



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-359>

© ВАСИЛЬЕВА А.С., МАРГУШЕВА А.А., МОЛЧАНОВ А.Д., РТИЩЕВ А.А., ЧЕРЕПОВИЧ Б.С., ДОМАНСКАЯ В.А., ГУРЦЕВИЧ В.Э., СМИРНОВА К.В., 2026



Полиморфизм гена *LMP1* у больных раком желудка, ассоциированным с вирусом Эпштейна–Барр (*Orthoherpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Lymphocryptovirus humangamma 4*)

Васильева А.С.^{1,2✉}, Маргушева А.А.¹, Молчанов А.Д.^{1,3}, Ртищев А.А.², Черепович Б.С.², Доманская В.А.^{1,3}, Гурцевич В.Э.¹, Смирнова К.В.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, г. Москва, Россия;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, г. Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) – широко распространенный гамма-герпесвирус, ассоциированный с рядом злокачественных новообразований, включая рак носоглотки и рак желудка (РЖ/ВЭБ+). Основным онкогенным белком ВЭБ является латентный мембранный белок 1 (LMP1). Генетическая вариабельность белка LMP1 влияет на его онкогенную активность и клинические проявления.

Цель. Выяснить оптимальное пороговое значение вирусной нагрузки ВЭБ, определить наличие в образцах крови больных РЖ/ВЭБ+ корреляции между высокой вирусной нагрузкой и амплификацией гена *LMP1*, а также выявить наличие мутаций в С-терминальных доменах гена *LMP1*, способных изменять функции белка.

Материалы и методы. Исследовали тотальную ДНК, выделенную из 227 образцов крови больных раком желудка. Ген *LMP1* амплифицировали методом гнездовой полимеразной цепной реакции (ПЦР). Вирусную нагрузку ДНК ВЭБ в образцах крови анализировали методом количественной ПЦР с последующим проведением ROC-анализа (receiver operating characteristic) и расчета интерквартильного размаха (IQR), где на основе среднего значения вирусной нагрузки и ROC-порога был установлен критерий отбора положительных образцов ДНК ВЭБ (ВЭБ+).

Результаты. Анализ ROC-кривой и описательной статистики позволил выделить 23 ВЭБ+ образца ДНК на основании результатов: AUC (площадь под кривой) = 0,83, оптимального порога 526,92 копии/реакция, чувствительности 0,69, специфичности 0,87 и среднего значения вирусной нагрузки 513,5 копии/реакция. Выявлена статистически значимая связь между амплификацией гена *LMP1* в крови и уровнем вирусной нагрузки (критерий $\chi^2 p = 0,018$; U-критерий Манна–Уитни $p < 0,0001$). Кроме того, идентифицированы синонимичные и несинонимичные мутации в С-терминальных активирующих доменах (STAR1 и STAR2) белка LMP1.

Заключение. Полученные результаты указывают на гетерогенную молекулярную природу РЖ/ВЭБ+, включая генетические мутации в *LMP1*.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ); ВЭБ-ассоциированный рак желудка (РЖ/ВЭБ+); *LMP1* (латентный мембранный белок 1); злокачественные опухоли; полимеразная цепная реакция (ПЦР); секвенсный анализ

Для цитирования: Васильева А.С., Маргушева А.А., Молчанов А.Д., Ртищев А.А., Черепович Б.С., Доманская В.А., Гурцевич В.Э., Смирнова К.В. Полиморфизм гена *LMP1* у больных раком желудка, ассоциированным с вирусом Эпштейна–Барр (*Orthoherpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Lymphocryptovirus humangamma 4*). *Вопросы вирусологии*. 2025; 71(1): 62–72. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-359> EDN: <https://elibrary.ru/gfdggj>

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации, проект №2026-9 «Разработка новых подходов к направленной деградации онкобелков в клетках резистентных новообразований (2026–2028 гг.)».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦО им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Протокол № 1126 от 18.04.2023).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-359>

Polymorphisms in the *LMP1* gene in patients with gastric cancer associated with Epstein–Barr virus (*Orthoherpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Lymphocryptovirus humangamma 4*)

Alexandra S. Vasilyeva^{1,2✉}, Alina A. Margusheva¹, Artem D. Molchanov^{1,3},
Artem A. Rtishchev², Bogdan S. Cherepovich², Valeria A. Domanskaya^{1,3},
Vladimir E. Gurtsevich¹, Ksenia V. Smirnova¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, 115478, Moscow, Russia;

²I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums, 105064, Moscow, Russia;

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia, 119991, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Epstein–Barr virus (EBV) is a widespread gamma-herpesvirus associated with a number of malignancies, including nasopharyngeal carcinoma and gastric cancer (GC/EBV+). The primary oncogenic protein of EBV is latent membrane protein 1 (LMP1). Genetic variability of the LMP1 protein affects its oncogenic activity and clinical manifestations.

Objective. To investigate the optimal threshold value for EBV viral load, determine the correlation between high viral load and the detection of the *LMP1* gene in the blood of patients with GC/EBV+, and to identify mutations in the C-terminal domains of the *LMP1* gene that may affect protein function.

Materials and methods. Total DNA was extracted from 227 blood samples of GC patients. The *LMP1* gene was amplified using nested PCR. EBV DNA viral load in blood samples was analyzed by qPCR, followed by receiver operating characteristic (ROC) analysis and interquartile range (IQR) assessment. A selection criterion for positive DNA samples (EBV+) was established based on the mean viral load and ROC threshold.

Results. ROC curve analysis and descriptive statistics identified 23 EBV-positive (EBV+) DNA samples, with the following results: AUC (area under the curve) = 0.83, optimal threshold 526.92 copies/reaction, sensitivity 0.69, specificity 0.87, and mean viral load: 513.5 copies/reaction. A statistically significant association was found between detection of the *LMP1* gene in the blood and viral load level (χ^2 test $p = 0.018$; Mann–Whitney U test $p < 0.0001$). Additionally, synonymous and nonsynonymous mutations were identified in regions of *LMP1* gene coding the C-terminal activating domains (CTAR1 and CTAR2).

Conclusion. The findings highlight the heterogeneous molecular nature of EBV-associated gastric cancer, including genetic mutations in the *LMP1* gene.

Keywords: Epstein–Barr virus; EBV-associated gastric cancer (GC/EBV+); *LMP1* (latent membrane protein 1); malignant tumors; polymerase chain reaction (PCR); sequence analysis

For citation: Vasilyeva A.S., Margusheva A.A., Molchanov A.D., Rtishchev A.A., Cherepovich B.S., Domanskaya V.A., Gurtsevich V.E., Smirnova K.V. Polymorphisms in the *LMP1* gene in patients with gastric cancer associated with Epstein–Barr virus (*Orthoherpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Lymphocryptovirus humangamma 4*). 2026; 71(1): 62–72. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-359> EDN: <https://elibrary.ru/gfdggj>

Funding. The work was carried out with the support of the Ministry of Health of the Russian Federation, project No. 2026-9 "Development of New Approaches to Targeted Degradation of Oncoproteins in Cells of Resistant Neoplasms (2026–2028)".

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethical approval. The study was conducted with the voluntary informed consent of patients. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Protocol No. 1126 dated April 18, 2023).

Введение

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) – один из наиболее распространенных герпетических вирусов, им инфицированы более 90% взрослого населения планеты [1]. Согласно официальной информации Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), ВЭБ относится к семейству *Orthoherpesviridae*, подсе-

мейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptovirus*, виду *Lymphocryptovirus humangamma 4*¹. По данным Международного агентства по изучению рака (IARC), ВЭБ включен в список 11 онкогенных инфекций у человека и отнесен к канцерогенам I группы, обладающим прямым онкогенным действием на организм хозяина [2].

¹ICTV (2025). Доступно по: <https://ictv.global/report/chapter/orthoherpesviridae/orthoherpesviridae/lymphocryptovirus> (дата доступа: 16.12.2025).

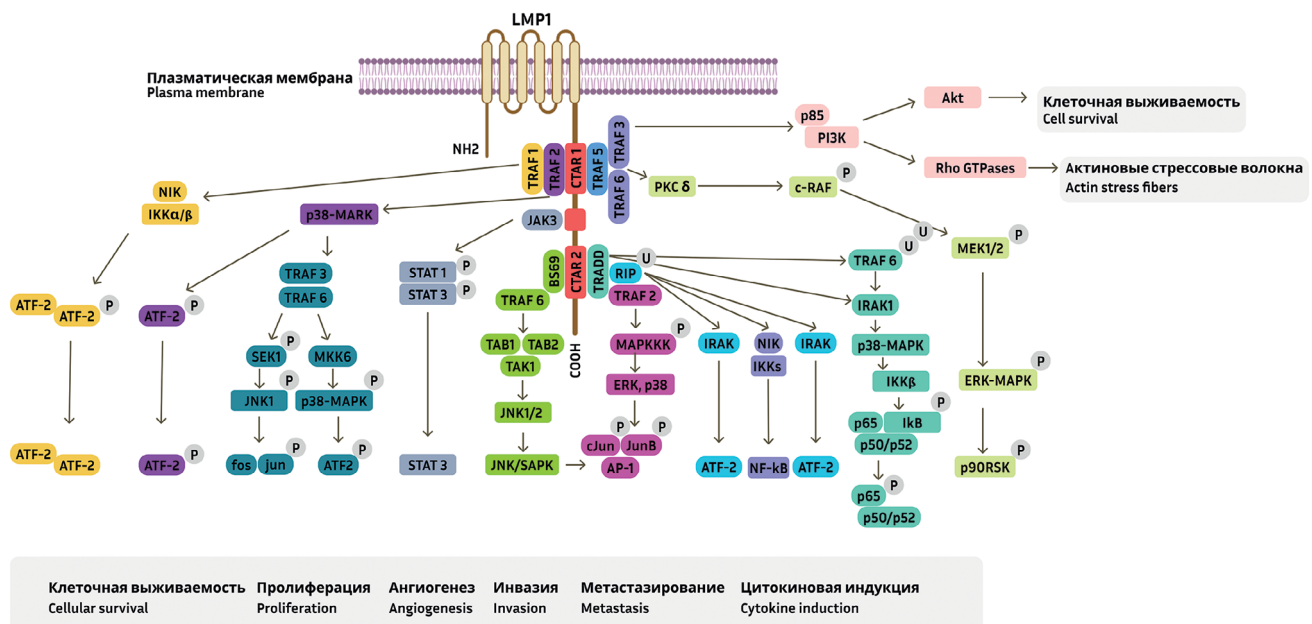


Рис. 1. Сигнальные пути, опосредованные LMP1, и связанные с ними клеточные процессы при ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразованиях.

Fig. 1. LMP1-signaling pathways and associated cellular processes in EBV-associated malignancies.

После первичного инфицирования вирус переходит в латентное состояние, персистируя в В-лимфоцитах и эпителиальных клетках на протяжении всей жизни хозяина. ВЭБ ассоциирован с развитием различных злокачественных новообразований, включая опухоли эпителиального происхождения, такие как рак носоглотки и один из подтипов рака желудка (РЖ) – ВЭБ-ассоциированный рак желудка (РЖ/ВЭБ+) [3].

Ключевым онкогеном ВЭБ, участвующим в трансформации инфицированных клеток, является латентный мембранный белок 1 (LMP1). Этот вирусный онкопротеин функционирует как конститутивно активный аналог рецептора фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor receptor, TNFR), что способствует активации разных сигнальных каскадов, таких как NF-κB, JNK, PI3K/Akt и STAT [4]. Активация этих сигнальных каскадов создает благоприятные условия для выживания, пролиферации и подавления апоптоза в инфицированных клетках – процесс, являющийся ключевым этапом канцерогенеза (рис. 1).

Структура LMP1 состоит из короткого цитоплазматического N-концевого конца, 6 трансмембранных доменов и длинного цитоплазматического C-конца, который содержит два хорошо изученных активационных домена: STAR1, STAR2 (C-терминальный активационный домен 1 и 2), а также третий, менее изученный домен STAR3. N-терминальный домен отвечает в основном за связывание LMP1 с мембраной и его олигомеризацию. STAR-домены выполняют большинство регуляторных функций LMP1 (рис. 1) [5].

Классификация вариантов LMP1 основана на полиморфизме C-терминальной области активации (STAR), которая взаимодействует с внутриклеточными адаптерами TRAF и TRADD. LMP1 играет ключевую роль

в возникновении и прогрессии злокачественных опухолей, ассоциированных с ВЭБ, что делает его перспективным прогностическим маркером для больных с такими новообразованиями, как рак носоглотки [6].

Варианты LMP1 различаются по структуре, уровню экспрессии, активности сигнальных путей и клинической значимости. В настоящее время описаны несколько основных вариантов LMP1: B95-8, China1/CAO, Med+, NC, а также менее распространенные варианты, такие как Alaskan, GD1, НКNPC1 и др. [7, 8]. Эти варианты отличаются по своей географической распространенности, биологической активности и ассоциации с конкретными заболеваниями.

Так, вариант LMP1 China1/CAO, обладающий повышенной способностью трансформировать В-лимфоциты *in vitro*, активировать NF-κB и инициировать сигнальные каскады множества генов [9], чаще всего связан с развитием рака носоглотки в азиатских популяциях. В то же время вариант B95-8, менее эффективно трансформирующий В-лимфоциты *in vitro*, обычно ассоциируется с лимфомами и инфекционным мононуклеозом в западных странах [10].

Изучение изменчивости белка LMP1 имеет принципиальное значение, поскольку его гетерогенность, высокий уровень полиморфизма могут быть ключевыми факторами, определяющими клиническую картину новообразований РЖ, ассоциированных с ВЭБ. Более того, молекулярный вариант LMP1 может быть использован как маркер РЖ/ВЭБ+, коррелирующий с проявлениями болезни (ремиссия, рецидив) и отражающий эффективность проведенной терапии.

Целью работы являлось определение порогового значения копийности ВЭБ в образцах крови, позволя-

ющего различать пациентов с высокой вирусной нагрузкой, а также выявление ряда значимых мутаций в STAR белка LMP1 у пациентов с РЖ/ВЭБ+, способных потенциально влиять на клиническую картину и течение заболевания, и оценить зависимость высокой вирусной нагрузки ВЭБ с наличием или отсутствием искомой последовательности гена *LMP1* в крови.

Материалы и методы

Исследуемый материал

Исследованы образцы тотальной ДНК, выделенные из периферической крови 227 больных с впервые диагностированным морфологически подтвержденным РЖ, не получавших ранее противоопухолевую терапию. Материал был получен от больных из Центральные регионы России, проходящих лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Исследование проводили при добровольном информированном согласии всех пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (Протокол № 1126 от 18.04.2023).

Экстракция ДНК

ДНК из образцов крови выделяли с помощью набора ExtractDNA Blood and Cells («Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Для контроля качества ДНК определяли соотношение оптической плотности A260/A280, которое в среднем составляло 1,8, что указывало на высокую чистоту нуклеиновой кислоты и ее пригодность для последующего анализа. В работу отбирали образцы с концентрацией не менее 20 нг/мкл, растворенные в объеме 50 мкл элюирующего буфера («Евроген», Россия).

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени

Число копий ДНК вируса ВЭБ в образцах определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (qPCR) с незначительными изменениями в ранее опубликованных методологических рекомендациях [11, 12]. Для постановки qPCR использовали готовую ПЦР-смесь QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen, Германия) и стандартный набор праймеров (табл. 1). qPCR проводили при соблюдении рекомендаций производителя на амплификаторе Real-time CFX 96 Maestro (Biorad, Германия). Для построения стандартной калибровочной кривой и количественного определения числа копий ДНК ВЭБ использовали ДНК, выделенную из клеточной линии Namalwa, в которой 3,3 пг геномной ДНК содержат одну вирусную копию [13].

Амплификация гена *LMP1* методом гнездовой полимеразной цепной реакции

Гнездовую ПЦР проводили с целью выявить ген *LMP1* в выделенных образцах крови в два этапа с внешними и внутренними праймерами (табл. 2) [14]. Для проведения ПЦР использовали готовую реакционную смесь PCR Screen mix 5x – HS

(«Евроген», Россия), амплификацию проводили согласно рекомендациям производителя с незначительными корректировками протокола. В качестве положительного контроля использовали специально созданный бактериальный вектор, в который был клонирован искомый фрагмент целевой последовательности гена *LMP1* заданной длины (799bp). В качестве отрицательного контроля использовали деионизированную воду. Наличие целевого ПЦР-продукта оценивали визуально после разделения ампликонов в 1,5% агарозном геле с использованием маркера длин ДНК 100bp+ (Qiagen, Germany) (рис. 2). Для последующего секвенирования ПЦР-продукты очищали с использованием набора Clean up mini («Евроген», Россия).

Секвенирование *LMP1*

Секвенирование методом Сэнгера образцов гена *LMP1* проводили на приборе ABI PRISM 3500 (8 капилляров; 50 см; Applied Biosystems, США) с использованием пары праймеров (табл. 2).

Нуклеотидные последовательности образцов гена *LMP1*, транслированные в аминокислотные остатки,

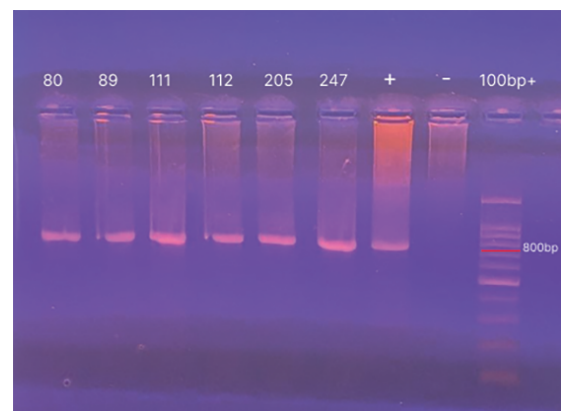


Рис. 2. Визуализация амплифицированных образцов ДНК гена *LMP1* искомой длины 799bp на 1,5% агарозном геле с использованием маркера длин 100bp+.

80, 89, 111, 112, 205, 247 – образцы *LMP1*+/ВЭБ+; «+» – положительный контроль на *LMP1*; «-» – отрицательный контроль.

Fig. 2. Visualization of amplified *LMP1* gene DNA samples with the target length of 799 bp in 1.5% agarose gel using a 100 bp+ DNA ladder.

80, 89, 111, 112, 205, 247 – *LMP1*+/*EBV*+ samples; «+» – positive *LMP1* control; «-» – negative control.

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и зонда, используемые при постановке ПЦР в реальном времени

Table 1. Nucleotide sequences of primers and probes used for real-time PCR

Праймер Primer	Последовательность Subsequence
W-44F	ccc-aac-act-cca-cca-cac-c
W-119R	tct-tag-gag-ctg-tcc-gag-gg
W-67T	(FAM)ca-cac-act-aca-cac-acc-cac-ccg-tct-c(RTQ1)

Таблица 2. Нуклеотидные последовательности внешних (ECO3, 8785) и внутренних (8702, N2) праймеров, используемые при постановке гнездовой ПЦР

Table 2. Nucleotide sequences of outer (ECO3, 8785) and inner (8702, N2) primers used for nested PCR

Праймер Primer	Последовательность Subsequence
Eco3	tcc-agg-aga-att-ccc-cat-ctc-gag-agt-g
8785	cga-ttt-taa-tct-gga-tgt-att-acc-atg-g
8702	gct-acc-gat-tct-ggc-cat-gaa-tct-gac
N2	ggc-gga-gtc-tgg-caa-cgc-ccg-ggt-cct-tg

анализировали в программе SnapGene при помощи классификации R.N. Edwards и соавт. [15].

Статистический анализ

Для определения наличия клинически значимой вирусной нагрузки в крови больных, связанной с повышенным риском развития РЖ, использовали пороговое значение копий ДНК, основанное на анализе кривой операционной характеристики приемника (ROC-анализ) и среднем значении количества копий ДНК вируса, рассчитанном по совокупности всех исследованных образцов, с учетом межквартильного интервала (25-й и 75-й перцентили).

В качестве оценки статистической значимости различий между группами образцов, разделенных по признаку наличия или отсутствия искомого фрагмента гена *LMP1* (*LMP1+* и *LMP1-*) в контексте

вирусной нагрузки, был использован критерий χ^2 и U-критерий Манна–Уитни, где критерий являлся значимым при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ оптимального порогового значения копий вируса Эпштейна–Барр

Результаты представлены в виде ROC-анализа, проведенного на выборке из 227 образцов ДНК больных РЖ, для которых определялась вирусная нагрузка методом qPCR: AUC (площадь под кривой) = 0,83; оптимальный порог 526,92 копии/реакция; чувствительность 0,69; специфичность 0,87 (рис. 3), а также данными описательной статистики (табл. 3), (рис. 4), включая минимальное значение вирусных копий на реакцию, медиану, среднюю величину и границы интерквартильного размаха (IQR). IQR составил $172,4 - 7,32 = 165,08$ копии/реакция.

Определение корреляции между *LMP1* и высокой вирусной нагрузкой вируса Эпштейна–Барр

Анализ связи между определением гена *LMP1* и уровнем вирусной нагрузки в образцах крови больных выявил статистически значимую достоверность при использовании критерия χ^2 с уровнем значимости $p = 0,018$ и наличием значимых различий по U-критерию Манна–Уитни, где $p < 0,0001$ (рис. 5). Данный результат при установленном пороге $p < 0,05$ подтверждает наличие выраженной взаимосвязи между указанными параметрами.

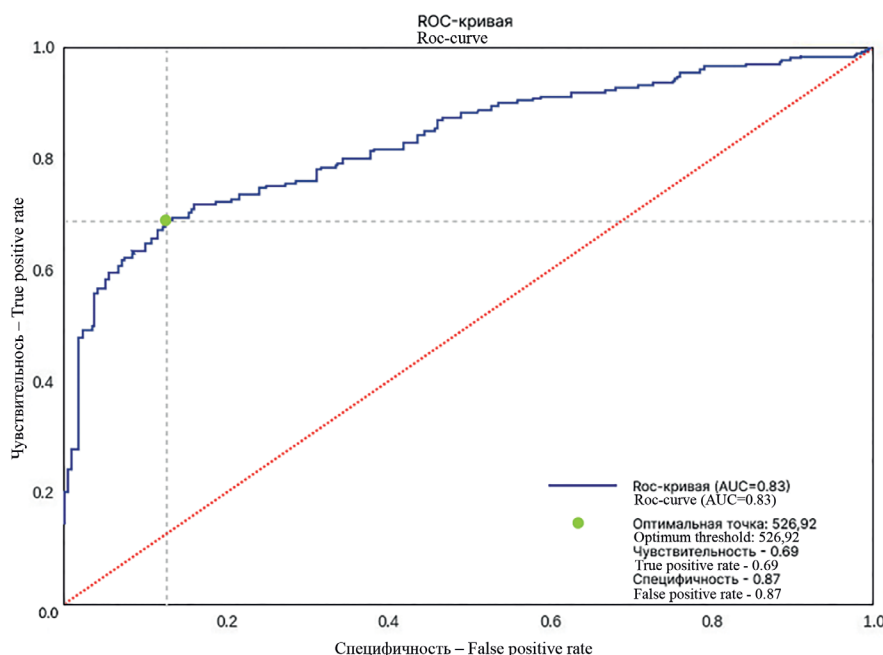


Рис. 3. ROC-кривая для оценки прогностической ценности количества копий ДНК вируса Эпштейна–Барр в цельной крови при дифференциальной диагностике ВЭБ-ассоциированного рака желудка.

AUC = 0,83; оптимальный порог 526,92 копий; чувствительность 0,69; специфичность 0,87.

Fig. 3. ROC curve for assessing the prognostic value of Epstein-Barr virus DNA copy number in whole blood for the differential diagnosis of EBV-associated gastric cancer.

AUC = 0,83; optimal threshold: 526.92 copies; sensitivity: 0.69; specificity: 0.87.

Таблица 3. Ключевые параметры распределения вирусной нагрузки среди всех образцов, включая минимальное и максимальное значения копий ВЭБ, межквартильный размах, среднее, стандартное отклонение и стандартную ошибку среднего, что обеспечивает полное описание выборки

Table 3. Key parameters of viral load distribution across all samples, including minimum and maximum EBV copy numbers, interquartile range, mean, standard deviation, and standard error of the mean, providing a comprehensive description of the sample set

Параметр Parameter	Все образцы All samples
Количество образцов Number of samples	227
Минимум копий ВЭБ Minimum copies of EBV	0
25% Перцентиль 25% Percentile	7,32
Медиана Median	47,5
75% Перцентиль 75% Percentile	172,4
Максимум копий ВЭБ Maximum copies of EBV	27583
Средняя величина Standard value	513,5
Стандартное отклонение Standard deviation	2489
Стандартная ошибка среднего Standard error of the mean	165,2

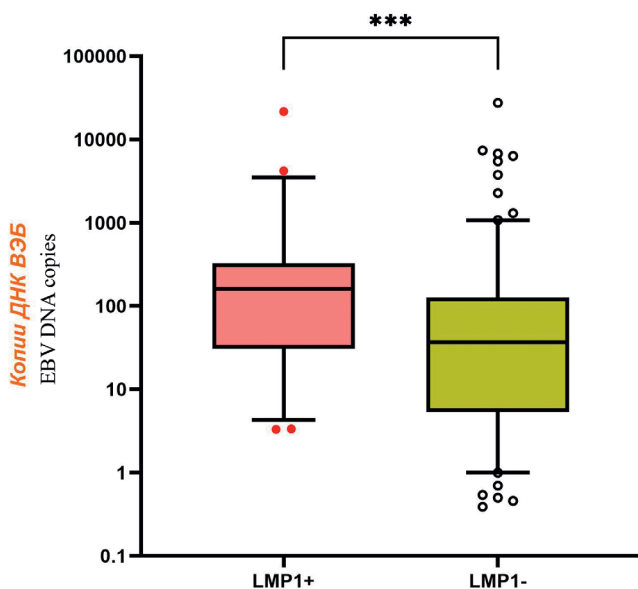


Рис. 4. Распределение значений копий ДНК вируса среди всех 227 образцов крови больных РЖ, где минимальное значение 0 копий, максимальное – 27 583 копий, средняя величина 513 копий, медиана 47,5 копий.

Fig. 4. Distribution of EBV DNA copy numbers across all 227 blood samples from gastric cancer patients, with a minimum value of 0 copies, maximum of 27,583 copies, mean of 513 copies, and median of 47.5 copies.

Критерий отбора для анализа порогового значения числа копий вирусной ДНК основывался на средней величине вирусной нагрузки в 227 образцах (табл. 3) и оптимальном пороге этой нагрузки при построении ROC-кривой (рис. 4). Для дальнейшего молекулярного анализа были отобраны образцы с высокой вирусной нагрузкой, превышающей установленный порог 500 и более копий ВЭБ на реакцию ($n = 23$), что составляет 10% от выборки и согласуется с данными литературы по РЖ/ВЭБ+ в Атласе генома рака (The Cancer Genome Atlas, TCGA).

По полученным нами предварительным данным, выявление гена *LMP1* связано с большей вероятностью с наличием высоких уровней вирусной нагрузки в образцах (≥ 500 копий ДНК ВЭБ/реакция). По результатам исследования, среди 227 образцов ДНК крови больных путем амплификации только у 46 был выявлен ген *LMP1* («*LMP1+*»), а у 181 образца ген *LMP1* не был обнаружен («*LMP1-*»). Но только у 9 из 46 образцов ДНК пациентов с «*LMP1+*» была обнаружена высокая вирусная нагрузка 500 и более копий ВЭБ на реакцию (ВЭБ+) (9/46; 19,57%), а среди образцов «*LMP1-*» только 14 (14/181; 7,72%) имели ВЭБ+.

Анализ мутаций в функциональных доменах *LMP1*

Шесть образцов гена *LMP1*, отвечающих установленным критериям качества, от больных РЖ с высокой вирусной нагрузкой были подвергнуты секвенированию методом Сэнгера. Нуклеотидные последовательности этих образцов с помощью программного обеспечения SnapGene были выровнены с эталонной последовательностью гена *LMP1* штамма B95-8, что обеспечило высокоточную идентификацию нуклеотидных замен. Полученные последовательности были транслированы в аминокислотные с учетом открытой рамки считывания, что позволило реконструировать предсказанную структуру кодируемого белка. Особое внимание при анализе уделяли обнаружению аминокислотных замен в функционально значимых участках белка, в частности – в С-терминальных концевых активирующих доменах (STAR1 и STAR2). Анализ нуклеотидных последовательностей позволил выявить как синонимичные, так и несинонимичные мутации, в том числе изменения, потенциально способные модулировать трансдукцию сигнала, структурную стабильность белка или его взаимодействие с клеточными адаптерами в 4 образцах гена *LMP1* (80, 112, 205, 247) из 6 (табл. 4).

Из табл. 4 следует, что практически половина мутаций (6 из 13) приходится на С-концевой домен, что может свидетельствовать о его большей подверженности мутациям в данной выборке. Большинство мутаций (10 из 13) – несинонимичные (меняют аминокислоту), что может влиять на структуру или функцию *LMP1*. Синонимичные мутации (3) встречаются в положении аминокислоты 284 (2 из 3) и 352 (1 из 3).

Обсуждение

Распределение числа копий ВЭБ на реакцию

Таблица 4. Обнаруженные мутации, выявленные при анализе нуклеотидных последовательностей в 4 из 6 изученных образцов гена *LMP1*, с указанием нуклеотидных и аминокислотных изменений и их положения в доменной структуре белка

Table 4. Mutations identified in the nucleotide sequences of the *LMP1* gene in 4 out of 6 analyzed samples, with indication of nucleotide and amino acid changes and their positions in the protein domain structure

Номер образца Sample number	Положение аминокислоты Amino acid position	Замена нуклеотида Nucleotide substitution	Замена аминокислоты Amino acid substitution	Положение в домене Position in the domain	
80	284	GAC → GAT	D → D	C-концевой домен C-terminal domain	
112	284	GAC → GAT	D → D	C-концевой домен C-terminal domain	
	211	TCT → TTT	S → F	STAR1	
	375	GAC → AAC	D → N	STAR2	
205	287	GAT → ATT	D → I	C-концевой домен C-terminal domain	
	352	CAT → CAC	H → H	STAR2	
247	215	TCT → TGT	S → C	STAR1	
	226, 227	CTG → GTG	L → V	STAR1	
	249	CCG → GCG	P → A	STAR1	
	259, 270, 297		ACC → AAC	T → N	C-концевой домен C-terminal domain

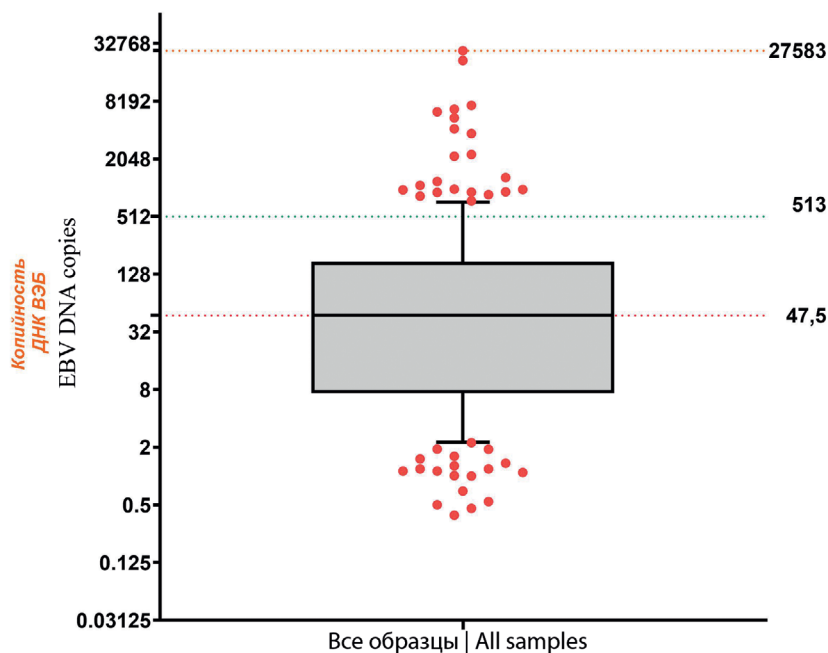


Рис. 5. Статистическая достоверность различий по U-критерию Манна–Уитни ($p = 0,0001$), подтверждающая различия в распределении количественных значений вирусной нагрузки между группами *LMP1*-положительных (*LMP1*⁺) и *LMP1*-отрицательных (*LMP1*⁻) образцов ДНК крови больных.

Fig. 5. Statistical significance of differences by the Mann–Whitney U test ($p = 0.0001$), confirming differences in the distribution of quantitative viral load values between *LMP1*-positive (*LMP1*⁺) and *LMP1*-negative (*LMP1*⁻) DNA samples from the blood of patients.

в 227 образцах ДНК крови больных РЖ демонстрировало значительную вариабельность (табл. 3, рис. 4). Минимальное значение составляло 0 копий/реакция, указывая на отсутствие обнаруживаемых копий ВЭБ в некоторых образцах, в то время как максимум достигал 27 583 копии/реакция, отражая редкие случаи высокой вирусной нагрузки. 25-й перцентиль (Q1) равнялся 7,32 копии/реакция, медиана (50-й перцентиль) – 47,5 копии/реакция, а 75-й перцентиль (Q3) – 172,4 копии/реакция. Интерквартильный размах (IQR = Q3 – Q1) составлял 165,08 копии/реакция,

что отражает вариабельность центральных 50% наблюдений и подтверждает смещение распределения в сторону более низких значений. Средняя вирусная нагрузка составила 513,5 копии/реакция (стандартное отклонение 2489; стандартная ошибка среднего 165,2). Превышение среднего значения над медианой указывает на положительную асимметрию, обусловленную наличием отдельных экстремально высоких уровней числа копий ВЭБ, что типично для биологических данных.

ROC-анализ был проведен для дискриминационной

оценки ВЭБ-нагрузки при классификации образцов крови как ВЭБ-положительных, так и ВЭБ-отрицательных (рис. 3). Площадь под кривой (AUC) составила 0,83, указывая на хорошую диагностическую эффективность. Оптимальный порог для ВЭБ-положительных образцов, определяемый как точка, равнялся 526,92 копии/реакция, с чувствительностью 0,69 и специфичностью 0,87. Этот порог эффективно балансирует ложноположительные и ложноотрицательные результаты, отдавая приоритет специфичности для минимизации ненужных последующих анализов, при этом захватывая значительную долю истинно положительных случаев.

На основе интеграции данных описательной статистики и результатов ROC-анализа нами был принят порог вирусной нагрузки 500 и более копий ВЭБ/реакция для определения ВЭБ-положительных образцов. Это значение тесно приближается к оптимальному порогу, полученному по ROC (526,92 копии/реакция), и среднему значению выборки (513,5 копии/реакция), обеспечивая соответствие эмпирическому распределению данных. Оно превышает верхнюю границу IQR (172,4 копии/реакция) примерно в 2,9 раза, тем самым исключая большинство образцов с низкой или умеренной вирусной нагрузкой (75% когорты ниже Q3) и фокусируясь на сегменте с высокой вирусной нагрузкой более 513 копий/реакция (рис. 4), где ВЭБ предположительно играет значимую роль в патогенезе рака желудка.

Установление порогового значения в 500 копий/реакция в качестве критерия для идентификации ВЭБ+-образцов крови обеспечивает выявление исключительно тех вирусных нагрузок, которые поддаются надежной количественной оценке, тем самым снижая вероятность ложноположительных исходов и позволяя выявлять уровни инфекции, обладающие клинической значимостью. Данный методологический подход полностью соответствует устоявшимся стандартам в сфере количественного анализа вирусной нагрузки, где пороговые уровни, как правило, определяются на основе эмпирических данных с целью установления корреляций с прогрессией патологического процесса или мониторингом терапевтических мероприятий в рамках анализа злокачественных новообразований, ассоциированных с ВЭБ.

Полученные результаты демонстрируют статистически значимую ассоциацию между определением гена *LMP1* и повышенной нагрузкой ВЭБ в крови у больных РЖ. Несмотря на то что при РЖ/ВЭБ+ обычно описывается латентность типа I с ограниченной экспрессией вирусных генов (EBERs, EBNA1, BART-микроРНК), обнаружение *LMP1* у 19,57% больных с высокой вирусной нагрузкой в крови указывает на более активный вирусный профиль опухоли, сопровождаемый элементами латентности типа II. Эти результаты подтверждают последние данные о том, что РЖ/ВЭБ+ не всегда строго соответствует классическому типу латентности I, а скорее представляет собой промежуточное состояние с проявлениями обоих типов латентности, что имеет важное значение

для понимания его патогенеза [16].

Выявление гена *LMP1* ассоциировано с более чем двукратным увеличением доли случаев РЖ с высокой вирусной нагрузкой в крови по сравнению с *LMP1*-негативными образцами (19,57% против 7,72%), что подчеркивает потенциальную роль этого онкогена не только как маркера трансформации, но и как индикатора активности вирусной репликации. Повышенная вирусная нагрузка у «*LMP1+*» больных может отражать либо расширенный спектр экспрессии вирусных генов в опухоли, либо наличие циркулирующих *LMP1*-экспрессирующих клеток вне опухолевой ткани, например, в В-лимфоцитах периферической крови.

Обнаруженное статистически значимое различие ($p = 0,018$) свидетельствует о наличии корреляции между определением гена *LMP1* и уровнем вирусной нагрузки в образцах крови больных РЖ. Таким образом, полученные результаты указывают на ассоциацию образцов «*LMP1+*» с повышенной вирусной нагрузкой (более 500 копий на реакцию), так как 9 образцов из 46 с «*LMP1+*» (9/46; 19,57%) имеют ВЭБ+ (высокую вирусную нагрузку), в то время как среди «*LMP1-*» (181 образец) только 14 (7,72%) имеют ВЭБ+. Эти данные позволяют предположить, что определение последовательности гена *LMP1* в крови пациента увеличивает вероятность наличия в образце более высокой вирусной нагрузки. Стоит отметить, что различия в группах «*LMP1+*» и «*LMP1-*», а также в уровне вирусной нагрузки могут быть обусловлены другими, неучтенными факторами, такими как состояние иммунной системы больного, длительность заболевания или вмешательство терапии.

Секвенирование гена *LMP1* в образцах ДНК крови с высокой вирусной нагрузкой в 4 из 4 случаев выявило наличие ключевых мутаций в С-концевой области, включающей трансактивационные домены (табл. 4). Анализ сиквенса позволил выявить как синонимичные мутации, которые не ведут к изменениям аминокислотной последовательности, но также способные нарушать функции белка, так и несинонимичные, которые приводят к замене одной аминокислоты на другую. Синонимичные мутации регуляторных участков в гене *LMP1* нарушают функциональную активность белка *LMP1* за счет влияния на сплайсинг, стабильность мРНК или скорость трансляции, что потенциально модулирует экспрессию, фолдинг и иммуногенность *LMP1* в контексте ВЭБ-ассоциированного канцерогенеза [17]. В образцах гена *LMP1* 80 и 112 (табл. 4) такая синонимичная мутация (D284D) расположена в промежуточной области между доменами STAR1 и STAR2. Несмотря на то что промежуточная позиция не входит в классические активационные домены, эта область опосредует сигналы *LMP1* посредством связывания адапторных молекул с доменами активации С-терминальной области, включая факторы, ассоциированные с TRAF [18]. Положение между двумя доменами (STAR1 и STAR2) имеют несинонимичные мутации в образцах гена *LMP1* 205 и 247: D287I, P249A, T259N, T270N, T297N. Такие изменения потенциально снижают активацию

NF-κB или JNK, влияют на стабильность белка, его субклеточную локализацию и сигнальную активность, особенно если мутации вызывают конформационные перестроения вблизи STAR-доменов [19].

Мутации образцов гена *LMP1* 112 и 247 (S211F, S215C, L226V и L227V) локализуются в функционально важном STAR1-доме белка *LMP1* и могут приводить к нарушению взаимодействия с адаптерными белками TRAF1, TRAF2, TRAF3 и TRAF5, что ослабляет активацию ключевых сигнальных путей – NF-κB, PI3K/Akt и MAPK. Это снижает способность *LMP1* поддерживать выживание клеток, стимулировать пролиферацию и индуцировать трансформацию фибробластов, а также В-лимфоцитов [20, 21].

Синонимичная мутация образца гена *LMP1* 205 (H352H) и несинонимичная мутация образца 112 (D375N) локализуются в функциональном домене STAR2. Мутации в этом регионе приводят к нарушению взаимодействия с адаптерными белками TRADD и BS69, а также к ослабленному рекрутированию TRAF2 и TRAF6, что снижает эффективность активации канонического пути NF-κB и сигнального каскада JNK [22]. Поскольку эти пути участвуют в индукции воспалительных медиаторов, регуляции клеточного стресса и подавлении апоптоза, их дисфункция может ослабить провоспалительную активность *LMP1* и уменьшить способность опухолевых клеток уклоняться от иммунного контроля. При этом несмотря на то что гены функционального домена STAR2 не влияют на трансформацию В-лимфоцитов в полной мере как гены домена STAR1, они способствуют развитию онкогенной активности *LMP1*. В то же время мутации в этих областях генома *LMP1* могут быть связаны со сниженной агрессивностью опухоли и более благоприятным прогнозом при ВЭБ-ассоциированных заболеваниях [20].

Заключение

В проведенном исследовании обнаружена статистически значимая корреляция между амплификацией последовательности гена *LMP1* и высокой копийностью ДНК ВЭБ в периферической крови больных РЖ. Эти результаты свидетельствуют о том, что наличие этого гена связано с более активным вирусным профилем, что согласуется с современными данными литературы, указывающими на наличие двойственной формы латентности ВЭБ при РЖ.

Секвенирование гена *LMP1* из образцов крови больных РЖ с высокой концентрацией ДНК ВЭБ выявило функционально значимые изменения в С-концевой области белка, включая как несинонимичные, так и синонимичные замены, затрагивающие его регуляторные участки. Эти данные указывают на то, что даже при выявлении гена *LMP1* онкогенная активность белка *LMP1* может быть изменена из-за накопления мутации, что может повлиять на клиническое течение заболевания.

Полученные результаты расширяют наше представление о гетерогенной молекулярной природе ВЭБ+/РЖ на уровне полиморфизма ключевого онкогена

LMP1 и подчеркивают необходимость дальнейшего изучения генетического полиморфизма *LMP1* и его функционального влияния на патогенез опухолей желудка, ассоциированных с ВЭБ.

ЛИТЕРАТУРА

- Chen M.R. Epstein-Barr virus, the immune system, and associated diseases. *Front. Microbiol.* 2011; 2: 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00005>
- Bouvard V., Baan R., Straif K., Grosse Y., Secretan B., El Ghissassi F., et al. A review of human carcinogens – Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 2009; 10(4): 321–2. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70096-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70096-8)
- Damania B., Kenney S.C., Raab-Traub N. Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease. *Cell.* 2022; 185(20): 3652–70. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2022.08.026>
- Young L.S., Rickinson A.B. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat. Rev. Cancer.* 2004; 4(10): 757–68. <https://doi.org/10.1038/NRC1452>
- Wang L., Ning S. New look of EBV *LMP1* signaling landscape. *Cancers (Basel).* 2021; 13(21): 5451. <https://doi.org/10.3390/cancers13215451>
- Chen J., Hu C.F., Hou J.H., Shao Q., Yan L.X., Zhu X.F., et al. Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 regulates mTOR signaling pathway genes which predict poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *J. Transl. Med.* 2010; 8: 30. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-30>
- Miller W.E., Edwards R.H., Walling D.M., Raab-Traub N. Sequence variation in the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *J. Gen. Virol.* 1994; 75(Pt. 10): 2729–40. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-10-2729>
- Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
- Mainou B.A., Raab-Traub N. *LMP1* strain variants: biological and molecular properties. *J. Virol.* 2006; 80(13): 6458–68. <https://doi.org/10.1128/JVI.00135-06>
- Gantuz M., Lorenzetti M.A., Chabay P.A., Preciado M.V. A novel recombinant variant of latent membrane protein 1 from Epstein Barr virus in Argentina denotes phylogeographical association. *PLoS One.* 2017; 12(3): e0174221. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174221>
- Gurtsevitch V.E., Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Kondratova V.N., Pavlovskaya A.I., et al. Epstein-Barr virus biomarkers for nasopharyngeal carcinoma in non-endemic regions. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(8): 2118–27. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000889>
- Shao J.Y., Li Y.H., Gao H.Y., Wu Q.L., Cui N.J., Zhang L., et al. Comparison of plasma Epstein-Barr virus (EBV) DNA levels and serum EBV immunoglobulin A/virus capsid antigen antibody titers in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer.* 2004; 100(6): 1162–70. <https://doi.org/10.1002/CNCR.20099>
- Lo Y.M., Chan L.Y., Chan A.T., Leung S.F., Lo K.W., Zhang J., et al. Quantitative and temporal correlation between circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA and tumor recurrence in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.* 1999; 59(21): 5452–5.
- Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Фроловская А.А. и др. Вирус Эпштейна–Барр у этнических татар: инфицированность и сиквенсные варианты онкогена *LMP1*. *Успехи молекулярной онкологии.* 2018; 5(3): 65–74. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74> <https://elibrary.ru/vloxp>
- Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
- Luo B., Wang Y., Wang X.F., Liang H., Yan L.P., Huang B.H., et al. Expression of Epstein-Barr virus genes in EBV-associated gastric carcinomas. *World J. Gastroenterol.* 2005; 11(5): 629–33. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i5.629>
- Sharma Y., Miladi M., Dukare S., Boulay K., Caudron-Herger M., Groß M., et al. A pan-cancer analysis of synonymous mutations. *Nat. Commun.* 2019; 10(1): 2569. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10489-2>
- Higuchi M., Izumi K.M., Kieff E. Epstein-Barr virus latent-infec-

tion membrane proteins are palmitoylated and raft-associated: Protein 1 binds to the cytoskeleton through TNF receptor cytoplasmic factors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2001; 98(8): 4675–80. <https://doi.org/10.1073/pnas.081075298>

19. Dawson C.W., Tramontanis G., Eliopoulos A.G., Young L.S. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) activates the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway to promote cell survival and induce actin filament remodeling. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(6): 3694–704. <https://doi.org/10.1074/jbc.m209840200>
20. Mainou B.A., Everly D.N. Jr., Raab-Traub N. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 CTAR1 mediates rodent and human fibroblast transformation through activation of PI3K. *Oncogene*. 2005; 24(46): 6917–24. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208846>
21. Izumi K.M., Kieff E.D. 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. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1997; 94(23): 12592–7. <https://doi.org/10.1073/PNAS.94.23.12592>
22. Mainou B.A., Everly D.N., Raab-Traub N. Unique signaling properties of CTAR1 in LMP1-mediated transformation. *J. Virol.* 2007; 81(18): 9680–92. <https://doi.org/10.1128/jvi.01001-07>

REFERENCES

1. Chen M.R. Epstein-Barr virus, the immune system, and associated diseases. *Front. Microbiol.* 2011; 2: 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00005>
2. Bouvard V., Baan R., Straif K., Grosse Y., Secretan B., El Ghissassi F., et al. A review of human carcinogens – Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 2009; 10(4): 321–2. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(09\)70096-8](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(09)70096-8)
3. Damania B., Kenney S.C., Raab-Traub N. Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease. *Cell*. 2022; 185(20): 3652–70. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.08.026>
4. Young L.S., Rickinson A.B. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat. Rev. Cancer*. 2004; 4(10): 757–68. <https://doi.org/10.1038/NRC1452>
5. Wang L., Ning S. New look of EBV LMP1 signaling landscape. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(21): 5451. <https://doi.org/10.3390/cancers13215451>
6. Chen J., Hu C.F., Hou J.H., Shao Q., Yan L.X., Zhu X.F., et al. Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 regulates mTOR signaling pathway genes which predict poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *J. Transl. Med.* 2010; 8: 30. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-30>
7. Miller W.E., Edwards R.H., Walling D.M., Raab-Traub N. Sequence variation in the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *J. Gen. Virol.* 1994; 75(Pt. 10): 2729–40. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-10-2729>
8. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology*. 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
9. Mainou B.A., Raab-Traub N. LMP1 strain variants: biological and associated death domain protein to mediate B lymphocyte growth transformation and activate NF-kappaB. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1997; 94(23): 12592–7. <https://doi.org/10.1073/PNAS.94.23.12592>
22. Mainou B.A., Everly D.N., Raab-Traub N. Unique signaling properties of CTAR1 in LMP1-mediated transformation. *J. Virol.* 2007; 81(18): 9680–92. <https://doi.org/10.1128/jvi.01001-07>
10. Gantuz M., Lorenzetti M.A., Chabay P.A., Preciado M.V. A novel recombinant variant of latent membrane protein 1 from Epstein Barr virus in Argentina denotes phylogeographical association. *PLoS One*. 2017; 12(3): e0174221. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174221>
11. Gurtsevitch V.E., Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Kondratova V.N., Pavlovskaya A.I., et al. Epstein-Barr virus biomarkers for nasopharyngeal carcinoma in non-endemic regions. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(8): 2118–27. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000889>
12. Shao J.Y., Li Y.H., Gao H.Y., Wu Q.L., Cui N.J., Zhang L., et al., Comparison of plasma Epstein-Barr virus (EBV) DNA levels and serum EBV immunoglobulin A/virus capsid antigen antibody titers in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer*. 2004; 100(6): 1162–70. <https://doi.org/10.1002/CNCR.20099>
13. Lo Y.M., Chan L.Y., Chan A.T., Leung S.F., Lo K.W., Zhang J., et al., Quantitative and temporal correlation between circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA and tumor recurrence in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.* 1999; 59(21): 5452–5.
14. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Botezatu I.V., Dushenkina T.E., Lubenskaya A.K., Frolovskaya A.A., et al., Epstein-Barr virus in the ethnic Tatars population: the infection and sequence variants of LMP1 oncogene. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*. 2018; 5(3): 65–74. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74> <https://elibrary.ru/vloxpu> (in Russian)
15. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology*. 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
16. Luo B., Wang Y., Wang X.F., Liang H., Yan L.P., Huang B.H., et al. Expression of Epstein-Barr virus genes in EBV-associated gastric carcinomas. *World J. Gastroenterol.* 2005; 11(5): 629–33. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i5.629>
17. Sharma Y., Miladi M., Dukare S., Boulay K., Caudron-Herger M., Grob M., et al. A pan-cancer analysis of synonymous mutations. *Nat. Commun.* 2019; 10(1): 2569. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10489-2>
18. Higuchi M., Izumi K.M., Kieff E. Epstein-Barr virus latent-infection membrane proteins are palmitoylated and raft-associated: Protein 1 binds to the cytoskeleton through TNF receptor cytoplasmic factors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2001; 98(8): 4675–80. <https://doi.org/10.1073/pnas.081075298>
19. Dawson C.W., Tramontanis G., Eliopoulos A.G., Young L.S. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) activates the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway to promote cell survival and induce actin filament remodeling. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(6): 3694–704. <https://doi.org/10.1074/jbc.m209840200>
20. Mainou B.A., Everly D.N. Jr., Raab-Traub N. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 CTAR1 mediates rodent and human fibroblast transformation through activation of PI3K. *Oncogene*. 2005; 24(46): 6917–24. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208846>
21. Izumi K.M., Kieff E.D. The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-

Информация об авторах:

Васильева Александра Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории биологии вирус-ассоциированной опухоли, отдела экспериментальной биологии опухоли НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия; лаборатории РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия. E-mail: vasilyevaalex23@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0004-0249-4574>

Маргушева Алина Альбертовна – аспирант отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 2 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: a.margusheva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2397-0304>

Молчанов Артем Дмитриевич – младший научный сотрудник лаборатории биологии вирус-ассоциированной опухоли, отдела экспериментальной биологии опухоли НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза; аспирант ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия; ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: m.artem.aug@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5229-2285>

Ртищев Артем Андреевич – научный сотрудник лаборатории РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия. E-mail: rtishchevartyom@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>

Черепович Богдан Сергеевич – канд. мед. наук, младший научный сотрудник лаборатории РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия. E-mail: bogdancherepovich@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5803-6263>

Доманская Валерия Александровна – лаборант-исследователь лаборатории биологии вирус-ассоциированной опухоли, отдела экспериментальной биологии опухоли НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза; студент ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия; ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: vadlab@list.ru; <https://orcid.org/0009-0001-4657-382X>

Гурцевич Владимир Эдуардович – главный научный консультант, д-р мед. наук, профессор лаборатории биологии вирус-ассоциированной опухоли, отдела экспериментальной биологии опухоли НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Смирнова Ксения Валерьевна – канд. биол. наук, заведующая лаборатории биологии вирус-ассоциированной опухоли, отдела экспериментальной биологии опухоли НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: skv.lab@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Участие авторов: Васильева А.С. – организация исследования, амплификация ДНК ВЭБ методом qPCR, анализ полученных результатов, написание рукописи; Маргушева А.А. – клиническое сопровождение больных и обеспечение клиническим материалом; Молчанов А.Д. – статистический анализ данных; Ртищев А.А. – проведение генно-инженерных работ; Черепович Б.С. – оформление рисунков и графиков; Доманская В.А. – обработка биологического материала, амплификация гена *LMP1* методом гнездовой ПЦР; Гурцевич В.Э. – научное редактирование рукописи; Смирнова К.В. – идея исследования.

Поступила 28.11.2025
Принята в печать 26.01.2026
Опубликована 28.02.2026

Information about the authors:

Alexandra S. Vasilyeva✉ – Junior Researcher, Laboratory of Biology of Virus-Associated Tumors, Department of Experimental Tumor Biology, Research Institute of Experimental Oncology and Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; Laboratory of RNA-Containing Viruses I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: vasilyevaalex23@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0004-0249-4574>

Alina A. Margusheva – Postgraduate Student, Department of Antitumor Drug Therapy No. 2, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: a.margusheva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2397-0304>

Artem D. Molchanov – Junior Researcher, Laboratory of Biology of Virus-Associated Tumors, Department of Experimental Tumor Biology, Research Institute of Experimental Oncology and Carcinogenesis; Postgraduate Student N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia. E-mail: m.artem.aug@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5229-2285>

Artem A. Rtishchev – Researcher, Laboratory of RNA-Containing Viruses I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: rtishchevartyom@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>

Bogdan S. Cherepovich – Candidate of Medical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of RNA-Containing Viruses I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: bogdancherepovich@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5803-6263>

Valeria A. Domanskaya – Research Laboratory Assistant, Laboratory of Biology of Virus-Associated Tumors, Department of Experimental Tumor Biology, Research Institute of Experimental Oncology and Carcinogenesis; Student N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia. E-mail: vadlab@list.ru; <https://orcid.org/0009-0001-4657-382X>

Vladimir E. Gurtsevich – Chief Scientific Consultant, Doctor of Medical Sciences, Professor, Laboratory of Biology of Virus-Associated Tumors, Department of Experimental Tumor Biology, Research Institute of Experimental Oncology and Carcinogenesis N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Ksenia V. Smirnova – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Biology of Virus-Associated Tumors, Department of Experimental Tumor Biology, Research Institute of Experimental Oncology and Carcinogenesis N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: skv.lab@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Contribution: Vasilyeva A.S. – organization of the study, EBV DNA amplification by qPCR, analysis of the obtained results, manuscript writing; Margusheva A.A. – clinical support of patients and provision of clinical material; Molchanov A.D. – statistical analysis of data; Rtishchev A.A. – performance of genetic engineering work; Cherepovich B.S. – preparation of figures and graphs; Domanskaya V.A. – processing of biological material, LMP1 gene amplification by nested PCR; Gurtsevich V.E. – manuscript editing; Smirnova K.V. – study conception.

Received 28 November 2025
Accepted 26 January 2026
Published 28 February 2026