancer de l'estomac est à un niveau faible par rapport aux niveaux très élevés de l'expression des LMP1 et LMP2A dans les cellules de Reed-Sternberg du LH. En revanche, l'expression des protéines LMP2 dans le NKTL n'a pas été élucidée (Rickinson et al., 2007).

### **iii. La latence de type III ou programme de croissance**

On la trouve dans les LCL transformés *in vitro* et les lymphoproliférations survenant chez les immunodéprimés. Suite à l'infection des lymphocytes B primaires *in vitro*, la quasi-totalité du génome viral des cellules B positives expriment rapidement EBNA2 qui initie et anime le "programme de transformation virale", induisant ainsi l'expression des transcrits du cycle cellulaire qui permettent l'établissement des LCL, généralement dans les 48-72h (Shannon-Lowe et al., 2005).

Les cellules B infectées expriment 6 antigènes nucléaires EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C et EBNA-LP, et 3 LMP : LMP1, LMP2A et LMP2B (Rickinson et al., 2007). Des travaux récents ont déterminé un dixième antigène latent qui est exprimé à partir du promoteur Wp responsable de la production de la protéine BHRF1 (un homologue viral de la protéine Bcl-2) qui participe à la survie des cellules tumorales et qui est aussi associée à une infection de latence de type III (Kelly et al., 2009).

Le profil de l'expression génique virale vu dans la latence de type III au niveau des LCL est étroitement lié à un phénotype cellulaire caractérisé par la présence de marqueurs d'activation

et d'adhérence des lymphocytes B, généralement absents (ou faiblement exprimés) sur les cellules B au repos (Rowe et al., 1987).

Les latences I, II et III sont donc typiquement associées à des pathologies, mais en fait elles seraient des étapes franchies par le virus lors d'une infection asymptomatique. L'expression exclusive d'EBNA1, protéine virale essentielle pour la réplication et le maintien de l'épisome, observée dans le BL, était pendant longtemps considérée comme la forme la plus restreinte de latence. La persistance asymptomatique de l'EBV chez des sujets sains s'effectue essentiellement dans les lymphocytes B mémoires, cellules qui ne se divisent pas (Tierney et al., 1994), et la latence y est de type 0. Ce type de latence est un terme appliqué à des cellules où aucune expression antigénique virale n'est vue.

### **A.7.3 Les gènes de la phase de latence**

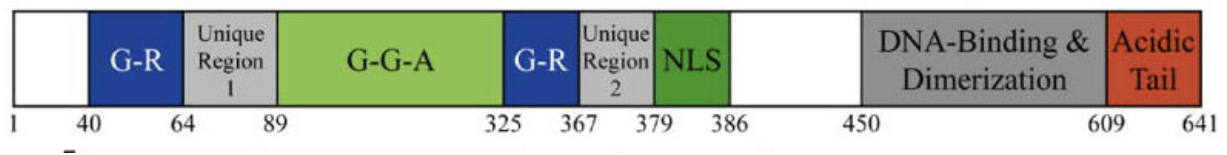
Les produits des gènes de latence sont les protéines EBNA, les protéines LMP et les ARN EBER et BART. Les protéines de latence dérèglent les fonctions cellulaires en détournant notamment la régulation transcriptionnelle et les différentes voies de signalisation cellulaires qui aboutissent à l'immortalisation de la cellule hôte.

Comme nous l'avons déjà mentionné, six protéines nucléaires EBNA sont décrites : EBNA1, -2, -3A, -3B, -3C et -LP. Toutes, sauf EBNA3B, sont essentielles à l'immortalisation des lymphocytes B infectés *in vitro*. Les trois protéines membranaires sont LMP1, LMP2A et LMP2B. LMP1 est la protéine la plus abondante durant la phase de latence, elle est nécessaire à l'immortalisation de la cellule infectée. Les ARN EBER sont des petits ARN non polyadénylés et non traduits, présents en grande quantité.

#### **A.7.3.1 Famille des EBNA**

##### **i. La protéine EBNA1**

Le gène codant la protéine EBNA1 est transcrite à partir du promoteur Wp puis à partir du promoteur Cp après circularisation du génome (Kieff E, Fields Virology 1996). La protéine est constituée de 641 aa (figure 6) (Morand et al., 1999), sa partie N terminale est de 89 aa, séparée du reste de la molécule par une région de résidus glycine et alanine répétés ou par une région GAR (*Glycine-Alanine Repeat*) de 239 aa (résidus 89 à 325).



**Figure 6 :** Structure de la protéine EBNA1. La protéine EBNA1 est constituée de deux domaines d'activation transcriptionnelle : LR1 constitué de GR et de l'Unique Region 1, en position 40 à 89, et LR2 constitué de GR et de l'Unique Region 2, en position 325 à 367, d'un domaine riche en résidus de glycine et d'alanine G-G-A, en position 89 à 325, d'une séquence de localisation nucléaire NLS, en position 379 à 386 et d'un domaine de fixation à l'ADN qui sert aussi à la dimérisation (DNA-Binding & Dimerization), en position 450 à 609 (Lindner and Sugden, 2007).

La protéine EBNA1 est exprimée dans toutes les cellules infectées par le virus, à l'exception des lymphocytes B mémoires lors de la phase de latence 0 (Babcock et al., 1999), et est donc retrouvée dans toutes les pathologies associées à l'EBV. La cellule infectée fonctionne pour maintenir et reproduire le génome viral épisomique. L'EBNA1 se fixe sur une région de répétitions dans l'origine de réplication plasmidique, OriP29 et sur les chromosomes de la cellule hôte lors de la mitose (Wu et al., 2002). L'interaction de l'ADN cellulaire entre EBNA1 et oriP permet une seule réplication du génome d'EBV pendant la phase S, suivie par la séparation égale des génomes d'EBV répliqués dans les cellules de la descendance pendant la division cellulaire (Adams, 1987). Les fonctions d'EBNA1 et sa localisation cellulaire sont régulées de manière post-traductionnelle. Les domaines amino- et carboxy-terminaux d'EBNA1 sont séparés par une séquence de taille variable de répétitions Gly-Ala. La méthylation de certaines arginines permettrait la localisation au niveau des nucléoles. La phosphorylation de sérines régule les propriétés transactivatrices et de maintien du génome viral (Shire et al., 2006).

La protéine EBNA1 est par ailleurs un activateur transcriptionnel en agissant au niveau des promoteurs cellulaires, augmentant l'expression de STAT1 et diminuant celle de TGFβ1 (Wood et al., 2007), et de promoteurs viraux (Altmann et al., 2006), favorisant ainsi la tumorigenèse. EBNA1 n'est pas critique pour la transformation des lymphocytes B *in vitro*, mais semble essentielle pour promouvoir l'efficacité de ce processus (Humme et al., 2003). L'EBNA1 semble aussi impliquée dans l'inhibition de l'apoptose des cellules B infectées par l'EBV en quel que soit le type de latence (Kennedy et al., 2003).

La fonction d'EBNA1 dans les NKTL a été en grande partie inexplorée. Un rapport isolé a montré que la répression partielle de l'expression d'EBNA1 dans une lignée cellulaire de NKTL induit l'accumulation des cellules dans la phase G0/G1 (Ian et al., 2008), bien que le mécanisme n'ait pas été clairement défini.

## ii. La protéine EBNA2

La protéine EBNA2 est exprimée dès l'arrivée du génome viral dans le noyau et il a été démontré *in vivo* et *in vitro*, que la protéine EBNA2 possède une forme homodimérique. Cette forme implique la partie amino-terminale qui est constituée de 2 à 230 aa (Figure 7) (Tsui and Schubach, 1994). La protéine EBNA2 est constituée d'une région d'homodimérisation DIM, en position 1 à 58 (Zimmer-Strobl and Strobl, 2001), puis d'une région riche en résidus proline en position 58 à 97 et enfin d'une région variable selon le type de virus, en position 135 à 280. La partie carboxy-terminale d'EBNA2 comporte quatre régions : une région d'interaction avec le facteur CBF1/RBP-Jkappa (280-337), une région riche en résidus Arginine- Glycine (RG, 341-355), un domaine de transactivation (TAD, 437-475) et une région contenant une séquence de translocation nucléaire (NLS, 477-483).



**Figure 7 :** Structure d'EBNA2 (souche B95.8). Schéma illustrant toutes les parties de la protéine EBNA2. Cette protéine est constituée d'un domaine d'homodimérisation (DIM), d'une région riche en résidus proline (PRO), d'une région variable selon le type de virus EBNA2A ou EBNA2B, d'un domaine d'interaction avec RBP-Jkappa (RBP-Jk), d'une région riche en résidus Arginine-Glycine (RG), d'un domaine de transactivation (TAD) et d'une région de localisation nucléaire (NLS). (Zimmer-Strobl and Strobl, 2001).

EBNA2 induit avec EBNA-LP le passage de la cellule de la phase G0 à G1 du cycle cellulaire (Zimmer-Strobl and Strobl, 2001). La principale action d'EBNA2 sur les cellules B se traduit par la transformation cellulaire, ce qui a été montré par l'incapacité du virus mutant délété d'EBNA2, d'établir des cellules B transformées primaires (Cohen et al., 1989), le rétablissement de la région d'ADN supprimée restaurant les propriétés transformantes du virus (Hammerschmidt and Sugden, 1989).

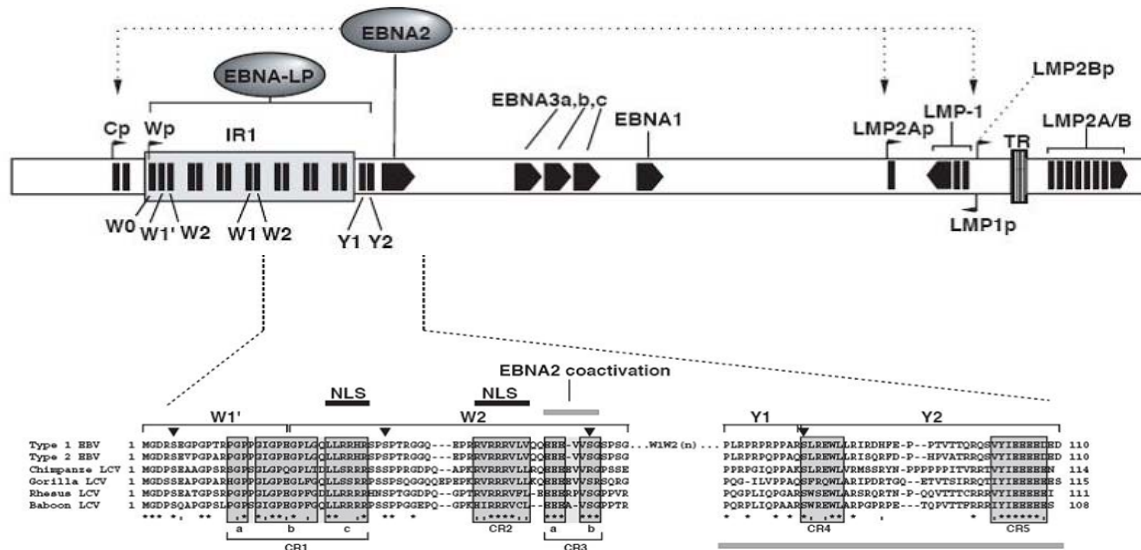
EBNA2 est un puissant activateur de la transcription des gènes viraux et cellulaires. Elle permet ainsi la régulation des antigènes spécifiques des cellules B tels que CD21 et CD23, ainsi que de *c-fgr*, c-Myc, et des protéines LMP1 et LMP2A pour le virus (Cohen et al., 1989) et la régulation des gènes EBNA par l'intermédiaire du promoteur Cp. EBNA2 interagit avec le facteur de transcription RBP-JK pour promouvoir la conversion des lymphocytes B en cellules lymphoblastoïdes (Pegman et al., 2006). Enfin, EBNA2 augmente l'expression du facteur de transcription BATF permettant d'inhiber *via* la protéine Zta, l'entrée des cellules en cycle lytique (Johansen et al., 2003).

EBNA2 n'est pas exprimée dans les cellules lymphoprolifératives NK/T EBV<sup>+</sup>, ainsi que dans les tumeurs avec des motifs restreints de latence où les promoteurs Wp / Cp ne sont pas actifs.

### **iii. EBNA-LP (également connu sous le nom EBNA-5)**

EBNA-LP est une phosphoprotéine nucléaire, exprimée à partir du promoteur Wp. Elle est constituée d'une partie amino-terminale (N term) composée de séquences répétées en tandem codées par deux exons W1 (22 aa) et W2 (44 aa) dérivés de la région IR1, et d'une partie carboxy-terminale (C term) de 45 aa codés par deux exons uniques Y1 et Y2 (figure 8) (Ling et al., 2005; Sample et al., 1986). EBNA-LP possède, au sein des exons W2 et des régions conservées CR1 et CR2 (*Conserved Region 1 et 2*), des séquences basiques de localisation nucléaire ou NLS (*Nuclear Localization Signal*) (McCann et al., 2001; Peng et al., 2000). En collaboration avec EBNA2, EBNA-LP est la première protéine virale exprimée dans les cellules B fraîchement infectées. La co-expression d'EBNA-LP avec EBNA2 et le promoteur Cp, améliore l'activation transcriptionnelle médiée par EBNA2, notamment concernant LMP1 (Harada and Kieff, 1997; Nitsche et al., 1997; Peng et al., 2000);(Klein and Ernberg, 2007). La liaison de EBNA-LP et EBNA2, grâce aux domaines W1 et W2, est régulée par phosphorylation au niveau de résidus sérine S35 et S63 (McCann et al., 2001).

EBNA-LP est également nécessaire pour l'immortalisation (Pokrovskaja et al., 2001). Cette protéine a été démontrée *in vitro* exercer un effet inhibiteur sur l'axe p53-Rb en ciblant la protéine p14 ARF, régulateur de p53. EBNA-LP peut se lier à MDM2, réprimant la dégradation de p53. Il a été suggéré que EBNA-LP participe à l'élimination de complexes p14 ARF-MDM2-p53 et contribue ainsi à la régulation négative de p14 ARF et de la protéine p53 dans les cellules B infectées par l'EBV (Kashuba et al., 2003) (figure 8).



**Figure 8** : Schéma de la séquence primaire d'EBNA-LP de différents *Lymphocryptovirus*. EBNA-LP est constituée de domaines répétés en tandems W1 et W2 et de deux domaines uniques Y1 et Y2. Ces domaines sont composés de régions conservées CR1 à CR5 (Ling et al., 2005).

#### iv. Les protéines EBNA-3

La famille d'EBNA3 comprend trois grandes phosphoprotéines nucléaires de 140 à 180 kDa : EBNA3A (ORF: BLRF3 + BERF1), EBNA3B (ou EBNA-4, ORF: BERF2a<sup>+</sup> BERF2b) et EBNA3C (ou EBNA-6, ORF: BERF3 + BERF4). Les trois protéines sont des protéines stables qui s'accumulent sous forme d'amas intranucléaires, épargnant le nucléole (Klein and Ernberg, 2007). Toutes les protéines EBNA3 se distinguent par une homologie limitée à une région proche de l'extrémité N-terminale, domaine conservé de liaison à CBF1/RBP-Jk. Elles agissent comme des répresseurs de la transactivation médiée par l'EBNA2.

EBNA3A et EBNA3C ont un rôle important dans la croissance des cellules lymphoblastoïdes et leur survie. Elles interagissent avec RBP-JK modulant la transactivation d'EBNA2 dépendante des promoteurs cellulaires et viraux (Zhao and Sample, 2000). Ainsi, EBNA3C peut activer la transcription des gènes cellulaires et viraux comme CD21, CD23, et LMP1. Par ailleurs, EBNA3C agit physiquement *via* l'association avec l'histone déacétylase HDAC1, ce qui peut réprimer la transcription par la voie de signalisation Notch (Radkov et al., 1999). EBNA3C a aussi la capacité de perturber les points de contrôle du cycle cellulaire à plusieurs niveaux, elle supprime notamment l'arrêt en G2/M. Elle pourrait ainsi contribuer à l'accumulation de dommages d'ADN (Wade and Allday, 2000). Elle recrute le complexe SCFskp2 ubiquitine ligase, qui intervient dans l'ubiquitination et la dégradation de pRB (Knight et al., 2005). Enfin, EBNA3C peut réprimer le promoteur Cp (Lin et al., 2002).

EBNA3A et EBNA3C, mais pas EBNA3B, sont nécessaires à l'immortalisation *in vitro* (Tomkinson et al., 1993).

#### **A.7.3.2 La protéine LMP1**

Le gène et la protéine LMP1 sont détaillés ultérieurement.

#### **A.7.3.3 Les protéines LMP2**

Deux ARN polyadénylés de 1,7 et 2.0 k ont été identifiés par Northern-blot en 1985. Il s'est avéré qu'ils sont exprimés de façon constitutive dans les lymphocytes B infectés par un virus dans un état de latence (Hudson et al., 1985). Ces transcrits sont fréquemment détectés dans les LH, le NPC et dans les cellules B (Bell et al., 2006). Une analyse ultérieure de la séquence d'ADNc de l'ARNm a montré que le gène était composé de 9 exons et que l'unité de transcription traverse le TR (Laux et al., 1988). Cette dernière observation suggère que la création d'une unité de transcription fonctionnelle requiert la circularisation de l'ADN viral linéaire dans la région TR.

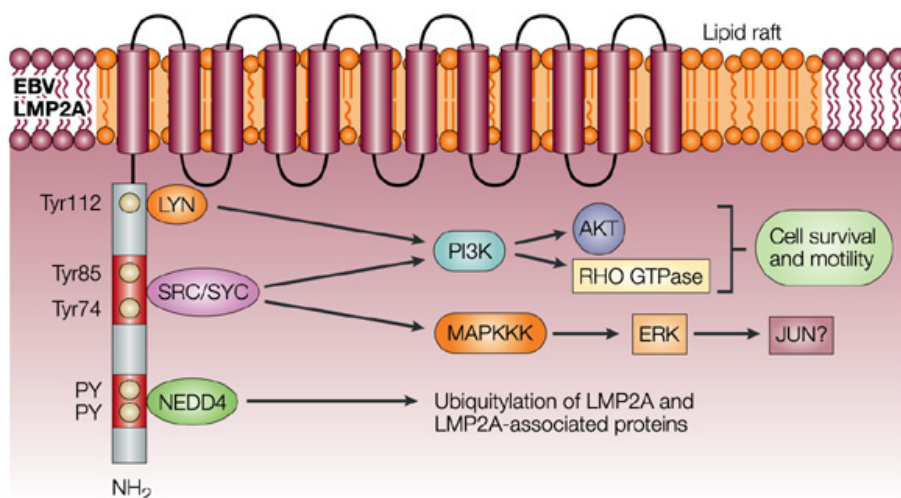
Cette protéine a été initialement appelée protéine terminale 1 (TP1) pour LMP2A et -2 (TP2) pour LMP2B. La caractérisation du plus petit transcrit, TP2, de 1,7 kb, a révélé sa relation étroite avec TP1. L'ARNm de TP2 a été trouvé exprimé par un promoteur différent avec un exon 5' distinct de TP1, mais a également été trouvé lors de l'épissage des TR (Laux et al., 1989; Sample et al., 1989). Les huit autres exons sont communs entre les ARN de TP1 et TP2. Le promoteur TP2 a été identifié à 3,3 kb en aval du promoteur TP1 et il fait partie d'une région promotrice bidirectionnelle de l'EBV latent, qui est capable de transcrire les ARN de TP2 et les LMP1 dans un sens bidirectionnel. Un cadre de lecture ouvert principal a été identifié dans chacun des ARNm de TP1 et TP2. Ces ARNm codent pour des protéines membranaires intégrales de 54kDa et 40kDa dans les cellules infectées de façon latente, ce qui conduit à la terminologie *Latent Membrane Protein* (Sample et al., 1989). La protéine LMP2B est donc une version tronquée de LMP2A à laquelle il manque tout le domaine amino-terminal cytosolique.

La structure des protéines LMP2A et LMP2B de l'EBV est similaire. Les deux protéines ont 12 domaines transmembranaires et une extrémité carboxy-terminale cytoplasmique de 27 acides aminés. En outre, LMP2A possède un domaine cytoplasmique N-terminal de 119 acides aminés qui contient huit résidus de tyrosine, dont deux (Tyr74 et Tyr85) formant un motif d'activation d'un immunorécepteur de tyrosine (ITAM-Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motifs). Ces motifs permettant de lier et de séquestrer les tyrosines kinases Lyn et Syk nécessaires à la signalisation du récepteur des lymphocytes B (BCR) sont présents



sur LMP2A. De cette manière, la protéine LMP2A bloque le passage de l'état latent au cycle lytique, normalement induit par la signalisation du BCR après stimulation antigénique (Merchant et al., 2001). LMP2A active aussi la dégradation des protéines Lyn et Syk par le protéasome en recrutant les ligases E3 permettant leur ubiquitinylation (Winberg et al., 2000). Par ailleurs, LMP2A fournit des signaux de survie mimant l'activation du BCR ; les lymphocytes B ne peuvent plus poursuivre leur développement normal dans les CG, ils ne meurent plus par apoptose en absence de sélection par l'intermédiaire du BCR (Merchant et al., 2001).

Des travaux récents (Fukuda and Longnecker, 2007) ont montré que LMP2A active les voies de signalisation cellulaire PI3K-Akt et  $\beta$ -caténine participant ainsi à la transformation des cellules épithéliales et à leur pouvoir métastatique (figure 9). En plus d'un rôle dans le maintien de la latence chez les porteurs sains, LMP2A est donc aussi capable d'activer la carcinogénèse dépendante de l'EBV. Ceci a été confirmé par sa participation à la prolifération cellulaire et à l'accélération de la mise en place du lymphome, par protection contre l'apoptose induite par une translocation c-Myc, dans un modèle de cellules B (Bultema et al., 2009).



Nature Reviews | Cancer

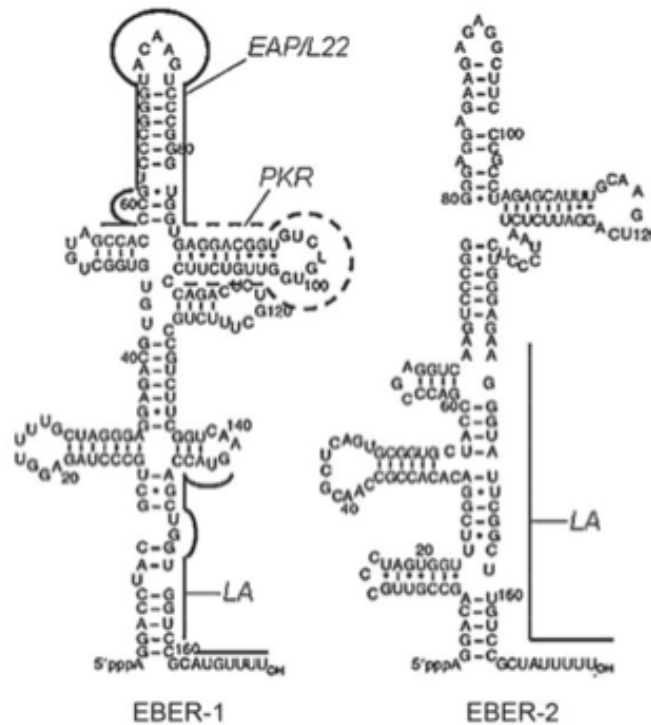
**Figure 9:** Voies de signalisation induites par LMP2A (Lawrence et al., 2004).

#### **A.7.4 Les ARN non-codants**

##### ***i. Les ARN codés par EBV : EBER***

Les ARN EBER (EBV Encoded RNA) sont de petits ARN non-codants, non polyadénylés. EBER1 (166 nucléotides de long) et EBER2 (172 nucléotides de long) sont toujours exprimés en grande abondance (10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> copies/cellule) dans les cellules infectées par l'EBV à l'état latent, quel que soit le phénotype cellulaire. Ils sont transcrits par l'ARN polymérase III et à un moindre degré par l'ARN polymérase II. Une prédiction structurale suggère qu'ils peuvent former une structure compacte avec cinq structures majeures en épingle à cheveux. Ils s'associent à des protéines nucléaires pour former des complexes ribonucléo-protéiques très stables. Ils agissent comme régulateurs de la signalisation et des facteurs de transcription, ce qui entraîne la production d'interféron et des cytokines (Samanta et al., 2008).

Les EBER induisent l'expression de l'interleukine 10 (IL10), cytokine anti-inflammatoire, qui est un facteur de croissance autocrine dans les cellules de BL. Cet effet est produit par le gène rétinolique acido-inducible I (RIG-I, un capteur de l'immunité innée). Dans les lignées cellulaires qui dérivent de NPC, les EBER régulent l'expression de l'insuline-like growth factor 1 (IGF-1), qui agit également comme un facteur de croissance autocrine. Ceci est corroboré *in vivo*, car les biopsies NPC expriment constamment IGF-1 (Samanta et al., 2008; Wu et al., 2007). Les EBER peuvent également contribuer à la transformation des lymphocytes B, ce qui a été montré pour EBER2 *via* son induction efficace de l'expression de l'IL6 (Wu et al., 2007) (figure 10).



**Figure 10** : Schéma illustrant la structure secondaire des EBER. La structure secondaire d'EBER1 et d'EBER2 est sous forme de trèfle (Rosa et al., 1981).

### ii. Les ARN codés par EBV : BART

Les ARN **BART** (Rightward Transcripts of the BamHI A region), comme les EBER, sont trouvés dans tous les types de latence, mais eux sont aussi exprimés au cours du cycle lytique. Ils sont faiblement exprimés dans les lymphocytes B et à un niveau plus élevé dans les cellules épithéliales. Ces ARN portent au moins 3 cadres de lecture ouverts codant respectivement pour :

- la protéine BARF0, jamais retrouvée *in vivo* (van Beek et al., 2003),
- RPMS1 exprimée dans les latences de type I, II et III et qui inhibe les transactivations Notch- et EBNA2-dépendantes (Zhang et al., 2001),
- et BARF1 homologue soluble du récepteur au Colony Stimulating Factor 1, ayant ainsi les propriétés oncogènes d'un facteur de croissance surexprimé (Busson, Ookaet al. 2004), et dont l'expression est restreinte aux tumeurs d'origine épithéliale.

Les introns BART codent pour des mi-RNA qui régulent le cycle viral tout particulièrement en contrôlant négativement l'expression de LMP1 et de LMP2A (Lung et al., 2009).

### A.7.5 Les micro-ARN d'EBV

Les micro-ARN sont de petits ARN non-codants, généralement 20-24 nucléotides de long. Ils peuvent réguler négativement l'expression des ARNm *via* des séquences complémentaires. Le génome d'EBV code pour au moins 22 micro-ARN qui sont exprimés à des degrés divers dans toutes les formes de latence, et dans les tissus tumoraux (Grundhoff et al., 2006; Pfeffer et al., 2004). Toutes les tumeurs EBV<sup>+</sup> expriment au moins une partie de ces micro-ARN. Il a été démontré qu'ils peuvent cibler plusieurs gènes cellulaires intéressants, et donc ils ont un rôle central dans la tumorigenèse de l'EBV. Les gènes cibles identifiés à ce jour comprennent le gène PUMA de la voie p53, et la chimiokine CXCL11 (Choy et al., 2008; Xiao et al., 2008).

### A.8 Le cycle lytique

L'étude de ce cycle a été le plus souvent réalisée sur lignées portant du virus latent et dans lesquelles la multiplication virale est induite par un agent extérieur, souvent chimique, car il n'existe pas de système de culture classique permettant d'obtenir un cycle lytique complet, qui de toute manière aboutit en général à la mort cellulaire dans le cas de cellules lymphoïdes.

*In vivo*, l'activation du cycle lytique EBV est provoquée par la différenciation des cellules B infectées en plasmocytes après stimulation antigénique des BCR (Laichalk and Thorley-Lawson, 2005) ou par la différenciation des cellules épithéliales infectées (Young et al., 1991). Diverses méthodes ont été développées pour induire le cycle lytique *in vitro*, mais le plus étudié est l'engagement dirigé contre le récepteur des cellules B (Tovey et al., 1978) dans la lignée cellulaire Akata-BL, qui se traduit par induction synchrone et rapide de jusqu'à 50% des cellules en réplication lytique (Takada and Ono, 1989).

Comme pour les autres herpèsvirus, le cycle lytique du virus comprend l'expression séquentielle de protéines très précoces ou immediate early (IE), transactivateurs de l'expression des gènes viraux précoces, de protéines précoces ou early (E), comprenant les composants nécessaires du complexe de réplication de l'ADN viral et des transactivateurs des gènes tardifs, et les protéines tardives ou late (L) comprenant la plupart des protéines de structure des virions. Le génome est sous forme linéaire extra-chromosomique et le cycle lytique fait intervenir des enzymes virales et cellulaires.

## **A.8.1. Les gènes du cycle lytique**

### **i. Les gènes très précoces (IE)**

Les gènes BZLF1 et BRLF1 sont des facteurs de transcription, principaux régulateurs du cycle lytique de l'EBV. Ensemble, ils déclenchent une cascade de transcription des gènes viraux à partir de plusieurs gènes précoces après environ 2h. La protéine codée par le gène BZLF1 nommée Zebra, est un homologue viral de c-Jun et c-Fos, contenant 3 domaines fonctionnels distincts pour faciliter la reproduction, la régulation transcriptionnelle et l'homodimérisation (Sinclair, 2003). Cette protéine a le pouvoir de lever la latence du virus dans les lymphocytes B par sa liaison à l'origine de réplication OriLyt. Elle facilite également la communication entre la latence et le cycle lytique *via* son interaction au facteur NFκB qui régule négativement à son tour le promoteur Cp des EBNA. Elle est aussi capable d'inhiber la cycline A et le pro-oncogène C-Myc ce qui va engendrer un blocage de translocation de la phase G1/S du cycle cellulaire (Israel et al., 2005). La protéine Rta codée par le gène BRLF1, a une certaine homologie avec C-Myc. Son expression est activée par la protéine Zebra. Elle intervient également dans le passage de la latence au cycle lytique. Cette protéine a la capacité d'interagir en synergie avec la protéine Zebra dans la transactivation du promoteur précoce lytique BMLF1 (Kenney et al., 1992). Elle est aussi capable de rompre la latence virale dans les cellules épithéliales. La protéine Rta interagit avec la protéine Na (protéine codée par le gène BRRF1), l'ensemble est impliqué dans la transcription de la protéine Zebra.

### **ii. Les gènes Précoce (E)**

Des études sur l'ensemble du génome ont contribué à l'identification des premiers 38 ARNm lytiques (Lu et al., 2006), dont ceux de l'ADN polymérase de l'EBV (BALF5), son facteur de processivité (BMRF1), la protéine de liaison d'ADN majeur (BALF2), la ribonucléotide réductase (BARF1), la thymidine kinase (BXLF1), l'exonucléase alcaline (BGLF5), le complexe hélicase/primase (BBLF4/BSLF1). L'expression précoce de ces protéines conduit à la production d'une molécule d'ADN linéaire d'EBV, la forme répliquative de l'ADN viral. Cette forme va ensuite s'encapsider dans les virions. D'autres protéines sont aussi impliquées dans la réplication lytique de l'EBV (Cho and Tran, 1993).

En outre, deux autres protéines précoces sont codées par les gènes BMRF1 et BRRF1. Ces protéines sont impliquées dans la régulation du transport et la stabilité des ARN. En effet, la protéine EB2 (codée par BMRF1) se lie aux ARN non épissés, assure leur stabilité et leur translocation au cytoplasme (Gruffat et al., 2002) et facilite leurs traduction (Ricci et al.,

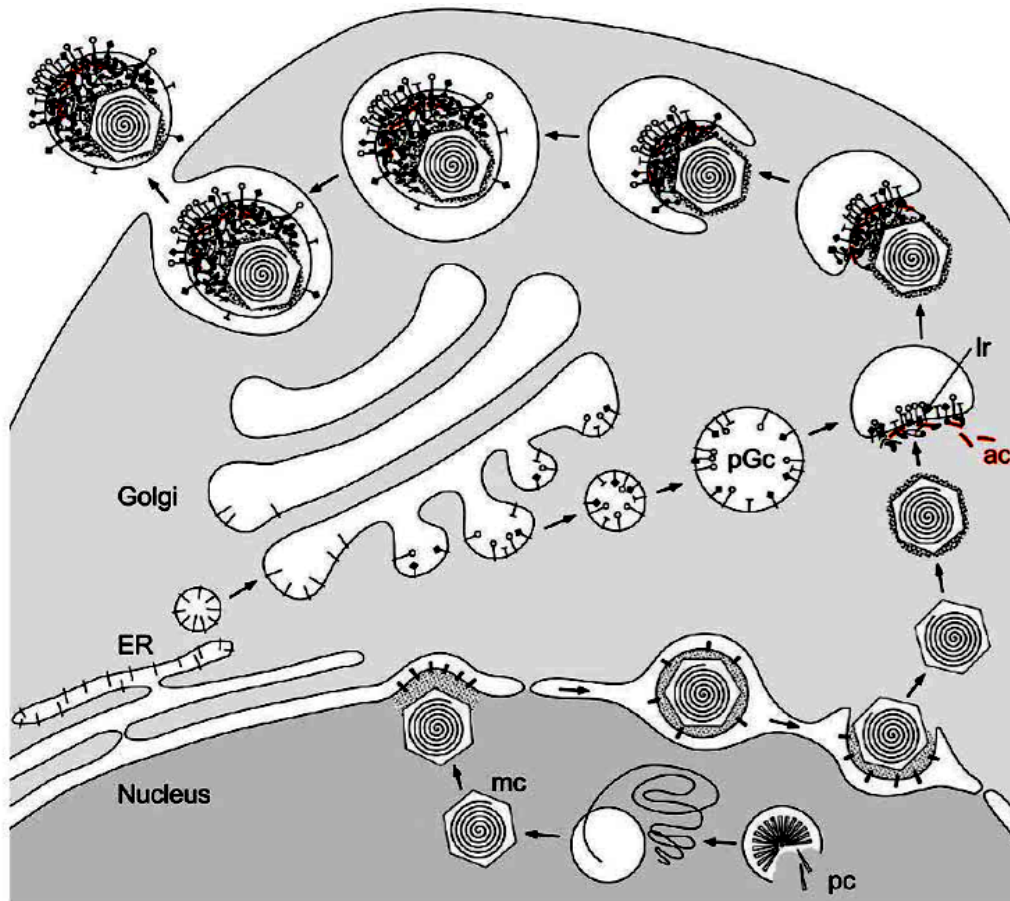
2009). Cette protéine permet au virus de s'échapper de la régulation négative de PKR en inhibant cette dernière. Par ailleurs, la protéine codée par le gène BHRF1 a un rôle anti-apoptotique, elle permet donc une bonne répllication de l'ADN de l'EBV dans la cellule hôte. En plus de cette action, le gène BARF1 code pour un récepteur du colony stimulating factor 1 qui inhibe la sécrétion de l'IFN $\gamma$  par les monocyte et les macrophages ce qui va engendrer l'échappement du virus à la réaction immunitaire (Cohen and Lekstrom, 1999).

### **iii. Les gènes Tardifs (L)**

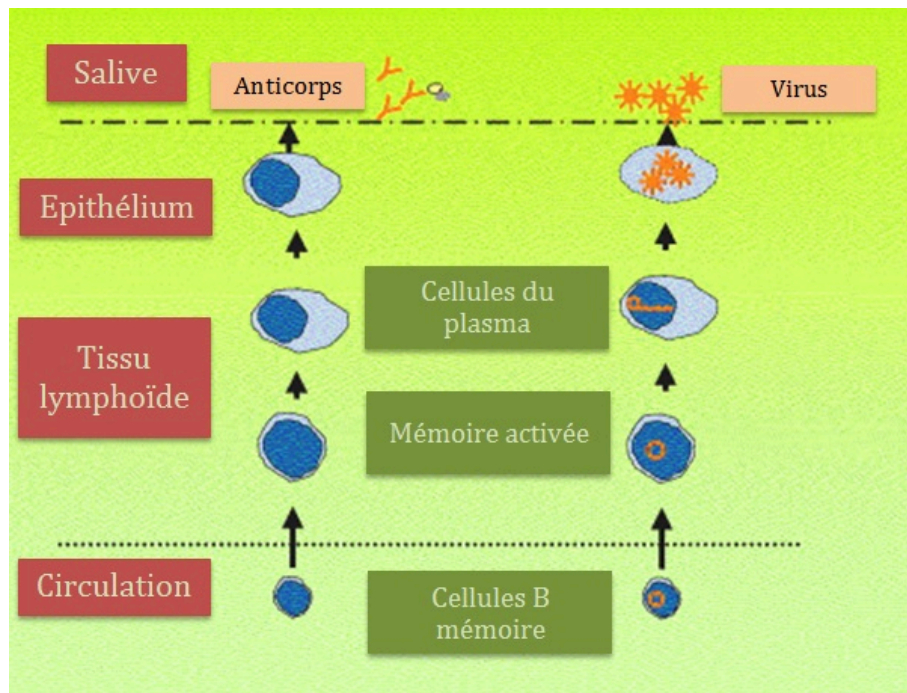
Les protéines lytiques tardives sont produites à la suite de la répllication de l'ADN et sur les 40 gènes connus. Vingt huit sont transcrits en protéines du virion, y compris les glycoprotéines de l'enveloppe virale codées par les cadres suivantes : BLLF1, BALF4, BXLF2, BILF2 et BDLF3, des protéines de capsid EBV codées principalement par BcLF1 et d'autre cadre de lecture tels que : BORF1, BDLF1, BFRF3, BdRF1 et la protéase BVRF2, des protéines membranaires et la kinase du virion. La protéase virale BVRF2 renforce l'assemblage des particules virales pour l'encapsulation de l'ADN viral.

Les protéines tardives non structurales du cycle lytique comprennent BCRF1, qui est un gène viral hautement homologue de l'IL-10 (Hsu et al., 1990). L'IL-10 virale (vIL-10) est un facteur de croissance avec des effets autocrine et paracrine, y compris la promotion de la survie des cellules B et la prolifération (Stuart et al., 1995). L'IL-10 assure également la médiation d'effets multiples et complexes sur le système immunitaire, y compris la régulation négative de HLA-1 par inhibition de la transcription de TAP-1 (Zeidler et al., 1997). À l'inverse, elle peut favoriser l'activation des cellules T anti-EBV ainsi que les réponses des cellules NK (Stewart and Rooney, 1992). L'expression maximale des protéines tardives virales, comme les antigènes structuraux de la capsid (VCA) et les glycoprotéines d'enveloppe peut se dérouler environ 12 heures après l'expression de BZLF et BRLF1. Ensuite, la libération des virions peut être détectée après environ 24h, bien que les cellules infectées de manière lytique puissent survivre au-delà de cette libération (figure 11).

Thorley-Lawson et al ont démontré également la voie par laquelle les cellules B spécifiques de l'antigène s'activent et se différencient en cellules productrices d'anticorps plasmatiques. La figure 12 montre l'excrétion des plasmocytes dans l'épithélium muqueux. En présence de l'EBV, les particules virales sont excrétées dans la salive à la place des anticorps ce qui va favoriser ainsi la contamination.



**Figure 11:** Schéma illustrant le processus d'assemblage et relargage du virion. Les précurseurs de capsides (pc) s'assemblent dans le noyau. L'ADN viral (génomme linéaire) est empaqueté formant des nucléocapsides mûres (ncm) qui sortent du noyau par enveloppement de la membrane nucléaire interne et désenveloppement de la membrane nucléaire externe. Les glycoprotéines virales s'accumulent dans des vésicules post-Golgi (vpG). L'enveloppement secondaire est déclenché par l'interaction de la nucléocapside et/ou des protéines du tégment (pt) avec les domaines intracytosoliques des glycoprotéines regroupées à un emplacement spécialisé (impliquant peut-être des radeaux lipidiques). Des protéines du tégment (pt) sont recrutées sur un échafaudage se prolongeant entre la capsidite et la membrane dans un processus pouvant impliquer les microfilaments d'actine (ac). La nucléocapside et son tégment sont ensuite internalisés dans la vpG. Finalement, les virions sont relargués dans l'espace extracellulaire par fusion de la membrane externe de la vpG avec la membrane plasmique (Grunewald et al., 2003).



**Figure 12** : Modèle qui montre la réplication et le relargage des cellules B dans l'infection de la salive par l'EBV, figure extraite de (Thorley-Lawson, 2005).

## A.9 Physiopathologie de l'infection par le virus d'Epstein-Barr

### A.9.1 L'infection cellulaire

#### A.9.1.1 Les lymphocytes B

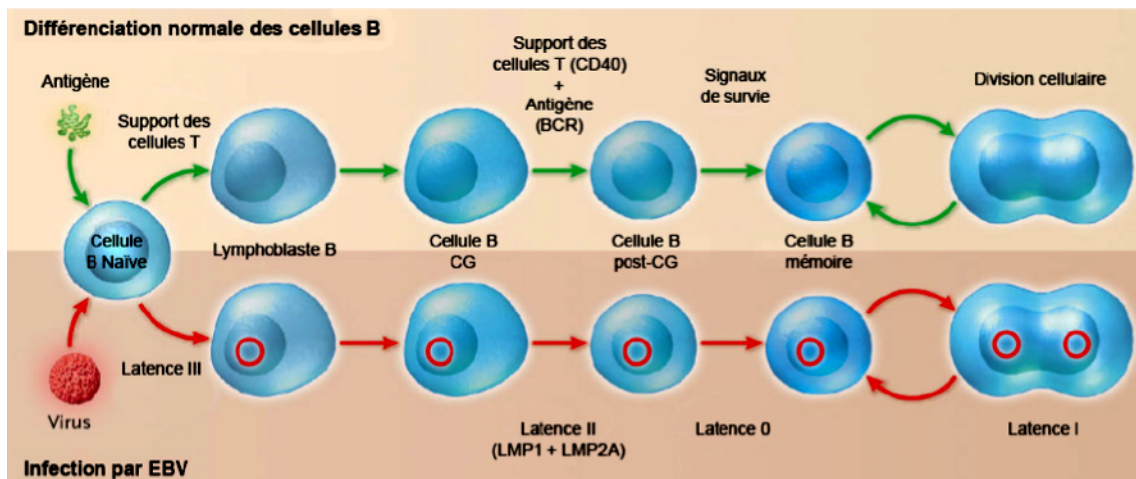
Les lymphocytes B sont les cellules cibles de l'EBV par excellence. Ils constituent le réservoir viral et chez l'adulte normal, environ 1 à 50 lymphocytes B par million sont infectés par l'EBV, le nombre de cellules infectées de façon latente chez une personne restant stable durant des années (Babcock et al., 1998; Bix et al., 1986). L'observation que l'EBV possède la capacité d'infecter et de transformer les lymphocytes B humains *in vitro* (Pope et al., 1968) a été une découverte essentiellement dans la compréhension de la pathogenèse de la lymphomagenèse B. Le tropisme des lymphocytes B pour l'EBV repose sur le tropisme de la glycoprotéine transmembranaire majeure gp350/220 de l'enveloppe virale pour la molécule de surface des cellules B, CD21 ou récepteur 2 du complément, CR2, qui constitue ainsi le récepteur cellulaire de l'EBV (Fingerroth et al., 1984; Frade et al., 1985; Weis et al., 1984). Ainsi, la glycoprotéine d'enveloppe virale gp42 (Molesworth et al., 2000; Oda et al., 2000) se lie à des molécules HLA de classe II présentes à la surface des cellules et constitue le corécepteur de l'EBV (Li et al., 1997). Survient alors la formation d'un complexe entre gp42 et les protéines virales gH/gL, initiant, avec la gB, une fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire permettant donc l'entrée virale dans la cellule. L'expression de CD21 au



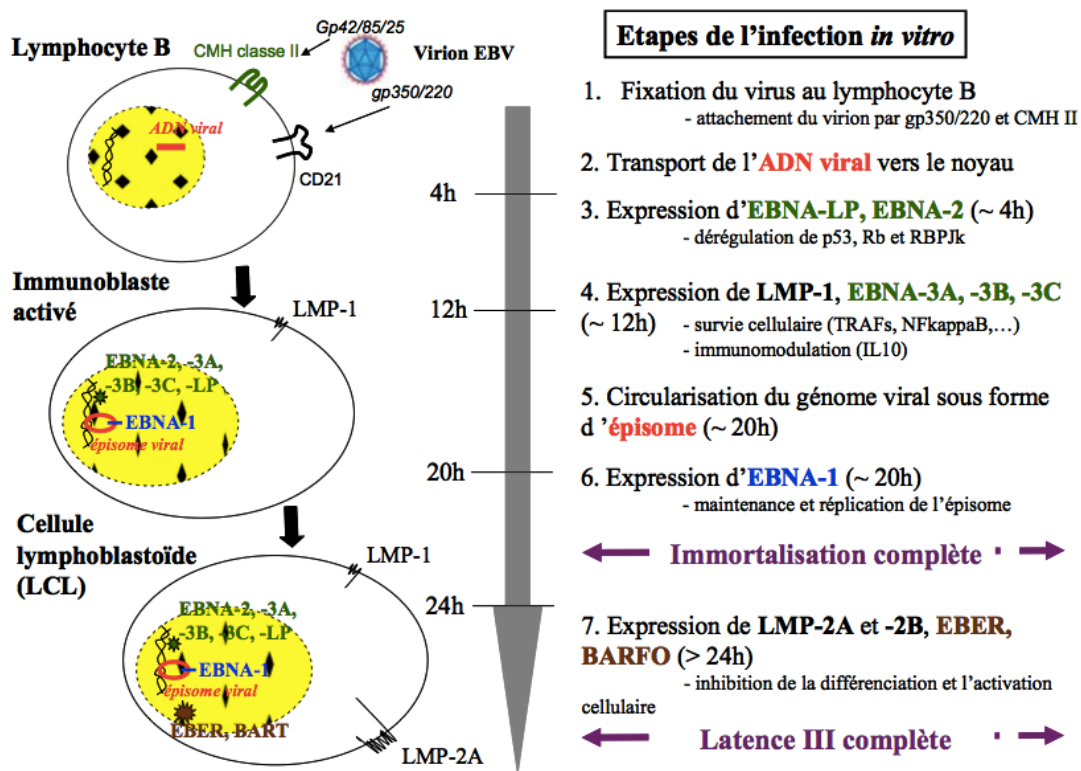
cours du développement des lymphocytes B est en relation avec l'efficacité de l'infection virale : elle peut être considérablement réduite par l'utilisation d'anticorps bloquants anti-CD21 (Jondal et al., 1976; Tanner et al., 1988). Cependant, bien que la gp350/220 représente le principal mécanisme par lequel l'EBV se lie aux cellules B, un knockout de ce gène d'EBV laisse aux cellules une certaine capacité d'infecter et de transformer des cellules B, mais avec une efficacité considérablement réduite (Janz et al., 2000) (figure13).

*In vitro*, seulement 10-15% des génomes des virus liés atteindront le noyau de la cellule infectée (Shannon-Lowe et al., 2005). Cependant, en fonction de la multiplicité de l'infection, 10-90% des cellules deviendront infectées d'une façon latente (Shannon-Lowe et al., 2005).

Les lymphocytes B dérivés du sang périphérique, des amygdales ou de sang de cordon foetal peuvent tous être facilement infectés *in vitro* (Pope et al., 1968), aboutissant à une transformation cellulaire donnant des LCL, dans lesquelles le virus est présent à l'état latent (latence de type III). L'expression des protéines de latence modifie le phénotype et les fonctions des lymphocytes B ce qui se traduit par une augmentation de l'expression des molécules d'adhérence comme CD54/ICAM1, LFA1 et LFA3 (responsables de la croissance de ces cellules) ou de marqueurs d'activation (CD23, CD39 et CD40) (Abe et al., 1992). Les cellules ont également une dépendance moins forte au sérum pour leur prolifération et sécrètent moins d'immunoglobulines (figure 14).



**Figure 13 :** Inhibition de la différenciation des lymphocytes B par les lymphocytes infectés par l'EBV (Thorley-Lawson and Gross, 2004).

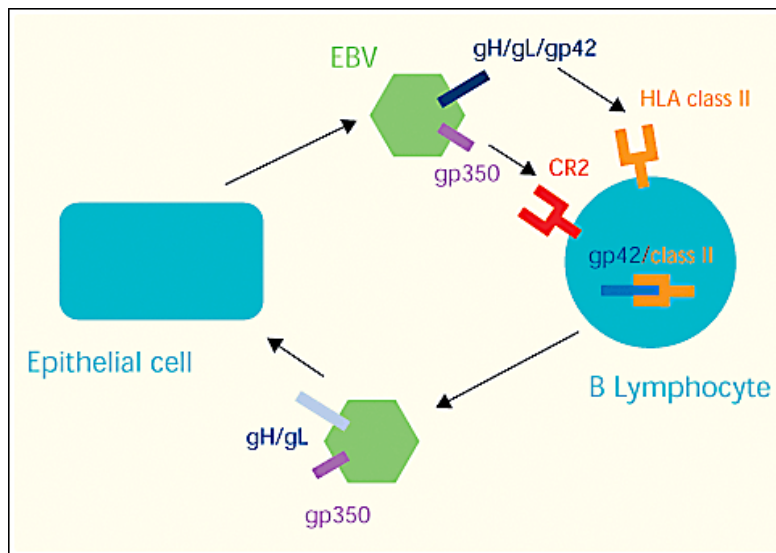


**Figure 14 :** Schéma illustrant les étapes de l'infection des lymphocytes B par l'EBV *in vitro*. L'EBV se lie au lymphocyte B *via* le complexe gp350/220 du virus et CD21 de la cellule. Ensuite, la protéine gp42 du virus se fixe sur le CMH II de la cellule permettant ainsi la fusion de la membrane plasmique et de la nucléocapside. L'ADN viral linéaire intègre le noyau de la cellule. Après 4h, les protéines EBNA-2 et EBNA-LP sont exprimées. Après 12h d'infection, LMP-1 et les EBNA-3 sont exprimées. Le génome viral va ensuite se circulariser sous forme d'épisome puis il est maintenu par EBNA-1 et répliqué lors des divisions cellulaires environ 20h après l'infection. Les ARNm LMP-2, les ARN EBER et les BART sont les derniers transcrits de latence exprimés, ils complètent ainsi la latence de type III "programme de prolifération" (Middeldorp et al., 2003).

### **A.9.1.2 Les cellules épithéliales**

La transmission de l'EBV entre humains s'effectue généralement par un contact avec les sécrétions orales (Hoagland, 1955). Le virus se réplique à l'intérieur de l'oropharynx résultant en une excrétion active du virus chez la grande majorité des personnes séropositives (Yao et al., 1985). Il reste actuellement difficile de savoir si les cellules épithéliales oropharyngées ou les lymphocytes B sont le site primaire de répllication virale (Niedobitek et al., 1997; Sixbey et al., 1984). Mais une fois les cellules épithéliales infectées, le virus s'y réplique en effectuant un cycle lytique complet et il détruit les cellules. La manière dont le virus entre dans les cellules épithéliales est mal connue. En effet, ces cellules n'expriment pas ou peu la molécule CD21. Un des mécanismes de l'infection ferait intervenir les lymphocytes B auxquels les cellules épithéliales se lient et servent ainsi de véhicule de transfert (Shannon-Lowe CD, PNAS, 2006). Ce mécanisme nécessite la formation d'une synapse intercellulaire dans laquelle on trouve des complexes gp350/CD21 ainsi que les protéines virales gp85 et gp110.

L'attachement du virus sur les cellules épithéliales nécessite la participation de la glycoprotéine virale gH, mais le récepteur cellulaire est inconnu. L'entrée du virus ne fait pas intervenir la gp42 comme pour les lymphocytes B mais uniquement un complexe formé de gH/gL (Molesworth et al., 2000). Des travaux ont montré que BMRF2 serait nécessaire à l'infection par des virus libres, mais cette protéine ne semble pas indispensable pour la fusion. Enfin, l'EBV peut passer au travers des membranes latérales à proximité des monosomes et des jonctions serrées pour se transmettre entre les cellules épithéliales adjacentes (Tugizov et al., 2003) (figure15).



**Figure 15** : L'infection des lymphocytes B et des cellules épithéliales par l'EBV. L'EBV peut infecter les lymphocytes B *via* l'interaction de gp350 du virus et CD21 (CR2) de la cellule, et aussi entre le complexe gH/gL/gp42 du virus et le CMH II de la cellule B. Les virions produits par la LCL sont dépourvus de la protéine gp42 qui est séquestrée par le CMH II et ce qui va leur permettre donc d'infecter les cellules épithéliales *via* leur interaction entre le complexe gH/gL du virus et leur récepteur sur les cellules. Les virions produits par la réplication virale dans les cellules épithéliales expriment de hauts niveaux de gp42 et peuvent ainsi infecter d'autres lymphocytes B (Farrell and Mertz, 2002).

### A.9.1.3 Les cellules T

Dans le contexte de la primo-infection par l'EBV, Anagnostopoulos et al. ont examiné des coupes de tissus des amygdales excisées au cours de la phase aiguë de la mononucléose infectieuse (Anagnostopoulos et al., 1995). Les cellules T hébergeaient l'EBV et portaient des EBER révélés par HIS, il s'agissait de cellules CD45RO positives. Le nombre de cellules T infectées était plus faible que celui des cellules B au sein de la même amygdale. Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres équipes notamment au niveau des ganglions lymphatiques (Tokunaga et al., 1993), ce qui a été contesté par d'autres auteurs (Niedobitek et al., 1997; Trempat et al., 2002; Verbeke et al., 2000). Dans le cas où l'EBV persiste, des études sur des tissus lymphoïdes primaires et secondaires (Hudnall et al., 2005) ou sur des ganglions réactionnels (Deamant et al., 1993), ont mis en évidence un faible pourcentage de cellules T EBER<sup>+</sup>, le plus souvent CD4<sup>+</sup> (Hudnall et al., 2005). L'étude du programme d'expression des gènes viraux de latence a montré qu'il s'agissait généralement d'une latence de type II (Groux et al., 1997).

Il a été montré que la molécule CD21 était exprimée par les cellules T de la lignée MOLT 4 (Jondal et al., 1976; Uren et al., 1977), établie à partir du sang périphérique d'un patient qui présentait une leucémie lymphoblastique aiguë (Minowada et al., 1972). Ces cellules peuvent

lier l'EBV mais le CD21 ne semble pas faciliter l'entrée du virus dans la cellule (Shannon-Lowe et al., 2005). Une expression variable de CD21 est trouvée sur différentes cellules T leucémiques lymphoblastiques ; les cellules HSB-2, Hut-78, CEM et T-ALL-1 sont négatives, alors que les cellules Jurkat expriment le CD21 à un niveau faible et que les cellules HPB-ALL l'expriment de manière très importante (Fingeroth et al., 1988). Les lymphocytes T matures du sang périphérique semblent exprimer faiblement le CD21 (Fischer et al., 1991; Shannon-Lowe et al., 2005) mais il est possible d'infecter une petite proportion de ces cellules *in vitro* (Guan et al., 1996). Une infection convaincante de thymocytes primaires a pu être réalisée révélant une expression appréciable d'EBNA1 après 12 jours (Watry et al., 1991), Le niveau de l'expression de CD21 varie avec la maturité cellulaire (Tsoukas and Lambris, 1988), et au cours du développement des cellules T dans le thymus, l'expression transitoire de CD21 serait suffisante pour permettre la liaison de l'EBV et, dans certains cas, l'entrée virale. Cependant, il n'est pas exclu qu'il y ait un mécanisme d'infection indépendant de CR2 (Yoshiyama et al., 1997) ou peut-être la présence d'une molécule alterne avec une certaine homologie avec CR2 (Hedrick et al., 1992).

#### A.9.1.4 Les cellules NK

L'infection des cellules NK par l'EBV *in vivo* a également été étudiée en utilisant une approche IHC/HIS dans les tissus amygdaliens au cours de la MNI. Trempat et al ont utilisé un anticorps dirigé contre PEN5, épitope restreint aux cellules NK afin d'identifier les cellules NK EBER+ dans le contexte de l'infection primaire (Trempat et al., 2002). Dans les 6 cas de ganglions lymphatiques examinés, un petit nombre de petites cellules EBER<sup>+</sup> et PEN5<sup>+</sup> était reconnaissable. La grande majorité des cellules PEN5<sup>+</sup> était toutefois EBER négatif, et aucune n'exprimait EBNA2. En appliquant une méthodologie similaire, Hudnall et al ont réalisé une approche globale, en faisant une analyse semi-quantitative sur 20 amygdales EBV<sup>+</sup> provenant de donneurs ayant subi une amygdalectomie de routine (Hudnall et al., 2005). La majorité (82%) des cellules EBER<sup>+</sup> exprimaient faiblement le CD20, tandis que les cellules NK positives pour PEN5 et EBER étaient très rares (1,7%); de nombreuses cellules NK identifiées sous l'épithélium des cryptes étaient EBER négatives. Ainsi, et dans les limites d'un double marquage IHC / HIS sur des coupes de tissus fixés, la présence de cellules NK et T infectées par l'EBV *in vivo*, au cours de la primo-infection et de la persistance, semble être un événement relativement rare.

Notons que l'EBV est présent dans les cellules NK d'un grand nombre d'hémopathies touchant ces cellules (Arber et al., 1993; Quintanilla-Martinez et al., 1999).

Les molécules HLA de classe II sont exprimées à la surface cellulaire des cellules NK, ce qui n'est pas le cas de la molécule CD21. Le processus de liaison du virus et son entrée dans les cellules NK restent mal élucidés. Le mécanisme biologique de l'infection à EBV *in vivo* se manifeste par l'entrée du virus *via* une synapse immunologique.

Dans les amygdales comme dans les ganglions lymphatiques, la formation des synapses entre les cellules NK et les cellules autologues EBER<sup>+</sup> a été documentée dans le cadre de l'infection primaire (Tremptat et al., 2002) et de la persistance chez le sujet sain (Hudnall et al., 2005). Le seul rapport existant de l'infection par l'EBV dans cellules NK *in vitro* a été publié en 2004 (Isobe et al., 2004), il décrit de manière inattendue l'infection efficace de deux lignées cellulaires NK leucémiques EBV négatives et de cellules NK humaines primaires. Les stades précoces de l'infection montraient la coexistence d'une infection lytique et d'une infection latente. La plupart des cellules infectées entraient en apoptose après 72h, ce qui explique la difficulté à établir des sous-lignées. Deux clones isolés ont montré une latence de type I et de type II. Une étude ultérieure du même groupe a analysé des sous-clones qui avaient développé un modèle de latence II (Isobe et al., 2008). Le résultat a montré que 33 de ces sous-clones exprimaient une protéine LMP1 de bas poids moléculaire. Ces cellules ne présentaient aucun avantage prolifératif par rapport à la lignée parentale.

## **A.10 Pathologie associée à l'infection *in vivo* par l'EBV**

### **A.10.1 La primo-infection et la mononucléose infectieuse**

#### **A.10.1.1 Les caractéristiques cliniques**

En raison des anticorps maternels spécifiques de l'EBV, transférés à l'enfant, les infections par l'EBV sont rares dans la première année de vie. Dans les pays en développement et les groupes socio-économiques défavorisés, la plupart des individus sont exposés à l'EBV dans l'enfance. Les infections primaires chez les jeunes enfants sont soit asymptomatiques, soit elles se manifestent par des maladies virales non spécifiques, dans lesquelles les symptômes caractéristiques de la MNI sont rares. Cependant, les MNI pourraient se produire rarement dans l'enfance (Chan et al., 2003). Le syndrome clinico-immunologique de la mononucléose infectieuse est plus susceptible de se produire si l'infection par l'EBV survient pendant ou après la deuxième décennie de la vie. Grâce à des conditions économiques et sanitaires améliorées au cours des dernières décennies, l'infection par l'EBV est devenue moins fréquente pendant l'enfance (Takeuchi et al., 2006). De ce fait, davantage de personnes sont vulnérables à l'infection primaire et peuvent développer une

MNI. Une étude britannique récente menée sur 371 étudiants universitaires a montré que 25% de ces jeunes adultes (médiane de 19 ans) étaient EBV séronégatifs au moment de la rentrée universitaire et 46% d'entre eux présentaient une séroconversion après 3 ans. Parmi ces séroconversions "tardives", un quart des personnes avaient été diagnostiquées présentant une MNI (Crawford et al., 2006).

Pour la majorité des patients atteints, la MNI se manifeste par une fatigue, une lymphoadénopathie et une angine, sachant que l'hépto-splénomégalie est trouvée chez un tiers des individus, mais la fièvre est relativement rare (Macswen et al., 2010). Les complications sont peu courantes, comprenant une anémie hémolytique, plus rarement une anémie aplasique, une thrombopénie, une myocardite, une hépatite, des ulcères génitaux, ainsi que des ruptures de la rate ou des complications neurologiques comme le syndrome de Guillain-Barré (Luzuriaga and Sullivan, 2010). Les MNI fulminantes très rares, correspondent au développement de lymphoproliférations clonales de cellules T infectées et pourraient être associées à une mortalité élevée.

La plupart des patients atteints de MNI ont une leucocytose absolue dans le sang périphérique, principalement représentée par une augmentation de cellules T et NK ( $CD8^+$ ,  $\gamma\delta$  et  $CD56^+$ ), mais produisent également de légères hausses de chiffres de monocytes (Macswen et al., 2010), avec une légère neutropénie et une thrombocytopénie. La biochimie hépatique peut révéler une augmentation des transaminases. Les anticorps hétérophiles, sont présents dans les cas de MNI survenant chez des patients de plus de 5 ans. Les IgM anti-VCA sont très sensibles et offrent, de plus, une spécificité anti-EBV (Luzuriaga and Sullivan, 2010).

Les manifestations cliniques de la MNI pourraient être, au moins en partie, imputables à une réponse des cellules T et à la libération de cytokines associées en particulier à l'IFN $\gamma$  et au TNF $\alpha$  (Foss et al., 1994). En outre, une corrélation entre l'intensité de l'activation des lymphocytes T et la gravité des symptômes a été décrite (Williams et al., 2004). La sensibilité à la MNI est liée à des polymorphismes dans les gènes codants pour la cytokine régulatrice IL-10 (Helminen et al., 1999). L'HLA de classe I (McAulay et al., 2007) pourrait avoir un impact sur l'efficacité de la présentation du peptide viral.

Pour la majorité des personnes immunocompétentes, la maladie s'autolimit et la récupération survient au bout de quelques semaines, avec une reprise des activités normales après 2 à 3 mois (Macswen et al., 2010).

### ***i. La réponse des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>***

Au cours de l'infection aiguë, les populations de cellules T CD8<sup>+</sup> élargies dans le sang périphérique, se sont avérées nettement oligoclonales au récepteur des cellules T (TCR) (Lin and Welsh, 1998).

En outre, en utilisant des complexes tétramères de HLA de classe I, des auteurs ont démontré que les perforines des cellules CD8<sup>+</sup> cytotoxiques constituaient fonctionnellement un épitope spécifique à l'EBV (Callan et al., 1998). Un ensemble complet de travail a caractérisé et quantifié de nombreuses spécificités de l'EBV dans le sang des MNI (Callan et al., 1998; Steven et al., 1996). Les réponses aux épitopes individuels peuvent représenter 1- 40% de la population totale des cellules T CD8<sup>+</sup>, avec une réactivité dominante vis-à-vis des antigènes précoces immédiats et de certains antigènes précoces lytiques. Les réponses aux protéines virales latentes sont quantitativement plus faibles, représentant 0,1 à 5% de la population des cellules T CD8<sup>+</sup>.

### ***ii. Réponse des cellules T CD4<sup>+</sup>***

Contrairement à leurs homologues les cellules CD8<sup>+</sup>, les cellules T CD4<sup>+</sup> n'augmentent pas beaucoup pendant la MNI et ne montrent pas la même inclinaison oligoclonale (Maini et al., 2000). Les spécificités des épitopes des cellules CD4<sup>+</sup> ont été plus difficiles à caractériser *ex-vivo*. L'EBV stimule les cellules T CD4<sup>+</sup> effectrices. Ces cellules spécifiques de l'EBV s'accumulent dans un compartiment de différenciation CD27<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup>. La réponse des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> induit un lysat comprenant des protéines EBV à la fois lytiques et latentes, pouvant être détectées dans le sang des patients au moment de la MNI à des fréquences beaucoup plus basses que les CD8<sup>+</sup> réactivées (Amyes et al., 2003). Les épitopes spécifiques du nombre des cellules CD4<sup>+</sup> latentes et lytiques sont élevés durant la phase aiguë de la MNI et peuvent décliner rapidement par la suite (Hislop et al., 2007).

En terme de lymphocytes T mémoire CD4<sup>+</sup>, une réponse spécifique contre les différents EBNA et LMP a été identifiée mais est estimée à au moins 10 fois inférieure à celle généralement observée pour les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> mémoires équivalents (Long et al., 2005).



## **A.10.2 Pathologies survenant chez l'immunodéprimé**

L'importance de l'immunité cellulaire T dans le contrôle de la transformation par l'EBV est illustrée par la survenue de maladies lymphoprolifératives liées à l'EBV dans le cadre de dysfonctionnement des cellules T ou d'immunosuppression T héréditaire ou acquise.

### **A.10.2.1 Syndrome lymphoprolifératif post-greffe (PTLD)**

Histologiquement les lymphoproliférations résultant de l'immunosuppression iatrogène après une transplantation d'organes solides (SOT) ou de cellules souches hématopoïétiques (HSCT) sont les mieux étudiées.

Le risque des PTLD augmente avec le degré d'altération des cellules T, et avec l'épuisement des lymphocytes T du greffon dans le cas d'une incompatibilité HLA durant la greffe ce qui nécessite une thérapie immunosuppressive plus importante et augmentera l'incidence des PTLD.

Les PTLD constituent un spectre pathologique qui rassemble des proliférations lymphoïdes et plasmocytaires allant de formes spontanément résolutive à des formes réactives et à des formes néoplasiques proches des lymphomes non hodgkiniens. Ces lymphomes ne se développent pas dans les ganglions mais sont multifocaux et concernent souvent l'organe transplanté ou le tractus gastro-intestinal. L'incidence de survenue est directement en rapport avec l'immunosuppression et varie avec le type d'organe greffé. La majorité d'entre eux se développe dans les douze premiers mois suivant la greffe et ceux qui surviennent précocement après la greffe sont très souvent associés à l'EBV inversement à ceux qui surviennent plus tardivement. Une importante minorité des cas (20-30%) suivant SOT sont EBV négatifs, alors que presque tous les cas post-HSCT sont associés à l'EBV (Swerdlow SH., 2010). La plupart des PTLD post-SOT sont occasionnés par des cellules du receveur alors que les PTLD post-HSCT, découlent d'une transformation de lymphocytes du donneur (Swerdlow SH., 2010)

Les tumeurs EBV-positives se produisent plus tôt après les allogreffes (3-6 mois pour HSCT, 12-24 mois pour SOT) (Evens et al., 2010; Styczynski et al., 2009).

Les PTLD peuvent dériver d'un large spectre de cellules B et non seulement du pool de cellules mémoires sélectionnées par l'antigène, que l'EBV colonise habituellement chez les individus immunocompétents. Le développement de la tumeur semble souvent être associé à l'expansion des lymphocytes B qui ont échoué au processus physiologique de sélection au niveau du CG (Timms et al., 2003).

Les PTLD à cellules T constituent l'un des types majeurs des PTLD monomorphes, alors que les PTLD à cellules NK sont rares. Les PTLD à cellules T représentent environ 7-15% de tous les PTLD survenant post-SOD dans les pays occidentaux. Ils semblent être plus fréquents au Japon, bien que les données d'incidence soient limitées (Swerdlow, 2007). Les PTLD NK/T ont tendance à se produire plus tardivement dans la période post-transplantation (médiane 5,5 ans) que leurs homologues B et sont moins souvent associés à l'EBV (30-40% des cas). Le lymphome à cellules T périphériques indéterminé et les lymphomes hépatospléniques sont les sous-types les plus fréquemment trouvés (Kwong et al., 2000; Swerdlow, 2007).

#### **A.10.2.2 Lymphomes associés à l'EBV chez le malade du SIDA**

Les lymphomes du patient atteint du syndrome d'immunodéficience acquise sont divers et comprennent les lymphomes diffus à larges cellules, le LH, le BL et le lymphome à épanchement primaire. Les lymphomes du système nerveux central (SNC) sont assez fréquents. Tous ces lymphomes constituent un groupe hétérogène. Leur tumorigenèse est variable et dépend de chaque type de lymphome. Les lymphomes du SNC sont généralement associés à l'EBV, ce qui est peut-être dû à l'augmentation du trafic des cellules B infectées par l'EBV dans le cerveau. Des études ont démontré que chez les patients sidéens atteints de l'EBV, la grande majorité des lymphomes y compris le LH diffèrent au niveau de la morphologie immunoblastique. Ces pathologies n'apparaissent que quand le patient est sévèrement immunodéprimé, généralement en stade final de l'infection à VIH. En revanche, les BL et LB-like, ne sont associés à l'EBV que dans 30% à 50% des cas (Diebold et al., 1997). Dans ces cas, l'association de l'EBV et de l'immunosuppression peut éventuellement augmenter le nombre de cellules B, et augmenter ainsi le risque de translocation C-Myc. Ceci ne serait pas la cause primaire du développement de la prolifération maligne.

#### **A.10.2.3 Leiomyosarcomes liés à l'immunodéficience**

Les patients immunodéprimés présentent rarement des néoplasmes des cellules musculaires lisses contenant un génome d'EBV clonal (McClain et al., 1995). Ces tumeurs sont plus souvent localisées dans le tractus gastro-intestinal ou l'arbre bronchique des enfants ayant une transplantation d'organe ou atteints du SIDA. Le programme de latence est alors de type III (Rogatsch et al., 2000). Il a été démontré que ces cellules tumorales se caractérisent par une expression variable du CD21, récepteur de l'EBV (Rogatsch et al., 2000). Cependant, aucune infection des cellules musculaires lisses normales adjacentes à la tumeur EBV<sup>+</sup> n'a été

détectée. L'immunosuppression semble donc la seule cause qui pourrait être responsable de l'entrée anormale de l'EBV dans les cellules musculaires lisses, apportant alors un risque d'une transformation maligne.

#### **A.10.2.4 Leucoplasie orale chevelue**

Chez les patients immunodéprimés, les cellules épithéliales de la muqueuse squameuse peuvent aussi être atteintes d'une pathologie proliférative. Cette pathologie est associée à l'infection lytique par l'EBV (Greenspan and Greenspan, 1989). Des études ont démontré que les stades les plus avancés de la réplication virale se localisent majoritairement dans les couches épithéliales les plus différenciées, ou il y a une expression des gènes viraux lytiques (Walling et al., 2001). De manière plus détaillée, les altérations se développent à partir des cellules épithéliales en phase de l'infection latente ce qui va favoriser ainsi la réplication virale lytique provoquée par la réactivation liée à l'immunosuppression. Cette dernière pourrait également favoriser l'infection anormale des cellules épithéliales de la langue. Un traitement par acyclovir pourrait aider à diminuer les lésions, mais celles-ci réapparaissent fréquemment suite à l'arrêt du traitement (Walling et al., 2003).

### **A.11 Pathologies de l'hôte immunocompétent**

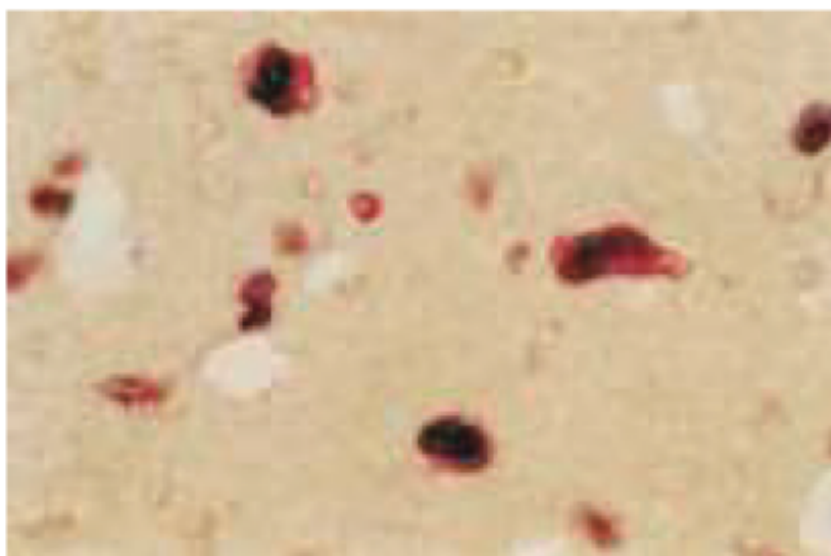
Les trois principales pathologies malignes qui sont associées à l'EBV chez l'hôte immunocompétent sont le LB, le LH, et le NPC. Elles apparaissent tardivement après l'infection primaire.

#### **A.11.1 Lymphome de Hodgkin (LH)**

Il s'agit d'une tumeur maligne rare composée d'un clone de cellules multinucléées ou cellules de Reed-Sternberg (RS), ne comptant que pour une minorité au sein du tissu tumoral, et entourées de cellules inflammatoires réactives. Le LH classique (LHc), par opposition au LH à prédominance lymphocytaire, est subdivisé en 4 sous-types en fonction de critères histologiques. Environ 40% des cas de LHc dans le monde développé sont associés à l'EBV qui est tout particulièrement trouvé associé aux formes à cellularité mixte. Les LH des personnes VIH séropositives sont presque toujours associés à l'EBV (Dolcetti et al., 2001; Kutok and Wang, 2006). Le LH est plus fréquent chez les patients ayant bénéficié d'une SOD ou d'une HSPT. Le risque de développer un LH EBV<sup>+</sup> est augmenté chez les personnes qui

ont manifesté une MNI au moment de l'infection primaire par l'EBV, et d'autant plus que les signes étaient importants (Hjalgrim et al., 2007).

Les cellules RS sont des cellules B comme il a été démontré par des techniques de microdissection unicellulaire (Kuppers, Rajewsky *et al.* 1994). La présence de réarrangements clonaux des gènes d'immunoglobulines a été détectée sans aboutir à une synthèse des chaînes légères et des chaînes lourdes d'immunoglobulines. La cellule de Reed-Sternberg dériverait en fait d'un lymphocyte B du CG anormalement rescapé de l'apoptose et maintenu en survie grâce à l'infection par l'EBV. Dans les tumeurs EBV-positives, le génome viral clonal est présent dans toutes les cellules RS et les protéines latentes EBNA1, LMP1 et LMP2 sont exprimées en plus des EBER non codants et des BART, modèle de latence de type II (Chiang et al., 1996) (figure 17). LMP1 s'agrège dans la membrane cellulaire RS et imite le récepteur actif CD40, induisant ainsi une activation constitutive de NFκB (Kilger et al., 1998). En plus, l'expression de LMP2A sert à substituer le BCR (Caldwell et al., 1998; Mancao and Hammerschmidt, 2007) et peut fournir aussi une variété de signaux pro-prolifératifs (Fukuda and Longnecker, 2007; Mancao et al., 2005; Portis and Longnecker, 2004). En revanche, l'expression et le rôle de LMP2B dans le LH n'ont pas encore été établis. Étant donné que BCR et CD40 sont deux signaux de survie majeurs pour les lymphocytes B du CG (Liu et al., 1989), l'hypothèse principale est que l'EBV pourrait détourner ces voies pour faciliter la survie des cellules CG (Kuppers, 2009). Il a également été proposé que les LMP1 et LMP2A reprogramment les cellules B EBV<sup>+</sup> pour leur donner le phénotype des cellules HRS (Vockerodt et al., 2008).



**Figure 16 :** Expression de la LMP1 (coloration rouge) et des EBER (coloration marron : noir) dans les cellules de Reed-Sternberg (Baumforth et al., 1999)

### A.11.2 Le lymphome de Burkitt (BL)

Le BL est une forme rare de lymphome malin non-Hodgkinien à cellules B matures, de haut grade. Sur le plan histologique, il est constitué d'un infiltrat diffus et monomorphe de cellules lymphoïdes atypiques. Ces cellules sont très prolifératives. De nombreux histiocytes phagocytaires sont présents et donnent un aspect en ciel étoilé (Pelc, De Maertelaere *et al.* 1983). Il existe trois formes de BL : la forme endémique, la forme sporadique et le BL des immunodéprimés. La forme endémique, qui constitue la 1<sup>ère</sup> forme reconnue et décrite par Denis Burkitt, est géographiquement localisée aux régions d'Afrique équatoriale et de Papouasie Nouvelle-Guinée. L'EBV y est trouvé dans 100% des cas dans les cellules tumorales. La forme sporadique est surtout rencontrée chez les enfants et les jeunes adultes. Elle ne présente pas de distribution géographique particulière et elle est associée à l'EBV dans 15 à 30% des cas (Gutierrez, Bhatia *et al.* 1992; Hecht and Aster 2000). Dans les cas de BL survenant dans un contexte d'immunodépression, comme la baisse des CD4 chez les patients VIH séropositifs, l'association à l'EBV est plus fréquente (Young and Rickinson, 2004).

Le trait commun de tous les BL est la translocation C-Myc qui juxtapose l'oncogène MYC/c-Myc (situé en 8q24) près du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines (situé en 14q32) (Zech *et al.*, 1976). La translocation peut concerner plus rarement le chromosome 2 (chaîne kappa des immunoglobulines) ou 22 (chaîne lambda des immunoglobulines). Les cellules sont alors conduites vers le cycle cellulaire du fait de la dérégulation de l'expression de C-Myc qui active les voies anti-apoptotiques. Il a été observé que les translocations surviennent dans des régions qui subissent des cassures chromosomiques pendant la maturation des centres germinatifs (Hecht and Aster, 2000). Ceci laisse penser que de telles translocations sont des erreurs survenant durant le développement normal des cellules B. .

Bien que la dérégulation du proto-oncogène C-Myc, survenant généralement en association avec des défauts de la protéine p53 (Lindstrom and Wiman, 2002), soit d'une importance fondamentale dans la pathogenèse du BL (Polack *et al.*, 1996), l'EBV pourrait jouer ici un rôle clé. Dans la plupart des cas de BL EBV<sup>+</sup>, le programme de latence exprimé est de type I : expression de EBNA1 initiée à partir du promoteur Qp, en plus des EBER non codants, des BART et des miRNA. Cependant, deux autres types d'expression des gènes latents ont été décrits en association avec les BL. Le premier concerne l'expression de l'ensemble des six EBNA en l'absence de LMP1 et LMP2. Ceci est considéré comme très rare et peut survenir à la suite de l'intégration du génome viral dans un chromosome cellulaire (Kelly *et al.*, 2006).

Le second est une infection latente qui manque d'EBNA2 et LMP1, LMP2, mais exprime anormalement des protéines EBNA3. Ceci pourrait se produire dans environ 15% des cas de BL endémiques (Kelly et al., 2005) et est du à une délétion incluant le gène EBNA2. Dans ce cas, le promoteur Wp plutôt que le promoteur Qp initie la transcription d'EBNA, d'où le terme «Wp-restriction». Une telle restriction de Wp dans les cellules BL entraîne l'expression constitutive en tant que protéine de latence de la protéine BHRF1, protéine virale homologue de Bcl<sub>2</sub> et que l'on croyait exclusivement lytique (Kelly et al., 2009).

Concernant l'EBV, deux hypothèses pourraient contribuer à la pathogenèse des cellules BL. La première est que le virus pourrait augmenter la probabilité de survenue des translocations C-Myc caractéristiques, et la seconde que l'EBV pourrait compléter l'activité de C-Myc, peut-être en supprimant l'activité apoptotique de l'oncoprotéine, « une caractéristique de MYC qui coexiste avec son effet prolifératif puissant» (Rowe et al., 2009). Le(s) médiateur(s) viral(aux) putatif(s) de la complémentation MYC ne sont pas connus : le rôle d'EBNA1 dans ce cadre demeure controversé, BHRF1 a une activité anti-apoptotique, mais n'est exprimé que dans le sous-type Wp-restreint, et les fonctions des EBER, BART et le miRNA restent sous enquête dans ce contexte (Rowe et al., 2009; Young and Rickinson, 2004).

### **A.11.3 Carcinome du nasopharynx (NPC)**

L'infection par l'EBV des cellules épithéliales a été associée à diverses tumeurs, notamment le carcinome du nasopharynx (NPC), le sous-ensemble des adénocarcinomes gastriques et certains carcinomes de la glande salivaire (Raab-Traub, 2002). Quoique relativement rares, les NPC sont beaucoup plus fréquents dans certaines régions, comme dans le Sud-Est asiatique, au Maghreb, en Afrique de l'Est, au Groenland et en Alaska. Cette répartition géographique pourrait tenir à des habitudes alimentaires ou à une prédisposition génétique. La forme indifférenciée de NPC (OMS type III) est la plus systématiquement associée à l'EBV (Yu and Yuan, 2002). Les tumeurs du NPC contiennent typiquement un grand infiltrat lymphocytaire aux côtés des cellules du carcinome indifférencié. L'expression des gènes de latence de l'EBV dans le NPC (latence II) est principalement limitée à EBNA1, LMP2A et les transcrits BamH1A, tandis que près de 20% des tumeurs expriment la protéine LMP1 (Raab-Traub, 2002) et une minorité, expriment également des niveaux relativement faibles de LMP2B (Brooks et al., 1992). L'hybridation de l'ADN de NPC par Southern-blot confirme la monoclonalité virale, indiquant la présence de l'EBV, avant l'expansion du clone malin (Raab-Traub, 2002). Des études séro-épidémiologiques dans les régions à forte incidence ont montré que les titres élevés d'anticorps spécifiques de l'EBV, en particulier IgA dirigés contre l'antigène viral de capsid et les antigènes précoces ont prouvé leur utilité dans

le diagnostic et le suivi de l'efficacité du traitement (Young and Rickinson, 2004). Les carcinomes présentant des caractéristiques similaires à un NPC indifférencié, se produisant à différents sites anatomiques dont le thymus, les amygdales, les poumons et la peau, ont été désignés comme lympho-épithéliomes : ils sont aussi associés à l'EBV (Young and Rickinson, 2004).

## **A.12 Diagnostic**

En raison du polymorphisme des manifestations associées à EBV, le diagnostic de l'infection repose sur une stratégie différente en fonction de la situation clinique. Le diagnostic de primo-infection par l'EBV chez le patient immunocompétent est basé sur la mise en évidence d'un profil d'anticorps caractéristique. Le rôle de l'EBV vis-à-vis des manifestations atypiques peut être confirmé par la mise en évidence directe du virus dans un site particulier. Chez le patient immunodéprimé la réponse anticorps au cours de la primo-infection peut être atypique imposant la mise en évidence directe du virus (Erlich, 1987).

### **A.12.1 Test sérologique : détection des anticorps**

C'est une méthode qui analyse des marqueurs sérologiques permettant le diagnostic de primo-infection par l'EBV dans la majorité des cas. En effet, la cinétique de différents anticorps permet de dater l'infection. Les anticorps anti-capside (VCA), de classe IgM (anti-VCA-IgM), apparaissent environ 15 jours après le contact infectieux tandis que les IgG de même spécificité apparaissent quelques jours après les IgM. Ils sont présents dans la majorité des cas au moment de l'apparition des signes cliniques qui surviennent après une incubation d'environ un mois. Les anticorps anti-EBNA2 apparaissent précocement et sont détectés chez 30 % des patients au moment de l'apparition des symptômes. Les anticorps anti-EA (IgG et IgA) sont souvent présents lors de la phase aiguë tandis que les anticorps anti-EBNA1 apparaissent plus tardivement. Au décours de l'infection les anticorps anti-VCA et anti-EBNA persistent tandis que les anticorps anti-EA disparaissent. Ces derniers peuvent être détectés lors des réactivations virales (Hess, 2004; Svahn et al., 1997).

De nombreux réactifs permettant la détection des différents anticorps sont commercialisés. La méthode de référence reste l'immunofluorescence indirecte (IF) pour les anticorps anti-VCA et anti-EA ou l'immunofluorescence anti-complémentaire pour les anticorps anti-EBNA, réalisée sur des cellules exprimant les antigènes VCA, EA ou EBNA. Seul un pourcentage des cellules expriment ces antigènes ; la qualité des lames est variable et la lecture parfois difficile. Dans le cas de l'antigène EBNA plusieurs antigènes EBNA sont exprimés, en

particulier EBNA 1 et 2 ; les anticorps anti EBNA2 apparaissent précocement au cours de l'infection et les anticorps anti-EBNA1 sont plus tardifs. Des cellules exprimant uniquement EBNA1 ont été développées par transfection mais ne sont pas commercialisées.

Les techniques ELISA sont de plus en plus utilisées ; la préparation des antigènes est très variable, les antigènes natifs à partir des cellules infectées ou protéines recombinantes ou peptides. Les tests sont développés le plus souvent par comparaison avec les techniques d'IF ; toutefois des discordances sont observées en fonction des réactifs utilisés (Svahn et al., 1997).

Des immunoblots ont été développés. Ils permettent la détection simultanée de différents anticorps et les résultats sont corrélés à ceux obtenus par IF (Buisson et al., 1999). Mais ces techniques ne sont pas utilisées couramment pour le diagnostic.

La détection des anticorps hétérophiles, anticorps non spécifiques de l'EBV, de classe IgM dirigés contre des hématies de mouton, de cheval, ou de bœuf, détection s'effectuant après adsorption des anticorps anti-Forssman sur extrait de rein de cobaye, est simple et permet un diagnostic rapide de primo-infection par l'EBV. Ces anticorps peuvent persister 6 à 12 mois (Svahn et al., 1997). Toutefois ils sont inconstants : ils sont présents chez 85 à 90% des adolescents infectés, plus rarement chez le jeune enfant et le sujet âgé. De plus, ils sont présents chez 2 à 3% des patients avec une pathologie auto-immune. Ils témoignent de la stimulation polyclonale associée à l'infection par l'EBV. Même s'ils sont présents, le diagnostic de primo-infection par l'EBV doit être confirmé par la recherche d'anticorps spécifiques.

## **A.12.2 Les méthodes de biologie moléculaire.**

### **A.12.2.1 Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)**

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est la méthode de choix (Shibata et al., 1993). C'est une technique extrêmement sensible qui peut détecter une cellule infectée parmi  $10^6$  non infectées (Gulley et al., 1992). Mais la PCR n'identifie pas l'origine cellulaire des séquences spécifiques d'acides nucléiques de l'EBV, un signal positif peut représenter une infection répliquative ou latente dans la population des cellules néoplasiques ou dans un lymphocyte non néoplasique.

Pour palier à ce problème, c'est la PCR quantitative qui est désormais utilisée. C'est actuellement la meilleure technique qui permet de déterminer la charge virale ou la quantité de virus présente dans un échantillon biologique. Elle est surtout utilisée dans le suivi régulier



au niveau sanguin des patients immunodéprimés (greffés principalement) pour déterminer s'il y a réactivation. Un seuil de 1000 copies/mL est souvent retenu pour dire qu'il existe une réactivation significative.

#### **A.12.2.2 Hybridation in situ**

L'hybridation in situ (HIS), en particulier EBER-ARN HIS, est devenue la technique de référence pour la détection de l'EBV dans des biopsies et elle permet de déterminer si la tumeur est associée à l'EBV (Green and Eversole, 1989; Guarner et al., 1991; Hamilton-Dutoit et al., 1991; Hamilton-Dutoit et al., 1993; Pallesen et al., 1991; Shibata et al., 1993). Elle consiste en une perméabilisation des cellules dans des coupes de tissus par une protéase, suivie de l'hybridation de l'ARN à une sonde d'acide nucléique complémentaire marquée, dans le tissu. La sonde non hybridée est éliminée par lavage et la sonde qui a été hybridée à la cible d'intérêt est révélée (Knecht et al., 1993). L'avantage principal de l'HIS est sa capacité à fournir des informations sur la localisation de séquences spécifiques d'acides nucléiques au sein des cellules (Knecht et al., 1993; Uner et al., 1994). Elle peut être réalisée sur un tissu frais, congelé ou fixé, et seulement une petite quantité de l'échantillon est nécessaire (Uner et al., 1994).

### **A.13 Traitement**

L'EBV provoque la mononucléose infectieuse et la leucoplasie chevelue de la langue et il est associé à un certain nombre de tumeurs malignes. Cependant il n'y a pas de médicaments approuvés pour le traitement des maladies liées à l'EBV.

Les médicaments candidats pour le traitement de l'infection par l'EBV se répartissent en deux groupes. Le premier groupe comprend :

- des analogues acycliques de nucléosides, aciclovir, ganciclovir, penciclovir, ainsi que leurs prodrogues famciclovir (Vere Hodge et al., 1989), valaciclovir (Purifoy et al., 1993), valganciclovir (Jung and Dorr, 1999),
- des analogues acycliques de nucléotides, cidofovir (Snoeck et al., 1988) et adéfovir (Snoeck et al., 1988)
- des analogues de pyrophosphates, acides phosphonoformique (foscarnet) (Datta and Hood, 1981) et phosphonoacétique (Yajima et al., 1976) et éventuellement 4-oxo-dihydroquinolines (PNU-182171 et PNU-183792) (Brideau et al., 2002; Oien et al., 2002).

Tous ces composés ciblent l'ADN polymérase virale. Les analogues acycliques nucléosidiques ou nucléotidiques agissent à deux niveaux: en tant que substrats alternatifs compétitifs en concurrence avec GTP sur le site de liaison au substrat de l'ADN polymérase, et en tant que terminateurs de la chaîne d'ADN, par incorporation dans la chaîne naissante d'ADN et blocage de son élongation grâce à leur activité acyclique (De Clercq, 2004). Ces molécules nécessitent une phosphorylation et deviennent actifs sous forme tri-phosphorylée. Dans le cas des analogues nucléosidiques, la spécificité antivirale est basée en partie sur le fait que les kinases virales sont efficaces pour catalyser la première étape intracellulaire du métabolisme des médicaments (mono-phosphorylation), et que ces composés sont spécifiques. L'EBV code deux kinases: la thymidine kinase (produit du gène BXLF1) et une protéine kinase (produit du gène BGLF4). Cependant, contrairement à tous les autres herpèsvirus, on ne sait pas laquelle de ces enzymes est responsable de la mono-phosphorylation et de l'activation de ces analogues nucléosidiques (Gustafson et al., 1998; Moore et al., 2001). La spécificité est aussi conférée par la cible de ces médicaments, l'ADN polymérase virale. L'acide phosphonoacétique interagit directement avec le site de liaison pyrophosphate de l'enzyme.

Le deuxième groupe contient des composés de nature mixte ayant une structure distincte, comme le maribavir (Townsend et al., 1999), la  $\beta$ -L-5-iododioxolane uracile (Kira et al., 2000) et l'indolocarbazole NIGC-I (Gershburg et al., 2004; Zimmermann et al., 2000). Tous les composés précédents sont de puissants inhibiteurs de la réplication de l'EBV, mais la toxicité varie selon les produits, ce qui a été montré, chez des jeunes en bonne santé ou atteints de MNI.

Les antiviraux qui ont été utilisés jusqu'à présent pour inhiber la réplication de l'EBV, appartiennent au premier groupe ciblant l'ADN polymérase virale. Malgré leur puissance *in vitro*, ces médicaments ont une utilisation limitée *in vivo* dans le traitement de l'infection primaire aiguë par l'EBV ainsi que dans les tumeurs malignes associées à l'EBV.

Tous ces composés présentent un certain nombre d'inconvénients: effets secondaires toxiques, mauvaise biodisponibilité orale et risque d'émergence de souches virales résistantes. Ces effets ont stimulé la recherche de nouveaux composés plus spécifiques dans leur action antivirale et ne présentant pas les inconvénients des médicaments utilisés actuellement. Il convient de noter, cependant, étant donné que les maladies liées au cycle lytique de l'EBV se produisent moins fréquemment que pour les autres herpèsvirus, que cette recherche a été principalement dirigée vers l'herpèsvirus simplex de type 1 (HSV-1), le HSV-2, le virus de la

varicelle et du zona (VZV) et le cytomégalo virus humain (HCMV), et seuls les candidats de premier plan ont été testés pour leur efficacité possible dans le traitement des infections par l'EBV. Cette approche réduit un peu le nombre total de molécules antivirales testées, et réduit la sélection de celles qui sont potentiellement plus efficaces.

Cette recherche a abouti à un certain nombre de nouveaux composés qui montrent des modes d'action uniques. Des études antérieures avec le benzimidazole D-ribonucléosides 2,5,6-trichloro-1-β-D-ribofuranosylbenzimidazole (TCRB) et le 2-bromo-5,6-dichloro-1-β-D-ribofuranosylbenzimidazole (BDCRB) ont démontré l'efficacité de ces molécules dans l'inhibition de la réplication du HCMV (Townsend et al., 1995). Cependant, ils n'ont pas inhibé la réplication de l'EBV (Zacny et al., 1999). Ces composés empêchent le traitement et la maturation de l'ADN viral concatémère en génome monomérique (Krosky et al., 1998; Underwood et al., 1998). La demi-vie plasmatique courte de ces composés a conduit à la conception d'analogues supplémentaires, y compris le maribavir (Townsend et al., 1999), qui, contrairement au BDCRB est un L-ribonucléoside.

## B. La Protéine LMP1

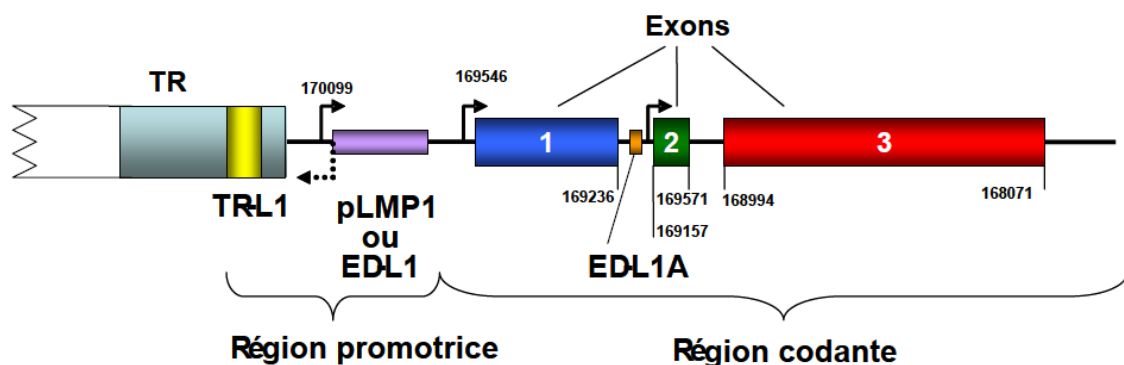
La protéine virale LMP1 est décrite comme impliquée dans le processus d'immortalisation des cellules par l'EBV, du fait de sa capacité à transformer les cellules. Kaye et al., 1993 ont réalisé une étude sur des cellules exprimant LMP1 qui sont par la suite injectées dans des souris nude ce qui a induit l'apparition de tumeurs.

En outre, la protéine LMP1 a été identifiée dans des biopsies de patients atteints de LH ou de NPC. Ceci confirme donc l'implication de LMP1 dans les maladies associées à l'EBV.

### B.1 Le gène BNLF1

#### B.1.1 Structure génétique

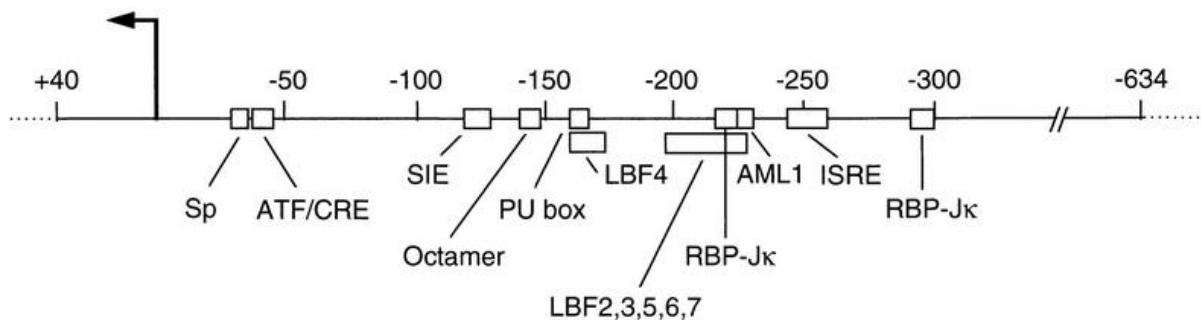
Le gène codant la protéine LMP1 est *BNLF1*. Il est constitué de trois exons. Deux promoteurs contrôlent son expression pendant la phase de latence : le promoteur ED-L1 (*EcoRI*D fragment-located LMP-1 promoter) et le promoteur TR-L1 (Terminal Repeat-located LMP-1 promoter). A partir de ces deux promoteurs, deux transcrits sont produits. Le premier est initié à partir d'ED-L1, il fait 2,8 kb et l'autre est initié à partir de TR-L1, il fait 3,5 kb. Un autre promoteur situé dans le premier intron du gène *BNLF1*, appelé ED-L1A, est actif lors de la phase lytique et permet l'expression d'une protéine tronquée appelée lyLMP-1. Cette forme est traduite à partir du site d'initiation interne situé au niveau de la méthionine 129 (Figure17).



**Figure 17 :** Structure schématique du gène BNLF1. Le gène BNLF1, retrouvé au niveau de la région U5, est constitué de trois exons codant les différents domaines de la protéine LMP1 : exon 1, nucléotides 169546 à 169236 ; exon 2, nucléotides 169157 à 169071 ; et exon 3, nucléotides 168994 à 168071. TR-L1, ED-L1 et ED-L1A sont les trois promoteurs fonctionnels.

### B.1.2 Régulation de l'expression de LMP1

Le promoteur ED-L1 dirige l'expression de LMP1 dans les LCL (latence de type III). C'est un promoteur bidirectionnel qui dirige aussi l'expression de LMP2B. Le principal transactivateur est la protéine EBNA2 (Wang et al., 1990). Différents sites de fixation pour des facteurs de transcription sont décrits (Figure 18), de l'amont vers l'aval : deux sites de fixation pour la protéine RBP-J $\kappa$ , un élément de réponse ISRE (Interferon-Stimulated Response Element), un site de fixation à AML1 (Acute Myeloid Leukemia 1 ou RUNX1 RUNT-related Transcription Factor 1), un site de fixation à SPI1 (Spleen focus forming virus (SFFV) Proviral Integration) appelé PU-box (PURinerich), deux sites de fixation à AP-2 (Activating Protein 2), un site de fixation à NF $\kappa$ B, un site de fixation E-box (site consensus : CANNTG) permettant la fixation de facteurs à domaine BR-HLH (Basic Region-HelixLoopHelix) tels que Myc/Mad/Max, un site de fixation ATF/CRE (Activating Transcription Factor / Cyclic AMP Response Element) et un site de fixation au facteur de transcription Sp1 (site CpG) (Jansson et al., 2007; Johansson et al., 2009; Sjoblom et al., 1998).



**Figure 18** : Séquences régulatrices du promoteur ED-L1, d'après (Sjoblom et al., 1998).

L'ARNm LMP1 de 2.8kb est exprimé à partir du site ED-L1 après activation de la transcription par la protéine EBNA2, qui interagit avec des facteurs de transcription cellulaires tels que le répresseur RBP-J kappa (CBF1 - impliqué dans la voie de signalisation Notch) et PU-1 (SPI1). Les deux protéines cellulaires se lient à des sites distincts dans le promoteur de LMP1 (Abbot et al., 1990).

En revanche, la régulation de l'expression de LMP1, EBNA2 indépendante par le promoteur L1-TR est moins bien comprise. PL1-TR est le promoteur le plus distal, situé à l'extrémité TR du génome viral. Il est transcriptionnellement actif dans les cellules épithéliales (latence de type II), comme démontré dans les NPC (Gilligan et al., 1990; Sadler and Raab-Traub, 1995), et il semble positivement régulé dans certains cas de BL et de LH (Chen et al., 2001). Sadler et al. ont détecté l'initiation de la transcription dans les premiers TR et non dans les éléments

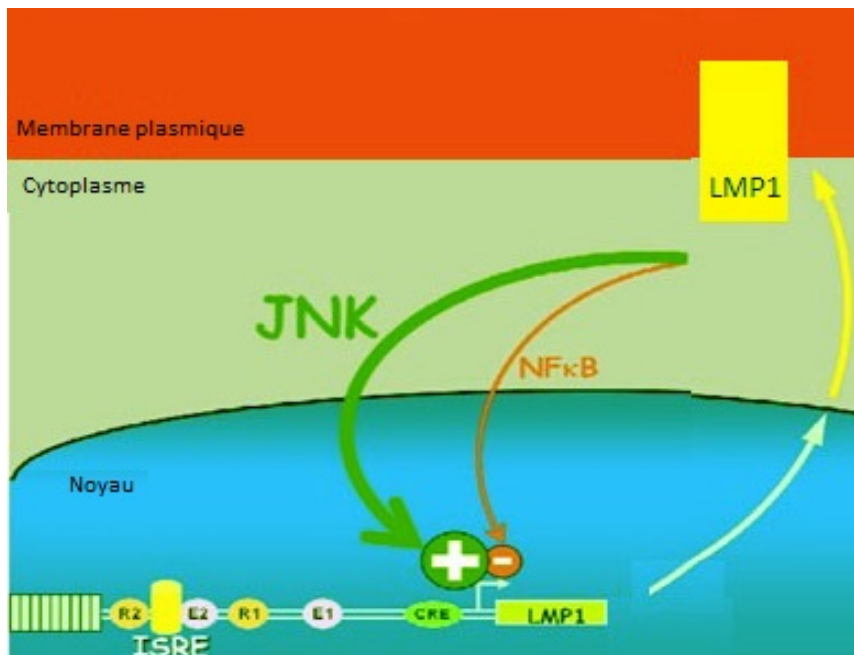
distaux suggérant que des séquences uniques adjacentes à ces TR contribueraient à l'activité promotrice (Sadler and Raab-Traub, 1995). Cette région contient des éléments riches en GC qui peuvent interagir avec le facteur de transcription sp1.

Les deux promoteurs ED-L1 et L1-TR de LMP1 répondent à l'activation de la voie JAK / STAT (Chen et al., 2003). Ceci est en accord avec le fait que STAT régule positivement la transcription d'EBNA1 médiée par Qp (Chen et al., 1999). Plus précisément, STAT3 est impliqué en tant que candidat pour l'activation des promoteurs Qp et L1-TR (Chen et al., 2001).

La perturbation de la fonction du réticulum endoplasmique ou de l'homéostasie induit un stress qui se manifeste par l'activation d'une réponse de protéines dépliées dans les cellules stressées. Ce type de réponse est de plus en plus suspecté jouer un rôle dans les cancers. Ainsi, la protéine non repliée XBP-1 est capable de se lier et de transactiver le promoteur L1-TR entraînant une production de LMP1 (Hsiao et al., 2009).

Le promoteur transcriptionnel pL1-TR serait activé de manière prédominante dans les cellules NK EBV<sup>+</sup> exprimant LMP1, et aussi dans les lymphocytes T des syndromes lymphoprolifératifs. L'expression de LMP1 dans les lignées cellulaires NKTL peut être régulée par des cytokines comme l'IL10, un puissant activateur de STAT3 (Kis et al., 2006), l'IL15 et l'IFN $\gamma$  (Takahara et al., 2006). Ces cytokines ne sont pas suffisantes pour la prolifération de ces cellules en absence d'IL2. Des travaux récents réalisés sur des lignées de BL ont constaté que l'IL21 pourrait induire une expression puissante de LMP1 (en l'absence d'EBNA2), avec une majorité d'ARNm LMP1 provenant du promoteur ED-L1 (Kis et al., 2010). Il est possible de dire que si la protéine LMP1 est associée à la latence de type II de l'EBV, son expression semble être dynamique et influencée par des signaux extracellulaires.

Goormachtigh *et al.* ont démontré que LMP1 est capable de réguler l'activité de son propre promoteur par l'induction des voies JNK et NF- $\kappa$ B dans un modèle cellulaire de latence de type II (figure 19) (Goormachtigh et al., 2006).

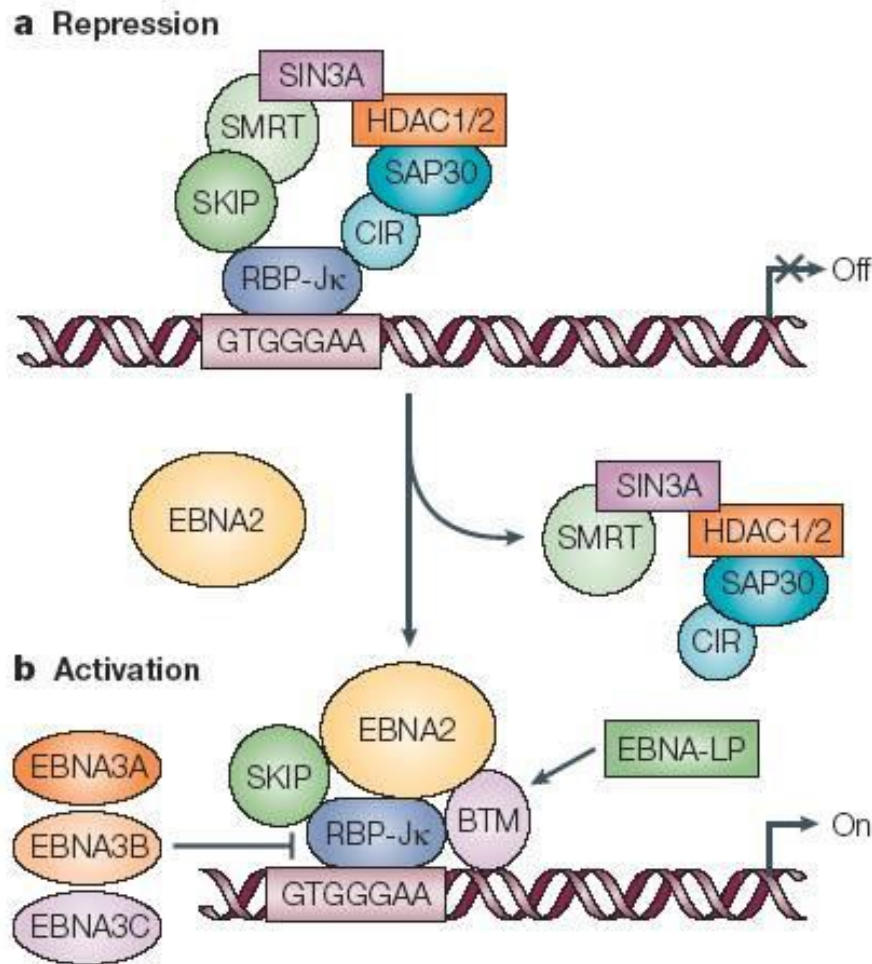


**Figure 19** : Modèle illustrant un mécanisme d'autorégulation de la protéine LMP1. Régulation du promoteur de LMP1 par induction des voies de signalisation JNK et NFκB, d'après (Goormachtigh et al., 2006).

L'expression du LMP1 est contrôlée par EBNA2 qui agit principalement comme un activateur de transcription *via* son interaction avec la protéine RBP-Jk. Elle lève la répression de la transcription médiée par un grand complexe multiprotéique composé de SMAT, Sin3A, HDAC1 et HDAC2 (Wang et al., 1990). SKIP est une autre protéine qui se lie à la protéine RBP-Jk qui interagit également avec le complexe co-répresseur SMRT-HDAC. EBNA2 abolit la répression de RBP-J médiée par une compétition du complexe co-répresseur SMRT-HDAC en se liant à la fois aux protéines RBP-J et SKIP130 (figure 20a).

Le domaine acide d'EBNA2 recrute ensuite la machinerie de transcription basale (TFIIB, TFIID et p300; non représenté) pour activer la transcription. EBNA-LP interagit avec EBNA2 dans l'activation transcriptionnelle de RBP-Jk médiée par l'interaction avec le domaine d'activation acide d'EBNA2 (Wang et al., 1990). La famille de protéines EBNA3 module l'activation de RBP-Jk médiée par EBNA2 *via* son interaction avec RBP-Jk et la compétition pour la liaison et l'activation par EBNA2. L'homologue de la RBP-Jk chez la drosophile est impliqué dans la transduction du signal du récepteur Notch, une voie qui est importante pour la détermination du devenir cellulaire chez la drosophile et a également été impliquée dans le développement de tumeurs des cellules T chez l'homme (Artavanis-Tsakonas et al., 1995). Fonctionnellement la protéine EBNA2 peut remplacer la région intracellulaire de Notch (Sakai et al., 1998). La protéine BTM est une machinerie basale de transcription qui interagit d'une part avec la protéine CIR et d'autre part avec la protéine RBP-Jk. C'est deux dernières

fixent le co-répresseur; SAP qui est une protéine associée à SIN3 (Eliopoulos et al., 1997) (figure 20b).



**Figure 20** : Régulation de l'expression de LMP1 par EBNA2.

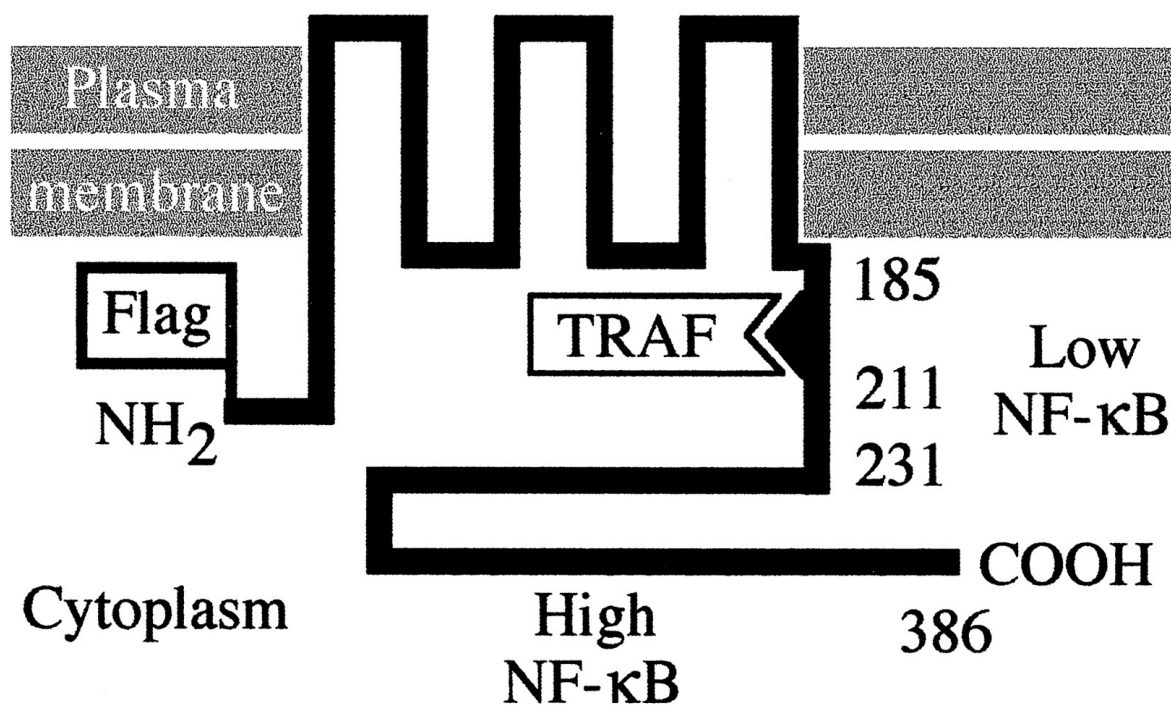
## B.2. Structure

La prédiction protéique à partir de l'ORF montre que LMP1 est composée de six domaines transmembranaires hydrophobes, d'une extrémité amino-terminale et d'une extrémité carboxy-terminale (figure 21). L'utilisation d'un anticorps monoclonal S12, a confirmé que LMP1 est distribuée à travers la membrane cytoplasmique et est retrouvée dans le plasma, où elle forme des agrégats visualisables (Liebowitz et al., 1986; Mann et al., 1985).

Une caractérisation plus poussée de la structure a confirmé que LMP1 est une protéine membranaire de 63 kDa composée de 386 aa. Elle définit trois domaines distincts : la queue



amino-terminale cytoplasmique (1-23 aa) qui se fixe à la membrane plasmique et oriente la protéine, six boucles transmembranaires hydrophobes (24-186 aa) qui sont impliquées dans l'homo-oligomérisation et l'auto-agrégation, une partie cytoplasmique carboxy-terminale allongée (187-386 aa) qui gère la plupart de l'activité de signalisation de la molécule (Eliopoulos and Young, 2001).



**Figure 21** : Structure schématique de la protéine LMP1 d'après (Izumi et al., 1997).

Les analyses mutationnelles de LMP1 indiquent que la partie C-terminale cytoplasmique et le domaine transmembranaire 1 (TM1) sont essentiels pour la transformation des cellules B (Kaye et al., 1993; Kaye et al., 1995). La délétion de l'extrémité N-terminale cytoplasmique n'a par contre pas empêché la transformation (Izumi et al., 1994). *In vivo*, la survenue de lymphomes chez des souris transgéniques exprimant LMP1 sous le promoteur de la chaîne lourde d'Ig monoclonales des cellules B, a confirmé le potentiel oncogène de cette seule protéine virale (Kulwichit et al., 1998).

### B.2.1 Le domaine amino-terminal

Le domaine amino-terminal cytoplasmique est constitué de 24 acides aminés (MEHDLERGPPGPRRPPRGPLSSS). Plusieurs études ont montré que ce domaine interagit avec le premier domaine transmembranaire pendant le processus transformant de LMP1 (Izumi et al., 1994). La délétion de l'extrémité N-terminale cytoplasmique n'a pas empêché la transformation. Enfin, des données *in vitro* et *in vivo* ont montré que ce domaine sert de site

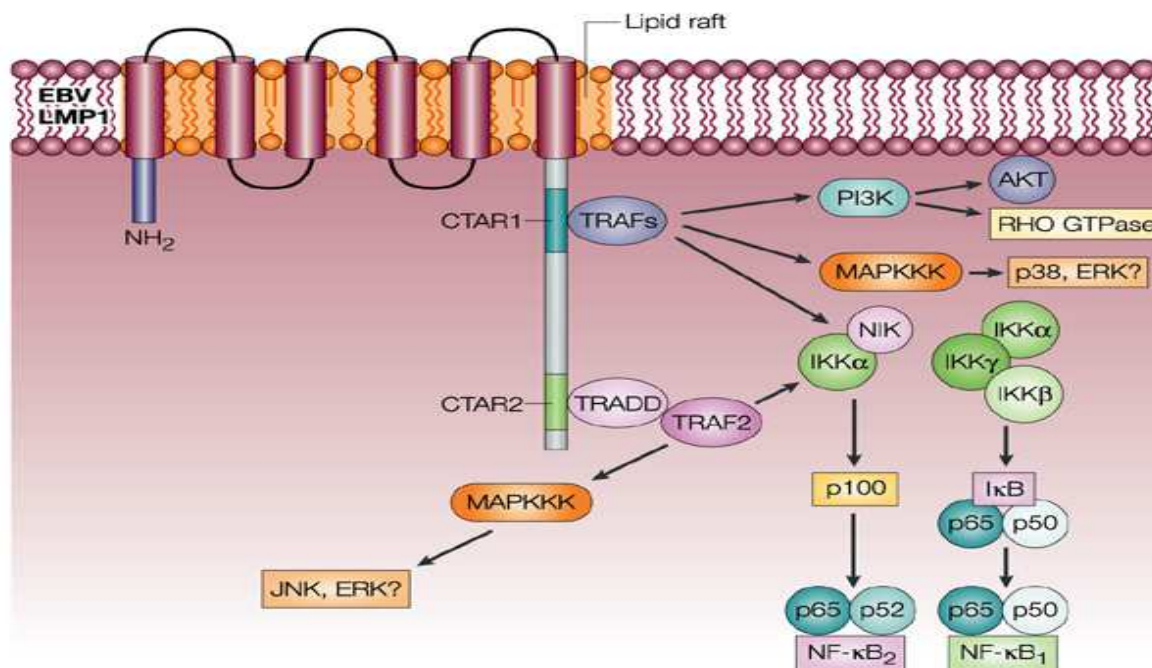
d'ubiquitylation pour permettre la dégradation de LMP1 par le protéasome (Aviel et al., 2000). Ce domaine oriente la protéine à la membrane ce qui est nécessaire à son agrégation (Coffin et al., 2001).

### **B.2.2 Les 6 domaines transmembranaires**

Les domaines transmembranaires (TM) permettent la localisation de la protéine LMP1 dans la membrane cellulaire au niveau des radeaux lipidiques, ce qui favorise ainsi l'agrégation et la signalisation de LMP1 (Ardila-Osorio et al., 1999). Soni et al. ont montré que les quatre acides aminés du TM1 (<sub>38</sub>FWLY<sub>41</sub>) et l'acide aminé <sub>98</sub>W du TM 3 sont essentiels à l'association des domaines TM 1 et 2 avec les domaines TM 3 à 6 (soni et al., 2006). De même, un motif de 6 résidus leucine (<sub>29</sub>LLLLLL<sub>34</sub>) dans le TM1 contribue à l'agrégation de LMP1. L'auto-agrégation et la localisation de LMP1 dans les radeaux lipidiques semblent donc nécessaires au recrutement des protéines adaptatrices et à l'activation de la voie NFκB (Song et al., 2006). Les domaines TM de LMP1 entraîneraient une altération morphologique cellulaire suite à une réorganisation du cytosquelette (Puls et al., 1999). Enfin les domaines TM et le domaine amino-terminal seraient responsables de la prolifération cellulaire et de l'inhibition de l'expression de certains gènes cellulaires (Kaykas and Sugden, 2000).

### **B.2.3 Le domaine carboxy-terminal**

Le domaine cytoplasmique carboxy-terminal est formé de 200 acides aminés. L'oligomérisation du domaine C terminal est nécessaire à la signalisation induite par LMP1 (Gires et al., 1997). Ce domaine est constitué de trois sous-domaines essentiels appelés Carboxy-Terminal Activating Regions (CTAR) (Gires et al., 1999; Huen et al., 1995). La région CTAR1 se situe entre les acides aminés 187 à 231 et la région CTAR2 entre les acides aminés 352 à 386. La troisième région, CTAR3, se situe entre les acides aminés 232 et 350. CTAR1 et CTAR2, contrairement à CTAR3, sont essentielles à l'immortalisation du lymphocyte B (Izumi and Kieff, 1997). La signalisation de LMP1 se fait par l'intermédiaire des CTAR et grâce au recrutement des adaptateurs TRAF (TNF Receptor Associated Factors), TRADD (TNF Receptor-Associated Death Domain) et RIP (Receptor Interacting Protein). LMP1 induit plusieurs voies de signalisation impliquées dans la survie et l'apoptose de la cellule : les voies classique et alterne d'activation de NFκB, la voie JNK (c-Jun amino-terminal Kinase), la voie p38 MAPK (p38 Mitogen Activated Protein Kinase), la voie ERK (Extracellular signal-regulated Kinase), la voie de la PI3K (Phosphatidylinositol 3 Kinase) et la voie des JAK-STAT (Janus Activated Kinase - Signal Transducers and Activators of Transcription) (figure22).



**Figure 22** : Structure et fonctions de la protéine LMP1. LMP1 est une protéine composée d'une région N-terminale cytoplasmique, de 6 domaines transmembranaires et d'une partie C-terminale cytoplasmique constituée de deux régions CTAR (C Terminal Activating Region) qui sont responsables du recrutement de TRAF et TRADD. Ces protéines permettent par la suite l'activation des voies PI3K, MAPK et NFκB (Young and Rickinson, 2004).

#### B.2.4 Forme lytique de la protéine LMP1

Ce variant, appelé lyLMP1, est à l'origine d'une forme tronquée de la protéine qui correspond à la délétion complète de la partie amino-terminale et des 4 premiers domaines transmembranaires de LMP1. Elle est traduite à partir du site d'initiation interne qui est situé au niveau de la méthionine 129 ( $_{129}\text{Met}$ ). Cette forme de protéine LMP1 est détectée très tôt lors de l'infection par l'EBV et pourrait être présente dans le virion (Erickson and Martin, 1997). Dans les cellules épithéliales, lyLMP1 n'est pas oncogène et inhibe la voie de signalisation NFκB induite par LMP1 sans perturber l'oligomérisation de cette dernière (Erickson and Martin, 2000). Donc, lyLMP1 inhibe les propriétés oncogènes de LMP1 et diminue sa demi-vie (Pandya and Walling, 2004; Pandya and Walling, 2006). Les résultats sur cette forme tronquée sont en faveur d'un modèle où lyLMP1 serait un dominant négatif naturel de LMP1. L'expression de LMP1 est inversement proportionnelle à celle de lyLMP1, comme il a pu être montré par des expériences de transfection transitoire. Ainsi, lyLMP1 favoriserait la progression du cycle lytique en levant l'inhibition du cycle lytique induite par LMP1 (Erickson and Martin, 2000). De plus, le modèle LMP1-31 CT (délété des parties amino-terminale et transmembranaire) élaboré par le groupe de Jean Coll à Lille, suggère que la protéine tronquée capte les protéines adaptatrices dans le cytoplasme mais ne traduit pas le signal, car la protéine ne s'oligomériser pas (Adriaenssens et al., 2004).

### B.3 LMP1 et voies de signalisation

Des études faites sur les lymphocytes B ont montré que LMP1 a des effets pléiotropes sur le phénotype de ces cellules, et qu'elle entraîne l'expression de molécules d'adhésion, et la régulation positive de protéines anti-apoptotiques (comme par exemple Bcl2) (Yoshiyama et al., 1997). Des études réalisées sur des souris transgéniques pour LMP1, ont montré que cette protéine induit à la fois des signaux de croissance et de différenciation des cellules B (Uchida et al., 1999). LMP1 active un grand nombre de voies de signalisation, comme déjà mentionné (Gires et al., 1997; Mosialos et al., 1995) et entraîne l'activation constitutive du récepteur du facteur de nécrose tumorale (TNFR). LMP1 ne partage pas d'homologie de séquence, mais plutôt de propriétés fonctionnelles avec d'autres protéines, comme par exemple avec la protéine CD40, membre de la "super famille" des récepteurs au TNF $\alpha$ .

Il a été décrit que LMP1 active une cascade de signalisations qui induisent la dégradation de I $\kappa$ B $\alpha$ , inhibiteur du facteur NF $\kappa$ B. Ce dernier, ubiquitaire, est impliqué dans de nombreux processus cellulaires comme la prolifération, l'apoptose et la réponse immunitaire (figure 24). Cette cascade est similaire à celle induite par le TNF $\alpha$ . Classiquement, après liaison du ligand TNF $\alpha$ , le récepteur de TNF, TNF-R1 recrute TRADD et par la suite TRADD recrute RIP et TRAF2. TNF-R2 recrute directement TRAF1 recrutant à son tour TRAF2. TRAF2 à son tour initie une cascade de kinases (kinase NIK-like et le complexe kinase I $\kappa$ B contenant IKK $\alpha$  et GIQF) afin d'activer NF $\kappa$ B (NIK). Le complexe IKK- $\alpha/\beta$  activé peut phosphoryler I $\kappa$ B $\alpha$  sur les sérines 32 et 36 ce qui entraîne son ubiquitination et par la suite sa dégradation par le protéasome. NF $\kappa$ B est donc libéré et va diffuser vers le noyau où il se lie aux régions promotrices/régulatrices de nombreux gènes.

Les domaines TES1/CTAR1 et TES2/CTAR2 de LMP1 activent NF $\kappa$ B. A partir du domaine CTAR1/TES1, LMP1 peut induire également une voie d'activation de NF $\kappa$ B par un processus non-canonique (figure 25). CTAR1/TES1 interagit donc avec les protéines TRAF1, TRAF2, TRAF3 et TRAF5. Seule TRAF3 est indispensable à l'activation de la voie NF $\kappa$ B dans les lymphocytes B (Xie et al., 2008). Cette protéine recrute la kinase NIK (*NF $\kappa$ B-Inducing Kinase*), qui va activer par la suite la kinase IKK $\alpha$  *via* une phosphorylation de résidus sérine. A son tour, IKK $\alpha$  phosphoryle p100 (NF $\kappa$ B2) induisant ainsi la fixation de la sous-unité active p52 avec les sous-unités RelA ou RelB (Luftig et al., 2004). En plus, les protéines STAP-2 et BS69 régulent négativement la signalisation *via* TRAF3 et *via* TRADD. Le domaine intermédiaire, CTAR3, permettrait le recrutement de la protéine kinase JAK3 (figure 23).

De manière plus large, les virus EBV présentant des mutations de LMP1 dans les domaines CTAR1/TES1 ont une capacité réduite à activer NFκB. Les EBV recombinants qui sont construits avec les mêmes mutations, sont défectueux pour transformer les lymphocytes B. Ces résultats relient la transformation par l'EBV à l'activation médiée par NFκB. Ainsi, la délétion des acides aminés 185-211 empêche la liaison de TRAF au domaine CTAR1/TES1 et abolit l'activation de NFκB par le domaine CTAR1/TES1, mais elle n'affecte pas l'activation médiée par CTAR2/TES2 *via* TRADD. Les recombinants EBV qui possède cette délétion dans le domaine CTAR1/TES1 sont incapables de transformer les lymphocytes B.

L'activation de NFκB médiée par CTAR1/TES1 est donc critique pour la transformation des lymphocytes B. Des recombinants qui n'expriment que l'extrémité N-terminale de LMP1 et les six domaines transmembranaires (appelés MS187) ou cette même région et CTAR1/TES1 (appelés mutants MS231) ont été construits (Kaye et al., 1995). Les virus MS187 étaient incapables de croître sans l'aide de virus sauvages, alors que les MS231 pouvaient transformer des lymphocytes B primaires cultivés sur une monocouche de fibroblastes (Kaye et al., 1995). Ces résultats montrent que la région 232-386, absente de MS187, est nécessaire pour la croissance et que la signalisation induite par la liaison aux protéines TRAF (mutant MS231) entraîne une modification suffisante pour établir la transformation.

En outre, le domaine CTAR2/TES2 lie les protéines TRADD et RIP, qui vont à leur tour recruter TRAF2 et TRAF5. Par ailleurs, LMP1 se fixe à TRAF6, protéine impliquée dans la signalisation du récepteur de l'IL1 (IL1-R) (Luftig et al., 2003). Ensuite, TRAF6 recrute un complexe protéique constitué de TAB1, TAB2 et TAK1. Ce complexe active par phosphorylation le complexe des kinases IKK (IKKα/IKKβ/IKKγ) (figure26). La surexpression de mutants dominants négatifs de TRAF2, NIK, IKKα et GIQF peut inhiber l'activation de NFκB induite par LMP1 (Izumi and Kieff, 1997).

En prenant en compte toutes ces données, il semble clair que LMP1 utilise sa position au sein de la membrane plasmique pour agir sur de nombreuses voies de signalisation et ainsi influencer un grand nombre de gènes cellulaires afin de promouvoir la transformation des cellules B et des cellules épithéliales.

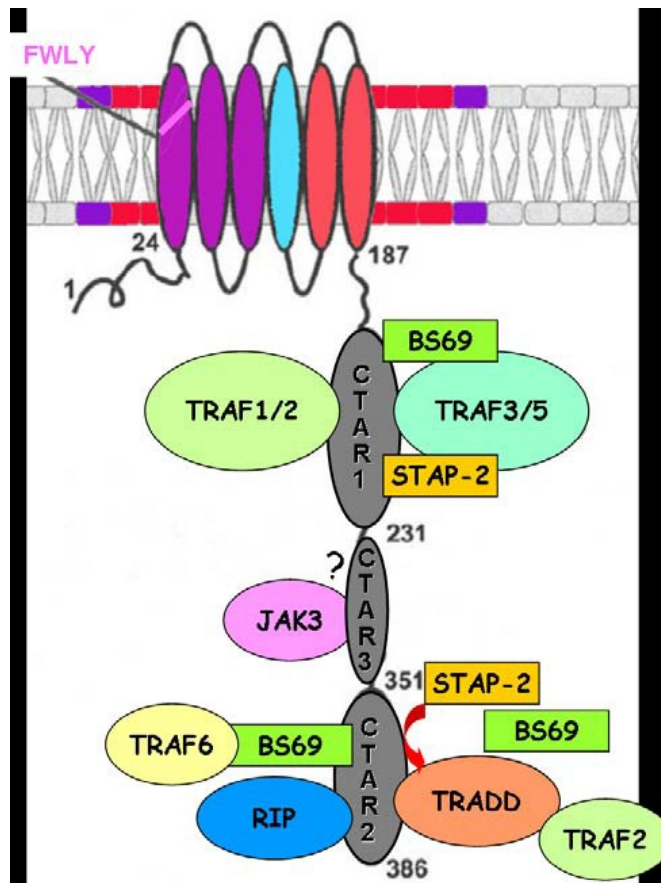
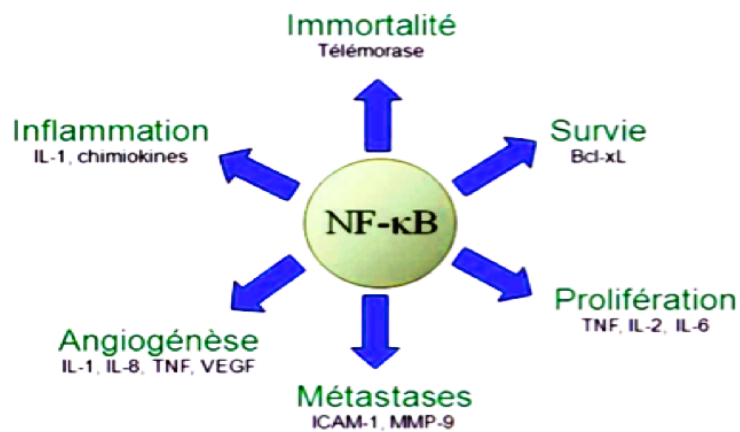


Figure 23 : Représentation schématique du recrutement des protéines TRAF par LMP1 (Mosialos, 2001).



**Figure 24** : Processus cellulaires induits par la voie NFκB. Le facteur NFκB régule l'activité transcriptionnelle de chacun des gènes responsables des processus cellulaires physiologiques et pathologiques : survie, prolifération, angiogénèse, métastase, inflammation et immortalité.

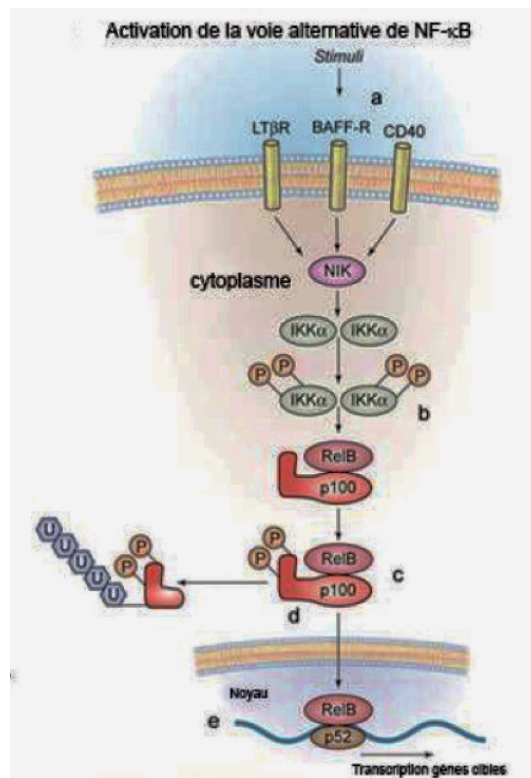


Figure 25 : Schéma de l'activation de la voie non-canonique par LMP1 (Jost and Ruland, 2007).

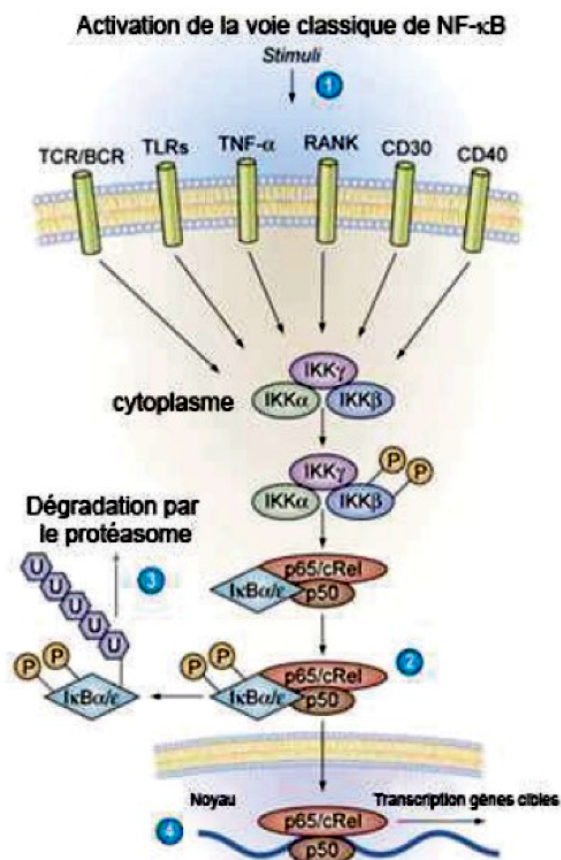


Figure 26 : Schéma de l'activation de la voie canonique par LMP1 (Jost and Ruland, 2007).

## **B.4 Propriétés fonctionnelles de la protéine**

### **B.4.1 LMP1 induit des altérations phénotypiques**

Des études ont démontré que LMP1 est impliquée dans l'expression de plusieurs protéines importantes de l'activation immunitaire. En premier lieu LMP1 active l'expression du CMH de classe I (Zhang et al., 1994) et elle induit aussi l'activation de plusieurs antigènes activateurs des lymphocytes B : les CD21 (récepteur de l'élément C3d du complément), CD23 (récepteur de basse affinité des IgE), CD80 et CD83 (molécules de co-stimulation des lymphocytes B) (Dudziak et al., 2003), CD30 (membre de la famille du TNF-R1), CD39, CD40 et CD44. Elle active aussi des transporteurs d'antigènes TAP1 et TAP2 (*Transporter-associated with Antigen Processing 1 and 2*), régulant l'immunogénicité des cellules infectées. En outre, LMP1 induit une surexpression de molécules d'adhésion qui servent à l'activation des cellules immunitaires comme LFA1/CD11, LFA3/CD58, ICAM1/CD54, et de molécules anti-apoptotiques comme Bcl2 (Henderson et al., 1991) ou A20 (Laherty et al., 1992).

### **B.4.2 LMP1 régule l'expression et la production de cytokines**

LMP1 induit l'expression des chimiokines CCL3, CCL4, CCL5, CCL20, IP10. Les chimiokines sont des cytokines de petite taille (8 à 16 kDa) et leur rôle est de recruter les cellules du système immunitaire. Ces chimiokines attirent les lymphocytes T et les cellules NK, éliminant ainsi les cellules infectées (Nakayama et al., 2004). Cependant, LMP1 contrôle également l'expression de CCL17 et CCL22 qui attirent des lymphocytes T en particulier, les lymphocytes T régulateurs (Nakayama et al., 2004), permettant aux cellules infectées d'échapper au système immunitaire. De plus, LMP1 induit l'expression et la sécrétion de RANTES (ou CCL5). Ce dernier se fixe sur son récepteur CCR5, présent sur les monocytes, les éosinophiles ainsi que sur les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et les LCL (Uchihara et al., 2005).

LMP1 contrôle l'expression de certaines interleukines (IL10, IL6, IL8, TNF $\alpha$ ). L'IL10 est une interleukine immunosuppressive impliquée dans l'expression de LMP1 (Lambert and Martinez, 2007), alors que l'IL6, l'IL8 et le TNF $\alpha$  sont des cytokines pro-inflammatoires qui maintiendraient un état d'inflammation chronique propice à la survie de la tumeur (Aarts and van Schagen, 2006).

### **B.4.3 LMP1 contribue au pouvoir métastatique des cellules infectées**

Les capacités métastatiques et invasives des cellules infectées par l'EBV, notamment



les cellules de carcinome du rhinopharynx, sont accrues par l'expression de LMP1 (U et al., 2008). L'action de LMP1 se situe à trois niveaux :

- Certains facteurs angiogéniques sont induits par LMP1 (HIF1 $\alpha$ , VEGF, FGF2, COX2) et pourraient contribuer au processus de métastases (A et al., 2008),
- LMP1 régule l'expression de métalloprotéases MMP (Matrix Metallo Proteases) comme MMP9 (Muroso et al., 2000), ou MMP1. Ces MMP sont nécessaires au remodelage et à la dégradation de la matrice extracellulaire (collagène) préalable à l'invasion cellulaire. L'activateur du plasminogène de type urokinase (uPA, urokinase-type Plasminogen Activator) et la mucine MUC1 sont deux autres protéines régulées par LMP1 qui semblent jouer un rôle important dans ce processus (Park et al., 2000),
- Enfin, LMP1 est capable d'inhiber l'expression des suppresseurs de métastases RECK1 et de l'E-cadhérine (Hayashi et al., 2003). RECK1 (RE version inducing Cysteine-rich protein with Kazal motifs 1) bloque l'activité des MMP2 et MMP9 (Ala-Aho et al., 2002). L'E-cadhérine est une protéine d'adhérence assurant le contact intercellulaire qui est réprimée dans de nombreux cancers agressifs. La répression de l'E-cadhérine augmente la capacité migratoire des cellules de CRP (Tsai et al., 2002).

#### **B.4.4 Expression de LMP1 et fonction des lymphocytes T et NK**

Les études portant sur le rôle de l'expression de LMP1 dans les cellules T sont limitées à des modèles *in vitro*, comme l'expression de LMP1 dans des lignées T lymphoblastiques EBV-négatives (Chuang et al., 2005; Kaplan et al., 1974; Lay et al., 2003). Très peu d'études ont été réalisées sur les cellules NK. Une observation initiale d'une infection *in vitro* de ces lignées par l'EBV a conduit à une augmentation de l'expression de TNF- $\alpha$  ; il a ensuite été démontré que la protéine responsable était LMP1 (Lay et al., 2003). D'autres travaux complémentaires sur la pathogenèse de l'EBV dans la lymphohistiocytose hémophagocytaire HLH (Hemophagocytic Lymphohistiocytosis) ont démontré que les cellules T qui expriment LMP1 étaient relativement résistantes à l'apoptose induite par le TNF $\alpha$ . Cette résistance pourrait être due à la régulation négative du TNFR1. En outre, la protéine TRADD avait été recrutée d'une manière constitutive par LMP1 dans les cellules T, ce recrutement étant accompagné par une suppression de l'activité des caspases apoptotiques (Ardila-Osorio et al., 2005). Ces résultats suggèrent un mécanisme potentiel par lequel les cellules T exprimant LMP1 dans l'HLH liée à l'EBV pourraient échapper aux modifications induites par les cytokines, mais il faut noter que le modèle de l'expression des gènes de l'EBV dans l'EBV-

HLH n'a pas été clairement élucidé (Yoshioka et al., 2003). LMP1 peut inhiber au niveau transcriptionnel l'expression de SAP/SH2D1A et activer les molécules en aval ERK et IFN $\gamma$  (Chuang et al., 2005). Les signaux médiant cette activation agissent *via* la voie TRAF2-TRAF5/NF $\kappa$ B, et le répresseur transcriptionnel ATF5 (Chuang et al., 2008). Un dominant TRAF2/5 négatif et un inhibiteur de NF $\kappa$ B peuvent restaurer l'expression de SAP et diminuer l'expression de l'IFN $\gamma$ . La suppression du gène *SAP* médiée par LMP1 conduit à une activation de la cellule T et à une sécrétion accrue des cytokines Th1 en réponse à l'infection par l'EBV.

## **B.5 LMP1 et apoptose**

LMP1 protège les cellules contre l'apoptose dans un certain nombre de systèmes modèles. *In vitro*, le récepteur des cellules B (BCR) et CD40 activent la prolifération des lymphocytes B, tandis que la stimulation par BCR seul induit son apoptose (Banchereau et al., 1991). L'expression de LMP1 peut substituer le CD40 et protège par la suite les cellules lymphomateuses B WEHI 231 de l'apoptose gérée par BCR (Busch and Bishop, 1999).

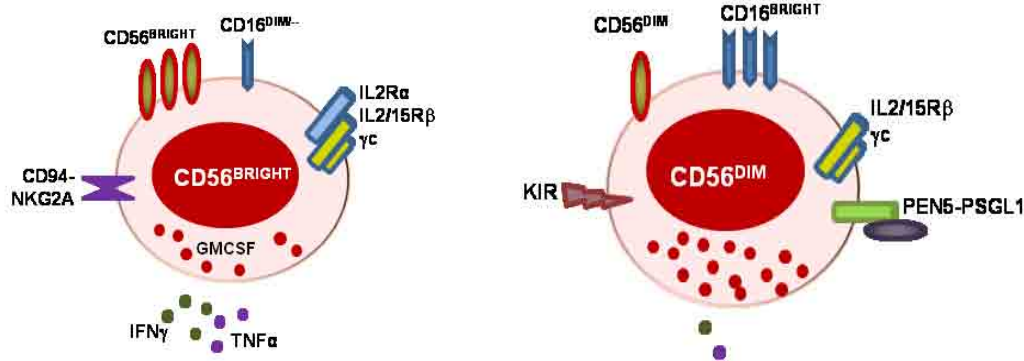
Rel/ NF $\kappa$ B est un membre de la famille NF $\kappa$ B qui joue un rôle essentiel dans la protection d'une variété de cellules contre l'apoptose médiée par le TNF $\alpha$ , dont les cellules de LH EBV<sup>+</sup>. La capacité de LMP1 à prévenir l'apoptose est liée à l'activation de NF $\kappa$ B. L'expression de LMP1 dans les lymphomes B augmente l'expression des protéines anti-apoptotiques Bcl-2, Mcl-1, A20 et TRAF1 (Devergne et al., 1998; Devergne et al., 1996).

## **C. Les cellules NK (NATURAL KILLER)**

### **C.1 Définition**

Les lymphocytes circulant dans le sang sont des constituants du système immunitaire qui défendent l'hôte contre une attaque par des agents pathogènes viraux, bactériens ou parasitaires, ainsi que contre le cancer. Les lymphocytes sont généralement classés en lymphocytes T, B et NK (Natural Killer). Les lymphocytes T et B sont des effecteurs de l'immunité adaptative, tandis que les cellules NK sont impliquées dans la réponse immunitaire non spécifique. Par conséquent, les cellules NK diffèrent des lymphocytes T et B par la présence permanente d'une fraction substantielle instruite de cellules sensibilisées (Di Santo, 2006).

Les cellules NK ont la capacité de reconnaître et de détruire un large éventail de cellules pathologiques, y compris les cellules néoplasiques, les cellules infectées par des virus, des cellules recouvertes d'anticorps, les greffes étrangères ainsi que des cellules "stressées", sans endommager les tissus sains normaux composés de cellules du "soi" c'est-à-dire appartenant à l'organisme (Caligiuri, 2008). Les cellules NK sont donc caractérisées par plusieurs fonctions effectrices importantes ; elles peuvent initier et amplifier la réponse inflammatoire, la production de cytokines et de chimiokines ainsi que la lyse des cellules cibles. Les cellules NK sont définies maintenant comme une sous-population de lymphocytes TCR(-) BCR(-), ce qui signifie qu'ils n'expriment pas les gènes codant pour le récepteur des cellules T (TCR), ni pour le récepteur des cellules B (BCR) (Caligiuri, 2008). Les marqueurs moléculaires qui définissent le mieux les cellules NK sont les molécules CD16 et/ou CD56 et l'absence de molécules de surface cellulaire CD3 (Wu and Lanier, 2003). CD16 (FcγRIII) est un récepteur de faible affinité de la chaîne lourde des immunoglobulines de classe G. Il est présent à la surface des cellules NK mais aussi d'autres cellules de l'immunité innée comme les macrophages, les monocytes et les polynucléaires neutrophiles. De cette manière, les cellules NK sont capables de tuer les cellules recouvertes d'anticorps : c'est le phénomène de cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) nécessitant une opsonisation préalable (Cooper et al., 2001a). La fonction biologique de CD56 (molécule d'adhésion cellulaire neurale, N-CAM) n'a pas encore été établie de façon formelle. Sur la base des niveaux d'expression des molécules CD16 et CD56, les cellules NK peuvent être subdivisées en deux types, avec des fonctions distinctes et différentes propriétés. La majorité des cellules NK expriment de faibles niveaux de CD56 (CD56<sup>dim</sup>) et des niveaux élevés de CD16 (CD16<sup>bright</sup>). Ces cellules NK CD56<sup>dim</sup>/CD16<sup>bright</sup> sont hautement cytotoxiques. Le second type de lymphocytes NK contient des cellules CD56<sup>bright</sup> n'exprimant pas ou exprimant de faibles niveaux de la molécule CD16. Ils sont moins efficaces dans la cytotoxicité que les cellules CD56<sup>dim</sup>/CD16<sup>bright</sup>, mais sont très puissants comme producteurs de cytokines (Fan et al., 2008; Larosa and Orange, 2008). De plus, ces types de cellules NK diffèrent dans leur trafic : les cellules NK CD56<sup>bright</sup> sont situées principalement dans les organes lymphoïdes, tandis que les cellules NK CD56<sup>dim</sup> sont le type le plus important de la circulation sanguine des cellules NK. Ces types diffèrent considérablement dans leur réponse proliférative à l'IL2, la capacité cytotoxique intrinsèque, le répertoire des récepteurs NK et l'expression de la molécule d'adhésion (figure 27).



**Figure 27** : Les principaux types de cellules NK. Représentation d'une production de cytokines par les cellules NK CD56<sup>Bright</sup> stimulées. L'expression de CD16<sup>dim</sup> absente ou diminuée dépend notamment de la faible cytotoxicité des anticorps et de la faible cytotoxicité naturelle. L'expression de CD94 et des récepteurs de haute affinité d'IL2 (IL2αβγ) est élevée. L'expression des KIR est faible (Cooper et al., 2001b).

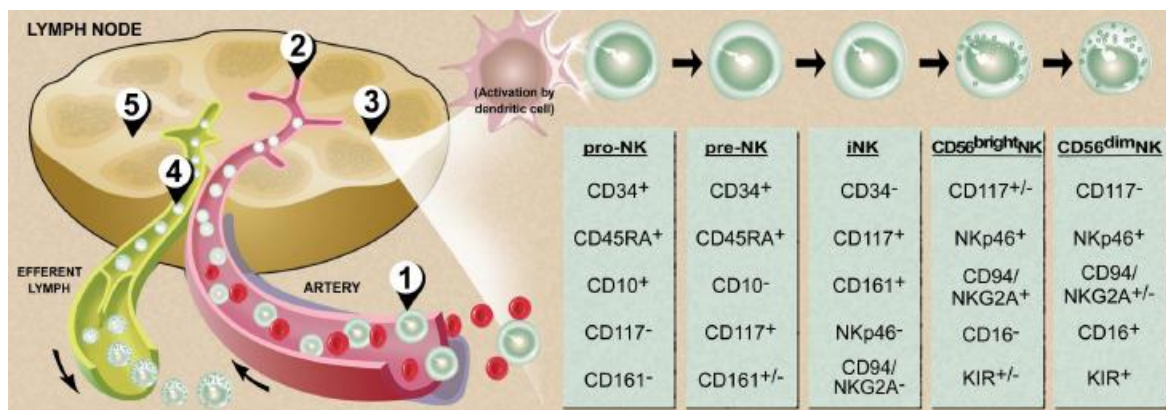
## C.2 Origine et développement des cellules NK

Il a été généralement décrit que le développement des cellules NK se produit principalement dans la moelle osseuse (BM) à partir des précurseurs hématopoïétiques CD34<sup>+</sup> (CPH). Elles divergent des autres lignées lymphocytaires au cours du premier stade de leur développement (Fietta and Delsante, 2009). Dans la moelle osseuse les cellules NK CD34<sup>+</sup> se développent à partir des cellules progénitrices et expriment le phénotype CD34<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> (Figure29). Chez la souris, la co-expression de CD122 en l'absence d'autres marqueurs des cellules NK matures identifie ces cellules pré-NK (Gumenscheimer et al., 2007). Chez les humains, les cellules pré-NK n'expriment pas le CD122 et donc l'identification de ces cellules pré-NK semble être plus difficile (Gumenscheimer et al., 2007). Certaines études ont suggéré que la co-expression de CD7, CD10, CD117 et CD45RA sur des cellules CD34<sup>+</sup> est associée à une restriction importante vers le développement des cellules NK (Gumenscheimer et al., 2007). Néanmoins, ce phénotype n'est pas spécifique de la lignée de cellules NK car les lymphocytes B et T et les cellules dendritiques (CD) pourraient dériver de cette population cellulaire (Galy et al., 1995). Les cellules NK fonctionnelles peuvent être obtenues *in vitro* à partir d'une culture de cellules CD34<sup>+</sup>, sous une stimulation par de l'interleukine-2 (IL2) ou de l'IL15 (Mingari et al., 1997). Les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles de ces cellules NK ressemblent aux caractéristiques des cellules NK CD56<sup>+</sup> (Carson, 1997). L'extension et la différenciation des cellules pré-NK CD34<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> sont soutenues par des facteurs de croissance dans le micro-environnement médullaire comprenant les ligands c-kit (KL), le ligand flt-3 (FL) et les cytokines l'IL-2, IL-7, IL-15 et IL-21 (Fietta

and Delsante, 2009). Les ligands c-kit et flt-3 sont cruciaux dans l'engagement précoce des cellules progénitrices CD34<sup>+</sup> (CPH) vers la lignée de cellules NK. Ils régulent également l'expression du récepteur de l'IL15 sur les précurseurs des cellules NK.

Des études récentes indiquent que seuls les premiers stades du développement des cellules NK surviennent au sein de la moelle osseuse. Les tissus lymphoïdes secondaires (TLS) et le thymus sont les sites de base pour la maturation des lymphocytes NK (Fietta and Delsante, 2009). Les cellules NK CD34<sup>+</sup> CD45R<sup>+</sup> se trouvent non seulement dans la moelle osseuse, mais aussi dans le thymus (Sanchez et al., 1994) et le sang de cordon (Canque et al., 2000) à des concentrations plus élevées que celles trouvées dans la moelle osseuse.

Des études ont démontré l'existence de deux sous-groupes de cellules NK, appelées « cellules NK CD56<sup>bright/dim</sup> ». Les cellules NK CD56<sup>dim</sup> présentent un stade de maturation ultérieur que les cellules NK CD56<sup>bright</sup> (Toledo and Barela, 2010). Cette information est renforcée par des données montrant que seules les cellules CD56<sup>bright</sup> sont générées *in vitro* à partir de cellules prés-NK CD34<sup>+</sup> CD45<sup>+</sup> après traitement par l'IL2 et/ou l'IL15 (Carson, 1997), et que les cellules NK CD56<sup>bright</sup> expriment le marqueur c-kit des cellules immatures (Cooper and Scott, 2001). Il est important de noter que les cellules NK CD56<sup>bright</sup> semblent être les seules cellules immunitaires qui présentent une expression constitutive de haute affinité de l'IL2R. En revanche, les cellules NK CD56<sup>dim</sup> expriment une affinité intermédiaire pour l'IL2R et n'expriment pas le marqueur c-kit (Cooper and Scott, 2001). Cela pourrait expliquer, d'une part, la cause de la différenciation préférentielle des cellules précurseurs hématopoïétiques CD34<sup>+</sup> en cellules NK dans les nœuds lymphoïdes, et d'autre part la cause de la faible prolifération des cellules NK CD56<sup>dim</sup> en réponse à de fortes doses d'IL2 ou d'IL15. Les cellules NK CD56<sup>bright</sup> ont été trouvées majoritairement dans les tissus lymphoïdes secondaires (Freud and Caligiuri, 2006) et les cellules NK CD56<sup>dim</sup> sont plus abondantes dans le sang périphérique (figure28).



**Figure 28** : Les différents stades de développement des cellules NK. Les cellules pro-NK CD34<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> quittent la moelle osseuse et circulent dans le sang, puis atteignent les tissus lymphoïdes secondaires. Les cellules pro-NK sont activées *via* leur contact avec les cellules dendritiques (CD) et évoluent ainsi dans leur étape de maturation. Les cellules deviennent ainsi des NK immatures (iNK), avec un CD56<sup>bright</sup> puis un CD56<sup>dim</sup>. Les cellules NK matures CD56<sup>dim</sup> reviennent dans la circulation *via* la lymphe efférente alors que la plupart des cellules NK CD56<sup>bright</sup> restent dans les tissus lymphoïdes secondaires (Caligiuri, 2008).

### C.3 Régulation des cellules NK par les cytokines

Le développement et l'activation des fonctions des cellules NK sont influencés par plusieurs cytokines telles que les interleukines IL2, IL12, IL15 et IL18, les interférons de type 1 (IFNs), ainsi que des chimiokines (Trinchieri et al., 1984). Ces médiateurs d'activation ne sont pas produits par les cellules NK elles-mêmes, mais ils dépendent d'autres types de cellules. La stimulation des cellules NK par les cytokines permet de réguler de façon positive leur activité cytolytique, démontrant l'augmentation de la prolifération et la production de leurs propres cytokines immunomodulatrices et/ou d'autres médiateurs immuns telles que : l'interféron-gamma (IFN- $\gamma$ ), le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et des macrophages (GM-CSF), l'interleukine 10 (IL10), l'interleukine 3 (IL3), les monokines induites par la protéine 1 $\alpha$  et 1 $\beta$  (MIP-1 $\alpha$  et -1 $\beta$ ), ou RANTES.

Parmi les cytokines, l'IL2 et IL15 sont notamment connues pour augmenter la cytotoxicité des cellules NK. Elles sont également impliquées dans les interactions entre les cellules NK et d'autres cellules immunitaires au cours du développement de la réponse immunitaire adaptative (Trinchieri et al., 1984). Cependant, il est également connu que de fortes doses d'IL2 peuvent inhiber directement les fonctions effectrices des cellules NK, ce qui semble être un système inhibiteur qui régule négativement l'activité des cellules NK.

Au niveau du site de l'inflammation, les lymphocytes T activés ( $CD4^+ CD25^+$ ) sécrètent une grande quantité d'IL2 qui peut activer la migration des cellules NK (Ralainirina et al., 2007). Une amélioration de la sécrétion de cytokines par les cellules NK a été observée lors de combinaison de IL2/IL15 avec de l'IL12. L'IL12 agit en synergie avec l'IL15 ou l'IL2 dans la synthèse d'autres cytokines, telles que le TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  et le GM-CSF (Trinchieri et al., 1984). L'IL12 seul induit une prolifération très faible de cellules NK au repos ; il peut même inhiber la prolifération des cellules NK induite par l'IL2. Néanmoins, en réponse à des concentrations sub-optimales d'IL2, l'IL12 peut réguler l'expression du récepteur de l'IL2 sur les cellules NK et augmente ainsi la prolifération des cellules NK (Robertson and Ritz, 1996).

L'IL21 est une autre cytokine qui a la capacité de moduler l'activité des cellules NK. Cette cytokine agit en synergie avec l'IL2 pour stimuler l'activité cytolytique des cellules NK (de Rham et al., 2007). La cytotoxicité des cellules NK peut être également stimulée par IFN- $\alpha/\beta$ . Ces cytokines régulent positivement la prolifération des cellules NK (Biron et al., 1999). Pour arbitrer leur fonction cytolytique efficacement, les cellules NK doivent être recrutées au site de l'infection.

Le processus de migration des cellules NK est régulé principalement par la sécrétion des chimiokines. Ces dernières sont une famille de petites cytokines exerçant leurs effets biologiques en se liant à des récepteurs spécifiques de surface cellulaire, sachant qu'un récepteur a la capacité d'interagir avec plusieurs chimiokines. Les cellules circulantes sont attirées au sein du site de l'inflammation par des chimiokines. À ce moment, l'interaction des chimiokines produites par les cellules endothéliales avec leurs récepteurs exprimés par les cellules NK (CCR2, CCR5, CX3CR1 et CXCR3 notamment) permet non seulement le recrutement des cellules NK, mais aussi l'interaction avec les molécules d'adhésion des cellules vicinales et divers types de cellules immunitaires inflammatoires (Robertson, 2002).

D'autres molécules sont supposées être impliquées dans la reconnaissance des cellules cibles et la fourniture de signaux de modulation de la cytotoxicité des cellules NK, comme des récepteurs de lectine de type C (CLR), tels que CD161, CD69 et CD94 (Houchins et al., 1997). Ces molécules ne sont pas des cytokines, elles appartiennent à la famille des lectines et peuvent notamment reconnaître un ligand glucidique sur les cellules cibles mais aussi interagir avec leurs ligands protéiniques (Plougastel and Yokoyama, 2006).

## C.4 Mode d'action des cellules NK

Des études récentes démontrent que les cellules NK exercent leur activité biologique *via* plusieurs fonctions : cytotoxicité, sécrétion de cytokines et co-stimulation d'autres cellules immunitaires. En effet, les cellules NK peuvent éliminer leurs cellules cibles par différentes voies.

### C.4.1 La voie des Perforine / granzymes / granulysine

Les cellules NK contiennent des granules cytoplasmiques enfermant des enzymes protéolytiques comme la perforine, les granzymes et la granulysine. Lors d'une stimulation immunitaire, les cellules NK libèrent leurs composants granulaires. La perforine est une protéine cytolytique. Activée en présence de cations calciques, elle forme un canal en se polymérisant dans la membrane plasmique de la cellule cible, ce qui induit la perméabilisation de la membrane de cette cellule, entraînant directement sa mort. Elle facilite aussi de cette manière la pénétration efficace des granzymes (sérines protéases exogènes) dans la cellule cible induisant une apoptose de celle-ci (Trapani and Smyth, 2002).

Récemment, il a été émis l'hypothèse que le récepteur mannose 6-phosphate (RMP) pourrait être le récepteur de surface cellulaire des granzymes (Lieberman, 2003). Il a été suggéré que dans des conditions physiologiques, le granzyme B se fixe au complexe par des glycosaminoglycane qui sont finalement endocytés *via* le RMP activé par l'héparane sulfate de la surface cellulaire (Veugelers et al., 2006).

Par ailleurs, les granzymes sont sécrétés dans les cellules cibles pour induire leur apoptose, soit par activation des caspases cellulaires (directement ou indirectement, par l'intermédiaire des mitochondries), ou par l'intermédiaire des voies indépendantes des caspases (Lieberman, 2003). En outre, la granulysine est un membre de la famille saposine-like protein. Sa structure suggère un mécanisme d'action potentiel ainsi que des fonctions de molécule lytique (Dong et al., 2005). La granulysine chargée positivement se lie à la membrane de la cellule cible qui est chargée négativement. Lors de la liaison, la granulysine induit une augmentation du calcium intracellulaire et un efflux du potassium intracellulaire. Ces changements induisent rapidement une lyse cellulaire impliquant l'activation des caspases *via* la voie mitochondriale (Dong et al., 2005).



#### **C.4.2 L'activation de la voie des caspases cellulaires**

L'apoptose des cellules cibles est effectuée principalement *via* des protéases et des nucléases qui sont les caspases (cystéinyl-aspartate-cleaving proteases). Ces protéases aspartate spécifiques sont exprimées dans la plupart des types cellulaires. Afin d'éviter la mort cellulaire non programmée, les caspases effectrices (caspase-3, caspase-6 et la caspase-7) sont maintenues à l'état de zymogènes. Les zymogènes doivent préalablement subir un clivage protéolytique par les caspases initiateuses (caspase-8 et caspase-9).

Chaque caspase initiateuse contient un long pro-domaine. Leur activation est le résultat de la dimérisation du zymogène sur un adaptateur dédié (Gradzka, 2006). L'initiateur caspase-8 est responsable du clivage et de l'activation directe de la caspase-3 ou, à défaut, il déclenche une voie apoptotique mitochondriale. Les caspases exécuteurs à leur tour activent le CAD (deoxyribo nuclease caspase-activated) qui dégrade l'ADN.

#### **C.4.3 Voie mitochondriale**

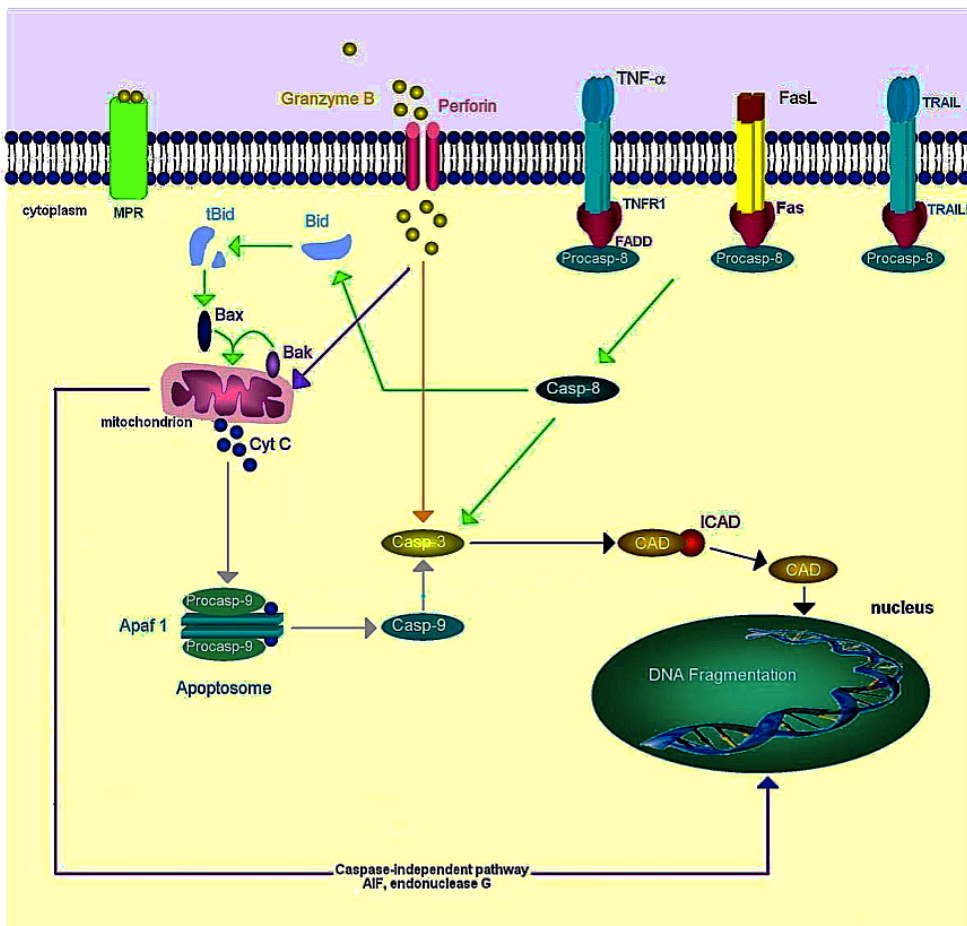
Les granzymes peuvent promouvoir la mort cellulaire par deux voies principales: la voie d'activation directe de la caspase ou la voie mitochondriale. Dans cette seconde, le granzyme B induit la protéolyse de la protéine pro-apoptotique Bid (*via* le domaine d'interaction BH3 agoniste de mort) membre de la famille Bcl-2, qui recrute par la suite les protéines Bax et Bak, qui modifient la perméabilité de la membrane mitochondriale. Cela induit la libération de cytochrome C et d'autres facteurs pro-apoptotiques de la mitochondrie. La sécrétion du cytochrome C initie la formation d'un complexe de signalisation heptamérique (apoptosome) composé de la protéine Apaf-1 (facteur d'activation de la protéase apoptotique) et de la procaspase-9. Ceci active à son tour la caspase-3. Cette caspase clive les lamines nucléaires, en provoquant la rupture du noyau qui va aboutir finalement à la fragmentation internucléosomale de l'ADN génomique (Gradzka, 2006).

#### **C.4.4 La voie indépendante des caspases**

Cette voie est induite principalement *via* des protéines pro-apoptotiques qui sont des facteurs AIF et des endonucléases G libérés à partir de la mitochondrie vers le cytoplasme comme les granzymes. Ces facteurs ont des activités nucléolytiques suffisantes pour induire l'apoptose, impliquant la condensation de la chromatine et la fragmentation de l'ADN à grande échelle qui se traduit par la génération de coupures d'ADN simple brin (Gradzka, 2006).

### C.4.5 Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps

L'antigène CD16 est un récepteur de la partie constante Fc des immunoglobulines de faible affinité, qui reconnaît les cellules cibles recouvertes d'anticorps (Cooper and Scott, 2001). C'est l'un des récepteurs de la membrane le plus caractérisé impliqués dans la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante. La liaison de CD16 sur les cellules NK avec des cellules cibles recouvertes d'anticorps résulte en la sécrétion de cytokines régulatrices (IFN- $\gamma$ ) ainsi que de granules cytotoxiques contenant la perforine et les granzymes, qui vont à leur tour déclencher l'apoptose des cellules (Lanier, 2005). Certains autres types de cellules, par exemple les macrophages et les polynucléaires, peuvent également servir de médiateurs de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps. Cependant, ces types de cellules exigent des niveaux plus élevés de fixation d'immunoglobulines sur les cellules cibles que les cellules NK (Szelc et al., 1992) (figure29).



**Figure 29** : Schéma illustrant les différentes voies d'apoptose activées par les cellules NK (Demedts et al., 2006).

### C.4.6 L'induction de la cytotoxicité et les fonctions effectrices par les cytokines

A côté de cette activité cytotoxique, les cellules NK peuvent également produire différentes cytokines (Smyth et al., 2005). Les cellules NK ne nécessitent pas de contact direct

avec les cellules cibles pour induire l'apoptose médiée par des cytokines, contrairement à ce qui a été décrit pour la cytotoxicité dépendant des anticorps. Lors de la stimulation, les cellules NK peuvent rapidement commencer à produire de nombreuses cytokines et des chimiokines, dont INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-3, GM-CSF, IL-10 et MIP-1. Grâce à la libération des cytokines, les cellules NK peuvent initier d'autres composantes du système immunitaire adaptatif inné comme les cellules dendritiques ou des lymphocytes T et B (Inman et al., 2007). Il semble que dans les infections virales et bactériennes, l'IFN- $\gamma$  produit par les cellules NK soit reconnu comme un médiateur clé dans la défense contre ces infections (Biron et al., 1999).

### **C.5 Rôle des cellules NK dans le contrôle de l'EBV**

Les cellules NK semblent jouer un rôle important dans le contrôle précoce de l'infection par le cytomégalovirus (CMV) à la fois chez la souris et chez l'homme (Braud et al., 2002; Lee et al., 2001). Ce rôle semble être moins crucial pour le contrôle de l'infection par le virus de l'herpès-2 MHV 68 chez la souris (Usherwood et al., 2005). Le nombre de cellules NK (mais pas des cellules NKT CD1-restreintes) est augmenté dans le sang des patients au cours de la MNI. Dans une petite étude chez des patients ayant une infection primaire à EBV, une augmentation relative du type CD56<sup>bright</sup> a été observée.

*In vitro*, les cellules NK peuvent inhiber la transformation EBV-induite des cellules B au repos, si elles sont introduites au tout début de l'infection. Ceci serait médié au moins en partie, par la libération d'IFN- $\gamma$  (Lotz et al., 1985). Conformément à cela, les cellules NK amygdaliennes peuvent inhiber efficacement la transformation *in vitro* des lymphocytes B infectés par l'EBV en présence de cellules dendritiques matures (Strowig et al., 2008). Collectivement, ces données suggèrent que les cellules NK peuvent partiellement limiter l'infection primaire par l'EBV jusqu'à ce que le système immunitaire adaptatif établisse spécifiquement le contrôle du virus.

Toutefois, des signes cliniques indirects vont à l'encontre d'un rôle majeur pour les cellules NK dans le contrôle des événements de transformation *in vivo*. En effet, chez les receveurs de greffes de cellules souches T-déplétées, l'EBV peut conduire à un syndrome lymphoprolifératif qui survient le plus souvent dans les 3-6 premiers mois post-transplantation période à laquelle les patients ont récupéré un nombre de cellules NK normal, mais restent profondément déficients en cellules T (O'Reilly et al., 1997).

Alors que des cellules B EBV-positives infectées de manière latente sont résistantes à la lyse de cellules NK (aussi bien de lignées NK que de cellules NK primaires), ces effecteurs tuent efficacement les cellules activées dans lesquelles le virus est entré en cycle lytique (Pappworth et al., 2007). Une stratégie d'évasion immunitaire NK par l'EBV n'a pas encore été identifiée, contrairement aux nombreux mécanismes d'évasion vus pour les deux CMV murin et humain (Braud et al., 2002; Vidal and Lanier, 2006), scénarios dans lesquels la réponse NK semble être critique.

## **D. Le lymphome NK/T extra-ganglionnaire, type nasal**

Définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

«C'est un lymphome de prédominance extra-ganglionnaire, caractérisé par une atteinte vasculaire, avec une nécrose importante, de phénotype cytotoxique et d'association au virus d'Epstein-Barr (EBV). Il est désigné «NK/T» (au lieu de "NK"), parce que, tandis que la plupart des cas semblent être de véritables tumeurs des cellules NK, certains cas montrent un phénotype de cellules T cytotoxiques » (Salto-Tellez et al., 2007).

### **D.1 Historique**

Le Lymphome NK/T Extra-Nodal (ENKTL) est une entité clinico-pathologique relativement récemment caractérisée et a été officiellement intégré dans la classification OMS des tumeurs hématopoïétiques et lymphoïdes en 1999 (Harris et al., 1999). Cependant, l'histoire de la médecine, particulièrement de la clinique descriptive, laisse penser que cette entité a été reconnue plus d'un siècle plus tôt. De nombreuses tentatives ont été faites pour caractériser, classifier et comprendre cette pathologie.

La première description clinique d'une maladie qui ressemble à ce qui est maintenant reconnu comme la manifestation la plus commune du NKTL a été publiée en 1897 par McBride. Il a décrit un patient chez lequel un ulcère se développait sur la surface latérale gauche du nez, ulcère qui, au bout d'un an, au moment de sa mort, s'était étendu aux deux joues, causant des dommages tissulaires étendus sur le nez et la lèvre supérieure. Bien que la syphilis et la tuberculose ne soient pas spécifiquement exclues des diagnostics, un pathologiste, le Dr. Muir, après examen des coupes de tissus, était «tout à fait d'avis que la maladie ne correspond pas à n'importe quel type nous étant familier ».

Un papier peut-être plus clair a ensuite été publié par Sir Robert Woods en 1921 (Woods, 1921) qui a décrit deux patients atteints de lésions destructrices nasales, chez lesquels la

syphilis avait été exclue, car aucun organisme infectieux n'avait pu être identifié. Il a décrit la lésion comme une «vague de tissu granuleux progressant irrégulièrement au sein du tissu sain, s'effaçant au fur et à mesure qu'il avançait, de sorte qu'il n'y ait jamais une grande épaisseur de cette croissance pathologique." Le terme « granulome malin » a été proposé par son collègue, le Dr O'Sullivan (Friedmann, 1955; Kassel et al., 1969).

Cependant, en dépit de la reconnaissance croissante de cette maladie comme une entité distincte, la confusion sur la nature de la lésion est restée. Il a été reconnu que les patients atteints par un « granulome nasal Stewart » peuvent finir par mourir d'un lymphome malin diffus (Walton, 1960), mais des difficultés subsistaient pour distinguer un lymphome malin nasal d'un lymphome non malin telle la granulomatose de Wegener (Harrison, 1974).

Harrison a suggéré que cela était probablement dû à la taille de la biopsie disponible pour étude anatomopathologique, souvent « sous-représentative » (Harrison, 1974), et a passé en revue les cas cliniques et pathologiques de 28 patients avec des non-guérisons de granulomes. Il a proposé que lorsque la lésion reste localisée au nez ou au pharynx, quelles que soient les apparences histologiques, cette lésion soit considérée comme une tumeur, probablement atténuée à des degrés divers par les propres défenses immunitaires de l'individu. Harrison a également fait le constat prémonitoire que les patients atteints d'un lymphome localisé peuvent avoir un pronostic étonnamment bon lorsqu'il est traité par radiothérapie. Une réponse à la thérapie par le radium a également été documentée et décrite par Robert Woods (Woods, 1921).

## **D.2 Epidémiologie**

Le lymphome NK/T extra-ganglionnaire est une tumeur maligne agressive avec une répartition géographique particulière, étant rare dans les pays occidentaux et plus fréquemment rencontrée en Asie orientale et centrale et en Amérique du Sud (Arber et al., 1993; Au et al., 2009; Quintanilla-Martinez et al., 1999). Seules des études appliquant les critères de diagnostic de l'OMS (Harris et al., 1999) peuvent être tenues pour fournir une estimation significative de l'incidence. Ainsi, il a été rapporté que le NKTL représentait 6,27% des 1000 cas de LNH chinois étudiés, ce qui équivaut à plus d'un tiers de l'ensemble des lymphomes T dans cette population LNH chinoise (Au et al., 2005).

Des données similaires sur l'incidence ont été récemment publiées par une étude coréenne dans laquelle le NKTL représentait 4% de tous les cas de LNH et 30% des néoplasmes de cellules matures NK et T. En revanche, la meilleure estimation de l'incidence en Europe et

aux États-Unis montre que les NKTL représenteraient 4% de l'ensemble des lymphomes NK et T (Au et al., 2005). En France, il existe environ 35 nouveaux cas par an.

Les patients atteints de NKTL sont généralement immunocompétents. L'âge moyen de la présentation est 45-50 ans, avec un ratio hommes: femmes de 2-3:1 (Au et al., 2005), mais il convient de souligner que la plupart des données démographiques de base sur cette maladie concernant l'incidence en fonction de l'âge, du sexe et de l'appartenance ethnique du patient ne sont pas bien caractérisées en dehors de l'Asie.

### **D.3 Phénotype et génotype**

Suite à l'élaboration et l'application de techniques immunologiques pour le diagnostic pathologique, une étude réalisée par Ishii et al. (Ishii et al., 1982) a été la première à démontrer que les cellules malignes dans les cas de «granulome médian léthal» ou «rhinite gangrenosa progressiva» ont réagi avec des anti-sérums dirigés contre des cellules T, et pas les cellules B. Surtout, une analyse distincte de l'ADN provenant de ces tumeurs a trouvé des preuves de gènes TCR réarrangés indiquant une prolifération clonale des lymphocytes T (Gaulard et al., 1988).

L'apparente origine cellulaire T de ce lymphome a été corroborée par d'autres études pathologiques en Asie de l'Est (Chan et al., 1987; Yamanaka et al., 1985) et aux États-Unis (Lippman et al., 1987). Cependant, un signal positif obtenu avec des anticorps dirigés contre l'antigène CD56 a posé question quant au phénotype T des cellules malignes (Ho et al., 1990). Un ensemble de preuves est alors apparu appuyant l'idée que la majorité de ces tumeurs sont originaires des cellules tueuses naturelles, avec des configurations de la lignée germinale exprimant le gène du récepteur des cellules T (Jaffe, 1995). L'observation de la réactivité des anticorps anti-CD3 avec la sous-unité cytoplasmique ( $\epsilon$ -chaîne) de la molécule CD3 en tissus fixés au formol correspondrait à cette hypothèse, la plus plausible pour l'interprétation de l'origine phénotypique (Chan et al., 1996).

Emile et al. (Emile et al., 1996) ont émis l'hypothèse que si les lymphomes NK existent, les cellules les composant peuvent exprimer certains antigènes des lymphocytes T associés, mais pas les protéines  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ . Parmi les 35 lymphomes « T périphériques muets» identifiés qu'ils ont étudiés, 16 cas étaient CD56+ et CD5- et parmi eux, 8 sur les 9 cas analysés pour réarrangements de leurs gènes TCR  $\gamma$ , étaient négatifs, portant ainsi le phénotype de cellules NK normales. Fait à noter, tous ces cas sauf un avaient une présentation extra-ganglionnaire, et 11 sur 16 remplissaient les critères de l'entité appelée lymphome NK/ T de type nasal

(Jaffe, 1996). Cette étude a apporté son soutien à l'idée que le lymphome NK/ T de type nasal est une entité distincte et soutenu l'idée que les cellules dériveraient de cellules NK plutôt que de cellules T. Mais elle n'a pas enquêté sur l'état des tumeurs vis-à-vis de l'EBV.

Dans la Classification Européenne et Américaine Révisée des lymphomes (REAL) (Harris et al., 1994), la terminologie «lymphome angiocentrique» a été utilisée, mais il a depuis été reconnu que cette description pathologique n'est pas unique au NKTL.

Le phénotype caractéristique des NKTL comprend maintenant les marqueurs CD2, CD56, avec absence de CD3 de surface (comme l'ont montré les études sur tissus frais ou congelés) et présence de CD3e cytoplasmique (comme l'ont montré les études sur tissus fixés inclus en paraffine). Bien que CD56 soit un marqueur très utile pour les cellules NK, il peut également être exprimé sur d'autres cellules, en particulier les cellules périphériques dans les lymphomes à cellules T, notamment ceux qui expriment le récepteur  $\delta$  des cellules T.

La plus grande étude clinico-pathologique sur les NKTL, depuis leur incorporation dans la classification OMS (Harris et al., 1999), a fourni des informations sur le phénotype des cellules tumorales. Le projet international des cellules T a étudié 136 cas de NKTL et a confirmé l'expression de CD56 et des marqueurs cytotoxiques (TIA-1, granzyme, perforine) dans la majorité des cas, mais il a aussi identifié une minorité de tumeurs (14%) avec un phénotype CD8 +. Les gènes des récepteurs des cellules T réarrangés (analyse par Southern-blot) ont été retrouvés dans environ un tiers des 52 cas testés (Au et al., 2009). Il est à noter qu'une telle proportion de cas avec des réarrangements du TCR est plus grande que prévu par les études phénotypiques, ce qui indique que d'autres études plus détaillées des corrélations phénotypes/génotypes sont nécessaires.

## **D.5 L'Association avec l'EBV**

La première preuve irréfutable que l'infection par l'EBV pourrait être impliquée dans le développement de lymphomes NK/T est née d'un rapport qui décrit 3 patients avec des signes cliniques et sérologiques suggérant un EBV chronique actif (CAEBV), patients qui par la suite ont développé un lymphome T fatal (Jones et al., 1988). Ces tumeurs ont révélé contenir l'EBV. Des études ultérieures chez des enfants et des adultes ont identifié le génome de l'EBV et/ou des EBER dans les cellules NK/T tumorales qu'il s'agisse de tumeurs nasales ou extra-nasales (Chan et al., 1994; Harabuchi et al., 1990; Su et al., 1990). La suspicion du rôle causal du virus dans la pathogénie de la maladie a été renforcée après la mise en évidence

de la forme épisomique clonale du virus dans les cellules tumorales (Minarovits et al., 1994; Tao et al., 1995), ainsi que l'expression de transcrits d'EBV (Kagami et al., 1998; Kanegane et al., 1998).

Bien que l'incidence du NKTL soit plus élevée en Asie de l'Est et en Amérique du Sud qu'en Europe et en Amérique du Nord, une association invariable à l'EBV est évidente quelle que soit l'origine géographique (Au et al., 2009). En conséquence, la démonstration de la présence du virus dans les cellules malignes, généralement par l'intermédiaire de l'hybridation *in-situ* des EBER, est pratiquement une condition nécessaire pour le diagnostic.

## **D.6 L'expression des gènes viraux dans le NKTL**

Les premières analyses qui ont porté sur six cas de NKTL, dont la présence du virus dans les cellules malignes avait été confirmée (Tao et al., 1995), ont trouvé de nombreuses cellules positives par immunomarquage de LMP1 dans quatre des six cas. Une étude conduite à Hong-Kong a analysé 23 cas de NKTL, pour mettre en évidence l'expression des gènes viraux tant au niveau de transcrits que de protéines (Chiang et al., 1996). L'immunohistochimie pour la protéine LMP1 a révélé un marquage membranaire hétérogène dans une sous-population de cellules EBER<sup>+</sup>, dans 15 des 23 cas. Cependant, les deux cas de tumeurs extra-nasales analysés étaient LMP1 négatifs et, surtout, aucun des 23 cas n'exprimaient les protéines EBNA2 ou BZLF1. Une caractérisation plus poussée a été effectuée au niveau des transcrits par les méthodes classiques de RT-PCR. Les BART étaient exprimés dans la majorité des cas, tandis que les transcrits de EBNA1 étaient présents dans 15/23 cas. Les transcrits de LMP1 ont été facilement détectés dans tous les cas. Les ARNm de LMP2A et LMP2B étaient faibles ou absents dans la majorité des tumeurs (Schaefer et al., 1995). Une étude similaire ayant examiné des cas japonais de NKTL a trouvé des résultats comparables : des transcrits de LMP1 et d'EBNA1 ont été détectés dans les sept cas (van Gorp et al., 1996). Les données d'une étude européenne comportant aussi 7 cas étaient également en accord avec les données de l'Asie orientale (Oudejans et al., 1996) : EBNA1 était présent dans la majorité des cas, LMP1 était variablement exprimé au niveau des transcrits dans 5 des 7 biopsies examinées. En revanche, une petite étude n'a pu trouver aucun ARNm ou protéine LMP1 dans 4 cas (Suzushima et al., 1995), mais deux des tumeurs n'étaient pas phénotypiquement caractéristiques de NKTL (CD4 positives CD56 non testé). Par ailleurs, les analyses d'expression génique avaient été réalisées sur les cellules tumorales circulantes, plutôt que sur le tissu de la tumeur primaire, et pouvaient donc ne pas être représentatives de la population d'origine maligne.



Pris ensemble, les résultats publiés (Harabuchi et al., 1996; Kanegane et al., 1996; Minarovits et al., 1994; Oudejans et al., 1996) sont compatibles avec un type d'expression virale de latence II, apparenté à ce qui est trouvé dans le LH (Deacon et al., 1993) et le NPC (Brooks et al., 1992), bien qu'une hétérogénéité intra-tumorale existe. En particulier, l'expression de LMP1 est variable et hétérogène au niveau des cellules des NKTL (Harabuchi et al., 1996), alors que les niveaux d'ARNm de LMP2 semblent être faibles ou absents dans les cas analysés (Kanegane et al., 1996; Oudejans et al., 1996).

## **D.7 Caractéristiques cliniques**

Le NKTL concerne généralement les voies aéro-digestives supérieures, particulièrement la cavité nasale, mais la maladie extra-nasale, touchant par exemple la peau, le tube digestif, les testicules, peut représenter jusqu'à un quart des cas (Au et al., 2009). L'envahissement ganglionnaire primaire, en l'absence de maladie extra-ganglionnaire, est rare. L'atteinte de la moelle osseuse au moment du diagnostic, survient dans une minorité (6-14%) des cas (Au et al., 2009), bien que cela puisse être une sous-estimation (Huang et al., 2005). La présentation clinique est généralement rapportée à des symptômes locaux provoqués par la masse nasale (Hennessy et al., 1984), y compris les symptômes d'obstruction et le saignement. Un enrouement de la voix, une dysphagie, une exophtalmie, une ophthalmoplégie et une dysphonie peuvent également se produire en fonction de l'invasion locale par la tumeur (Liang, 2009). Les résultats cliniques ne sont pas prédits avec une précision par l'index pronostique traditionnel (IPI) (Ansell et al., 1997), contrairement au cas des sous-types de lymphomes de haut grade les plus répandus. Cela est en partie attribuable à l'âge moyen des patients atteints de lymphome NK/T et à la fréquence de la phase I/II de la maladie présente pour environ les trois quarts des patients (Au et al., 2009; Lee et al., 2006). Les données publiées suggèrent que le pronostic est fonction de l'envahissement local, de l'élévation sérique de la LDH et de la présence de symptômes B (Lee et al., 2006).

## **D. 8 Le traitement des lymphomes nasaux**

\_\_\_\_\_ Au stade précoce localisé le traitement par la chimiothérapie combinée à la radiothérapie est standard. Il s'est avéré que le lymphome NK/T est radiosensible. En se basant sur ce fait, des études ont été réalisées utilisant un traitement par la radiothérapie seule (généralement autour de 50 Gy), le taux de réponses globales varient entre 77% et 100%, avec une réponse complète allant de 52% à 100% des cas (Cheung et al., 2002; Kim and Kim, 2010; Li et al., 2006; Wang et al., 2009). La dose et le champ de rayonnement utilisés durant ce traitement sont des conditions qui sont très importants. La dose de rayonnement  $\geq 50$  Gy a

donné un meilleur taux de réponse que des doses inférieures (Cheung et al., 2002; Isobe et al., 2006; Kim and Kim, 2010; Li et al., 2006; Wang et al., 2009). Un champ étendu des lésions macroscopiques des sinus paranasaux et du nasopharynx a donné lieu à un taux d'échec inférieur lorsque la radiothérapie a été utilisée toute seule comparativement à la chimiothérapie (Isobe et al., 2006). Cependant, dans les stades plus avancés du cancer un traitement par chimiothérapie est utilisé. Deux études prospectives récentes ont étudié la chimiothérapie administrée de façon concomitante à la radiothérapie (Kim et al., 2009; Yamaguchi et al., 2009). Mais ce lymphome est très résistant à la chimiothérapie.

#### *Un nouveau schéma thérapeutique : chimiothérapie basée sur L- asparaginase*

Le principal progrès dans le traitement du lymphome NK/T en dehors de la radiothérapie est basé sur l'utilisation d'un régime contenant de la L-asparaginase. Les protocoles de chimiothérapie établis généralement pour traiter les lymphomes ne présentent pas une bonne efficacité chez les patients atteints de lymphome NK/T. Cependant, les mécanismes de résistance du lymphome extranodal NK/T à la chimiothérapie conventionnelle pourraient être liés à l'expression fréquente de la P-gp par les cellules du lymphome responsables de la résistance aux traitements (Yamaguchi et al., 1995). La L-asparaginase n'est pas affectée par les mécanismes de résistances et dispose d'un effet anti-tumoral par un autre mécanisme. En effet, les cellules tumorales sont incapables de synthétiser la matrice L-asparagine lorsque leurs réserves de cette dernière sont épuisées sous l'effet de la L-asparaginase. Cette protéine enzymatique, induit l'apoptose *in vitro* de lignées cellulaires de lymphome NK/T et des cellules tumorales de patients (Ando et al., 2005).

## **Article 1**

### **INTRODUCTION A L'ARTICLE**

Les lymphomes NK extra-ganglionnaires sont des pathologies rares dont l'évolution est très rapidement fatale. Ils surviennent principalement chez des patients d'âge moyen, sont particulièrement rares dans les pays occidentaux et plus fréquents en Europe centrale / Amérique du Sud et surtout en Asie du Sud-Est, où ils représentent jusqu'à 8,7% de tous les lymphomes non hodgkiniens (Ko, Kim et al. 1998). Ces lymphomes sont caractérisés par une participation fréquente de la cavité nasale et des voies aérodigestives supérieures, plus rarement, ils peuvent affecter différents organes.

Leur développement est rapidement mortel sans traitement, et la durée médiane de survie a été rapportée comme étant seulement de 7,8 mois (Au, sang 2009). La chimiothérapie conventionnelle est peu efficace, en particulier dans la maladie disséminée, tandis que la maladie localisée peut bénéficier d'une radiothérapie. Au cours des dernières années, des progrès ont été réalisés par l'administration de L-asparaginase. Comme les cellules tumorales NK sont dépourvues d'activité asparagine synthétase, l'administration de L-asparaginase conduira à la mort de ces cellules lorsque leur stock d'asparagine sera épuisé, ce qui a été montré *in vitro* (Ando, Br J Haematol 2005). La L-asparaginase n'est pas administrée seule, mais associée à une chimiothérapie. Deux essais français (Jaccard, 2009 ; Jaccard, 2011) successifs ont montré l'efficacité et les limites d'un traitement à base de L-asparaginase associée à la dexaméthasone et au méthotrexate. Ce traitement a montré une bonne efficacité chez des patients réfractaires au traitement classique, puisque 46% des 15 patients testés dans ce contexte étaient en rémission à la fin du 1<sup>er</sup> essai (Jaccard, 2009). Le deuxième essai a été réalisé sur 19 patients et a confirmé les résultats précédents en montrant que plus de 60% des patients étaient en rémission complète après 3 cures (Jaccard, 2011). La médiane totale de la survie était de 1an. Depuis ces deux essais, de nombreux hématologues utilisent ce traitement tout particulièrement chez les patients qui ne répondent pas au traitement classique.

Les NKTL sont décrits pour être associés au virus d'Epstein et Barr (EBV) dans le monde entier et la présence des EBER dans les cellules tumorales est rapportée dans 100% des cas. L'EBV est également présent dans le sang chez 70% des patients NKTL.

L'EBV est un  $\gamma$  herpèsvirus humain, dont la primo-infection peut entraîner la MNI et qui est associé à plusieurs cancers humains, dont le NCP, le BL et certains cas de LH ou de lymphomes non hodgkiniens (LNH) dont les lymphomes NK extra-ganglionnaires. L'EBV peut être typé en types A ou B en se basant sur les différences observées dans les gènes de protéines nucléaires comme EBNA2 ou EBNA3. Le type A est beaucoup plus répandu dans le monde développé alors que le type B est surtout rencontré en Afrique équatoriale et

particulièrement en Guinée. Une prédominance de l'EBV de type A a été trouvée dans les NKTL en Corée, au Japon et en Malaisie (Peh et al., 1995), plus généralement en Asie. Inversement, plusieurs études ont montré la présence d'EBV de type B dans les lymphomes des patients immunodéprimés (Boyle et al., 1991).

L'infection de lymphocytes B par l'EBV *in vivo* est plus souvent non lytique et entraîne l'expression d'un nombre limité de protéines de latence nucléaires et de membrane. *In vitro*, le virus est un agent puissant de transformation des lymphocytes B humains, une propriété qui est facilement démontrée par une infection expérimentale de cellules B au repos, ce qui se traduit par l'établissement de LCL. Dans ces lignées, le virus est maintenu à l'état d'infection essentiellement non-productive par l'expression d'un certain nombre de protéines de l'infection latente (Kieff, E. 1996.).

Parmi les produits des gènes viraux connus pour être essentiels pour la transformation des lymphocytes B (35), la protéine LMP1 a un intérêt particulier car il s'agit d'un oncogène classique en raison de sa capacité à transformer des fibroblastes de rongeurs (Wang, Liebowitz et al. 1985; Baichwal and Sugden 1988; Kaye, Izumi et al. 1993). En effet, des expériences de transfection de gènes suggèrent que LMP1 est un effecteur majeur de la transformation des cellules B humaines induite par l'EBV. Ces changements comprennent la régulation positive d'un certain nombre de marqueurs d'activation des lymphocytes et des molécules d'adhérence (Wang, Liebowitz et al. 1988; Wang, Gregory et al. 1990; Peng and Lundgren 1993), ainsi que l'activation de la survie des cellules B par l'induction de gènes anti-apoptotiques comme Bcl-2, A20 et Mcl-1 (Henderson, Rowe et al. 1991; Laherty, Hu et al. 1992; Rowe, Peng-Pilon et al. 1994; Wang, Rowe et al. 1996). LMP1 est un puissant inducteur du facteur nucléaire kB (NFkB) médié par la transcription (Hammarskjold and Simurda 1992; Mitchell and Sugden 1995), une propriété qui est essentielle pour que l'EBV transforme les cellules lymphoblastoïdes (Cahir-McFarland, Davidson et al. 2000). La promotion des tumeurs est médiée par l'activation aberrante de NFkB dont les fonctions anti-apoptotiques sont associées à la tumorigenèse (Hoffmann and Baltimore 2006; Perkins and Gilmore 2006). Il a été montré que ce facteur de transcription est essentiel pour la progression des lymphomes associés à l'EBV *in vivo* (Keller, Hernandez-Hopkins et al. 2006).

Le gène *LMP1* du prototype B95.8 code une protéine de 386 aa comprenant un court domaine N-terminal cytoplasmique, six hélices traversant la membrane, et un grand domaine cytoplasmique C-terminal d'environ 200 aa (Fennewald, van Santen et al. 1984; Mann,

Staunton et al. 1985). Deux régions dans le domaine C-terminal ont été identifiées comme essentielles à la fonction de la molécule (Herrero, Mathew et al. 1995; Mitchell and Sugden 1995). Désignés CTAR1 (région d'activation C-terminale 1) et CTAR2, ces domaines comprennent les résidus 187-231 pour CTAR1 et les 55 derniers aa (352-386) pour CTAR2. Les CTAR1 et CTAR2 sont capables d'activer NFκB indépendamment dans certaines cellules, mais la région de LMP1 majeure pour l'activation de NFκB apparaît être dans le CTAR2 (Huen, Henderson et al. 1995; Mitchell and Sugden 1995; Brodeur, Cheng et al. 1997). Le CTAR1 peut se lier à quatre membres de la famille des facteurs de nécrose tumorale (TNF) qui sont associés aux récepteurs (TRAF1, TRAF2, TRAF3 et TRAF5) (Mosialos, Birkenbach et al. 1995; Devergne, Hatzivassiliou et al. 1996; Kaye, Devergne et al. 1996; Brodeur, Cheng et al. 1997; Sandberg, Hammerschmidt et al. 1997). Bien qu'il n'y ait aucune preuve du lien direct des différents TRAF avec CTAR2, la liaison directe de la protéine à domaine de mort associé au récepteur du TNF (TRADD) à CTAR2 a été récemment rapportée (Izumi, Kaye et al. 1997). Des études avec un mutant dominant négatif de TRAF2 (Kaye, Devergne et al. 1996; Eliopoulos, Stack et al. 1997; Izumi, Kaye et al. 1997) ont mis en cause TRAF2 comme un médiateur commun d'activation de NFκB par les domaines CTAR1 et CTAR2. Bien que le mécanisme diffère probablement pour chaque domaine, TRAF2 ne peut se lier directement qu'au CTAR1. Par conséquent, la nature exacte de l'implication de TRAF dans la signalisation médiée par LMP1 reste incertaine (Brodeur, Cheng et al. 1997; Sandberg, Hammerschmidt et al. 1997).

Le gène *BNLFI* codant la protéine LMP1 est relativement bien conservé dans sa région codante, montrant généralement plus de 95% d'identité de séquence d'acides aminés entre les différents isolats d'EBV (Miller, Edwards et al. 1994; Sample, Kieff et al. 1994). Un intérêt considérable est apparu il y a quelques années dans la possibilité que le polymorphisme naturel de LMP1 affecte sa fonction et influe sur le développement de certaines pathologies liées à ce virus. En particulier, l'attention s'est focalisée sur un variant délété (*del-LMP1*) qui a été initialement identifié dans les tumeurs de patients chinois atteints de NCP et qui se caractérise par une délétion de 30 pb correspondant aux codons 343 à 352 de la protéine LMP1 de la souche de référence B95.8, avec des points riches en mutations ponctuelles (Chen, Tsai et al. 1992; Knecht, Bachmann et al. 1995) (Sandvej, Peh et al. 1994). L'étude de la répartition géographique de ce variant montre que la majorité des patients atteints de NCP, chinois, ou plus largement, asiatiques, sont porteurs d'une souche possédant le gène *del-LMP1*. LMP1 est exprimé dans environ 65% des NPC indifférenciés et semble influencer sur la croissance et l'évolution clinique du cancer. Le gène *del-LMP1* a également été identifié dans

un certain nombre d'autres pathologies associées à l'EBV, y compris dans le LH, et ici aussi il a été suggéré que les variations de séquence de LMP1 puissent contribuer au processus malin (Knecht, Bachmann et al. 1993; Kingma, Weiss et al. 1996; Knecht, Raphael et al. 1996).

Il n'y a que peu de rapports d'association de ces variants avec des données clinico-pathologiques dans les NKTL et tout particulièrement en Europe. L'objectif de notre étude est de déterminer l'incidence des variants de LMP1 dans une population de NKTL français, de décrire l'éventuelle relation entre les variants de LMP1 et les caractéristiques des patients et tout particulièrement de suivre l'évolution de ces variants chez les patients sous traitement.

## **Matériel et Méthodes**

### **B. Matériel**

Le travail a été réalisé sur le sang total des patients inclus dans les deux essais thérapeutiques français contenant de la L-asparaginase, Il s'agissait d'essais multicentriques conduits entre 2003 et 2006 pour le premier (Jaccard et al., 2009) et 2008-2010 pour le second (Jaccard et al., 2011). Chaque patient a bénéficié au moment de l'inclusion, d'une charge virale sanguine. Seuls 13 patients sur 32 testés, ayant une charge virale positive, ont été inclus dans ce travail. Parmi ces patients se trouvaient 9 hommes et 4 femmes. La médiane d'âge était de 58 ans (extrêmes 23-79). Neuf patients étaient d'origine française, 3 venaient d'Afrique du Nord et un de Madagascar. Parmi ces 13 patients, 8 avaient des charges virales positives au moins une fois sous traitement. Pour ces 8 patients, l'étude des échantillons prélevés sous traitement a permis d'établir le suivi de l'étude du polymorphisme viral sous traitement. La durée du suivi était de 4 semaines à 21 mois selon l'évolution clinique. L'évolution clinique à la fin de l'essai a été notée.

Par ailleurs, des échantillons de sang total de 21 patients (8 adultes, 13 enfants) sans aucun signe de malignité connue, d'âge médian 13 ans avec des extrêmes de 7 à 68 ans, ayant une charge virale EBV positive, ont été utilisés comme contrôles.

## **C. Méthodes**

### **C.1 Extraction de l'ADN**

L'ADN a été extrait par la technique classique d'extraction au phénol-chloroforme (Sigma-Aldrich- Saint-Quentin Fallavier-France). Pour cela, à un volume (250µL) de sang total, deux volumes de tampon de lyse et 10 unités de protéinase K (Invitrogen-Cergy Pontoise-France) ont été ajoutés. Le tampon de lyse utilisé, de pH8, était composé de trishydroxyméthylaminométhane-HCl (Tris-HCl) 10mM, NaCl 10mM, EDTA 10mM, et d'un détergent fort le SDS à 0,5%. Le mélange sang-tampon de lyse a été incubé à 37°C pendant une nuit.

La protéinase K (invitrogen) a alors été inactivée par un chauffage à 90°C pendant 10min. Un millilitre d'un mélange phénol (sigma) à pH > 7,6 – chloroforme - alcool isoamylique (24mL : 25mL : 1mL) (sigma) a été ajouté à chaque tube, puis une agitation par retournement doux et régulier pendant 10min a été effectuée. Les tubes ont été centrifugés à température ambiante pendant 10 min à une vitesse de 700g. La phase aqueuse a été récupérée délicatement et transférée dans un nouveau tube. Une nouvelle extraction a été réalisée dans les mêmes conditions par un mélange chloroforme – alcool isoamylique (24mL : 1mL). L'ADN a ensuite été précipité dans la dernière phase aqueuse par 1 mL d'éthanol absolu glacial en présence d'acétate de sodium 0,1M. Après agitation par retournement un filament



d'ADN a été observé. Les échantillons ont alors été placés une nuit à -20°C. Une centrifugation des tubes à 4°C pendant 30min à 4500g a été réalisée. Ensuite 1mL d'éthanol glacial à 70% a été ajouté à chaque culot ; puis après remise en suspension, une seconde centrifugation à 4°C et à 4500g a été réalisée durant 10min. Le surnageant a été éliminé par retournement et le culot contenant l'ADN extrait a été séché sous vide. Le culot a été remis en solution dans 40µL de tampon d'échantillon (Tris-HCl 10mM, EDTA 1mM, pH 8) et stocké à 4°C avant son utilisation.

### **C.1.1 Dosage de l'ADN**

Pour chaque échantillon, l'absorbance relative de l'ADN et des protéines a été mesurée au spectrophotomètre à 260nm et 280nm en utilisant un Nano Drop® ND-1000 Spectrophotometer. Les échantillons montrant un rapport DO 260/DO 280 entre 1,7 et 2 ont été soumis à l'amplification. Le dosage à 260nm a par ailleurs permis de calculer la concentration en ADN de chaque échantillon. Une réaction de PCR a ensuite été réalisée pour chaque échantillon.

### **C.2 L'analyse du type de l'EBV**

L'analyse du type de l'EBV a été réalisée par la détermination de la divergence de séquence 3' du gène EBNA2 par PCR, comme décrit par Borisch et al. (Borisch et al., 1993). La région EBNA2 a été amplifiée en utilisant les amorces gen1 : 5'-AGGGATGCCTGGACACAAG-3' et gen2 : 5'-GTGCTGGTGCTGCTGGTGG-3' comme amorces externes avec 250 µg d'ADN génomique. Le mélange réactionnel contenait 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM de chaque dNTP, 200 uM de chaque amorce et 2,4 unités de Taq ADN polymérase HiFi® (Roche-Boulogne-Billancourt-France). Après la première dénaturation à 94°C pendant 2 minutes, la PCR a été réalisée pour un total de 35 cycle s: dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation à 55°C pendant une minute une extension à 72 de 45s, et une extension finale à 72°C pendant sept minutes.

Après cette 1ère PCR, 1 µL de l'amplicon a été mélangé avec des amorces spécifiques de chaque type pour effectuer la PCR nichée afin d'identifier les types A et B. Les amorces utilisées pour le type A étaient les amorces EBNA2 A1 : 5' TCTTGATAGGGATCCGCTAGGATA 3' et EBNA2 A2 : 5' ACCGTGGTTCTGGACTATCTGGATC 3'. Pour le type B les amorces EBNA2 B1 : 5' CATGGTAGCCTTAGGACATA 3' et EBNA2 B2 : 5' AGACTTAGTTGATGCCCTAG 3' ont été utilisées. La PCR utilisée ici permet l'amplification de la cible en incorporant de loin

en loin du dUTP-11-digoxigénine. Le kit PCR ELISA, DIG-Labeling<sup>®</sup> (Roche) a été utilisé en suivant les recommandations du fabricant. Pour cette PCR, les conditions utilisées étaient les suivantes : 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,16 mM de dATP, dCTP, dGTP, 0,152 nM de dUTP et 8 μM de dTTP, 1,2 nM de chaque amorce et 0,5 mU de Taq ADN polymérase. Après la première dénaturation à 94°C pendant 6 minutes, la PCR a été effectuée pour un total de 40 cycles : dénaturation à 94°C pendant 45 secondes, hybridation à 55°C pendant 45 secondes, et extension à 72°C pendant 45 secondes, suivis par une extension finale de 10 minutes à 72°C.

Cette étape d'amplification a ensuite été suivie d'une révélation par hybridation en milieu liquide et technique immunoenzymatique qui utilise le kit PCR ELISA, DIG-Detection<sup>®</sup> de Roche. Les sondes utilisées pour cette hybridation sont : 5'-CTCTGTCACAACCGAGGCTTACC-3' pour l'EBNA2 du type A et 5'-AGGCCTACTCTTCCTCAACCCAG-3' pour l'EBNA2 du type B. Après une hybridation de 3h en milieu liquide, les sondes biotinyllées sont accrochées à leur cible qui est l'ADN amplifié. L'ensemble est alors disposé en plaque ELISA. Les puits de la plaque sont recouverts de streptavidine ; la sonde hybridée à l'ADN amplifié se fixe ainsi sur ce support. La révélation est alors effectuée à l'aide d'un anticorps anti-digoxigénine qui reconnaît la digoxigénine incorporée dans la chaîne au cours de l'amplification. Un anticorps secondaire marqué à la peroxydase puis finalement le substrat chromogène de cette enzyme sont ensuite ajoutés. La mesure de la densité optique permet de déterminer la positivité.

### **C.3 Clonage et séquençage du gène *LMP1***

#### **C.3.1 Amplification du gène *LMP1* de l'EBV par PCR nichée**

L'amplification du gène de la protéine LMP1 de l'EBV a été réalisée en utilisant une réaction de polymérisation en chaîne nichée (Nested-PCR). La première PCR a été réalisée en utilisant l'amorce sens LMP1/1315 : 5'-TGGTATGCCAGTACCCTGTGG-3' et l'amorce anti-sens LMP1/3154 : 5'-CTGTACCCGTAAGTGCCTCCG-3'. Pour la seconde PCR l'amorce sens LMP1/9580 5'-CCAAGAAACACGCGTTACTCTGACGTAGCC-3', et l'amorce anti-sens LMP1/7832 5'-GCCTGGTAGTTGTGTTGTGCAGAGGTC-3', ont été utilisées.

Les deux réactions de PCR ont été développées chacune sous un volume de 50μL en utilisant le mélange réactionnel suivant (tableau II) :

	Mix (première PCR)	Mix (seconde PCR)
<b>Tampon Taq</b>	1x	1x
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	2mM	2mM
<b>dNTP</b>	200µM de chaque	200µM de chaque
<b>Amorces</b>	0.4µM de chaque	0.4µM de chaque
<b>Taq ADN polymérase de haute fidélité (Roche)</b>	1 unité	1 unité
<b>ADN</b>	250ng	1.5µL amplifiat de première PCR
<b>Eau ultra pure</b>	qsp 50µL	qsp 50µL

**Tableau II** : Les différentes concentrations des mélanges réactionnels utilisés pour la première et la seconde PCR amplifiant le gène *LMPI* de l'EBV.

Les conditions d'amplification pour les deux réactions sont respectivement les suivantes (tableaux III et IV) :

	Température	Temps	Cycles
Dénaturation initiale	94°C	2min.	
Dénaturation	94°C	15sec.	25x
Hybridation des amorces	56°C	30sec.	
Elongation	72°C	45sec. + 5sec. /cycle	
Elongation Finale	72°C	7min.	

**Tableau III** : Conditions d'amplification pour la PCR externe amplifiant le gène *LMPI* de l'EBV.

	Température	Temps	Cycles
Dénaturation initiale	94°C	3min.	
Dénaturation	94°C	1min.	25x
Hybridation des amorces	59°C	30sec.	
Elongation	72°C	45sec. + 5sec. /cycle	
Elongation Finale	72°C	15min.	

**Tableau IV** : Conditions d'amplification pour la PCR interne amplifiant le gène *LMPI* de l'EBV.

A la fin de cette seconde PCR, de la Taq ADN polymérase (Qiagen, Hilden, Allemagne) a été ajoutée au mix (1 unité par tube), puis les tubes de PCR ont été mis dans le thermocycleur à 72°C pendant 9min, ceci afin d'ajouter une queue poly-A au fragment déjà amplifié (sans amplification).

### C.3.2 Gel d'électrophorèse

L'ADN étant chargé négativement, les fragments amplifiés migrent tous de l'anode (-) vers la cathode (+).

Les fragments d'ADN, déposés dans un gel d'agarose sont donc séparés en fonction de leur taille ; plus un fragment est petit, plus sa vitesse de migration est élevée et plus il migre loin. Après électrophorèse, les fragments sont ensuite visualisés par exposition aux rayons ultraviolets (UV) grâce au bromure d'éthidium (BET) incorporé dans le gel d'agarose et qui s'intercale entre les paires de bases de l'ADN. En étant excité par les UV, le BET émet une fluorescence rouge orangée. La migration s'effectue en présence de marqueurs de poids moléculaires, de taille et de concentration connues (Smartladder™, Invitrogen ; PCR DNA Ladder, Gen Script), permettant ainsi de déterminer approximativement la taille et la concentration de l'ADN amplifié.

Les fragments amplifiés dans la première et la seconde PCR (volume de 5µL) ont été visualisés par comparaison à un marqueur de taille, sous lumière UV après électrophorèse de 30 min sous 100mV en gel d'agarose à 2%, bromure d'éthidium 0.7mg/mL. Leur taille respective était de 1839pb et 1748pb.

### **C.3.3 Purification**

Le produit de PCR obtenu a ensuite été purifié à l'aide du kit QIAquick PCR® (Qiagen) en suivant les recommandations du fabricant, afin de pouvoir effectuer le clonage.

### **C.3.4 Clonage des gènes *LMPI***

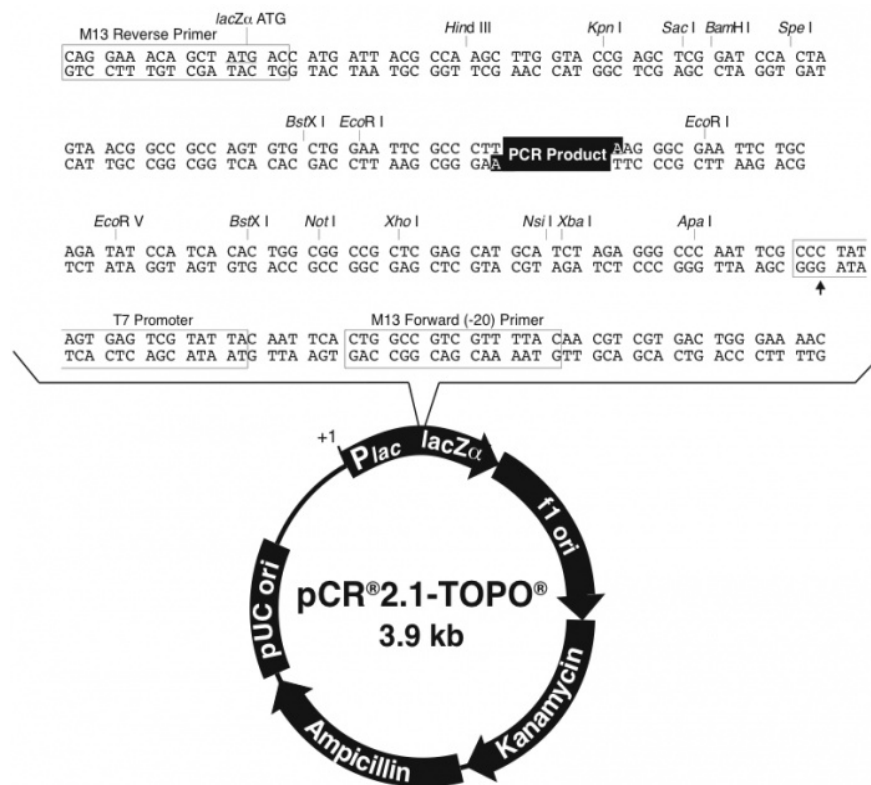
#### ***i. Principe***

Les clonages ont été effectués à l'aide du kit TOPO TA Cloning®, Five-minute Cloning of Taq polymerase-amplified PCR products (Invitrogen). Le kit contient tous les éléments nécessaires pour le clonage : le vecteur pCR 2.1, la ligase et son tampon de ligation, de l'eau distillée DNase free et du milieu SOC.

Le plasmide utilisé est le plasmide pCR 2.1 (figure 30). Ce plasmide double brin a la particularité d'être sous forme linéaire et de posséder à ses extrémités 3' des résidus déoxythymidine lui permettant d'être plus particulièrement adapté pour l'insertion et la ligation d'inserts comportant à leurs extrémités des résidus déoxyadénosine. Ce plasmide possède également un marqueur de sélection, le gène de résistance à l'ampicilline, permettant la sélection des bactéries portant le plasmide. Il possède également un gène rapporteur, le gène *Lac-Z*, au sein duquel se trouve le site d'insertion. Ce gène ne peut ainsi s'exprimer que

si l'insert n'a pas été intégré dans le plasmide. Plus concrètement, en présence de X-Gal (Sigma), chaque colonie bleue est constituée par un clone de cellules qui a déjà synthétisé la  $\beta$ -galactosidase, qui à son tour catalyse l'hydrolyse du substrat X-Gal, ce qui va libérer un produit bleuté. Autrement dit, chaque colonie bleue ne possède pas d'insert. A l'inverse, chaque colonie blanche est constituée par un clone de cellules qui n'a pas synthétisé la  $\beta$ -galactosidase fonctionnelle donc ne peut hydrolyser le X-gal et ne peut présenter la couleur bleutée : chaque colonie blanche possède un insert dans le gène *Lac-Z*.

Pour chaque échantillon testé, dix clones bactériens contenant les plasmides avec les inserts ont été congelés sur cryobilles et stockés à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Le séquençage a été réalisé sur 6 clones différents et de manière indépendante, pour chaque échantillon.



**Figure 30** : Schéma de l'organisation du vecteur pCR 2.1<sup>®</sup> (d'après Invitrogen).

## ii. Souches de bactéries utilisées

Le clonage s'effectue dans des bactéries *Escherichia coli* Top 10<sup>®</sup> (Invitrogen). Ces dernières sont directement compétentes et ont la particularité de ne pas exprimer de répresseur de Lac-Z, si bien qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser d'inducteur IPTG pour la sélection des colonies de bactéries transformées. L'IPTG joue le rôle d'inducteur de l'opéron *lac*. Il a la

capacité de se lier au répresseur de l'opéron et ainsi permettre la synthèse de la  $\beta$ -galactosidase. Un avantage de l'IPTG pour les études *in vivo*, c'est que comme il ne peut pas être métabolisé par *E. coli*, il reste de concentration constante ; c'est un inducteur non métabolisable. Dans notre travail, la souche d' *E. coli* TOP10 ( $F^- mcr A \Delta (mrr-hsdRMS-mcrBC) \Phi 80 lacZ \Delta M15 \Delta lacX74 recA1 araD139 \Delta (ara-leu) 7697 galU galK rpsL (Str^R) endA1 nupG$ ) a été transformée par le plasmide pCR<sup>®</sup> 2.1-TOPO<sup>®</sup>.

### **iii. Ligature du fragment amplifié dans un plasmide pCR<sup>®</sup> 2.1-TOPO<sup>®</sup>**

La ligature des inserts a été réalisée selon le rapport insert vecteur 3/1, rapport qui a été retenu comme donnant les meilleurs résultats après plusieurs essais. Elle a été effectuée dans un volume final de 6  $\mu$ L avec un volume d'insert calculé, 1  $\mu$ L d'une solution de sels, (NaCl 1.2M, MgCl<sub>2</sub> 0.06M), du vecteur pCR2.1 qui a été sorti au moment de pipeter avec un volume 3 fois moindre que celui de l'insert, et de l'eau distillée DNase free qsp 6  $\mu$ L.

La quantité de produit de PCR purifié utilisé dans la réaction dépend de sa concentration : il a donc été quantifié au préalable par migration dans un gel d'agarose à 2% en présence du marqueur PCR DNA Ladder<sup>®</sup> (Gen Script, Etats-Unis), permettant ainsi d'évaluer sa quantité en ADN (en ng). Nous avons pu calculer le volume d'insert nécessaire à la ligature selon le rapport I/V 3/1 par la relation suivante :

$$\text{Volume d'insert } (\mu\text{L}) = 3 \times (A/(T_p/T_i)) \times Y$$

dans laquelle A représente la concentration de plasmide (50ng/ $\mu$ L), T<sub>p</sub> la taille du plasmide (3900 pb), T<sub>i</sub> la taille de l'insert et Y la concentration d'insert estimée à partir du gel.

La réaction a été mélangée délicatement et incubée à température ambiante (22-23°C) pendant 30min. La queue poly-T du plasmide rend possible la ligature avec la queue poly-A du fragment amplifié par PCR.

### **iv. Transformation des bactéries compétentes *Escherichia coli* TOP10**

Afin de récupérer uniquement les plasmides contenant l'insert d'intérêt, des bactéries *E.coli* TOP10<sup>®</sup> transformées, ont été mises en culture. Nous avons ensuite sélectionné les clones transformés.

Pour chaque clonage, une aliquote de ces bactéries a été utilisée. Après décongélation dans de la glace pilée, les bactéries ont été mises en contact avec le produit de ligature. La transformation réalisée est basée sur le protocole d'Inoue et al. Elle s'effectue par un choc

thermique de 30 sec à 42°C, afin de fragiliser les parois bactériennes dans le but de faire pénétrer les plasmides, suivi d'un maintien à 4°C pendant 30 min. Les bactéries ont alors été mises en culture après qu'on ait ajouté 250µL de milieu S.O.C. (2% Tryptone, 0.5% extrait de levure, NaCl 10mM, KCl 2.5mM, MgCl<sub>2</sub> 10mM, MgSO<sub>4</sub> 10mM, glucose 20mM) qui est un milieu riche pour les bactéries *E. coli*, puis les tubes ont été bouchés hermétiquement et ont été agités horizontalement à une vitesse de 35g à 37°C pendant 1 heure. Les cellules ont été étalées sous la flamme sur deux boîtes de Pétri coulées et séchées au préalable (10mL milieu Brain Heart Infusion (BHI) + ampicilline 50µg/mL + X-Gal à 40mg/mL). Les boîtes ont été incubées une nuit à 37°C.

#### ***v. Repiquage***

Des colonies bleues et des colonies blanches sont apparues sur les boîtes de Pétri ; toutes les colonies qui ont poussé étaient résistantes à l'ampicilline, elles ont intégré le plasmide pCR®2.1-TOPO® qui possédait un gène responsable de la résistance à l'ampicilline (Sigma).

Les colonies blanches des bactéries qui poussaient sur les boîtes de Pétri, ont été repiquées à raison d'une colonie par tube, dans des bouillons BHI de 10mL, un milieu très nutritif servant à la croissance des bactéries *E. coli*, et contenant 50µg/mL d'ampicilline. Un numéro de C1 à C30 a été attribué à chaque colonie et au tube correspondant. Tous les tubes ont été mis à agiter une nuit en position verticale à 37°C à une vitesse de 60g.

#### ***vi. Extraction "Boiling" de l'ADN plasmidique***

Après un chauffage permettant un éclatement des bactéries et libération de leur ADN, les clones sélectionnés ont subi une PCR sur le gène LMP1, cherchant à amplifier la séquence cible, et afin de vérifier qu'ils possédaient bien l'insert.

En pratique, après agitation de la culture bactérienne en milieu liquide, 3 mL ont été centrifugés à 4500g à 4°C pendant 15min, et les culots ont été repris dans de l'eau ultra-pure (Nucléase Free). Les tubes ont ensuite été mis à bouillir pendant 20 min afin d'éclater les cellules, puis centrifugés 10 min à 5850g pour culoter les débris cellulaires et ainsi permettre de récupérer le surnageant contenant les plasmides.

#### ***vii. Amplification de l'ADN plasmidique extrait par PCR***

Pour mettre en évidence les clones positifs, une réaction de PCR a été réalisée sur 250ng d'extrait de chaque clone en utilisant les amorces LMP1/9580 et LMP1/7832 selon le protocole décrit précédemment, PCR suivie d'une électrophorèse en gel d'agarose à 2%.

### ***viii. Extraction Miniprep***

Afin d'obtenir de l'ADN purifié pouvant ensuite être séquencé, une extraction de l'ADN plasmidique des clones sélectionnés comme positifs (6 par échantillon) a ensuite été réalisée. L'extraction Miniprep de l'ADN plasmidique a été faite avec le Kit Wizard® Plus SV Miniprep DNA Purification System (Promega-Madison-Etats-Unis).

### ***Principe***

Le principe de cette extraction est connu sous le nom de lyse alcaline. Cette méthode permet de préparer sélectivement l'ADN du plasmide contenu dans les bactéries, tout en éliminant l'ADN du chromosome bactérien. Le principe de cette méthode consiste à effectuer la lyse des cellules au moyen d'un détergent : le SDS (dodécyl sulfate de sodium) en présence de soude, à pH 13. A ce pH très alcalin, l'ADN est dénaturé, c'est-à-dire que les deux brins de la double hélice sont séparés. En effet, les groupements phosphate sont tous chargés négativement à pH basique et les forces de répulsion entre les deux brins sont à leur maximum

### ***Procédure***

Chaque culture d'une nuit a été remise en suspension et additionnée d'une solution de lyse cellulaire, et d'une solution alcaline de protéase (10 µL) puis incubée à température ambiante pendant 5 min. Une solution de neutralisation (4.09M chlorhydrate de guanidine, 0.759M acétate de potassium, 2.12M acide acétique glacial, pH 4.2) a été ajoutée puis une centrifugation à 5850g de 10 min pour chaque culture a été faite.

Pour chaque échantillon, le lysat clarifié est déposé sur une colonne puis centrifugé à la vitesse maximale de 5850g dans une microcentrifugeuse pendant 1 minute à température ambiante. Un lavage est ensuite réalisé avec une solution de lavage (60mM acétate de potassium, 8.3mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.04mM EDTA, pH 8) contenant de l'éthanol à 60%. L'ADN plasmidique a alors été élué avec 100µL d'eau ultra-pure sans nucléase puis une centrifugation à vitesse maximale de 5850g et à température ambiante pendant 1 minute a été réalisée avant que l'ADN ne soit stocké à -20°C. La concentration en ADN plasmidique a été établie comme précédemment en utilisant le Nano Drop® ND-1000 Spectrophotometer.



Finalement, pour contrôler que l'insert était bien présent, une PCR a été réalisée avec les amorces LMP1/9580 et LMP1/7832 sur 250ng de chaque extrait, comme précédemment décrit. Ce produit de PCR a ensuite été soumis à un séquençage.

### **C.3.5 Purification des produits de PCR avant la réaction de séquençage**

Les produits de PCR ont été purifiés en utilisant le kit QIAquick® PCR purification (Qiagen) pour éliminer l'excès des amorces et des nucléotides et en suivant le protocole du fabricant. Rapidement, un volume (225 µL) de tampon PB 5 fois supérieur au volume (45 µL) du produit de PCR lui a été ajouté sur une colonne, puis une centrifugation à 5850g pendant 1min a été faite. Le contenu du tube a été vidé et la colonne, où les ADN se sont adsorbés puisqu'elle est chargée positivement, a été gardée. Les échantillons ont été lavés avec un tampon de lavage (PE) par centrifugation à 5850g pendant 1 min puis le contenu a été vidé de nouveau. L'opération a été renouvelée une deuxième fois. L'élution a alors été réalisée à l'aide du tampon EB dont un volume de 30 à 90 µL a été ajouté en fonction de l'intensité de la bande obtenue par la PCR. Après un contact d'1 min, une dernière centrifugation d'1 min à 5850g a été réalisée. L'éluat a été récupéré et conservé pour son utilisation.

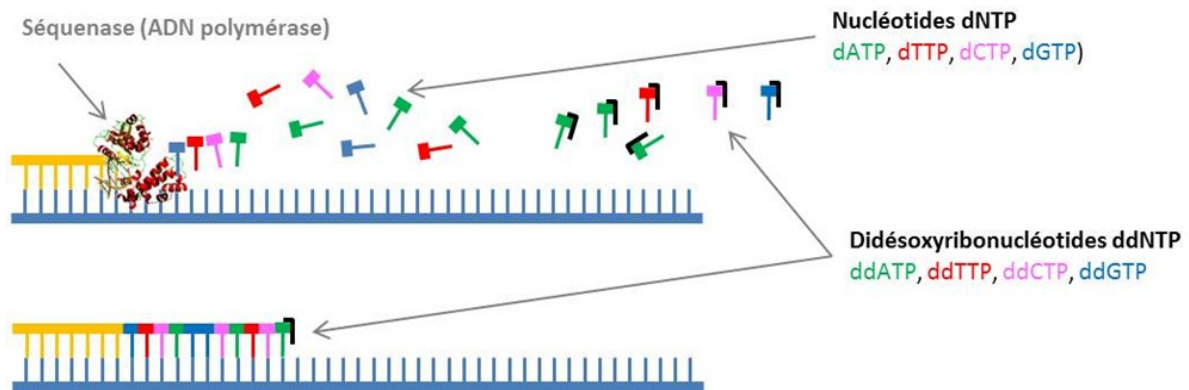
## **C.4 Séquençage**

### **C.4.1 Principe**

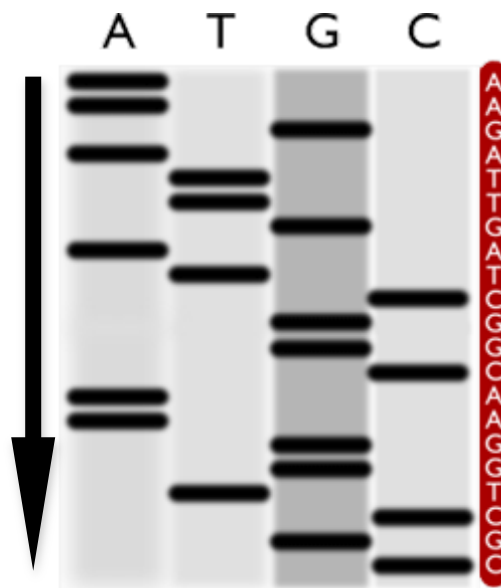
La réaction de séquençage a été réalisée suivant le principe de Sanger par extension de l'amorce. Le recopiage d'un brin matrice par une ADN polymérase ADN dépendante est initié par la fixation d'un oligonucléotide spécifique (amorce), complémentaire du brin matrice. Cette ADN polymérase va permettre l'élongation d'un nouveau brin complémentaire du brin matrice dans le sens 5'→3'. L'ADN polymérase permet l'incorporation de nucléotides (dNTP) libres présents dans le milieu réactionnel par la formation d'un pont phosphodiester entre le 3'OH de la chaîne et le 5' phosphate du dNTP suivant.

La réaction de Sanger repose sur l'incorporation aléatoire par cette ADN polymérase de didéoxynucléotides interrupteurs de chaîne (ddNTP) eux aussi présents dans le milieu réactionnel. Dans le milieu réactionnel il y a compétition entre les dNTP et les ddNTP. Le rapport spécifique ddNTP/dNTP et l'affinité de la Taq pour chaque nucléotide sont optimisés de telle façon qu'un ddNTP soit statistiquement incorporé à toutes les positions possibles. L'identification du ddNTP présent à l'extrémité 3' de chaque fragment déterminera la séquence nucléotidique du brin matrice initial.

L'élongation de chaque produit monobrin se termine par l'incorporation d'un ddNTP spécifique (figure 31), chaque ddNTP est marqué par un fluorochrome différent dont le spectre d'émission est spécifique. Une analyse spectrale va différencier les différents fluorochromes, associer la base correspondante et donc définir la séquence nucléotidique du brin d'ADN initial. Les fragments obtenus sont séparés selon leur taille par électrophorèse : sous l'action d'un champ électrique, les fragments, qui sont chargés négativement, migrent vers l'électrode positive plus ou moins vite en fonction de leur taille (figure 32).



**Figure 31** : Schéma de polymérisation par la méthode de Sanger (d'après oezratty.net).



**Figure 32** : Gel d'électrophorèse de séquençage par la méthode de Sanger : ici il y a une lecture de 21 nucléotides (d'après Interstices.info).

#### C.4.2 Réaction d'amplification de séquençage

Pour la réaction de séquençage de l'ensemble du gène *LMPI*, cinq amorces ont été utilisées (tableau V). Les produits de PCR purifiés ont été séquencés en utilisant le BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, Etats Unis) sur un séquenceur d'ADN ABI prism 3130xi Genetic Analyser (Applied Biosystems).

Les cinq amorces de séquençage utilisées étaient les suivantes : LMP-9S (anti-sens) (coordonnées dans B95-8 : nt 168974-168993), 8702 (sens) (168673-168702), 8667 (anti-sens) (168667-168697), 9580 (sens) (169551-169580) et l'amorce anti-sens 7832 (167832-167858).

N°	Nom de l'amorce	Séquence (5' → 3')
1	LMP-9S (anti-sens)	ATCATTTCCAGCAGAGTCGC(20)
2	8702 (sens)	GCTACCGATGATTCTGGCCATGAATCTGAC(30)
3	8667 (anti-sens)	GTTAGAGTCAGATTCATGGCCAGAATCATCG(31)
4	9580 (sens)	CCAAGAAACACGCGTACTCTGACGTAGCC(30)
5	7832 (anti-sens)	GCCTGGTAGTTGTGTTGTGCAGAGGTC(27)

Tableau V : Les différentes amorces utilisées pour la réaction de séquençage.

La réaction de séquençage a été effectuée sous un volume de 20µL. Le milieu réactionnel est composé de l'ADN à séquencer (3 µL), de 3 µL de « Terminator ready reaction mix » (Taq polymérase, dNTP, ddNTP marqués par un composé fluorescent appelé « dye », du tampon de l'enzyme 1x soit 200mM Tris pH9, 5mM MgCl<sub>2</sub>, d'une amorce à concentration de 0.7µM, et d'eau ultra pure sans nucléase qsp 20µL).

L'élongation des amorces a été effectuée dans un thermo-cycleur selon les conditions suivantes : 96°C pendant 1min, 25 cycles à 96°C pendant 10 sec, puis 50°C pendant 5 sec (hybridation) et élongation de 4 min à 60°C.

#### C.4.3 Purification des produits de séquençage

Les produits de séquençage ont été purifiés en utilisant le DyeEx 2.0 Spin Kit® (Qiagen) selon le protocole du fabricant. Après avoir cassé l'embout d'une colonne et avoir mise celle-ci dans un tube collecteur, une centrifugation à 1350g pendant 3min a été réalisée ; puis la colonne contenant une résine de silice a été chargée avec la totalité du produit de séquençage.

Après centrifugation à température ambiante à 1350g pendant 3 min, l'éluat a été récupéré puis évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur sous vide, à 60°C pendant 20 min. Du formamide a été ajouté aux produits de la réaction de séquençage puis une faible

centrifugation a été faite. Le formamide déstabilise la double-hélice d'acides nucléiques . Les échantillons ont été mis pendant 2 min 30 dans de l'eau bouillante dans le but de dénaturer l'ADN qui est alors simple brin et linéaire puis ils ont été transférés dans de la glace.

Enfin 15µL d'ADN purifié mis en solution dans du formamide, ont été mis sur une plaque spécifique au séquenceur.

#### **C.4.4 Analyse des séquences**

Les plaques prêtes ont ensuite été chargées dans le séquenceur de l'Unité de Séquençage du CHU de Limoges.

#### **C.4.5 Alignements et comparaisons des séquences**

Finalement, pour chaque clone, les résultats obtenus avec les différentes amorces ont été assemblés à l'aide du logiciel SeqScape version 2.5 (Applied BioSystems) pour former une séquence consensuelle. Cette séquence consensuelle a été travaillée pour lever toutes les ambiguïtés. Elle a ensuite été comparée aux autres séquences des différents clones testés pour un échantillon, à l'aide du logiciel Geneious version 5.6.5 (Auckland, Nouvelle-Zélande). Finalement, si les séquences des clones d'un échantillon correspondaient à un EBV de type A elles étaient comparées avec la séquence référence de la souche prototype B95.8 (base de données Baer R. *et al.* 1984) et celles correspondant à un EBV de type B étaient comparées à la souche Jijoye prise comme référence pour EBVB.

### **C.5 La transfection et la culture de cellules**

Nos 3 variants et la souche B95.8 ont été amplifiés par PCR en utilisant les oligonucléotides suivants 5'-CCTGACACGAATTCGCCACCATGGAACACG -3 'et 3' GCCTAGATCTAGAGAAAGGTTAGTC -5 '. Ces amorces ont été conçues pour créer les 2 sites de restriction EcoRI et Xba1. Les fragments digérés ont été clonés dans le vecteur d'expression de mammifère pCI® (Promega, France).

Tous les plasmides ont été purifiés à partir des bactéries *Escherichia coli* Top10 en utilisant le kit Endo-free maxiprep® (Qiagen).

La lignée leucémique lymphocytaire Jurkat issue de cellules T humaines a été maintenue dans un milieu RPMI 1640 supplémenté avec 10% de sérum foetal, à 37 ° C sous 5% de CO<sub>2</sub>.

L'efficacité de la transfection a été contrôlée en utilisant 1µg d'un vecteur d'expression GFP-contrôle (LONZA Laboratories) et a représenté environ 59%.

## **C.6 Préparation des extraits nucléaire et étude de l'activation de NFκB par des analyses de retard sur gel**

Les cellules Jurkat ont étéensemencées en flacon de culture de 75 cm<sup>2</sup> et ont proliféré pendant 48h avant d'être transfectées.

### **C.6.1 Préparation des extraits nucléaires**

Les cellules Jurkat ont été récupérées, lavées dans du PBS froid et remises en suspension dans du tampon de lyse (10 mM HEPES pH 7,9 ; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> ; 10 mM KCl ; 0,5 mM dithiothréitol ; 0,2 mM PMSF, inhibiteurs de protéase; 0,5% Nonidet P- 40) contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Complete<sup>TM</sup> Mini<sup>®</sup>, Roche Diagnostics), puis la solution a été agitée vigoureusement et incubée 20 min dans la glace.

Le lysat cellulaire a été centrifugé (2000 g, 10 min à 4°C) et le surnageant correspondant à l'extrait cytosolique a été récupéré. La quantité de protéines a été dosée par la méthode de Bradford.

Le culot de noyaux a alors été repris dans un tampon d'extraction nucléaire (20 mM HEPES pH 7,9 ; 420 mM NaCl ; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> ; 10 mM KCl ; 15% glycérol ; 0,2 mM EDTA ; 0,5 mM dithiothréitol ; 0,2 mM PMSF, inhibiteurs de protéases Complete<sup>TM</sup> Mini<sup>®</sup>).

Après incubation de 30 min dans la glace sous agitation intermittente (au vortex), les débris nucléaires ont été éliminés par centrifugation (13000 g, 10 min à 4°C).

Le surnageant correspondant à l'extrait nucléaire a été dosé par la méthode colorimétrique de Bradford et conservé à -80°C.

### **C.6.2Analyse de retard sur gel**

L'analyse du retard sur gel a été réalisée grâce au kit DIG GEL SHIFT<sup>®</sup> (Roche diagnostics).

Une quantité de 10 µg de protéines nucléaires ont été incubées pendant 15 min à température ambiante avec une sonde spécifique de NFκB marquée par de la digoxigénine en accord avec les instructions du fabricant.

Les échantillons ont ensuite été déposés sur un gel de polyacrylamide à 5% et les protéines nucléaires et les complexes protéines-sonde ont été séparés par électrophorèse en conditions natives. La migration a été effectuée à 80 V pendant 1h30 dans du tampon TBE 0,5X (Tris-Borate-Acétate).

Les protéines nucléaires et les complexes protéines-oligonucléotides ont ensuite été transférés sur une membrane en nylon (Roche). La membrane a ensuite été séchée et fixée par exposition aux UV pendant 3 min.

La membrane a alors été bloquée dans une solution de blocage pendant 30 min puis incubée pendant 30 min en présence d'un anticorps polyclonal de chèvre anti-digoxigénine couplé à une phosphatase alcaline.

La révélation a été effectuée par incubation de la membrane dans un réactif de chimiluminescence CSPD<sup>®</sup> puis par exposition dans le G:BOX system (Syngene, Ozyme, Saint Quentin en Yvelines, France).

**Article-1:**

**Blood clonal Del 15 or Del 30 LMP1 variants of EBV are predominant in NK/T lymphomas and disappear under successful treatment**

Adnan Halabi<sup>1</sup>, Arnaud Jaccard<sup>2</sup>, Jean Feuillard<sup>3</sup>, Sylvie Ranger-Rogez<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Limoges; <sup>2</sup>Department of Clinical Hematology, University Hospital Dupuytren, Limoges; <sup>3</sup>Department of Biological Hematology, University Hospital Dupuytren, Limoges; <sup>4</sup>Department of Virology, University Hospital Dupuytren, Limoges, France.

## Discussion

S'il est certain que l'EBV est associé à des cancers, l'une des questions récurrentes est de savoir comment il agit et s'il est responsable de la tumorigenèse. De nombreuses études ont mis en évidence le caractère oncogène de certaines protéines de latence et tout particulièrement de la protéine LMP1. L'existence de variants de cette protéine, trouvés souvent préférentiellement au sein des tumeurs, a laissé penser qu'ils pourraient avoir un pouvoir oncogène accru. L'une des questions auxquelles nous avons voulu répondre dans ce travail, c'est de savoir si un variant particulier était trouvé chez les patients européens atteints de NKTL.

Le typage de l'EBV, que nous avons réalisé dans des échantillons obtenus à partir de nos patients avant le traitement, a montré que 11 patients portaient un virus de type A et deux patients portaient un virus de type B. Ces résultats montrent que le type A est très majoritaire en France, comme dans beaucoup de pays. En comparant ces résultats avec les résultats des contrôles testés, il a été trouvé que les échantillons des patients NKTL présentaient une plus forte prévalence de l'EBV de type A dans la population générale par rapport aux contrôles. Ces résultats sont en accord avec la plupart des résultats publiés à la fois dans la population générale et dans les différentes pathologies dont les NKTL (Chen et al., 2010; Guiretti et al., 2007; Kim et al., 2003; Chiang et al., 1999).

Pour ces patients, nous n'avons pu disposer que d'échantillons sanguins, ce qui a diminué fortement le nombre de patients pouvant être étudiés (13 seulement portaient du virus au niveau sanguin sur 32 qui ont été testés). Par ailleurs, on peut évidemment se poser la question de savoir si les virus trouvés dans le sang représentent un bon reflet de ceux trouvés dans la tumeur. En ce qui concerne les 13 patients étudiés avant le traitement, 12 d'entre eux (92,3%) présentaient exactement la même souche dans les 6 clones testés. Avoir une seule souche dans le sang laisse supposer que cette souche est probablement celle trouvée dans la tumeur, et ce d'autant plus que la charge virale est élevée, ce qui était le cas pour la majorité de nos patients (Tableau I de l'article). Cette hypothèse a été clairement validée par Zuercher et al. (Zuercher et al., 2012) qui ont déterminé une bonne correspondance entre le sang et les échantillons tumoraux de patients atteints de VIH-LH pour les séquences de LMP1 et EBNA2. Cette observation est importante, car elle permet donc d'étudier le polymorphisme des virus trouvés dans les cancers associés à l'EBV sur des échantillons de sang, ce qu'il est évidemment beaucoup plus facile d'obtenir que des biopsies tumorales. Elle autorise aussi à



suivre les patients pendant leur traitement et ainsi à surveiller l'évolution de ce polymorphisme dans ces conditions thérapeutiques.

Dans cette étude, 84,6% des patients portaient une souche délétée, sur le gène *LMPI* étudié avant le traitement. La délétion était une délétion de 30pb (del30) dans 6 cas (46,1% des cas) ou de 15pb (del15) pour 5 patients (38,5% des cas). Dans les études de Nagamine et al. et de Suzumiya et al., il a été rapporté que la del30 était détectée dans les tumeurs de patients atteints de NKTL chez 7/7 et 14/14 patients japonais (Nagamine et al., 2007) (Suzumiya et al., 1999). D'autres études réalisées en Asie ont aussi déterminé une forte prévalence de la del30 dans cette population : entre 86 et 100% de patients positifs selon les études. Dans ces conditions, il aurait été intéressant de contrôler la présence de cette délétion dans les tumeurs des patients français, mais les tissus n'étaient pas disponibles. Cependant, il est légitime d'estimer que la délétion pourrait être présente dans ces tissus au moins au même niveau que dans les échantillons sanguins. Les études qui ont comparé le polymorphisme viral entre le sang et la tumeur pour un même patient, et pour lesquelles il existait des différences dans les résultats entre ces deux sites, ont souvent trouvé que le virus tumoral était délété alors que le virus sanguin ne l'était pas.

En ce qui concerne les échantillons contrôles, le séquençage a été effectué directement après l'amplification, ce qui permet donc uniquement l'analyse du polymorphisme de la souche majoritaire. Deux patients, adultes, qui ont eu une transplantation rénale suivie d'un traitement immunosuppresseur, présentaient la del30 (soit 9% des cas), alors que les 19 restants portaient le gène *LMPI* sauvage. Même si l'effectif de nos patients testés est faible, nous pouvons noter une incidence plus élevée de la del30 chez les patients NKTL par rapport aux contrôles.

La première description d'un gène *LMPI* muté remonte à 1991, où Hu et al. ont publié la séquence de la souche CAO, lignée établie à partir de NPC chez un patient chinois (Hu et al., 1991). Cette souche présente une del30 associée à une del15 et à de nombreuses substitutions. Par la suite, des souches del30 ont été décrites dans d'autres pathologies et notamment dans le LH (Knecht et al., 1993). D'autres souches, dont certaines comme Med+ et Ch1 sont assez proches de CAO sur le plan du gène *LMPI*, ont aussi été isolées à partir des patients atteints de NCP. Par la suite, de nombreuses études ont été réalisées sur cette délétion, dont une bonne revue a été effectuée par Chang et al. (Chang et al., 2009). Globalement, de fortes prévalences de del30 sont trouvées dans le NCP et les lymphomes de l'Asie de l'Est de même que dans les cancers gastriques des mêmes régions (Knecht et al.,

1995; Chen et al., 1996; Mori et al., 1999). Comme déjà mentionné, del30 est trouvée à une très grande fréquence dans les tissus tumoraux des NKTL asiatiques, avec des chiffres de 86 à 100% (Nagamine et al., 2007 ; Suzumiya et al., 1999 ; Chiang et al., 1996 ; Kuo et al., 2004 ; Kim et al., 2003 ; Tai et al., 2004). D'autres études ont montré la présence de del30 dans des pathologies malignes liées à l'EBV en Amérique du Sud, Argentine particulièrement (Lorenzetti et al., 2012). Malgré tout, à ce jour, on ne sait pas encore si l'importance de la prévalence de cette délétion dans les tissus tumoraux de certaines pathologies cancéreuses associées à l'EBV, correspond à une ségrégation de cette souche dans la tumeur. Ces variants, une fois apparus, pourraient être maintenus par une pression immunitaire (Mainou et al., 2006).

Inversement, il a été montré que la population générale asiatique était souvent porteuse de souches del30, toutefois à une prévalence inférieure à celle des NCP ou NKTL. La population sub-américaine semble aussi volontiers porteuse de souches del30, ce qui a laissé penser à certains que la présence de del30 dans les tissus tumoraux serait plutôt le reflet de l'incidence locale. Notre travail qui porte sur des patients européens montre une prévalence élevée de la del30 dans la population des NKTL français par rapport à un groupe contrôle. Il nous semble que cette souche qui doit apparaître par des mécanismes de recombinaison inter-souches puisse être sélectionnée par les cellules tumorales. Cette sélection pourrait ne pas être liée directement à la délétion, mais à des substitutions associées. Ainsi, la substitution d'une leucine par une phénylalanine dans le second résidu de l'épitope HLA-A2 restreint (YLL) pourrait permettre de sélectionner les souches dans le tissu naso-pharyngé (Lin et al., 2004).

La question dépasse donc la simple présence de la del30. Ainsi nous avons examiné le polymorphisme des souches trouvées chez nos patients notamment en ce qui concerne les domaines fonctionnels connus de la protéine LMP1. Il est à noter qu'aucune substitution n'a été observée dans les domaines TES1 et TES2 qui sont donc particulièrement conservés. Par contre, toutes nos souches présentent la substitution M129I. L'absence de méthionine au codon 129 ne permet pas l'expression de la lyLMP1. Ceci est particulièrement important car il a été montré que la forme lytique de LMP1 n'est pas oncogène et inhibe la voie de signalisation NFκB induite par LMP1. LyLMP1 inhibe donc les propriétés oncogènes de LMP1 tout en diminuant sa demi-vie. Son absence, inversement, accroît donc le caractère oncogène de LMP1. Ceci a été mis en évidence par les expériences de retard sur gel qui ont montré que l'activation de NFκB était accrue avec les diverses souches (même la souche non délétée) par rapport à ce qui était obtenu avec B95.8.

De nombreuses substitutions ont aussi été trouvées dans les domaines trans-membranaires, ceci essentiellement pour les souches del30. Ces substitutions touchent différents domaines trans-membranaires : V43I pour TM1, S57A, I63V et F70V pour TM2, I124G pour TM4, L151I et I152L pour TM5 et enfin I85L pour TM3 et F112Y pour TM4, ces deux dernières mutations étant trouvées dans toutes les souches. Les modifications survenant dans les domaines trans-membranaires peuvent affecter l'homo-oligomérisation et/ou les interactions entre LMP1 et les autres molécules des radeaux lipidiques. Il est connu que l'association de LMP1 aux radeaux lipidiques joue un rôle important pour l'agrégation et la signalisation (Mainou et al., 2006).

Les souches del30 présentent les substitutions M129I et L126F situées dans la séquence YLLEMLWRL qui est le principal épitope CTL HLA-A2 restreint. Comme il a été mentionné plus haut, les modifications de cet épitope pourraient expliquer d'une part un pouvoir oncogène accru de LMP1 et d'autre part une ségrégation dans certains tissus comme le tissu naso-pharyngé (Lin et al., 2004).

La deuxième approche de ce travail a consisté à suivre les patients sous traitement et à examiner l'évolution des souches au niveau sanguin. Dans ce travail, les patients ont reçu un régime contenant de la L-asparaginase. Cette molécule n'a pas d'activité antivirale spécifique, mais elle agit sur les cellules NK tumorales en les détruisant. Vraisemblablement, ceci va se traduire au niveau sanguin, par une libération massive de nombreux virions ou fragments viraux issus de la tumeur au moment de la fonte tumorale, puis dans un deuxième temps, par un retour vers une situation « plus normale » avec colonisation par une souche sauvage. Les patients N° 1 et 8 sont particulièrement illustratifs de ce fait. Cette souche qui apparaît peut venir d'une réinfection ou plus vraisemblablement d'une souche préexistante, mais qui était très minoritaire par rapport à la souche tumorale et donc de détection difficile. Il semble donc que l'évolution des souches virales d'EBV dans le sang reflète l'efficacité du traitement sur la tumeur. Dans ce contexte on voit d'ailleurs que les souches « sauvages » qui ne présentent pas de délétion portent tout de même de légères différences dans leurs séquences. Ainsi, pour les 5 patients qui ont eu à un moment donné une souche qui ne porte pas de délétion, nous avons obtenu 3 séquences différentes. Il est également intéressant de noter que l'évolution de la souche de l'EBV dans le sang au cours du traitement se produit lentement et par une coexistence de différentes souches comme on le voit chez les patients 3, 6, 7, 8.

On peut se poser la question de savoir si le traitement est moins efficace chez les patients porteurs de souches virales avec des délétions. Avant le traitement, nous avons trouvé

6 patients avec une souche portant la del30 et 5 avec une souche portant la del15 ; respectivement 83,3% et 60% d'entre eux sont morts pendant le traitement ou rapidement après le traitement. Il semble donc que la souche portant la del15 soit moins « agressive » que la souche portant la del30. Cependant le nombre de patients était trop faible pour conclure et le seul patient qui a eu une souche sans délétion est mort rapidement avant le traitement.

Pour répondre différemment à cette question, nous avons décidé de comparer l'activation de NFκB par les différentes protéines LMP1. Nos résultats montrent ainsi que le gène *LMP1* portant la del30 entraîne une activation de NFκB supérieure à celle provoquée par les autres gènes. La del15 entraîne aussi une activation importante de NFκB. Ces résultats sont en accord avec l'observation que les patients qui portaient une souche avec une délétion pendant le traitement sont décédés rapidement (patients 10, 12, 3, 4, 7) et qu'inversement les patients qui ont subi un changement de souche délétée par une souche non délétée sont entrés en rémission complète (patients 8, 1, 6). Les données obtenues par l'analyse de décalage de mobilité électrophorétique (EMSA) sont la conséquence de l'activité de la protéine entière. Concernant la souche del30, par exemple, cela ne signifie pas que la délétion elle-même soit responsable de la virulence de cette souche. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à examiner le polymorphisme global de la protéine comme il a été discuté plus haut.

En conclusion, ce travail a montré que les patients français atteints de NKTL portaient des souches délétées (del30 ou del15) à plus de 80% des cas, et ce au niveau sanguin. Les souches délétées entraînent une meilleure activation de NFκB et sont donc plus oncogènes. Cette activation accrue de NFκB peut être la résultante de divers mécanismes. Au cours du traitement, on voit disparaître la souche délétée et apparaître une souche sauvage qui se réplique sur ce terrain immunodéprimé.

## **Suite de travail**

**En perspective d'un deuxième article**

# Perspectives

Ce travail a présenté deux études. L'une, terminée, est soumise pour publication. L'autre est juste débutée et mérite d'être poursuivie. A l'issue de ce travail, plusieurs réflexions s'imposent quant à la poursuite du sujet.

Pour que l'étude soit plus significative il serait bien sûr intéressant de travailler sur un grand effectif de patients atteints de lymphome NK/T afin de mieux cerner le virus associé aux tumeurs et de comparer ce virus à des virus sauvages trouvés dans un groupe contrôle de patients qui présentent l'EBV sans malignité. La dernière technique utilisée ici, permettrait d'avoir des résultats rapides et précis sur des prélèvements à la fois sanguins et biopsiques, prélevés en même temps, chez les patients. Les résultats trouvés pourraient être corrélés à une étude histologique sur les biopsies afin d'affiner ces résultats et de déterminer l'effet et l'impact de la présence des mutations sur la distribution et le niveau d'expression de l'EBV dans les tissus tumoraux.

Comme il a été trouvé des mutations non décrites précédemment dans la littérature, il serait intéressant de réaliser des chimères en isolant chacune de ces mutations, et de tester par la suite leur capacité à activer la voie NF-KB. Cette voie de signalisation étant importante dans l'infection par l'EBV, il faut réaliser une étude plus approfondie pour déterminer les mécanismes de régulation qui interviennent dans l'activation de la voie NF-KB par le gène *LMP1* en présence de telles mutations.

La plupart des études ont été réalisées sur le modèle des lymphocytes B. Il serait important d'effectuer des études sur différentes lignées de cellules NK afin de définir leur comportement en présence du gène *LMP1* sauvage et du gène *LMP1* muté. Par exemple, il a été démontré dans les cellules B que le gène *LMP1* est impliqué dans la régulation des protéines anti-apoptotiques (Yoshiyama et al., 1997), il serait donc intéressant de regarder si cet effet est retrouvé aussi dans les cellules NK, en réalisant des techniques qui permettent de détecter l'expression des protéines de la famille Bcl2 dans les cellules NK infectées par l'EBV. En outre, une étude a montré que le gène *LMP1* augmente la prolifération des cellules B dans des souris transgéniques (Uchida et al., 1999). Il serait aussi important de voir la cinétique de la prolifération des cellules NK dans ces souris transgéniques afin de regarder l'effet du gène *LMP1* sur la dynamique de la prolifération des cellules NK infectées.

Il a été montré que le gène *LMP1* est impliqué dans plusieurs voies de signalisation favorisant la prolifération cellulaire, cet effet peut s'effectuer soit *via* la surexpression des protéines pro-apoptotiques ou *via* l'inhibition des protéines anti-apoptotiques. Lin et al. ont déterminé dans une lignée cellulaire CNE1 de carcinome nasopharynx que le gène *LMP1* est impliqué dans la régulation positive de la protéine ERK, cette dernière active l'expression de Op18/stathmin au cours de la phase G1/S du cycle cellulaire (Lin et al., 2012). La protéine Op18/stathmin intervient dans la régulation des microtubules durant le cycle cellulaire. Il a été décrit que cette protéine est impliquée dans les leucémies et le cancer du sein (Curmi et al., 2000) et il a été suggéré que le gène *LMP1* pourrait induire la sur-activation du cycle cellulaire *via* l'intervention indirecte de la protéine Op18/stathmin. Une autre étude a montré également que le gène *LMP1* régule négativement l'activation de la protéine ERK au cours de la phase G2/M (Deng et al., 2003). La régulation négative de l'activité ERK au cours de la phase G2/M pourrait être impliquée directement ou indirectement *via* l'activation des cyclines dans la transition de G2 à la phase M du cycle cellulaire (Li et al., 1997). De la même manière il serait important de vérifier si le gène *LMP1* est impliqué dans la régulation du cycle cellulaire des cellules NK infectées. En testant l'effet du gène *LMP1* sur l'activation de la voie MAPK et par la suite sur la phosphorylation de la protéine ERK, on pourra vérifier si la protéine ERK activée a un impact sur la sur-activation de la protéine Op18/stathmin et sur les différentes cyclines responsables de la transition des phases du cycle cellulaire des cellules NK infectées par l'EBV, en identifiant ainsi les mutations responsables de ces dérégulations, ce qui pourrait donc ouvrir de nouvelles portes de recherche permettant d'aboutir à des aspects thérapeutiques.



## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Particules d'EBV visualisées en microscopie électronique	16
Figure 2 : Arbre phylogénique des herpesvirus humains	20
Figure 3 : Structure du virion de l'EBV	21
Figure 4 : Le génome du virus EBV	22
Figure 5 : Schéma représentant le profil de transcription des gènes viraux en fonction des différentes formes de latence	26
Figure 6 : Structure de la protéine EBNA1	29
Figure 7 : Structure d'EBNA2	30
Figure 8 : Schéma de la séquence primaire d'EBNA-LP de différents <i>Lymphocryptovirus</i>	32
Figure 9 : Voies de signalisation induites par LMP2A	34
Figure 10 : Voies de signalisation induites par LMP2A	36
Figure 11 : Schéma illustrant le processus d'assemblage et relargage du virion	40
Figure 12 : Modèle qui montre la réplication et le relargage des cellules B dans l'infection de la salive par l'EBV	41
Figure 13 : Inhibition de la différenciation des lymphocytes B par les lymphocytes infectés par l'EBV	43
Figure 14 : Schéma illustrant les étapes de l'infection des lymphocytes B par l'EBV <i>in vitro</i>	43
Figure 15 : L'infection des lymphocytes B et des cellules épithéliales par l'EBV	45
Figure 16 : Expression de la LMP1 et des EBER dans les cellules de Reed-Sternberg	53
Figure 17 : Structure schématique du gène BNLF1	61
Figure 18 : Séquences régulatrices du promoteur ED-L1.	62
Figure 19 : Modèle illustrant un mécanisme d'autorégulation de la protéine LMP1	64
Figure 20 : Régulation de l'expression de LMP1 par EBNA2	65

Figure 21 : Structure schématique de la protéine LMP1	66
Figure 22 : Structure et fonctions de la protéine LMP1	68
Figure 23 : Représentation schématique du recrutement des protéines TRAF par LMP1	70
Figure 24 : Processus cellulaires induits par la voie NFκB	71
Figure 25 : Schéma de l'activation de la voie non-canonique par LMP1	72
Figure 26 : Schéma de l'activation de la voie canonique par LMP1.	72
Figure 27 : Les principaux types de cellules NK	77
Figure 28 : Les différents stades de développement des cellules NK	79
Figure 29 : Schéma illustrant les différentes voies d'apoptose activées par les cellules NK	83
Figure 30 : Schéma de l'organisation du vecteur pCR 2.1 <sup>®</sup>	102
Figure 31 : Schéma de polymérisation par la méthode de Sanger	107
Figure 32 : Gel d'électrophorèse de séquençage par la méthode de Sanger	107
Figure 33 : Vue de l'ensemble de la technologie de capteur de pH de semi-conducteurs.	139
Figure 34 : Vue d'ensemble du séquençage utilisant un semi-conducteur sensible au pH	141
Figure 35 : Migration des fragments d'ADN en temps réel sur E-Gel	143
Figure 36 : Visualisation des fragments d'ADN de 200pb dans les puits de récupération	143

## LISTES DES TABLEAUX

Tableau I : Répartition des types EBV-1 et -2 dans diverses pathologies et chez des sujets sains	17
Tableau II : Les différentes concentrations des mélanges réactionnels utilisés pour la première et la seconde PCR amplifiant le gène <i>LMPI</i> de l'EBV	100
Tableau III : Conditions d'amplification pour la PCR externe amplifiant le gène <i>LMPI</i> de l'EBV	100
Tableau IV : Conditions d'amplification pour la PCR interne amplifiant le gène <i>LMPI</i> de l'EBV	100
Tableau 5 : Les différentes amorces utilisées pour la réaction de séquençage	108
Tableau 6 : Liste des mutations trouvées, avec leurs positions	146
Tableau 7 : Alignement des acides aminés issus des souches de quelques patients	152

## Références Bibliographiques

- A, H., T. George, K. Vm, and M.A. S. 2008. Arteriovenous malformation after transradial percutaneous coronary intervention. *Indian heart journal*. 60:64.
- Aarts, L., and I. van Schagen. 2006. Driving speed and the risk of road crashes: a review. *Accident; analysis and prevention*. 38:215-224.
- Aarts, L., and I. van Schagen. 2006. Driving speed and the risk of road crashes: a review. *Accident; analysis and prevention*. 38:215-224.
- Abbot, S.D., M. Rowe, K. Cadwallader, A. Ricksten, J. Gordon, F. Wang, L. Rymo, and A.B. Rickinson. 1990. Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 induces expression of the virus-encoded latent membrane protein. *Journal of virology*. 64:2126-2134.
- Abbot, S.D., M. Rowe, K. Cadwallader, A. Ricksten, J. Gordon, F. Wang, L. Rymo, and A.B. Rickinson. 1990. Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 induces expression of the virus-encoded latent membrane protein. *Journal of virology*. 64:2126-2134.
- Abe, M., K. Tasaki, K. Tominaga, S. Fukuhara, S. Imai, T. Osato, and H. Wakasa. 1992. Characterization and comparison of two newly established Epstein-Barr virus (EBV)-negative and EBV-positive Burkitt's lymphoma cell lines. EBV-negative cell line with a low level of expression of ICAM-1 molecule and EBV-positive cell line with a high level of expression of ICAM-1 molecule. *Cancer*. 69:763-771.
- Adams, A. 1987. Replication of latent Epstein-Barr virus genomes in Raji cells. *Journal of virology*. 61:1743-1746.
- Adams, A. 1987. Replication of latent Epstein-Barr virus genomes in Raji cells. *Journal of virology*. 61:1743-1746.
- Adams, A., and T. Lindahl. 1975. Epstein-Barr virus genomes with properties of circular DNA molecules in carrier cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 72:1477-1481.
- Adams, A., and T. Lindahl. 1975. Epstein-Barr virus genomes with properties of circular DNA molecules in carrier cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 72:1477-1481.
- Adriaenssens, E., A. Mougel, G. Goormachtigh, E. Loing, V. Fafeur, C. Auriault, and J. Coll. 2004. A novel dominant-negative mutant form of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) selectively and differentially impairs LMP1 and TNF signaling pathways. *Oncogene*. 23:2681-2693.
- Adriaenssens, E., A. Mougel, G. Goormachtigh, E. Loing, V. Fafeur, C. Auriault, and J. Coll. 2004. A novel dominant-negative mutant form of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) selectively and differentially impairs LMP1 and TNF signaling pathways. *Oncogene*. 23:2681-2693.

- Ala-Aho, R., N. Johansson, A.H. Baker, and V.M. Kahari. 2002. Expression of collagenase-3 (MMP-13) enhances invasion of human fibrosarcoma HT-1080 cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 97:283-289.
- Alfieri, C., M. Birkenbach, and E. Kieff. 1991. Early events in Epstein-Barr virus infection of human B lymphocytes. *Virology*. 181:595-608.
- Alfieri, C., M. Birkenbach, and E. Kieff. 1991. Early events in Epstein-Barr virus infection of human B lymphocytes. *Virology*. 181:595-608.
- Altmann, M., D. Pich, R. Ruiss, J. Wang, B. Sugden, and W. Hammerschmidt. 2006. Transcriptional activation by EBV nuclear antigen 1 is essential for the expression of EBV's transforming genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103:14188-14193.
- Amyes, E., C. Hatton, D. Montamat-Sicotte, N. Gudgeon, A.B. Rickinson, A.J. McMichael, and M.F. Callan. 2003. Characterization of the CD4+ T cell response to Epstein-Barr virus during primary and persistent infection. *The Journal of experimental medicine*. 198:903-911.
- Anagnostopoulos, I., M. Hummel, C. Kreschel, and H. Stein. 1995. Morphology, immunophenotype, and distribution of latently and/or productively Epstein-Barr virus-infected cells in acute infectious mononucleosis: implications for the interindividual infection route of Epstein-Barr virus. *Blood*. 85:744-750.
- Anagnostopoulos, I., M. Hummel, C. Kreschel, and H. Stein. 1995. Morphology, immunophenotype, and distribution of latently and/or productively Epstein-Barr virus-infected cells in acute infectious mononucleosis: implications for the interindividual infection route of Epstein-Barr virus. *Blood*. 85:744-750.
- Ando M, Sugimoto K, Kitoh T, Sasaki M, Mukai K, Ando J, et al. Selective apoptosis of natural killer-cell tumours by l-asparaginase. *British journal of haematology*. 2005 Sep;130(6):860-8.
- Ansell, S.M., T.M. Habermann, P.J. Kurtin, T.E. Witzig, M.G. Chen, C.Y. Li, D.J. Inwards, and J.P. Colgan. 1997. Predictive capacity of the International Prognostic Factor Index in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 15:2296-2301.
- Ansell, S.M., T.M. Habermann, P.J. Kurtin, T.E. Witzig, M.G. Chen, C.Y. Li, D.J. Inwards, and J.P. Colgan. 1997. Predictive capacity of the International Prognostic Factor Index in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 15:2296-2301.
- Ansell, S.M., T.M. Habermann, P.J. Kurtin, T.E. Witzig, M.G. Chen, C.Y. Li, D.J. Inwards, and J.P. Colgan. 1997. Predictive capacity of the International Prognostic Factor Index in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 15:2296-2301.

- Ansieau, S., I. Scheffrahn, G. Mosialos, H. Brand, J. Duyster, K. Kaye, J. Harada, B. Dougall, G. Hubinger, E. Kieff, F. Herrmann, A. Leutz, and H.J. Gruss. 1996. Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-1, TRAF-2, and TRAF-3 interact in vivo with the CD30 cytoplasmic domain; TRAF-2 mediates CD30-induced nuclear factor kappa B activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93:14053-14058.
- Ansorge, W.J. 2009. Next-generation DNA sequencing techniques. *New biotechnology*. 25:195-203.
- Apolloni, A., and T.B. Sculley. 1994. Detection of A-type and B-type Epstein-Barr virus in throat washings and lymphocytes. *Virology*. 202:978-981.
- Apolloni, A., and T.B. Sculley. 1994. Detection of A-type and B-type Epstein-Barr virus in throat washings and lymphocytes. *Virology*. 202:978-981.
- Arber, D.A., L.M. Weiss, P.F. Albuja, Y.Y. Chen, and E.S. Jaffe. 1993. Nasal lymphomas in Peru. High incidence of T-cell immunophenotype and Epstein-Barr virus infection. *The American journal of surgical pathology*. 17:392-399.
- Arber, D.A., L.M. Weiss, P.F. Albuja, Y.Y. Chen, and E.S. Jaffe. 1993. Nasal lymphomas in Peru. High incidence of T-cell immunophenotype and Epstein-Barr virus infection. *The American journal of surgical pathology*. 17:392-399.
- Arber, D.A., L.M. Weiss, P.F. Albuja, Y.Y. Chen, and E.S. Jaffe. 1993. Nasal lymphomas in Peru. High incidence of T-cell immunophenotype and Epstein-Barr virus infection. *The American journal of surgical pathology*. 17:392-399.
- Ardila-Osorio, H., B. Clause, Z. Mishal, J. Wiels, T. Tursz, and P. Busson. 1999. Evidence of LMP1-TRAF3 interactions in glycosphingolipid-rich complexes of lymphoblastoid and nasopharyngeal carcinoma cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 81:645-649.
- Ardila-Osorio, H., B. Clause, Z. Mishal, J. Wiels, T. Tursz, and P. Busson. 1999. Evidence of LMP1-TRAF3 interactions in glycosphingolipid-rich complexes of lymphoblastoid and nasopharyngeal carcinoma cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 81:645-649.
- Ardila-Osorio, H., C. Pioche-Durieu, F. Puvion-Dutilleul, B. Clause, J. Wiels, W. Miller, N. Raab-Traub, and P. Busson. 2005. TRAF interactions with raft-like buoyant complexes, better than TRAF rates of degradation, differentiate signaling by CD40 and EBV latent membrane protein 1. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 113:267-275.
- Artavanis-Tsakonas, S., K. Matsuno, and M.E. Fortini. 1995. Notch signaling. *Science*. 268:225-232.
- Au, W.Y., D.D. Weisenburger, T. Intragumtornchai, S. Nakamura, W.S. Kim, I. Sng, J. Vose, J.O. Armitage, and R. Liang. 2009. Clinical differences between nasal and extranasal natural

killer/T-cell lymphoma: a study of 136 cases from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 113:3931-3937.

- Au, W.Y., D.D. Weisenburger, T. Intragumtornchai, S. Nakamura, W.S. Kim, I. Sng, J. Vose, J.O. Armitage, and R. Liang. 2009. Clinical differences between nasal and extranasal natural killer/T-cell lymphoma: a study of 136 cases from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 113:3931-3937.
- Au, W.Y., D.D. Weisenburger, T. Intragumtornchai, S. Nakamura, W.S. Kim, I. Sng, J. Vose, J.O. Armitage, and R. Liang. 2009. Clinical differences between nasal and extranasal natural killer/T-cell lymphoma: a study of 136 cases from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 113:3931-3937.
- Au, W.Y., S.Y. Ma, C.S. Chim, C. Choy, F. Loong, A.K. Lie, C.C. Lam, A.Y. Leung, E. Tse, C.C. Yau, R. Liang, and Y.L. Kwong. 2005. Clinicopathologic features and treatment outcome of mature T-cell and natural killer-cell lymphomas diagnosed according to the World Health Organization classification scheme: a single center experience of 10 years. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 16:206-214.
- Au, W.Y., S.Y. Ma, C.S. Chim, C. Choy, F. Loong, A.K. Lie, C.C. Lam, A.Y. Leung, E. Tse, C.C. Yau, R. Liang, and Y.L. Kwong. 2005. Clinicopathologic features and treatment outcome of mature T-cell and natural killer-cell lymphomas diagnosed according to the World Health Organization classification scheme: a single center experience of 10 years. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 16:206-214.
- Au, W.Y., S.Y. Ma, C.S. Chim, C. Choy, F. Loong, A.K. Lie, C.C. Lam, A.Y. Leung, E. Tse, C.C. Yau, R. Liang, and Y.L. Kwong. 2005. Clinicopathologic features and treatment outcome of mature T-cell and natural killer-cell lymphomas diagnosed according to the World Health Organization classification scheme: a single center experience of 10 years. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 16:206-214.
- Aviel, S., G. Winberg, M. Massucci, and A. Ciechanover. 2000. Degradation of the epstein-barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) by the ubiquitin-proteasome pathway. Targeting via ubiquitination of the N-terminal residue. *The Journal of biological chemistry*. 275:23491-23499.
- Aviel, S., G. Winberg, M. Massucci, and A. Ciechanover. 2000. Degradation of the epstein-barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) by the ubiquitin-proteasome pathway. Targeting via ubiquitination of the N-terminal residue. *The Journal of biological chemistry*. 275:23491-23499.
- Babcock, G.J., L.L. Decker, M. Volk, and D.A. Thorley-Lawson. 1998. EBV persistence in memory B cells in vivo. *Immunity*. 9:395-404.
- Babcock, G.J., L.L. Decker, M. Volk, and D.A. Thorley-Lawson. 1998. EBV persistence in memory B cells in vivo. *Immunity*. 9:395-404.
- Babcock, G.J., L.L. Decker, R.B. Freeman, and D.A. Thorley-Lawson. 1999. Epstein-barr virus-infected resting memory B cells, not proliferating lymphoblasts, accumulate in the peripheral blood of immunosuppressed patients. *The Journal of experimental medicine*. 190:567-576.

- Babcock, G.J., L.L. Decker, R.B. Freeman, and D.A. Thorley-Lawson. 1999. Epstein-barr virus-infected resting memory B cells, not proliferating lymphoblasts, accumulate in the peripheral blood of immunosuppressed patients. *The Journal of experimental medicine*. 190:567-576.
- Baer, R., A.T. Bankier, M.D. Biggin, P.L. Deininger, P.J. Farrell, T.J. Gibson, G. Hatfull, G.S. Hudson, S.C. Satchwell, C. Seguin, and et al. 1984. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Nature*. 310:207-211.
- Baer, R., A.T. Bankier, M.D. Biggin, P.L. Deininger, P.J. Farrell, T.J. Gibson, G. Hatfull, G.S. Hudson, S.C. Satchwell, C. Seguin, and et al. 1984. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Nature*. 310:207-211.
- Baichwal V. R. and B. Sugden (1988). "Transformation of Balb 3T3 cells by the BNLF-1 gene of Epstein-Barr virus." *Oncogene* 2(5): 461-467.
- Banchereau, J., P. de Paoli, A. Valle, E. Garcia, and F. Rousset. 1991. Long-term human B cell lines dependent on interleukin-4 and antibody to CD40. *Science*. 251:70-72.
- Banchereau, J., P. de Paoli, A. Valle, E. Garcia, and F. Rousset. 1991. Long-term human B cell lines dependent on interleukin-4 and antibody to CD40. *Science*. 251:70-72.
- Baumforth, K.R., L.S. Young, K.J. Flavell, C. Constandinou, and P.G. Murray. 1999. The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. *Molecular pathology : MP*. 52:307-322.
- Beagley, K.W., and C.M. Gockel. 2003. Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. *FEMS immunology and medical microbiology*. 38:13-22.
- Beagley, K.W., and C.M. Gockel. 2003. Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. *FEMS immunology and medical microbiology*. 38:13-22.
- Bell, A.I., K. Groves, G.L. Kelly, D. Croom-Carter, E. Hui, A.T. Chan, and A.B. Rickinson. 2006. Analysis of Epstein-Barr virus latent gene expression in endemic Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma tumour cells by using quantitative real-time PCR assays. *The Journal of general virology*. 87:2885-2890.
- Bentley, D.R., S. Balasubramanian, H.P. Swerdlow, G.P. Smith, J. Milton, C.G. Brown, K.P. Hall, D.J. Evers, C.L. Barnes, H.R. Bignell, J.M. Boutell, J. Bryant, R.J. Carter, R. Keira Cheetham, A.J. Cox, D.J. Ellis, M.R. Flatbush, N.A. Gormley, S.J. Humphray, L.J. Irving, M.S. Karbelashvili, S.M. Kirk, H. Li, X. Liu, K.S. Maisinger, L.J. Murray, B. Obradovic, T. Ost, M.L. Parkinson, M.R. Pratt, I.M. Rasolonjatovo, M.T. Reed, R. Rigatti, C. Rodighiero, M.T. Ross, A. Sabot, S.V. Sankar, A. Scally, G.P. Schroth, M.E. Smith, V.P. Smith, A. Spiridou, P.E. Torrance, S.S. Tzonev, E.H. Vermaas, K. Walter, X. Wu, L. Zhang, M.D. Alam, C. Anastasi, I.C. Aniebo, D.M. Bailey, I.R. Bancarz, S. Banerjee, S.G. Barbour, P.A. Baybayan, V.A. Benoit, K.F. Benson, C. Bevis, P.J. Black, A. Boodhun, J.S. Brennan, J.A. Bridgham, R.C. Brown, A.A. Brown, D.H. Buermann, A.A. Bundu, J.C. Burrows, N.P. Carter, N. Castillo, E.C.M. Chiara, S. Chang, R. Neil Cooley, N.R. Crake, O.O. Dada, K.D. Diakoumakos, B. Dominguez-Fernandez, D.J. Earnshaw, U.C. Egbujor, D.W. Elmore, S.S.



Etchin, M.R. Ewan, M. Fedurco, L.J. Fraser, K.V. Fuentes Fajardo, W. Scott Furey, D. George, K.J. Gietzen, C.P. Goddard, G.S. Golda, P.A. Granieri, D.E. Green, D.L. Gustafson, N.F. Hansen, K. Harnish, C.D. Haudenschild, N.I. Heyer, M.M. Hims, J.T. Ho, A.M. Horgan, et al. 2008. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*. 456:53-59.

Besselink, G.A., R.B. Schasfoort, and P. Bergveld. 2003. Modification of ISFETs with a monolayer of latex beads for specific detection of proteins. *Biosensors & bioelectronics*. 18:1109-1114.

Bilello, J.P., S.M. Lang, F. Wang, J.C. Aster, and R.C. Desrosiers. 2006. Infection and persistence of rhesus monkey rhadinovirus in immortalized B-cell lines. *Journal of virology*. 80:3644-3649.

Bilello, J.P., S.M. Lang, F. Wang, J.C. Aster, and R.C. Desrosiers. 2006. Infection and persistence of rhesus monkey rhadinovirus in immortalized B-cell lines. *Journal of virology*. 80:3644-3649.

Biron, C.A., K.B. Nguyen, G.C. Pien, L.P. Cousens, and T.P. Salazar-Mather. 1999. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annual review of immunology*. 17:189-220.

Biron, C.A., K.B. Nguyen, G.C. Pien, L.P. Cousens, and T.P. Salazar-Mather. 1999. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annual review of immunology*. 17:189-220.

Birx, D.L., R.R. Redfield, and G. Tosato. 1986. Defective regulation of Epstein-Barr virus infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related disorders. *The New England journal of medicine*. 314:874-879.

Birx, D.L., R.R. Redfield, and G. Tosato. 1986. Defective regulation of Epstein-Barr virus infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related disorders. *The New England journal of medicine*. 314:874-879.

Bodescot, M., M. Perricaudet, and P.J. Farrell. 1987. A promoter for the highly spliced EBNA family of RNAs of Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 61:3424-3430.

Bodescot, M., M. Perricaudet, and P.J. Farrell. 1987. A promoter for the highly spliced EBNA family of RNAs of Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 61:3424-3430.

Borisch, B., I. Hennig, R.H. Laeng, E.R. Waelti, R. Kraft, and J. Laissue. 1993. Association of the subtype 2 of the Epstein-Barr virus with T-cell non-Hodgkin's lymphoma of the midline granuloma type. *Blood*. 82:858-864.

Braud, V.M., P. Tomasec, and G.W. Wilkinson. 2002. Viral evasion of natural killer cells during human cytomegalovirus infection. *Current topics in microbiology and immunology*. 269:117-129.

- Braud, V.M., P. Tomasec, and G.W. Wilkinson. 2002. Viral evasion of natural killer cells during human cytomegalovirus infection. *Current topics in microbiology and immunology*. 269:117-129.
- Braud, V.M., P. Tomasec, and G.W. Wilkinson. 2002. Viral evasion of natural killer cells during human cytomegalovirus infection. *Current topics in microbiology and immunology*. 269:117-129.
- Brideau, R.J., M.L. Knechtel, A. Huang, V.A. Vaillancourt, E.E. Vera, N.L. Oien, T.A. Hopkins, J.L. Wieber, K.F. Wilkinson, B.D. Rush, F.J. Schwende, and M.W. Wathen. 2002. Broad-spectrum antiviral activity of PNU-183792, a 4-oxo-dihydroquinoline, against human and animal herpesviruses. *Antiviral research*. 54:19-28.
- Brideau, R.J., M.L. Knechtel, A. Huang, V.A. Vaillancourt, E.E. Vera, N.L. Oien, T.A. Hopkins, J.L. Wieber, K.F. Wilkinson, B.D. Rush, F.J. Schwende, and M.W. Wathen. 2002. Broad-spectrum antiviral activity of PNU-183792, a 4-oxo-dihydroquinoline, against human and animal herpesviruses. *Antiviral research*. 54:19-28.
- Brodeur, S. R., G. Cheng, et al. (1997). "Localization of the major NF-kappaB-activating site and the sole TRAF3 binding site of LMP-1 defines two distinct signaling motifs." *J Biol Chem* **272**(32): 19777-19784.
- Brodeur, S.R., G. Cheng, D. Baltimore, and D.A. Thorley-Lawson. 1997. Localization of the major NF-kappaB-activating site and the sole TRAF3 binding site of LMP-1 defines two distinct signaling motifs. *The Journal of biological chemistry*. 272:19777-19784.
- Brooks, L., Q.Y. Yao, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1992. Epstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: coexpression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts. *Journal of virology*. 66:2689-2697.
- Brooks, L., Q.Y. Yao, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1992. Epstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: coexpression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts. *Journal of virology*. 66:2689-2697.
- Brooks, L., Q.Y. Yao, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1992. Epstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: coexpression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts. *Journal of virology*. 66:2689-2697.
- Brooks, L.A., A.L. Lear, L.S. Young, and A.B. Rickinson. 1993. Transcripts from the Epstein-Barr virus BamHI A fragment are detectable in all three forms of virus latency. *Journal of virology*. 67:3182-3190.
- Brooks, L.A., A.L. Lear, L.S. Young, and A.B. Rickinson. 1993. Transcripts from the Epstein-Barr virus BamHI A fragment are detectable in all three forms of virus latency. *Journal of virology*. 67:3182-3190.
- Buisson, M., B. Fleurent, M. Mak, P. Morand, L. Chan, A. Ng, M. Guan, D. Chin, and J.M. Seigneurin. 1999. Novel immunoblot assay using four recombinant antigens for diagnosis of

- Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. *Journal of clinical microbiology*. 37:2709-2714.
- Buisson, M., B. Fleurent, M. Mak, P. Morand, L. Chan, A. Ng, M. Guan, D. Chin, and J.M. Seigneurin. 1999. Novel immunoblot assay using four recombinant antigens for diagnosis of Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. *Journal of clinical microbiology*. 37:2709-2714.
- Bullard, J.H., E. Purdom, K.D. Hansen, and S. Dudoit. 2010. Evaluation of statistical methods for normalization and differential expression in mRNA-Seq experiments. *BMC bioinformatics*. 11:94.
- Bultema, R., R. Longnecker, and M. Swanson-Mungerson. 2009. Epstein-Barr virus LMP2A accelerates MYC-induced lymphomagenesis. *Oncogene*. 28:1471-1476.
- Burkitt, D. 1958. A sarcoma involving the jaws in African children. *The British journal of surgery*. 46:218-223.
- Burkitt, D. 1958. A sarcoma involving the jaws in African children. *The British journal of surgery*. 46:218-223.
- Burkitt, D. 1962a. A children's cancer dependent on climatic factors. *Nature*. 194:232-234.
- Burkitt, D. 1962a. A children's cancer dependent on climatic factors. *Nature*. 194:232-234.
- Burkitt, D. 1962b. Determining the climatic limitations of a children's cancer common in Africa. *British medical journal*. 2:1019-1023.
- Burkitt, D. 1962b. Determining the climatic limitations of a children's cancer common in Africa. *British medical journal*. 2:1019-1023.
- Busch, L.K., and G.A. Bishop. 1999. The EBV transforming protein, latent membrane protein 1, mimics and cooperates with CD40 signaling in B lymphocytes. *J Immunol*. 162:2555-2561.
- Busch, L.K., and G.A. Bishop. 1999. The EBV transforming protein, latent membrane protein 1, mimics and cooperates with CD40 signaling in B lymphocytes. *J Immunol*. 162:2555-2561.
- Cahir-McFarland, E. D., D. M. Davidson, et al. (2000). "NF-kappa B inhibition causes spontaneous apoptosis in Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cells." *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(11): 6055-6060.
- Cai, X., A. Schafer, S. Lu, J.P. Bilello, R.C. Desrosiers, R. Edwards, N. Raab-Traub, and B.R. Cullen. 2006. Epstein-Barr virus microRNAs are evolutionarily conserved and differentially expressed. *PLoS pathogens*. 2:e23.
- Cai, X., A. Schafer, S. Lu, J.P. Bilello, R.C. Desrosiers, R. Edwards, N. Raab-Traub, and B.R. Cullen. 2006. Epstein-Barr virus microRNAs are evolutionarily conserved and differentially expressed. *PLoS pathogens*. 2:e23.

- Caldwell, R.G., J.B. Wilson, S.J. Anderson, and R. Longnecker. 1998. Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. *Immunity*. 9:405-411.
- Caligiuri, M.A. 2008. Human natural killer cells. *Blood*. 112:461-469.
- Caligiuri, M.A. 2008. Human natural killer cells. *Blood*. 112:461-469.
- Caligiuri, M.A. 2008. Human natural killer cells. *Blood*. 112:461-469.
- Callan, M.F., L. Tan, N. Annels, G.S. Ogg, J.D. Wilson, C.A. O'Callaghan, N. Steven, A.J. McMichael, and A.B. Rickinson. 1998. Direct visualization of antigen-specific CD8+ T cells during the primary immune response to Epstein-Barr virus In vivo. *The Journal of experimental medicine*. 187:1395-1402.
- Canque, B., S. Camus, A. Dalloul, E. Kahn, M. Yagello, C. Dezutter-Dambuyant, D. Schmitt, C. Schmitt, and J.C. Gluckman. 2000. Characterization of dendritic cell differentiation pathways from cord blood CD34(+)CD7(+)CD45RA(+) hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 96:3748-3756.
- Canque, B., S. Camus, A. Dalloul, E. Kahn, M. Yagello, C. Dezutter-Dambuyant, D. Schmitt, C. Schmitt, and J.C. Gluckman. 2000. Characterization of dendritic cell differentiation pathways from cord blood CD34(+)CD7(+)CD45RA(+) hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 96:3748-3756.
- Carson, S. 1997. Human papillomatous virus infection update: impact on women's health. *The Nurse practitioner*. 22:24-25, 28-30, 35-27.
- Carson, S. 1997. Human papillomatous virus infection update: impact on women's health. *The Nurse practitioner*. 22:24-25, 28-30, 35-27.
- Chan, C.W., A.K. Chiang, K.H. Chan, and A.S. Lau. 2003. Epstein-Barr virus-associated infectious mononucleosis in Chinese children. *The Pediatric infectious disease journal*. 22:974-978.
- Chan, J.K., C.S. Ng, W.H. Lau, and S.T. Lo. 1987. Most nasal/nasopharyngeal lymphomas are peripheral T-cell neoplasms. *The American journal of surgical pathology*. 11:418-429.
- Chan, J.K., C.S. Ng, W.H. Lau, and S.T. Lo. 1987. Most nasal/nasopharyngeal lymphomas are peripheral T-cell neoplasms. *The American journal of surgical pathology*. 11:418-429.
- Chan, J.K., C.S. Ng, W.H. Lau, and S.T. Lo. 1987. Most nasal/nasopharyngeal lymphomas are peripheral T-cell neoplasms. *The American journal of surgical pathology*. 11:418-429.
- Chan, J.K., T.T. Yip, W.Y. Tsang, C.S. Ng, W.H. Lau, Y.F. Poon, C.C. Wong, and V.W. Ma. 1994. Detection of Epstein-Barr viral RNA in malignant lymphomas of the upper aerodigestive tract. *The American journal of surgical pathology*. 18:938-946.

- Chan, J.K., T.T. Yip, W.Y. Tsang, C.S. Ng, W.H. Lau, Y.F. Poon, C.C. Wong, and V.W. Ma. 1994. Detection of Epstein-Barr viral RNA in malignant lymphomas of the upper aerodigestive tract. *The American journal of surgical pathology*. 18:938-946.
- Chan, J.K., T.T. Yip, W.Y. Tsang, C.S. Ng, W.H. Lau, Y.F. Poon, C.C. Wong, and V.W. Ma. 1994. Detection of Epstein-Barr viral RNA in malignant lymphomas of the upper aerodigestive tract. *The American journal of surgical pathology*. 18:938-946.
- Chan, J.K., W.Y. Tsang, and C.S. Ng. 1996. Clarification of CD3 immunoreactivity in nasal T/natural killer cell lymphomas: the neoplastic cells are often CD3 epsilon+. *Blood*. 87:839-841.
- Chan, J.K., W.Y. Tsang, and C.S. Ng. 1996. Clarification of CD3 immunoreactivity in nasal T/natural killer cell lymphomas: the neoplastic cells are often CD3 epsilon+. *Blood*. 87:839-841.
- Chan, J.K., W.Y. Tsang, and C.S. Ng. 1996. Clarification of CD3 immunoreactivity in nasal T/natural killer cell lymphomas: the neoplastic cells are often CD3 epsilon+. *Blood*. 87:839-841.
- Chang, R.S., L. Rosen, and A.Z. Kapikian. 1981. Epstein-Barr virus infections in a nursery. *American journal of epidemiology*. 113:22-29.
- Chang, R.S., L. Rosen, and A.Z. Kapikian. 1981. Epstein-Barr virus infections in a nursery. *American journal of epidemiology*. 113:22-29.
- Chapman, C.J., C.I. Mockridge, M. Rowe, A.B. Rickinson, and F.K. Stevenson. 1995. Analysis of VH genes used by neoplastic B cells in endemic Burkitt's lymphoma shows somatic hypermutation and intraclonal heterogeneity. *Blood*. 85:2176-2181.
- Chen, H., J.M. Lee, Y. Wang, D.P. Huang, R.F. Ambinder, and S.D. Hayward. 1999. The Epstein-Barr virus latency BamHI-Q promoter is positively regulated by STATs and Zta interference with JAK/STAT activation leads to loss of BamHI-Q promoter activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96:9339-9344.
- Chen, H., J.M. Lee, Y. Wang, D.P. Huang, R.F. Ambinder, and S.D. Hayward. 1999. The Epstein-Barr virus latency BamHI-Q promoter is positively regulated by STATs and Zta interference with JAK/STAT activation leads to loss of BamHI-Q promoter activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96:9339-9344.
- Chen, H., J.M. Lee, Y. Zong, M. Borowitz, M.H. Ng, R.F. Ambinder, and S.D. Hayward. 2001. Linkage between STAT regulation and Epstein-Barr virus gene expression in tumors. *Journal of virology*. 75:2929-2937.
- Chen, H., J.M. Lee, Y. Zong, M. Borowitz, M.H. Ng, R.F. Ambinder, and S.D. Hayward. 2001. Linkage between STAT regulation and Epstein-Barr virus gene expression in tumors. *Journal of virology*. 75:2929-2937.

- Chen, H., L. Hutt-Fletcher, L. Cao, and S.D. Hayward. 2003. A positive autoregulatory loop of LMP1 expression and STAT activation in epithelial cells latently infected with Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 77:4139-4148.
- Chen, H., L. Hutt-Fletcher, L. Cao, and S.D. Hayward. 2003. A positive autoregulatory loop of LMP1 expression and STAT activation in epithelial cells latently infected with Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 77:4139-4148.
- Chen, M. L., C. N. Tsai, et al. (1992). "Cloning and characterization of the latent membrane protein (LMP) of a specific Epstein-Barr virus variant derived from the nasopharyngeal carcinoma in the Taiwanese population." *Oncogene* 7(11): 2131-2140.
- Chiang, A.K., Q. Tao, G. Srivastava, and F.C. Ho. 1996. Nasal NK- and T-cell lymphomas share the same type of Epstein-Barr virus latency as nasopharyngeal carcinoma and Hodgkin's disease. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 68:285-290.
- Chiang, A.K., Q. Tao, G. Srivastava, and F.C. Ho. 1996. Nasal NK- and T-cell lymphomas share the same type of Epstein-Barr virus latency as nasopharyngeal carcinoma and Hodgkin's disease. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 68:285-290.
- Cho, M.S., and V.M. Tran. 1993. A concatenated form of Epstein-Barr viral DNA in lymphoblastoid cell lines induced by transfection with BZLF1. *Virology*. 194:838-842.
- Cho, M.S., and V.M. Tran. 1993. A concatenated form of Epstein-Barr viral DNA in lymphoblastoid cell lines induced by transfection with BZLF1. *Virology*. 194:838-842.
- Choy, E.Y., K.L. Siu, K.H. Kok, R.W. Lung, C.M. Tsang, K.F. To, D.L. Kwong, S.W. Tsao, and D.Y. Jin. 2008. An Epstein-Barr virus-encoded microRNA targets PUMA to promote host cell survival. *The Journal of experimental medicine*. 205:2551-2560.
- Choy, E.Y., K.L. Siu, K.H. Kok, R.W. Lung, C.M. Tsang, K.F. To, D.L. Kwong, S.W. Tsao, and D.Y. Jin. 2008. An Epstein-Barr virus-encoded microRNA targets PUMA to promote host cell survival. *The Journal of experimental medicine*. 205:2551-2560.
- Chuang, H.C., J.D. Lay, W.C. Hsieh, H.C. Wang, Y. Chang, S.E. Chuang, and I.J. Su. 2005. Epstein-Barr virus LMP1 inhibits the expression of SAP gene and upregulates Th1 cytokines in the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. *Blood*. 106:3090-3096.
- Chuang, H.C., J.D. Lay, W.C. Hsieh, H.C. Wang, Y. Chang, S.E. Chuang, and I.J. Su. 2005. Epstein-Barr virus LMP1 inhibits the expression of SAP gene and upregulates Th1 cytokines in the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. *Blood*. 106:3090-3096.
- Chuang, H.C., J.M. Wang, W.C. Hsieh, Y. Chang, and I.J. Su. 2008. Up-regulation of activating transcription factor-5 suppresses SAP expression to activate T cells in hemophagocytic syndrome associated with Epstein-Barr virus infection and immune disorders. *The American journal of pathology*. 173:1397-1405.
- Chuang, H.C., J.M. Wang, W.C. Hsieh, Y. Chang, and I.J. Su. 2008. Up-regulation of activating transcription factor-5 suppresses SAP expression to activate T cells in hemophagocytic

syndrome associated with Epstein-Barr virus infection and immune disorders. *The American journal of pathology*. 173:1397-1405.

Coffin, W.F., 3rd, K.D. Erickson, M. Hoedt-Miller, and J.M. Martin. 2001. The cytoplasmic amino-terminus of the Latent Membrane Protein-1 of Epstein-Barr Virus: relationship between transmembrane orientation and effector functions of the carboxy-terminus and transmembrane domain. *Oncogene*. 20:5313-5330.

Cohen, J.I., and K. Lekstrom. 1999. Epstein-Barr virus BART1 protein is dispensable for B-cell transformation and inhibits alpha interferon secretion from mononuclear cells. *Journal of virology*. 73:7627-7632.

Cohen, J.I., and K. Lekstrom. 1999. Epstein-Barr virus BART1 protein is dispensable for B-cell transformation and inhibits alpha interferon secretion from mononuclear cells. *Journal of virology*. 73:7627-7632.

Cohen, J.I., F. Wang, J. Mannick, and E. Kieff. 1989. Epstein-Barr virus nuclear protein 2 is a key determinant of lymphocyte transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86:9558-9562.

Cohen, J.I., F. Wang, J. Mannick, and E. Kieff. 1989. Epstein-Barr virus nuclear protein 2 is a key determinant of lymphocyte transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86:9558-9562.

Collins, F.S., M. Morgan, and A. Patrinos. 2003. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science*. 300:286-290.

Cooper, L.A., and T.W. Scott. 2001. Differential evolution of eastern equine encephalitis virus populations in response to host cell type. *Genetics*. 157:1403-1412.

Cooper, L.A., and T.W. Scott. 2001. Differential evolution of eastern equine encephalitis virus populations in response to host cell type. *Genetics*. 157:1403-1412.

Cooper, M.A., T.A. Fehniger, and M.A. Caligiuri. 2001. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in immunology*. 22:633-640.

Cooper, M.A., T.A. Fehniger, and M.A. Caligiuri. 2001. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in immunology*. 22:633-640.

Cooper, M.A., T.A. Fehniger, and M.A. Caligiuri. 2001a. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in immunology*. 22:633-640.

Cooper, M.A., T.A. Fehniger, S.C. Turner, K.S. Chen, B.A. Ghaheri, T. Ghayur, W.E. Carson, and M.A. Caligiuri. 2001b. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56(bright) subset. *Blood*. 97:3146-3151.

Crawford, D.H., A.J. Swerdlow, C. Higgins, K. McAulay, N. Harrison, H. Williams, K. Britton, and K.F. Macsween. 2002. Sexual history and Epstein-Barr virus infection. *The Journal of infectious diseases*. 186:731-736.

- Crawford, D.H., A.J. Swerdlow, C. Higgins, K. McAulay, N. Harrison, H. Williams, K. Britton, and K.F. Macsween. 2002. Sexual history and Epstein-Barr virus infection. *The Journal of infectious diseases*. 186:731-736.
- Crawford, D.H., K.F. Macsween, C.D. Higgins, R. Thomas, K. McAulay, H. Williams, N. Harrison, S. Reid, M. Conacher, J. Douglas, and A.J. Swerdlow. 2006. A cohort study among university students: identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 43:276-282.
- Curmi, P.A., C. Nogues, S. Lachkar, N. Carelle, M.P. Gonthier, A. Sobel, R. Lidereau, and I. Bieche. 2000. Overexpression of stathmin in breast carcinomas points out to highly proliferative tumours. *Br J Cancer*. 82:142-150.
- Datta, A.K., and R.E. Hood. 1981. Mechanism of inhibition of Epstein-Barr virus replication by phosphonoformic acid. *Virology*. 114:52-59.
- Datta, A.K., and R.E. Hood. 1981. Mechanism of inhibition of Epstein-Barr virus replication by phosphonoformic acid. *Virology*. 114:52-59.
- De Clercq, E. 2004. Antivirals and antiviral strategies. *Nature reviews. Microbiology*. 2:704-720.
- De Clercq, E. 2004. Antivirals and antiviral strategies. *Nature reviews. Microbiology*. 2:704-720.
- de Rham, C., S. Ferrari-Lacraz, S. Jendly, G. Schneiter, J.M. Dayer, and J. Villard. 2007. The proinflammatory cytokines IL-2, IL-15 and IL-21 modulate the repertoire of mature human natural killer cell receptors. *Arthritis research & therapy*. 9:R125.
- de Rham, C., S. Ferrari-Lacraz, S. Jendly, G. Schneiter, J.M. Dayer, and J. Villard. 2007. The proinflammatory cytokines IL-2, IL-15 and IL-21 modulate the repertoire of mature human natural killer cell receptors. *Arthritis research & therapy*. 9:R125.
- Deacon, E.M., G. Pallesen, G. Niedobitek, J. Crocker, L. Brooks, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1993. Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: transcriptional analysis of virus latency in the malignant cells. *The Journal of experimental medicine*. 177:339-349.
- Deacon, E.M., G. Pallesen, G. Niedobitek, J. Crocker, L. Brooks, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1993. Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: transcriptional analysis of virus latency in the malignant cells. *The Journal of experimental medicine*. 177:339-349.
- Deacon, E.M., G. Pallesen, G. Niedobitek, J. Crocker, L. Brooks, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1993. Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: transcriptional analysis of virus latency in the malignant cells. *The Journal of experimental medicine*. 177:339-349.
- Deamant, F.D., P.F. Albuja, Y.Y. Chen, and L.M. Weiss. 1993. Epstein-Barr virus distribution in nonneoplastic lymph nodes. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 6:729-732.



- Deamant, F.D., P.F. Albuja, Y.Y. Chen, and L.M. Weiss. 1993. Epstein-Barr virus distribution in nonneoplastic lymph nodes. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 6:729-732.
- Demedts, I.K., T. Demoor, K.R. Bracke, G.F. Joos, and G.G. Brusselle. 2006. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respiratory research.* 7:53.
- de-The, G., N.E. Day, A. Geser, M.F. Lavoue, J.H. Ho, M.J. Simons, R. Sohler, P. Tukei, V. Vonka, and H. Zavadova. 1975. Sero-epidemiology of the Epstein-Barr virus: preliminary analysis of an international study - a review. *IARC scientific publications*:3-16.
- de-The, G., N.E. Day, A. Geser, M.F. Lavoue, J.H. Ho, M.J. Simons, R. Sohler, P. Tukei, V. Vonka, and H. Zavadova. 1975. Sero-epidemiology of the Epstein-Barr virus: preliminary analysis of an international study - a review. *IARC scientific publications*:3-16.
- Deng, L., J. Yang, X.R. Zhao, X.Y. Deng, L. Zeng, H.H. Gu, M. Tang, and Y. Cao. 2003. Cells in G2/M phase increased in human nasopharyngeal carcinoma cell line by EBV-LMP1 through activation of NF-kappaB and AP-1. *Cell Res.* 13:187-194.
- Devergne, O., E. Hatzivassiliou, et al. (1996). "Association of TRAF1, TRAF2, and TRAF3 with an Epstein-Barr virus LMP1 domain important for B-lymphocyte transformation: role in NF-kappaB activation." *Mol Cell Biol* 16(12): 7098-7108.
- Devergne, O., E. Hatzivassiliou, K.M. Izumi, K.M. Kaye, M.F. Kleijnen, E. Kieff, and G. Mosialos. 1996. Association of TRAF1, TRAF2, and TRAF3 with an Epstein-Barr virus LMP1 domain important for B-lymphocyte transformation: role in NF-kappaB activation. *Molecular and cellular biology.* 16:7098-7108.
- Devergne, O., E.D. Cahir McFarland, G. Mosialos, K.M. Izumi, C.F. Ware, and E. Kieff. 1998. Role of the TRAF binding site and NF-kappaB activation in Epstein-Barr virus latent membrane protein 1-induced cell gene expression. *Journal of virology.* 72:7900-7908.
- Di Santo, J.P. 2006. Natural killer cell developmental pathways: a question of balance. *Annual review of immunology.* 24:257-286.
- Di Santo, J.P. 2006. Natural killer cell developmental pathways: a question of balance. *Annual review of immunology.* 24:257-286.
- Diebold, J., M. Raphael, S. Prevot, and J. Audouin. 1997. Lymphomas associated with HIV infection. *Cancer surveys.* 30:263-293.
- Dohm, J.C., C. Lottaz, T. Borodina, and H. Himmelbauer. 2008. Substantial biases in ultra-short read data sets from high-throughput DNA sequencing. *Nucleic acids research.* 36:e105.
- Dolcetti, R., M. Boiocchi, A. Gloghini, and A. Carbone. 2001. Pathogenetic and histogenetic features of HIV-associated Hodgkin's disease. *Eur J Cancer.* 37:1276-1287.
- Dong, C., Q. Li, S.C. Lyu, A.M. Krensky, and C. Clayberger. 2005. A novel apoptosis pathway activated by the carboxyl terminus of p21. *Blood.* 105:1187-1194.

- Dong, C., Q. Li, S.C. Lyu, A.M. Krensky, and C. Clayberger. 2005. A novel apoptosis pathway activated by the carboxyl terminus of p21. *Blood*. 105:1187-1194.
- Dudziak, D., A. Kieser, U. Dirmeier, F. Nimmerjahn, S. Berchtold, A. Steinkasserer, G. Marschall, W. Hammerschmidt, G. Laux, and G.W. Bornkamm. 2003. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus induces CD83 by the NF-kappaB signaling pathway. *Journal of virology*. 77:8290-8298.
- Dudziak, D., A. Kieser, U. Dirmeier, F. Nimmerjahn, S. Berchtold, A. Steinkasserer, G. Marschall, W. Hammerschmidt, G. Laux, and G.W. Bornkamm. 2003. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus induces CD83 by the NF-kappaB signaling pathway. *Journal of virology*. 77:8290-8298.
- Eliopoulos, A. G., M. Stack, et al. (1997). "Epstein-Barr virus-encoded LMP1 and CD40 mediate IL-6 production in epithelial cells via an NF-kappaB pathway involving TNF receptor-associated factors." *Oncogene* **14**(24): 2899-2916.
- Eliopoulos, A.G., and L.S. Young. 2001. LMP1 structure and signal transduction. *Seminars in cancer biology*. 11:435-444.
- Eliopoulos, A.G., and L.S. Young. 2001. LMP1 structure and signal transduction. *Seminars in cancer biology*. 11:435-444.
- Eliopoulos, A.G., M. Stack, C.W. Dawson, K.M. Kaye, L. Hodgkin, S. Sihota, M. Rowe, and L.S. Young. 1997. Epstein-Barr virus-encoded LMP1 and CD40 mediate IL-6 production in epithelial cells via an NF-kappaB pathway involving TNF receptor-associated factors. *Oncogene*. 14:2899-2916.
- Emile, J.F., M.L. Boulland, C. Haioun, P. Kanavaros, T. Petrella, M.H. Delfau-Larue, A. Bensussan, J.P. Farcet, and P. Gaulard. 1996. CD5-CD56+ T-cell receptor silent peripheral T-cell lymphomas are natural killer cell lymphomas. *Blood*. 87:1466-1473.
- Emile, J.F., M.L. Boulland, C. Haioun, P. Kanavaros, T. Petrella, M.H. Delfau-Larue, A. Bensussan, J.P. Farcet, and P. Gaulard. 1996. CD5-CD56+ T-cell receptor silent peripheral T-cell lymphomas are natural killer cell lymphomas. *Blood*. 87:1466-1473.
- Emile, J.F., M.L. Boulland, C. Haioun, P. Kanavaros, T. Petrella, M.H. Delfau-Larue, A. Bensussan, J.P. Farcet, and P. Gaulard. 1996. CD5-CD56+ T-cell receptor silent peripheral T-cell lymphomas are natural killer cell lymphomas. *Blood*. 87:1466-1473.
- Enbom, M., A. Strand, K.I. Falk, and A. Linde. 2001. Detection of Epstein-Barr virus, but not human herpesvirus 8, DNA in cervical secretions from Swedish women by real-time polymerase chain reaction. *Sexually transmitted diseases*. 28:300-306.
- Enbom, M., A. Strand, K.I. Falk, and A. Linde. 2001. Detection of Epstein-Barr virus, but not human herpesvirus 8, DNA in cervical secretions from Swedish women by real-time polymerase chain reaction. *Sexually transmitted diseases*. 28:300-306.

- Epstein, M.A., and Y.M. Barr. 1964. Cultivation in Vitro of Human Lymphoblasts from Burkitt's Malignant Lymphoma. *Lancet*. 1:252-253.
- Epstein, M.A., and Y.M. Barr. 1964. Cultivation in Vitro of Human Lymphoblasts from Burkitt's Malignant Lymphoma. *Lancet*. 1:252-253.
- Epstein, M.A., and Y.M. Barr. 1965. Characteristics and Mode of Growth of Tissue Culture Strain (Eb1) of Human Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 34:231-240.
- Epstein, M.A., and Y.M. Barr. 1965. Characteristics and Mode of Growth of Tissue Culture Strain (Eb1) of Human Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 34:231-240.
- Epstein, M.A., G. Henle, B.G. Achong, and Y.M. Barr. 1965. Morphological and Biological Studies on a Virus in Cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *The Journal of experimental medicine*. 121:761-770.
- Epstein, M.A., G. Henle, B.G. Achong, and Y.M. Barr. 1965. Morphological and Biological Studies on a Virus in Cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *The Journal of experimental medicine*. 121:761-770.
- Erickson, K.D., and J.M. Martin. 1997. Early detection of the lytic LMP-1 protein in EBV-infected B-cells suggests its presence in the virion. *Virology*. 234:1-13.
- Erickson, K.D., and J.M. Martin. 1997. Early detection of the lytic LMP-1 protein in EBV-infected B-cells suggests its presence in the virion. *Virology*. 234:1-13.
- Erickson, K.D., and J.M. Martin. 2000. The late lytic LMP-1 protein of Epstein-Barr virus can negatively regulate LMP-1 signaling. *Journal of virology*. 74:1057-1060.
- Erickson, K.D., and J.M. Martin. 2000. The late lytic LMP-1 protein of Epstein-Barr virus can negatively regulate LMP-1 signaling. *Journal of virology*. 74:1057-1060.
- Erlich, K.S. 1987. Laboratory diagnosis of herpesvirus infections. *Clinics in laboratory medicine*. 7:759-776.
- Erlich, K.S. 1987. Laboratory diagnosis of herpesvirus infections. *Clinics in laboratory medicine*. 7:759-776.
- Evans, A.S. 1971. The spectrum of infections with Epstein-Barr virus: a hypothesis. *The Journal of infectious diseases*. 124:330-337.
- Evans, A.S. 1971. The spectrum of infections with Epstein-Barr virus: a hypothesis. *The Journal of infectious diseases*. 124:330-337.
- Evans, A.S., J.C. Niederman, and R.W. McCollum. 1968. Seroepidemiologic studies of infectious mononucleosis with EB virus. *The New England journal of medicine*. 279:1121-1127.

- Evans, A.S., J.C. Niederman, and R.W. McCollum. 1968. Seroepidemiologic studies of infectious mononucleosis with EB virus. *The New England journal of medicine*. 279:1121-1127.
- Evens, A.M., K.A. David, I. Helenowski, B. Nelson, D. Kaufman, S.M. Kircher, A. Gimelfarb, E. Hattersley, L.A. Mauro, B. Jovanovic, A. Chadburn, P. Stiff, J.N. Winter, J. Mehta, K. Van Besien, S. Gregory, L.I. Gordon, J.M. Shammo, S.E. Smith, and S.M. Smith. 2010. Multicenter analysis of 80 solid organ transplantation recipients with post-transplantation lymphoproliferative disease: outcomes and prognostic factors in the modern era. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 28:1038-1046.
- Fahraeus, R., H.L. Fu, I. Ernberg, J. Finke, M. Rowe, G. Klein, K. Falk, E. Nilsson, M. Yadav, P. Busson, and et al. 1988. Expression of Epstein-Barr virus-encoded proteins in nasopharyngeal carcinoma. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 42:329-338.
- Fahraeus, R., H.L. Fu, I. Ernberg, J. Finke, M. Rowe, G. Klein, K. Falk, E. Nilsson, M. Yadav, P. Busson, and et al. 1988. Expression of Epstein-Barr virus-encoded proteins in nasopharyngeal carcinoma. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 42:329-338.
- Fan, Y.Y., B.Y. Yang, and C.Y. Wu. 2008. Phenotypically and functionally distinct subsets of natural killer cells in human PBMCs. *Cell biology international*. 32:188-197.
- Fan, Y.Y., B.Y. Yang, and C.Y. Wu. 2008. Phenotypically and functionally distinct subsets of natural killer cells in human PBMCs. *Cell biology international*. 32:188-197.
- Fan, Y.Y., B.Y. Yang, and C.Y. Wu. 2008. Phenotypically and functionally distinct subsets of natural killer cells in human PBMCs. *Cell biology international*. 32:188-197.
- Farrell, M.L., and J.E. Mertz. 2002. Cell type-specific replication of simian virus 40 conferred by hormone response elements in the late promoter. *Journal of virology*. 76:6762-6770.
- Farrell, M.L., and J.E. Mertz. 2002. Cell type-specific replication of simian virus 40 conferred by hormone response elements in the late promoter. *Journal of virology*. 76:6762-6770.
- Fennwald, S., V. van Santen, et al. (1984). "Nucleotide sequence of an mRNA transcribed in latent growth-transforming virus infection indicates that it may encode a membrane protein." *J Virol* **51**(2): 411-419.
- Fietta, P., and G. Delsante. 2009. Focus on human natural killer cells. *Rivista di biologia*. 102:219-235.
- Fietta, P., and G. Delsante. 2009. Focus on human natural killer cells. *Rivista di biologia*. 102:219-235.
- Fingerroth, J.D., J.J. Weis, T.F. Tedder, J.L. Strominger, P.A. Biro, and D.T. Fearon. 1984. Epstein-Barr virus receptor of human B lymphocytes is the C3d receptor CR2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:4510-4514.

- Fingeroth, J.D., J.J. Weis, T.F. Tedder, J.L. Strominger, P.A. Biro, and D.T. Fearon. 1984. Epstein-Barr virus receptor of human B lymphocytes is the C3d receptor CR2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:4510-4514.
- Fingeroth, J.D., M.L. Clabby, and J.D. Strominger. 1988. Characterization of a T-lymphocyte Epstein-Barr virus/C3d receptor (CD21). *Journal of virology*. 62:1442-1447.
- Fingeroth, J.D., M.L. Clabby, and J.D. Strominger. 1988. Characterization of a T-lymphocyte Epstein-Barr virus/C3d receptor (CD21). *Journal of virology*. 62:1442-1447.
- Fischer, E., C. Delibrias, and M.D. Kazatchkine. 1991. Expression of CR2 (the C3dg/EBV receptor, CD21) on normal human peripheral blood T lymphocytes. *J Immunol*. 146:865-869.
- Fischer, E., C. Delibrias, and M.D. Kazatchkine. 1991. Expression of CR2 (the C3dg/EBV receptor, CD21) on normal human peripheral blood T lymphocytes. *J Immunol*. 146:865-869.
- Foss, H.D., H. Herbst, M. Hummel, I. Araujo, U. Latza, C. Rancso, F. Dallenbach, and H. Stein. 1994. Patterns of cytokine gene expression in infectious mononucleosis. *Blood*. 83:707-712.
- Frade, R., M. Barel, B. Ehlin-Henriksson, and G. Klein. 1985. gp140, the C3d receptor of human B lymphocytes, is also the Epstein-Barr virus receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82:1490-1493.
- Frade, R., M. Barel, B. Ehlin-Henriksson, and G. Klein. 1985. gp140, the C3d receptor of human B lymphocytes, is also the Epstein-Barr virus receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82:1490-1493.
- Freud, A.G., and M.A. Caligiuri. 2006. Human natural killer cell development. *Immunological reviews*. 214:56-72.
- Freud, A.G., and M.A. Caligiuri. 2006. Human natural killer cell development. *Immunological reviews*. 214:56-72.
- Freudenberg, S., P. Palma, R. Grobholz, L. Ngendahayo, and S. Post. 2005. HIV-related and Epstein-Barr virus-associated anal Burkitt's lymphoma: report of a case. *Diseases of the colon and rectum*. 48:1656-1659.
- Friedmann, I. 1955. The pathology of malignant granuloma of the nose. *The Journal of laryngology and otology*. 69:331-341.
- Friedmann, I. 1955. The pathology of malignant granuloma of the nose. *The Journal of laryngology and otology*. 69:331-341.
- Friedmann, I. 1955. The pathology of malignant granuloma of the nose. *The Journal of laryngology and otology*. 69:331-341.
- Fukuda, M., and R. Longnecker. 2007. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A mediates transformation through constitutive activation of the Ras/PI3-K/Akt Pathway. *Journal of virology*. 81:9299-9306.

- Galy, A., M. Travis, D. Cen, and B. Chen. 1995. Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*. 3:459-473.
- Galy, A., M. Travis, D. Cen, and B. Chen. 1995. Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*. 3:459-473.
- Garber, K. 2011. Beyond sequencing: new diagnostic tests turn to pathways. *Journal of the National Cancer Institute*. 103:290-292.
- Gaulard, P., T. Henni, J.P. Marolleau, C. Haioun, Z. Henni, M.C. Voisin, M. Divine, M. Goossens, J.P. Farcet, and F. Reyes. 1988. Lethal midline granuloma (polymorphic reticulosis) and lymphomatoid granulomatosis. Evidence for a monoclonal T-cell lymphoproliferative disorder. *Cancer*. 62:705-710.
- Gaulard, P., T. Henni, J.P. Marolleau, C. Haioun, Z. Henni, M.C. Voisin, M. Divine, M. Goossens, J.P. Farcet, and F. Reyes. 1988. Lethal midline granuloma (polymorphic reticulosis) and lymphomatoid granulomatosis. Evidence for a monoclonal T-cell lymphoproliferative disorder. *Cancer*. 62:705-710.
- Gaulard, P., T. Henni, J.P. Marolleau, C. Haioun, Z. Henni, M.C. Voisin, M. Divine, M. Goossens, J.P. Farcet, and F. Reyes. 1988. Lethal midline granuloma (polymorphic reticulosis) and lymphomatoid granulomatosis. Evidence for a monoclonal T-cell lymphoproliferative disorder. *Cancer*. 62:705-710.
- Gershburg, E., K. Hong, and J.S. Pagano. 2004. Effects of maribavir and selected indolocarbazoles on Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4 and on viral lytic replication. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 48:1900-1903.
- Gershburg, E., K. Hong, and J.S. Pagano. 2004. Effects of maribavir and selected indolocarbazoles on Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4 and on viral lytic replication. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 48:1900-1903.
- Gilligan, K., H. Sato, P. Rajadurai, P. Busson, L. Young, A. Rickinson, T. Tursz, and N. Raab-Traub. 1990. Novel transcription from the Epstein-Barr virus terminal EcoRI fragment, DJJhet, in a nasopharyngeal carcinoma. *Journal of virology*. 64:4948-4956.
- Gilligan, K., H. Sato, P. Rajadurai, P. Busson, L. Young, A. Rickinson, T. Tursz, and N. Raab-Traub. 1990. Novel transcription from the Epstein-Barr virus terminal EcoRI fragment, DJJhet, in a nasopharyngeal carcinoma. *Journal of virology*. 64:4948-4956.
- Gires, O., F. Kohlhuber, E. Kilger, M. Baumann, A. Kieser, C. Kaiser, R. Zeidler, B. Scheffer, M. Ueffing, and W. Hammerschmidt. 1999. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus interacts with JAK3 and activates STAT proteins. *The EMBO journal*. 18:3064-3073.
- Gires, O., F. Kohlhuber, E. Kilger, M. Baumann, A. Kieser, C. Kaiser, R. Zeidler, B. Scheffer, M. Ueffing, and W. Hammerschmidt. 1999. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus interacts with JAK3 and activates STAT proteins. *The EMBO journal*. 18:3064-3073.

- Gires, O., U. Zimmer-Strobl, R. Gonnella, M. Ueffing, G. Marschall, R. Zeidler, D. Pich, and W. Hammerschmidt. 1997. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus mimics a constitutively active receptor molecule. *The EMBO journal*. 16:6131-6140.
- Gires, O., U. Zimmer-Strobl, R. Gonnella, M. Ueffing, G. Marschall, R. Zeidler, D. Pich, and W. Hammerschmidt. 1997. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus mimics a constitutively active receptor molecule. *The EMBO journal*. 16:6131-6140.
- Golubjatnikov, R., V.D. Allen, M. Steadman, B. Del Pilar Olmos, and S.L. Inhorn. 1973. Prevalence of antibodies to Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and Toxoplasma in a Mexican highland community. *American journal of epidemiology*. 97:116-124.
- Golubjatnikov, R., V.D. Allen, M. Steadman, B. Del Pilar Olmos, and S.L. Inhorn. 1973. Prevalence of antibodies to Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and Toxoplasma in a Mexican highland community. *American journal of epidemiology*. 97:116-124.
- Goormachtigh, G., T.S. Ouk, A. Mougel, D. Tranchand-Bunel, E. Masy, C. Le Clorennec, J. Feuillard, G.W. Bornkamm, C. Auriault, E. Manet, V. Fafeur, E. Adriaenssens, and J. Coll. 2006. Autoactivation of the Epstein-Barr virus oncogenic protein LMP1 during type II latency through opposite roles of the NF-kappaB and JNK signaling pathways. *Journal of virology*. 80:7382-7393.
- Goormachtigh, G., T.S. Ouk, A. Mougel, D. Tranchand-Bunel, E. Masy, C. Le Clorennec, J. Feuillard, G.W. Bornkamm, C. Auriault, E. Manet, V. Fafeur, E. Adriaenssens, and J. Coll. 2006. Autoactivation of the Epstein-Barr virus oncogenic protein LMP1 during type II latency through opposite roles of the NF-kappaB and JNK signaling pathways. *Journal of virology*. 80:7382-7393.
- Gradzka, I. 2006. [Mechanisms and regulation of the programmed cell death]. *Postepy biochemii*. 52:157-165.
- Gradzka, I. 2006. [Mechanisms and regulation of the programmed cell death]. *Postepy biochemii*. 52:157-165.
- Gratama, J.W., and I. Ernberg. 1995. Molecular epidemiology of Epstein-Barr virus infection. *Advances in cancer research*. 67:197-255.
- Gratama, J.W., and I. Ernberg. 1995. Molecular epidemiology of Epstein-Barr virus infection. *Advances in cancer research*. 67:197-255.
- Green, T.L., and L.R. Eversole. 1989. Oral lymphomas in HIV-infected patients: association with Epstein-Barr virus DNA. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 67:437-442.
- Green, T.L., and L.R. Eversole. 1989. Oral lymphomas in HIV-infected patients: association with Epstein-Barr virus DNA. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 67:437-442.
- Greenspan, J.S., and D. Greenspan. 1989. Oral hairy leukoplakia: diagnosis and management. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 67:396-403.

- Gregory, C.D., C.F. Edwards, A. Milner, J. Wiels, M. Lipinski, M. Rowe, T. Tursz, and A.B. Rickinson. 1988. Isolation of a normal B cell subset with a Burkitt-like phenotype and transformation in vitro with Epstein-Barr virus. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 42:213-220.
- Griffith, M., O.L. Griffith, J. Mwenifumbo, R. Goya, A.S. Morrissy, R.D. Morin, R. Corbett, M.J. Tang, Y.C. Hou, T.J. Pugh, G. Robertson, S. Chittaranjan, A. Ally, J.K. Asano, S.Y. Chan, H.I. Li, H. McDonald, K. Teague, Y. Zhao, T. Zeng, A. Delaney, M. Hirst, G.B. Morin, S.J. Jones, I.T. Tai, and M.A. Marra. 2010. Alternative expression analysis by RNA sequencing. *Nature methods*. 7:843-847.
- Groux, H., F. Cottrez, C. Montpellier, B. Quatannens, J. Coll, D. Stehelin, and C. Auriault. 1997. Isolation and characterization of transformed human T-cell lines infected by Epstein-Barr virus. *Blood*. 89:4521-4530.
- Groux, H., F. Cottrez, C. Montpellier, B. Quatannens, J. Coll, D. Stehelin, and C. Auriault. 1997. Isolation and characterization of transformed human T-cell lines infected by Epstein-Barr virus. *Blood*. 89:4521-4530.
- Gruffat, H., J. Batisse, D. Pich, B. Neuhierl, E. Manet, W. Hammerschmidt, and A. Sergeant. 2002. Epstein-Barr virus mRNA export factor EB2 is essential for production of infectious virus. *Journal of virology*. 76:9635-9644.
- Gruffat, H., J. Batisse, D. Pich, B. Neuhierl, E. Manet, W. Hammerschmidt, and A. Sergeant. 2002. Epstein-Barr virus mRNA export factor EB2 is essential for production of infectious virus. *Journal of virology*. 76:9635-9644.
- Grundhoff, A., C.S. Sullivan, and D. Ganem. 2006. A combined computational and microarray-based approach identifies novel microRNAs encoded by human gamma-herpesviruses. *RNA*. 12:733-750.
- Grundhoff, A., C.S. Sullivan, and D. Ganem. 2006. A combined computational and microarray-based approach identifies novel microRNAs encoded by human gamma-herpesviruses. *RNA*. 12:733-750.
- Grunewald, K., P. Desai, D.C. Winkler, J.B. Heymann, D.M. Belnap, W. Baumeister, and A.C. Steven. 2003. Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science*. 302:1396-1398.
- Grunewald, K., P. Desai, D.C. Winkler, J.B. Heymann, D.M. Belnap, W. Baumeister, and A.C. Steven. 2003. Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science*. 302:1396-1398.
- Guan, M., R.D. Zhang, B. Wu, and E.E. Henderson. 1996. Infection of primary CD4+ and CD8+ T lymphocytes by Epstein-Barr virus enhances human immunodeficiency virus expression. *Journal of virology*. 70:7341-7346.



- Guan, M., R.D. Zhang, B. Wu, and E.E. Henderson. 1996. Infection of primary CD4+ and CD8+ T lymphocytes by Epstein-Barr virus enhances human immunodeficiency virus expression. *Journal of virology*. 70:7341-7346.
- Guarner, J., C. del Rio, D. Carr, L.E. Hendrix, J.W. Eley, and E.R. Unger. 1991. Non-Hodgkin's lymphomas in patients with human immunodeficiency virus infection. Presence of Epstein-Barr virus by in situ hybridization, clinical presentation, and follow-up. *Cancer*. 68:2460-2465.
- Guarner, J., C. del Rio, D. Carr, L.E. Hendrix, J.W. Eley, and E.R. Unger. 1991. Non-Hodgkin's lymphomas in patients with human immunodeficiency virus infection. Presence of Epstein-Barr virus by in situ hybridization, clinical presentation, and follow-up. *Cancer*. 68:2460-2465.
- Gulley, M.L., M. Raphael, C.T. Lutz, D.W. Ross, and N. Raab-Traub. 1992. Epstein-Barr virus integration in human lymphomas and lymphoid cell lines. *Cancer*. 70:185-191.
- Gulley, M.L., M. Raphael, C.T. Lutz, D.W. Ross, and N. Raab-Traub. 1992. Epstein-Barr virus integration in human lymphomas and lymphoid cell lines. *Cancer*. 70:185-191.
- Gumenscheimer, M., S. Balkow, M.M. Simon, E. Jirillo, C. Galanos, and M.A. Freudenberg. 2007. Stage of primary infection with lymphocytic choriomeningitis virus determines predisposition or resistance of mice to secondary bacterial infections. *Medical microbiology and immunology*. 196:79-88.
- Gumenscheimer, M., S. Balkow, M.M. Simon, E. Jirillo, C. Galanos, and M.A. Freudenberg. 2007. Stage of primary infection with lymphocytic choriomeningitis virus determines predisposition or resistance of mice to secondary bacterial infections. *Medical microbiology and immunology*. 196:79-88.
- Gustafson, E.A., A.C. Chillemi, D.R. Sage, and J.D. Fingerroth. 1998. The Epstein-Barr virus thymidine kinase does not phosphorylate ganciclovir or acyclovir and demonstrates a narrow substrate specificity compared to the herpes simplex virus type 1 thymidine kinase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 42:2923-2931.
- Gustafson, E.A., A.C. Chillemi, D.R. Sage, and J.D. Fingerroth. 1998. The Epstein-Barr virus thymidine kinase does not phosphorylate ganciclovir or acyclovir and demonstrates a narrow substrate specificity compared to the herpes simplex virus type 1 thymidine kinase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 42:2923-2931.
- Hamilton-Dutoit, S.J., G. Pallesen, M.B. Franzmann, J. Karkov, F. Black, P. Skinhoj, and C. Pedersen. 1991. AIDS-related lymphoma. Histopathology, immunophenotype, and association with Epstein-Barr virus as demonstrated by in situ nucleic acid hybridization. *The American journal of pathology*. 138:149-163.
- Hamilton-Dutoit, S.J., G. Pallesen, M.B. Franzmann, J. Karkov, F. Black, P. Skinhoj, and C. Pedersen. 1991. AIDS-related lymphoma. Histopathology, immunophenotype, and association with Epstein-Barr virus as demonstrated by in situ nucleic acid hybridization. *The American journal of pathology*. 138:149-163.

- Hamilton-Dutoit, S.J., M. Raphael, J. Audouin, J. Diebold, I. Lisse, C. Pedersen, E. Oksenhendler, L. Marelle, and G. Pallesen. 1993. In situ demonstration of Epstein-Barr virus small RNAs (EBER 1) in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomas: correlation with tumor morphology and primary site. *Blood*. 82:619-624.
- Hamilton-Dutoit, S.J., M. Raphael, J. Audouin, J. Diebold, I. Lisse, C. Pedersen, E. Oksenhendler, L. Marelle, and G. Pallesen. 1993. In situ demonstration of Epstein-Barr virus small RNAs (EBER 1) in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomas: correlation with tumor morphology and primary site. *Blood*. 82:619-624.
- Hammarskjold, M. L. and M. C. Simurda (1992). "Epstein-Barr virus latent membrane protein transactivates the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat through induction of NF-kappa B activity." *J Virol* **66**(11): 6496-6501.
- Hammerschmidt, W., and B. Sugden. 1989. Genetic analysis of immortalizing functions of Epstein-Barr virus in human B lymphocytes. *Nature*. 340:393-397.
- Hammerschmidt, W., and B. Sugden. 1989. Genetic analysis of immortalizing functions of Epstein-Barr virus in human B lymphocytes. *Nature*. 340:393-397.
- Hansen, K.D., S.E. Brenner, and S. Dudoit. 2010. Biases in Illumina transcriptome sequencing caused by random hexamer priming. *Nucleic acids research*. 38:e131.
- Harabuchi, Y., N. Yamanaka, A. Kataura, S. Imai, T. Kinoshita, F. Mizuno, and T. Osato. 1990. Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet*. 335:128-130.
- Harabuchi, Y., N. Yamanaka, A. Kataura, S. Imai, T. Kinoshita, F. Mizuno, and T. Osato. 1990. Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet*. 335:128-130.
- Harabuchi, Y., N. Yamanaka, A. Kataura, S. Imai, T. Kinoshita, F. Mizuno, and T. Osato. 1990. Epstein-Barr virus in nasal T-cell lymphomas in patients with lethal midline granuloma. *Lancet*. 335:128-130.
- Harabuchi, Y., S. Imai, J. Wakashima, M. Hirao, A. Kataura, T. Osato, and S. Kon. 1996. Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer*. 77:2137-2149.
- Harabuchi, Y., S. Imai, J. Wakashima, M. Hirao, A. Kataura, T. Osato, and S. Kon. 1996. Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer*. 77:2137-2149.
- Harabuchi, Y., S. Imai, J. Wakashima, M. Hirao, A. Kataura, T. Osato, and S. Kon. 1996. Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer*. 77:2137-2149.
- Harada, S., and E. Kieff. 1997. Epstein-Barr virus nuclear protein LP stimulates EBNA-2 acidic domain-mediated transcriptional activation. *Journal of virology*. 71:6611-6618.

- Harris, N.L., E.S. Jaffe, H. Stein, P.M. Banks, J.K. Chan, M.L. Cleary, G. Delsol, C. De Wolf-Peeters, B. Falini, K.C. Gatter, and et al. 1994. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 84:1361-1392.
- Harris, N.L., E.S. Jaffe, H. Stein, P.M. Banks, J.K. Chan, M.L. Cleary, G. Delsol, C. De Wolf-Peeters, B. Falini, K.C. Gatter, and et al. 1994. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 84:1361-1392.
- Harris, N.L., E.S. Jaffe, H. Stein, P.M. Banks, J.K. Chan, M.L. Cleary, G. Delsol, C. De Wolf-Peeters, B. Falini, K.C. Gatter, and et al. 1994. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 84:1361-1392.
- Harris, N.L., E.S. Jaffe, J. Diebold, G. Flandrin, H.K. Muller-Hermelink, J. Vardiman, T.A. Lister, and C.D. Bloomfield. 1999. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 17:3835-3849.
- Harris, N.L., E.S. Jaffe, J. Diebold, G. Flandrin, H.K. Muller-Hermelink, J. Vardiman, T.A. Lister, and C.D. Bloomfield. 1999. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 17:3835-3849.
- Harris, N.L., E.S. Jaffe, J. Diebold, G. Flandrin, H.K. Muller-Hermelink, J. Vardiman, T.A. Lister, and C.D. Bloomfield. 1999. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 17:3835-3849.
- Harrison, D.F. 1974. Non-healing granulomata of the upper respiratory tract. *British medical journal*. 4:205-209.
- Harrison, D.F. 1974. Non-healing granulomata of the upper respiratory tract. *British medical journal*. 4:205-209.
- Harrison, D.F. 1974. Non-healing granulomata of the upper respiratory tract. *British medical journal*. 4:205-209.
- Hayashi, K., Z. Jin, S. Onoda, H. Joko, N. Teramoto, N. Ohara, W. Oda, T. Tanaka, Y.X. Liu, T.R. Koirala, T. Oka, E. Kondo, T. Yoshino, K. Takahashi, and T. Akagi. 2003. Rabbit model for human EBV-associated hemophagocytic syndrome (HPS): sequential autopsy analysis and characterization of IL-2-dependent cell lines established from herpesvirus papio-induced fatal rabbit lymphoproliferative diseases with HPS. *The American journal of pathology*. 162:1721-1736.

- Hedrick, J.A., D. Watry, C. Speiser, P. O'Donnell, J.D. Lambris, and C.D. Tsoukas. 1992. Interaction between Epstein-Barr virus and a T cell line (HSB-2) via a receptor phenotypically distinct from complement receptor type 2. *European journal of immunology*. 22:1123-1131.
- Hedrick, J.A., D. Watry, C. Speiser, P. O'Donnell, J.D. Lambris, and C.D. Tsoukas. 1992. Interaction between Epstein-Barr virus and a T cell line (HSB-2) via a receptor phenotypically distinct from complement receptor type 2. *European journal of immunology*. 22:1123-1131.
- Helminen, M., N. Lahdenpohja, and M. Hurme. 1999. Polymorphism of the interleukin-10 gene is associated with susceptibility to Epstein-Barr virus infection. *The Journal of infectious diseases*. 180:496-499.
- Henderson, S., M. Rowe, C. Gregory, D. Croom-Carter, F. Wang, R. Longnecker, E. Kieff, and A. Rickinson. 1991. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed cell death. *Cell*. 65:1107-1115.
- Henderson, S., M. Rowe, C. Gregory, D. Croom-Carter, F. Wang, R. Longnecker, E. Kieff, and A. Rickinson. 1991. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed cell death. *Cell*. 65:1107-1115.
- Henderson, S., M. Rowe, et al. (1991). "Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed cell death." *Cell* **65**(7): 1107-1115.
- Henle, G., W. Henle, and V. Diehl. 1968. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 59:94-101.
- Henle, G., W. Henle, and V. Diehl. 1968. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 59:94-101.
- Hennessy, K., S. Fennewald, M. Hummel, T. Cole, and E. Kieff. 1984. A membrane protein encoded by Epstein-Barr virus in latent growth-transforming infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:7207-7211.
- Hennessy, K., S. Fennewald, M. Hummel, T. Cole, and E. Kieff. 1984. A membrane protein encoded by Epstein-Barr virus in latent growth-transforming infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:7207-7211.
- Hennessy, K., S. Fennewald, M. Hummel, T. Cole, and E. Kieff. 1984. A membrane protein encoded by Epstein-Barr virus in latent growth-transforming infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:7207-7211.
- Herrero, J. A., P. Mathew, et al. (1995). "LMP-1 activates NF-kappa B by targeting the inhibitory molecule I kappa B alpha." *J Virol* **69**(4): 2168-2174.
- Hess, R.D. 2004. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *Journal of clinical microbiology*. 42:3381-3387.

- Hess, R.D. 2004. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *Journal of clinical microbiology*. 42:3381-3387.
- Hislop, A.D., G.S. Taylor, D. Sauce, and A.B. Rickinson. 2007. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. *Annual review of immunology*. 25:587-617.
- Hjalgrim, H., K.E. Smedby, K. Rostgaard, D. Molin, S. Hamilton-Dutoit, E.T. Chang, E. Ralfkiaer, C. Sundstrom, H.O. Adami, B. Glimelius, and M. Melbye. 2007. Infectious mononucleosis, childhood social environment, and risk of Hodgkin lymphoma. *Cancer research*. 67:2382-2388.
- Ho, F.C., D. Choy, S.L. Loke, I.T. Kung, K.H. Fu, R. Liang, D. Todd, and R.K. Khoo. 1990. Polymorphic reticulosis and conventional lymphomas of the nose and upper aerodigestive tract: a clinicopathologic study of 70 cases, and immunophenotypic studies of 16 cases. *Human pathology*. 21:1041-1050.
- Ho, F.C., D. Choy, S.L. Loke, I.T. Kung, K.H. Fu, R. Liang, D. Todd, and R.K. Khoo. 1990. Polymorphic reticulosis and conventional lymphomas of the nose and upper aerodigestive tract: a clinicopathologic study of 70 cases, and immunophenotypic studies of 16 cases. *Human pathology*. 21:1041-1050.
- Ho, F.C., D. Choy, S.L. Loke, I.T. Kung, K.H. Fu, R. Liang, D. Todd, and R.K. Khoo. 1990. Polymorphic reticulosis and conventional lymphomas of the nose and upper aerodigestive tract: a clinicopathologic study of 70 cases, and immunophenotypic studies of 16 cases. *Human pathology*. 21:1041-1050.
- Hoagland, R.J. 1955. The transmission of infectious mononucleosis. *The American journal of the medical sciences*. 229:262-272.
- Hoagland, R.J. 1955. The transmission of infectious mononucleosis. *The American journal of the medical sciences*. 229:262-272.
- Hoffmann, A. and D. Baltimore (2006). "Circuitry of nuclear factor kappaB signaling." *Immunol Rev* **210**: 171-186.
- Houchins, J.P., L.L. Lanier, E.C. Niemi, J.H. Phillips, and J.C. Ryan. 1997. Natural killer cell cytolytic activity is inhibited by NKG2-A and activated by NKG2-C. *J Immunol*. 158:3603-3609.
- Houchins, J.P., L.L. Lanier, E.C. Niemi, J.H. Phillips, and J.C. Ryan. 1997. Natural killer cell cytolytic activity is inhibited by NKG2-A and activated by NKG2-C. *J Immunol*. 158:3603-3609.
- Hsiao, J.R., K.C. Chang, C.W. Chen, S.Y. Wu, I.J. Su, M.C. Hsu, Y.T. Jin, S.T. Tsai, K. Takada, and Y. Chang. 2009. Endoplasmic reticulum stress triggers XBP-1-mediated up-regulation of an EBV oncoprotein in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer research*. 69:4461-4467.

- Hsu, D.H., R. de Waal Malefyt, D.F. Fiorentino, M.N. Dang, P. Vieira, J. de Vries, H. Spits, T.R. Mosmann, and K.W. Moore. 1990. Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Science*. 250:830-832.
- Hsu, D.H., R. de Waal Malefyt, D.F. Fiorentino, M.N. Dang, P. Vieira, J. de Vries, H. Spits, T.R. Mosmann, and K.W. Moore. 1990. Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Science*. 250:830-832.
- Hsu, J.L., and S.L. Glaser. 2000. Epstein-barr virus-associated malignancies: epidemiologic patterns and etiologic implications. *Critical reviews in oncology/hematology*. 34:27-53.
- Hsu, J.L., and S.L. Glaser. 2000. Epstein-barr virus-associated malignancies: epidemiologic patterns and etiologic implications. *Critical reviews in oncology/hematology*. 34:27-53.
- Huang, W.T., K.C. Chang, G.C. Huang, J.R. Hsiao, H.H. Chen, S.S. Chuang, T.Y. Chen, W.C. Su, and C.J. Tsao. 2005. Bone marrow that is positive for Epstein-Barr virus encoded RNA-1 by in situ hybridization is related with a poor prognosis in patients with extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *Haematologica*. 90:1063-1069.
- Huang, W.T., K.C. Chang, G.C. Huang, J.R. Hsiao, H.H. Chen, S.S. Chuang, T.Y. Chen, W.C. Su, and C.J. Tsao. 2005. Bone marrow that is positive for Epstein-Barr virus encoded RNA-1 by in situ hybridization is related with a poor prognosis in patients with extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *Haematologica*. 90:1063-1069.
- Huang, W.T., K.C. Chang, G.C. Huang, J.R. Hsiao, H.H. Chen, S.S. Chuang, T.Y. Chen, W.C. Su, and C.J. Tsao. 2005. Bone marrow that is positive for Epstein-Barr virus encoded RNA-1 by in situ hybridization is related with a poor prognosis in patients with extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. *Haematologica*. 90:1063-1069.
- Huang, X.C., M.A. Quesada, and R.A. Mathies. 1992. DNA sequencing using capillary array electrophoresis. *Analytical chemistry*. 64:2149-2154.
- Hudnall, S.D., Y. Ge, L. Wei, N.P. Yang, H.Q. Wang, and T. Chen. 2005. Distribution and phenotype of Epstein-Barr virus-infected cells in human pharyngeal tonsils. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 18:519-527.
- Hudnall, S.D., Y. Ge, L. Wei, N.P. Yang, H.Q. Wang, and T. Chen. 2005. Distribution and phenotype of Epstein-Barr virus-infected cells in human pharyngeal tonsils. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 18:519-527.
- Hudson, G.S., A.T. Bankier, S.C. Satchwell, and B.G. Barrell. 1985. The short unique region of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Virology*. 147:81-98.
- Hudson, G.S., A.T. Bankier, S.C. Satchwell, and B.G. Barrell. 1985. The short unique region of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Virology*. 147:81-98.

- Huen, D. S., S. A. Henderson, et al. (1995). "The Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) mediates activation of NF-kappa B and cell surface phenotype via two effector regions in its carboxy-terminal cytoplasmic domain." *Oncogene* **10**(3): 549-560.
- Huen, D.S., S.A. Henderson, D. Croom-Carter, and M. Rowe. 1995. The Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) mediates activation of NF-kappa B and cell surface phenotype via two effector regions in its carboxy-terminal cytoplasmic domain. *Oncogene*. 10:549-560.
- Huen, D.S., S.A. Henderson, D. Croom-Carter, and M. Rowe. 1995. The Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) mediates activation of NF-kappa B and cell surface phenotype via two effector regions in its carboxy-terminal cytoplasmic domain. *Oncogene*. 10:549-560.
- Humme, S., G. Reisbach, R. Feederle, H.J. Delecluse, K. Bousset, W. Hammerschmidt, and A. Schepers. 2003. The EBV nuclear antigen 1 (EBNA1) enhances B cell immortalization several thousandfold. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100:10989-10994.
- Humme, S., G. Reisbach, R. Feederle, H.J. Delecluse, K. Bousset, W. Hammerschmidt, and A. Schepers. 2003. The EBV nuclear antigen 1 (EBNA1) enhances B cell immortalization several thousandfold. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100:10989-10994.
- Hyman, E.D. 1988. A new method of sequencing DNA. *Analytical biochemistry*. 174:423-436.
- Ian, M.X., S.Z. Lan, Z.F. Cheng, H. Dan, and L.H. Qiong. 2008. Suppression of EBNA1 expression inhibits growth of EBV-positive NK/T cell lymphoma cells. *Cancer biology & therapy*. 7:1602-1606.
- Ikuta, K., Y. Satoh, Y. Hoshikawa, and T. Sairenji. 2000. Detection of Epstein-Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2:115-120.
- Ikuta, K., Y. Satoh, Y. Hoshikawa, and T. Sairenji. 2000. Detection of Epstein-Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2:115-120.
- Imai, S., S. Koizumi, M. Sugiura, M. Tokunaga, Y. Uemura, N. Yamamoto, S. Tanaka, E. Sato, and T. Osato. 1994. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91:9131-9135.
- Imai, S., S. Koizumi, M. Sugiura, M. Tokunaga, Y. Uemura, N. Yamamoto, S. Tanaka, E. Sato, and T. Osato. 1994. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91:9131-9135.
- Inman, B.A., X. Frigola, H. Dong, and E.D. Kwon. 2007. Costimulation, coinhibition and cancer. *Current cancer drug targets*. 7:15-30.

- Inman, B.A., X. Frigola, H. Dong, and E.D. Kwon. 2007. Costimulation, coinhibition and cancer. *Current cancer drug targets*. 7:15-30.
- Ishii, Y., N. Yamanaka, K. Ogawa, Y. Yoshida, T. Takami, A. Matsuura, H. Isago, A. Kataura, and K. Kikuchi. 1982. Nasal T-cell lymphoma as a type of so-called "lethal midline granuloma". *Cancer*. 50:2336-2344.
- Ishii, Y., N. Yamanaka, K. Ogawa, Y. Yoshida, T. Takami, A. Matsuura, H. Isago, A. Kataura, and K. Kikuchi. 1982. Nasal T-cell lymphoma as a type of so-called "lethal midline granuloma". *Cancer*. 50:2336-2344.
- Ishii, Y., N. Yamanaka, K. Ogawa, Y. Yoshida, T. Takami, A. Matsuura, H. Isago, A. Kataura, and K. Kikuchi. 1982. Nasal T-cell lymphoma as a type of so-called "lethal midline granuloma". *Cancer*. 50:2336-2344.
- Isobe, Y., K. Sugimoto, I. Matsuura, K. Takada, and K. Oshimi. 2008. Epstein-Barr virus renders the infected natural killer cell line, NKL resistant to doxorubicin-induced apoptosis. *British journal of cancer*. 99:1816-1822.
- Isobe, Y., K. Sugimoto, I. Matsuura, K. Takada, and K. Oshimi. 2008. Epstein-Barr virus renders the infected natural killer cell line, NKL resistant to doxorubicin-induced apoptosis. *British journal of cancer*. 99:1816-1822.
- Isobe, Y., K. Sugimoto, L. Yang, K. Tamayose, M. Egashira, T. Kaneko, K. Takada, and K. Oshimi. 2004. Epstein-Barr virus infection of human natural killer cell lines and peripheral blood natural killer cells. *Cancer research*. 64:2167-2174.
- Isobe, Y., K. Sugimoto, L. Yang, K. Tamayose, M. Egashira, T. Kaneko, K. Takada, and K. Oshimi. 2004. Epstein-Barr virus infection of human natural killer cell lines and peripheral blood natural killer cells. *Cancer research*. 64:2167-2174.
- Israel, B.F., M. Gulley, S. Elmore, S. Ferrini, W.H. Feng, and S.C. Kenney. 2005. Anti-CD70 antibodies: a potential treatment for EBV+ CD70-expressing lymphomas. *Molecular cancer therapeutics*. 4:2037-2044.
- Israel, B.F., M. Gulley, S. Elmore, S. Ferrini, W.H. Feng, and S.C. Kenney. 2005. Anti-CD70 antibodies: a potential treatment for EBV+ CD70-expressing lymphomas. *Molecular cancer therapeutics*. 4:2037-2044.
- Izumi, K. M., K. M. Kaye, et al. (1997). "The Epstein-Barr virus LMP1 amino acid sequence that engages tumor necrosis factor receptor associated factors is critical for primary B lymphocyte growth transformation." *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**(4): 1447-1452.
- Izumi, K.M., and E.D. Kieff. 1997. The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein to mediate B lymphocyte growth transformation and activate NF-kappaB. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 94:12592-12597.



- Izumi, K.M., and E.D. Kieff. 1997. The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein to mediate B lymphocyte growth transformation and activate NF-kappaB. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 94:12592-12597.
- Izumi, K.M., E.D. Cahir McFarland, A.T. Ting, E.A. Riley, B. Seed, and E.D. Kieff. 1999. The Epstein-Barr virus oncoprotein latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-associated proteins TRADD and receptor-interacting protein (RIP) but does not induce apoptosis or require RIP for NF-kappaB activation. *Molecular and cellular biology*. 19:5759-5767.
- Izumi, K.M., K.M. Kaye, and E.D. Kieff. 1994. Epstein-Barr virus recombinant molecular genetic analysis of the LMP1 amino-terminal cytoplasmic domain reveals a probable structural role, with no component essential for primary B-lymphocyte growth transformation. *Journal of virology*. 68:4369-4376.
- Izumi, K.M., K.M. Kaye, and E.D. Kieff. 1994. Epstein-Barr virus recombinant molecular genetic analysis of the LMP1 amino-terminal cytoplasmic domain reveals a probable structural role, with no component essential for primary B-lymphocyte growth transformation. *Journal of virology*. 68:4369-4376.
- Izumi, K.M., K.M. Kaye, and E.D. Kieff. 1997. The Epstein-Barr virus LMP1 amino acid sequence that engages tumor necrosis factor receptor associated factors is critical for primary B lymphocyte growth transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 94:1447-1452.
- Izumi, K.M., K.M. Kaye, and E.D. Kieff. 1997. The Epstein-Barr virus LMP1 amino acid sequence that engages tumor necrosis factor receptor associated factors is critical for primary B lymphocyte growth transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 94:1447-1452.
- Jaccard, A., B. Petit, S. Girault, F. Suarez, R. Gressin, J.M. Zini, V. Coiteux, C. Larroche, A. Devidas, C. Thieblemont, P. Gaulard, B. Marin, N. Gachard, D. Bordessoule, and O. Hermine. 2009. L-asparaginase-based treatment of 15 western patients with extranodal NK/T-cell lymphoma and leukemia and a review of the literature. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 20:110-116.
- Jaccard, A., N. Gachard, B. Marin, S. Rogez, M. Audrain, F. Suarez, H. Tilly, F. Morschhauser, C. Thieblemont, L. Ysebaert, A. Devidas, B. Petit, L. de Leval, P. Gaulard, J. Feuillard, D. Bordessoule, and O. Hermine. 2011. Efficacy of L-asparaginase with methotrexate and dexamethasone (AspaMetDex regimen) in patients with refractory or relapsing extranodal NK/T-cell lymphoma, a phase 2 study. *Blood*. 117:1834-1839.
- Jaccard, A., and O. Hermine. 2011. Extranodal natural killer/T-cell lymphoma: advances in the management. *Curr Opin Oncol*. 23:429-435.
- Jaffe, E.S. 1995. Nasal and nasal-type T/NK cell lymphoma: a unique form of lymphoma associated with the Epstein-Barr virus. *Histopathology*. 27:581-583.

- Jaffe, E.S. 1995. Nasal and nasal-type T/NK cell lymphoma: a unique form of lymphoma associated with the Epstein-Barr virus. *Histopathology*. 27:581-583.
- Jaffe, E.S. 1995. Nasal and nasal-type T/NK cell lymphoma: a unique form of lymphoma associated with the Epstein-Barr virus. *Histopathology*. 27:581-583.
- Jaffe, E.S. 1996. Classification of natural killer (NK) cell and NK-like T-cell malignancies. *Blood*. 87:1207-1210.
- Jaffe, E.S. 1996. Classification of natural killer (NK) cell and NK-like T-cell malignancies. *Blood*. 87:1207-1210.
- Jaffe, E.S. 1996. Classification of natural killer (NK) cell and NK-like T-cell malignancies. *Blood*. 87:1207-1210.
- Jansson, A., P. Johansson, S. Li, and L. Rymo. 2007. Activity of the LMP1 gene promoter in Epstein-Barr virus-transformed cell lines is modulated by sequence variations in the promoter-proximal CRE site. *The Journal of general virology*. 88:1887-1894.
- Jansson, A., P. Johansson, S. Li, and L. Rymo. 2007. Activity of the LMP1 gene promoter in Epstein-Barr virus-transformed cell lines is modulated by sequence variations in the promoter-proximal CRE site. *The Journal of general virology*. 88:1887-1894.
- Janz, A., M. Oezel, C. Kurzeder, J. Mautner, D. Pich, M. Kost, W. Hammerschmidt, and H.J. Delecluse. 2000. Infectious Epstein-Barr virus lacking major glycoprotein BLLF1 (gp350/220) demonstrates the existence of additional viral ligands. *Journal of virology*. 74:10142-10152.
- Janz, A., M. Oezel, C. Kurzeder, J. Mautner, D. Pich, M. Kost, W. Hammerschmidt, and H.J. Delecluse. 2000. Infectious Epstein-Barr virus lacking major glycoprotein BLLF1 (gp350/220) demonstrates the existence of additional viral ligands. *Journal of virology*. 74:10142-10152.
- Jin, X.W., and S.H. Speck. 1992. Identification of critical cis elements involved in mediating Epstein-Barr virus nuclear antigen 2-dependent activity of an enhancer located upstream of the viral BamHI C promoter. *Journal of virology*. 66:2846-2852.
- Jin, X.W., and S.H. Speck. 1992. Identification of critical cis elements involved in mediating Epstein-Barr virus nuclear antigen 2-dependent activity of an enhancer located upstream of the viral BamHI C promoter. *Journal of virology*. 66:2846-2852.
- Johannsen, E., C.L. Miller, S.R. Grossman, and E. Kieff. 1996. EBNA-2 and EBNA-3C extensively and mutually exclusively associate with RBPJkappa in Epstein-Barr virus-transformed B lymphocytes. *Journal of virology*. 70:4179-4183.
- Johannsen, E., C.L. Miller, S.R. Grossman, and E. Kieff. 1996. EBNA-2 and EBNA-3C extensively and mutually exclusively associate with RBPJkappa in Epstein-Barr virus-transformed B lymphocytes. *Journal of virology*. 70:4179-4183.

- Johannsen, E., M. Luftig, M.R. Chase, S. Weicksel, E. Cahir-McFarland, D. Illanes, D. Sarracino, and E. Kieff. 2004. Proteins of purified Epstein-Barr virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101:16286-16291.
- Johannsen, E., M. Luftig, M.R. Chase, S. Weicksel, E. Cahir-McFarland, D. Illanes, D. Sarracino, and E. Kieff. 2004. Proteins of purified Epstein-Barr virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101:16286-16291.
- Johansen, L.M., C.D. Deppmann, K.D. Erickson, W.F. Coffin, 3rd, T.M. Thornton, S.E. Humphrey, J.M. Martin, and E.J. Taparowsky. 2003. EBNA2 and activated Notch induce expression of BATF. *Journal of virology*. 77:6029-6040.
- Johansson, P., A. Jansson, U. Ruetschi, and L. Rymo. 2009. Nuclear factor-kappaB binds to the Epstein-Barr Virus LMP1 promoter and upregulates its expression. *Journal of virology*. 83:1393-1401.
- Johansson, P., A. Jansson, U. Ruetschi, and L. Rymo. 2009. Nuclear factor-kappaB binds to the Epstein-Barr Virus LMP1 promoter and upregulates its expression. *Journal of virology*. 83:1393-1401.
- Jondal, M., G. Klein, M.B. Oldstone, V. Bokish, and E. Yefenof. 1976. Surface markers on human B and T lymphocytes. VIII. Association between complement and Epstein-Barr virus receptors on human lymphoid cells. *Scandinavian journal of immunology*. 5:401-410.
- Jondal, M., G. Klein, M.B. Oldstone, V. Bokish, and E. Yefenof. 1976. Surface markers on human B and T lymphocytes. VIII. Association between complement and Epstein-Barr virus receptors on human lymphoid cells. *Scandinavian journal of immunology*. 5:401-410.
- Jones, J.F., S. Shurin, C. Abramowsky, R.R. Tubbs, C.G. Sciotto, R. Wahl, J. Sands, D. Gottman, B.Z. Katz, and J. Sklar. 1988. T-cell lymphomas containing Epstein-Barr viral DNA in patients with chronic Epstein-Barr virus infections. *The New England journal of medicine*. 318:733-741.
- Jones, J.F., S. Shurin, C. Abramowsky, R.R. Tubbs, C.G. Sciotto, R. Wahl, J. Sands, D. Gottman, B.Z. Katz, and J. Sklar. 1988. T-cell lymphomas containing Epstein-Barr viral DNA in patients with chronic Epstein-Barr virus infections. *The New England journal of medicine*. 318:733-741.
- Jones, J.F., S. Shurin, C. Abramowsky, R.R. Tubbs, C.G. Sciotto, R. Wahl, J. Sands, D. Gottman, B.Z. Katz, and J. Sklar. 1988. T-cell lymphomas containing Epstein-Barr viral DNA in patients with chronic Epstein-Barr virus infections. *The New England journal of medicine*. 318:733-741.
- Jost, P.J., and J. Ruland. 2007. Aberrant NF-kappaB signaling in lymphoma: mechanisms, consequences, and therapeutic implications. *Blood*. 109:2700-2707.
- Jost, P.J., and J. Ruland. 2007. Aberrant NF-kappaB signaling in lymphoma: mechanisms, consequences, and therapeutic implications. *Blood*. 109:2700-2707.

- Jung, D., and A. Dorr. 1999. Single-dose pharmacokinetics of valganciclovir in HIV- and CMV-seropositive subjects. *Journal of clinical pharmacology*. 39:800-804.
- Jung, D., and A. Dorr. 1999. Single-dose pharmacokinetics of valganciclovir in HIV- and CMV-seropositive subjects. *Journal of clinical pharmacology*. 39:800-804.
- Kafuko, G.W., B.E. Henderson, B.G. Kirya, G.M. Munube, P.M. Tukei, N.E. Day, G. Henle, W. Henle, R.H. Morrow, M.C. Pike, P.G. Smith, and E.H. Williams. 1972. Epstein-Barr virus antibody levels in children from the West Nile District of Uganda. Report of a field study. *Lancet*. 1:706-709.
- Kafuko, G.W., B.E. Henderson, B.G. Kirya, G.M. Munube, P.M. Tukei, N.E. Day, G. Henle, W. Henle, R.H. Morrow, M.C. Pike, P.G. Smith, and E.H. Williams. 1972. Epstein-Barr virus antibody levels in children from the West Nile District of Uganda. Report of a field study. *Lancet*. 1:706-709.
- Kagami, Y., S. Nakamura, R. Suzuki, S. Iida, Y. Yatabe, Y. Okada, T. Kobayashi, T. Tsurumi, M. Seto, M. Ogura, O. Taguchi, and Y. Morishima. 1998. Establishment of an IL-2-dependent cell line derived from 'nasal-type' NK/T-cell lymphoma of CD2+, sCD3-, CD3epsilon+, CD56+ phenotype and associated with the Epstein-Barr virus. *British journal of haematology*. 103:669-677.
- Kagami, Y., S. Nakamura, R. Suzuki, S. Iida, Y. Yatabe, Y. Okada, T. Kobayashi, T. Tsurumi, M. Seto, M. Ogura, O. Taguchi, and Y. Morishima. 1998. Establishment of an IL-2-dependent cell line derived from 'nasal-type' NK/T-cell lymphoma of CD2+, sCD3-, CD3epsilon+, CD56+ phenotype and associated with the Epstein-Barr virus. *British journal of haematology*. 103:669-677.
- Kagami, Y., S. Nakamura, R. Suzuki, S. Iida, Y. Yatabe, Y. Okada, T. Kobayashi, T. Tsurumi, M. Seto, M. Ogura, O. Taguchi, and Y. Morishima. 1998. Establishment of an IL-2-dependent cell line derived from 'nasal-type' NK/T-cell lymphoma of CD2+, sCD3-, CD3epsilon+, CD56+ phenotype and associated with the Epstein-Barr virus. *British journal of haematology*. 103:669-677.
- Kanegane, H., F. Wang, and G. Tosato. 1996. Virus-cell interactions in a natural killer-like cell line from a patient with lymphoblastic lymphoma. *Blood*. 88:4667-4675.
- Kanegane, H., F. Wang, and G. Tosato. 1996. Virus-cell interactions in a natural killer-like cell line from a patient with lymphoblastic lymphoma. *Blood*. 88:4667-4675.
- Kanegane, H., F. Wang, and G. Tosato. 1996. Virus-cell interactions in a natural killer-like cell line from a patient with lymphoblastic lymphoma. *Blood*. 88:4667-4675.
- Kanegane, H., K. Bhatia, M. Gutierrez, H. Kaneda, T. Wada, A. Yachie, H. Seki, T. Arai, S. Kagimoto, M. Okazaki, T. Oh-ishi, A. Moghaddam, F. Wang, and G. Tosato. 1998. A syndrome of peripheral blood T-cell infection with Epstein-Barr virus (EBV) followed by EBV-positive T-cell lymphoma. *Blood*. 91:2085-2091.

- Kanegane, H., K. Bhatia, M. Gutierrez, H. Kaneda, T. Wada, A. Yachie, H. Seki, T. Arai, S. Kagimoto, M. Okazaki, T. Oh-ishi, A. Moghaddam, F. Wang, and G. Tosato. 1998. A syndrome of peripheral blood T-cell infection with Epstein-Barr virus (EBV) followed by EBV-positive T-cell lymphoma. *Blood*. 91:2085-2091.
- Kanegane, H., K. Bhatia, M. Gutierrez, H. Kaneda, T. Wada, A. Yachie, H. Seki, T. Arai, S. Kagimoto, M. Okazaki, T. Oh-ishi, A. Moghaddam, F. Wang, and G. Tosato. 1998. A syndrome of peripheral blood T-cell infection with Epstein-Barr virus (EBV) followed by EBV-positive T-cell lymphoma. *Blood*. 91:2085-2091.
- Kaplan, J., R. Mastrangelo, and W.D. Peterson, Jr. 1974. Childhood lymphoblastic lymphoma, a cancer of thymus-derived lymphocytes. *Cancer research*. 34:521-525.
- Kaplan, J., R. Mastrangelo, and W.D. Peterson, Jr. 1974. Childhood lymphoblastic lymphoma, a cancer of thymus-derived lymphocytes. *Cancer research*. 34:521-525.
- Kashuba, E., K. Mattsson, K. Pokrovskaja, C. Kiss, M. Protopopova, B. Ehlin-Henriksson, G. Klein, and L. Szekely. 2003. EBV-encoded EBNA-5 associates with P14ARF in extranucleolar inclusions and prolongs the survival of P14ARF-expressing cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 105:644-653.
- Kashuba, E., K. Mattsson, K. Pokrovskaja, C. Kiss, M. Protopopova, B. Ehlin-Henriksson, G. Klein, and L. Szekely. 2003. EBV-encoded EBNA-5 associates with P14ARF in extranucleolar inclusions and prolongs the survival of P14ARF-expressing cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 105:644-653.
- Kassel, S.H., R.A. Echevarria, and F.P. Guzzo. 1969. Midline malignant reticulosis (so-called lethal midline granuloma). *Cancer*. 23:920-935.
- Kassel, S.H., R.A. Echevarria, and F.P. Guzzo. 1969. Midline malignant reticulosis (so-called lethal midline granuloma). *Cancer*. 23:920-935.
- Kassel, S.H., R.A. Echevarria, and F.P. Guzzo. 1969. Midline malignant reticulosis (so-called lethal midline granuloma). *Cancer*. 23:920-935.
- Kaye, K. M., K. M. Izumi, et al. (1993). "Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation." *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**(19): 9150-9154.
- Kaye, K. M., O. Devergne, et al. (1996). "Tumor necrosis factor receptor associated factor 2 is a mediator of NF-kappa B activation by latent infection membrane protein 1, the Epstein-Barr virus transforming protein." *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**(20): 11085-11090.
- Kaye, K.M., K.M. Izumi, and E. Kieff. 1993. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90:9150-9154.
- Kaye, K.M., K.M. Izumi, and E. Kieff. 1993. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90:9150-9154.

- Kaye, K.M., K.M. Izumi, G. Mosialos, and E. Kieff. 1995. The Epstein-Barr virus LMP1 cytoplasmic carboxy terminus is essential for B-lymphocyte transformation; fibroblast cocultivation complements a critical function within the terminal 155 residues. *Journal of virology*. 69:675-683.
- Kaye, K.M., K.M. Izumi, G. Mosialos, and E. Kieff. 1995. The Epstein-Barr virus LMP1 cytoplasmic carboxy terminus is essential for B-lymphocyte transformation; fibroblast cocultivation complements a critical function within the terminal 155 residues. *Journal of virology*. 69:675-683.
- Kaykas, A., and B. Sugden. 2000. The amino-terminus and membrane-spanning domains of LMP-1 inhibit cell proliferation. *Oncogene*. 19:1400-1410.
- Keller, S. A., D. Hernandez-Hopkins, et al. (2006). "NF-kappaB is essential for the progression of KSHV- and EBV-infected lymphomas in vivo." *Blood* **107**(8): 3295-3302.
- Kelly, G.L., A.E. Milner, G.S. Baldwin, A.I. Bell, and A.B. Rickinson. 2006. Three restricted forms of Epstein-Barr virus latency counteracting apoptosis in c-Myc-expressing Burkitt lymphoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103:14935-14940.
- Kelly, G.L., A.E. Milner, R.J. Tierney, D.S. Croom-Carter, M. Altmann, W. Hammerschmidt, A.I. Bell, and A.B. Rickinson. 2005. Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 (EBNA2) gene deletion is consistently linked with EBNA3A, -3B, and -3C expression in Burkitt's lymphoma cells and with increased resistance to apoptosis. *Journal of virology*. 79:10709-10717.
- Kelly, G.L., H.M. Long, J. Stylianou, W.A. Thomas, A. Leese, A.I. Bell, G.W. Bornkamm, J. Mautner, A.B. Rickinson, and M. Rowe. 2009. An Epstein-Barr virus anti-apoptotic protein constitutively expressed in transformed cells and implicated in burkitt lymphomagenesis: the Wp/BHRF1 link. *PLoS pathogens*. 5:e1000341.
- Kelly, G.L., H.M. Long, J. Stylianou, W.A. Thomas, A. Leese, A.I. Bell, G.W. Bornkamm, J. Mautner, A.B. Rickinson, and M. Rowe. 2009. An Epstein-Barr virus anti-apoptotic protein constitutively expressed in transformed cells and implicated in burkitt lymphomagenesis: the Wp/BHRF1 link. *PLoS pathogens*. 5:e1000341.
- Kennedy, G., J. Komano, and B. Sugden. 2003. Epstein-Barr virus provides a survival factor to Burkitt's lymphomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100:14269-14274.
- Kenney, S.C., E. Holley-Guthrie, E.B. Quinlivan, D. Gutsch, Q. Zhang, T. Bender, J.F. Giot, and A. Sergeant. 1992. The cellular oncogene c-myc can interact synergistically with the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator in lymphoid cells. *Molecular and cellular biology*. 12:136-146.
- Kenney, S.C., E. Holley-Guthrie, E.B. Quinlivan, D. Gutsch, Q. Zhang, T. Bender, J.F. Giot, and A. Sergeant. 1992. The cellular oncogene c-myc can interact synergistically with the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator in lymphoid cells. *Molecular and cellular biology*. 12:136-146.

- Khanim, F., Q.Y. Yao, G. Niedobitek, S. Sihota, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1996. Analysis of Epstein-Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations. *Blood*. 88:3491-3501.
- Khanim, F., Q.Y. Yao, G. Niedobitek, S. Sihota, A.B. Rickinson, and L.S. Young. 1996. Analysis of Epstein-Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations. *Blood*. 88:3491-3501.
- Kieff, E. 1996. Epstein-Barr virus and its replication, p. 2343–2396. *Fields virology*, 3rd ed., vol. 2. Lippincott-Raven Publishers
- Kilger, E., A. Kieser, M. Baumann, and W. Hammerschmidt. 1998. Epstein-Barr virus-mediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *The EMBO journal*. 17:1700-1709.
- King, W., A.L. Thomas-Powell, N. Raab-Traub, M. Hawke, and E. Kieff. 1980. Epstein-Barr virus RNA. V. Viral RNA in a restringently infected, growth-transformed cell line. *Journal of virology*. 36:506-518.
- King, W., A.L. Thomas-Powell, N. Raab-Traub, M. Hawke, and E. Kieff. 1980. Epstein-Barr virus RNA. V. Viral RNA in a restringently infected, growth-transformed cell line. *Journal of virology*. 36:506-518.
- Kingma, D. W., W. B. Weiss, et al. (1996). "Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 oncogene deletions: correlations with malignancy in Epstein-Barr virus--associated lymphoproliferative disorders and malignant lymphomas." *Blood* **88**(1): 242-251.
- Kira, T., S.P. Grill, G.E. Dutschman, J.S. Lin, F. Qu, Y. Choi, C.K. Chu, and Y.C. Cheng. 2000. Anti-Epstein-Barr virus (EBV) activity of beta-L-5-iododioxolane uracil is dependent on EBV thymidine kinase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 44:3278-3284.
- Kira, T., S.P. Grill, G.E. Dutschman, J.S. Lin, F. Qu, Y. Choi, C.K. Chu, and Y.C. Cheng. 2000. Anti-Epstein-Barr virus (EBV) activity of beta-L-5-iododioxolane uracil is dependent on EBV thymidine kinase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 44:3278-3284.
- Kis, L.L., D. Salamon, E.K. Persson, N. Nagy, F.A. Scheeren, H. Spits, G. Klein, and E. Klein. 2010. IL-21 imposes a type II EBV gene expression on type III and type I B cells by the repression of C- and activation of LMP-1-promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 107:872-877.
- Kis, L.L., D. Salamon, E.K. Persson, N. Nagy, F.A. Scheeren, H. Spits, G. Klein, and E. Klein. 2010. IL-21 imposes a type II EBV gene expression on type III and type I B cells by the repression of C- and activation of LMP-1-promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 107:872-877.
- Kis, L.L., M. Takahara, N. Nagy, G. Klein, and E. Klein. 2006. IL-10 can induce the expression of EBV-encoded latent membrane protein-1 (LMP-1) in the absence of EBNA-2 in B lymphocytes and in Burkitt lymphoma- and NK lymphoma-derived cell lines. *Blood*. 107:2928-2935.

- Kis, L.L., M. Takahara, N. Nagy, G. Klein, and E. Klein. 2006. IL-10 can induce the expression of EBV-encoded latent membrane protein-1 (LMP-1) in the absence of EBNA-2 in B lymphocytes and in Burkitt lymphoma- and NK lymphoma-derived cell lines. *Blood*. 107:2928-2935.
- Klein, G., and I. Ernberg. 2007. Effects on apoptosis, cell cycle and transformation, and comparative aspects of EBV with other known DNA tumor viruses. *In Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. A. Arvin, G. Campadelli-Fiume, E. Mocarski, P.S. Moore, B. Roizman, R. Whitley, and K. Yamanishi, editors, Cambridge.
- Klein, G., and I. Ernberg. 2007. Effects on apoptosis, cell cycle and transformation, and comparative aspects of EBV with other known DNA tumor viruses. *In Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. A. Arvin, G. Campadelli-Fiume, E. Mocarski, P.S. Moore, B. Roizman, R. Whitley, and K. Yamanishi, editors, Cambridge.
- Knecht, H., E. Bachmann, et al. (1993). "Deletions within the LMP1 oncogene of Epstein-Barr virus are clustered in Hodgkin's disease and identical to those observed in nasopharyngeal carcinoma." *Blood* **82**(10): 2937-2942.
- Knecht, H., E. Bachmann, et al. (1995). "Mutational hot spots within the carboxy terminal region of the LMP1 oncogene of Epstein-Barr virus are frequent in lymphoproliferative disorders." *Oncogene* **10**(3): 523-528.
- Knecht, H., M. Raphael, et al. (1996). "Deletion variants within the NF-kappa B activation domain of the LMP1 oncogene prevail in acquired immunodeficiency syndrome-related large cell lymphomas and human immunodeficiency virus-negative atypical lymphoproliferations." *Blood* **87**(3): 876-881.
- Knecht, H., P. Brousset, E. Bachmann, K. Sandvej, and B.F. Odermatt. 1993. Latent membrane protein 1: a key oncogene in EBV-related carcinogenesis? *Acta haematologica*. 90:167-171.
- Knecht, H., P. Brousset, E. Bachmann, K. Sandvej, and B.F. Odermatt. 1993. Latent membrane protein 1: a key oncogene in EBV-related carcinogenesis? *Acta haematologica*. 90:167-171.
- Knight, J.S., N. Sharma, and E.S. Robertson. 2005. Epstein-Barr virus latent antigen 3C can mediate the degradation of the retinoblastoma protein through an SCF cellular ubiquitin ligase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102:18562-18566.
- Knight, J.S., N. Sharma, and E.S. Robertson. 2005. Epstein-Barr virus latent antigen 3C can mediate the degradation of the retinoblastoma protein through an SCF cellular ubiquitin ligase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102:18562-18566.
- Ko, Y. H., C. W. Kim, et al. (1998). "REAL classification of malignant lymphomas in the Republic of Korea: incidence of recently recognized entities and changes in clinicopathologic features. Hematolymphoreticular Study Group of the Korean Society of Pathologists. Revised European-American lymphoma." *Cancer* **83**(4): 806-812.



- Krosky, P.M., M.R. Underwood, S.R. Turk, K.W. Feng, R.K. Jain, R.G. Ptak, A.C. Westerman, K.K. Biron, L.B. Townsend, and J.C. Drach. 1998. Resistance of human cytomegalovirus to benzimidazole ribonucleosides maps to two open reading frames: UL89 and UL56. *Journal of virology*. 72:4721-4728.
- Krosky, P.M., M.R. Underwood, S.R. Turk, K.W. Feng, R.K. Jain, R.G. Ptak, A.C. Westerman, K.K. Biron, L.B. Townsend, and J.C. Drach. 1998. Resistance of human cytomegalovirus to benzimidazole ribonucleosides maps to two open reading frames: UL89 and UL56. *Journal of virology*. 72:4721-4728.
- Kulwichit, W., R.H. Edwards, E.M. Davenport, J.F. Baskar, V. Godfrey, and N. Raab-Traub. 1998. Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95:11963-11968.
- Kulwichit, W., R.H. Edwards, E.M. Davenport, J.F. Baskar, V. Godfrey, and N. Raab-Traub. 1998. Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cell lymphoma in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95:11963-11968.
- Kuppers, R. 2009. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nature reviews. Cancer*. 9:15-27.
- Kurzen, H., S. Schmitt, H. Naher, and T. Mohler. 2003. Inhibition of angiogenesis by non-toxic doses of temozolomide. *Anti-cancer drugs*. 14:515-522.
- Kurzen, H., S. Schmitt, H. Naher, and T. Mohler. 2003. Inhibition of angiogenesis by non-toxic doses of temozolomide. *Anti-cancer drugs*. 14:515-522.
- Kutok, J.L., and F. Wang. 2006. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annual review of pathology*. 1:375-404.
- Kwong, Y.L., C.C. Lam, and T.M. Chan. 2000. Post-transplantation lymphoproliferative disease of natural killer cell lineage: a clinicopathological and molecular analysis. *British journal of haematology*. 110:197-202.
- Laherty, C. D., H. M. Hu, et al. (1992). "The Epstein-Barr virus LMP1 gene product induces A20 zinc finger protein expression by activating nuclear factor kappa B." *J Biol Chem* **267**(34): 24157-24160.
- Laherty, C.D., H.M. Hu, A.W. Opipari, F. Wang, and V.M. Dixit. 1992. The Epstein-Barr virus LMP1 gene product induces A20 zinc finger protein expression by activating nuclear factor kappa B. *The Journal of biological chemistry*. 267:24157-24160.
- Laherty, C.D., H.M. Hu, A.W. Opipari, F. Wang, and V.M. Dixit. 1992. The Epstein-Barr virus LMP1 gene product induces A20 zinc finger protein expression by activating nuclear factor kappa B. *The Journal of biological chemistry*. 267:24157-24160.

- Laichalk, L.L., and D.A. Thorley-Lawson. 2005. Terminal differentiation into plasma cells initiates the replicative cycle of Epstein-Barr virus in vivo. *Journal of virology*. 79:1296-1307.
- Laichalk, L.L., and D.A. Thorley-Lawson. 2005. Terminal differentiation into plasma cells initiates the replicative cycle of Epstein-Barr virus in vivo. *Journal of virology*. 79:1296-1307.
- Lambert, S.L., and O.M. Martinez. 2007. Latent membrane protein 1 of EBV activates phosphatidylinositol 3-kinase to induce production of IL-10. *J Immunol*. 179:8225-8234.
- Lambert, S.L., and O.M. Martinez. 2007. Latent membrane protein 1 of EBV activates phosphatidylinositol 3-kinase to induce production of IL-10. *J Immunol*. 179:8225-8234.
- Lander, E.S., L.M. Linton, B. Birren, C. Nusbaum, M.C. Zody, J. Baldwin, K. Devon, K. Dewar, M. Doyle, W. FitzHugh, R. Funke, D. Gage, K. Harris, A. Heaford, J. Howland, L. Kann, J. Lehoczký, R. LeVine, P. McEwan, K. McKernan, J. Meldrim, J.P. Mesirov, C. Miranda, W. Morris, J. Naylor, C. Raymond, M. Rosetti, R. Santos, A. Sheridan, C. Sougnez, N. Stange-Thomann, N. Stojanovic, A. Subramanian, D. Wyman, J. Rogers, J. Sulston, R. Ainscough, S. Beck, D. Bentley, J. Burton, C. Clee, N. Carter, A. Coulson, R. Deadman, P. Deloukas, A. Dunham, I. Dunham, R. Durbin, L. French, D. Grafham, S. Gregory, T. Hubbard, S. Humphray, A. Hunt, M. Jones, C. Lloyd, A. McMurray, L. Matthews, S. Mercer, S. Milne, J.C. Mullikin, A. Mungall, R. Plumb, M. Ross, R. Shownkeen, S. Sims, R.H. Waterston, R.K. Wilson, L.W. Hillier, J.D. McPherson, M.A. Marra, E.R. Mardis, L.A. Fulton, A.T. Chinwalla, K.H. Pepin, W.R. Gish, S.L. Chissoe, M.C. Wendl, K.D. Delehaunty, T.L. Miner, A. Delehaunty, J.B. Kramer, L.L. Cook, R.S. Fulton, D.L. Johnson, P.J. Minx, S.W. Clifton, T. Hawkins, E. Branscomb, P. Predki, P. Richardson, S. Wenning, T. Slezak, N. Doggett, J.F. Cheng, A. Olsen, S. Lucas, C. Elkin, E. Uberbacher, M. Frazier, et al. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 409:860-921.
- Lang, D.J., R.M. Garruto, and D.C. Gajdusek. 1977. Early acquisition of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus antibody in several isolated Melanesian populations. *American journal of epidemiology*. 105:480-487.
- Lang, D.J., R.M. Garruto, and D.C. Gajdusek. 1977. Early acquisition of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus antibody in several isolated Melanesian populations. *American journal of epidemiology*. 105:480-487.
- Lanier, L.L. 2005. NK cell recognition. *Annual review of immunology*. 23:225-274.
- Lanier, L.L. 2005. NK cell recognition. *Annual review of immunology*. 23:225-274.
- Larosa, D.F., and J.S. Orange. 2008. 1. Lymphocytes. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 121:S364-369; quiz S412.
- Larosa, D.F., and J.S. Orange. 2008. 1. Lymphocytes. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 121:S364-369; quiz S412.

- Larosa, D.F., and J.S. Orange. 2008. 1. Lymphocytes. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 121:S364-369; quiz S412.
- Laux, G., A. Economou, and P.J. Farrell. 1989. The terminal protein gene 2 of Epstein-Barr virus is transcribed from a bidirectional latent promoter region. *The Journal of general virology*. 70 ( Pt 11):3079-3084.
- Laux, G., A. Economou, and P.J. Farrell. 1989. The terminal protein gene 2 of Epstein-Barr virus is transcribed from a bidirectional latent promoter region. *The Journal of general virology*. 70 ( Pt 11):3079-3084.
- Laux, G., M. Perricaudet, and P.J. Farrell. 1988. A spliced Epstein-Barr virus gene expressed in immortalized lymphocytes is created by circularization of the linear viral genome. *The EMBO journal*. 7:769-774.
- Laux, G., M. Perricaudet, and P.J. Farrell. 1988. A spliced Epstein-Barr virus gene expressed in immortalized lymphocytes is created by circularization of the linear viral genome. *The EMBO journal*. 7:769-774.
- Lawrence, J.C., T.A. Lin, L.P. McMahon, and K.M. Choi. 2004. Modulation of the protein kinase activity of mTOR. *Current topics in microbiology and immunology*. 279:199-213.
- Lawrence, J.C., T.A. Lin, L.P. McMahon, and K.M. Choi. 2004. Modulation of the protein kinase activity of mTOR. *Current topics in microbiology and immunology*. 279:199-213.
- Lay, J.D., S.E. Chuang, M. Rowe, and I.J. Su. 2003. Epstein-barr virus latent membrane protein-1 mediates upregulation of tumor necrosis factor-alpha in EBV-infected T cells: implications for the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. *Journal of biomedical science*. 10:146-155.
- Lay, J.D., S.E. Chuang, M. Rowe, and I.J. Su. 2003. Epstein-barr virus latent membrane protein-1 mediates upregulation of tumor necrosis factor-alpha in EBV-infected T cells: implications for the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. *Journal of biomedical science*. 10:146-155.
- Leamon, J.H., and J.M. Rothberg. 2007. Cramming more sequencing reactions onto microreactor chips. *Chemical reviews*. 107:3367-3376.
- Lee, J., C. Suh, Y.H. Park, Y.H. Ko, S.M. Bang, J.H. Lee, D.H. Lee, J. Huh, S.Y. Oh, H.C. Kwon, H.J. Kim, S.I. Lee, J.H. Kim, J. Park, S.J. Oh, K. Kim, C. Jung, K. Park, and W.S. Kim. 2006. Extranodal natural killer T-cell lymphoma, nasal-type: a prognostic model from a retrospective multicenter study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 24:612-618.
- Lee, J., C. Suh, Y.H. Park, Y.H. Ko, S.M. Bang, J.H. Lee, D.H. Lee, J. Huh, S.Y. Oh, H.C. Kwon, H.J. Kim, S.I. Lee, J.H. Kim, J. Park, S.J. Oh, K. Kim, C. Jung, K. Park, and W.S. Kim. 2006. Extranodal natural killer T-cell lymphoma, nasal-type: a prognostic model from a retrospective multicenter study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 24:612-618.

- Lee, J., C. Suh, Y.H. Park, Y.H. Ko, S.M. Bang, J.H. Lee, D.H. Lee, J. Huh, S.Y. Oh, H.C. Kwon, H.J. Kim, S.I. Lee, J.H. Kim, J. Park, S.J. Oh, K. Kim, C. Jung, K. Park, and W.S. Kim. 2006. Extranodal natural killer T-cell lymphoma, nasal-type: a prognostic model from a retrospective multicenter study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 24:612-618.
- Lee, S.H., S. Girard, D. Macina, M. Busa, A. Zafer, A. Belouchi, P. Gros, and S.M. Vidal. 2001. Susceptibility to mouse cytomegalovirus is associated with deletion of an activating natural killer cell receptor of the C-type lectin superfamily. *Nature genetics*. 28:42-45.
- Lee, S.H., S. Girard, D. Macina, M. Busa, A. Zafer, A. Belouchi, P. Gros, and S.M. Vidal. 2001. Susceptibility to mouse cytomegalovirus is associated with deletion of an activating natural killer cell receptor of the C-type lectin superfamily. *Nature genetics*. 28:42-45.
- Lee, S.H., S. Girard, D. Macina, M. Busa, A. Zafer, A. Belouchi, P. Gros, and S.M. Vidal. 2001. Susceptibility to mouse cytomegalovirus is associated with deletion of an activating natural killer cell receptor of the C-type lectin superfamily. *Nature genetics*. 28:42-45.
- Li, J., H. Jiang, and W.H. Wong. 2010. Modeling non-uniformity in short-read rates in RNA-Seq data. *Genome biology*. 11:R50.
- Li, Q., M.K. Spriggs, S. Kovats, S.M. Turk, M.R. Comeau, B. Nepom, and L.M. Hutt-Fletcher. 1997. Epstein-Barr virus uses HLA class II as a cofactor for infection of B lymphocytes. *Journal of virology*. 71:4657-4662.
- Li, Q., M.K. Spriggs, S. Kovats, S.M. Turk, M.R. Comeau, B. Nepom, and L.M. Hutt-Fletcher. 1997. Epstein-Barr virus uses HLA class II as a cofactor for infection of B lymphocytes. *Journal of virology*. 71:4657-4662.
- Liang, R. 2009. Advances in the management and monitoring of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *British journal of haematology*. 147:13-21.
- Liang, R. 2009. Advances in the management and monitoring of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *British journal of haematology*. 147:13-21.
- Liang, R. 2009. Advances in the management and monitoring of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *British journal of haematology*. 147:13-21.
- Lieberman, J. 2003. The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. *Nature reviews. Immunology*. 3:361-370.
- Lieberman, J. 2003. The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. *Nature reviews. Immunology*. 3:361-370.
- Liebowitz, D., D. Wang, and E. Kieff. 1986. Orientation and patching of the latent infection membrane protein encoded by Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 58:233-237.
- Liebowitz, D., D. Wang, and E. Kieff. 1986. Orientation and patching of the latent infection membrane protein encoded by Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 58:233-237.

- Lin, J., E. Johannsen, E. Robertson, and E. Kieff. 2002. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3C putative repression domain mediates coactivation of the LMP1 promoter with EBNA-2. *Journal of virology*. 76:232-242.
- Lin, M.Y., and R.M. Welsh. 1998. Stability and diversity of T cell receptor repertoire usage during lymphocytic choriomeningitis virus infection of mice. *The Journal of experimental medicine*. 188:1993-2005.
- Lindner, S.E., and B. Sugden. 2007. The plasmid replicon of Epstein-Barr virus: mechanistic insights into efficient, licensed, extrachromosomal replication in human cells. *Plasmid*. 58:1-12.
- Lindner, S.E., and B. Sugden. 2007. The plasmid replicon of Epstein-Barr virus: mechanistic insights into efficient, licensed, extrachromosomal replication in human cells. *Plasmid*. 58:1-12.
- Lindstrom, M.S., and K.G. Wiman. 2002. Role of genetic and epigenetic changes in Burkitt lymphoma. *Seminars in cancer biology*. 12:381-387.
- Ling, P.D., R.A. Vilchez, W.A. Keitel, D.G. Poston, R.S. Peng, Z.S. White, F. Visnegarwala, D.E. Lewis, and J.S. Butel. 2003. Epstein-Barr virus DNA loads in adult human immunodeficiency virus type 1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 37:1244-1249.
- Ling, P.D., R.A. Vilchez, W.A. Keitel, D.G. Poston, R.S. Peng, Z.S. White, F. Visnegarwala, D.E. Lewis, and J.S. Butel. 2003. Epstein-Barr virus DNA loads in adult human immunodeficiency virus type 1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 37:1244-1249.
- Ling, P.D., R.S. Peng, A. Nakajima, J.H. Yu, J. Tan, S.M. Moses, W.H. Yang, B. Zhao, E. Kieff, K.D. Bloch, and D.B. Bloch. 2005. Mediation of Epstein-Barr virus EBNA-LP transcriptional coactivation by Sp100. *The EMBO journal*. 24:3565-3575.
- Ling, P.D., R.S. Peng, A. Nakajima, J.H. Yu, J. Tan, S.M. Moses, W.H. Yang, B. Zhao, E. Kieff, K.D. Bloch, and D.B. Bloch. 2005. Mediation of Epstein-Barr virus EBNA-LP transcriptional coactivation by Sp100. *The EMBO journal*. 24:3565-3575.
- Lippman, S.M., T.M. Grogan, C.M. Spier, C.F. Koopmann, Jr., E.P. Gall, D.S. Shimm, and B.G. Durie. 1987. Lethal midline granuloma with a novel T-cell phenotype as found in peripheral T-cell lymphoma. *Cancer*. 59:936-939.
- Lippman, S.M., T.M. Grogan, C.M. Spier, C.F. Koopmann, Jr., E.P. Gall, D.S. Shimm, and B.G. Durie. 1987. Lethal midline granuloma with a novel T-cell phenotype as found in peripheral T-cell lymphoma. *Cancer*. 59:936-939.
- Lippman, S.M., T.M. Grogan, C.M. Spier, C.F. Koopmann, Jr., E.P. Gall, D.S. Shimm, and B.G. Durie. 1987. Lethal midline granuloma with a novel T-cell phenotype as found in peripheral T-cell lymphoma. *Cancer*. 59:936-939.

- Li, J., A.N. Meyer, and D.J. Donoghue. 1997. Nuclear localization of cyclin B1 mediates its biological activity and is regulated by phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94:502-507.
- Lin, X., M. Tang, Y. Tao, L. Li, S. Liu, L. Guo, Z. Li, X. Ma, J. Xu, and Y. Cao. 2012. Epstein-Barr virus-encoded LMP1 triggers regulation of the ERK-mediated Op18/stathmin signaling pathway in association with cell cycle. *Cancer Sci.* 103:993-999.
- Liu, Y.J., D.E. Joshua, G.T. Williams, C.A. Smith, J. Gordon, and I.C. MacLennan. 1989. Mechanism of antigen-driven selection in germinal centres. *Nature.* 342:929-931.
- Long, H.M., T.A. Haigh, N.H. Gudgeon, A.M. Leen, C.W. Tsang, J. Brooks, E. Landais, E. Houssaint, S.P. Lee, A.B. Rickinson, and G.S. Taylor. 2005. CD4+ T-cell responses to Epstein-Barr virus (EBV) latent-cycle antigens and the recognition of EBV-transformed lymphoblastoid cell lines. *Journal of virology.* 79:4896-4907.
- Longnecker, R., S. Chatterjee, R.J. Whitley, and B. Roizman. 1987. Identification of a herpes simplex virus 1 glycoprotein gene within a gene cluster dispensable for growth in cell culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 84:4303-4307.
- Longnecker, R., S. Chatterjee, R.J. Whitley, and B. Roizman. 1987. Identification of a herpes simplex virus 1 glycoprotein gene within a gene cluster dispensable for growth in cell culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 84:4303-4307.
- Lotz, M., C.D. Tsoukas, S. Fong, D.A. Carson, and J.H. Vaughan. 1985. Regulation of Epstein-Barr virus infection by recombinant interferons. Selected sensitivity to interferon-gamma. *European journal of immunology.* 15:520-525.
- Lotz, M., C.D. Tsoukas, S. Fong, D.A. Carson, and J.H. Vaughan. 1985. Regulation of Epstein-Barr virus infection by recombinant interferons. Selected sensitivity to interferon-gamma. *European journal of immunology.* 15:520-525.
- Lotz, M., C.D. Tsoukas, S. Fong, D.A. Carson, and J.H. Vaughan. 1985. Regulation of Epstein-Barr virus infection by recombinant interferons. Selected sensitivity to interferon-gamma. *European journal of immunology.* 15:520-525.
- Lu, C.C., Y.Y. Jeng, C.H. Tsai, M.Y. Liu, S.W. Yeh, T.Y. Hsu, and M.R. Chen. 2006. Genome-wide transcription program and expression of the Rta responsive gene of Epstein-Barr virus. *Virology.* 345:358-372.
- Lu, C.C., Y.Y. Jeng, C.H. Tsai, M.Y. Liu, S.W. Yeh, T.Y. Hsu, and M.R. Chen. 2006. Genome-wide transcription program and expression of the Rta responsive gene of Epstein-Barr virus. *Virology.* 345:358-372.
- Luftig, M., E. Prinarakis, T. Yasui, T. Tschritzis, E. Cahir-McFarland, J. Inoue, H. Nakano, T.W. Mak, W.C. Yeh, X. Li, S. Akira, N. Suzuki, S. Suzuki, G. Mosialos, and E. Kieff. 2003. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 activation of NF-kappaB through IRAK1 and

TRAF6. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100:15595-15600.

Luftig, M., T. Yasui, V. Soni, M.S. Kang, N. Jacobson, E. Cahir-McFarland, B. Seed, and E. Kieff. 2004. Epstein-Barr virus latent infection membrane protein 1 TRAF-binding site induces NIK/IKK alpha-dependent noncanonical NF-kappaB activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101:141-146.

Lung, R.W., J.H. Tong, Y.M. Sung, P.S. Leung, D.C. Ng, S.L. Chau, A.W. Chan, E.K. Ng, K.W. Lo, and K.F. To. 2009. Modulation of LMP2A expression by a newly identified Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART22. *Neoplasia*. 11:1174-1184.

Luzuriaga, K., and J.L. Sullivan. 2010. Infectious mononucleosis. *The New England journal of medicine*. 362:1993-2000.

Macswen, K.F., C.D. Higgins, K.A. McAulay, H. Williams, N. Harrison, A.J. Swerdlow, and D.H. Crawford. 2010. Infectious mononucleosis in university students in the United kingdom: evaluation of the clinical features and consequences of the disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 50:699-706.

Maini, M.K., N. Gudgeon, L.R. Wedderburn, A.B. Rickinson, and P.C. Beverley. 2000. Clonal expansions in acute EBV infection are detectable in the CD8 and not the CD4 subset and persist with a variable CD45 phenotype. *J Immunol*. 165:5729-5737.

Mancao, C., and W. Hammerschmidt. 2007. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A is a B-cell receptor mimic and essential for B-cell survival. *Blood*. 110:3715-3721.

Mancao, C., M. Altmann, B. Jungnickel, and W. Hammerschmidt. 2005. Rescue of "crippled" germinal center B cells from apoptosis by Epstein-Barr virus. *Blood*. 106:4339-4344.

Mann, K. P., D. Staunton, et al. (1985). "Epstein-Barr virus-encoded protein found in plasma membranes of transformed cells." *J Virol* **55**(3): 710-720.

Mann, K.P., D. Staunton, and D.A. Thorley-Lawson. 1985. Epstein-Barr virus-encoded protein found in plasma membranes of transformed cells. *Journal of virology*. 55:710-720.

Mann, K.P., D. Staunton, and D.A. Thorley-Lawson. 1985. Epstein-Barr virus-encoded protein found in plasma membranes of transformed cells. *Journal of virology*. 55:710-720.

Margulies, M., M. Egholm, W.E. Altman, S. Attiya, J.S. Bader, L.A. Bemben, J. Berka, M.S. Braverman, Y.J. Chen, Z. Chen, S.B. Dewell, L. Du, J.M. Fierro, X.V. Gomes, B.C. Godwin, W. He, S. Helgesen, C.H. Ho, G.P. Irzyk, S.C. Jando, M.L. Alenquer, T.P. Jarvie, K.B. Jirage, J.B. Kim, J.R. Knight, J.R. Lanza, J.H. Leamon, S.M. Lefkowitz, M. Lei, J. Li, K.L. Lohman, H. Lu, V.B. Makhijani, K.E. McDade, M.P. McKenna, E.W. Myers, E. Nickerson, J.R. Nobile, R. Plant, B.P. Puc, M.T. Ronan, G.T. Roth, G.J. Sarkis, J.F. Simons, J.W. Simpson, M. Srinivasan, K.R. Tartaro, A. Tomasz, K.A. Vogt, G.A. Volkmer, S.H. Wang, Y. Wang, M.P. Weiner, P. Yu, R.F. Begley, and J.M. Rothberg. 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 437:376-380.

- Marziali, A., and M. Akeson. 2001. New DNA sequencing methods. *Annual review of biomedical engineering*. 3:195-223.
- Maxam, A.M., and W. Gilbert. 1977. A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 74:560-564.
- McAulay, K.A., C.D. Higgins, K.F. Macsween, A. Lake, R.F. Jarrett, F.L. Robertson, H. Williams, and D.H. Crawford. 2007. HLA class I polymorphisms are associated with development of infectious mononucleosis upon primary EBV infection. *The Journal of clinical investigation*. 117:3042-3048.
- McCann, E.M., G.L. Kelly, A.B. Rickinson, and A.I. Bell. 2001. Genetic analysis of the Epstein-Barr virus-coded leader protein EBNA-LP as a co-activator of EBNA2 function. *The Journal of general virology*. 82:3067-3079.
- McClain, K.L., C.T. Leach, H.B. Jenson, V.V. Joshi, B.H. Pollock, R.T. Parmley, F.J. DiCarlo, E.G. Chadwick, and S.B. Murphy. 1995. Association of Epstein-Barr virus with leiomyosarcomas in children with AIDS. *The New England journal of medicine*. 332:12-18.
- Merchant, M., R. Swart, R.B. Katzman, M. Ikeda, A. Ikeda, R. Longnecker, M.L. Dykstra, and S.K. Pierce. 2001. The effects of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A on B cell function. *International reviews of immunology*. 20:805-835.
- Meyohas, M.C., V. Marechal, N. Desire, J. Bouillie, J. Frottier, and J.C. Nicolas. 1996. Study of mother-to-child Epstein-Barr virus transmission by means of nested PCRs. *Journal of virology*. 70:6816-6819.
- Meyohas, M.C., V. Marechal, N. Desire, J. Bouillie, J. Frottier, and J.C. Nicolas. 1996. Study of mother-to-child Epstein-Barr virus transmission by means of nested PCRs. *Journal of virology*. 70:6816-6819.
- Middeldorp, J.M., A.A. Brink, A.J. van den Brule, and C.J. Meijer. 2003. Pathogenic roles for Epstein-Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders. *Critical reviews in oncology/hematology*. 45:1-36.
- Middeldorp, J.M., A.A. Brink, A.J. van den Brule, and C.J. Meijer. 2003. Pathogenic roles for Epstein-Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders. *Critical reviews in oncology/hematology*. 45:1-36.
- Miller, W. E., R. H. Edwards, et al. (1994). "Sequence variation in the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1." *J Gen Virol* **75** ( Pt 10): 2729-2740.
- Minarovits, J., L.F. Hu, S. Imai, Y. Harabuchi, A. Kataura, S. Minarovits-Kormuta, T. Osato, and G. Klein. 1994. Clonality, expression and methylation patterns of the Epstein-Barr virus genomes in lethal midline granulomas classified as peripheral angiocentric T cell lymphomas. *The Journal of general virology*. 75 ( Pt 1):77-84.
- Minarovits, J., L.F. Hu, S. Imai, Y. Harabuchi, A. Kataura, S. Minarovits-Kormuta, T. Osato, and G. Klein. 1994. Clonality, expression and methylation patterns of the Epstein-Barr virus



genomes in lethal midline granulomas classified as peripheral angiocentric T cell lymphomas. *The Journal of general virology*. 75 ( Pt 1):77-84.

Minarovits, J., L.F. Hu, S. Imai, Y. Harabuchi, A. Kataura, S. Minarovits-Kormuta, T. Osato, and G. Klein. 1994. Clonality, expression and methylation patterns of the Epstein-Barr virus genomes in lethal midline granulomas classified as peripheral angiocentric T cell lymphomas. *The Journal of general virology*. 75 ( Pt 1):77-84.

Mingari, M.C., M. Ponte, C. Vitale, F. Schiavetti, S. Bertone, and L. Moretta. 1997. Inhibitory receptors for HLA class I molecules on cytolytic T lymphocytes. Functional relevance and implications for anti-tumor immune responses. *International journal of clinical & laboratory research*. 27:87-94.

Mingari, M.C., M. Ponte, C. Vitale, F. Schiavetti, S. Bertone, and L. Moretta. 1997. Inhibitory receptors for HLA class I molecules on cytolytic T lymphocytes. Functional relevance and implications for anti-tumor immune responses. *International journal of clinical & laboratory research*. 27:87-94.

Minowada, J., T. Onuma, and G.E. Moore. 1972. Rosette-forming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *Journal of the National Cancer Institute*. 49:891-895.

Minowada, J., T. Onuma, and G.E. Moore. 1972. Rosette-forming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *Journal of the National Cancer Institute*. 49:891-895.

Mitchell, T. and B. Sugden (1995). "Stimulation of NF-kappa B-mediated transcription by mutant derivatives of the latent membrane protein of Epstein-Barr virus." *J Virol* 69(5): 2968-2976.

Molesworth, S.J., C.M. Lake, C.M. Borza, S.M. Turk, and L.M. Hutt-Fletcher. 2000. Epstein-Barr virus gH is essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells. *Journal of virology*. 74:6324-6332.

Molesworth, S.J., C.M. Lake, C.M. Borza, S.M. Turk, and L.M. Hutt-Fletcher. 2000. Epstein-Barr virus gH is essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells. *Journal of virology*. 74:6324-6332.

Moore, G.E. 1965. Emotional Perils for All. *Science*. 150:292.

Moore, S.M., J.S. Cannon, Y.C. Tanhehco, F.M. Hamzeh, and R.F. Ambinder. 2001. Induction of Epstein-Barr virus kinases to sensitize tumor cells to nucleoside analogues. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 45:2082-2091.

Moore, S.M., J.S. Cannon, Y.C. Tanhehco, F.M. Hamzeh, and R.F. Ambinder. 2001. Induction of Epstein-Barr virus kinases to sensitize tumor cells to nucleoside analogues. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 45:2082-2091.

Morand, P., M. Buisson, H. Collandre, B. Chanzy, O. Genoulaz, M.J. Bourgeat, N. Pinel, P. Leclercq, D. Leroux, V. Marechal, L. Fritsch, R. Ruigrok, and J.M. Seigneurin. 1999. Human

herpesvirus 8 and Epstein Barr-virus in a cutaneous B-cell lymphoma and a malignant cell line established from the blood of an AIDS patient. *Leukemia & lymphoma*. 35:379-387.

Morand, P., M. Buisson, H. Collandre, B. Chanzy, O. Genoulaz, M.J. Bourgeat, N. Pinel, P. Leclercq, D. Leroux, V. Marechal, L. Fritsch, R. Ruigrok, and J.M. Seigneurin. 1999. Human herpesvirus 8 and Epstein Barr-virus in a cutaneous B-cell lymphoma and a malignant cell line established from the blood of an AIDS patient. *Leukemia & lymphoma*. 35:379-387.

Mortazavi, A., B.A. Williams, K. McCue, L. Schaeffer, and B. Wold. 2008. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature methods*. 5:621-628.

Mosialos, G. 2001. Cytokine signaling and Epstein-Barr virus-mediated cell transformation. *Cytokine & growth factor reviews*. 12:259-270.

Mosialos, G. 2001. Cytokine signaling and Epstein-Barr virus-mediated cell transformation. *Cytokine & growth factor reviews*. 12:259-270.

Mosialos, G., M. Birkenbach, et al. (1995). "The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family." *Cell* **80**(3): 389-399.

Mosialos, G., M. Birkenbach, R. Yalamanchili, T. VanArsdale, C. Ware, and E. Kieff. 1995. The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell*. 80:389-399.

Mosialos, G., M. Birkenbach, R. Yalamanchili, T. VanArsdale, C. Ware, and E. Kieff. 1995. The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell*. 80:389-399.

Moss, D.J., A.B. Rickinson, L.E. Wallace, and M.A. Epstein. 1981. Sequential appearance of Epstein-Barr virus nuclear and lymphocyte-detected membrane antigens in B cell transformation. *Nature*. 291:664-666.

Moss, D.J., A.B. Rickinson, L.E. Wallace, and M.A. Epstein. 1981. Sequential appearance of Epstein-Barr virus nuclear and lymphocyte-detected membrane antigens in B cell transformation. *Nature*. 291:664-666.

Mullen, M.M., K.M. Haan, R. Longnecker, and T.S. Jardetzky. 2002. Structure of the Epstein-Barr virus gp42 protein bound to the MHC class II receptor HLA-DR1. *Molecular cell*. 9:375-385.

Mullen, M.M., K.M. Haan, R. Longnecker, and T.S. Jardetzky. 2002. Structure of the Epstein-Barr virus gp42 protein bound to the MHC class II receptor HLA-DR1. *Molecular cell*. 9:375-385.

Murono, S., T. Yoshizaki, H. Sato, H. Takeshita, M. Furukawa, and J.S. Pagano. 2000. Aspirin inhibits tumor cell invasiveness induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 through suppression of matrix metalloproteinase-9 expression. *Cancer research*. 60:2555-2561.

- Nakayama, T., K. Hieshima, D. Nagakubo, E. Sato, M. Nakayama, K. Kawa, and O. Yoshie. 2004. Selective induction of Th2-attracting chemokines CCL17 and CCL22 in human B cells by latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 78:1665-1674.
- Nakayama, T., K. Hieshima, D. Nagakubo, E. Sato, M. Nakayama, K. Kawa, and O. Yoshie. 2004. Selective induction of Th2-attracting chemokines CCL17 and CCL22 in human B cells by latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 78:1665-1674.
- Niedobitek, G., A. Agathangelou, H. Herbst, L. Whitehead, D.H. Wright, and L.S. Young. 1997. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells. *The Journal of pathology*. 182:151-159.
- Niedobitek, G., A. Agathangelou, H. Herbst, L. Whitehead, D.H. Wright, and L.S. Young. 1997. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells. *The Journal of pathology*. 182:151-159.
- Niedobitek, G., E.M. Deacon, L.S. Young, H. Herbst, S.J. Hamilton-Dutoit, and G. Pallesen. 1991. Epstein-Barr virus gene expression in Hodgkin's disease. *Blood*. 78:1628-1630.
- Niedobitek, G., E.M. Deacon, L.S. Young, H. Herbst, S.J. Hamilton-Dutoit, and G. Pallesen. 1991. Epstein-Barr virus gene expression in Hodgkin's disease. *Blood*. 78:1628-1630.
- Nitsche, F., A. Bell, and A. Rickinson. 1997. Epstein-Barr virus leader protein enhances EBNA-2-mediated transactivation of latent membrane protein 1 expression: a role for the W1W2 repeat domain. *Journal of virology*. 71:6619-6628.
- Nonkwelo, C., J. Skinner, A. Bell, A. Rickinson, and J. Sample. 1996. Transcription start sites downstream of the Epstein-Barr virus (EBV) Fp promoter in early-passage Burkitt lymphoma cells define a fourth promoter for expression of the EBV EBNA-1 protein. *Journal of virology*. 70:623-627.
- Nonkwelo, C., J. Skinner, A. Bell, A. Rickinson, and J. Sample. 1996. Transcription start sites downstream of the Epstein-Barr virus (EBV) Fp promoter in early-passage Burkitt lymphoma cells define a fourth promoter for expression of the EBV EBNA-1 protein. *Journal of virology*. 70:623-627.
- Nonoyama, M., and J.S. Pagano. 1973. Homology between Epstein-Barr virus DNA and viral DNA from Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma determined by DNA-DNA reassociation kinetics. *Nature*. 242:44-47.
- Nonoyama, M., and J.S. Pagano. 1973. Homology between Epstein-Barr virus DNA and viral DNA from Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma determined by DNA-DNA reassociation kinetics. *Nature*. 242:44-47.
- Nyren, P. 2007. The history of pyrosequencing. *Methods Mol Biol*. 373:1-14.
- Oda, T., S. Imai, S. Chiba, and K. Takada. 2000. Epstein-Barr virus lacking glycoprotein gp85 cannot infect B cells and epithelial cells. *Virology*. 276:52-58.

- Oda, T., S. Imai, S. Chiba, and K. Takada. 2000. Epstein-Barr virus lacking glycoprotein gp85 cannot infect B cells and epithelial cells. *Virology*. 276:52-58.
- Oien, N.L., R.J. Brideau, T.A. Hopkins, J.L. Wieber, M.L. Knechtel, J.A. Shelly, R.A. Anstadt, P.A. Wells, R.A. Poorman, A. Huang, V.A. Vaillancourt, T.L. Clayton, J.A. Tucker, and M.W. Wathen. 2002. Broad-spectrum antiherpes activities of 4-hydroxyquinoline carboxamides, a novel class of herpesvirus polymerase inhibitors. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 46:724-730.
- Oien, N.L., R.J. Brideau, T.A. Hopkins, J.L. Wieber, M.L. Knechtel, J.A. Shelly, R.A. Anstadt, P.A. Wells, R.A. Poorman, A. Huang, V.A. Vaillancourt, T.L. Clayton, J.A. Tucker, and M.W. Wathen. 2002. Broad-spectrum antiherpes activities of 4-hydroxyquinoline carboxamides, a novel class of herpesvirus polymerase inhibitors. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 46:724-730.
- O'Reilly, R.J., T.N. Small, E. Papadopoulos, K. Lucas, J. Lacerda, and L. Koulova. 1997. Biology and adoptive cell therapy of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of marrow allografts. *Immunological reviews*. 157:195-216.
- O'Reilly, R.J., T.N. Small, E. Papadopoulos, K. Lucas, J. Lacerda, and L. Koulova. 1997. Biology and adoptive cell therapy of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of marrow allografts. *Immunological reviews*. 157:195-216.
- O'Reilly, R.J., T.N. Small, E. Papadopoulos, K. Lucas, J. Lacerda, and L. Koulova. 1997. Biology and adoptive cell therapy of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of marrow allografts. *Immunological reviews*. 157:195-216.
- Oudejans, J.J., D.F. Dukers, N.M. Jiwa, A.J. van den Brule, F.A. Grasser, P.C. de Bruin, A. Horstman, W. Vos, J. van Gorp, J.M. Middeldorp, and C.J. Meijer. 1996. Expression of Epstein-Barr virus encoded nuclear antigen 1 in benign and malignant tissues harbouring EBV. *Journal of clinical pathology*. 49:897-902.
- Oudejans, J.J., D.F. Dukers, N.M. Jiwa, A.J. van den Brule, F.A. Grasser, P.C. de Bruin, A. Horstman, W. Vos, J. van Gorp, J.M. Middeldorp, and C.J. Meijer. 1996. Expression of Epstein-Barr virus encoded nuclear antigen 1 in benign and malignant tissues harbouring EBV. *Journal of clinical pathology*. 49:897-902.
- Oudejans, J.J., D.F. Dukers, N.M. Jiwa, A.J. van den Brule, F.A. Grasser, P.C. de Bruin, A. Horstman, W. Vos, J. van Gorp, J.M. Middeldorp, and C.J. Meijer. 1996. Expression of Epstein-Barr virus encoded nuclear antigen 1 in benign and malignant tissues harbouring EBV. *Journal of clinical pathology*. 49:897-902.
- Pallesen, G., S.J. Hamilton-Dutoit, M. Rowe, I. Lisse, E. Ralfkiaer, K. Sandvej, and L.S. Young. 1991. Expression of Epstein-Barr virus replicative proteins in AIDS-related non-Hodgkin's lymphoma cells. *The Journal of pathology*. 165:289-299.
- Pallesen, G., S.J. Hamilton-Dutoit, M. Rowe, I. Lisse, E. Ralfkiaer, K. Sandvej, and L.S. Young. 1991. Expression of Epstein-Barr virus replicative proteins in AIDS-related non-Hodgkin's lymphoma cells. *The Journal of pathology*. 165:289-299.

- Pandya, J., and D.M. Walling. 2004. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) half-life in epithelial cells is down-regulated by lytic LMP-1. *Journal of virology*. 78:8404-8410.
- Pandya, J., and D.M. Walling. 2004. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) half-life in epithelial cells is down-regulated by lytic LMP-1. *Journal of virology*. 78:8404-8410.
- Pandya, J., and D.M. Walling. 2006. Oncogenic activity of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) is down-regulated by lytic LMP-1. *Journal of virology*. 80:8038-8046.
- Pandya, J., and D.M. Walling. 2006. Oncogenic activity of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) is down-regulated by lytic LMP-1. *Journal of virology*. 80:8038-8046.
- Pappworth, I.Y., E.C. Wang, and M. Rowe. 2007. The switch from latent to productive infection in Epstein-Barr virus-infected B cells is associated with sensitization to NK cell killing. *Journal of virology*. 81:474-482.
- Pappworth, I.Y., E.C. Wang, and M. Rowe. 2007. The switch from latent to productive infection in Epstein-Barr virus-infected B cells is associated with sensitization to NK cell killing. *Journal of virology*. 81:474-482.
- Pappworth, I.Y., E.C. Wang, and M. Rowe. 2007. The switch from latent to productive infection in Epstein-Barr virus-infected B cells is associated with sensitization to NK cell killing. *Journal of virology*. 81:474-482.
- Park, J.H., S.Y. Na, Y.J. Lee, E.W. Cho, and K.L. Kim. 2000. Downregulation of MHC class II expression by oxidant-induced apoptosis in EBV-transformed B-cells. *Molecules and cells*. 10:654-661.
- Pegman, P.M., S.M. Smith, B.N. D'Souza, S.T. Loughran, S. Maier, B. Kempkes, P.A. Cahill, M.J. Simmons, C. Gelinas, and D. Walls. 2006. Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 trans-activates the cellular antiapoptotic bfl-1 gene by a CBF1/RBPJ kappa-dependent pathway. *Journal of virology*. 80:8133-8144.
- Peng, M. and E. Lundgren (1993). "Transient expression of the Epstein-Barr virus LMP1 gene in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells, T cells, and hematopoietic cell lines: cell-type-independent-induction of CD23, CD21, and ICAM-1." *Leukemia* 7(1): 104-112.
- Peng, R., A.V. Gordadze, E.M. Fuentes Panana, F. Wang, J. Zong, G.S. Hayward, J. Tan, and P.D. Ling. 2000. Sequence and functional analysis of EBNA-LP and EBNA2 proteins from nonhuman primate lymphocryptoviruses. *Journal of virology*. 74:379-389.
- Perkins, N. D. and T. D. Gilmore (2006). "Good cop, bad cop: the different faces of NF-kappaB." *Cell Death Differ* 13(5): 759-772.
- Pfeffer, S., M. Zavolan, F.A. Grasser, M. Chien, J.J. Russo, J. Ju, B. John, A.J. Enright, D. Marks, C. Sander, and T. Tuschl. 2004. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science*. 304:734-736.

- Pfeffer, S., M. Zavolan, F.A. Grasser, M. Chien, J.J. Russo, J. Ju, B. John, A.J. Enright, D. Marks, C. Sander, and T. Tuschl. 2004. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science*. 304:734-736.
- Plougastel, B.F., and W.M. Yokoyama. 2006. Extending missing-self? Functional interactions between lectin-like NKrp1 receptors on NK cells with lectin-like ligands. *Current topics in microbiology and immunology*. 298:77-89.
- Plougastel, B.F., and W.M. Yokoyama. 2006. Extending missing-self? Functional interactions between lectin-like NKrp1 receptors on NK cells with lectin-like ligands. *Current topics in microbiology and immunology*. 298:77-89.
- Pokrovskaja, K., K. Mattsson, E. Kashuba, G. Klein, and L. Szekely. 2001. Proteasome inhibitor induces nucleolar translocation of Epstein-Barr virus-encoded EBNA-5. *The Journal of general virology*. 82:345-358.
- Pokrovskaja, K., K. Mattsson, E. Kashuba, G. Klein, and L. Szekely. 2001. Proteasome inhibitor induces nucleolar translocation of Epstein-Barr virus-encoded EBNA-5. *The Journal of general virology*. 82:345-358.
- Polack, A., K. Hortnagel, A. Pajic, B. Christoph, B. Baier, M. Falk, J. Mautner, C. Geltinger, G.W. Bornkamm, and B. Kempkes. 1996. c-Myc activation renders proliferation of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed cells independent of EBV nuclear antigen 2 and latent membrane protein 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93:10411-10416.
- Pope, J.H., M.K. Horne, and W. Scott. 1968. Transformation of foetal human leukocytes in vitro by filtrates of a human leukaemic cell line containing herpes-like virus. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 3:857-866.
- Pope, J.H., M.K. Horne, and W. Scott. 1968. Transformation of foetal human leukocytes in vitro by filtrates of a human leukaemic cell line containing herpes-like virus. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 3:857-866.
- Portis, T., and R. Longnecker. 2004. Epstein-Barr virus (EBV) LMP2A mediates B-lymphocyte survival through constitutive activation of the Ras/PI3K/Akt pathway. *Oncogene*. 23:8619-8628.
- Puls, A., A.G. Eliopoulos, C.D. Nobes, T. Bridges, L.S. Young, and A. Hall. 1999. Activation of the small GTPase Cdc42 by the inflammatory cytokines TNF(alpha) and IL-1, and by the Epstein-Barr virus transforming protein LMP1. *Journal of cell science*. 112 ( Pt 17):2983-2992.
- Purifoy, D.J., L.M. Beauchamp, P. de Miranda, P. Ertl, S. Lacey, G. Roberts, S.G. Rahim, G. Darby, T.A. Krenitsky, and K.L. Powell. 1993. Review of research leading to new anti-herpesvirus agents in clinical development: valaciclovir hydrochloride (256U, the L-valyl ester of acyclovir) and 882C, a specific agent for varicella zoster virus. *Journal of medical virology*. Suppl 1:139-145.

- Purifoy, D.J., L.M. Beauchamp, P. de Miranda, P. Ertl, S. Lacey, G. Roberts, S.G. Rahim, G. Darby, T.A. Krenitsky, and K.L. Powell. 1993. Review of research leading to new anti-herpesvirus agents in clinical development: valaciclovir hydrochloride (256U, the L-valyl ester of acyclovir) and 882C, a specific agent for varicella zoster virus. *Journal of medical virology*. Suppl 1:139-145.
- Quintanilla-Martinez, L., J.L. Franklin, I. Guerrero, L. Krenacs, K.N. Naresh, C. Rama-Rao, K. Bhatia, M. Raffeld, and I.T. Magrath. 1999. Histological and immunophenotypic profile of nasal NK/T cell lymphomas from Peru: high prevalence of p53 overexpression. *Human pathology*. 30:849-855.
- Quintanilla-Martinez, L., J.L. Franklin, I. Guerrero, L. Krenacs, K.N. Naresh, C. Rama-Rao, K. Bhatia, M. Raffeld, and I.T. Magrath. 1999. Histological and immunophenotypic profile of nasal NK/T cell lymphomas from Peru: high prevalence of p53 overexpression. *Human pathology*. 30:849-855.
- Quintanilla-Martinez, L., J.L. Franklin, I. Guerrero, L. Krenacs, K.N. Naresh, C. Rama-Rao, K. Bhatia, M. Raffeld, and I.T. Magrath. 1999. Histological and immunophenotypic profile of nasal NK/T cell lymphomas from Peru: high prevalence of p53 overexpression. *Human pathology*. 30:849-855.
- Raab-Traub, N. 2002. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of NPC. *Seminars in cancer biology*. 12:431-441.
- Raab-Traub, N., T. Dambaugh, and E. Kieff. 1980. DNA of Epstein-Barr virus VIII: B95-8, the previous prototype, is an unusual deletion derivative. *Cell*. 22:257-267.
- Raab-Traub, N., T. Dambaugh, and E. Kieff. 1980. DNA of Epstein-Barr virus VIII: B95-8, the previous prototype, is an unusual deletion derivative. *Cell*. 22:257-267.
- Rabson, M., L. Gradoville, L. Heston, and G. Miller. 1982. Non-immortalizing P3J-HR-1 Epstein-Barr virus: a deletion mutant of its transforming parent, Jijoye. *Journal of virology*. 44:834-844.
- Radkov, S.A., R. Touitou, A. Brehm, M. Rowe, M. West, T. Kouzarides, and M.J. Allday. 1999. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3C interacts with histone deacetylase to repress transcription. *Journal of virology*. 73:5688-5697.
- Radkov, S.A., R. Touitou, A. Brehm, M. Rowe, M. West, T. Kouzarides, and M.J. Allday. 1999. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3C interacts with histone deacetylase to repress transcription. *Journal of virology*. 73:5688-5697.
- Ralainirina, N., A. Poli, T. Michel, L. Poos, E. Andres, F. Hentges, and J. Zimmer. 2007. Control of NK cell functions by CD4+CD25+ regulatory T cells. *Journal of leukocyte biology*. 81:144-153.
- Ralainirina, N., A. Poli, T. Michel, L. Poos, E. Andres, F. Hentges, and J. Zimmer. 2007. Control of NK cell functions by CD4+CD25+ regulatory T cells. *Journal of leukocyte biology*. 81:144-153.

- Ricci, E.P., F. Mure, H. Gruffat, D. Decimo, C. Medina-Palazon, T. Ohlmann, and E. Manet. 2009. Translation of intronless RNAs is strongly stimulated by the Epstein-Barr virus mRNA export factor EB2. *Nucleic acids research*. 37:4932-4943.
- Ricci, E.P., F. Mure, H. Gruffat, D. Decimo, C. Medina-Palazon, T. Ohlmann, and E. Manet. 2009. Translation of intronless RNAs is strongly stimulated by the Epstein-Barr virus mRNA export factor EB2. *Nucleic acids research*. 37:4932-4943.
- Rickinson, A.B., S.P. Lee, and N.M. Steven. 1996. Cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein-Barr virus. *Current opinion in immunology*. 8:492-497.
- Rickinson, A.B., S.P. Lee, and N.M. Steven. 1996. Cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein-Barr virus. *Current opinion in immunology*. 8:492-497.
- Rickinson AB, Kief E, Epstein-Barr virus. *Fields Virology*. Vol. II (ed 5th), 2007.
- Robertson, M.J. 2002. Role of chemokines in the biology of natural killer cells. *Journal of leukocyte biology*. 71:173-183.
- Robertson, M.J. 2002. Role of chemokines in the biology of natural killer cells. *Journal of leukocyte biology*. 71:173-183.
- Robertson, M.J., and J. Ritz. 1996. Interleukin 12: Basic Biology and Potential Applications in Cancer Treatment. *The oncologist*. 1:88-97.
- Robertson, M.J., and J. Ritz. 1996. Interleukin 12: Basic Biology and Potential Applications in Cancer Treatment. *The oncologist*. 1:88-97.
- Rogatsch, H., H. Bonatti, A. Menet, C. Larcher, H. Feichtinger, and S. Dirnhofer. 2000. Epstein-Barr virus-associated multicentric leiomyosarcoma in an adult patient after heart transplantation: case report and review of the literature. *The American journal of surgical pathology*. 24:614-621.
- Rogers, R.P., M. Woisetschlaeger, and S.H. Speck. 1990. Alternative splicing dictates translational start in Epstein-Barr virus transcripts. *The EMBO journal*. 9:2273-2277.
- Rogers, R.P., M. Woisetschlaeger, and S.H. Speck. 1990. Alternative splicing dictates translational start in Epstein-Barr virus transcripts. *The EMBO journal*. 9:2273-2277.
- Rosa, M.D., E. Gottlieb, M.R. Lerner, and J.A. Steitz. 1981. Striking similarities are exhibited by two small Epstein-Barr virus-encoded ribonucleic acids and the adenovirus-associated ribonucleic acids VAI and VAII. *Molecular and cellular biology*. 1:785-796.
- Rosa, M.D., E. Gottlieb, M.R. Lerner, and J.A. Steitz. 1981. Striking similarities are exhibited by two small Epstein-Barr virus-encoded ribonucleic acids and the adenovirus-associated ribonucleic acids VAI and VAII. *Molecular and cellular biology*. 1:785-796.
- Rothberg, L. 2011. Conjugated polymers: watching polymers dance. *Nature chemistry*. 3:425-426.



- Rowe, M., A.L. Lear, D. Croom-Carter, A.H. Davies, and A.B. Rickinson. 1992. Three pathways of Epstein-Barr virus gene activation from EBNA1-positive latency in B lymphocytes. *Journal of virology*. 66:122-131.
- Rowe, M., A.L. Lear, D. Croom-Carter, A.H. Davies, and A.B. Rickinson. 1992. Three pathways of Epstein-Barr virus gene activation from EBNA1-positive latency in B lymphocytes. *Journal of virology*. 66:122-131.
- Rowe, M., D.T. Rowe, C.D. Gregory, L.S. Young, P.J. Farrell, H. Rupani, and A.B. Rickinson. 1987. Differences in B cell growth phenotype reflect novel patterns of Epstein-Barr virus latent gene expression in Burkitt's lymphoma cells. *The EMBO journal*. 6:2743-2751.
- Rowe, M., D.T. Rowe, C.D. Gregory, L.S. Young, P.J. Farrell, H. Rupani, and A.B. Rickinson. 1987. Differences in B cell growth phenotype reflect novel patterns of Epstein-Barr virus latent gene expression in Burkitt's lymphoma cells. *The EMBO journal*. 6:2743-2751.
- Rowe, M., G.L. Kelly, A.I. Bell, and A.B. Rickinson. 2009. Burkitt's lymphoma: the Rosetta Stone deciphering Epstein-Barr virus biology. *Seminars in cancer biology*. 19:377-388.
- Rowe, M., M. Peng-Pilon, et al. (1994). "Upregulation of bcl-2 by the Epstein-Barr virus latent membrane protein LMP1: a B-cell-specific response that is delayed relative to NF-kappa B activation and to induction of cell surface markers." *J Virol* **68**(9): 5602-5612.
- Sadler, R.H., and N. Raab-Traub. 1995. The Epstein-Barr virus 3.5-kilobase latent membrane protein 1 mRNA initiates from a TATA-Less promoter within the first terminal repeat. *Journal of virology*. 69:4577-4581.
- Sadler, R.H., and N. Raab-Traub. 1995. The Epstein-Barr virus 3.5-kilobase latent membrane protein 1 mRNA initiates from a TATA-Less promoter within the first terminal repeat. *Journal of virology*. 69:4577-4581.
- Sakai, T., Y. Taniguchi, K. Tamura, S. Minoguchi, T. Fukuhara, L.J. Strobl, U. Zimmer-Strobl, G.W. Bornkamm, and T. Honjo. 1998. Functional replacement of the intracellular region of the Notch1 receptor by Epstein-Barr virus nuclear antigen 2. *Journal of virology*. 72:6034-6039.
- Salto-Tellez, M., M.E. Nga, H.C. Han, A.S. Wong, C.K. Lee, D. Anuar, S.S. Ng, M. Ho, A. Wee, Y.H. Chan, and R. Soong. 2007. Tissue microarrays characterise the clinical significance of a VEGF-A protein expression signature in gastrointestinal stromal tumours. *British journal of cancer*. 96:776-782.
- Salto-Tellez, M., M.E. Nga, H.C. Han, A.S. Wong, C.K. Lee, D. Anuar, S.S. Ng, M. Ho, A. Wee, Y.H. Chan, and R. Soong. 2007. Tissue microarrays characterise the clinical significance of a VEGF-A protein expression signature in gastrointestinal stromal tumours. *British journal of cancer*. 96:776-782.
- Samanta, M., D. Iwakiri, and K. Takada. 2008. Epstein-Barr virus-encoded small RNA induces IL-10 through RIG-I-mediated IRF-3 signaling. *Oncogene*. 27:4150-4160.

- Samanta, M., D. Iwakiri, and K. Takada. 2008. Epstein-Barr virus-encoded small RNA induces IL-10 through RIG-I-mediated IRF-3 signaling. *Oncogene*. 27:4150-4160.
- Sample, J., D. Liebowitz, and E. Kieff. 1989. Two related Epstein-Barr virus membrane proteins are encoded by separate genes. *Journal of virology*. 63:933-937.
- Sample, J., D. Liebowitz, and E. Kieff. 1989. Two related Epstein-Barr virus membrane proteins are encoded by separate genes. *Journal of virology*. 63:933-937.
- Sample, J., E. F. Kieff, et al. (1994). "Epstein-Barr virus types 1 and 2 have nearly identical LMP-1 transforming genes." *J Gen Virol* **75 ( Pt 10)**: 2741-2746.
- Sample, J., M. Hummel, D. Braun, M. Birkenbach, and E. Kieff. 1986. Nucleotide sequences of mRNAs encoding Epstein-Barr virus nuclear proteins: a probable transcriptional initiation site. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 83:5096-5100.
- Sanchez, J.F., J. Pascua, F. Sanchez, L. Crespo, A. Briones, and C. Martin. 1994. [Treatment of chronic hepatitis C virus infection with interferon in patients infected with the human immunodeficiency virus]. *An Med Interna*. 11:575-579.
- Sanchez, J.F., J. Pascua, F. Sanchez, L. Crespo, A. Briones, and C. Martin. 1994. [Treatment of chronic hepatitis C virus infection with interferon in patients infected with the human immunodeficiency virus]. *An Med Interna*. 11:575-579.
- Sandberg, M., W. Hammerschmidt, et al. (1997). "Characterization of LMP-1's association with TRAF1, TRAF2, and TRAF3." *J Virol* **71(6)**: 4649-4656.
- Sandvej, K., S. C. Peh, et al. (1994). "Identification of potential hot spots in the carboxy-terminal part of the Epstein-Barr virus (EBV) BNLF-1 gene in both malignant and benign EBV-associated diseases: high frequency of a 30-bp deletion in Malaysian and Danish peripheral T-cell lymphomas." *Blood* **84(12)**: 4053-4060.
- Sanger, F., S. Nicklen, and A.R. Coulson. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 74:5463-5467.
- Sawyer, R.N., A.S. Evans, J.C. Niederman, and R.W. McCollum. 1971. Prospective studies of a group of Yale University freshmen. I. Occurrence of infectious mononucleosis. *The Journal of infectious diseases*. 123:263-270.
- Sawyer, R.N., A.S. Evans, J.C. Niederman, and R.W. McCollum. 1971. Prospective studies of a group of Yale University freshmen. I. Occurrence of infectious mononucleosis. *The Journal of infectious diseases*. 123:263-270.
- Schaefer, B.C., J.L. Strominger, and S.H. Speck. 1995. Redefining the Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen EBNA-1 gene promoter and transcription initiation site in group I Burkitt lymphoma cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92:10565-10569.

- Schaefer, B.C., J.L. Strominger, and S.H. Speck. 1995. Redefining the Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen EBNA-1 gene promoter and transcription initiation site in group I Burkitt lymphoma cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92:10565-10569.
- Scheenstra, R., E.A. Verschuuren, A. de Haan, M.J. Slooff, T.H. The, C.M. Bijleveld, and H.J. Verkade. 2004. The value of prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in blood samples of pediatric liver transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 6:15-22.
- Scheenstra, R., E.A. Verschuuren, A. de Haan, M.J. Slooff, T.H. The, C.M. Bijleveld, and H.J. Verkade. 2004. The value of prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in blood samples of pediatric liver transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 6:15-22.
- Shannon-Lowe, C., G. Baldwin, R. Feederle, A. Bell, A. Rickinson, and H.J. Delecluse. 2005. Epstein-Barr virus-induced B-cell transformation: quantitating events from virus binding to cell outgrowth. *The Journal of general virology*. 86:3009-3019.
- Shannon-Lowe, C., G. Baldwin, R. Feederle, A. Bell, A. Rickinson, and H.J. Delecluse. 2005. Epstein-Barr virus-induced B-cell transformation: quantitating events from virus binding to cell outgrowth. *The Journal of general virology*. 86:3009-3019.
- Shendure, J., and H. Ji. 2008. Next-generation DNA sequencing. *Nature biotechnology*. 26:1135-1145.
- Shendure, J., G.J. Porreca, N.B. Reppas, X. Lin, J.P. McCutcheon, A.M. Rosenbaum, M.D. Wang, K. Zhang, R.D. Mitra, and G.M. Church. 2005. Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science*. 309:1728-1732.
- Shibata, D., L.M. Weiss, A.M. Hernandez, B.N. Nathwani, L. Bernstein, and A.M. Levine. 1993. Epstein-Barr virus-associated non-Hodgkin's lymphoma in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Blood*. 81:2102-2109.
- Shibata, D., L.M. Weiss, A.M. Hernandez, B.N. Nathwani, L. Bernstein, and A.M. Levine. 1993. Epstein-Barr virus-associated non-Hodgkin's lymphoma in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Blood*. 81:2102-2109.
- Shire, K., P. Kapoor, K. Jiang, M.N. Hing, N. Sivachandran, T. Nguyen, and L. Frappier. 2006. Regulation of the EBNA1 Epstein-Barr virus protein by serine phosphorylation and arginine methylation. *Journal of virology*. 80:5261-5272.
- Sinclair, A.J. 2003. bZIP proteins of human gammaherpesviruses. *The Journal of general virology*. 84:1941-1949.
- Sinclair, A.J. 2003. bZIP proteins of human gammaherpesviruses. *The Journal of general virology*. 84:1941-1949.

- Sixbey, J.W., J.G. Nedrud, N. Raab-Traub, R.A. Hanes, and J.S. Pagano. 1984. Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. *The New England journal of medicine*. 310:1225-1230.
- Sixbey, J.W., J.G. Nedrud, N. Raab-Traub, R.A. Hanes, and J.S. Pagano. 1984. Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. *The New England journal of medicine*. 310:1225-1230.
- Sixbey, J.W., P. Shirley, P.J. Chesney, D.M. Buntin, and L. Resnick. 1989. Detection of a second widespread strain of Epstein-Barr virus. *Lancet*. 2:761-765.
- Sixbey, J.W., P. Shirley, P.J. Chesney, D.M. Buntin, and L. Resnick. 1989. Detection of a second widespread strain of Epstein-Barr virus. *Lancet*. 2:761-765.
- Sjoblom, A., W. Yang, L. Palmqvist, A. Jansson, and L. Rymo. 1998. An ATF/CRE element mediates both EBNA2-dependent and EBNA2-independent activation of the Epstein-Barr virus LMP1 gene promoter. *Journal of virology*. 72:1365-1376.
- Sjoblom, A., W. Yang, L. Palmqvist, A. Jansson, and L. Rymo. 1998. An ATF/CRE element mediates both EBNA2-dependent and EBNA2-independent activation of the Epstein-Barr virus LMP1 gene promoter. *Journal of virology*. 72:1365-1376.
- Smyth, M.J., E. Cretney, J.M. Kelly, J.A. Westwood, S.E. Street, H. Yagita, K. Takeda, S.L. van Dommelen, M.A. Degli-Esposti, and Y. Hayakawa. 2005. Activation of NK cell cytotoxicity. *Molecular immunology*. 42:501-510.
- Smyth, M.J., E. Cretney, J.M. Kelly, J.A. Westwood, S.E. Street, H. Yagita, K. Takeda, S.L. van Dommelen, M.A. Degli-Esposti, and Y. Hayakawa. 2005. Activation of NK cell cytotoxicity. *Molecular immunology*. 42:501-510.
- Snoeck, R., T. Sakuma, E. De Clercq, I. Rosenberg, and A. Holy. 1988. (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine, a potent and selective inhibitor of human cytomegalovirus replication. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 32:1839-1844.
- Snoeck, R., T. Sakuma, E. De Clercq, I. Rosenberg, and A. Holy. 1988. (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine, a potent and selective inhibitor of human cytomegalovirus replication. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 32:1839-1844.
- Song, Y.J., K.Y. Jen, V. Soni, E. Kieff, and E. Cahir-McFarland. 2006. IL-1 receptor-associated kinase 1 is critical for latent membrane protein 1-induced p65/RelA serine 536 phosphorylation and NF-kappaB activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103:2689-2694.
- Song, Y.J., K.Y. Jen, V. Soni, E. Kieff, and E. Cahir-McFarland. 2006. IL-1 receptor-associated kinase 1 is critical for latent membrane protein 1-induced p65/RelA serine 536 phosphorylation and NF-kappaB activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103:2689-2694.

- Speck, S.H., and J.L. Strominger. 1985. Analysis of the transcript encoding the latent Epstein-Barr virus nuclear antigen I: a potentially polycistronic message generated by long-range splicing of several exons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82:8305-8309.
- Speck, S.H., and J.L. Strominger. 1985. Analysis of the transcript encoding the latent Epstein-Barr virus nuclear antigen I: a potentially polycistronic message generated by long-range splicing of several exons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 82:8305-8309.
- Steven, N.M., A.M. Leese, N.E. Annels, S.P. Lee, and A.B. Rickinson. 1996. Epitope focusing in the primary cytotoxic T cell response to Epstein-Barr virus and its relationship to T cell memory. *The Journal of experimental medicine*. 184:1801-1813.
- Stewart, J.P., and C.M. Rooney. 1992. The interleukin-10 homolog encoded by Epstein-Barr virus enhances the reactivation of virus-specific cytotoxic T cell and HLA-unrestricted killer cell responses. *Virology*. 191:773-782.
- Stewart, J.P., and C.M. Rooney. 1992. The interleukin-10 homolog encoded by Epstein-Barr virus enhances the reactivation of virus-specific cytotoxic T cell and HLA-unrestricted killer cell responses. *Virology*. 191:773-782.
- Storrie, M.C., and R.L. Sphar. 1976. Seroepidemiological studies of polaris Submarine crews. II. Infectious mononucleosis. *Military medicine*. 141:30-32.
- Storrie, M.C., and R.L. Sphar. 1976. Seroepidemiological studies of polaris Submarine crews. II. Infectious mononucleosis. *Military medicine*. 141:30-32.
- Strowig, T., F. Brilot, F. Arrey, G. Bougras, D. Thomas, W.A. Muller, and C. Munz. 2008. Tonsillar NK cells restrict B cell transformation by the Epstein-Barr virus via IFN-gamma. *PLoS pathogens*. 4:e27.
- Strowig, T., F. Brilot, F. Arrey, G. Bougras, D. Thomas, W.A. Muller, and C. Munz. 2008. Tonsillar NK cells restrict B cell transformation by the Epstein-Barr virus via IFN-gamma. *PLoS pathogens*. 4:e27.
- Strowig, T., F. Brilot, F. Arrey, G. Bougras, D. Thomas, W.A. Muller, and C. Munz. 2008. Tonsillar NK cells restrict B cell transformation by the Epstein-Barr virus via IFN-gamma. *PLoS pathogens*. 4:e27.
- Stuart, A.D., J.P. Stewart, J.R. Arrand, and M. Mackett. 1995. The Epstein-Barr virus encoded cytokine viral interleukin-10 enhances transformation of human B lymphocytes. *Oncogene*. 11:1711-1719.
- Stuart, A.D., J.P. Stewart, J.R. Arrand, and M. Mackett. 1995. The Epstein-Barr virus encoded cytokine viral interleukin-10 enhances transformation of human B lymphocytes. *Oncogene*. 11:1711-1719.

- Styczynski, J., H. Einsele, L. Gil, and P. Ljungman. 2009. Outcome of treatment of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in hematopoietic stem cell recipients: a comprehensive review of reported cases. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 11:383-392.
- Su, I.J., K.H. Lin, C.J. Chen, H.F. Tien, H.C. Hsieh, D.T. Lin, and J.Y. Chen. 1990. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell lymphoma of activated CD8 phenotype. *Cancer*. 66:2557-2562.
- Su, I.J., K.H. Lin, C.J. Chen, H.F. Tien, H.C. Hsieh, D.T. Lin, and J.Y. Chen. 1990. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell lymphoma of activated CD8 phenotype. *Cancer*. 66:2557-2562.
- Su, I.J., K.H. Lin, C.J. Chen, H.F. Tien, H.C. Hsieh, D.T. Lin, and J.Y. Chen. 1990. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell lymphoma of activated CD8 phenotype. *Cancer*. 66:2557-2562.
- Sumaya, C.V., W. Henle, G. Henle, M.H. Smith, and D. LeBlanc. 1975. Seroepidemiologic study of Epstein-Barr virus infections in a rural community. *The Journal of infectious diseases*. 131:403-408.
- Sumaya, C.V., W. Henle, G. Henle, M.H. Smith, and D. LeBlanc. 1975. Seroepidemiologic study of Epstein-Barr virus infections in a rural community. *The Journal of infectious diseases*. 131:403-408.
- Suzushima, H., N. Asou, T. Fujimoto, S. Nishimura, T. Okubo, H. Yamasaki, M. Osato, M. Matsuoka, A. Tsukamoto, K. Takai, and et al. 1995. Lack of the expression of EBNA-2 and LMP-1 in T-cell neoplasms possessing Epstein-Barr virus. *Blood*. 85:480-486.
- Suzushima, H., N. Asou, T. Fujimoto, S. Nishimura, T. Okubo, H. Yamasaki, M. Osato, M. Matsuoka, A. Tsukamoto, K. Takai, and et al. 1995. Lack of the expression of EBNA-2 and LMP-1 in T-cell neoplasms possessing Epstein-Barr virus. *Blood*. 85:480-486.
- Suzushima, H., N. Asou, T. Fujimoto, S. Nishimura, T. Okubo, H. Yamasaki, M. Osato, M. Matsuoka, A. Tsukamoto, K. Takai, and et al. 1995. Lack of the expression of EBNA-2 and LMP-1 in T-cell neoplasms possessing Epstein-Barr virus. *Blood*. 85:480-486.
- Svahn, A., M. Magnusson, L. Jagdahl, L. Schloss, G. Kahlmeter, and A. Linde. 1997. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays and two latex agglutination assays for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection. *Journal of clinical microbiology*. 35:2728-2732.
- Svahn, A., M. Magnusson, L. Jagdahl, L. Schloss, G. Kahlmeter, and A. Linde. 1997. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays and two latex agglutination assays for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection. *Journal of clinical microbiology*. 35:2728-2732.
- Swerdlow SH., Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders. Vol. 1. Heidelberg: Springer; 2010:89-104

- Swerdlow, S.H. 2007. T-cell and NK-cell posttransplantation lymphoproliferative disorders. *American journal of clinical pathology*. 127:887-895.
- Szakonyi, G., M.G. Klein, J.P. Hannan, K.A. Young, R.Z. Ma, R. Asokan, V.M. Holers, and X.S. Chen. 2006. Structure of the Epstein-Barr virus major envelope glycoprotein. *Nature structural & molecular biology*. 13:996-1001.
- Szakonyi, G., M.G. Klein, J.P. Hannan, K.A. Young, R.Z. Ma, R. Asokan, V.M. Holers, and X.S. Chen. 2006. Structure of the Epstein-Barr virus major envelope glycoprotein. *Nature structural & molecular biology*. 13:996-1001.
- Szelc, C.M., C. Mitcheltree, R.L. Roberts, and E.R. Stiehm. 1992. Deficient polymorphonuclear cell and mononuclear cell antibody-dependent cellular cytotoxicity in pediatric and adult human immunodeficiency virus infection. *The Journal of infectious diseases*. 166:486-493.
- Szelc, C.M., C. Mitcheltree, R.L. Roberts, and E.R. Stiehm. 1992. Deficient polymorphonuclear cell and mononuclear cell antibody-dependent cellular cytotoxicity in pediatric and adult human immunodeficiency virus infection. *The Journal of infectious diseases*. 166:486-493.
- Takada, K., and Y. Ono. 1989. Synchronous and sequential activation of latently infected Epstein-Barr virus genomes. *Journal of virology*. 63:445-449.
- Takada, K., and Y. Ono. 1989. Synchronous and sequential activation of latently infected Epstein-Barr virus genomes. *Journal of virology*. 63:445-449.
- Takahara, M., L.L. Kis, N. Nagy, A. Liu, Y. Harabuchi, G. Klein, and E. Klein. 2006. Concomitant increase of LMP1 and CD25 (IL-2-receptor alpha) expression induced by IL-10 in the EBV-positive NK lines SNK6 and KAI3. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 119:2775-2783.
- Takahara, M., L.L. Kis, N. Nagy, A. Liu, Y. Harabuchi, G. Klein, and E. Klein. 2006. Concomitant increase of LMP1 and CD25 (IL-2-receptor alpha) expression induced by IL-10 in the EBV-positive NK lines SNK6 and KAI3. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 119:2775-2783.
- Takeuchi, K., K. Tanaka-Taya, Y. Kazuyama, Y.M. Ito, S. Hashimoto, M. Fukayama, and S. Mori. 2006. Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: trends and future prediction. *Pathology international*. 56:112-116.
- Tanner, J., Y. Whang, J. Sample, A. Sears, and E. Kieff. 1988. Soluble gp350/220 and deletion mutant glycoproteins block Epstein-Barr virus adsorption to lymphocytes. *Journal of virology*. 62:4452-4464.
- Tanner, J., Y. Whang, J. Sample, A. Sears, and E. Kieff. 1988. Soluble gp350/220 and deletion mutant glycoproteins block Epstein-Barr virus adsorption to lymphocytes. *Journal of virology*. 62:4452-4464.

- Tao, Q., F.C. Ho, S.L. Loke, and G. Srivastava. 1995. Epstein-Barr virus is localized in the tumour cells of nasal lymphomas of NK, T or B cell type. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 60:315-320.
- Tao, Q., F.C. Ho, S.L. Loke, and G. Srivastava. 1995. Epstein-Barr virus is localized in the tumour cells of nasal lymphomas of NK, T or B cell type. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 60:315-320.
- Tao, Q., F.C. Ho, S.L. Loke, and G. Srivastava. 1995. Epstein-Barr virus is localized in the tumour cells of nasal lymphomas of NK, T or B cell type. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 60:315-320.
- Thorley-Lawson, D.A. 2005. EBV the prototypical human tumor virus--just how bad is it? *The Journal of allergy and clinical immunology*. 116:251-261; quiz 262.
- Thorley-Lawson, D.A. 2005. EBV the prototypical human tumor virus--just how bad is it? *The Journal of allergy and clinical immunology*. 116:251-261; quiz 262.
- Thorley-Lawson, D.A., and A. Gross. 2004. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *The New England journal of medicine*. 350:1328-1337.
- Thorley-Lawson, D.A., and A. Gross. 2004. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *The New England journal of medicine*. 350:1328-1337.
- Tierney, R., H. Kirby, J. Nagra, A. Rickinson, and A. Bell. 2000. The Epstein-Barr virus promoter initiating B-cell transformation is activated by RFX proteins and the B-cell-specific activator protein BSAP/Pax5. *Journal of virology*. 74:10458-10467.
- Tierney, R., H. Kirby, J. Nagra, A. Rickinson, and A. Bell. 2000. The Epstein-Barr virus promoter initiating B-cell transformation is activated by RFX proteins and the B-cell-specific activator protein BSAP/Pax5. *Journal of virology*. 74:10458-10467.
- Tierney, R., J. Nagra, I. Hutchings, C. Shannon-Lowe, M. Altmann, W. Hammerschmidt, A. Rickinson, and A. Bell. 2007. Epstein-Barr virus exploits BSAP/Pax5 to achieve the B-cell specificity of its growth-transforming program. *Journal of virology*. 81:10092-10100.
- Tierney, R., J. Nagra, I. Hutchings, C. Shannon-Lowe, M. Altmann, W. Hammerschmidt, A. Rickinson, and A. Bell. 2007. Epstein-Barr virus exploits BSAP/Pax5 to achieve the B-cell specificity of its growth-transforming program. *Journal of virology*. 81:10092-10100.
- Tierney, R.J., N. Steven, L.S. Young, and A.B. Rickinson. 1994. Epstein-Barr virus latency in blood mononuclear cells: analysis of viral gene transcription during primary infection and in the carrier state. *Journal of virology*. 68:7374-7385.
- Tierney, R.J., N. Steven, L.S. Young, and A.B. Rickinson. 1994. Epstein-Barr virus latency in blood mononuclear cells: analysis of viral gene transcription during primary infection and in the carrier state. *Journal of virology*. 68:7374-7385.



- Timms, J.M., A. Bell, J.R. Flavell, P.G. Murray, A.B. Rickinson, A. Traverse-Glehen, F. Berger, and H.J. Delecluse. 2003. Target cells of Epstein-Barr-virus (EBV)-positive post-transplant lymphoproliferative disease: similarities to EBV-positive Hodgkin's lymphoma. *Lancet*. 361:217-223.
- Tokunaga, M., Y. Uemura, T. Tokudome, and E. Sato. 1993. Epstein-Barr virus-infected T cells in infectious mononucleosis. *Acta pathologica japonica*. 43:146-147.
- Tokunaga, M., Y. Uemura, T. Tokudome, and E. Sato. 1993. Epstein-Barr virus-infected T cells in infectious mononucleosis. *Acta pathologica japonica*. 43:146-147.
- Toledo, D.R., and J.A. Barela. 2010. Sensory and motor differences between young and older adults: somatosensory contribution to postural control. *Rev Bras Fisioter*. 14:267-275.
- Toledo, D.R., and J.A. Barela. 2010. Sensory and motor differences between young and older adults: somatosensory contribution to postural control. *Rev Bras Fisioter*. 14:267-275.
- Tomkinson, B., E. Robertson, and E. Kieff. 1993. Epstein-Barr virus nuclear proteins EBNA-3A and EBNA-3C are essential for B-lymphocyte growth transformation. *Journal of virology*. 67:2014-2025.
- Tomkinson, B., E. Robertson, and E. Kieff. 1993. Epstein-Barr virus nuclear proteins EBNA-3A and EBNA-3C are essential for B-lymphocyte growth transformation. *Journal of virology*. 67:2014-2025.
- Tovey, M.G., G. Lenoir, and J. Begon-Lours. 1978. Activation of latent Epstein-Barr virus by antibody to human IgM. *Nature*. 276:270-272.
- Tovey, M.G., G. Lenoir, and J. Begon-Lours. 1978. Activation of latent Epstein-Barr virus by antibody to human IgM. *Nature*. 276:270-272.
- Townsend, L.B., K.S. Gudmundsson, S.M. Daluge, J.J. Chen, Z. Zhu, G.W. Koszalka, L. Boyd, S.D. Chamberlain, G.A. Freeman, K.K. Biron, and J.C. Drach. 1999. Studies designed to increase the stability and antiviral activity (HCMV) of the active benzimidazole nucleoside, TCRB. *Nucleosides & nucleotides*. 18:509-519.
- Townsend, L.B., K.S. Gudmundsson, S.M. Daluge, J.J. Chen, Z. Zhu, G.W. Koszalka, L. Boyd, S.D. Chamberlain, G.A. Freeman, K.K. Biron, and J.C. Drach. 1999. Studies designed to increase the stability and antiviral activity (HCMV) of the active benzimidazole nucleoside, TCRB. *Nucleosides & nucleotides*. 18:509-519.
- Townsend, L.B., R.V. Devivar, S.R. Turk, M.R. Nassiri, and J.C. Drach. 1995. Design, synthesis, and antiviral activity of certain 2,5,6-trihalo-1-(beta-D-ribofuranosyl)benzimidazoles. *Journal of medicinal chemistry*. 38:4098-4105.
- Townsend, L.B., R.V. Devivar, S.R. Turk, M.R. Nassiri, and J.C. Drach. 1995. Design, synthesis, and antiviral activity of certain 2,5,6-trihalo-1-(beta-D-ribofuranosyl)benzimidazoles. *Journal of medicinal chemistry*. 38:4098-4105.

- Trapani, J.A., and M.J. Smyth. 2002. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nature reviews. Immunology*. 2:735-747.
- Trapani, J.A., and M.J. Smyth. 2002. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nature reviews. Immunology*. 2:735-747.
- Trapnell, C., B.A. Williams, G. Pertea, A. Mortazavi, G. Kwan, M.J. van Baren, S.L. Salzberg, B.J. Wold, and L. Pachter. 2010. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nature biotechnology*. 28:511-515.
- Tremat, P., J. Tabiasco, P. Andre, N. Faumont, F. Meggetto, G. Delsol, R.D. Gascoyne, J.J. Fournie, E. Vivier, and P. Brousset. 2002. Evidence for early infection of nonneoplastic natural killer cells by Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 76:11139-11142.
- Tremat, P., J. Tabiasco, P. Andre, N. Faumont, F. Meggetto, G. Delsol, R.D. Gascoyne, J.J. Fournie, E. Vivier, and P. Brousset. 2002. Evidence for early infection of nonneoplastic natural killer cells by Epstein-Barr virus. *Journal of virology*. 76:11139-11142.
- Trinchieri, G., T. O'Brien, M. Shade, and B. Perussia. 1984. Phorbol esters enhance spontaneous cytotoxicity of human lymphocytes, abrogate Fc receptor expression, and inhibit antibody-dependent lymphocyte-mediated cytotoxicity. *J Immunol*. 133:1869-1877.
- Trinchieri, G., T. O'Brien, M. Shade, and B. Perussia. 1984. Phorbol esters enhance spontaneous cytotoxicity of human lymphocytes, abrogate Fc receptor expression, and inhibit antibody-dependent lymphocyte-mediated cytotoxicity. *J Immunol*. 133:1869-1877.
- Tsai, D.E., M. Nearey, C.L. Hardy, J.E. Tomaszewski, R.M. Kotloff, R.A. Grossman, K.M. Olthoff, E.A. Stadtmauer, D.L. Porter, S.J. Schuster, S.M. Luger, and R.L. Hodinka. 2002. Use of EBV PCR for the diagnosis and monitoring of post-transplant lymphoproliferative disorder in adult solid organ transplant patients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2:946-954.
- Tsoukas, C.D., and J.D. Lambris. 1988. Expression of CR2/EBV receptors on human thymocytes detected by monoclonal antibodies. *European journal of immunology*. 18:1299-1302.
- Tsoukas, C.D., and J.D. Lambris. 1988. Expression of CR2/EBV receptors on human thymocytes detected by monoclonal antibodies. *European journal of immunology*. 18:1299-1302.
- Tsui, S., and W.H. Schubach. 1994. Epstein-Barr virus nuclear protein 2A forms oligomers in vitro and in vivo through a region required for B-cell transformation. *Journal of virology*. 68:4287-4294.
- Tsui, S., and W.H. Schubach. 1994. Epstein-Barr virus nuclear protein 2A forms oligomers in vitro and in vivo through a region required for B-cell transformation. *Journal of virology*. 68:4287-4294.

- Tugizov, S.M., J.W. Berline, and J.M. Palefsky. 2003. Epstein-Barr virus infection of polarized tongue and nasopharyngeal epithelial cells. *Nature medicine*. 9:307-314.
- Tugizov, S.M., J.W. Berline, and J.M. Palefsky. 2003. Epstein-Barr virus infection of polarized tongue and nasopharyngeal epithelial cells. *Nature medicine*. 9:307-314.
- U, S., P. A, G. P, P. D, S. V, and G. K. 2008. HLA allele associations in idiopathic recurrent spontaneous abortion patients from India. *Journal of human reproductive sciences*. 1:19-24.
- U, S., P. A, G. P, P. D, S. V, and G. K. 2008. HLA allele associations in idiopathic recurrent spontaneous abortion patients from India. *Journal of human reproductive sciences*. 1:19-24.
- Uchida, J., T. Yasui, Y. Takaoka-Shichijo, M. Muraoka, W. Kulwichit, N. Raab-Traub, and H. Kikutani. 1999. Mimicry of CD40 signals by Epstein-Barr virus LMP1 in B lymphocyte responses. *Science*. 286:300-303.
- Uchida, J., T. Yasui, Y. Takaoka-Shichijo, M. Muraoka, W. Kulwichit, N. Raab-Traub, and H. Kikutani. 1999. Mimicry of CD40 signals by Epstein-Barr virus LMP1 in B lymphocyte responses. *Science*. 286:300-303.
- Uchihara, J.N., A.M. Krensky, T. Matsuda, H. Kawakami, T. Okudaira, M. Masuda, T. Ohta, N. Takasu, and N. Mori. 2005. Transactivation of the CCL5/RANTES gene by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 114:747-755.
- Uchihara, J.N., A.M. Krensky, T. Matsuda, H. Kawakami, T. Okudaira, M. Masuda, T. Ohta, N. Takasu, and N. Mori. 2005. Transactivation of the CCL5/RANTES gene by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 114:747-755.
- Underwood, M.R., R.J. Harvey, S.C. Stanat, M.L. Hemphill, T. Miller, J.C. Drach, L.B. Townsend, and K.K. Biron. 1998. Inhibition of human cytomegalovirus DNA maturation by a benzimidazole ribonucleoside is mediated through the UL89 gene product. *Journal of virology*. 72:717-725.
- Underwood, M.R., R.J. Harvey, S.C. Stanat, M.L. Hemphill, T. Miller, J.C. Drach, L.B. Townsend, and K.K. Biron. 1998. Inhibition of human cytomegalovirus DNA maturation by a benzimidazole ribonucleoside is mediated through the UL89 gene product. *Journal of virology*. 72:717-725.
- Uner, A.H., R.E. Hutchison, and F.R. Davey. 1994. Applications of in situ hybridization in the study of hematologic malignancies. *Hematology/oncology clinics of North America*. 8:771-784.
- Uner, A.H., R.E. Hutchison, and F.R. Davey. 1994. Applications of in situ hybridization in the study of hematologic malignancies. *Hematology/oncology clinics of North America*. 8:771-784.

- Uren, E., R. Elsum, and I. Jack. 1977. A comparative study of the diagnosis of respiratory virus infections by immunofluorescence and virus isolation in children. *Australian paediatric journal*. 13:282-286.
- Uren, E., R. Elsum, and I. Jack. 1977. A comparative study of the diagnosis of respiratory virus infections by immunofluorescence and virus isolation in children. *Australian paediatric journal*. 13:282-286.
- Usherwood, E.J., S.K. Meadows, S.G. Crist, S.C. Bellfy, and C.L. Sentman. 2005. Control of murine gammaherpesvirus infection is independent of NK cells. *European journal of immunology*. 35:2956-2961.
- Usherwood, E.J., S.K. Meadows, S.G. Crist, S.C. Bellfy, and C.L. Sentman. 2005. Control of murine gammaherpesvirus infection is independent of NK cells. *European journal of immunology*. 35:2956-2961.
- Usherwood, E.J., S.K. Meadows, S.G. Crist, S.C. Bellfy, and C.L. Sentman. 2005. Control of murine gammaherpesvirus infection is independent of NK cells. *European journal of immunology*. 35:2956-2961.
- van Beek, J., A.A. Brink, M.B. Vervoort, M.J. van Zijp, C.J. Meijer, A.J. van den Brule, and J.M. Middeldorp. 2003. In vivo transcription of the Epstein-Barr virus (EBV) BamHI-A region without associated in vivo BARF0 protein expression in multiple EBV-associated disorders. *The Journal of general virology*. 84:2647-2659.
- van Gorp, J., A. Brink, J.J. Oudejans, A.J. van den Brule, J.G. van den Tweel, N.M. Jiwa, P.C. de Bruin, and C.J. Meijer. 1996. Expression of Epstein-Barr virus encoded latent genes in nasal T cell lymphomas. *Journal of clinical pathology*. 49:72-76.
- van Gorp, J., A. Brink, J.J. Oudejans, A.J. van den Brule, J.G. van den Tweel, N.M. Jiwa, P.C. de Bruin, and C.J. Meijer. 1996. Expression of Epstein-Barr virus encoded latent genes in nasal T cell lymphomas. *Journal of clinical pathology*. 49:72-76.
- Venter, J.C., M.D. Adams, E.W. Myers, P.W. Li, R.J. Mural, G.G. Sutton, H.O. Smith, M. Yandell, C.A. Evans, R.A. Holt, J.D. Gocayne, P. Amanatides, R.M. Ballew, D.H. Huson, J.R. Wortman, Q. Zhang, C.D. Kodira, X.H. Zheng, L. Chen, M. Skupski, G. Subramanian, P.D. Thomas, J. Zhang, G.L. Gabor Miklos, C. Nelson, S. Broder, A.G. Clark, J. Nadeau, V.A. McKusick, N. Zinder, A.J. Levine, R.J. Roberts, M. Simon, C. Slayman, M. Hunkapiller, R. Bolanos, A. Delcher, I. Dew, D. Fasulo, M. Flanigan, L. Florea, A. Halpern, S. Hannenhalli, S. Kravitz, S. Levy, C. Mobarry, K. Reinert, K. Remington, J. Abu-Threideh, E. Beasley, K. Biddick, V. Bonazzi, R. Brandon, M. Cargill, I. Chandramouliswaran, R. Charlab, K. Chaturvedi, Z. Deng, V. Di Francesco, P. Dunn, K. Eilbeck, C. Evangelista, A.E. Gabrielian, W. Gan, W. Ge, F. Gong, Z. Gu, P. Guan, T.J. Heiman, M.E. Higgins, R.R. Ji, Z. Ke, K.A. Ketchum, Z. Lai, Y. Lei, Z. Li, J. Li, Y. Liang, X. Lin, F. Lu, G.V. Merkulov, N. Milshina, H.M. Moore, A.K. Naik, V.A. Narayan, B. Neelam, D. Nuskern, D.B. Rusch, S. Salzberg, W. Shao, B. Shue, J. Sun, Z. Wang, A. Wang, X. Wang, J. Wang, M. Wei, R. Wides, C. Xiao, C. Yan, et al. 2001. The sequence of the human genome. *Science*. 291:1304-1351.

- Verbeke, C.S., U. Wenthe, W.F. Bergler, and H. Zentgraf. 2000. Characterization of the expanded T cell population in infectious mononucleosis: apoptosis, expression of apoptosis-related genes, and Epstein-Barr virus (EBV) status. *Clinical and experimental immunology*. 120:294-300.
- Verbeke, C.S., U. Wenthe, W.F. Bergler, and H. Zentgraf. 2000. Characterization of the expanded T cell population in infectious mononucleosis: apoptosis, expression of apoptosis-related genes, and Epstein-Barr virus (EBV) status. *Clinical and experimental immunology*. 120:294-300.
- Vere Hodge, R.A., D. Sutton, M.R. Boyd, M.R. Harnden, and R.L. Jarvest. 1989. Selection of an oral prodrug (BRL 42810; famciclovir) for the antiherpesvirus agent BRL 39123 [9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanine; penciclovir]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 33:1765-1773.
- Vere Hodge, R.A., D. Sutton, M.R. Boyd, M.R. Harnden, and R.L. Jarvest. 1989. Selection of an oral prodrug (BRL 42810; famciclovir) for the antiherpesvirus agent BRL 39123 [9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanine; penciclovir]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 33:1765-1773.
- Veugelers, K., B. Motyka, I.S. Goping, I. Shostak, T. Sawchuk, and R.C. Bleackley. 2006. Granule-mediated killing by granzyme B and perforin requires a mannose 6-phosphate receptor and is augmented by cell surface heparan sulfate. *Molecular biology of the cell*. 17:623-633.
- Veugelers, K., B. Motyka, I.S. Goping, I. Shostak, T. Sawchuk, and R.C. Bleackley. 2006. Granule-mediated killing by granzyme B and perforin requires a mannose 6-phosphate receptor and is augmented by cell surface heparan sulfate. *Molecular biology of the cell*. 17:623-633.
- Vidal, S.M., and L.L. Lanier. 2006. NK cell recognition of mouse cytomegalovirus-infected cells. *Current topics in microbiology and immunology*. 298:183-206.
- Vidal, S.M., and L.L. Lanier. 2006. NK cell recognition of mouse cytomegalovirus-infected cells. *Current topics in microbiology and immunology*. 298:183-206.
- Vidal, S.M., and L.L. Lanier. 2006. NK cell recognition of mouse cytomegalovirus-infected cells. *Current topics in microbiology and immunology*. 298:183-206.
- Vockerodt, M., S.L. Morgan, M. Kuo, W. Wei, M.B. Chukwuma, J.R. Arrand, D. Kube, J. Gordon, L.S. Young, C.B. Woodman, and P.G. Murray. 2008. The Epstein-Barr virus oncoprotein, latent membrane protein-1, reprograms germinal centre B cells towards a Hodgkin's Reed-Sternberg-like phenotype. *The Journal of pathology*. 216:83-92.
- Wade, M., and M.J. Allday. 2000. Epstein-Barr virus suppresses a G(2)/M checkpoint activated by genotoxins. *Molecular and cellular biology*. 20:1344-1360.

- Wagner, H.J., H. Kluter, A. Kruse, P. Bucsky, M. Hornef, and H. Kirchner. 1995. Determination of the number of Epstein-Barr virus genomes in whole blood and red cell concentrates. *Transfus Med.* 5:297-302.
- Wagner, H.J., H. Kluter, A. Kruse, P. Bucsky, M. Hornef, and H. Kirchner. 1995. Determination of the number of Epstein-Barr virus genomes in whole blood and red cell concentrates. *Transfus Med.* 5:297-302.
- Wagner, H.J., M. Hornef, H.M. Teichert, and H. Kirchner. 1994. Sex difference in the serostatus of adults to the Epstein-Barr virus. *Immunobiology.* 190:424-429.
- Wagner, H.J., M. Hornef, H.M. Teichert, and H. Kirchner. 1994. Sex difference in the serostatus of adults to the Epstein-Barr virus. *Immunobiology.* 190:424-429.
- Walling, D.M., C.M. Flaitz, and C.M. Nichols. 2003. Epstein-Barr virus replication in oral hairy leukoplakia: response, persistence, and resistance to treatment with valacyclovir. *The Journal of infectious diseases.* 188:883-890.
- Walling, D.M., C.M. Flaitz, C.M. Nichols, S.D. Hudnall, and K. Adler-Storthz. 2001. Persistent productive Epstein-Barr virus replication in normal epithelial cells in vivo. *The Journal of infectious diseases.* 184:1499-1507.
- Walton, E.W. 1960. Reticulo-endothelial sarcoma arising in the nose and palate (granuloma gangrenescens). *Journal of clinical pathology.* 13:279-286.
- Walton, E.W. 1960. Reticulo-endothelial sarcoma arising in the nose and palate (granuloma gangrenescens). *Journal of clinical pathology.* 13:279-286.
- Walton, E.W. 1960. Reticulo-endothelial sarcoma arising in the nose and palate (granuloma gangrenescens). *Journal of clinical pathology.* 13:279-286.
- Wang, D., D. Liebowitz, et al. (1985). "An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells." *Cell* 43(3 Pt 2): 831-840.
- Wang, D., D. Liebowitz, et al. (1988). "Epstein-Barr virus latent infection membrane protein alters the human B-lymphocyte phenotype: deletion of the amino terminus abolishes activity." *J Virol* 62(11): 4173-4184.
- Wang, F., C. Gregory, C. Sample, M. Rowe, D. Liebowitz, R. Murray, A. Rickinson, and E. Kieff. 1990. Epstein-Barr virus latent membrane protein (LMP1) and nuclear proteins 2 and 3C are effectors of phenotypic changes in B lymphocytes: EBNA-2 and LMP1 cooperatively induce CD23. *Journal of virology.* 64:2309-2318.
- Wang, F., C. Gregory, C. Sample, M. Rowe, D. Liebowitz, R. Murray, A. Rickinson, and E. Kieff. 1990. Epstein-Barr virus latent membrane protein (LMP1) and nuclear proteins 2 and 3C are effectors of phenotypic changes in B lymphocytes: EBNA-2 and LMP1 cooperatively induce CD23. *Journal of virology.* 64:2309-2318.

- Wang, F., C. Gregory, et al. (1990). "Epstein-Barr virus latent membrane protein (LMP1) and nuclear proteins 2 and 3C are effectors of phenotypic changes in B lymphocytes: EBNA-2 and LMP1 cooperatively induce CD23." *J Virol* **64**(5): 2309-2318.
- Wang, S., M. Rowe, et al. (1996). "Expression of the Epstein Barr virus transforming protein LMP1 causes a rapid and transient stimulation of the Bcl-2 homologue Mcl-1 levels in B-cell lines." *Cancer Res* **56**(20): 4610-4613.
- Watry, D., J.A. Hedrick, S. Siervo, G. Rhodes, J.J. Lamberti, J.D. Lambris, and C.D. Tsoukas. 1991. Infection of human thymocytes by Epstein-Barr virus. *The Journal of experimental medicine*. 173:971-980.
- Watry, D., J.A. Hedrick, S. Siervo, G. Rhodes, J.J. Lamberti, J.D. Lambris, and C.D. Tsoukas. 1991. Infection of human thymocytes by Epstein-Barr virus. *The Journal of experimental medicine*. 173:971-980.
- Weis, J.J., T.F. Tedder, and D.T. Fearon. 1984. Identification of a 145,000 Mr membrane protein as the C3d receptor (CR2) of human B lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:881-885.
- Weis, J.J., T.F. Tedder, and D.T. Fearon. 1984. Identification of a 145,000 Mr membrane protein as the C3d receptor (CR2) of human B lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:881-885.
- Williams, H., K. Macsween, K. McAulay, C. Higgins, N. Harrison, A. Swerdlow, K. Britton, and D. Crawford. 2004. Analysis of immune activation and clinical events in acute infectious mononucleosis. *The Journal of infectious diseases*. 190:63-71.
- Williams, H., K. McAulay, K.F. Macsween, N.J. Gallacher, C.D. Higgins, N. Harrison, A.J. Swerdlow, and D.H. Crawford. 2005. The immune response to primary EBV infection: a role for natural killer cells. *British journal of haematology*. 129:266-274.
- Winberg, G., L. Matskova, F. Chen, P. Plant, D. Rotin, G. Gish, R. Ingham, I. Ernberg, and T. Pawson. 2000. Latent membrane protein 2A of Epstein-Barr virus binds WW domain E3 protein-ubiquitin ligases that ubiquitinate B-cell tyrosine kinases. *Molecular and cellular biology*. 20:8526-8535.
- Woisetschlaeger, M., J.L. Strominger, and S.H. Speck. 1989. Mutually exclusive use of viral promoters in Epstein-Barr virus latently infected lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86:6498-6502.
- Woisetschlaeger, M., J.L. Strominger, and S.H. Speck. 1989. Mutually exclusive use of viral promoters in Epstein-Barr virus latently infected lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86:6498-6502.
- Wood, V.H., J.D. O'Neil, W. Wei, S.E. Stewart, C.W. Dawson, and L.S. Young. 2007. Epstein-Barr virus-encoded EBNA1 regulates cellular gene transcription and modulates the STAT1 and TGFbeta signaling pathways. *Oncogene*. 26:4135-4147.

- Woods, R. 1921. Observations ON MALIGNANT GRANULOMA OF THE NOSE. *British medical journal*. 2:65-66 61. Abbot, S.D., M. Rowe, K. Cadwallader, A. Ricksten, J. Gordon, F. Wang, L. Rymo, and A.B. Rickinson. 1990
- Woods, R. 1921. Observations ON MALIGNANT GRANULOMA OF THE NOSE. *British medical journal*. 2:65-66 61.
- Woods, R. 1921. Observations ON MALIGNANT GRANULOMA OF THE NOSE. *British medical journal*. 2:65-66 61.
- Wu, H., P. Kapoor, and L. Frappier. 2002. Separation of the DNA replication, segregation, and transcriptional activation functions of Epstein-Barr nuclear antigen 1. *Journal of virology*. 76:2480-2490.
- Wu, J., and L.L. Lanier. 2003. Natural killer cells and cancer. *Advances in cancer research*. 90:127-156.
- Wu, J., and L.L. Lanier. 2003. Natural killer cells and cancer. *Advances in cancer research*. 90:127-156.
- Wu, J., and L.L. Lanier. 2003. Natural killer cells and cancer. *Advances in cancer research*. 90:127-156.
- Wu, Y., S. Maruo, M. Yajima, T. Kanda, and K. Takada. 2007. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA 2 (EBER2) but not EBER1 plays a critical role in EBV-induced B-cell growth transformation. *Journal of virology*. 81:11236-11245.
- Wu, Y., S. Maruo, M. Yajima, T. Kanda, and K. Takada. 2007. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA 2 (EBER2) but not EBER1 plays a critical role in EBV-induced B-cell growth transformation. *Journal of virology*. 81:11236-11245.
- Xiao, J., J.M. Palefsky, R. Herrera, J. Berline, and S.M. Tugizov. 2008. The Epstein-Barr virus BMRF-2 protein facilitates virus attachment to oral epithelial cells. *Virology*. 370:430-442.
- Xiao, J., J.M. Palefsky, R. Herrera, J. Berline, and S.M. Tugizov. 2008. The Epstein-Barr virus BMRF-2 protein facilitates virus attachment to oral epithelial cells. *Virology*. 370:430-442.
- Xie, P., B.S. Hostager, and G.A. Bishop. 2004. Requirement for TRAF3 in signaling by LMP1 but not CD40 in B lymphocytes. *The Journal of experimental medicine*. 199:661-671.
- Xie, P., Z.J. Kraus, L.L. Stunz, and G.A. Bishop. 2008. Roles of TRAF molecules in B lymphocyte function. *Cytokine & growth factor reviews*. 19:199-207.
- Yajima, Y., A. Tanaka, and M. Nonoyama. 1976. Inhibition of productive replication of Epstein-Barr virus DNA by phosphonoacetic acid. *Virology*. 71:352-354.
- Yajima, Y., A. Tanaka, and M. Nonoyama. 1976. Inhibition of productive replication of Epstein-Barr virus DNA by phosphonoacetic acid. *Virology*. 71:352-354.



- Yamanaka, N., A. Kataura, S. Sambe, T. Minase, and Y. Ishii. 1985. Midfacial T cell lymphoma: characterization by monoclonal antibodies. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 94:207-211.
- Yamanaka, N., A. Kataura, S. Sambe, T. Minase, and Y. Ishii. 1985. Midfacial T cell lymphoma: characterization by monoclonal antibodies. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 94:207-211.
- Yamanaka, N., A. Kataura, S. Sambe, T. Minase, and Y. Ishii. 1985. Midfacial T cell lymphoma: characterization by monoclonal antibodies. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 94:207-211.
- Yao, Q.Y., A.B. Rickinson, and M.A. Epstein. 1985. A re-examination of the Epstein-Barr virus carrier state in healthy seropositive individuals. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 35:35-42.
- Yao, Q.Y., A.B. Rickinson, and M.A. Epstein. 1985. A re-examination of the Epstein-Barr virus carrier state in healthy seropositive individuals. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 35:35-42.
- Yao, Q.Y., D.S. Croom-Carter, R.J. Tierney, G. Habeshaw, J.T. Wilde, F.G. Hill, C. Conlon, and A.B. Rickinson. 1998. Epidemiology of infection with Epstein-Barr virus types 1 and 2: lessons from the study of a T-cell-immunocompromised hemophilic cohort. *Journal of virology*. 72:4352-4363.
- Yao, Q.Y., D.S. Croom-Carter, R.J. Tierney, G. Habeshaw, J.T. Wilde, F.G. Hill, C. Conlon, and A.B. Rickinson. 1998. Epidemiology of infection with Epstein-Barr virus types 1 and 2: lessons from the study of a T-cell-immunocompromised hemophilic cohort. *Journal of virology*. 72:4352-4363.
- Yoshioka, M., H. Kikuta, N. Ishiguro, R. Endo, and K. Kobayashi. 2003. Latency pattern of Epstein-Barr virus and methylation status in Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome. *Journal of medical virology*. 70:410-419.
- Yoshioka, M., H. Kikuta, N. Ishiguro, R. Endo, and K. Kobayashi. 2003. Latency pattern of Epstein-Barr virus and methylation status in Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome. *Journal of medical virology*. 70:410-419.
- Yoshiyama, H., S. Imai, N. Shimizu, and K. Takada. 1997. Epstein-Barr virus infection of human gastric carcinoma cells: implication of the existence of a new virus receptor different from CD21. *Journal of virology*. 71:5688-5691.
- Yoshiyama, H., S. Imai, N. Shimizu, and K. Takada. 1997. Epstein-Barr virus infection of human gastric carcinoma cells: implication of the existence of a new virus receptor different from CD21. *Journal of virology*. 71:5688-5691.
- Young, L.S., and A.B. Rickinson. 2004. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nature reviews. Cancer*. 4:757-768.

- Young, L.S., and A.B. Rickinson. 2004. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nature reviews. Cancer.* 4:757-768.
- Young, L.S., Q.Y. Yao, C.M. Rooney, T.B. Sculley, D.J. Moss, H. Rupani, G. Laux, G.W. Bornkamm, and A.B. Rickinson. 1987. New type B isolates of Epstein-Barr virus from Burkitt's lymphoma and from normal individuals in endemic areas. *The Journal of general virology.* 68 ( Pt 11):2853-2862.
- Young, L.S., Q.Y. Yao, C.M. Rooney, T.B. Sculley, D.J. Moss, H. Rupani, G. Laux, G.W. Bornkamm, and A.B. Rickinson. 1987. New type B isolates of Epstein-Barr virus from Burkitt's lymphoma and from normal individuals in endemic areas. *The Journal of general virology.* 68 ( Pt 11):2853-2862.
- Young, L.S., R. Lau, M. Rowe, G. Niedobitek, G. Packham, F. Shanahan, D.T. Rowe, D. Greenspan, J.S. Greenspan, A.B. Rickinson, and et al. 1991. Differentiation-associated expression of the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator protein in oral hairy leukoplakia. *Journal of virology.* 65:2868-2874.
- Young, L.S., R. Lau, M. Rowe, G. Niedobitek, G. Packham, F. Shanahan, D.T. Rowe, D. Greenspan, J.S. Greenspan, A.B. Rickinson, and et al. 1991. Differentiation-associated expression of the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator protein in oral hairy leukoplakia. *Journal of virology.* 65:2868-2874.
- Yu, M.C., and J.M. Yuan. 2002. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Seminars in cancer biology.* 12:421-429.
- Zacny, V.L., E. Gershburg, M.G. Davis, K.K. Biron, and J.S. Pagano. 1999. Inhibition of Epstein-Barr virus replication by a benzimidazole L-riboside: novel antiviral mechanism of 5, 6-dichloro-2-(isopropylamino)-1-beta-L-ribofuranosyl-1H-benzimidazole. *Journal of virology.* 73:7271-7277.
- Zacny, V.L., E. Gershburg, M.G. Davis, K.K. Biron, and J.S. Pagano. 1999. Inhibition of Epstein-Barr virus replication by a benzimidazole L-riboside: novel antiviral mechanism of 5, 6-dichloro-2-(isopropylamino)-1-beta-L-ribofuranosyl-1H-benzimidazole. *Journal of virology.* 73:7271-7277.
- Zech, L., U. Haglund, K. Nilsson, and G. Klein. 1976. Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *International journal of cancer. Journal international du cancer.* 17:47-56.
- Zeidler, R., G. Eissner, P. Meissner, S. Uebel, R. Tampe, S. Lazis, and W. Hammerschmidt. 1997. Downregulation of TAP1 in B lymphocytes by cellular and Epstein-Barr virus-encoded interleukin-10. *Blood.* 90:2390-2397.
- Zeidler, R., G. Eissner, P. Meissner, S. Uebel, R. Tampe, S. Lazis, and W. Hammerschmidt. 1997. Downregulation of TAP1 in B lymphocytes by cellular and Epstein-Barr virus-encoded interleukin-10. *Blood.* 90:2390-2397.

- Zhang, J., H. Chen, G. Weinmaster, and S.D. Hayward. 2001. Epstein-Barr virus BamHi-a rightward transcript-encoded RPMS protein interacts with the CBF1-associated corepressor CIR to negatively regulate the activity of EBNA2 and NotchIC. *Journal of virology*. 75:2946-2956.
- Zhang, Q., L. Brooks, P. Busson, F. Wang, D. Charron, E. Kieff, A.B. Rickinson, and T. Tursz. 1994. Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein 1 increases HLA class II expression in an EBV-negative B cell line. *European journal of immunology*. 24:1467-1470.
- Zhang, Q., L. Brooks, P. Busson, F. Wang, D. Charron, E. Kieff, A.B. Rickinson, and T. Tursz. 1994. Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein 1 increases HLA class II expression in an EBV-negative B cell line. *European journal of immunology*. 24:1467-1470.
- Zhao, B., and C.E. Sample. 2000. Epstein-barr virus nuclear antigen 3C activates the latent membrane protein 1 promoter in the presence of Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 through sequences encompassing an spi-1/Spi-B binding site. *Journal of virology*. 74:5151-5160.
- Zimber-Strobl, U., and L.J. Strobl. 2001. EBNA2 and Notch signalling in Epstein-Barr virus mediated immortalization of B lymphocytes. *Seminars in cancer biology*. 11:423-434.
- Zimber-Strobl, U., and L.J. Strobl. 2001. EBNA2 and Notch signalling in Epstein-Barr virus mediated immortalization of B lymphocytes. *Seminars in cancer biology*. 11:423-434.
- Zimmermann, A., H. Wilts, M. Lenhardt, M. Hahn, and T. Mertens. 2000. Indolocarbazoles exhibit strong antiviral activity against human cytomegalovirus and are potent inhibitors of the pUL97 protein kinase. *Antiviral research*. 48:49-60.
- Zimmermann, A., H. Wilts, M. Lenhardt, M. Hahn, and T. Mertens. 2000. Indolocarbazoles exhibit strong antiviral activity against human cytomegalovirus and are potent inhibitors of the pUL97 protein kinase. *Antiviral research*. 48:49-60.
- Zoppoli, G., B. Bruzzone, P. Caligiuri, A. Picciotto, E. Balleari, A. Bruzzone, G. Icardi, and R. Ghio. 2009. From a medical mistake to a clinical warning: the case of HBV mutant virus reactivation in haematological patients. *British journal of haematology*. 144:969-970.

**Polymorphisme du gène *LMP1* de l'EBV chez des patients français atteints de lymphome NK/T : évolution sous traitement à base de *L-asparaginase***

RESUME

Les lymphomes extra-ganglionnaires NKT sont des pathologies rares dont l'évolution est très rapidement fatale. Ces lymphomes sont décrits pour être associés au virus d'Epstein et Barr (EBV) dans 100% des cas. Récemment un traitement associant la L-asparaginase à une chimiothérapie conventionnelle a permis d'augmenter de manière significative la survie des patients. Le travail que nous avons réalisé consiste à caractériser l'EBV au niveau sanguin chez 13 patients atteints de lymphome NK/T pour voir si une souche virale particulière était associée à cette pathologie et/ou à la sensibilité au traitement. Les souches ont été caractérisées par séquençage de 6 clones du gène *LMP1*. La capacité de ces souches à activer NFκB a été testée par gel retard. Les résultats montrent la présence d'une souche de type A dans la plupart des cas. Comparativement à B95.8, trois séquences différentes du gène *LMP1* ont été trouvées : sans délétion, avec une délétion de 15 pb ou de 30 pb. La délétion du gène semblait être associée à une espérance de vie faible et à une non-efficacité ou une faible efficacité du traitement. Par la suite, 9 biopsies de patients ont été testées par une nouvelle technique de séquençage, toujours concernant le gène *LMP1* : 6 biopsies portaient une souche délétée de 30 pb.

*Mots-clés : EBV, LMP1, lymphome NK/T, L-asparaginase*

---

**Polymorphism of the *LMP1* gene of EBV in French patients attained with NK/T lymphoma: evolution under treatment with L-asparaginase**

ABSTRACT

Natural killer/T-cell lymphomas are rare and aggressive diseases whose development is rapidly fatal. These lymphomas are associated with Epstein-Barr virus (EBV) in 100% of cases. Recently, a treatment combining L-asparaginase with conventional chemotherapy has increased significantly the survival of patients. Our work consists on characterizing EBV (particularly *LMP1* modifications) in the blood of NK lymphoma's patients to see if a particular strain is associated with this disease and/or with the sensitivity to treatment. Our Work has focused on 13 patients before starting their treatment and 9 patients before and during their treatment. The strains were characterized in the blood and biopsies of patients by sequencing the *LMP1* gene through techniques of Sanger sequencing and NGS. In addition, the ability of these strains to activate NFκB was tested. The results show the presence of a strain of type A in most cases. Compared to B95.8 strain, three different sequences of *LMP1* gene were found: without deletion, with a deletion of 15 bp or 30 bp. Deletion of the gene appeared to be associated with a poor chance of life expectancy and non-effectiveness or

ineffectiveness of treatment. In addition, the results of NGS performed on biopsies showed the presence of different strains carrying the 30 bp deletion.

*Keywords: EBV, LMP1, Natural killer/T-cell lymphomas, L-asparaginase,*