

## Korelasi antara Imunoekspresi LMP-1 Virus Epstein-Barr dengan Respon Kemoterapi CHOP pada Limfoma Maligna Non-Hodgkin Tipe *Diffuse Large B Cell*.

Inas Susanti, Hasrayati Agustina, Afati, Bethy S. Hernowo  
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran  
Bandung

### ABSTRAK

#### Latar belakang

*Diffuse Large B Cell Lymphoma* (DLBCL) merupakan salah satu jenis limfoma maligna non-Hodgkin (LNH) tipe sel B yang sering terjadi. *Epstein-Barr virus* (EBV) diduga berperan dalam perkembangan limfoma jenis ini terutama pada usia penderita di atas 50 tahun. Regimen kemoterapi *cyclophosphamide*, *hydroxydaunorubicin*, *oncovin*, *prednison* (CHOP) merupakan terapi standar penderita LNH, tetapi 30% kasus tidak berespon dan terjadi progresi penyakit bahkan sampai terjadi kematian. Sampai saat ini belum ditemukan faktor prediktor yang akurat dalam memperkirakan respon kemoterapi CHOP pada penderita DLBCL. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran LMP-1 untuk memprediksi respon kemoterapi CHOP pada penderita DLBCL.

#### Metode

Penelitian dilakukan secara retrospektif pada 34 kasus DLBCL sejak Januari 2009 sampai Juni 2011 di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung. Semua sediaan dinilai ulang untuk menentukan diagnosis berdasarkan klasifikasi WHO 2001 berupa pulasan HE dan imunohistokimia dengan CD20 kemudian dipulas LMP-1. Uji korelasi rank *Spearman* digunakan untuk analisa data.

#### Hasil

Hasil penelitian ini menunjukkan imunoekspresi LMP-1 sebanyak 31 kasus (91,18%) dari 34 kasus DLBCL dan negatif pada 3 kasus (8,82%). Tiga kasus dengan LMP-1 negatif memiliki respon kemoterapi yang baik, sedangkan dari 31 kasus LMP-1 positif, 21 di antaranya memiliki respon kemoterapi yang baik, 10 kasus respon yang buruk. Tidak terdapat korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon kemoterapi CHOP pada DLBCL ( $p=0,436$ ).

#### Kesimpulan

Tidak terdapat korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon kemoterapi CHOP pada LNH tipe DLBC.

**Kata kunci :** CHOP, DLBCL, EBV, limfoma non-Hodgkin, LMP-1.

### ABSTRACT

#### Background

Diffuse large B cell lymphoma is the most common type of B-cell non-Hodgkin malignant lymphoma. Epstein-Barr virus (EBV) has been shown to contribute to the development of this tumor especially in the elderly patient (above 50 years). The chemotherapeutic agents CHOP (Cyclophosphamide, Hydroxydaunorubicin, Oncovin, Prednison) are standard treatment for non-Hodgkin lymphoma patients, but approximately 30% cases shows non-response with standard chemotherapy and undergoes progressive disease until death. There are no accurate predictor factors in predicting CHOP chemotherapy response in patients with DLBCL. The aim of this study is to determine the role of LMP-1 in predicting CHOP chemotherapy response in patients with DLBCL.

#### Methods

This study was done retrospectively in 34 cases of DLBCL. The samples were obtained from the Anatomic Pathology Department of Dr. Hasan Sadikin Hospital from January 2009 to Desember 2011. All cases were reviewed for histopathological diagnoses based on the WHO Classification of 2001 and the specimens were stained with specific antibodies against CD 20 (for diagnoses DLBCL) and LMP-1. The data were analyzed using rank *Spearman's* correlation test.

#### Results

This study showed that 31 cases (91.18%) were LMP-1 positive, only 3 cases (8.82%) were negative. Three cases of negative LMP-1 had a good response to chemotherapy, whereas among 31 positive cases LMP-1 showed good response to chemotherapy in 21 cases and the remaining 10 cases had a poor response to chemotherapy. There was no correlation between EBV-LMP-1 immunoeexpression with CHOP chemotherapy response in DLBCL ( $p=0.436$ ).

#### Conclusion

There was no correlation between EBV-LMP-1 immunoeexpression with CHOP chemotherapy response in DLBCL.

**Key words:** CHOP, DLBCL, EBV, LMP-1, non-Hodgkin lymphoma.

## PENDAHULUAN

*Diffuse large B cell lymphoma* (DLBCL) ialah neoplasma sel limfosit B dengan inti besar dua kali lebih besar dari ukuran limfosit normal, vesikuler dan anak inti jelas dengan pola pertumbuhan yang tersebar (difus).<sup>1-2</sup> Penyakit ini merupakan jenis limfoma maligna non-Hodgkin (LNH) yang paling banyak ditemukan, yaitu lebih dari 28%.<sup>3</sup> Insidens DLBCL dengan *Epstein-Barr virus* (EBV) positif di Negara Asia mencapai 8%-10% dari seluruh kasus DLBCL, sedangkan di negara barat insidensinya lebih tinggi yaitu 20%-25% pada usia lebih dari 50 tahun.<sup>2</sup> Beberapa agen infeksi telah terbukti berperan dalam perkembangan limfoma. DLBCL pada orang tua lebih dari 50 tahun diduga disebabkan oleh infeksi EBV, kemungkinan berhubungan dengan perubahan sistem imun pada proses penuaan.<sup>4</sup> Beberapa studi menunjukkan bahwa penderita DLBCL dengan EBV positif memiliki respon kemoterapi lebih buruk dari penderita DLBCL dengan EBV negatif.<sup>5-7</sup>

Standar kemoterapi LNH yang dipakai di RS. Dr. Hasan Sadikin Bandung ialah *cyclophosphamide*, *hydroxydaunorubicin*, *oncovin*, *prednison* (CHOP). *Cyclophosphamide* berperan dalam merusak DNA sel tumor, *hydroxydaunorubicin* berperan dalam menghentikan progresi siklus sel dan proses apoptosis, *Oncovin* berperan dalam menghambat mitosis, *Prednison* berperan dalam apoptosis dan penghentian siklus sel pada fase G1.<sup>8</sup> Mekanisme kerja kemoterapi CHOP pada tumor ialah melalui inhibisi mitosis, merusak DNA sel tumor, menginduksi pelepasan sitokrom c yang dikontrol oleh p53 dari mitokondria, inhibisi sintesa DNA sel tumor, menghentikan progresi siklus sel dan memulai perbaikan DNA. Semua proses tersebut merangsang terjadinya apoptosis terhadap sel tumor melalui jalur intrinsik.<sup>8</sup> Terapi CHOP merupakan terapi standar DLBCL, tetapi pada penderita lanjut usia angka respon komplit hanya sebesar 40-50% dan sekitar 30% menunjukkan respon kemoterapi buruk dan terjadi progresi penyakit bahkan sampai terjadi kematian.<sup>9</sup>

Salah satu cara untuk mendeteksi adanya EBV ialah dengan pemeriksaan imunohistokimia yang menggunakan antibodi terhadap *latent membrane protein-1* (LMP-1).<sup>10</sup> Protein LMP-1 ialah salah satu protein yang ditranslasi oleh gen laten, yaitu suatu protein transmembran yang penting dalam transformasi

pertumbuhan sel yang diinfeksi oleh EBV dan berperan sebagai onkogen melalui proses imortalisasi dan transformasi sel B yang mengalami infeksi laten, serta menghambat proses apoptosis.<sup>5, 11-13</sup>

Secara klinis parameter yang digunakan untuk menilai respon terapi dan faktor prognostik ialah menggunakan skor *International Prognostic Index* (IPI), komponen yang dinilai dalam IPI ialah usia, *lactate dehydrogenase* (LDH), status performa, stadium klinik dan lesi ektranodal. Skor IPI dapat digunakan untuk memprediksi respon kemoterapi dan prognosis penderita limfoma. Akan tetapi hasil skor IPI ini masih tidak pasti, pada beberapa kasus dengan indeks IPI yang sama terdapat perbedaan respon terapi dan angka kekambuhan penderita LNH tipe sel B.<sup>14</sup> Sampai saat ini belum ditemukan faktor prediktor yang akurat dalam memperkirakan respon kemoterapi CHOP pada penderita DLBCL. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya imunoekspresi LMP-1 serta mengevaluasi imunoekspresi LMP-1 dalam memprediksi respon kemoterapi CHOP pada DLBCL.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan menggunakan sampel sediaan blok parafin limfoma maligna non-Hodgkin yang diperiksa di Laboratorium Patologi Anatomi RS. Dr. Hasan Sadikin Bandung periode Januari 2009-31 Desember 2011. Subyek penelitian ialah 34 blok parafin yang pada pulasan HE didiagnosis sebagai LNH tipe difus jenis sel besar atau campuran. Masing-masing blok parafin dipotong setebal 5 mikron, dibuat 3 sediaan yaitu untuk pulasan HE, CD20 (untuk menentukan diagnosis DLBCL) dan LMP-1. Kemudian dilakukan deparafinasi dengan xylol dan dehidrasi dengan alkohol dan air. Imunohistokimia menggunakan teknik baku streptavidin-biotin dengan antibodi primer *mouse monoclonal antihuman CD20* (L26) dari *Biocare Medical* dengan pengenceran 1:150 dan *mouse anti-Epstein-Barr virus, LMP clones 1-4* (DAKO) dengan pengenceran 1:250. Imunoekspresi CD 20 dinyatakan positif bila membran dan sitoplasma sel tumor terpulas warna coklat di bawah mikroskop cahaya. Imunoekspresi LMP-1 dinyatakan positif bila membran dan sitoplasma<sup>15</sup> atau inti<sup>16</sup> terpulas warna coklat. Kontrol positif yang digunakan pada LMP-1 ialah sediaan karsinoma nasofaring jenis tidak ber-

diferensiasi yang pasti positif mengandung LMP-1.<sup>17</sup> Masing-masing sediaan diberi skor persentase sel tumor yang terpulas dengan pulasan imunohistokimia LMP-1, sebagai berikut.<sup>15</sup>

Tabel 1. Evaluasi ekspresi LMP-1 pada preparat penelitian.

Skor	Distribusi sel yang positif	Skor	Intensitas
0	Tidak ada sel yang positif	0	Tidak ada warna
1	Sel yang positif ≤10%	1	Ada warna, intensitas lemah (coklat muda/pucat)
2	Sel yang positif 11-50%	2	Ada warna intensitas lemah dan sedang (coklat)
3	Sel yang positif 51-80%	3	Ada warna intensitas lemah, sedang dan kuat (coklat tua)
4	Sel yang positif ≥80%		

Dikutip dari: Kasprzak<sup>15</sup>

Skor akhir distribusi x intensitas= 0-12 dengan pengelompokan sebagai berikut: 0= negatif, 1-2= positif lemah, 3-4= positif sedang, 6-12= positif kuat.

Kriteria respon kemoterapi didapat dari rekam medis penderita kemudian ditentukan berdasarkan ketentuan *International Working Group (IWG)* revisi tahun 2007 yang terdiri dari pemeriksaan fisik, jumlah pembesaran kelenjar getah bening dan perubahan ukuran nodul kelenjar getah bening. Sedangkan biopsi sumsum tulang tidak disertakan karena biopsi sumsum tulang masih jarang dilakukan di RSHS karena belum menjadi prosedur tetap dalam penanganan penderita LNH di RSHS. Pada penelitian ini penderita disebut berespon jika memenuhi kriteria respon komplit dan respon sebagian. Penderita disebut tidak respon jika memenuhi kriteria penyakit progresif. Hubungan imunoekspresi LMP-1 EBV dengan respon kemoterapi CHOP dianalisa dengan uji korelasi *rank Spearman*.

**HASIL**

Selama periode Januari 2009 sampai Desember 2011 di Departemen Patologi Anatomic RS. Dr. Hasan Sadikin Bandung, terkumpul 208 kasus LNH, akan tetapi yang memenuhi kriteria inklusi dalam penelitian ini ialah sebanyak 34 kasus.

Hasil pengamatan menunjukkan DLBCL lebih banyak ditemukan pada kelompok usia kurang atau sama dengan 60 tahun, yaitu sebanyak 22 kasus (64,71%). Usia termuda

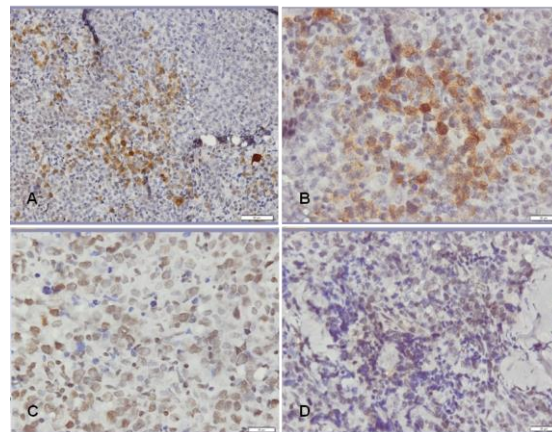
ialah 19 tahun dan tertua 74 tahun. Rata-rata usia penderita DLBCL ialah 51,9 tahun. Lebih sering ditemukan pada laki-laki, yaitu 20 kasus (58,82%). Terdapat 24 kasus (70,59%) termasuk dalam kategori respon terhadap kemoterapi CHOP.

Berdasarkan Tabel 2, tiga kasus (8,83%) dengan LMP-1 negatif termasuk dalam kriteria berespon terhadap kemoterapi CHOP. Kasus dengan imunoekspresi LMP-1 positif 2 sebanyak 7 kasus terdiri dari 6 kasus (17,65%) termasuk dalam kriteria respon dan 1 kasus (10%) termasuk dalam kriteria tidak respon.

Tabel 2. Distribusi respon kemoterapi CHOP berdasarkan tingkat imunoekspresi LMP-1.

Karakteristik	Respon kemoterapi		Statistik
	Respon	Tidak respon	
Imunoekspresi LMP-1			$r_s = -0,368$ $p = 0,436$
Negatif (0)	3 (8,83%)	0	
Positif (1)	1 (2,94%)	0	
Positif (2)	6 (17,65%)	1 (10%)	
Positif (3)	5 (14,71%)	2 (20%)	
Positif (4)	4 (%)	2 (20%)	
Positif (6)	4 (%)	3 (30%)	
Positif (8)	0	0	
Positif (9)	0	2 (20%)	
Positif (12)	1 (%)	0	
Total	24 (70,59%)	10 (29,41%)	

Uji statistik menggunakan korelasi *rank Spearman* antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon kemoterapi CHOP menunjukkan yang berarti tidak terdapat korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon kemoterapi CHOP.



Gambar 1. A. Imunoekspresi LMP-1 EBV skor 2 (11-50%) (Objektif 20x), B. Intensitas pulasan kuat (Objektif 40x), C. Intensitas pulasan sedang (Objektif 40x), D. Intensitas pulasan lemah (Objektif 40x).

**DISKUSI**

Pada penelitian ini didapatkan imunoekspresi LMP-1 positif cukup tinggi, yaitu 91,18%, angka ini lebih tinggi dari beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Beberapa kepustakaan menyatakan imunoekspresi LMP-1 pada LNH sel B sangat bervariasi di antaranya penelitian Nguyen-Van dkk yang meneliti imunoekspresi LMP-1 pada EBV-DLBCL of the elderly di Australia pada tahun 2011 sebanyak 14 kasus didapatkan imunoekspresi LMP-1 positif lebih dari 90% kasus.<sup>18</sup> Quintanilla-Martinez dalam artikelnya menyatakan imunoekspresi LMP-1 positif pada kasus DLBCL di Perancis sebesar 85,7% yaitu 6 dari 7 kasus.<sup>19</sup> Penelitian Kasprzak dkk yang meneliti imunoekspresi LMP-1 pada LNH sel B anak-anak di Poznan pada tahun 2007, mendapatkan imunoekspresi LMP-1 positif 73% dari 26 kasus yang diteliti,<sup>15</sup> sedangkan penelitian d'Amore dkk di Denmark pada tahun 1996 meneliti imunoekspresi LMP-1 positif pada LNH sel B, didapatkan imunoekspresi LMP-1 positif sebanyak 7% dari 232 kasus yang diteliti.<sup>20</sup> Tingginya angka imunoekspresi LMP-1 positif pada sampel penelitian ini yaitu 91,18% memiliki arti penting, mengingat pemeriksaan imunoekspresi LMP-1 spesifik untuk penanda infeksi EBV.<sup>21</sup> Hal ini berarti bahwa penderita LNH tipe DLBC yang berobat ke RSHS sebagian besar berhubungan dengan infeksi EBV.

Beberapa penelitian yang menilai korelasi antara DLBCL dengan EBV positif dengan respon kemoterapi menunjukkan hasil yang bervariasi. Castillo dkk menyatakan bahwa DLBCL dengan EBV positif berhubungan dengan respon kemoterapi, serta dapat dijadikan sebagai faktor prediksi respon terapi.<sup>5</sup> Penelitian yang dilakukan Park dkk terhadap 232 pasien DLBCL dengan EBV positif dihubungkan dengan respon kemoterapi, menunjukkan bahwa DLBCL dengan EBV positif memiliki respon kemoterapi yang lebih buruk, yaitu *response rate* 72% pada DLBCL dengan EBV positif dan 92% pada DLBCL dengan EBV negatif.<sup>22</sup> Hu LF dkk pada tahun 1995 meneliti korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon terapi pada karsinoma nasofaring, menemukan bahwa imunoekspresi LMP-1 positif berhubungan dengan hasil terapi yang lebih baik dari karsinoma nasofaring LMP-1 negatif.<sup>23</sup> Penelitian d'Amore dkk di Denmark pada tahun 1996 meneliti korelasi imunoekspresi LMP-1

positif pada LNH dengan respon dan prognosis yang buruk, menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon terapi dan tidak terdapat perbedaan *survival* antara T-NHL EBER-positif yang ekspresi LMP-1 positif dengan LMP-1 negatif.<sup>20</sup> Dibandingkan dengan penelitian di atas, hasil penelitian ini sesuai dengan d'Amore dkk, yaitu tidak terdapat korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon kemoterapi CHOP pada penderita DLBCL.

Hasil penelitian yang berbeda-beda ini kemungkinan terjadi karena beberapa faktor, antara lain: adanya mutasi pada LMP-1, perbedaan geografis, perbedaan tipe EBV, serta banyaknya faktor yang mempengaruhi terjadinya apoptosis. Penelitian Kim dkk di Malaysia pada 8 kasus DLBCL dengan EBV positif menunjukkan adanya mutasi gen LMP-1, yaitu delesi 30-bp (*base pair*) sebanyak 75% atau 6/8 kasus. Adanya mutasi gen LMP-1 ini diduga berpengaruh terhadap kemungkinan perubahan dalam transformasi keganasan.<sup>24</sup> Delesi ini berpengaruh terhadap perubahan kemampuan gen LMP-1 dalam sel B menjadi non-imunogenik, serta berhubungan dengan patogenesis tumor atau peningkatan potensi onkogenik serta progresi penyakit.<sup>25</sup> Gen LMP-1 tipe *wild* dan delesi 30 bp memiliki efektivitas yang sama dalam mengaktifkan NFkB.<sup>26</sup> Gen LMP-1 tipe delesi 30 bp lebih banyak ditemukan di Asia, sedangkan di Eropa, Caucasia dan Amerika distribusi gen LMP-1 tipe *wild* dan delesi sama banyaknya. Secara *in vitro* delesi *C-terminal* berhubungan dengan pemanjangan *half life* gen LMP-1 sekitar 30-70%, sangat toksik dan berpengaruh terhadap *turn over* protein. Secara *in vivo* pada pasien penyakit Hodgkin yang memiliki gen LMP-1 tipe delesi menunjukkan gejala klinis sangat agresif dan pada histopatologik banyak terdapat nekrosis.<sup>27-28</sup> Gen LMP-1 tipe delesi 69 bp lebih jarang ditemukan dan secara geografis insidens delesi pada gen LMP-1 ini berbeda-beda.<sup>29</sup>

Perbedaan tipe EBV yang menginfeksi individu di suatu daerah juga dapat menimbulkan perbedaan, menurut Hu LF dkk terdapat dua tipe EBV, yaitu tipe A dan tipe B, tipe EBV ini ditentukan dari kode regio EBNA2.<sup>23</sup> Virus Epstein-Barr tipe A ditemukan eksklusif pada darah perifer orang-orang negara barat<sup>25</sup> dan hanya 3% saja yang membawa EBV tipe B.<sup>23</sup> Sebaliknya kedua tipe A dan B ini ditemukan

sangat tinggi insidensinya pada orang normal di Afrika. Tipe A berperan jauh lebih efisien dalam immortalisasi sel B dari pada EBV tipe B dan tipe B hanya efektif dalam transformasi sel B pada orang yang lemah daya tahan tubuhnya.<sup>23,25</sup> Oleh karena itu perlu diteliti lebih lanjut mengenai jenis tipe EBV serta adanya mutasi pada gen LMP-1.

**KESIMPULAN**

Tidak terdapat korelasi antara imunoekspresi LMP-1 dengan respon kemoterapi CHOP pada penderita LNH tipe DLBC.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Rosai J. Lymph Nodes. In: Rosai J, editor. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2011.
- Stein H, Warnke RA, Chan WC, Jaffe ES, Chan JKC, Gatter KC, *et al*. Diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, *et al*, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC; 2008.
- Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006; 107: 265-76.
- Nakamura S, Jaffe ES, Swerdlow SH. EBV Positive diffuse Large B-cell lymphoma of the elderly. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, *et al*, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC; 2008.
- Castillo JJ, Beltran BE, Miranda RN, Paydas S, Winer ES, Butera JN. Epstein-Barr Virus-Positive diffuse large B-Cell lymphoma of the elderly: What We Know So Far. *Oncologist*. 2011;16:87-96.
- Oyama T, Yamamoto K, Asano N. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients. *Clin Cancer Res*. 2007;13:5124-32.
- Park S, Lee J, Ko Y. The Impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood J Haematol*. 2007;110:972-8.
- Chabner B, Lynch TJ, Longo D. Harrison's Manual of Oncology. New York: McGraw-Hill; 2008.
- Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood*. 2003; 101: 4279-84.
- Hamilton-Dutoit S, Rea D, Raphael M. Epstein-Barr virus-latent gene expression and tumor cell phenotype in acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol*. 1993; 143: 1072-83.
- Carbone A, Gloghini A, Dotti G. EBV-associated lymphoproliferative disorders: classification and treatment. *Oncologist*. 2008; 13: 577-85.
- Howley PM, DeMasi J. Infectious agents and cancer. In: Mendelsohn, Howley, Israel, Gray, Thompson, editors. The molecular basis of cancer. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008.
- Larcher C, Bernhard D, Schaadt E, Adler B, Ausserlechner MJ, Mitterer M, *et al*. Functional analysis of the mutated Epstein-Barr virus oncoprotein LMP169del: implications for a new role of naturally occurring LMP1 variants. *Haematol J Hematol*. 2003; 88: 1324-35.
- Muris J, Cillessen S, Vos W. Immunohistochemical profiling of caspase signaling pathways predicts clinical response to chemotherapy in primary nodal diffuse large B-cell lymphomas. *Blood Am Soc Haematol*. 2004; 07: 2915-24.
- Kasprzak A, Spachacz R, Wachowiak J, Stefańska K, Zabel M. Epstein-Barr virus (EBV) infection in B-cell non-Hodgkin's lymphomas in children: virus latency and its correlation with CD21 and CD23 molecules. *Fol Histochem Cytobiol*. 2007; 45: 169-79.
- Li W, Wu B-A, Zeng Y-M, Chen G-C, Li X-X, Chen J-T, *et al*. Epstein-Barr Virus in Hepatocellular carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2004;10:3409-13.
- Dako Cytomation. Monoclonal Mouse. Anti-Epstein-Barr virus, LMP. Clones CS.1-4.
- Nguyen-Van D, Keane C, Han E, Jones K, Nourse JP, Vari F, *et al*. Epstein-Barr virus positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly expresses EBNA3A with conserved

- CD8+ T cell epitopes. *Am J Blood Res.* 2011;1:146-59.
19. Quintanilla-Martinez L, Jong Dd, Mascarel Ad, Hsi ED, Kluin P, Natkunam Y, *et al.* Gray zones around diffuse large B cell lymphoma. Conclusions based on the workshop of the XIV meeting of the European Association for Hematopathology and the Society of Hematopathology in Bordeaux, France. *J Hematopathol.* 2009; 2: 211-36.
  20. d'Amore F, Johansen P, Houmand A, Weisenburger DD, Mortensen LS. Epstein-Barr virus genome in non-Hodgkin's lymphomas occurring in immunocompetent patients: highest prevalence in nonlymphoblastic T-cell lymphoma and correlation with a poor prognosis. *Blood.* 1996;87: 1045-55.
  21. Higgins RA, Blankenship JE, Kinney MC. Application of immunohistochemistry in the diagnosis of non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132: 441-61.
  22. Park C-H, Kim H-R, Kim J, Jang S-H, Lee K-Y, Chung G-H, *et al.* Latent Membrane Protein 1 of Epstein-Barr virus plays an important role in the serum starvation resistance of Epstein-Barr virus-immortalized B lymphocytes. *J Cell Biochem.* 2004; 91: 777-85.
  23. Hu L, Chen F, Zhen Q, Zhang Y, Luo Y, Zheng X, *et al.* Differences in the growth pattern and clinical course of EBV-LMP-1 expressing and nonexpressing nasopharyngeal carcinomas. *Eur J Cancer.* 1995; 31A: 658.
  24. Kim L-H, Peh S-C. Epstein-Barr virus associated lymphomas in Malaysia: high frequency of a 30 bp deletion in the viral latent membrane protein-1 (LMP-1) Oncogen. *J Clin Exp Hematopathol.* 2003; 43: 11-9.
  25. Peh S-C, Kim L-H, Mun K-S, Tan E-L, Sam C-K, Poppema S. Epstein-Barr virus (EBV) subtypes and variants in malignant tissue from Malaysian patients. *J Clin Exp Hematopathol.* 2003; 43: 61-9.
  26. Tao Q, Robertson KD, Manns A, Hildesheim A, Ambinder RF. Epstein-Barr virus (EBV) in endemic Burkitt's lymphoma : molecular analysis of primary tumor tissue. *Blood.* 1998; 91: 1373-81.
  27. Knecht H, Bachmann E, Brousset P, Sandvej K, Nadal D, Bachmann F, *et al.* Deletions Within the LMPI oncogene of Epstein-Barr virus are clustered in Hodgkin's disease and identical to those observed in nasopharyngeal carcinoma. *Blood* 1993; 82: 2937-40.
  28. See HS, Yap YY, Yip WK, Seow HF. Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP-1) 30-bp deletion and Xho I-loss is associated with type III nasopharyngeal carcinoma in Malaysia. *World J Surg Oncol.* 2008; 6: 1-10.
  29. Barozzi P, Luppi M, Cagossi K, Maiorana A, Marasca R, Artusi T, *et al.* The oncogenic 30 and 69 bp deletion variants of the EBV LMP-1 gene are common in HIV-negative lymphoproliferations, both malignant and benign. *Ann Oncol.* 1999; 10: 467-9.