

Imunološki odgovor u infekciji Epstein-Barrovim virusom

**Oktavija ĐAKOVIĆ-RODE, mr. sc.,
dr. med., specijalist mikrobiolog**
**Snježana ŽIDOVEC-LEPEJ, dr. sc.,
dipl. ing., molekularni biolog**
Ivana GRGIĆ, dipl. ing., molekularni biolog
**Adriana VINCE, doc. dr. sc., dr. med.,
specijalist infektolog**

Klinika za infektivne bolesti »Dr. Fran
Mihaljević«, Zagreb

Ključne riječi

EBV
humoralna imunost
stanična imunost
serološka dijagnostika
antigen-specifična imunost

Key words

EBV
immune response
humoral immunity
cellular immunity
serology
antigen-specific immunity

Primljeno: 2005–09–07

Received: 2005–09–07

Prihvaćeno: 2005–09–30

Accepted: 2005–09–30

Pregledni članak

Epstein Barrov virus (EBV) je humani herpesvirus ubikvitarn u općoj populaciji. Poput drugih herpesvirusa ima latentnu i produktivnu fazu životnog ciklusa. U EBV-infekciji razvijaju se protutijela na različite antigene. Dijagnoza i definiranje statusa EBV-infekcije mogući su zbog karakterističnog odgovora specifičnih protutijela koja se mogu određivati komercijalno dostupnim testovima. U primarnoj infekciji počinju se stvarati protutijela IgM i IgG na virusni kapsidni antigen (VCA), detektiraju se protutijela na rane antigene (EA), a izostaju protutijela IgG za EBNA. Protutijela za EBNA i VCA pokazatelj su ranije EBV- infekcije. Reaktivaciju EBV obilježava visoki titar protutijela za EA, porast protutijela za VCA i ranija prisutnost protutijela za EBNA. Kontrola replikacije EBV primarno je posredovana citotoksičnim T-limfocitima i specifičnim protutijelima za EBV-antigene.

Akutnu EBV-infekciju karakterizira samoograničavajuća proliferacija pomoćničkih CD4⁺ te poglavito citotoksičnih CD8⁺ T-limfocita. Citotoksični CD8⁺ T-limfociti uništavaju EBV-om zaražene B-limfocite i na taj način eliminiraju akutnu infekciju nakon čega slijedi doživotna latentna infekcija. Posljednjih se godina sve više istražuje EBV-specifična stanična imunost primjenom nove tehnologije MHC tetramera. U akutnoj fazi EBV-infekcije dolazi do intenzivne proliferacije CD8⁺ T-limfocita specifičnih za litičke, ali i za latentne epitope ovog virusa. Određivanje EBV-specifične imunosti posebno je značajno za istraživanje patogeneze, ranu dijagnostiku te imunoterapiju post-transplantacijske limfoproliferativne bolesti.

Immunological response in Epstein-Barr virus infection

Review article

Epstein-Barr virus (EBV) is a human herpes virus that is ubiquitous in the adult population. Like all herpes viruses, EBV has latent and productive (lytic) phases in its life cycle. Infection with EBV induces the synthesis of antibodies to various virus antigens. A characteristic pattern of specific antibodies that can be determined by commercially-available assays enables the diagnosis and the definition of EBV profile in infected patients. In primary infection IgM and IgG antibodies to viral capsid antigen (VCA) start to produce; antibodies to early antigens (EA) are detectable; and antibodies to EBNA are not present. High anti-EA antibodies titre, anti-VCA titre rising and anti-EBNA antibodies predispose EBV reactivation. Cytotoxic T-cells and specific anti-EBV antibodies primarily mediate EBV replication control. Acute EBV-infection is characterized by a self-limiting proliferation of both helper-inducer CD4⁺ and cytotoxic-suppressor CD8⁺ T-cells. The CD8⁺ T-cell immune response is believed to be responsible for the elimination of acute infection. Application of MHC tetramers demonstrated a massive expansion of CD8⁺ T-cells specific for both lytic and latent EBV proteins at the acute stage of infection. Characterisation of EBV-specific T-cells is an important experimental tool for the investigation of post-transplant lymphoproliferative disease pathogenesis and immunotherapy.

Epstein-Barrov virus

Epstein-Barrov virus (EBV) je humani gamaherpesvirus, roda *Lymphocryptovirus*, ubikvitaran u odrasloj populaciji. Poznata su dva različita EBV-geotipa označena kao 1 i 2 ili A i B, koji se ne mogu povezati sa specifičnim bolestima. Oba tipa su raširena po cijelom svijetu. Tip 1 češći je u zapadnim zemljama, dok u Africi oba geotipa imaju jednaku učestalost. Pojedini izolati EBV mogu se razlikovati po različitim duljinama ponavljajućih genskih sekvenci što se koristi za epidemiološka praćenja i u transplantacijskoj medicini za određivanje EBV u parovima darovatelja i primatelja organa [1].

U zemljama s nižim socioekonomskim standardom, primarna EBV-infekcija događa se u ranoj dobi. U zemljama u razvoju gotovo sva djeca do pete godine života bivaju inficirana s EBV-om. U razvijenim zemljama dobna granica za infekciju EBV pomaknuta je prema starijoj dobi. Do četrdesete godine života više od 90 % ljudi bilo je u kontaktu s EBV-om i nosi virus kao doživotnu latentnu infekciju B-limfocita [2].

EBV je u suživotu s ljudima preko milijun godina. Tijekom te duge povezanosti životni ciklus virusa značajno se prilagodio čovjeku kao domaćinu. Poput drugih herpesvirusa, EBV ima latentnu i produktivnu (litičku) fazu životnog ciklusa. Virus se dugotrajno održava u domaćinu u latentnoj fazi, dok je litička faza odgovorna za virusnu produkciju i transmisiju nakon primarne infekcije. EBV uspostavlja benignu doživotnu infekciju u većine ljudi i rijetko uzrokuje bolest, osim ako nije poremećena ravnoteža domaćin – virus.

Latentna EBV-infekcija zdravih darovatelja krvi i organa može predstavljati potencijalni put prijenosa. Prijenos putem transplantiranog organa moguć je prvenstveno u prethodno seronegativnog primatelja i rizični je čimbenik za posttransplantacijsku limfoproliferativnu bolest [3].

EBV je glavni etiološki uzročnik infektivne mononukleoze, a povezuje se s Burkittovim limfomom, nazofaringealnim karcinomom i limfoproliferativnim sindromom vezanim uz kromosom X. Procjenjuje se da je uzrok sindroma mononukleoze u oko 90 % slučajeva EBV, 5–7 % CMV, 1% *T. gondii*, a iznimno rijetko uzročnici mogu biti virusi humane imunodeficijencije (HIV), hepatitis, rubele, HSV, Parvovirus B19, HHV-7 ili adenovirusi. Najčešći put prijenosa je kontakt s kapljicama slina zaražene osobe. Primarna infekcija u dječjoj dobi najčešće prolazi supklinički, a u adolescentnoj dobi u 50–75 % slučajeva manifestira se kao infektivna mononukleoza. EBV je dokazan i u genitalnim sekretima muškaraca i žena što upućuje na mogućnost spolnog puta prijenosa [2, 4–6].

Ako do primoinfekcije EBV-om dođe u starijoj dobi, bolest je klinički manifestna u oko dvije trećine bolesnika.

Bolest ima pritajeni početak i može se manifestirati globalno, temperaturom, jakim osjećajem umora, povećanim limfnim čvorovima i splenomegalijom, a karakterističan je dug oporavak praćen dugotrajnim umorom.

Dijagnoza EBV-infekcije postavlja se određivanjem tipno specifičnih protutijela. Definiranje statusa EBV-infekcije moguće je zbog karakterističnog odgovora specifičnih protutijela tijekom infekcije.

Humoralna imunost u EBV infekciji

Tijekom EBV-infekcije javljaju se specifična protutijela: heterofilna protutijela, protutijela za rane, membranske, nuklearne i virusne kapsidne antigene. Heterofilna protutijela prisutna su u oko 85 % adolescenata i odraslih s infektivnom mononukleozom, ali često izostaju u mlađe djece s akutnom infekcijom [4, 7–9].

Protutijela IgM na EBV-kapsidni antigen (engl. *viral capsid antigen*, VCA) prisutna su gotovo uvijek kod pojave prvih kliničkih simptoma u primarnoj infekciji. Gotovo istovremeno, detektiraju se i protutijela IgG za VCA. Većina (>80 %) pacijenata s infektivnom mononukleozom pokazuje gotovo najvišu razinu protutijela IgM i IgG na VCA kad se prvi put javljaju liječniku i testiraju. Protutijela IgM na VCA obično nestaju za 2–3 mjeseca od početka bolesti, dok protutijela IgG na VCA perzistiraju doživotno. Izostanak protutijela IgG za VCA isključuje raniju EBV-ekspoziciju, ali ne može isključiti akutnu infekciju, budući da uzorak može biti uzet rano tijekom akutne faze bolesti kad je razina protutijela IgG za VCA još nemjerljiva. Za dokaz serokonverzije treba uzeti parni uzorak seruma. Pojava prethodno nedetektabilnog IgG na VCA indikativna je za akutnu fazu infekcije. Prisutnost samo protutijela IgG na VCA govori o ekspoziciji EBV u neodređeno vrijeme i može biti znak pritajene primarne infekcije ili prethodne infekcije [9].

Specifična protutijela IgG za raspršenu komponentu ranih antigena (engl. *early antigen (diffuse)*, EA(D)) obično se detektiraju u pacijenata s akutnom primarnom EBV-infekcijom ili reaktivacijom EBV. Nalaz visokog titra protutijela za EA(D) upućuje na recentnu infekciju nastalu do 3 mjeseca prije testiranja ili reaktivaciju. Izostanak detektabilnih protutijela za EA(D) ne isključuje nužno akutnu EBV-infekciju. Nadalje, do 20 % zdrave (normalne) odrasle populacije ima detektabilna protutijela IgG za EA(D) u niskom titru. Ako ipak postoji sumnja na EBV, treba obvezno uzeti drugi uzorak seruma i utvrditi pojavnost pojedinih specifičnih protutijela za različite EBV-antigene. Za potvrdu EBV-viremije primjenjuju se metode molekularne dijagnostike, poglavito lančana reakcija polimerazom (PCR) [10].

Protutijela IgG za Epstein-Barrov nuklearni antigen (EBV *nuclear antigen*, EBNA) pojavljuju se u cirkulaciji

nekoliko tjedana ili mjeseci nakon početka bolesti i perzistiraju u većine zaraženih doživotno. U simptomatskih pacijenata s infektivnom mononukleozom, određivanje protutijela IgG za EBNA, istovremeno s protutijelima IgM i IgG za VCA, te IgG za EA(D) omogućava razlikovanje rane rekonvalescentne faze od akutne faze EBV-infekcije. Porast razine protutijela za EBNA upućuje na progresiju iz rane u kasnu fazu rekonvalescencije. Prisutnost protutijela IgG za EBNA u zdravoj populaciji pokazatelj je prethodne EBV infekcije [2].

EBV-protutijela u imunokompromitiranih

U imunokompromitiranih pacijenata mogu se naći niže, ali i povišene razine specifičnih EBV-protutijela. Produkcija protutijela za EBNA-1, antigen koji omogućuje preživljavanje virusnog genoma u episomalnom obliku unutar jezgre B-limfocita, a koji je odgovoran za nastanak latentne infekcije, ponekad može izostati.

Mehanizmi kontrole produkcije protutijela za VCA i EA(D) različiti su od mehanizama kontrole EBNA-protutijela. Deficijencija ili disfunkcija imunskog sustava dopušta produktivni ciklus EBV-replikacije, koji potiče proizvodnju protutijela na VCA i EA(D). Citotoksični T-stanični odgovor neophodan je za oslobađanje EBNA-1 iz nuklearne membrane inficiranih B-limfocita koji zatim stimuliraju proizvodnju protutijela. Izostanak protutijela na EBNA-1 nastaje zbog deplecije T-limfocita specifičnih za kontrolu EBV-infekcije, jer je prezentacija latentnih antigena izrazito reducirana [4, 11].

Većina bolesnika zaraženih HIV-om ima pozitivne biljege za EBV-infekciju. S progresijom imunodeficijencije kontrola EBV-infekcije postaje nedostatna te omogućuje aktivnu replikaciju EBV-a uz nekontroliranu produkciju B-limfocita što u konačnici dovodi do malignih B-limfoproliferativnih bolesti, najčešće non-Hodgkinovog limfoma (NHL). Tumor sličan Burkittovom limfomu razvija se rano u procesu bolesti, dok se primarni limfom središnjeg živčanog sustava i periferni NHL javljaju u kasnijoj fazi. Primarni limfomi središnjeg živčanog sustava u gotovo 100 % tumora sadrže EBV-DNK i ekspimiraju latentne virusne gene. Rizik NHL-a je 60 puta veći u HIV-pozitivnih osoba nego u općoj populaciji. Ipak, incidencija NHL u bolesnika zaraženih HIV-om značajno se smanjila uvođenjem vrlo djelotvornog antiretrovirusnog liječenja. EBV se također može manifestirati kao leukoplakija vlasastih stanica, koja je česta u kasnoj fazi HIV-bolesti kao oportunistička infekcija [12–14].

Kronična EBV-infekcija

Kronična aktivna EBV-infekcija rijetko je stanje koje treba razlikovati od sindroma kroničnog umora. Definira

se kao teška, kronična bolest ili skup rekurentnih simptoma sličnih infektivnoj mononukleozii nakon primarne EBV-infekcije u prethodno zdravih osoba. U tih bolesnika serološki profil akutne EBV-infekcije (visoka razina protutijela za VCA i EA(D), izostanak produkcije protutijela za EBNA i ponekad perzistencija IgM za VCA) obično se zadržava dugo. U perifernoj krvi može se dokazati EBV-DNK, a klinička slika uključuje pojavu intersticijske pneumonije, hipoplaziju koštane srži, uveitis, hepatitis i splenomegaliju [2].

Stanična imunoreakcija u EBV-infekciji

Akutnu EBV-infekciju karakterizira samoograničavajuća proliferacija pomoćničkih $CD4^+$ i citotoksičnih $CD8^+$ T-limfocita. Citotoksični $CD8^+$ T-limfociti uništavaju EBV-om zaražene B-limfocite i na taj način eliminiraju akutnu infekciju nakon čega slijedi doživotna latentna infekcija [2].

Analiza distribucije različitih limfocitnih subpopulacija u bolesnika s infektivnom mononukleozom uzrokovanom EBV-om pokazala je povećanje postotka T-limfocita i smanjenje postotka B-limfocita. Postotci $CD8^+$ T-limfocita u krvi bolesnika s infektivnom mononukleozom su povećani dok su postotci $CD4^+$ T-limfocita smanjeni [15]. Povećana ekspresija biljega stanične aktivacije (primjerice CD38 i HLA-DR) na T-limfocitima također je uobičajena u bolesnika s infektivnom mononukleozom [16].

Uz općenitu analizu promjena distribucije pojedinih limfocitnih subpopulacija u perifernoj krvi bolesnika s infektivnom mononukleozom posljednjih se godina intenzivno istražuje i stanična imunost specifična za EBV [17]. Naime, razvoj nove tehnike MHC tetramera za direktnu *ex vivo* kvantifikaciju limfocita specifičnih za pojedine antigene omogućio je analizu prirodnog tijeka staničnog imunološkog odgovora $CD8^+$ i $CD4^+$ T-limfocita na EBV. Tehnologija tetramera temelji se na principu interakcije antigeničnog peptida vezanog za MHC molekulu u samom reagensu s određenim T-staničnim receptorom na T-limfocitu, a zatim slijedi analiza na protočnom citometru [18]. Dokaz tetramera pokazuje da je ekspanzija $CD8^+$ T-limfocita u akutnoj EBV-infekciji većim dijelom rezultat specifične reakcije na antigene EBV-a.

U akutnoj fazi EBV-infekcije dolazi do značajne ekspanzije $CD8^+$ T-limfocita specifičnih za litičke, ali i za latentne epitope ovog virusa [19]. Nakon završetka akutne faze infekcije smanjuje se frekvencija $CD8^+$ T-limfocita specifičnih za epitope litičkih proteina virusa, ali oni ipak ostaju detektabilni tijekom latentne faze infekcije. $CD8^+$ T-limfociti specifični za epitope latentnih proteina EBV-a obično se mogu otkriti tek nekoliko tjedana nakon početka akutne faze infekcije.

Callan i sur. (1998.) su pratili kinetiku EBV-specifične imunosti u bolesnika s infektivnom mononukleozom [17]. U perifernoj krvi većine bolesnika dokazali su CD8⁺ T-limfocite specifične za imunodominantne litičke EBV-antigene BMLF1 (sekvenca GLCTLVAML) i BZLF1 (sekvenca RAKFKQLL). Frekvencija BMLF1_{GLCTLVAML}-specifičnih CD8⁺ T-limfocita u perifernoj krvi većine bolesnika s infektivnom mononukleozom kreće se od 0,5 i 6,6 %. Iako su antigen-specifične stanice vrlo rijetke u ukupnoj subpopulaciji T-limfocita, treba istaknuti da je u perifernoj krvi jednog bolesnika otkriveno čak 44 % BZLF1_{RAKFKQLL}-specifičnih CD8⁺ T-limfocita (oko 3×10⁹ T-limfocita u perifernoj krvi). Frekvencije CD8⁺ T-limfocita specifičnih za latentne proteine EBV-a (primjerice FLRGRAYGL peptid proteina EBNA 3A) su obično niže u akutnoj fazi infekcije. Visoke frekvencije EBV-specifičnih CD8⁺ T-limfocita dokazane su najmanje 3 godine nakon primarne infekcije.

Tijekom akutne EBV-infekcije mogu se detektirati i CD4⁺ T-limfociti specifični za EBV [19]. CD4⁺ T-limfociti specifični za BZLF-1, BMLF-1 i EBNA-3A mogu se detektirati kod većine zaraženih osoba dok je specifična imunoreakcija na EBNA-1 nešto rjeđa. Longitudinalna su istraživanja pokazala korelaciju između EBV viremije u perifernoj krvi i frekvencije CD4⁺ T-limfocita specifičnih za EBV [20].

EBV-specifična stanična imunost istraživana je i u kroničnoj infekciji ovim virusom. Sugaya i sur. (2004.) su pokazali da se u većine bolesnika s kroničnom EBV-infekcijom ne mogu dokazati CD8⁺ T-limfociti specifični za virus [21].

Određivanje EBV-specifične imunosti posebno je značajno za istraživanje patogeneze posttransplantacijske limfoproliferativne bolesti (engl., *post-transplant lymphoproliferative disorder*, PTLD). PTLD nastaje kao teška komplikacija transplantacije hematopoetskih stanica ili solidnih organa i uglavnom je vezana uz proliferaciju B-limfocita i EBV-infekciju [22]. Uvođenje molekularne dijagnostike, tj. longitudinalnog praćenja EBV-DNA u perifernoj krvi transplantiranih bolesnika omogućilo je identifikaciju bolesnika s visokim rizikom od pojave PTLD-a. Moguća dijagnostička korisnost istovremenog praćenja frekvencije EBV-specifičnih CD8⁺ T-limfocita u procjeni rizika od pojave PTLD-a kao i u praćenju učinka immunosupresivne terapije još se ispituje [23]. Dosadašnja su istraživanja pokazala da u perifernoj krvi transplantiranih bolesnika čak 70 % ukupnih CD8⁺ T-limfocita može biti specifično za EBV te da se postotak ovih stanica smanjuje paralelno s količinom EBV-DNA u krvi tijekom immunosupresivnog liječenja.

Obzirom da je patogeneza PTLD jasno povezana s deficijencijom EBV-specifične stanične imunosti, intenzivno se istražuju nove strategije liječenja čiji je cilj rekonstitucija imunosti na EBV [22]. Klinička su ispiti-

vanja pokazala da imunoterapija EBV-specifičnim T-limfocitima omogućava rekonstituciju imunosti specifične za ovaj virus, kontrolu limfoproliferacije te da uklanja simptome bolesti [24, 25, 26]. Primjena autolognih ili alogeničnih EBV-specifičnih citotoksičnih T-limfocita u liječenju malignih bolesti koje su etiološki vezane uz ovaj virus (Hodgkinov limfom i nazofaringealni karcinom) za sada nisu tako uspješna [27]. Međutim, kako je 2004. g. uspostavljena prva svjetska banka klonova citotoksičnih CD8⁺ T-limfocita specifičnih za EBV jasno je da ovaj tip imunoterapije biti predmet intenzivnog istraživanja u budućnosti [26].

Literatura

- [1] Zimber U, Adldinger HK, Lenoir GM, et al. Geographical prevalence of two types of Epstein-Barr virus. *Virology* 1986;154: 56–66.
- [2] Macsween KF, Crawford DH. Epstein-Barr virus-recent advances. *Lancet Infect Dis* 2003; 3:131–40.
- [3] Alfieri C, Tanner J, Carpentier L, et al. Epstein-Barr virus transmission from a blood donor to an organ transplant recipient with recovery of the same virus strain from the recipient's blood and oropharynx. *Blood* 1996; 87:812–7.
- [4] Okano M, Thiele GM, Davis JR, Grierson HL, Purtilo DT. Epstein-Barr virus and human diseases: recent advances in diagnosis. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1:300–12.
- [5] Crawford DH, Swerdlow AJ, Higgins C, et al. Sexual history and Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 2002; 186:731–6.
- [6] van Baarle D, Hovenkamp E, Dukers NH, et al. High prevalence of Epstein-Barr virus type 2 among homosexual men is caused by sexual transmission. *J Infect Dis* 2000; 181:2045–9.
- [7] Bauer G. The rational basis for efficient Epstein-Barr virus (EBV) serology. *Clin Lab* 1995; 41:623–634.
- [8] Farber I, Wutzler P, Wohlrabe P, Wolf H, Hinderer W, Sonneborn HH. Serological diagnosis of infectious mononucleosis using three anti-Epstein-Barr virus recombinant ELISAs. *J Virol Methods* 1993; 42:301–7.
- [9] Farber I, Hinderer W, Rothe M, Lang D, Sonneborn HH, Wutzler P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection by novel ELISAs based on recombinant capsid antigens p23 and p18. *J Med Virol* 2001; 63:271–6.
- [10] Gorgievski-Hrisoho M, Hinderer W, Nebel-Schickel H, et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. *J Clin Microbiol* 1990; 28:2305–11.
- [11] Henle W, Henle G. Epstein-Barr virus-specific serology in immunologically compromised individuals. *Cancer Res* 1981; 41:4222–5.
- [12] Beral V, Peterman T, Berkelman R, Jaffe H. AIDS-associated non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* 1991; 337:805–9.
- [13] Webster-Cyriaque J, Edwards RH, Quinlivan EB, Patton L, Wohl D, Raab-Traub N. Epstein-Barr virus and human herpesvirus 8 prevalence in human immunodeficiency virus-associated oral mucosal lesions. *J Infect Dis* 1997; 175:1324–32.
- [14] Timms JM, Bell A, Flavell JR, et al. Target cells of Epstein-Barr-virus (EBV)-positive post-transplant lymphoproliferative

- disease: similarities to EBV-positive Hodgkin's lymphoma. *Lancet* 2003;361:217–23.
- [15] Židovec-Lepej S, Vince A, Rakušić S, Đaković Rode O, Sonicki Z, Jeren T. Centers for Disease Control's flow cytometry panel for Human Immunodeficiency Virus infection allows recognition of infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus and Cytomegalovirus. *Croat Med J* 2003; 44: 702–6.
- [16] Židovec Lepej S, Vince A, Đaković Rode O, Remenar A, Jeren T. Increased numbers of CD38 molecules on bright CD8⁺ T-lymphocytes in infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus infection. *Clin Exp Immunol* 2003; 133:384–390.
- [17] Callan MFC, Tan L, Anells N, et al. Direct visualization of antigen-specific CD8⁺ T-cells during the primary immune response to Epstein-Barr virus in vivo. *J Exp Med* 1998; 187:1395-402.
- [18] Kosor E, Gagro A, Draženović V, et al. MHC tetramers: tracking specific immunity. *Acta Med Croatica* 2003; 57:255–6.
- [19] Precopio ML, Sullivan JL, Willard C, Somasundaran M, Luziriaga K. Differential kinetics and specificity of EBV-specific CD4⁺ and CD8⁺ cells during primary infection. *J Immunol* 2003; 170:2590–8.
- [20] Kuzushima K, Kimura H, Hoshino Y, et al. Longitudinal dynamics of Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T lymphocytes during posttransplant lymphoproliferative disorder. *J Infect Dis* 2000; 182:937–40.
- [21] Sugaya N, Kimura H, Hara S, et al. Quantitative analysis of Epstein-Barr virus (EBV)-specific CD8⁺ T cells in patients with chronic active EBV infection. *J Infect Dis* 2004; 190:985–8.
- [22] Gottschalk S, Heslop HE, Rooney CM. Adoptive immunotherapy for EBV-associated malignancies. *Leuk Lymphoma* 2005; 46:1–10.
- [23] Falco DA, Nepomuceno RR, Krams SM. Identification of Epstein-Barr virus-specific CD8⁺ T lymphocytes in the circulation of pediatric transplant patients. *Transplantation* 2002; 74:501–10.
- [24] Wagner HJ, Cheng YC, Huls MH, et al. Prompt versus preemptive intervention for EBV lymphoproliferative disease. *Blood* 2004; 103:3979–81.
- [25] Burns DM, Crawford DH. Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T-lymphocytes for adoptive immunotherapy of post-transplant lymphoproliferative disease. *Blood Rev* 2004; 18: 193–209.
- [26] Wilkie GM, Taylor C, Jones MM, et al. Establishment and characterization of a bank of cytotoxic T lymphocytes for immunotherapy of Epstein-Barr virus-associated diseases. *J Immunother* 2004; 27:309–316.
- [27] Bollard CM, Aguilar L, Straathof KC, et al. Cytotoxic T lymphocyte therapy for Epstein-Barr virus+ Hodgkin's disease. *J Exp Med* 2000; 1623–33.