

Current Trends in Studies of Epstein-Barr Virus (EBV) Associated Gastric Carcinoma

Minjung Lee^{1§}, Eunhyun Ryu^{1§}, Gi-Ho Sung², Yu Su Shim³, Jong Gwang Kim⁴,
Byung Woog Kang⁴, Hyosun Cho⁵ and Hyojeung Kang^{1*}

¹College of Pharmacy, Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Institute for Microorganisms, Kyungpook National University, Daegu; ²Institute for Bio-Medical Convergence and Institute for Integrative Medicine, International St. Mary's Hospital and College of Medicine, Catholic Kwandong University, Incheon; ³Department of Medicinal Crop Research, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Eumseong; ⁴Department of Oncology/Hematology, Kyungpook National University Medical Center, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu; ⁵College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul, Korea

EBV infection has been causally associated with incidence of many carcinomas. EBV-associated gastric carcinoma (EBVaGC) has been classified as a unique gastric carcinoma subset, suggesting EBV infection is related to the development of gastric cancer. In this study, general trends of EBVaGC studies for last half-decades were reviewed in several perspectives of clinical significance, virological importance and etiological interests. Throughout this comprehensive reviewing, new study trends of EBV and EBVaGC for next half-decades were suggested.

Key Words: Epstein-Barr virus, Human gastric carcinoma, Methylation, Prognosis

INTRODUCTION

EBV는 172 kbp의 이중나선 DNA를 지拥(genome)으로 갖고, Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus (KSHV) 등과 *Gammaherpesvirus*에 속한다 (1). 1963년 인간의 암세포에서 최초로 발견되었고, 전 세계 인구의 90% 이상이 성인이 되기 전에 EBV에 감염된다. EBV에 한번 감염된 사람은 평생 동안 바이러스를 지닌 채 살게 되고, EBV 감염은 타액을 통해 일어난다. EBV 감염의 두 가지 주 표적 세포로는 감복감염(latent replication)을 나타내는 B-림프구

와 바이러스 증식이 일어나는 인후두(laryngopharynx) 상피세포이다 (1). EBV 감염은 대부분의 경우 무증상인데, 일부 최초 감염된 청소년들에서 감염성 단핵구증(mononucleosis)을 일으키고, 적도 부근 아프리카의 베카트 림포마(endemic Burkitt lymphoma)를 일으키고, 중국 남부의 비인강암(nasopharyngeal carcinoma)을 일으키고, 면역이 저하된 후천성 면역 결핍증(acquired immune deficiency syndrome (AIDS) 환자나 장기이식 환자들에서 나타나는 림프증식성 질환(lymphoproliferative disorder)을 일으키고, EBV 양성 위암(EBVaGC)을 일으키는 것으로 알려졌다 (2). EBV는 Type II 감복유전자를 발현하여 상피 악성종양

Received: May 22, 2015/ Revised: June 10, 2015/Accepted: June 25, 2015

§Both equally contributed.

*Corresponding author: Hyojeung Kang, Ph.D. Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea.
Phone: +82-53-950-8569, Fax: +82-53-950-8557, e-mail: hkang72@knu.ac.kr

**This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ0092412015)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

의 여러 가지 암 특징에 기여한다 (1). 이러한 EBV 잠복 유전자는 다양한 세포기구와 신경전달기구를 파괴하여 발암성을 유도한다(Fig. 1). 항상 발현되는 잠복유전자(예: EBNA1, EBER1/2, miR-BART)는 세포사멸억제, 기주면역 반응저해, 지놈불안정화유도 등에 기여한다. LMP는 바이

러스성 종양유전자인데, 침습성 상피암에서 종양진행을 촉진한다.

Cancer Genome Atlas 프로젝트 일환으로, 295개의 1차 위선암(primary gastric adenocarcinoma)을 복합적이고 분자적으로 분석한 최근의 보고에 의하면(Fig. 2), 위암은 네 가지 아류형으로 나뉘어 질 수 있다 (3). 첫 번째로, EBV 양성 종양이다. 이는 "재발성 PIK3CA 변이", "극도의 DNA 과메칠화(hypermethylation)", "JAK2, CD274 (PD-L1), PDCD1LG2의 증폭"의 특징을 나타낸다. 두 번째로, 미세 위성(microsatellite) 불안정 종양이다. 이는 표적이 될 수 있는 발암성 신호전달 단백질을 암호화하는 유전자의 변이를 가지고 있는 특징이 있다. 세 번째로, 지놈적으로 안정한 종양이다. 이는 Ras homolog(RHO)-family GTPase-activating 단백질을 포함하는 융합 또는 "Ras homolog gene family, member A (RHOA)"의 변이를 많이 가지고 있는 것이 특징이다. 네 번째로, 염색체불안정성을 가진 종양이다. 이는 뚜렷한 이수성(aneuploidy)과 receptor tyrosine kinase의 초점 증폭을 나타내는 특징이 있다. 따라서 높은 "EBV burden ($p = 1.5 \times 10^{-18}$)"과 "대규모의 DNA promoter 과메칠화"을 나타내는 EBV 양성 위암은 전체 위암의 독특한 분류군을 형성하고 있다.

EBV 양성 위암은 위 종양세포에 EBV가 존재하는 경

EBV-associated epithelial malignancies

- Sustaining proliferative signaling by EBNA1, EBER1/2, LMP1, LMP2
- Evading growth suppression by miR-BARTs LMP1
- Avoiding immune destruction by EBNA1, EBER1/2, miR-BARTs
- Enabling replicative immortality by LMP1
- Tumor-promoting inflammation by LMP1
- Activating invasion and metastasis by miR-BARTs, LMP1, LMP2A
- Inducing angiogenesis by LMP1
- Genomic instability and mutation by EBNA1, LMP1
- Resisting cell death by EBNA1, miR-BARTs, LMP1
- Deregulating cellular energetics by LMP1

Figure 1. Oncogenic events to induce EBV-associated epithelial malignancies by EBV latent gene products. EBV gene products (in blue) induce malignancies by interrupting several anti-tumor activities and promoting various diverse oncogenic events in EBV infected epithelial cells.

CIN (chromosomally instable GC)

- Intestinal histology
- TP53 mutation
- RTK-RAS activation

EBV (Epstein-Barr virus-positive GC)

- PIK3CA mutation
- PD-L1/2 overexpression
- EBV-CIMP
- CDKN2A silencing
- Immune cell signaling

GS (genomically stable GC)

- Diffuse histology
- CDH1, RHOA mutations
- CLDN18-ARHGAP fusion
- Cell adhesion

MSI (microsatellite instable GC)

- Hypermethylation
- Gastric-CIMP
- MLH1 silencing
- Mitotic pathways

Figure 2. Important characteristics of gastric carcinoma subtype. Gastric carcinoma (GC) were classified into four subgroups such as chromosomally instable GC, Epstein-Barr virus (EBV)-positive GC, genomically stable GC, and microsatellite instable GC. In particular, EBV-positive GC showed mutation in PIK3CA, overexpression of PD-L1/2, silencing of CDKN2A, and etc. EBV-CIMP and RTK stand for CpG-island methylation phenotype and receptor tyrosine kinase, respectively.

우인데, "림프성 침윤(lymphoid infiltration)"과 "diffuse-type 조직학적 특징"을 가진 lymphoepithelioma-like carcinoma이다 (2). EBV 양성 위암은 전 세계 위암의 약 10%가 EBV를 소유한 종양세포로 판명되고, EBV 양성 위암은 미국과 독일의 경우엔 전체 위암의 약 16~18%를 차지하고, 중국의 경우엔 약 4.3%를 차지하고, 하지만 한국의 경우엔 EBV 양성 위암의 발생률이 보고된 바 없다 (2). 일반적으로, EBV 양성 위암의 발병은 남성에서 여성의 3~4배 많이 발생하고 특히 젊은 남성에서 가장 많이 발견되는 것으로 알려졌다. 따라서 일본학자의 연구에 의거하면 EBV 양성 위암 유병률은 위암 발병률과 반비례한다고 보고되었다 (2). EBV 양성 위암은 "위 스텁프(gastric stump, 12.5%)", "위 중간부분(gastric middle, 10.6%)", "위 분문(gastric cardia, 8.1%)", "위강(gastric antrum, 3.9%)" 순으로 나타나고, "잔위암(gastric remnant carcinoma)"의 경우 25~41.2% 정도 EBV가 양성되어 있는 것으로 알려졌다. 따라서 EBV가 생물학적 또는 병리학적으로 중요성 병원체인 만큼, EBV 양성 위암은 임상학적 중요한 질병이다 (2).

본 리뷰는 국내외의 2010년대 전반기(2010-2014)에 발표된 EBV 양성 위암에 관한 연구를 9가지의 소분류로 나누어서 고찰하였다. 9가지의 소분류는 1) 유전자 발현의 차이점에 근거한 EBV 양성 위암의 병인 규명 연구, 2) noncoding-RNA 발현의 차이점에 근거한 EBV 양성 위암의 병인 규명 연구, 3) 생활습관에 근거한 EBV 양성 위암의 병인 규명 연구, 4) EBV 양성 위암 내의 EBV 또는 기주세포 유전자의 다형화(polymorphism) 연구, 5) EBV 양성 위암 연구를 위한 신규 세포주 구축 연구, 6) EBV 지놈의 메칠화 연구, 7) EBV 양성 위암에 대한 면역학적 연구, 8) EBV 양성 위암의 예후 및 진단 연구, 9) EBV 양성 위암 치료제 연구이다. 이러한 고찰을 통하여, 2010년대 후반기(2015-2019)의 EBV 양성 위암의 국내외 연구 동향을 조심스럽게 전망하였다.

1. 유전자 발현의 차이점에 근거한 EBV 양성 위암 병인 규명 연구

지난 5년 동안 본 소분류에 속하는 연구성과들은 thymidine phosphorylase (TP), promyelocytic leukemia (PML) nuclear body (NB), *ezrin*, *BARF1*, proliferation cell nuclear antigen (PCNA), *c-myc* 등의 유전자 발현이 EBV 양성 위암의 병인과 관련이 있다고 보고한 논문들이었다. 구체적

으로, Han 등 연구팀은 China Guangzhou 지역의 EBV 양성 위암의 유병률을 조사하였는데, 전체 위암의 6.7%가 EBV 양성 위암이었고, 이러한 EBV 양성 위암은 *LMP2A*, *DNMT1*, *p16*, *cyclin D1*의 상관 발현이 EBV 양성 위암의 병인과 관련이 있을 것이라 추정하였다 (4). Koriyama 등 연구팀은 EBV 양성 위암발달에 EBV의 병인학적 역할을 분석하기 위하여 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암(non-EBVaGC)간에서 TP의 발현의 차이점을 분석하였다. TP는 다양한 암조직에서 혈관생성 활동을 가지고 있는 것으로 알려졌다. 21건의 EBV 양성 위암과 135건의 EBV 음성 위암 건의 156건의 위암 사례에서 TP의 발현을 조사하였다. TP 발현을 가진 종양의 빈도는 EBV 양성 위암(71%, $p = 0.005$)에서 EBV 음성 위암(37%)보다 두 배 높고, 이러한 연관관계는 모두 diffuse-type 종양에서 발견되었다고 보고하였다 (5). Sivachandran 등 연구팀은 PML NB에 초점을 맞추어서 위암 세포 내의 EBNA1의 세포학적 효과를 조사하였다. PML은 세포사멸, p53 활성화, 종양억제 등에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. EBV가 감염된 AGS 위암세포는 EBV에 감염된 적이 없는 AGS 위암세포보다 더 적은 양의 PML NB를 소유하고 있는 것으로 밝혀졌다. EBNA1 발현은 AGS 세포에서 PML NB와 단백질 감소를 유도하는데 충분한 것으로 나타났다. PML 기능과 일치하도록, EBNA1 발현은 DNA 손상에 대한 p53 활성화, 세포사멸을 감소시키고, 세포생존을 증강시켰다. 면역조직화학에 의하여 PML 레벨이 EBV 음성 위암 생체조직과 EBV 양성 위암 생체조직간에 비교되었다. EBV 양성 종양이 EBV 음성 종양보다 훨씬 낮게 PML 레벨을 가지고 있는 것이 발견되었다. 따라서 본 연구는 위암세포의 EBV 감염은 DNA 손상에 반응을 교란하고 세포생존을 촉진하는 "EBNA1의 활동"을 통하여 PML NB의 감소를 초래한다고 제안하였다 (6). Tobo 등 연구팀은 *ezrin*의 과발현과 EBV 감염과의 상호 관계를 규명하였다. 림프성 기질(lymphoid stroma)을 가진 위암(gastric carcinoma with lymphoid stroma (GCLS))는 두드려진 림프구 침윤을 나타내고 EBV 감염과 관련이 있는 독특한 위암 변이체이다. *ezrin* 발현과 활성화는 종양 전이에 필수적이며 EBV-관련 비인장암의 세포 이동을 유도한다. 면역조직화학적 방법에 의하여, 전체 또는 인산화된 *ezrin* (p-*ezrin*)의 발현이 104개의 GCLS 사례에서 조사되었다. 이 중에서 78개의 EBV 양성, 26개의 EBV 음성, 29개의 림프성 기질을 가지고 있지 않은 위암(gastric carcinoma without

lymphoid stroma (non-GCLS)) 사례가 발견되었다. 양성적인 *ezrin* 발현이 non-GCLS와 비교하여 GCLS에서 약간 높은 수준으로 발견되었다. GCLS 내의 p-*ezrin*의 고농도 발현은 양성적인 립프절 전이와 관련이 있는 것으로 알려졌다. 본 연구는 *ezrin* 과 발현이 GCLS와 EBV 감염의 조직학적 특징과 상호관련이 있는 것으로 제안하였다 (7). Chang 등 연구팀은 EBV의 BARF1에 의하여 유도되는 세포학적 변화를 평가하기 위하여, 자연적으로 EBV가 감염된 위암세포로부터 full-length BARF1을 분리하여 EBV 음성 위암세포에 형질주입 시켰다. 빈 벡터를 함유한 위암세포와 비교하여, BARF1-발현 위암세포는 세포 증식을 증가시켰다. 또한 빈 벡터가 형질주입된 세포와 비교하여 BARF1-발현 위암세포는 세포사멸, 침윤, 세포 이동 등등에서 두드러진 차이점을 나타내지 않았다. BARF1-발현 위암세포는 nuclear factor kappa B (NF- κ B) RelA 단백질의 핵내 발현을 증가시키고 NF- κ B 의존성 cyclin D1을 증가시켰다. P21 (WAF1)의 발현은 BARF1 형질주입에 의하여 감소하였고 NF- κ B 억제에 의하여 증가되었다. 본 연구는 분비된 BARF1이 NF- κ B/cyclin D1의 발현 증가와 세포주기 억제제 p21 (WAF1)의 억제를 통하여 EBV 양성 위암의 증식을 촉진한다고 제안하였다 (8). Zhu 등 연구팀은 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암 사이의 proliferation cell nuclear antigen (PCNA)와 c-myc 발현을 비교 분석하였다. PCNA와 c-myc 단백질 레벨은 13개의 EBV 양성 위암 표본과 45개의 EBV 음성 위암 표본에서 면역조직화학에 의하여 분석되었다. EBV 양성 위암, EBV 음성 위암, EBV 양성 위암에 인접한 조직 등의 PCNA labeling index(LI, 라벨링 지수)은 49.3768(EBV 양성 위암), 14.839(EBV 음성 위암), 35.613(인접조직), 27.2735(인접조직)이었다. PCNA LI는 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암간에 커다란 차이점을 나타내었다. c-myc 단백질은 58개의 위암 중에서 33개의 표본에서 발견되었고 58개의 EBV 양성 위암 인접조직 중에서 21개의 표본에서 발견되었다. 또한 c-myc 단백질 발현은 13개의 EBV 양성 위암 표본 중에서 8개의 표본에서 발견되었고, 45개의 EBV 음성 위암 표본 중에서 25개의 표본에서 발견되었다. c-myc 단백질의 발견 빈도는 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암간에 차이점을 나타내지 못하였다. c-myc 발현은 EBV 양성 위암 내의 EBV의 존재와 아무런 상관이 없는 것으로 나타났다. 본 연구는 BARF1과 BHRF1이 상피세포를 불멸화 시켜서 위암의 발달과 진행에서 중요한 역할을 하는 것으로 제안

했다 (9).

2. Non-coding RNA 발현의 차이점에 근거한 EBV 양성 위암 병인 규명 연구

지난 5년 동안 본 소분류에 속하는 연구성과들은 MiR-200과 BART miRNA의 발현이 EBV 양성 위암의 병인과 관련이 있다는 논문들이었다. 구체적으로, Shinozaki 등 연구팀은 36개의 외과적으로 절제된 위암 암에서 상피-배엽간(epithelial-mesenchymal) 전환과 관련된 microRNA, miR-200a, miR-200B 등의 발현량을 reverse transcriptase quantitative PCR (RT-qPCR)로 분석하여 종양화 과정의 microRNA의 기형의 영향을 평가하였다. MiR-200의 발현은 EBV 음성 위암에 비교하여 EBV 양성 위암에서 낮았다. MiR-200의 발현 감소는 재조합 EBV가 감염된 위암세포주(MKN74-EBV, MKN7-EBV, NUGC3-EBV)에서 발견되었다. 이러한 miR-200의 감소는 세포부착의 감소, E-cadherin 발현 감소, ZEB1-ZEB2의 발현 증가 등을 동반하였다. BARF0, EBNA1, LMP2A의 MKN74 형질주입은 pri-miR-200의 감소를 초래하였지만, EBER의 형질주입은 pri-miR-200의 감소를 초래하지 않았다. 이러한 4가지의 잠복유전자는 성숙한 miR-200 family의 발현 저하, ZEB1/ZEB2의 발현상승, E-cadherin 발현 감소 등에 기여하였다. 따라서 모든 잠복 유형 1 유전자(latency type 1 gene)는 miR-200 family의 발현 저하와 E-cadherin 발현 감소를 유도하는데 시너지 효과를 가지고 있다고 보고하였다 (10). Marquitz 등 연구팀은 EBV의 위 상피세포주 *In vitro* 감염은 세포주의 성장 특징을 변화시키고 연한천에서 세포 성장을 유도한다는 것을 보여주었다. 감염된 세포주는 높은 농도의 EBV miRNA (BART miRNA)를 발현하였고 제한된 EBV 단백질을 발현하였다. EBV 감염 expression profile microarray 분석은 특히 다수의 유전자의 발현 감소를 포함한 많은 세포성 유전자의 발현 변화를 초래하였다. 발현 변화를 보였던 대부분의 유전자들은 세포운동성과 형질전환 pathway에 관련되어 있었다. 마이크로어레이 (microarray) 분석에서 감소된 전사체들은 두드러지게 실험적으로 생물정보학적으로 예측된 BART miRNA 표적인 것으로 판명났다. 따라서 본 연구는 BART miRNA가 EBV 감염세포주의 형질전환성 세포성장에 매우 많이 관여한다고 제안하였다 (11). Marquitz 등 연구팀은 EBV 양성 위암 내의 miRNA 발현 양상을 조사하였다. EBV에 감염된 위암 세포는 EBV BART miRNA를 고농도로 발현하였고,

tumor suppressor miRNA의 발현 저하를 동반하는 기주세포 miRNA 일부의 발현을 저하시켰다. 이러한 변화는 EBV noncoding RNA의 발현을 반영하였지만, 잠복단백질 발현을 반영하지 않았다 (12).

3. 생활 습관에 근거한 EBV 양성 위암의 병인 규명 연구

본 소분류의 연구는 지난 5년 동안의 연구성과들은 알코올 섭취, 발생부위, 지역적 분포, 환자의 성, 환자의 연령 등등이 EBV 양성 위암의 병인과 관련이 있다고 보고한 논문들이었다. Kim 등 연구팀은 생활방식과 그 외 다른 요인들이 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암에 미치는 영향을 보고하였다. 총 247명의 위암 환자를 조사하였는데, 임상병리학적 정보를 회수하였고, EBV 관련 *in situ hybridization*을 수행하였다. 247명의 환자는 18명의 EBV 양성 위암 환자와 299명의 EBV 음성 위암 환자로 분류되었다. 이전에 위궤양을 앓은 내력은 EBV 양성 위암과 연관이 있었고, 빈번하고 과한 음주 습관은 EBV 음성 위암과 관련이 있었다. 하지만, 신체 용적 지수(body mass index), 위염 내력, *Helicobacter pylori* 감염, ABO 혈액형, 위암 가족사, 교육수준, 결혼여부, 직업, 가족현황, 식이요인(dietary factor) 등등은 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암을 구분하는데 어떠한 영향도 미치지 못하였다. 따라서 위 점막의 화학적 상처와 같은 위궤양의 내력이 EBV 양성 위암의 발달에 기여하고, 알코올 섭취는 EBV 양성 위암보다는 EBV 음성 위암에 더 관련이 있다고 보고하였다 (13). Li 등 연구팀은 기존의 발표된 22개의 연구논문의 결과를 합쳐서 메타분석(meta-analysis)을 실시하였다. 조사된 5,475건의 위암 사례에서 411사례가 EBV 양성 위암 사례(7.5%)였다. EBV 양성 위암 중에서 11.1%가 남성에서 발견되었고, 3.0%가 여성에게서 발견되었다. EBV 음성 위암과 비교하여, EBV 양성 위암은 "림프절 전이"가 덜 진행되었다. 또한 EBV 양성 위암에서 diffuse 유형은 7.9%였고, intestinal 유형은 8.0%였다. EBV 양성 위암의 지역 분포별 분석에 따르면, EBV 양성 위암의 탐지율은 미국에서 9.4%, 아시아에서 6.1%, 유럽에서 9.1%인 것으로 분석되었다. 이러한 meta-analysis는 EBV 감염이 위암 조직세포에서만 발견되고, 환자의 성, 림프절 전이, 암조직이 발생한 부위, 지역적 분포 등과 관련이 있다고 보고하였다 (14).

4. EBV 양성 위암 내의 EBV 또는 기주세포 유전자의 다형성 연구

본 소분류에 속하는 지난 5년 동안의 연구성과들은 Tunisia, Perun, China RHKD 등등의 지역에서 발견된 EBV 양성 위암 내의 EBV의 다형성에 관한 논문들이었다. BenAyed-Guerfali 등 연구팀은 Tunisia의 EBV 양성 위암의 유병률을 측정하기 위하여 81개의 위암 암 표본에서 *EBER* 발현량을 측정하였다. *EBER* 발현은 81개의 위암 표본의 12개 표본에서 관찰되었다. 또한 EBV 양성 위암은 진단 당시의 환자의 나이에 밀접한 관련이 있었고, 종양의 분화와 혈관 침윤과는 별다른 관련이 없었다. EBV DNA 다형성 분석에 의하면, Tunisia의 EBV strain은 대부분 F 원형(prototype)으로 판명되었다. 즉 비인강암과 관련된 EBV strain이 Tunisia 환자에게서 발견된 EBV strain과 유사하였다. 따라서 EBV strain은 어떤 지역적인 분포에 많이 제한적이지만, EBV-관련 악성종양에 제한적이지 않다고 보고하였다 (15). Luo 등 연구팀은 gp350/220의 유전자변이를 규명하고, 이러한 유전자변이와 EBV 양성 위암과의 상호연관을 규명하기 위하여, 41개의 EBV 양성 위암과 81개의 비인강암 생체조직과 35 개의 인두세척샘플로부터 확보된 gp350/220 유전자의 sequence을 분석하였다. gp350/220의 N-말단 변이체와 EBNA3C 변이체간의 상호 친화적 관련이 있는 것으로 탐지되었다. NPC와 EBV 양성 위암, 건강한 공여자 내의 gp350/220 변이체의 유사한 분포는 gp350/220 변이체가 종양 특이적 다형성 보다는 지역적인 분포에 제한된다고 제안하였다 (16). Chen 등 연구팀은 전형적인 위암(conventional gastric carcinoma, CGC)보다 gastric remnant carcinoma (GRC)에서 EBV 양성 위암이 높다는 사실을 증명하고자, China Guangzhou에서 확보한 26 GRC 표본을 사용하여 표본 내의 EBV 존재, EBV 양성 위암 내의 EBV 지놈 다형성을 분석하였다. 또한 GRC 내의 EBV 양성 위암의 EBV 잠복페턴 또한 조사되었다. 26개의 GRC 표본에서 8개의 표본이 EBV 양성 위암인 것으로 판명났다. Type A strain (87.5%), prototype F (87.5%), type I (100%), mut-W1/I1 (75%), Xhol variant (62.5%), del-LMP1 variant (100%) 등이 EBV 양성 위암 환자에서 다수를 형성하였다. 종양세포는 *EBNA1* (87.5%)과 *LMP2A* (62.5%)을 발현하였고, *LMP1*, *EBNA2*, *ZEBRA*는 발현하지 않았다. 따라서 대부분 EBV 잠복페턴이 "잠복단계 1"이였다. GRC 내에 EBV 양성 위암이 많이 발견되는

것을 제외하고는 CGC 내의 EBV 양성 위암과 GRC 내의 EBV 양성 위암은 매우 유사하다. 위 점막의 상처 또는 잔위(remnant stomach) 내의 미세환경의 변화가 GRC 내의 높은 EBV 양성 위암의 발달에 관련되었을 것이라 추론하였다 (17). Cheng 등 연구팀은 *gastric lymphoepithelioma-like carcinoma* (LELC)의 지놈 다형성과 EBV 잠복페던간의 상호 연관성을 분석하였다. China Guangzhou 지역의 EBV 양성 위 LELC의 지놈 다형성과 EBV 잠복페던이 조사되었다. 702건의 위암 사례의 10건이 위 LELC로 동정되었고, 이들 중 8건의 사례(80%)가 EBV 양성이었다. EBV 유전자형(genotype) 분석은 type A strain(8사례, 100%), type F variant(6사례, 75%), type I variant(8사례, 100%), mut-W1/I variant(7사례, 87.5%), XhoI-LMP1 variant(5사례, 62.5%), del-LMP1 variant(6사례, 65%)가 EBV-양성 *gastric LELC*에서 다수를 이루고 있음을 나타내었다. 이러한 EBV 유전자형은 정상적인 EBV 양성 위암 내의 EBV 유전자형과 비슷하다. EBNA1 다형성 분석은 V-leu와 P-ala 아류형이 EBV 양성 *gastric LELC*에서 다수를 이루고 있음을 나타내었다. 이러한 EBNA1 다형성은 V-val이 다수를 이루는 정상적인 EBV 양성 위암 내의 EBNA1 다형성과 차이를 보였다. 또한, EBV 양성 LELC (median survival time=43.0 months)는 정상적인 EBV 양성 위암(median survival time=18.0 months)과 비교하여 좋은 예후를 가지고 있었다. 본 연구는 위암 LELC가 강력하게 EBV와 연관이 있고, EBV 양성 LELC은 정상적인 EBV 양성 위암의 특별한 아류형으로 분류되어야 한다고 제안하였다 (18).

5. EBV 양성 위암 연구를 위한 신규 세포주 구축 연구

본 소분류에 속하는 지난 5년 동안의 연구성과들은 YCCEL1과 NCC-24라는 신규 EBV 양성 위암세포주 구축에 관한 논문들이었다. Kim 등 연구팀은 한국인 EBV 양성 위암 환자로부터 확립된 YCCEL1 세포주를 EBV 양성 위암 내의 EBV 역할 연구에 사용될 수 있는지 알아보기 위하여 분석하였다. 이 세포주는 *EBNA1*과 *LMP2A*를 발현하였지만, *EBNA2*, *LMP2B*, *LMP1*은 발현하지 않았다. 대부분의 EBV lytic 단백질은 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate의 처리에 상관없이 발현되지 않았다. YCCEL1은 *BART* miRNA를 높은 농도로 발현하였지만, *BHRF1* miRNA는 발현하지 않았다. YCCEL1은 *cytokeratin*을 발현하였지만, *CD21*과 *CD19*은 발현하지 않았다. YCCEL1의

잠복 EBV 유전자와 EBV miRNA 발현은 일반적인 EBV 양성 위암 사례와 비슷하였다. 본 연구는 YCCEL1 세포가 위암발달에서 EBV의 역할을 연구하는데 좋은 모델이 될 수 있음을 제안하였다 (19). Ku 등 연구팀은 한국인 환자 표본으로부터 확보된 6가지의 새로운 위암세포주 (NCC-19, NCC-24, NCC-59, SNU-1750, SNU-1967)를 분석하였다. 4가지의 세포주는 부착성 monolayer로 자랐고, 1 가지의 세포주는 부동성 세포군으로 자랐고, 마지막 1가지의 세포주는 부착성과 부동성 세포덩어리로 자랐다. 이 중에서 NCC-24 위암 세포주가 EBV에 감염된 것으로 판명났다. EBV 감염은 NCC-24 세포주의 본래의 암조직에서도 관찰되었다. 본 연구는 NCC-24가 위암화 과정에서 EBV의 정확한 역할을 규명하는데 매우 소중한 모델 시스템으로 사용될 수 있을 것이라고 제안하였다 (20).

6. EBV genome의 메칠화 연구

본 소분류에 속하는 지난 5년 동안의 연구성과들은 EBV 양성 위암 내의 6개의 특이적 loci와 *WNT5A* promoter에서 과메칠화가 되었다고 보고한 논문들이었다. Saito 등 연구팀은 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암간의 메칠화 빈도를 비교하는 case control 연구를 수행하였다. 본 연구는 25개의 *EBER-1* 양성 EBV 양성 위암과 50개의 EBV 음성 위암을 분석하였다. EBV 양성 위암 특이적 DNA 메칠화를 나타내는 유전자를 발굴하기 위하여 종양과 연관된 유전자와 관련된 16개의 loci의 메칠화 상태가 PCR 분석법에 의하여 분석되었다. 16개의 유전자들 중에서 12개의 유전자들의 메칠화 빈도가 EBV 양성 위암에서 EBV 음성 위암보다 높게 나타났다. 특히 6개의 특이적 loci (*MINT2*, *MINT31*, *p14*, *p16*, *p73*, *RUNX3*)의 메칠화 빈도는 EBV 음성 위암에 비교하여 특별히 EBV 양성 위암에서 높았다. 평균 메칠화 index는 EBV 음성 위암보다 EBV 양성 위암에서 훨씬 높았다. 따라서 본 연구는 DNA 메칠화가 EBV 양성 위암의 발달과 진행을 유도할 것이라고 제안하였다 (21). Liu 등 연구팀은 EBV 양성 위암의 발달에 EBV가 어떠한 역할을 하는지를 알아보고자 5개의 EBV 양성 위암과 15개의 EBV 음성 위암 세포주들에서 *WNT5A* 발현과 *WNT5A* 프로모터 메칠화를 측정하였다. 본 연구팀에 의하여 EBV 양성 위암은 매우 낮거나 거의 *WNT5A*를 발현하지 않았고 *WNT5A* 프로모터 부위에서 높은 수준의 메칠화를 가지고 있는 것이 발견되었다. 따라서 본 연구는 EBV에 의한 *WNT5A*의 과메칠

화가 EBV 양성 위암의 발달에 기여한다고 제안하였다 (22).

7. EBV 양성 위암에 대한 면역학적 연구

본 소분류에 속하는 지난 5년 동안의 연구성과들은 *FasL* 발현 증가, tumor-infiltrating lymphocyte (TIL)의 세포사멸, 면역세포침윤 등이 EBV 양성 위암의 발달과 진행에 기여한다고 보고한 논문들이었다. He 등 연구팀은 EBV 양성 위암에서 *Fas/FasL* 발현이 종양세포와 TIL의 세포사멸과 어떠한 상관관계를 가지고 있는지를 조사하였다. 면역조직화학을 사용하여 *Fas/FasL* 발현을 49개의 EBV 양성 위암 표본, 20개의 EBV 음성 위암 표본, 12개의 정상 위 점막(normal gastric mucosa)에서 분석하였다. Apoptotic index(AL, 세포사멸 지수)는 terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL)에 의하여 측정되었다. *Fas* 양성률은 정상 위 점막에서 91.7%였고, 위암에서 76.8% ($p < 0.05$) 이었다. *FasL*의 양성률은 정상 위 점막에서 16.7%였고, 위암에서 58%였다. *Fas*의 양성률은 EBV 음성 위암보다 EBV 양성 위암에서 활동히 낮았다(90.0% vs. 71.4%, $p < 0.05$). *FasL*의 양성률은 EBV 음성 위암보다 EBV 양성 위암에서 활동히 높았다(45% vs. 63.2%, $p < 0.05$). AI는 EBV 음성 위암보다 EBV 양성 위암에서 활동히 낮았다($p = 0.002$). TIL의 수와 AI는 EBV 음성 위암보다 EBV 양성 위암에서 높았다($p < 0.05$). 종양세포 내에서 TIL의 AI는 *FasL*의 발현 수준과 양성적으로 상관되어 있었다. 따라서 본 연구는 EBV 양성 위암 내의 *FasL* 발현 증가와 TIL의 세포사멸 감소는 종양세포가 기주의 면역감시로부터 벗어나는데 유용하고, 이는 암의 발달과 진행에 기여할 것이라고 보고하였다 (23). Lee 등 연구팀은 EBV의 잠복단백질이 EBV 양성 위암에 T 세포군을 소집할 수 있다고 가설을 하였고, 이를 증명하고자, 위암조직에서 EBV 유전자의 발현과 종양성 침윤 림프구 사이의 T-cell receptor (TCR)의 용도를 분석하였다. EBV 특이적 DNA와 EBER RNA는 30명의 환자 중 4명에게서 발견되었다. Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 본석에 의하여 모든 4명의 EBV 양성 위암에서 *EBNA1*, *BART*, *LMP2a*의 mRNA가 탐지되었다. CD8(+) T 세포는 EBV 양성 위암 내의 침윤성 림프구의 다수 군을 형성하였다. 즉 4가지의 EBV 양성 위암조직에서 10개의 두드러진 밴드가 TCR V β complement determine region

(CDR) 3 특이적 RT-PCR에 의하여 탐지되었다. 본 연구는 클론에 의하여 확장된 T 세포는 *In vivo* 상에서 EBV 양성 위암에 반응하는 주된 cytotoxic T 세포군일 것이라고 제안하였다 (24). Strong 등 연구팀은 EBV와 위암간의 강한 연관성을 조사하고자 선별된 EBV 유전자 탐침을 사용하여 EBV 양성 위암 내의 EBV 유전자 발현과 EBV 관련 세포 신호전달 변화를 분석하였다. EBV 전사체는 샘플의 17%에서 탐지되었다. 가장 높은 EBV 함유량을 가진 4개의 샘플에서 BamH1 A 부위를 가진 전사체는 대부분의 EBV read을 구성하였다. 기주세포의 유전자 발현 분석은 EBV 전사체를 고농도로 발현하는 샘플(hiEBV 양성 위암)에서는 두드러진 면역세포 침윤과 월등한 interferon gamma (IFN γ) 반응을 나타내었다. 명확한 면역세포 침윤 이외에도, 고농도의 세포상해성 T세포(cytotoxic T-cell)와 내추럴 킬러 세포억제제(natural killer cell inhibitor) IDO1가 EBV 전사체를 고농도로 발현하는 샘플(hiEBV 양성 위암)에 관찰되었다. 또한 종양억제유전자들과 후보 종양유전자들은 hiEBV 양성 위암에서 낮게 발현되었다. 이러한 관찰을 통하여 본 연구는 EBV가 종양을 직접적으로 조절한다는 것을 제안하였다 (25).

8. EBV 양성 위암의 예후 및 진단 연구

본 소분류에 속하는 지난 5년 동안의 연구성과들은 EBV 양성 위암 예후는 환자의 염증 반응에 의존하고, 종양 크기, LELC 분류, 림프절 비율 등의 예후인자들이 EBV 양성 위암의 종양화의 독특한 유형을 반영할 가능성이 높다고 보고한 논문들이었다. Song 등 연구팀은 LELC의 생존 이득이 EBV 감염 그 자체 또는 EBV 관련 염증 반응과 연관이 있는지를 조사하였다. 1994년부터 2008년까지 확보된 표본에서, 123건의 EBV 양성 위암과 405건의 EBV 음성 위암을 동정하였다. 이 중 123건의 EBV 양성 위암은 3가지 조직학적 하위유형으로 나뉘었다. 즉 전형적인 LELC ($n=53$, 43.1%), Crohn's disease-like lymphocytic reaction (CLR) ($n=52$, 42.3%), conventional adenocarcinoma ($n=18$, 14.6%)이었다. EBV 양성 위암 환자는 몸 중심부 쪽에 위치한(proximal location)의 종양을 가지고 있었다. 즉, 대조군(control, $p = .003$)과 비교하여, lower T stage ($p < .0001$), lower T stage ($p = .02$)이었다. 일변량 해석(univariate analysis)에 의하면, EBV 양성 위암 환자는 대조군($p < .004$) 보다 더 긴 생존기간을 가지고 있었다. 기주세포 면역 반응에 의한 EBV 양성 위암의 계층화

(stratification) 분석은 LELC와 LELC+CLR을 가진 환자들이 더 긴 overall survival time(hazard ratio가 각각 0.09와 0.42임)과 disease-free survival(hazard ratio가 각각 0.05와 0.46임)을 가지는 것을 제시하였다. 따라서, 본 연구는 EBV 양성 위암 예후는 환자의 염증 반응에 의존한다고 보고하였다. 또한 CLR을 가진 EBV 양성 위암(EBV 양성 위암-CLR)이 LELC에 비슷한 예후를 보이기 때문에, LELC에 대한 정의는 EBV 양성 위암-CLR을 포함하기 위하여 확대되어야 한다고 보고하였다 (26). Hung 등 연구팀은 근본적 위장 절제술(radical gastrectomy)을 받은 위암 1기부터 3기의 1,020명의 환자 표본을 분석하여 EBV 양성 위암의 예후인자를 제시하였다. 1,020명의 환자 표본에서 52건의 EBV 양성 위암 사례를 탐지하고, 남성 표본에서 대부분의 EBV 양성 위암이 발견되었고($p = 0.003$), 잔암(stump cancer)에서 높은 빈도로 발견되었고($p < 0.001$), 대조군과 비교해서 분화가 덜 된 암($p = 0.010$)이었다. 생존 분석은 EBV 양성 위암과 EBV 음성 위암 사이에서 생존율의 차이가 없음을 나타내었다($p = 0.977$). 다변량 분석(multivariate analysis)는 종양 크기가 5 cm 이상이고 (hazard ratio=2.884, $p = 0.027$), non-LELC이며(hazard ratio 12.187, $p = 0.005$), 림프절 비율이 5 이상인(hazard ratio가 19.352임, $p < 0.0001$) EBV 양성 위암은 더 악화된 전체적인 생존율을 가지고 있었다. 종양침윤 깊이($p = 0.834$)와 림프절 전이수($p = 0.833$)는 통계적 중요성에 도달하지 못하였다. 따라서 본 연구는 종양 크기, LELC 분류, 림프절 비율 등의 예후인자들이 EBV 양성 위암의 종양화의 독특한 유형을 반영할 가능성이 높다고 제안하였다 (27).

9. EBV 양성 위암 치료제 연구

본 소분류에 속하는 지난 5년 동안의 연구성과들은 항위암제 docetaxel과 5-FU가 EBV의 lytic 유도를 일으킨다고 보고한 논문들과 Bacille de Calmette et Guérin (BCG) 기반의 EBV 백신을 소개한 논문들이었다. 구체적으로, Shin 등 연구팀은 EBV 감염이 위암의 화학적 내성을 어떠한 영향을 주는지를 분석하기 위하여, 세포증식 분석, 세포주기 분석, Western blot 분석 등을 실시하여, EBV 양성 위암(AGS-EBV)과 EBV 음성 위암간의 docetaxel에 대한 화학적 내성의 차이점을 분석하였다. *Bcl-2* 유도는 AGS-EBV 세포에서 매우 높았고, *p21* 유도는 AGS 세포에서 높았다. 대체로 EBV lytic 유전자 발현이 docetaxel 처리에 의하여 유도되었다. 따라서 본 연구는 EBV 감염

과 EBV lytic 유도가 위암에 대한 화학적 내성을 부여한다고 제안하였다 (28). Seo 등 연구팀도 EBV 감염이 위암의 화학적 내성에 어떠한 영향을 주는지를 분석하기 위하여, EBV 양성 위암(AGS-EBV)과 EBV 음성 위암(AGS) 간의 5-fluorouracil (5-FU)에 대한 화학적 내성의 차이점을 분석하였다. EBV 양성 위암 세포는 5-FU에 대한 민감도가 EBV 음성 위암 세포보다 낮았다. PARP cleavage와 caspase-3 활성도는 EBV 음성 위암 세포보다 EBV 양성 위암 세포에서 낮았다. *Bcl-2* 발현은 EBV 양성 위암에서 높았다. 5-FU는 *BZLF1*, *BRLF1*, *BMRF1*, *BHRF1*과 같은 EBV-lytic 유전자의 발현을 유도하였다. 따라서 본 연구는 EBV의 감염이 세포사멸과 관련된 유전자의 발현을 조절하여 위암에 대한 5-FU의 화학적 저항성에 기여한다고 제안하였다 (29).

Xue 등 연구팀은 EBV *LMP2A*와 *BZLF1*를 함유한 재조합-BCG 백신을 제조하여, EBV 양성 위암에서 이 백신의 가능성을 제시하였다. BCG-Ag85B 유전자와 EBV *LMP2A-BALF1* 유전자를 *E. coli*-BCG shuttle-vector pMV261에 클로닝 하였다. 이 재조합 플라스미드는 *BZLF1*과 *LMP2A* fusion protein을 잘 발현하였다. 재조합 BCG 단백질은 *BZLF1* (*LMP2A*) 항체에 탐지되었다. 이러한 융합 유전자는 성공적으로 제조되었고, 재조합 BCG는 마우스에서 체액성과 세포성 면역반응을 유도하였다 (30).

CONSLUSIONS

2010년대의 상반기의 연구 동향을 분석한 결과, 국외는 "EBV 양성 혈액암" 또는 "혈액암 유래의 EBV" 연구가 활발히 이루어지고 있었다. 하지만, 국내에서는 EBV 양성 혈액암의 발병률은 매우 낮고, 그 대신에 위암의 발병률은 매우 높다. 따라서 국외와는 달리 국내에서는 높은 위암 발병률로 EBV 양성 위암의 발병률도 높을 것이라 예상된다. 또한 국외 연구자들의 EBV 양성 위암의 발병 기전 연구는 국내 연구자들보다 월등히 높은 수준의 연구성과물을 도출하고 있기 때문에, 위암의 궁극적인 치유법을 개발 경쟁에서 국내 연구자들이 국외 연구자들에게 뒤쳐질 가능성을 내포하고 있다. 따라서 국내의 EBV 양성 위암 연구의 활성화가 필요하다. 이러한 필요성을 만족하는 연구 방향은 인구고령화와 독특한 한국인 식생활 문화에 의거하여 국내 위암을 발병률이 증가하고, EBV가 위암의 중요한 원인체로 밝혀짐에 따라, 한국형

EBV strain[○] 한국인 EBV 양성 위암발달에 어떻게 그 역할을 수행하는지를 분석하는 임상학적 면역학적 유전학적 연구들이 활발히 이루어 질것이라 기대된다. 예를 들면, EBV bacmid 기반 역유전학(reverse genetics)을 성공적으로 구축하여, 이 시스템을 국내외 EBV 연구자들에게 제공하여, 국내 EBV 역유전학 발전을 촉진시키는데 연구, 이러한 유전학의 도움을 받아서 국내외적으로 중요한 질병으로 대두되는 EBV 양성 위암의 발병기전을 규명하는데 중요한 정보를 제공하는 연구, 더 나아가 EBV bacmid을 이용한 EBV 양성 위암 치료형 백신 개발하는 EBV 양성 위암의 치유 방법을 제시하는 연구들이 활발히 이루어 질것이라 전망한다.

REFERENCES

- 1) Tsao SW, Tsang CM, To KF, Lo KW. The role of Epstein-Barr virus in epithelial malignancies. *J Pathol* 2015;235:323-33.
- 2) Nishikawa J, Yoshiyama H, Iizasa H, Kanehiro Y, Nakamura M, Nishimura J, et al. Epstein-barr virus in gastric carcinoma. *Cancers (Basel)* 2014;6:2259-74.
- 3) Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014;513:202-9.
- 4) Han J, He D, Feng ZY, Ding YG, Shao CK. Clinicopathologic features and protein expression study of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Guangzhou. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2010;39:798-803.
- 5) Koriyama C, Akiba S, Shimaoka S, Itoh T, Akiyama S, Eizuru Y. Frequent expression of thymidine phosphorylase in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma of diffuse type. *Anticancer Res* 2010;30:2431-7.
- 6) Sivachandran N, Dawson CW, Young LS, Liu FF, Middeldorp J, Frappier L. Contributions of the Epstein-Barr virus EBNA1 protein to gastric carcinoma. *J Virol* 2012;86:60-8.
- 7) Tobe T, Hirahashi M, Yao T, Aishima S, Oda Y. Ezrin expression and its phosphorylation in gastric carcinoma with lymphoid stroma and Epstein-Barr virus infection. *Mol Clin Oncol* 2013;1:220-4.
- 8) Chang MS, Kim DH, Roh JK, Middeldorp JM, Kim YS, Kim S, et al. Epstein-Barr virus-encoded BARF1 promotes proliferation of gastric carcinoma cells through regulation of NF- κ B. *J Virol* 2013;87:10515-23.
- 9) Zhu S, Sun P, Zhang Y, Yan L, Luo B. Expression of c-myc and PCNA in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Exp Ther Med* 2013;5:1030-4.
- 10) Shinozaki A, Sakatani T, Ushiku T, Hino R, Isogai M, Ishikawa S, et al. Downregulation of microRNA-200 in EBV-associated gastric carcinoma. *Cancer Res* 2010;70:4719-27.
- 11) Marquitz AR, Mathur A, Shair KH, Raab-Traub N. Infection of Epstein-Barr virus in a gastric carcinoma cell line induces anchorage independence and global changes in gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:9593-8.
- 12) Marquitz AR, Mathur A, Chugh PE, Dittmer DP, Raab-Traub N. Expression profile of microRNAs in Epstein-Barr virus-infected AGS gastric carcinoma cells. *J Virol* 2014;88:1389-93.
- 13) Kim RH, Chang MS, Kim HJ, Song KS, Kim YS, Choi BY, et al. Medical history and lifestyle factors contributing to Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and conventional gastric carcinoma in Korea. *Anticancer Res* 2010;30:2469-75.
- 14) Li S, Du H, Wang Z, Zhou L, Zhao X, Zeng Y. Meta-analysis of the relationship between Epstein-Barr virus infection and clinicopathological features of patients with gastric carcinoma. *Sci China Life Sci* 2010;53:524-30.
- 15) BenAyed-Guerfali D, Ayadi W, Miladi-Abdennadher I, Khabir A, Sellami-Boudawara T, Gargouri A, et al. Characteristics of epstein barr virus variants associated with gastric carcinoma in Southern Tunisia. *Virol J* 2011;8:500.
- 16) Luo B, Liu M, Chao Y, Wang Y, Jing Y, Sun Z. Characterization of Epstein-Barr virus gp350/220 gene variants in virus isolates from gastric carcinoma and nasopharyngeal carcinoma. *Arch Virol* 2012;157:207-16.
- 17) Chen JN, Jiang Y, Li HG, Ding YG, Fan XJ, Xiao L, et al. Epstein-Barr virus genome polymorphisms of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in gastric remnant carcinoma in Guangzhou, southern China, an endemic area of nasopharyngeal carcinoma. *Virus Res* 2011;160:191-9.
- 18) Cheng N, Hui DY, Liu Y, Zhang NN, Jiang Y, Han J, et al. Is gastric lymphoepithelioma-like carcinoma a special subtype of EBV-associated gastric carcinoma? New insight based on clinicopathological features and EBV genome polymorphisms. *Gastric Cancer* 2015;18:246-55.
- 19) Kim do N, Seo MK, Choi H, Kim SY, Shin HJ, Yoon AR, et al. Characterization of naturally Epstein-Barr virus-infected gastric carcinoma cell line YCCEL1. *J Gen Virol* 2013;94:497-506.
- 20) Ku JL, Kim KH, Choi JS, Kim SH, Shin YK, Chang HJ, et al.

- Establishment and characterization of six human gastric carcinoma cell lines, including one naturally infected with Epstein-Barr virus. *Cell Oncol (Dordr)* 2012;35:127-36.
- 21) Saito M, Nishikawa J, Okada T, Morishige A, Sakai K, Nakamura M, *et al.* Role of DNA methylation in the development of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *J Med Virol* 2013;85:121-7.
- 22) Liu X, Wang Y, Wang X, Sun Z, Li L, Tao Q, *et al.* Epigenetic silencing of WNT5A in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Arch Virol* 2013;158:123-32.
- 23) He D, Xiao L, Chen JN, Liang Q, Shao CK. Correlation of Fas/FasL expression to cell apoptosis in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Chin J Cancer* 2010;29:283-7.
- 24) Lee JM, Kim H, Noh SH, Lee WY, Kim SJ, Park JH. Expression of Epstein-Barr Virus Gene and Clonality of Infiltrated T Lymphocytes in Epstein-Barr Virus-associated Gastric Carcinoma. *Immune Netw* 2011;11:50-8.
- 25) Strong MJ, Xu G, Coco J, Baribault C, Vinay DS, Lacey MR, *et al.* Differences in gastric carcinoma microenvironment stratify according to EBV infection intensity: implications for possible immune adjuvant therapy. *PLoS Pathog* 2013;9: e1003341.
- 26) Song HJ, Srivastava A, Lee J, Kim YS, Kim KM, Ki Kang W, *et al.* Host inflammatory response predicts survival of patients with Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Gastroenterology* 2010;139:84-92.
- 27) Huang SC, Ng KF, Chen KH, Hsu JT, Liu KH, Yeh TS, *et al.* Prognostic factors in Epstein-Barr virus-associated stage I-III gastric carcinoma: implications for a unique type of carcinogenesis. *Oncol Rep* 2014;32:530-8.
- 28) Shin HJ, Kim do N, Lee SK. Association between Epstein-Barr virus infection and chemoresistance to docetaxel in gastric carcinoma. *Mol Cells* 2011;32:173-9.
- 29) Seo JS, Kim TG, Hong YS, Chen JY, Lee SK. Contribution of Epstein-Barr virus infection to chemoresistance of gastric carcinoma cells to 5-fluorouracil. *Arch Pharm Res* 2011;34: 635-43.
- 30) Xue QJ, Dai J, Li XZ, Zhu W, Si CP, Chen T. Construction of a recombinant-BCG containing the LMP2A and BZLF1 genes and its significance in the Epstein-Barr virus positive gastric carcinoma. *J Med Virol* 2014;86:1780-7.