

**Laporan Penelitian****Kajian terhadap hasil terapi karsinoma nasofaring  
berdasarkan *EBNA1* dan *EBNA2*****Bambang Hariwiyanto, Soenarto Sastrowiyoto\*, Sofia Mubarika\*\*, Salugu Masesadji\*\*\***\*Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala Leher  
Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada

\*\*Bagian Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada

\*\*\*Bagian Radioterapi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Rumah Sakit Dr. Sardjito - Yogyakarta

**ABSTRAK**

**Latar belakang:** Karsinoma nasofaring (KNF) merupakan salah satu keganasan yang di beberapa negara benua Asia merupakan keganasan paling banyak didapatkan di antara keganasan di kepala leher. Keterlibatan infeksi virus Epstein-Barr (EBV) merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya KNF. Infeksi EBV mengekspresikan beberapa protein antara lain Epstein-Barr *nucleus antigen (EBNA)* yang secara teori mempengaruhi onkogenesis termasuk hasil terapi KNF. **Tujuan:** Menentukan adanya perbedaan hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan EBNA1 serta EBNA2 dengan KNF yang tidak mengekspresikan EBNA1 serta EBNA2. **Metode:** *Nested case-control* terhadap 28 penderita KNF yang mengalami remisi sempurna dan yang mengalami remisi parsial pascaterapi KNF. **Hasil:** Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil terapi KNF yang mengekspresikan EBNA1  $\geq 4,90$  dengan KNF yang mengekspresikan  $< 4,90$  ( $p: 0,160$ ; OR: 0,222), dan terjadi perbedaan bermakna antara hasil terapi KNF yang mengekspresikan EBNA2  $\geq 1,30$  dengan KNF yang mengekspresikan EBNA2  $< 1,30$  ( $p: 0,029$ ; OR: 0,289). **Kesimpulan:** Ekspresi EBNA2 merupakan salah satu faktor protektif terhadap keberhasilan terapi KNF.

**Kata kunci:** KNF, EBNA1, EBNA2, faktor protektif**ABSTRACT**

**Background:** *Nasopharyngeal carcinoma (NPC)* is one of the most common among head and neck malignancies, especially in some Asian countries. Epstein-Barr Virus (EBV) is one of the agent causing NPC, expressing many proteins such as Epstein-Barr nucleus antigen (EBNA). Expression of EBNA theoretically influencing therapy KNF outcome. **Purpose:** To differentiate therapy result between NPC expressed positive EBNA1 and EBNA2 compared with NPC expressed negative EBNA1 and EBNA2. **Method:** *Nested case control study toward 28 complete remission NPC patients and 28 partial remission NPC patients post treatment.* **Result:** There was no significant difference in therapy outcome between NPC with EBNA1 expression  $\geq 4.90$  compared to EBNA1  $< 4.90$  ( $p: 0.160$ ; OR: 0.222) and there was a significant difference therapy outcome between NPC with expression of EBNA2  $\geq 1.30$  compared to EBNA2  $< 1.30$  ( $p: 0.029$ ; OR: 0.289). **Conclusion:** EBNA2 expression is one of protective agents in NPC post treatment outcome.

**Keywords:** NPC, EBNA1, EBNA2, protective factor**Alamat korespondensi:** Bambang Hariwiyanto, Bagian Ilmu Kesehatan THT-KL FK UGM, Yogyakarta.  
E-mail: bhariwiyanto@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Karsinoma nasofaring (KNF) adalah keganasan yang berasal dari epitel nasofaring. Epidemiologinya sangat unik, banyak didapatkan pada populasi di Asia terutama di Cina bagian selatan, Asia Tenggara dan beberapa negara Afrika, tetapi sangat jarang didapatkan pada populasi benua Eropa dan Amerika. Frekuensi KNF menduduki tingkat pertama di antara keganasan kepala dan leher dan merupakan keganasan peringkat ketiga di antara semua keganasan pada pria.<sup>1,2</sup>

Kekerapan KNF tertinggi terdapat di provinsi Guangdong Cina Selatan, sebanyak 40-50 penderita baru/100.000 penduduk/tahun, di Malaysia sebesar 9,66 penderita baru/100.000 penduduk/tahun, sedangkan di Indonesia 5,68/100.000 penduduk/tahun, dengan perbandingan antara penderita KNF pria dan wanita sebesar 2-3:1 dan hampir 80% terdiagnosis pada umur antara 30-59 thn.<sup>3</sup>

Infeksi virus Epstein-Barr (EBV) merupakan salah satu faktor penyebab yang sangat kuat di samping faktor genetik, kebiasaan dan lain-lain. Dugaan adanya keterlibatan yang kuat infeksi EBV pada KNF telah dapat dibuktikan oleh beberapa peneliti, yaitu didapatkan adanya kenaikan antibodi terhadap EBV, antara lain: kenaikan IgA dan IgG terhadap *viral capsid antigen* (VCA),<sup>4</sup> kenaikan IgA Epstein-Barr *nucleus antigen* 1 (EBNA1) dan VCA p18 pada penderita KNF.<sup>5</sup> Walaupun demikian, mekanisme pasti keterlibatan infeksi EBV dengan KNF belum jelas. Namun dapat dipastikan bahwa EBV menginfeksi tubuh dan mengadakan replikasi di epitel orofaring, dapat bersifat menetap (*persistence*), tersembunyi (*latent*) dan sepanjang masa (*long life*).<sup>6,7</sup>

Infeksi laten EBV bersifat diam, tidak memproduksi partikel virus baru dan hampir selalu berhubungan dengan keganasan seperti KNF dan limfoma maligna. Infeksi laten EBV mengekspresikan beberapa protein yang berperan terhadap hasil terapi, kekambuhan, metastasis serta ketahanan hidup. Secara umum bentuk infeksi laten EBV berdasarkan ekspresi proteinnya dapat dibagi menjadi tiga, yaitu: 1) infeksi

laten tipe I, mempunyai karakteristik hanya mengekspresikan Epstein-Barr *encoded mRNA* (EBER) dan *Epstein-Barr nucleus antigen* 1 (EBNA1), seperti pada penderita limfoma Burkitt; 2) infeksi laten tipe II, mengekspresikan *latent membrane protein* 1 (LMP1), LMP2, EBER dan EBNA terutama EBNA1. Infeksi laten tipe II ini terdapat pada beberapa keganasan termasuk KNF; 3) infeksi laten tipe III, terdapat pada penderita *post transplant lymphoproliferative disorders*, *immunoblastic lymphoma* dan lain-lain. Pada tipe III ini semua protein dapat terekspresi.<sup>8,9</sup> Penelitian fungsi ekspresi protein LMP1 dan LMP2 pada KNF yang dilakukan di RS Dr. Sardjito Yogyakarta mendapatkan hasil: terjadi perbedaan hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan LMP1  $\geq 7,2$  dengan KNF yang mengekspresi LMP1  $< 7,2$  (p: 0,003), serta terjadi perbedaan hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan LMP2  $\geq 2,7$  dengan KNF yang mengekspresikan LMP2  $< 2,7$  (p: 0,018).<sup>10</sup>

EBNA1 merupakan protein multifungsi yang berperan pada proses replikasi dan kontrol episom selama pembelahan sel pada fase laten. EBNA1 berukuran 66-95 KDa, mempunyai variasi *strain* yang spesifik, yaitu *internal domain Glycine-alanine repeat* (*Gar*), basis terminal N dan terminal C, merupakan protein yang stabil mempunyai waktu paruh panjang. *Gar* mempunyai kontribusi pada stabilitas EBNA1 dengan cara menghambat degradasi protein, yang menyebabkan ekspresi EBNA1 selalu stabil terhadap proses translasi ke mRNA.<sup>11</sup>

EBNA1 mempunyai urutan DNA *binding* yang spesifik dan terekspresi hampir pada semua keganasan yang berhubungan dengan infeksi EBV, diperkirakan mempunyai fungsi penting sebagai regulator ekspresi protein serta replikasi DNA virus. Pada penelitian peran EBNA1 secara *in vitro* pada *cell line* tumor ganas, dengan menggunakan vektor retrovirus yang tidak mengandung EBNA1 sebagai model, didapatkan hasil yang mengejutkan bahwa sel jaringan tumor ganas yang tidak mengandung EBNA1 tersebut mati secara apoptosis, sehingga dapat disimpulkan bahwa EBNA1 bersifat antiapoptosis.<sup>12</sup>

EBNA2 adalah salah satu protein yang berfungsi sebagai salah satu faktor transkripsi virus yang tidak berikatan langsung dengan DNA virus, tetapi berikatan terlebih dulu dengan kompleks protein yang disebut *recombination binding protein j kappa (RBP-jk)*, yang merupakan faktor transkripsi seluler dan berperan pada target dari jaras sinyal Notch (*Notch signaling pathway*).<sup>13,14</sup>

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis perbedaan hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan EBNA1 dan EBNA2 dengan KNF yang tidak mengekspresikan EBNA1 dan EBNA2.

## METODE

Penelitian ini dilakukan di Bagian THT RS Dr. Sardjito sejak tahun 2004 sampai tahun 2009 dengan metode penelitian *nested case-control*. Untuk perbedaan rerata ekspresi EBNA1 dan EBNA2 terhadap hasil terapi digunakan *t-tes*, sedangkan untuk menentukan *odds ratio* (OR) perbedaan hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan baik EBNA1 maupun EBNA2, dibandingkan dengan KNF yang tidak mengekspresikan baik EBNA1 maupun EBNA2, dilakukan konversi data dari kuantitatif menjadi kualitatif dan menentukan titik potong (*cut off point*) antara KNF yang mengekspresikan EBNA1 serta EBNA2 dengan KNF yang tidak mengekspresikan EBNA1 serta EBNA2 digunakan *receiver operator curve* (ROC), dilanjutkan dengan tes *Chi square*.

Pengumpulan sampel jaringan biopsi secara berurutan (*consecutive sampling*) terhadap penderita KNF WHO II dan WHO III, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Jaringan hasil biopsi penderita KNF sebelum dilakukan terapi dilakukan pemeriksaan ekspresi EBNA1 dan EBNA2 dengan pengecatan imunohistokimia oleh dokter ahli Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM. Evaluasi hasil terapi dilakukan 8-12 minggu pascaterapi. Penderita KNF pascaterapi dinyatakan mengalami remisi sempurna (sembuh) apabila: 1) hasil pemeriksaan tomografi komputer (*CT scan*) tidak menunjukkan penambahan volume tumor dan

metastasis; 2) pada pemeriksaan nasoendoskopi tidak didapatkan masa yang ireguler atau ulseratif; 3) hasil biopsi negatif. Besar sampel ditentukan dengan rumus beda proporsi. Pemeriksaan EBNA1 secara imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal OTIX<sup>®</sup> yang diproduksi oleh Organon Technica, sedangkan pemeriksaan EBNA2 menggunakan antibodi CSI-4<sup>®</sup> produksi Novocastra. Pembacaan imunohistokimia dengan menggunakan mikroskop Olympus seri BX41 pembesaran 200 kali, dilakukan tes kesepakatan (*Kappa test*) oleh dua orang ahli Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM. Hasil pengecatan dikatakan positif bila pada pemeriksaan didapatkan warna coklat pada inti sel. Sebagai kontrol positif digunakan preparat Limfoma Maligna Hodkin dan Non-Hodgkin, sedangkan kontrol negatif menggunakan preparat KNF yang tidak dilakukan pengecatan dengan antibodi EBNA1 dan EBNA2.

Ekspresi EBNA1 dan EBNA2 dihitung secara kuantitatif dengan skoring, berdasarkan perbandingan antara jumlah dan intensitas warna protein yang terekspresi/luas lapangan pandang, pemeriksaan dilakukan pada lima lapangan pandang.<sup>15</sup> Penilaian hasil pemeriksaan EBNA1 maupun EBNA2 berdasarkan jumlah sel adalah 0: bila tidak ada atau sel yang terekspresi hanya <1%, 1: bila tampak 1%-25% sel yang terekspresi/lapangan pandang, 2: tampak 26%-50% sel yang terekspresi/lapangan pandang dan seterusnya, sedangkan penilaian intensitas warna adalah nilai 0: tidak ada warna, nilai 1: warna kuning muda (lemah), nilai 2: warna kecoklatan (menengah) dan nilai 3: warna coklat tua. Penilaian skor sel terekspresi adalah berdasar jumlah sel terekspresi dikalikan dengan skor sel yang terekspresi berdasar intensitas warnanya.<sup>15</sup>

## HASIL

Didapatkan 56 orang penderita KNF yang memenuhi kriteria inklusi, terdiri atas 28 orang dinyatakan remisi sempurna (kontrol) dan 28 orang dinyatakan remisi parsial (kasus), karakteristik subjek dan homogenitas subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian**

	Remisi parsial (kasus)	Remisi sempurna (kontrol)	p
Usia			
11-20	2	1	0,93
21-30	2	1	
31-40	3	2	
41-50	11	12	
51-60	5	6	
61-70	3	5	
> 70	2	1	
Jenis kelamin			
Laki-laki	19	21	0,55
Perempuan	9	7	
Stadium			
III	14	16	0,55
IVA	3	3	
IVB	11	9	
PA			
WHO II	2	-	0,30
WHO III	26	28	

\*p&lt;0,05

**Tabel 2. Perbedaan rerata ekspresi protein antara kasus dan kontrol**

Protein	Remisi parsial (kasus)			Remisi sempurna (Kontrol)			p
	Rerata	SD	N	Rerata	SD	N	
EBNA1	6,4393	1,24673	28	6,3786	1,18051	28	0,852
EBNA2	1,4571	0,39574	28	1,6429	0,45004	28	0,107

\*p&lt;0,05

Tidak didapatkan perbedaan distribusi umur sampel, jenis kelamin, stadium serta histopatologi yang bermakna antara kelompok yang remisi sempurna (kontrol) dan remisi parsial pascaterapi (kasus).

Rentang ekspresi EBNA1 pada kelompok kasus didapatkan antara 3,8 sampai 8,0 dengan rerata 6,4393 (SD 1,246), sedangkan rentang ekspresi EBNA1 kelompok kontrol didapatkan antara 4,8 sampai 8,8 dengan rerata 6,3786

(SD 1,18051). Rentang ekspresi EBNA2 pada kelompok kasus didapatkan antara 0,8 sampai 2,0 dengan rerata 1,4571 (SD 0,39574) sedangkan rentang ekspresi EBNA2 pada kontrol didapatkan antara 0,8 sampai 2,4 dengan rerata 1,6429 (SD 0,45004). Tidak terdapat perbedaan bermakna baik ekspresi EBNA1 maupun EBNA2 antara penderita mengalami remisi sempurna (sembuh) dan yang mengalami remisi parsial (tidak sembuh) pascaterapi (tabel 2).

**Tabel 3. Analisis ekspresi EBNA1 dan EBNA2 terhadap hasil terapi**

Variabel	Remisi parsial Kasus (%)	Remisi sempurna Kontrol (%)	OR (95% IK)	p
EBNA1	≥ 4,90	24 (85,7%)	0,22 (0,023-2,128)	0,160
	< 4,90	4 (14,3%)	1 (3,6%)	
EBNA2	≥ 1,30	13 (46,4%)	0,289 (0,093-0,897)	0,029*
	<1,30	15 (53,6%)	7 (25,0%)	

\*p&lt;0,05

Untuk melihat adanya perbedaan ekspresi baik EBNA1 maupun EBNA2 secara kualitatif dilakukan penentuan titik potong (*cut off point*) pada *receiver operator curve* (ROC). Didapatkan titik potong pada angka 4,90 untuk EBNA1 dan angka 1,30 untuk EBNA2. Hasil ini diartikan bahwa EBNA1 dianggap tereksresi (EBNA1 +) apabila didapatkan  $\geq 4,90$ , sedangkan pada EBNA2 dianggap tereksresi (EBNA2 +) apabila didapatkan  $\geq 1,30$  dan sebaliknya.

Analisis ekspresi EBNA1 dan EBNA2 terhadap respons terapi terlihat pada tabel 3: Tidak terdapat perbedaan bermakna hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan EBNA1  $\geq 4,9$  dengan KNF yang mengekspresikan EBNA1  $< 4,9$  (p: 0,160 ; OR: 0,222). Terdapat perbedaan bermakna hasil terapi antara KNF yang mengekspresikan EBNA2  $\geq 1,30$  dengan KNF yang mengekspresikan EBNA2  $< 1,30$  (p: 0,029; OR: 0,289).

## DISKUSI

Dengan pengecatan imunohistokimia didapatkan EBNA1 tereksresi pada semua sampel penelitian. Hasil ini sesuai dengan penelitian Hariyadi et al.<sup>16</sup> yang menyatakan bahwa pemeriksaan ekspresi protein KNF dengan imunohistokimia, EBNA1 hampir selalu tereksresi sehingga kemungkinan pemeriksaan ekspresi EBNA1 dapat digunakan sebagai pengganti pemeriksaan EBER yang merupakan tanda

adanya infeksi EBV. Di Indonesia, pemeriksaan EBER mempunyai beberapa kendala, yaitu sifat RNA kurang stabil dan memerlukan biaya yang lebih tinggi. Fachiroh et al.<sup>5</sup> pada penelitiannya mendapatkan bahwa terjadi kenaikan IgA terhadap EBNA1 pada penderita KNF yang dapat diartikan bahwa EBNA1 selalu tereksresi pada KNF. Setelah dilakukan konversi data dari kuantitatif ke kualitatif, ternyata ekspresi EBNA1 di atas titik potong pada penderita KNF yang mengalami remisi parsial hanya sebesar 85,7%, sedangkan pada penderita KNF yang mengalami remisi sempurna sebesar 96,4%, secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna (p: 0,160). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peran EBNA1 tidak sesuai dengan hasil penelitian Mack et al.<sup>12</sup> yang menyatakan bahwa secara *in vitro* EBNA1 mempunyai peran antiapoptosis. Hal ini kemungkinan disebabkan karena secara *in vivo* KNF mengekspresikan beberapa protein termasuk EBNA1, EBNA2, LMP1, LMP2, EBER yang setiap protein tersebut mempunyai peran (aktivitas) berbeda-beda dan dapat saling berinteraksi, sehingga memungkinkan hasil pemeriksaan *in vitro* berbeda dengan *in vivo*.<sup>10,12</sup>

Hasil penelitian ini memperkuat dugaan bahwa EBNA1 sebagai salah satu protein nukleus yang multifungsional, tetapi sampai saat ini fungsinya terhadap patogenesis KNF belum dapat diketahui dengan pasti, kecuali berfungsi pada pemeliharaan replikasi episomal EBV dan mempertahankan

EBV dalam pejamu bersifat laten dan selalu terekspresi pada infeksi laten.<sup>5,13,14,16</sup>

Didapatkan hasil adanya perbedaan ekspresi EBNA2  $\geq 1,30$  dan ekspresi EBNA2  $< 1,30$  ( $p: 0,029$ ;  $p: 0,289$ ), diartikan bahwa EBNA2 mempunyai peran pada keberhasilan terapi, tetapi karena OR-nya kurang dari 1, yaitu sebesar 0,289 berarti EBNA2 merupakan salah satu faktor protektif keberhasilan terapi KNF.

Beberapa kepustakaan luar negeri mengatakan bahwa KNF jarang mengekspresikan EBNA2, sedangkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa EBNA2 terekspresi walaupun konsentrasinya rendah. Keadaan ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan genetik antara KNF di Indonesia dan di luar negeri yang ditunjukkan oleh adanya perbedaan gen HLA penderita KNF di beberapa negara.<sup>17</sup> Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Sinclair yang dikutip oleh Santak,<sup>11</sup> yang mengatakan bahwa EBNA2 mempunyai peran menstimuli siklus sel dari fase G0 ke fase G1, sehingga terjadi percepatan proliferasi sel. Percepatan proliferasi sel ini menyebabkan tumor lebih sensitif terhadap radioterapi, sehingga hasil terapi menjadi lebih baik.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa EBNA1 selalu terekspresi pada setiap KNF dan EBNA1 tidak mempunyai peran (fungsi) terhadap keberhasilan terapi; sedangkan EBNA2 merupakan salah satu faktor protektif terhadap keberhasilan terapi KNF. Disarankan untuk dilakukan penelitian peran EBNA2 terhadap kekambuhan dan analisis kesintasan KNF.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada dr. Hariyadi, Sp.PA yang telah membantu pada pengecatan sampel secara imunohistokimia dan pembacaan/interpretasi ekspresi EBNA1 dan EBNA2.

## DAFTAR PUSTAKA

- Horikawa T, Yoshizaki T, Sheen T, Furukawa M. Association of latent membrane protein-1 and matrix metalloprotein 9 with metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer* 2000; 89:715-23.
- Liu MT, Hsieh CY, Chang TH, Lin JP, Huang CC, Wang AJ. Prognostic factors affecting the outcome of nasopharyngeal carcinoma. *Japan J Clin Oncol* 2003; 3(10):501-8.
- Chen Yc, Chen CJ. Epidemiology and etiology of nasopharyngeal carcinoma: gene-environment interaction. In: Bishop J, Huang P, Johnson PJ, Sham JST, Soo KJ, eds. *Cancer Review*. World Scientific 1<sup>st</sup> ed. New Jersey, London, Singapore, Hongkong, Bangalore: Innaqural Issues; 2003. p.1-20.
- Kimura Y, Suzuki D, Takabayashi T, Wakiswaka N, Yoshizaki T, Murata H, et al. Epidemiological analysis of nasopharyngeal carcinoma in the central region of Japan during the period from 1996 to 2005. *Auris Nasus Larynx* 2010; 38(2):244-9.
- Fachiroh J, Paramita D, Hariwiyanto B, Hariyadi A, Dahlia HL, Indrasari SR, et al. Single assay combination of Epstein-Barr virus (EBV) EBNA1 and viral capsid antigen-p18 derived synthetic proteins for measuring anti-EBV immunoglobulin G (IgG) and IgA antibody levels in Sera from nasopharyngeal carcinoma patients; option for field screening. *J Clin Biol* 2006; 1:1459-64.
- Allen MD, Young LS, Dawson CW. The EBV encoded LMP2A and LMP2B proteins promote epithelial spreading and motility. *J Virol* 2005; 79:1789-802.
- Pegtel DM, Subramanian A, Tseen TS, Tsai CW, Golub TR, Thorley L. Epstein-Barr virus encoded LMP2A induces primary epithelial cell migration and invasion: possible in nasopharyngeal carcinoma metastasis. *J Virol* 2005; 79(2):1540-2.
- Rickinson, Kieff. DNA viruses-Herpes virus (EBV). *Field of Virology*. 3<sup>rd</sup> ed. 1994; Chapter 75. p. 75-80.
- Iwatsuki K, Yamamoto T, Tsuji K, Suzuki D, Fujii K, Maztsuura H, Oono T. A spectrum of clinical caused by immune responses against Epstein-Barr virus infection. *Acta Med Okayama* 2005; 58:169-80.
- Bambang H, Soenarto S, Sofia M, Maesadji S. LMP1 and LMP2 may be prognostic factors for outcome of therapy in nasopharyngeal cancers in Indonesia. *Asian Pacific J Cancer Prevent* 2010; 11:763-6.
- Santak M. Identification and functional analysis of Epstein-Barr virus nuclear antigen-2 (*EBNA2*) target genes. Thesis. Munchen: Submitted for The Degree of Doctor of Natural Sciences. Faculty of Biology Ludwig-Maximilians Universitat of Munchen; 2003.
- Mack AA, Sugdem B. The plasmid replication of EBV elements that underlies EBV's transgforming function. In: Robertson EE, ed. *Epstein-Barr virus*. Norfolk England: Caister Academic Press; 2005. p. 379-85.
- Almqvist J. Epstein-Barr virus antigen 1 (EBNA1) Oct and Groucho in control of promoter regulations. Thesis.

- Sweden: Microbiology and tumor biology centre. Karolinska Institutet. Karolinska Stockholm Sweden; 2005. p. 10-5.
14. Zetterberg H, Rhymo L. Epstein-Barr nucleus antigen (EBNA2) 2. Transcription and regulation in EBV latency. In: Robertson EE, ed. Epstein-Barr virus. Norfolk England: Caister Academic Press; 2005. p. 440-62.
  15. Khabir A, Karray H, Rodriques S, Rose M, Daoed J, Frickha M, et al. EBV latent membrane protein 1 abundance correlate with patients age but not with metastatic behaviour in North African nasopharyngeal carcinoma. *Virology* 2005; 2:39-45.
  16. Hariyadi A, Hariwiyanto B, Haryana SM, Murtono C, Middeldorp JM. EBNA1 immunohistochemistry staining for replace EBER 1,2 RISH in parafine embeded tissue of NPC patients. Poster presentation in the 4<sup>th</sup> International Symposium on EBV and associated disease. RegenberG Germany; 2005.
  17. Mathur SJN. Epidemiological and ethiological factors associated with nasopharyngeal carcinoma. In: Satyanaryana, ed. ICMR Bulletin. Indian Press New Delhi 2003; 33(9).