ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015
УДК 578.825.13:578.5

Смирнова К.В., Дидук С.В., Сенюта Н.Б., Гурцевич В.Э.

Молекулярно-биологические свойства гена *LMP1* вируса Эпштейна–Барр: структура, функции и полиморфизм

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»,115478, г. Москва

Исследования последних лет свидетельствуют о том, что латентный мембранный белок 1 (LMP1), кодируемый одноименным геном вируса Эпштейна - Барр (ВЭБ), играет чрезвычайно важную роль в патогенезе ряда злокачественных неоплазий, что обусловлено свойствами этого вирусного онкобелка. В частности, LMP1 обладает способностью трансформировать В-лимфоциты человека *in vivo* и *in vitro*, а также фибробласты грызунов (Rat-1) *in vitro*, введение которых бестимусным мышам приводит к возникновению опухолей. Кроме того, экспрессию онкобелка часто обнаруживают в ВЭБ-ассоциированных опухолях на уровне ДНК и постоянно на уровне РНК. LMP1, оказывая плейотропное действие, участвует в передаче многочисленных внутриклеточных сигналов, активируя многие из них. Он также участвует в ингибировании ключевых опухолевых супрессоров, оказывает существенное влияние на пролиферацию, апоптоз, морфологические изменения инфицированных клеток, приводя в конечном счете к их трансформации. В предлагаемом обзоре дана общая характеристика ВЭБ, кратко описаны заболевания человека, ассоциированные с этим вирусом, представлена общая характеристика гена *LMP1* и функциональная активность кодируемого им белка LMP1, подробно рассмотрен вопрос, касающийся полиморфизма LMP1 при ВЭБ-ассоциированных патологиях.

Ключевые слова: *вирус Эпштейна–Барр; белок LMP1 ВЭБ; полиморфизм; сигнальные пути.*

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60(3): 5–13.

K.V. Smirnova, S.V. Diduk, N.B. Senyuta, V.E. Gurtsevitch

Molecular biological properties of the Эpstein-Barr virus *LMP1* gene: structure, function and polymorphism

Federal State Budgetary Ssientific Institution "N.N.Blokhin Cancer Research Center", 115478, Moscow, Russia

Recent studies indicate that the latent membrane protein 1 (LMP1) encoded by the same name gene of the Epstein-Barr virus (EBV) plays an extremely important role in the pathogenesis of a number of malignant neoplasia. Specifically, LMP1 has the ability to transform human B-lymphocytes *in vivo* and *in vitro* and rodent fibroblasts (Rat-1) *in vitro*. The introduction of the latter into athymic mice leads to tumor development. In addition, expression of the oncoprotein has been often found in EBV-associated tumors at the DNA and constantly at the RNA levels. Having pleiotropic effects, LMP1, participates in the transmission and activation of multiple intracellular signals. It is also involved in the inhibition of key tumor suppressors, has significant influence on proliferation, apoptosis and morphological alteration of the infected cells finally resulting in their transformation. General characteristics of EBV and *LMP1* gene as well as functional activity of the encoded LMP1 protein and a brief description of human pathologies associated with the virus have been discussed in this review. The questions concerning the polymorphism LMP1 in EBV-associated pathologies have been also analyzed in details.

Key words: *Epstein-Barr virus (EBV); LMP1 protein; polymorphism; signaling pathways.*

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(3): 5–13. (In Russ.)

For correspondence: Kseniya Smirnova, MD, PhD; e-mail: smirnovakv@rambler.ru

Received 13.03.14

Общая характеристика вируса Эпштейна–Барр

Открытие вируса Эпштейна–Барр тесно связано с изучением лимфомы Беркитта. В 1958 г. английский хирург Денис Парсон Беркитт, работая в странах Центральной Африки, впервые описал клинико-патологическую картину ранее неизвестной болезни, впоследствии названной лимфомой Беркитта. В 1961 г. в Мидлсекском госпитале (Middlesex Hospital) Лондона Д. Беркитт изложил свои наблюдения в докладе, заинтересовавшем английского вирусолога Энтони Эпштейна, что положило начало их сотрудничеству. В 1963 г. проф. Эпштейну и д-ру Барр удалось получить стабильную клеточную линию из биопсии опухоли, предоставленной Д. Беркиттом. В результате электронно-микроскопического исследования полученной клеточной линии Э. Эпштейн, И. Барр и Б. Ачонг (специалист по электронной микроскопии) обнаружили вирусные частицы. Дальнейшее изучение морфологических и биологических характеристик вируса позволило отнести его к семейству герпесвирусов человека, поскольку этот вирус не реагировал с антителами к уже известным на то время представителям других семейств герпесвирусов. Он также не оказывал цитопатического действия на содержащие его клетки, но при этом способствовал неограниченному росту В-лимфоцитов. Впоследствии этот вирус

Для корреспонденции: Смирнова Ксения Валерьевна, канд. биол.наук; e-mail: smirnovakv@rambler.ru

был назван именами открывших его исследователей, т.е. вирусом Эпштейна - Барр (ВЭБ) [1].

В соответствии с данными Международного комитета по таксономии вирусов ВЭБ относится к семейству Herpesviridae, подсемейству Gammaherpesvirinae, роду *Lymphocryptovirus*, виду *Human herpesvirus* 4. Спектр хозяев для *Lymphocryptovirus* ограничивается отрядом приматов Старого Света, при этом единственным природным хозяином ВЭБ является человек. Сероэпидемиологические исследования выявили убиквитарный характер распространения ВЭБ в человеческой популяции. Известно также, что представители Gammaherpesvirinae способны реплицироваться в лимфобластоидных клеточных линиях, а некоторые из них, в том числе и ВЭБ, могут вызывать литическую инфекцию в эпителиальных клетках.

Инфицирование ВЭБ происходит в результате связывания вирусного мембранного гликопротеина gp350/220 с молекулой CD21, которая является поверхностным рецептором В-клеток, служащих мишенями для ВЭБ. Высокий уровень экспрессии CD21 на поверхности В-лимфоцитов и, вероятно, в меньшей степени на поверхности эпителиоцитов и некоторых Т-клеток объясняет тропизм вируса к этим типам клеток [1]. Проникновение ВЭБ в нормальные В-лимфоциты осуществляется путем рецепторного эндоцитоза. В результате слияния вирусной и эндосомной мембран происходит переход нуклеокапсида ВЭБ в цитоплазму клетки. В случае инфицирования эпителиальных клеток проникновение вирусного нуклеокапсида осуществляется, по-видимому, в результате непосредственного слияния вирусной мембраны с клеточной [1].

Подобно другим представителям семейства Herpesviridae ВЭБ характеризуется наличием непродуктивного (латентного) и продуктивного (литического) типов инфекции. Анализ экспрессии вирусного генома в ВЭБ-ассоциированных опухолях позволил выделить 3 основных типа латентной инфекции, каждый из которых играет критическую роль в клеточной трансформации. При этом обязательным условием опухолевой трансформации клетки является экспрессия части или всех вирусных латентных генов, кодирующих мембранные (LMP1, LMP2A, LMP2B) и ядерные (EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C, EBNA-LP) белки [1].

Заболевания человека, ассоциированные с ВЭБ

ВЭБ обладает онкогенным потенциалом, что проявляется его способностью инфицировать и трансформировать В-лимфоциты и эпителиальные клетки хозяина. Инфицирование ВЭБ в раннем детском возрасте протекает бессимптомно, более поздний контакт с вирусом в ~50% случаев приводит к инфекционному мононуклеозу - доброкачественному лимфопролиферативному заболеванию. ВЭБ также ассоциирован с рядом злокачественных неоплазий человека разного гистогенеза. К новообразованиям лимфоидного происхождения, ассоциированным с ВЭБ, относятся лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина (ЛХ), В-клеточные лимфомы, в основе которых лежат врожденные или приобретенные иммунодефициты, а также В-лимфопролиферативные посттрансплантационные лимфомы. Обнаружение генома вируса в эпителиоцитах рака носоглотки (РНГ) и рака желудка (РЖ) также указывает на причастность ВЭБ к возникновению этих патологий [1].

Большой неожиданностью явилось обнаружение связи между ВЭБ-инфекцией и Т-клеточными лимфомами. В настоящее время обнаружено, что ВЭБ ассоциирован по крайней мере с тремя типами Т-клеточных лимфом, включая: лимфомы, ассоциированные с так называемым гемофагоцитарным синдромом; группу назальных T/NK-клеточных лимфом; периферические Т-клеточные лимфомы ангиоиммунобластического типа [2]. Есть также основания предполагать причастность ВЭБ к генезу кожных Т-клеточных лимфом, включая грибовидный микоз [2].

Особого внимания заслуживает связь ВЭБ с заболеваниями, в основе патогенеза которых лежит малигнизация эпителиальных клеток. К числу последних относятся не только РНГ и РЖ, но также рак миндалин, тимуса и некоторые другие опухоли эпителиального происхождения. В то же время сложный механизм проникновения, распространения и установления вирусной латентной инфекции в нормальных и патологически измененных клетках остается не до конца изученным. Широкое распространение вируса в сочетании с географической и расовой избирательностью для ряда ВЭБ-ассоциированных неоплазий, позволяет сделать вывод о необходимости присутствия дополнительных факторов в возникновении этих патологий.

Общая характеристика, регуляция активности гена *LMP1*

LMP1 (BNLF1) – это ген ВЭБ, кодирующий поздний латентный трансмембранный белок 1 (LMP1), являющийся основным трансформирующим белком вируса. Транскрипция гена *LMP1* осуществляется в противоположном направлении по отношению к большинству других латентных генов ВЭБ. LMP1 обладает тремя различными рамками считывания, локализованными в области BamHI-N вируса. Белок способен трансформировать различные культуры клеток грызунов (NIH/3T3, BALB/3T3, Rat-1 и др.), кератиноциты человека [3], а также играет ключевую роль в иммортализации и пролиферации В-лимфоцитов человека *in vitro* [4].

LMP1 представляет собой белок массой 63 кДа, состоящий из 386 аминокислотных (а.к.) остатков (рис. 1). В состав молекулы белка входят 6 трансмембранных доменов (162 а.к.) и 2 цитоплазматических – короткий N-терминальный (24 а.к.) и длинный С-терминальный домены (200 а.к.). Каждый из доменов LMP1 играет определенную структурно-функциональную роль. Так, трансмембранные гидрофобные домены белка не только участвуют в его закреплении в цитоплазматической мембране, но и влияют на олигомеризацию его молекул, что важно для процесса передачи внутриклеточных сигналов [5]. Кроме того, показано, что именно трансмембранный домен LMP1 обусловливает цитостатическое/цитотоксическое воздействие на клетку [6]. Аминотерминальный цитоплазматический домен LMP1 в большей степени, чем другие домены, причастен к локализации молекулы белка в мембране, а также участвует в процессе его убиквитинирования и последующей деградации [7]. В состав карбокситерминального цитоплазматического домена LMP1 входят две С-терминальные трансактивирующие области (CTAR): и проксимальная CTAR1 (194 - 232 а.к.), и дистальная CTAR2 (351 - 386 а.к.) области ответственны за активацию целого

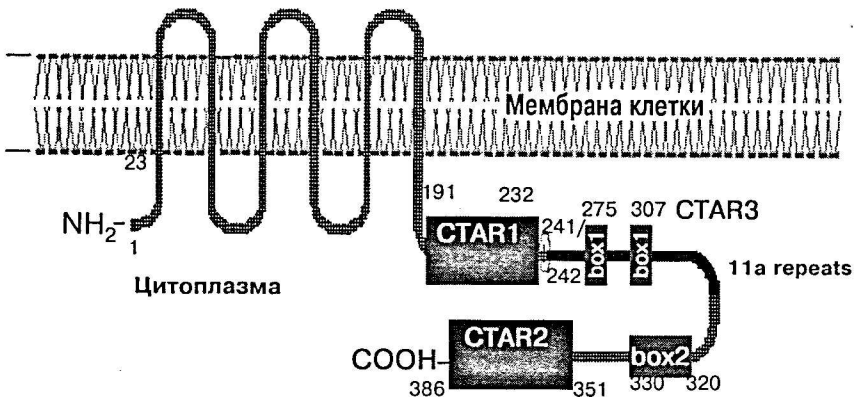

Рис. 1. Схематическое изображение структуры латентного мембранного белка 1 (LMP1) вируса Эпштейна–Барр.

CTAR – С-терминальные трансактивирующие области LMP1. Проксимальная CTAR1 (194 -232 а.к.) и дистальная CTAR2 (351- 386 а.к.) трансактивируют целый спектр клеточных сигнальных каскадов, внося вклад в трансформирующий потенциал LMP1. CTAR3 (275–330 а.к.) предположительно отвечает за активацию STAT3 (Signal Transducers and Activators of Transcription) посредством привлечения нерецепторной Janus тирозинкиназы 3 (JAK3).

Два мотива box1 (275 - 280 и 302 - 307 а.к. соответственно) и один мотив box2 (320 - 330 а.к.) - консенсусные сайты LMP1, взаимодействующие с членами JAK семейства и, как предполагается, их активирующие.

ряда клеточных сигнальных каскадов, что определяет значение этих участков в трансформирующем потенциале LMP1 [1]. Ряд исследователей выделяет дополнительную область – CTAR3 (275–330 а.к.), которая предположительно отвечает за активацию STAT3 посредством привлечения JAK3 [8]. Кроме того, недавно показано, что CTAR3 посредством взаимодействия с Ubc9 может участвовать в LMP1-опосредованной миграции трансформированных клеток [9].

В регуляции транскрипции *LMP1* принимают участие многие белки ВЭБ. Так, EBNA2 (ядерный антиген 2 вируса ВЭБ) выполняет роль *транс*-активатора вирусных генов, включая *LMP1, LMP2A, LMP2B* и вирусный промотор Ср, а также клеточных протоонкогенов *c-fgr* и *c-myc*. Помимо *EBNA2* в регуляции транскрипции LMP1 принимают участие и другие вирусные белки. На клеточной линии лимфомы Беркитта показано, что белок EBNA-LP может стимулировать EBNA2-опосредованную активацию *LMP1*. Другой латентный белок EBNA-3C также выступает в роли коактиватора транскрипции *LMP1* посредством его взаимодействия с транскрипционным фактором PU.1, что подтверждается активацией экспрессии репортерных генов с PU.1 связывающих сайтов [10].

При литическом типе инфекции наблюдается образование укороченной формы белка LMP1, что связано с экспрессией гена *LMP1* с промотора ED-L1A. Молекулярная масса образуемого так называемого литического белка LMP1 (lyLMP1, также известного как D1LMP1 или trLMP1) составляет 45 кДа. Промотор ED-L1A локализован в 1-м интроне гена *LMP1* и присутствует во всех вариантах ВЭБ [11]. Однако инициация трансляции lyLMP1 зависит от наличия метионина в стартовом кодоне в 129 положении в третьем экзоне открытой рамки считывания. Если в этом положении располагается изолейцин, трансляция lyLMP1 с промотора ED-L1A блокируется [12].

В настоящее время биологическая роль белка варианта lyLMP1 понятна не до конца. Установлено, что этот белок не активирует сигнальные пути, его экспрессия не приводит к трансформации клетки, более того, он даже может ингибировать некоторую сигнальную активность LMP1 [12]. Эпидемиологические исследования гена *LMP1* показали, что его литический вариант присутствует у 60% изолятов ВЭБ, циркулирующих у больных с различными ВЭБ-ассоциированными патологиями, и совсем не выявляется среди изолятов *LMP1*, выделенных из опухолевой ткани недифференцированного РНГ носоглотки [13]. Подобные наблюдения наводят на мысль о том, что селективное эволюционное давление, возможно, направлено на подавление экспрессии литической формы белка при данной патологии. Этот эффект, по-видимому, связан с доминантно-негативной регуляцией онкогенной активности белка LMP1, вызванной молекулой lyLMP1 [14].

Функциональная активность белка LMP1

Молекула LMP1 по своим функциональным и структурным особенностям напоминает постоянно активированный лиганднезависимый рецептор. LMP1 способен взаимодействовать с адапторными молекулами TRAF, что позволяет сопоставлять этот белок с клеточными рецепторами TNFR1 (рецептором фактора некроза опухоли1) и CD40 [1]. Такая особенность LMP1 обуславливает его участие в передаче внутриклеточных сигналов (рис.2.). Белок LMP1 индуцирует по крайней мере 7 сигнальных путей, 5 из которых активируются карбоксильным цитоплазматическим доменом молекулы. Как упоминалось выше, в составе LMP1 выделяют несколько функционально активных областей, наиболее значимые из них (CTAR1 и CTAR2) ответственны за непосредственное взаимодействие со специфическими клеточными факторами и активацию ряда сигнальных путей, таких как NF-kB, JNK, p38 MAPK, JAK/STAT и PI3-K/Akt [1].

Наиболее значимым среди активируемых сигнальных каскадов является активация транскрипционного фактора (ТФ) NF-kB, который в свою очередь трансактивирует большое количество генов, играющих ключевую роль в иммунитете и воспалительных реакциях организма, а также в регуляции клеточной пролиферации, апоптоза и миграции клеток. Экспериментально подтверждено, что CTAR2 является более сильным активатором NF-kB, чем CTAR1,и ответственен примерно за 70 - 80% общей NF-kB- активности, опосредованной LMP1 [1].

Следует отметить характерные особенности LMP1 в рекрутировании адапторных молекул. В более ранних работах, исследовавших этот процесс, показано, что для активации NF-kB белок LMP1 рекрутирует TRADD- и TRAF2- молекулы аналогично рецептору TNFR1 [15, 16], хотя в работе L. Wu и соавт. установлено, что канонический путь активации ТФ NF-kB молекулой LMP1 осуществляется через взаимодействие CTAR2-области с TRAF6-TAK1-IKKβ. При этом показано, что в отличие от рецептора TNFR1 молекулы TRADD, MyD88,

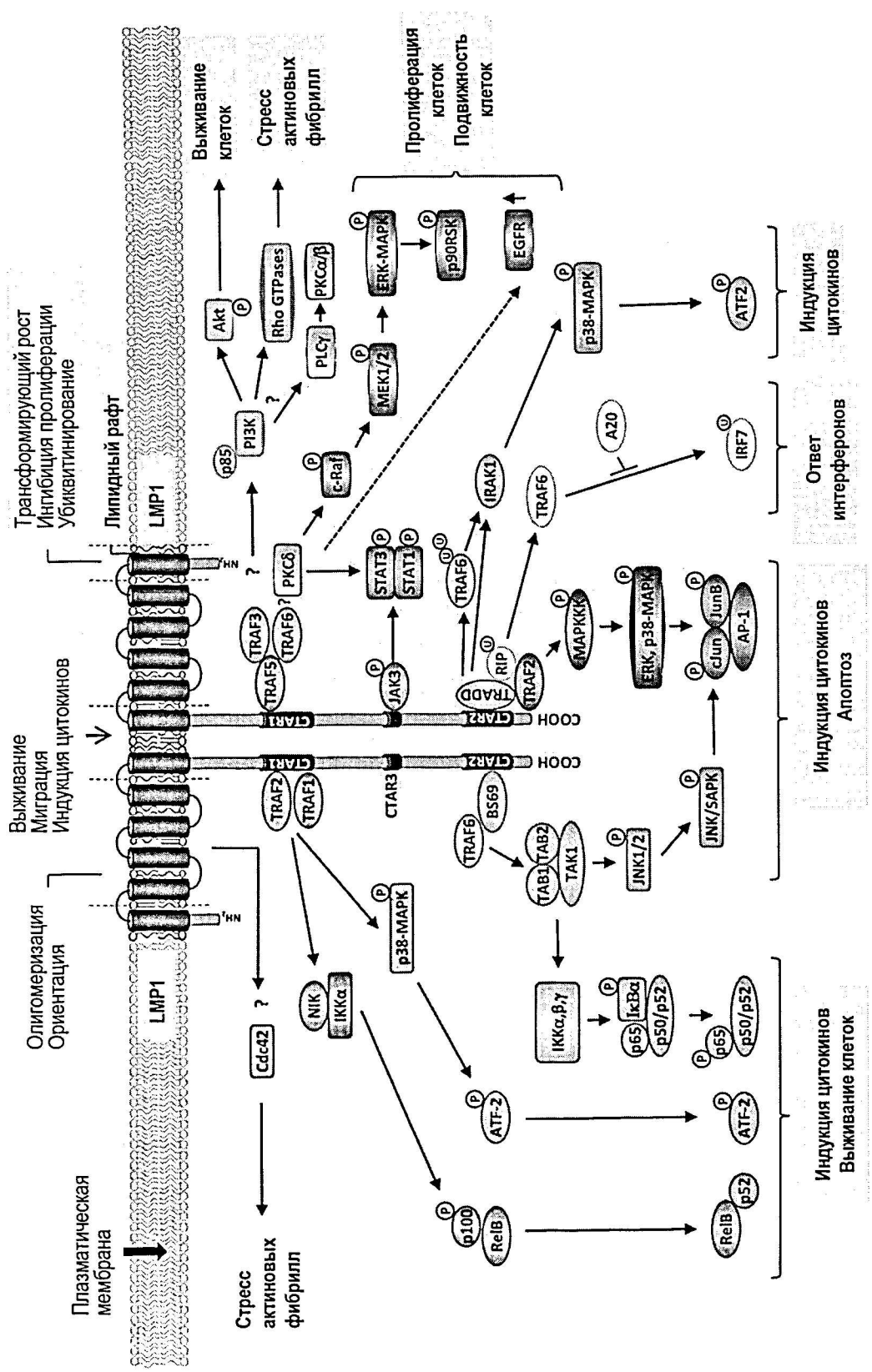

Рис. 2. Сигнальные пути онкобелка LMP1, кодируемого вирусом Эпштейна–Барр.

Представлены основные функциональные свойства N-терминальной, трансмембранной и С-терминальной областей LMP1 и активируемые ими клеточные сигнальные пути. С-терминальная область содержит 3 сигнальных домена (CTAR1, CTAR2 и CTAR3), которые рекрутируют TNFR-ассоциированные сигнальные адаптерные (TRAF, TRADD,RIP), BS69 и JAK-3 белки. Эти белки активируют такие сигнальные пути, как NF-kB, JNK/SAPK, PI3-K/Akt, ERK-MAPK, PLC/PKC и JAK/STAT, которые совместно индуцируют экспрессию многочисленных расположенных ниже эффекторов, вносящих вклад в разнообразные клеточные процессы - пролиферацию и выживаемость, мобильность и инвазию.

U – убиквитинирование; P – фосфорилирование.

Модификация рис. 1 из статьи Dawson C.W. et al. Seminars in Cancer Oncology. 2012; 22:144–53.

IRAK1/4, TAB2 и MEKK1 не являются необходимыми для активации ТФ NF-kB белком LMP1 [17]. Кроме того, неканонический (альтернативный) путь активации NF-kB осуществляется посредством взаимодействия CTAR1-области с молекулами TRAF3-NIK-IKKα [18].

Интересной представляется созданная модель, объясняющая понижение чувствительности клеток, трансформированных LMP1, к ростингибирующему сигналу. На данной модели показано, каким образом LMP1 может нарушать Smad-опосредованную трансактива-

цию через взаимодействие активированного ТФ NF-kB с гистоновой ацетил-трансферазой p300/CBP [19, 20].

При различных стрессовых воздействиях на клетку (УФ-радиация, тепловой шок) активируется другой (альтернативный NF-kB) сигнальный путь – JNK/AP-1 [21, 22]. Установлено, что при таких стрессовых состояниях в процессе передачи сигнала активное участие принимают члены семейства клеточных рецепторов фактора некроза опухоли TNFR (TNFR1, TNFR2) и CD40 [23, 24]. Активация JNK молекулой LMP1 также может представлять собой клеточный ответ на стресс, вызываемый этим белком. Несмотря на то что активация AP-1, вероятно, осуществляется через CTAR2-домен, выявлены варианты LMP1, повышенная способность которых активировать этот транскрипционный фактор, не связана с какими-либо заменами аминокислот в доменах LMP1, в том числе в CTAR2 [22]. Согласно данным, полученным рядом авторов, постоянная экспрессия некоторых вариантов LMP1 (LMP1-B95-8 и LMP1-Cao) в различных клеточных линиях сопровождается относительно низким уровнем конститутивной активации AP-1 [25, 26].

Обе области С-концевого цитоплазматического домена LMP1 (CTAR1 и CTAR2) участвуют в активации еще одного сигнального пути – p38 MAPK [27]. Результатом активации p38 MAPK является усиление экспрессии ИЛ-6 и ИЛ-8. Оба цитокина, как известно, играют важную роль в инициации и поддержании иммунного ответа и острой воспалительной реакции. ИЛ-8 также индуцирует ангиогенез и миграцию клеток и влияет на усиление метастатического потенциала в клетках меланомы [28]. Активация p38 MAPK, по-видимому, является важным событием и в жизненном цикле вируса, на что указывает участие этого сигнального пути в негативной регуляции репликации ВЭБ с OriP [29].

Способность LMP1 активировать фосфатидилинозит-3-киназный сигнальный путь (PI3-K/Akt) позволяет объяснить многочисленные фенотипические изменения, связанные с экспрессией LMP1 в различных клеточных культурах. Ведущую роль в активации PI3-K/Akt белком LMP1, очевидно, играет домен CTAR1. Результатом этой активации являются изменения в цитоскелете клетки, сопровождающиеся значительным увеличением количества актиновых филаментов [30].

Следует также отметить еще один так называемый JAK-STAT-сигнальный путь, в активации которого также принимает участие молекула LMP1. В составе С-концевого цитоплазматического домена LMP1 находятся два идентичных мотива box1 (275 - 280 и 302 - 307 а.к. соответственно) и 1 мотив box2 (320 - 330 а.к.). Мотивы box1 находятся в богатой пролином области повторов LMP1, которая, как полагают, необходима для активации JAK3-киназы [31]. Известно также, что разные варианты LMP1 имеют примерно одинаковый уровень активации этого сигнального пути [30].

Плейотропное действие LMP1 на клетку проявляется и его способностью влиять на активацию синтеза индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и продукцию окиси азота (NO) [32]. NO представляет собой свободный короткоживущий радикал, образующийся во многих типах клеток и имеющий важное биологическое значение. В качестве одного из мессенджеров клетки NO участвует в регуляции систем внутри- и межклеточной сигнализации [33]. Являясь активной формой азота, NO наряду с цитокинами влияет на клеточные эффекторные системы, контролирующие пролиферацию, апоптоз и дифференцировку клетки, а также ее устойчивость к стрессовым воздействиям. Внутриклеточный синтез NO осуществляется ферментом NO-синтазой (NOS). В настоящее время известно 3 изоформы NOS: нейрональная (nNOS, тип I), индуцибельная (iNOS, тип II) и эндотелиальная (eNOS, тип III). Две из них (nNOS и eNOS) конститутивно экспрессируются в клетке, iNOS образуется de novo как ответная реакция клетки на стресс или в результате действия разного рода клеточных цитокинов [34]. Показано, что уровни экспрессии iNOS и синтеза NO в клетке коррелируют со степенью туморогенности вариантов LMP1 и предположительно связаны с наличием Cao-специфической делеции, локализованной в области CTAR2 LMP1 [35]. В работе J.Yu и соавт. были впервые выявлены функциональные различия между низкотуморогенным вариантом LMP1-B95-8 и тайваньским высокотуморогенным изолятом LMP1-1510, полученным из опухолевой ткани больного РНГ [35]. Последний из двух указанных вариантов характеризовался неспособностью вызывать индукцию синтазы окиси азота (iNOS) и соответственно синтезировать это химическое соединение (NO). Низкий уровень продукции NO непосредственно коррелировал не только со способностью клеток мышей, трансформированных LMP1-1510, расти в среде без подложки, но и с туморогенностью, тогда как клетки, трансформированные LMP1-B95-8, продуцировали значительные количества NO и не обладали туморогенными свойствами [35].

Известно также, что LMP1 участвует в ингибировании ключевых опухолевых супрессоров (p53 и RASSF1A), в результате чего обеспечивается резистентность инфицированных ВЭБ клеток к апоптозу [36]. Под влиянием LMP1 p53, действуя как ТФ, стимулирует транскрипционную активность сурвивина, что приводит к быстрому прохождению G1/S-фаз клеточного цикла, не влияя при этом на апоптотический процесс [37]. Кроме того, активность LMP1 играет важную роль в индукции эпителиально-мезенхимального перехода (EMT), усилении клеточной подвижности, связанной с инвазией и метастазированием. EMT сопровождается экспрессией маркеров клеток-предшественников рака и приобретением стволовыми клетками свойств клеток-предшественников [38].

Следует отметить, что за последние годы в изучении функций LMP1 достигнут значительный прогресс. Данные, полученные в результате проведенных исследований позволяют нам приблизиться к пониманию роли LMP1 в целом ряде важных процессов, нарушение которых оказывает существенное влияние на пролиферацию, апоптоз, морфологические изменения клеток, что в конечном счете предопределяет способность нормальной клетки превращаться в злокачественную. Углубленное изучение механизмов трансформации клетки, связанных с нарушением белком LMP1 нормальной работы определенных клеточных сигнальных путей, - основное направление современных исследований.

Полиморфизм LMP1 при ВЭБ-ассоциированных патологиях

Интерес к изучению генетической неоднородности LMP1 появился после обнаружения варианта Cao , который был амплифицирован из опухолевой ткани больного РНГ [39]. Указанный вариант гена в основ-

ном обнаруживается в эндемичных для этого заболевания регионах: южных провинциях Китая и странах Юго-Восточной Азии. Для варианта LMP1-Cao и схожих с ним вариантов (1510 и C15) характерно наличие большого числа мутационных изменений [40]. Это и Cao-специфическая делеция 10 а.к., и 3 повтора 11 а.к., локализованные между CTAR1- и CTAR2-доменами, а также многочисленные точечные мутации. Обнаруженные генетические изменения в LMP1-Cao нашли отражение не только в изменении молекулярной массы этой молекулы, увеличив ее за счет повторов до 66 кДа, но и в увеличении периода полу-жизни белка. Высокая эффективность в активации ряда ТФ и способность трансформировать трансфецированные этим белком клетки также являются отличительными признаками Cao варианта LMP1 [41].

Обнаружение высокотрансформирующих вариантов LMP1, подобных китайскому Cao, тайваньскому 1510 и средиземноморскому C15, послужило важным стимулом к проведению серии аналогичных исследований в различных регионах мира. Так, в опухолевой ткани больных ЛХ были обнаружены различающиеся трансформирущие варианты *LMP1* [42]. Аналогичные различия были выявлены и в патологических тканях больных острым лимфобластным лейкозом и полицитемией [43]. Данные варианты LMP1 характеризовались отсутствием делеции 30 п.н., а точечные замены а.к. в его белковой молекуле имели уникальный характер, отличный от Cao и других высокотрансформирующих прототипов LMP1. Более того, вариант LMP1-S от больного ЛХ является единственным в настоящий момент вариантом LMP1, имеющим, кроме точечных замен а.к., дополнительную нуклеотидную вставку в 132 п.н. между а.к. 276 и 277 прототипа B95-8; данная вставка кодирует мотив PSQQS, который является потенциальным сайтом связывания для TRAF-молекул.

Результаты первых поисков Cao-подобных изолятов *LMP1* при различных ВЭБ-ассоциированных патологиях были весьма многообещающими. Такие изоляты были обнаружены в 10–30% случаев ЛХ в Европе [44], почти во всех случаях РНГ и Т-клеточных лимфом на Тайване [45], в 93% случаев РНГ, лимфом желудка и РЖ в Южном Китае (Гонконг) [46], в 65% случаев в европейских Т-клеточных периферических лимфомах, в 100% малазийских аналогичных лимфом [47], в 100% случаев ЛХ у больных СПИДом, в 90–100% случаев назальных T/NK-клеточных лимфом в Японии, в ряде случаев ангиоиммунобластических лимфоаденопатий [48, 49], у 43,2% здоровых носителей ВИЧ [50] и т. д. Однако одновременно было показано, что Cao-делеция 30 п.н. обнаруживается и в 85–90% генов *LMP1*, выделенных от здоровых лиц в тех же самых географических регионах: в эндемичных по РНГ районах южного Китая [46, 51], в Европе [52], Японии и Бразилии [53]. Выявление Cao-подобных генов *LMP1* у здоровых лиц как в эндемичных, так и в неэндемичных по ВЭБ-ассоциированным заболеваниям регионах, свидетельствует об отсутствии четкой корреляции между персистенцией штаммов ВЭБ, несущих такие гены, и возникновением этих заболеваний [51].

В настоящее время предполагается, что образование Cao-подобных делеционных мутантов может возникать de novo [54]. При этом в ряде работ высказывается предположение, что процент выявления Cao-вариантов *LMP1* выше при условиях, способствующих активной репликации ВЭБ (инфаркт миокарда, хроническая ВЭБ-инфекция, ВЭБ-ассоциированный гемофагоцитарный синдром, посттрансплантационный синдром, различные лимфаденопатии, ротовые волосковые лейкоплакии при СПИДе) [55, 56]. Корреляция между наличием делеции в 30 п.н. и активной репликацией генома ВЭБ хорошо согласуется с моделью, предложенной K. Sandvej и соавт., в соответствии с которой присутствие глициновых повторов R1 и R2 в C-концевой области LMP1 приводит к их неправильному спариванию и в конечном счете к появлению одной делецированной и одной исходной цепей ДНК [52]. Необходимо отметить, что в редких случаях выявляются Cao-подобные мутанты с более обширной делецией данной области в 64 и 69 п.н. [51, 57].

Изучение полиморфизма гена *LMP1* и его возможной связи с ВЭБ-ассоциированными заболеваниями позволило получить важную информацию о существовании различных изоформ этого гена и классифицировать их по группам. Такая классификация была предложена K. Sandvej и соавт. на основании анализа изолятов *LMP1* из 62 лимфобластоидных клеточных линий, полученных от 34 лиц европейского происхождения без каких-либо признаков ВЭБ-ассоциированного заболевания. Все исследуемые ими образцы изолятов гена были разделены на 4 основные группы, обозначенные как A, B, C и D [52]. Группа A характеризовалась 6 единичными заменами в гене и единичной заменой в промоторе, т.е. образцы *LMP1* этой группы были идентичными прототипному варианту *LMP1*-B95-8. Группа B включала изоляты гена с 4 мутациями в промоторе, 19 единичными заменами в гене, делецией в 15 п.н. и 6 повторами в 33 п.н., но без делеции в 30 п.н., которая была характерна для образцов группы C. Из 44 единичных замен, обнаруженных в этой группе, 35 оказались общими для высокотуморогенного *LMP1-Cao* и 36 – с клоном 1510. В группу D вошли изоляты, характеризующиеся потерей сайта рестрикции Xho I, а также наличием 35 единичных нуклеотидных замен в области промотора и 66 единичных замен в гене. Важно отметить, что транслированные а.к. варианты группы A, а также представители остальных групп содержат несколько Cao-специфических замен а.к.: I85L (изолейцин на лейцин), F106Y (фенилаланин на тирозин), G212S (глицин на серин) и S366T (серин на треонин). Кроме того, большинство изолятов, относящиеся к любым группам, содержали дополнительные случайные мутации.

Классификация гена *LMP1*

На основании генетически однотипных образцов *LMP1*, амплифицированных от больных с ВЭБ-ассоциированной патологией и здоровых лиц из различных географических регионов, R. Edwards и соавт. предложили классификацию, составленную с учетом результатов исследования более 400 вариантов последовательностей гена [58]. В этой классификации в основу обозначения вариантов *LMP1*, таких как Alaskan, China 1(Ch1), China 2 (Ch2), China 3 (Ch3), Mediterranean + (Med+), Mediterranean – (Med-), New York City (NC), легла частота их географической встречаемости. Последующие исследования показали, что частота обнаружения этих вариантов для раз-

личных патологий, ассоциированных с ВЭБ, также существенно варьирует.

Относительно недавно в работе D. Walling и соавт. на основе сиквенсного анализа определенных участков С-концевой области *LMP1* были выделены 22 сиквенсных варианта/генотипа *LMP1*. Эти же авторы предположили, что, по-видимому, существует 3 основных молекулярных механизма, обеспечивающих генетическое разнообразие *LMP1*, а именно: возникновение точечных мутаций, ведущих к замене отдельных аминокислот; образование делеций и дупликаций; гомологичная рекомбинация как следствие ко-инфекции лимфоидных или эпителиальных клеток двумя различными штаммами ВЭБ, причем, по мнению авторов, эволюция гена *LMP1* ускоряется в результате ко-инфицирования человека множественными штаммами ВЭБ, содержащими соответствующие генетические варианты *LMP1* [54].

Другая группа исследователей под руководством N. Raab-Traub охарактеризовала 6 групп изолятов гена *LMP1*, выделенных из клинического материала в различных регионах мира. Белковые варианты этих групп, известные как Ch1, Ch2, Med+, Med-, а также North Carolina (NC) и Alaskan (согласно классификации, предложенной в работе Edwards [58]), отличаются наличием так называемых ключевых аминокислотных замен по сравнению с LMP1 прототипного штамма вируса B95-8. Однако эти замены не обнаружены ни в CTAR1, ни в CTAR2 регионах белка. Как известно, между этими областями у вариантов Ch1 и Med+ имеется Cao-подобная делеция 10 а.к., с которой связывают усиленный трансформирующий потенциал. Каждый представитель из 6 указанных выше вариантов *LMP1* был детально охарактеризован по его способностям трансформировать клетки млекопитающих (Rat-1), вызывать активацию ТФ NF-kB, а также связывать один из клеточных белков из семейства Е3-убиквитинлигаз (HOS/β-TrCP). Хотя по полученным результатам не удалось выявить, по мнению авторов, прямой корреляции между наличием мутаций в сайтах связывания HOS/β-TrCP в различных изолятах *LMP1* и усилением трансформирующей активности *in vitro*, было показано, что варианты Ch1 и Alaskan, которые в меньшей степени связывали комплекс Е3-убиквитинлигазы, персистируют в регионах, высоко эндемичных по РНГ человека. У этих же вариантов обнаружен и наиболее высокий уровень активации NF-kB [8]. Нужно тем не менее отметить, что данные этой работы находятся в противоречии с результатами работы W. Tang и соавт., обнаруживших четкую корреляцию между понижением способности вариантов *LMP1* связывать HOS/β-TrCP и их трансформирующей активностью в культуре клеток [59]. Дальнейший функциональный анализ различных сочетаний часто встречающихся точечных мутаций CTAR-регионов LMP1, нарушающих HOS-мотивы (а именно G212S, S350A и S366T), выявил повышение уровня активации ТФ NF-kB и протеинкиназы-В (PKB/Akt), но только при наличии двойных (G212S/S350A, G212S/S366T) и тройной (Triple) (G212S/S350A/S366T) мутаций. Обнаружено также отсутствие влияния указанных мутаций на уровень активации ТФ AP-1 [60]. При этом показано, что мутантные варианты LMP1 вызывают активацию индуцибельной формы NO-синтазы (iNOS). В частности, при экспрессии в фибробластах Rat-1 вариантов LMP1-Cao и LMP1-Triple (с нарушениями в обоих HOS-мотивах) наблюдалось снижение уровня NO, что, вероятно, способствует выживаемости и усилению туморогенных свойств трансформированных ими клеток.

Необходимо отметить, что персистенция ВЭБ с мутантными вариантами *LMP1* в любом географическом регионе не исключает возможной этиологической роли этих вариантов гена в возникновении ВЭБ-ассоциированных неоплазий в определенных случаях у определенных лиц. Учитывая, однако, что латентный период при многих ВЭБ-ассоциированных патологиях занимает десятки лет, а также необходимость участия в этом процессе многих кофакторов, сложно осуществить длительный мониторинг группы лиц, инфицированных определенным штаммом ВЭБ с соответствующим ему геном *LMP1*, чтобы доказать этиологическую роль этого штамма в возникновении опухоли.

На основании анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) эндонуклеазами рестрикции BamHI и XhoI выделяют 3 основных варианта ВЭБ. Прототип F с BamHI-областью широко распространен во всех странах мира, а вариант "f", характеризующийся наличием внешнего BamHI сайта, обнаруживается только у жителей южных провинций Китая, где выявлена его ассоциация с РНГ. На основе полиморфизма BamHI W1/I1 регионов выделяют 2 типа – "I" и "i". Тип "I" характеризуется отсутствием BamHI-сайта и доминирует среди здоровых людей и больных с ВЭБ-ассоциированными патологиями в Японии и Китае. Тип "i", содержащий BamHI-рестрикционный сайт, преобладает в странах Западной Европы. Наконец, отсутствие в 1-м экзоне гена *LMP1* рестрикционного сайта XhoI определяет генотип $XhoI^-$, который часто встречается в Азии, в то время как вариант $XhoI^+$ преобладает среди жителей стран Запада. Так, в работе Corvalan и соавт. показано, что среди ВЭБ-ассоциированных случаев РЖ доминируют определенные варианты ВЭБ (а именно тип "i"/$XhoI^+$), но у здоровых доноров этот вариант встречается с той же частотой, что и остальные типы. Полученные данные противоречат существующей гипотезе, согласно которой распространение определенных штаммов ВЭБ, а соответственно и вариантов *LMP1* связано с географическими регионами, а не с конкретной ВЭБ-ассоциированной патологией.

Заключение

В настоящее время имеются убедительные данные, подтверждающие важную роль ВЭБ в патогенезе ряда злокачественных новообразований. Показано, что LMP1, являющийся основным онкобелком ВЭБ, оказывает существенное влияние на поведение как лимфоидных, так и эпителиальных клеток, стимулируя различные клеточные процессы, такие как пролиферация, выживание, подвижность и инвазия. В то же время многие вопросы до сих пор остаются без ответа. В частности, неизвестны условия и механизмы возникновения ВЭБ-ассоциированных неоплазий у вирусоносителей, особенно вне эндемичных зон. До сих пор окончательно не выяснено, как ВЭБ инфицирует клетки слизистой оболочки носоглотки. Не изученным остается и существование расовой/этнической предрасположенности к определенным ВЭБ-ассоциированным опухолям, и вклад в ВЭБ-ассоциированный канцерогенез многих факторов

окружающей среды. Кроме хорошо известных рост-стимулирующих свойств LMP1, этот белок модулирует и иммунные ответы. В этой связи представляется актуальным выяснение роли LMP1 в уклонении ВЭБ от иммунного воздействия, а также вопрос о том, как эта стратегия, приводящая к установлению персистенции вируса в организме, вносит свой вклад в ускользание ВЭБ-позитивных опухолей от иммунного ответа.

Поскольку клеточное окружение является важным фактором при определении биологического влияния LMP1 на клеточные сигнальные процессы, будущие исследования, видимо, следует фокусировать на идентификации опухолевых клеток-предшественников, изучении ключевых сигнальных путей, а также нижерасположенных эффекторов, подвергающихся воздействию LMP1. Используя современные методы исследования (микрочиповый, протеомный, мРНК и другие анализы), можно сравнить уровни экспрессии клеточных генов на белковом и РНК-уровнях в присутствии или в отсутствии гена *LMP1*. Эти исследования позволят получить важную информацию о кластерах генов, выборочно экспрессированных или репрессированных в присутствии *LMP1*, которые могут стать потенциальными объектами терапевтического воздействия при опухолях, ассоциированных с этим вирусом.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 14-04-01810а, № 12-04-00805а и № 10-04-00060а.

ЛИТЕРАТУРА (ПП. 1–59 СМ. REFERENCES)

60. Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Функциональный анализ вариантов латентного мембранного белка 1 (LMP1) вируса Эпштейна-Барр у больных лимфопролиферативными заболеваниями. *Биомедицинская химия.* 2011; 57(1): 114–26.

REFERENCES

1. Young L.S., Rickinson A.B. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat. Rev. Cancer.* 2004; 4(10): 757–68.
2. Shimakaze M., Sasagawa T., Kawahara K., Yutsudo M., Kusuoka H., Kozuka T. Expression of Epstein-Barr virus in cutaneous T-cell lymphoma including mycosis fungoides. *Int. J. Cancer.* 2001; 92: 226–31.
3. Fahraeus R., Rymo L., Rhim J. S., Klein G. Morphological transformation of human keratinocytes expressing the LMP gene of Epstein-Barr virus. *Nature.* 1990; 345: 447-9.
4. Kaye K., Izumi K., Kieff E. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993; 90: 9150–4.
5. Mosialos G., Birkenbach M., Yalamanchili R., Van Arsdale T., Ware C., Kieff E. The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell.* 1995; 80(3): 389–99.
6. Nitta T., Chiba A., Yamashita A., Rowe M., Israel A., Reth M. et al. NF-kB is required for cell death induction by latent membrane protein 1 of Epstein–Barr virus. *Cell. Signal.* 2003; 15: 423–33.
7. Aviel S., Winberg G., Massucci M., Ciechanover A. Degradation of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) by the ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biolog. Chem.* 2000; 275(31): 23491–9.
8. Mainou B.A., Raab-Traub N. LMP1 strain variants: biological and molecular properties. *J. Virol.* 2006; 80: 6458–68.
9. Bentz G.L., Whitehurst C.B., Pagano J.S. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) C-terminal-activating region 3 contributes to LMP1-mediated cellular migration via its interaction with Ubc9. *J. Virol.* 2011; 85(19): 10144–53.
10. Jime'nez-Rami'rez C., Brooks A.J., Forshell L.P., Yakimchuk K., Zhao B., Fulgham T.Z. et al. Epstein-Barr virus EBNA-3C is targeted to and regulates expression from the bidirectional LMP-1/2B promoter. *J. Virol.* 2006; 80(22): 11200–8.
11. Erickson K.D., Berger C., Coffin W.F., Schiff E., Walling D.M., Martin J.M. Unexpected absence of the Epstein-Barr virus (EBV) lyLMP-1 open reading frame in tumor virus isolates: lack of correlation between Met129 status and EBV strain identity. *J. Virol.* 2003; 77(7): 4415–22.
12. Erickson K.D., Martin J.M. The late lytic LMP-1 protein of Epstein-Barr virus can negatively regulate LMP-1 signaling. *J. Virol.* 2000; 74(2): 1057–60.
13. Martel-Renoir D., Grunewald V., Touitou R., Schwaab G., Joab I. Qualitative analysis of the expression of Epstein-Barr virus lytic genes in nasopharyngeal carcinoma biopsies. *J. Gen. Virol.* 1995; 76(Pt 6): 1401–8.
14. Pandya J., Walling D.M. Oncogenic activity of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) is down-regulated by lytic LMP-1. *J. Virol.* 2006; 80(16): 8038–46.
15. Kaye K.M., Devergne O., Harada J.N., Izumi K.M., Yalamanchili R., Kieff E. et al. Tumor necrosis factor receptor associated factor 2 is a mediator of NF-kB activation by latent infection membrane protein 1, the Epstein–Barr virus transforming protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996; 93: 11085–90.
16. Kieser A., Kaiser C., Hammerschmidt W. LMP1 signal transduction differs substantially from TNF receptor 1 signaling in the molecular functions of TRADD and TRAF2. *EMBO J.* 1999; 18(9): 2511–21.
17. Wu L., Nakano H., Wu Z. The C-terminal activating region 2 of the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 activates NF-kB through TRAF6 and TAK1. *J. Biol. Chem.* 2006; 281(4): 2162–9.
18. Luftig M., Yasui T., Soni V., Kang M.-S., Jacobson N., Cahir-McFarland E. et al. Epstein–Barr virus latent infection membrane protein 1 TRAF-binding site induces NIK/IKKα-dependent noncanonical NF-kB activation.*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(1): 141–6.
19. Takanashi M., Li J., Shirakata M., Mori S., Hirai K. Tumorigenicity of mouse BALB/c 3T3 fibroblast cells which express Epstein-Barr virus-encoded LMP1 and show normal growth phenotypes in vitro is correlated with loss of transforming growth factor-b1-mediated growth inhibition. *Arch. Virol.* 1999; 144: 241–57.
20. Prokova V, Mosialos G., Kardassis D. Inhibition of transforming growth factor β signaling and Smad-dependent activation of transcription by the latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(11): 9342–50.
21. Zanke B.W., Rubie E.A., Winnett E., Tibbles L.A., Zon L., Kyriakis J. et al. The stress-activated protein kinase pathway mediates cell death following injury induced by cis-platinum, UV irradiation or heat. *Curr. Biol.* 1996; 6: 606–13.
22. Fritz G., Kaina B. Activation of c-Jun N-terminal kinase 1 by UV irradiation is inhibited by wortmannin without affecting c-jun expression. *Mol. Cell. Biol.* 1999; 19(3): 1768–74.
23. Berberichl I., Shu G., Siebelt F., Woodgett J.R., Kyriakis J.M., Clark E.A. Cross-linking CD40 on B cells preferentially induces stress-activated protein kinases rather than mitogen-activated protein kinases. *EMBO J.* 1996; 15(1): 92–101.
24. Reinhard C., Shamoon B., Shyamala V., Williams L.T. Tumor necrosis factor a-induced activation of c-jun N-terminal kinase is mediated by TRAF2. *EMBO J.* 1997; 16(5): 1080–92.
25. Kieser A., Kilger E., Gires O., Ueffing M., Kolch W., Hammerschmidt W. Epstein–Barr virus latent membrane protein-1 triggers AP-1 activity via the c-Jun N-terminal kinase cascade. *EMBO J.* 1997; 16: 6478–85.
26. Dawson C.W., Port R.J., Young L.S. The role of the EBV-encoded latent membrane proteins LMP1 and LMP2 in the pathogenesis of nasopharingeal carcinoma (NPC). *Semin. Cancer Biol.* 2012; 22: 144–53.
27. Eliopoulos A.G., Gallagher N.J., Blake S.M.S., Dawson C.V., Young L.S. Activation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway by Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 coregulates interleukin-6 and interleukin-8 production. *J. Biol. Chem.* 1999; 274(23): 16085–96.
28. Luka J., Kallin B., Klein G. Induction of Epstein-Barr virus (EBV) cycle in latently infected cells by n-butyrate. *Virology.* 1979; 92: 228–31.
29. Shirakata M., Imadome K.-I., Okazaki K., Hirai K. Activation of TRAF5 and TRAF6 signal cascades negatively regulates the latent replication origin of Epstein-Barr virus through p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Virol.* 2001; 75(11): 5059–68.
30. Fielding C.A., Sandvej K., Mehl A., Brennan P., Jones M., Rowe M. Epstein-Barr virus LMP-1 natural sequence variants differ in their potential to activate cellular signaling pathways. *J. Virol.* 2001; 75(19): 9129–41.
31. Gires O., Kohlhuber F., Kilger E., Baumann M., Kieser A., Kaiser C. et al. Latent membrane protein 1 of Epstein–Barr virus interacts with JAK3 and activates STAT proteins. *EMBO J.* 1999; 18(11): 3064–73.

32. Riches D.W.H., Chan E.D., Zahradka E.A., Winston B.W., Remigio L.K., Lake F.R. Cooperative signaling by tumor necrosis factor receptors CD120a (p55) and CD120b (p75) in the expression of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase by mouse macrophages. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(35): 22800–6.
33. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.* 1992; 6: 3051–64.
34. Kleinert H., Euchenhofer C., Ihrig-Biedert I., Forstermann U. In murine 3T3 fibroblasts, different second messenger pathways resulting in the induction of NO synthase II (iNOS) converge in the activation of transcription factor NF-kB. *J. Biol. Chem.* 1996; 271(11): 6039–44.
35. Yu J.S., Tsai H.C., Wu C.C., Weng L.P., Li H.P., Chung P.J. et al. Induction of inducible nitric oxide synthase by Epstein-Barr virus B95-8-derived LMP1 in Balb/3T3 cells promotes stress-induced cell death and impairs LMP1-mediated transformation. *Oncogene.* 2002; 14(21): 8047–61.
36. Li L., Li W., Xiao L., Xu J., Chen X., Tang M. et al. Viral oncoprotein LMP1 disrupts p53-induced cell cycle arrest and apoptosis through modulating K63-linked ubiquitination of p53. *Cell Cycle.* 2012; 11: 2327–36.
37. Guo L., Tang M., Yang L., Xiao L., Bode A.M., Li L. et al. Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1 mediates survivin upregulation by p53 contributing to G1/S cell cycle progression in nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Mol. Med.* 2012; 29: 574–80.
38. Horikawa T., Yoshizaki T., Kondo S., Furukawa M., Kaizaki Y., Pagano J.S. Epstein-Barr Virus latent membrane protein 1 induces Snail and epithelial-mesenchymal transition in metastatic nasopharyngeal carcinoma. Br. *J. Cancer.* 2011; 104(7): 1160–7.
39. Edwards R.H., Sitki-Green D., Moore D.T., Raab-Traub N. Potential selection of LMP1 variants in nasopharyngeal carcinoma. *J. Virol.* 2004; 78(2): 868–81.
40. Hu L.-F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.-L., Ernberg I., Klein G. et al. Isolation and sequencing of the Epstein-Barr virus BNLF-1 gene (LMP1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J. Gener. Virol.* 1991; 72: 2399–400.
41. Blake S.M., Eliopoulos A.G., Dawson C.W., Young L.S. The transmembrane domains of the EBV-encoded latent membrane protein 1 (LMP1) variant Cao regulate enhanced signalling activity. *Virology.* 2001; 282: 278–87.
42. Johnson R.J., Stack M., Hazlewood S.A., Jones M., Blackmore C.G., Hu L.-F. et al. The 30-base-pair deletion in chinese variants of the Epstein-Barr virus LMP1 gene is not the major effector of functional differences between variant LMP1 genes in human lymphocytes. *J. Virol.* 1998; 72(5): 4038–48.
43. Fischer N., Kopper B., Graf N., Schlehofer J., Grässer F., Mueller-Lantzsch N. Functional analysis of different LMP1 proteins isolated from Epstein-Barr virus-positive carriers. *Virus Res.* 1999; 60: 41–54.
44. Knecht H., Bachmann E., Brousset P., Sandvej K., Nadal D., Bachmann F. et al. Deletions within the LMP1 oncogene of Epstein-Barr virus are clustered in Hodgkin's disease and identical to those observed in nasopharyngeal carcinoma. *Blood.* 1993; 82(10): 2937–42.
45. Chang Y.-S., Su I.-J., Chung P.-J., Shu Ch.-H., Ng Ch.-K., Wu S.-J. et al. Detection of an Epstein-Barr virus variant in T-cell-lymphoma tissues identical to the distinct strain observed in nasopharyngeal carcinoma in the Taiwanese population. *Int. J. Cancer.* 1995; 62: 673–7.
46. Cheung S.-T., Lo K.-W., Leung S., Chan W.-Y., Choi P., Jonhson P. et al. Prevalence of LMP1 deletion variant of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma and gastric tumors in Hong Kong. *Int. J. Cancer.* 1996; 66: 711–2.
47. Sandvej K., Peh S., Andresen B., Pallesen G. 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 periferal T-cell lymphomas. *Blood.* 1994; 84: 4053–60.
48. Knecht H., Bachmann E., Brousset P., Rothenbergar S., Einsele H., Lestou V. et al. Mutational hot spots within the carboxy terminal region of the LMP1 oncogene of Epstein-Barr virus are frequent in lymphoproliferative disorders. *Oncogene.* 1995; 10: 523–8.
49. Knecht H., Martius F., Bachmann E., Hoffman T., Zimmermann D., Rothenberger S. et al. A deletion mutant of the LMP-1 oncogene of Epstein-Barr virus is associated with evolution of angioimmunoblastic lymphadenopathy into B immunoblastic lymphoma. *Leukemia.* 1995; 9: 458.
50. Dolcetti R., Zancai P., de Re V., Gloghini A., Bigoni B., Pivetta B. et al. Epstein-Barr virus strains with latent membrane protein-1 deletions: prevalence in the Italian population and high association with human immunodeficiency virus-related Hodgkin's disease. *Blood.* 1997; 89: 1723–31.
51. Khanim F., Yao Q.-Y., Niedobitek G., Sihota S., Rickinson A.B., Young L.S. Analysis of Epstein-Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations. *Blood.* 1996; 88(9): 3491–501.
52. Sandvej K., Gratama J.W., Munch M., Zhou X.G., Bolhuis R.L., Andersen B.S. et al. Sequence analysis of the Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein-1 gene and promoter region: identification of 4 variants among wild-type EBV isolates. *Blood.* 1997; 90: 323–30.
53. Hayashi K., Chen W.-C., Chen Y.-Y., Murakami I., Chen H.-L., Ohara N. et al. Deletion of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 gene in Japanese and Brazilian gastric carcinomas, metastatic lesions, and reactive lymphocytes. *Am. J. Pathol.* 1998; 152(1): 191–8.
54. Walling D., Shebib N., Weaver S., Nichols M.,. Flaitz C., Webster-Cyriaque J. The molecular epidemiology and evolution of Epstein-Barr virus: sequence variation and genetic recombination in the latent membrane protein-1 gene. *J. Infect. Dis.* 1999; 179: 763–74.
55. Itakura O., Yamada S., Narita M., Kikuta H. High prevalence of a 30-base pair deletion and single-base mutations within the carboxy terminal end of the LMP-1 oncogene of Epstein-Barr virus in the Japanese population. *Oncogene.* 1996; 13: 1549–53.
56. Palefsky J., Berline J., Penaranda M., Lennette E., Greenspan D., Greenspan J. Sequence variation of latent membrane protein-1 of Epstein-Barr virus strains associated with hairy leukoplakia. *J. Infect. Dis.* 1996; 173: 710–4.
57. Rothenberger S., Bachmann E., Knecht H. Molecular and functional analysis of the Epstein-Barr virus LMP1 oncogene promotor in lymphoproliferative diseases. *Exp. Hematol.* 1997; 25: 1326.
58. Edwards R., Seillier Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acids changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261: 79–95.
59. Tang W., Pavlish O.A., Spiegelman V.S., Parkhitko A.A., Fuchs S.Y. Interaction of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 with $SCF^{FBOS/\beta\text{-}TrCP}$ E3 ubiquitin ligase regulates extent of NF-kB activation. *J. Biol.Chem.* 2003; 278(49): 48942–9.
60. Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevich V.E. Functional analysis of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) in patients with lymph proliferative diseases. *Biomeditsinskaya Khimia.* 2011; 57(1): 114–26. (in Russian)

Поступила 13.03.14