

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Regensburg (Leitung:
Prof. Dr. *Hans Wolf*)

Das Epstein-Barr Virus*

Epstein-Barr Virus

HANS HELMUT NILLER und HANS WOLF

Mit 1 Abbildung

Abstract

Epstein-Barr virus is an ubiquitous humanpathogenic herpesvirus. It has been identified as the etiologic agent of infectious mononucleosis. In addition it is associated with the cancers nasopharyngeal carcinoma and Burkitt's lymphoma. Like other herpesviruses it infects cells in a lytic way or it persists in a latent state. Classically, the serologic diagnosis of Epstein-Barr virus infections is done by the agglutination of sheep erythrocytes according to Paul and Bunnell as a rapid testing method, and with the immunofluorescence assay. Lately, also the enzyme linked immunosorbent assay using recombinant viral antigens is used for Epstein-Barr virus diagnostics.

Zusammenfassung

Das Epstein-Barr Virus ist ein weltweit verbreitetes humanpathogenes Herpesvirus. Es ist als Erreger der Infektiösen Mononukleose identifiziert worden. Darüber hinaus ist es mit den Krebserkrankungen Nasopharynxcarcinom und Burkitt-Lymphom assoziiert. Wie andere Herpesviren kann es Zellen lytisch infizieren oder in latentem Zustand persistieren. Zur serologischen Diagnostik der Epstein-Barr Virus Infektion stehen der Paul-Bunnell Test als Schnelltest, der Immunofluoreszenztest, und neuerdings mehr und mehr der enzymgekoppelte Immunosorbenttest mit rekombinanten viralen Antigenen zur Verfügung.

1. Taxonomie

Das Epstein-Barr Virus (EBV) gehört mit dem Herpes simplex Virus, dem Varizella Zoster Virus, dem Cytomegalovirus und den humanpathogenen Herpesviren 6 und 7 zur Gruppe der menschenpathogenen Herpesviren. Herpesviren werden nach ihren

* Vortrag aus Anlaß der 12. Düsseldorfer Hygienetage am 1. und 2. April 1992 (Veranstalter: Henkel KGaA, Düsseldorf).

biologischen Eigenschaften, (Zelltropismus, Neigung zu lytischer Infektion, Persistenz) in die drei Subfamilien Alpha-, Beta- und Gammaherpesvirinae eingeordnet. Mit einigen anderen Primatenherpesviren gehört das EBV zur Subfamilie der Gammaherpesvirinae, hier wieder in die Gattung Lymphocryptovirus. Die Familie Herpesviridae ist morphologisch definiert. Alle bekannten Herpesviren haben ein ikosaedrisches Kapsid aus 162 Kapsomeren, ein Viruscore mit einer linearen doppelsträngigen DNA, eine Tegumentschicht oder auch Matrix von variabler Stärke, und eine Virusmembran (envelope) mit Glykoproteinspikes. Aufgrund einer genetischen Variabilität des Kernantigens EBNA2 können die Subtypen A und B unterschieden werden.

2. Virusstruktur

Das EBV mit einer Viriongröße von 150 bis 200 nm besitzt ein Genom von etwa 170 kb Gesamtlänge mit etwa 100 darauf kodierten Genen. Die gesamte genomische DNA des EBV Stammes B95-8 wurde kloniert und sequenziert (1, 13). Die DNA von 172 kb hat einen G+C Gehalt von 58%. Mit Hilfe der Sequenzdaten konnte eine Feinkartierung des EBV Genoms vorgenommen werden.

Der Benennung der Transkripte und Proteine des EBV Genoms liegen das zugehörige Restriktionsfragment und das durch Computeranalyse vorhergesagte Leseraster zugrunde. BZLF1 z. B. bezeichnet den *ersten*, nach *links* orientierten Leserahmen im *Bam*HI Z Fragment. Die EBV DNA in den Viruspartikeln ist linear, liegt aber in latent infizierten Zellen meist zirkulär und episomal vor. Das Genom ist unterteilt in vier Regionen, die zueinander und zu sich selbst nicht homolog sind, und fünf Abschnitten, die aus wiederholten und teilweise zueinander homologen DNA Sequenzen bestehen. Die repetitiven Fragmente am Ende des Genoms werden für die intrazelluläre Zirkularisierung des viralen Genoms nach der Infektion benötigt. Die internen repetitiven Abschnitte werden als die *Bam*HI W Repetition, die *Pst*I Repetition, und die *Not*I Repetition bezeichnet. Es wurden zwei Initiationspunkte (origins) der genomischen Replikation identifiziert: OriP, der in der Latenz benutzt wird (17) und OriLyt, der während der Replikation im lytischen Zyklus aktiv ist (7). Es sind Deletionen im Genom einiger EBV Stämme bekannt, die den *Bam*HI Fragmenten zugeordnet werden können. Durch diese Deletionen gehen spezifische Funktionen verloren: Raji Zellen synthetisieren nach Induktion nicht alle frühen Proteine und können daher keinen vollen lytischen Zyklus der Virusvermehrung durchlaufen. Unter anderem fehlt das auch diagnostisch wichtige DNA-bindende Protein BALF2 (p138). Das P3HR1 Virus kann infizierte Zellen nicht transformieren.

Nach der Infektion einer Zelle beschreitet das Virus entweder den Weg in die Latenz, oder in den lytischen Zyklus, der in mehreren Stufen zur Synthese der viralen Proteine führt. Die Latenz kann durchbrochen werden, und der lytische Zyklus daraus resultieren.

3. Virusvermehrung

Bei der lytischen Infektion läuft die RNA- und Proteinsynthese in mindestens drei Phasen, nämlich der sehr frühen, frühen, und späten Phase, ab. In vitro konnte der lytische Zyklus der Virusreplikation durch Behandlung von B lymphoblastoiden Zellen mit TPA und Buttersäure, durch Superinfektion von Raji Zellen, oder die Infektion von EBV negativen BJAB Zellen mit P3HR1 Virus ausgelöst werden. Eine kaskadenartige

Synthese der viralen Proteine mittels positiver und negativer Regulation von einzelnen Gengruppen wurde in ähnlicher Weise auch beim Herpes simplex Virus und beim Cytomegalovirus beschrieben.

Die sehr frühe (IE, Immediate early) Phase ist von der frühen (E, early) Phase durch abgegrenzt, daß die Synthese der E RNA eine Neusynthese von viralen Proteinen benötigt, die der IE RNA jedoch nicht. Die E und L (late, spät) Phasen sind durch die Replikation der viralen DNA voneinander abgrenzbar. Sehr frühe virale Proteine sind häufig durch transaktivierende Funktionen gekennzeichnet, die auf die frühe Genexpression gerichtet sind. Für das IE Protein BZLF1 wurde gezeigt, daß es nach der Infektion lymphoider Zellen als erstes exprimiert wird (9). In Raji Zellen transfiziert, induziert es den lytischen Zyklus (3). Frühe Proteine des lytischen Zyklus sind unter anderem virale Enzyme, z. B. diejenigen, die an der Virusreplikation mitwirken (DNA Polymerase, Ribonukleotidreduktase), oder Transaktivatoren (BMLF1/BSLF2). Späte Proteine sind hauptsächlich virale Strukturproteine, z. B. Kapsid-, Tegument- und Membranproteine. Für das späte Protein, das im Leserahmen BCRF1 kodiert, wurde eine Homologie zum zellulären Gen für Interleukin-10 gefunden. Ähnlich dem zellulären hat das virale Protein eine Synthesehemmwirkung auf Interferon- γ . BCRF1 könnte daher *in vivo* der durch Interferon bewirkten Hemmung der Virusreplikation entgegenwirken. Mit Hilfe verschiedener molekularbiologischer und biochemischer Methoden konnten den Leserastern Proteine zugeordnet und charakterisiert werden. Einige virale Proteine sind für die Diagnose von mit EBV assoziierten Krankheiten nützlich. Das Hüllprotein gp 350/250 ist ein möglicher Kandidat für einen EBV Impfstoff, weil neutralisierende Antikörper dagegen gebildet werden.

4. Viruslatenz

Latent infizierte B lymphoblastoide Zelllinien (LCL) exprimieren ein eingeschränktes Repertoire von Genprodukten: EBERs (EBV encoded RNAs, RNAs, die durch EBV kodiert sind), LMP (latentes Membranprotein), EBNA1–6 (Epstein Barr nukleäre Antigene), und TP (terminales Protein). Alle EBV positiven Zellen exprimieren EBNA1. EBNA1 scheint, möglicherweise wegen seiner Homologie zu zellulären Proteinen, keine Zielepitope für zytotoxische T Zellen *in vivo* zu bieten. Andernfalls sollten keine EBNA1 positiven Zellen unter den peripheren B Zellen entdeckt werden. Die Synthese der Proteine EBNA2 bis 6 und LMP hängt von zellulären regulatorischen Mechanismen ab. In frisch isolierten BL Zellen werden mit Ausnahme von EBNA1 normalerweise keine viralen Proteine exprimiert. Langdauernde *in vitro* Kultivierung dieser Zellen hat eine Änderung des Phänotyps und die Synthese des LMP und aller EBNA's zur Folge. Wahrscheinlich werden Zellen, die EBNA2 bis 6 und LMP exprimieren, im Gesunden durch T Zellen eliminiert. Virale Faktoren, die mit der Transformation von Zellen zusammenhängen, werden mehr und mehr definiert. EBNA1, EBNA2 und LMP können durch *in vitro* Experimente in besonderer Weise mit dem Transformationsprozeß in Verbindung gebracht werden.

5. Epidemiologie, Pathologie

Das EBV ist ein weltweit auftretendes Virus mit hoher Durchseuchungsrate. Die Erstinfektion geschieht früh im Leben. Es bestehen jedoch regionale Unterschiede beim

Erstinfektionsalter. In Industrieländern liegt die Serokonversion später als in den Entwicklungsländern, speziell tropischen Ländern. Die Durchseuchung im Erwachsenenalter liegt bei 90 bis 95%. Das EBV ist im Speichel gesunder, seropositiver Personen vorhanden. Die Übertragung geschieht durch Schmierinfektion, aber auch durch Transfusion und Organtransplantation.

Zunächst infiziert das EBV wohl B Lymphozyten im Oropharyngealtrakt über den Rezeptor CR2 (Abb. 1). Nach einer Latenzphase von 2–3 Wochen kann es zu einer Infektiösen Mononukleose (IM) (auch Pfeiffersches Drüsenfieber und kissing disease genannt) kommen. Das Krankheitsbild der IM umfaßt als häufige Symptome Lymphadenopathie, Pharyngitis, Fieber über 39 °C, mit mittlerer Häufigkeit Splenomegalie, und mit geringerer Frequenz Hepatomegalie, Petechien am Gaumen. Als seltene Komplikationen treten hämolytische Anämie, Milzruptur, eine Beteiligung des Zentralnervensystems, Perikarditis und Atemwegsobstruktion auf. Die IM wird hauptsächlich in den Industrieländern beobachtet, wo der Erstkontakt mit EBV bis in die Adoleszenz verzögert ist. In den USA ist die IM die zweithäufigste Infektionskrankheit unter den jungen Erwachsenen und Adoleszenten.

Das Virus wird mit den B Zellen im ganzen Körper verbreitet und persistiert wohl im Knochenmark und in B Zellen (Abb. 1). Durch gelegentliche Aktivierung des lytischen Zyklus kann EBV wohl basale Epithelzellen der Speicheldrüsen und Zunge befallen (2, 6, 14). Durch das gesunde Immunsystem werden alle Zellen, die andere Proteine als nur EBNA1 exprimieren, eliminiert. Davon ausgenommen sind für das Immunsystem unzugängliche Zellen, wie etwa Ausführungsgänge der Speicheldrüsen. Beim geschwächten Immunsystem findet eine Eliminierung von EBV synthetisierenden Zellen

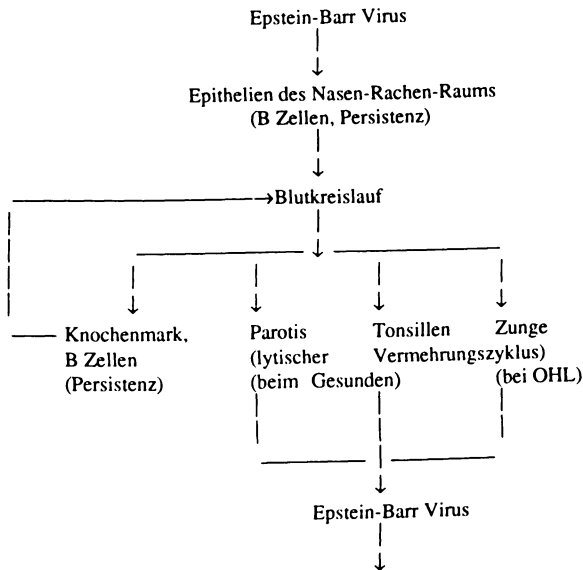


Abb. 1. Infektionszyklus des Epstein-Barr Virus in schematischer Darstellung. OHL steht für oral hairy leukoplakia, Haarleukoplakie des Mundes.

Fig. 1. Graphic representation of the infectious cycle of Epstein-Barr virus. OHL is the abbreviation for oral hairy leukoplakia.

nicht statt. In diesen Fällen kann das EBV an anderen als den Primärinfektionsorten replizieren. Ein Beispiel ist die Zunge, wo die EBV Replikation in HIV positiven Personen und anderen langfristig Immunsupprimierten (Transplantatempfängern) die Haarleukoplakie (OHL, oral hairy leukoplakia) verursachen kann.

Das EBV hat für gesunde Normalpersonen mit Ausnahme der IM nur geringe Pathogenität. Neben der IM wird das EBV mit den folgenden Erkrankungen in Zusammenhang gebracht: Mit einer tödlich verlaufenden Form der IM, einer chronisch verlaufenden Form der IM, dem Burkitt Lymphom (BL) in der endemischen und sporadischen Form, dem Nasopharynxcarcinom (NPC), dem Morbus Hodgkin, mit lymphoproliferativen Erkrankungen bei immunsupprimierten Patienten, der Haarleukoplakie der Zunge, und mit einigen Autoimmunkrankheiten (2, 4, 8, 10, 12, 15, 16).

6. Diagnose

Es existieren zwei grundsätzliche Möglichkeiten der Labordiagnose der EBV Infektion: Einerseits den *Virusnachweis*, andererseits die *Serologie*.

a) Der elektronenmikroskopische Virusdirektnachweis spielt nur bei der Haarleukoplakie des Mundes eine Rolle, da bei dieser Erkrankung Virus in hohen Mengen produziert wird, nicht aber bei anderen EBV assoziierten Erkrankungen. Das Virus kann aus dem Speichel, dem Blut, und lymphatischen Gewebebiopsien durch Kokultivierung mit Nabelschnurlymphozyten isoliert werden. Die Kultivierung ist zeitlich und technisch aufwendig, und daher nicht für die Routine geeignet. Virale Antigene der latenten Phase können im lymphatischen Gewebe des Gesunden, im Tumorgewebe beim Nasopharynxcarcinom und selten im Blut nachgewiesen werden. Das EBNA1 Antigen ist bei allen EBV infizierten Zellen vorhanden und daher bei allen EBV Krankheitsbildern nachweisbar. Eine Nachweismethode ist der Antikomplement indirekte Immunfluoreszenztest (ACIF). Durch die Längenvarianz der Proteine EBNA1–6 lassen sich verschiedene Viren im Westernblot identifizieren („Ebnotyping“). Der Nachweis von viralen Nukleinsäuren durch Hybridisierung mit markierten Nukleinsäureproben ist sehr spezifisch. Es stehen der Southernblot und die in situ Hybridisierung zur Verfügung, wobei die in situ Methode infizierte Einzelzellen identifiziert, der Southernblot die Typisierung der Viren über die Untersuchung des RFLP (Restriktionsfragment Längenpolymorphismus) erlaubt und auch Aussagen über Deletionen von Virusfragmenten möglich macht. Hybridisierungsmethoden sind aufwendiger als die Serologie und für die Diagnose von Primärinfekten nicht erste Wahl. Sie sind nützlich bei speziellen Fragestellungen im Zusammenhang mit EBV assoziierten Tumorerkrankungen und anderen mit EBV assoziierten Erkrankungen.

b) Die Methode der Wahl für die Diagnose einer EBV Primärinfektion ist die Serologie, d. h. der Nachweis von Antikörpern, die gegen spezifische EBV Proteine gerichtet sind, oder von Antikörpern, die durch EBV induziert wurden. Neben dem Nachweis einer Primärinfektion läßt sich durch die Serologie auch feststellen, ob eine Primärinfektion kürzlich durchgemacht wurde, schon länger zurückliegt, noch nicht durchgemacht wurde, oder ob es sich um eine EBV Reaktivierung handelt. Außerdem können durch die Titer spezifischer Antikörper der Verlauf und die Therapie des BL und des NPC kontrolliert werden. In Südchina wird die EBV Serologie zur Früherkennung des NPC mitbenutzt. Im Einzelnen stehen folgende Tests zur Verfügung: Der Paul-Bunnell Test zum Nachweis heterophiler Antikörper als Schnelltest, der IFT (Immunfluoreszenztest), der ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) (Tabelle 1), mehr und mehr

Tabelle 1. Serologische Profile von EBV Erkrankungen. Oben ist die Serologie des Immunfluoreszenztests (IFT) gezeigt, unten die Serologie des ELISA mittels einiger rekombinanter Virusantigene (EA rp138 [BALF2], EA rp54 [BMRF1], EBNA rp72 [BKRF1]). Das Fragezeichen in der Tabelle zeigt an, daß noch nicht genügend Patientenmaterial untersucht wurde, um eine endgültige Aussage treffen zu können

Table 1. Serum profiles of EBV diseases. The upper part of the table shows the serology of the immunofluorescence test, the lower part shows the serology of the ELISA using several recombinant viral antigens (EA rp138 [BALF2], EA rp54 [BMRF1], EBNA rp72 [BKRF1]). The question mark signals that there is not enough patient material examined for a final statement

	Antikörper gegen Antigen	EBV- negativ	laufende Primär- infektion	kürzlich durchge- machte Primär- infektion	länger zurück- liegende Primär- infektion	Reaktivie- rung	Burkitt- Lymphom	Naso- pharynx- Carcinom
IFT	IgM VCA	-	+	-	-	-	-	-
	IgG VCA	-	++	++	+	+	++	++
	IgA VCA	-	±	-	-	±	-	++
	IgG EA-D	-	+	+	-	±	-	++
	IgA EA-D	-	-	-	-	?	-	++
	IgG EA-R	-	±	±	-	±	++	-
	Anti EBNA	-	-	±	+	+	+	+
ELISA mit rekombinanten AG	IgM EA (54, 138)	-	+	±	-	+/++	±	±
	IgG EA (54, 138)	-	+/++	+	±	+/++	-/++/?	++
	IgG EBNA (72)	-	-	±	+/++	+/++	++	++
	IgA EA (54, 138)	-	±	-	-	±	+/-/?	++

mit rekombinanten EBV Proteinen oder synthetischen Peptiden (5, 11), und auch der Westernblot.

Die Antigene, die für den IFT oder den ELISA benötigt werden, werden von mit EBV infizierten Zelllinien gewonnen oder durch rekombinante DNA-Technologie hergestellt. Für den IFT werden auf Objektträgern fixierte EBV infizierte Zellen als Antigenquelle benutzt, für den ELISA werden die entsprechenden Antigene aus den Zellen mit biochemischen Methoden gereinigt oder durch exprimierte Proteine oder chemisch synthetisierte Peptide ersetzt. Besonders gebräuchlich zur Testung sind folgende virale Antigene: VCA, das späte virale Capsidantigen, EA-D, der frühe, „diffuse“ Antigenkomplex des EBV, EA-R, das frühe eingeschränkte (restricted) Antigen, und EBNA, der Komplex der latenten EB nukleären Antigene, vertreten durch EBNA1. Zur Beurteilung der Serologie ist wichtig: Die Höhe der Titer, die Zielproteine der Antikörper unter den obengenannten Proteinen, und zusätzlich zur IgM und IgG Klassifizierung der Antikörper auch die Messung der IgA Antikörper gegen VCA und EA.

Im Akutstadium der IM sind meist IgM und IgG Antikörper (Ak) gegen VCA bereits positiv. IgG gegen VCA persistiert lebenslang und zeigt an, daß der Patient nicht mehr EBV negativ, sondern immun ist. Bei Tumorpatienten mit BL oder NPC liegen anti VCA IgG etwa 10 mal höher als bei der gesunden, immunen Bevölkerung. Beim NPC kommen als Kennzeichen anti VCA IgA hinzu. EA-D Ak dienen zur Unterscheidung einer länger zurückliegenden Primärinfektion von einer frisch durchgemachten, da sie nach einiger Zeit wieder verschwinden. Darüber hinaus ist eine starke EA-D Erhöhung für das NPC charakteristisch. Bei BL Patienten sind die EA-R Ak erhöht. Ak gegen EBNA Proteine steigen nach einer Primärinfektion langsam an und erreichen plateauartig höhere Werte, die zeitlebens bestehen bleiben. Die Unterscheidung einer EBV Reaktivierung, z. B. nach Organtransplantation, von einer gerade zurückliegenden Primärinfektion ist mittels Serologie allein nicht immer möglich. Das Vorhandensein von anti-EA Ak bei bereits vorhandenen EBNA Ak deutet auf eine Reaktivierung hin, bei nicht vorhandenen oder niedrigen anti EBNA Ak auf eine Primärinfektion.

7. Therapie

Bei der IM wird normalerweise symptomatische Therapie mit Bettruhe angewandt. Gegen bakterielle Superinfektionen des Rachenbereichs wird mit Antibiotika behandelt. Ampicillin sollte wegen gehäufte allergischer Reaktionen nicht angewandt werden. Bei den seltenen schweren Komplikationen der IM (Milzruptur, hämolytische Anämie, Atemwegobstruktion) wird dem jeweiligen Notfall angemessen gehandelt. Das NPC wird chirurgisch und radiologisch behandelt. Rezidive können unter anderem auch mit Hilfe der EBV Serologie erkannt werden. Beim BL ist die Chemotherapie mit Cyclophosphamid oder auch Vincristin, Methotrexat und Prednisolon die Methode der Wahl. Andere antivirale Substanzen, wie Interferon und Acycloguanosin (Gancyclovir) haben sich beim EBV nicht als Therapeutika durchgesetzt, da sie entweder nur zu einer transienten Besserung führen (Haarleukoplakie) oder gar keinen Effekt erzielen (chronische EBV Erkrankung). Bei Cytomegalieerkrankungen nach Organtransplantation wird häufig mit einer Kombination von Gancyclovir und anti CMV Hyperimmunglobulinen ein relativ guter therapeutischer Erfolg erzielt. In Analogie dazu könnte vielleicht auch beim EBV die Therapie mit einer Kombination von anti EBV Hyperimmenserum und Gancyclovir verbessert werden.

Literatur

1. Baer, R., A. T. Bankier, M. D. Biggin, P. L. Deininger, P. J. Farrell, T. J. Gibson, G. Hatful, G. S. Hudson, S. C. Satchwell, C. Seguin, P. S. Tuffnell, and B. G. Barrell: DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Nature* 310 (1984) 207-211
2. Becker, J., U. Leser, M. Marschall, A. Langford, W. Jilg, H. Gelderblom, P. Reichart, and H. Wolf: Expression of proteins encoded by Epstein-Barr virus trans-activator genes depends on the differentiation of epithelial cells in oral hairy leukoplakia. *PNAS* 88 (1991) 8332-8336
3. Countryman, J., H. Jenson, R. Seibl, H. Wolf, and G. Miller: Polymorphic proteins encoded within BZLF1 of defective and standard Epstein-Barr viruses disrupt latency. *J. Virol.* 61 (1987) 3672-3679
4. Deutsch, J., H. Wolf, H. Becker, B. Fuchs, U. Goriup, H.-M. Grubbauer, W. Muntean, T. Popow-Kraupp, and D. Stünzer: Demonstration of Epstein-Barr virus DNA in a previously healthy boy with fulminant hepatic failure. *Eur. J. Pediatr.* 145 (1986) 94-98
5. Gorgievski-Hrisoho, M., W. Hinderer, H. Nebel-Schickel, J. Horn, R. Vornhagen, H.-H. Sonneborn, H. Wolf, and G. Siegl.: Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. *J. Clin. Microbiol.* 28 (1990) 2305-2311
6. Gratama, J. W., M. A. P. Oosterveer, F. E. Zwaan, J. Lepoutre, G. Klein, and I. Ernberg: Eradication of Epstein-Barr virus by allogeneic bone marrow transplantation: implications for sites of viral latency. *PNAS* 85 (1988) 8693-8696
7. Hammerschmidt, W. and B. Sugden: Identification and characterization of oriLyt, a lytic origin of DNA replication of Epstein-Barr virus. *Cell* 55 (1988) 427-433
8. Henle, W., G. Henle, J. Andersson, I. Ernberg, G. Klein, C. A. Horwith, G. Marklund, L. Rymo, C. Wellinder, and S. E. Straus: Antibody responses to Epstein-Barr virus-determined nuclear antigen (EBNA)-1 and EBNA 2 in acute and chronic Epstein-Barr virus infection. *PNAS* 84 (1984) 570-574
9. Marschall, M., U. Leser, R. Seibl, and H. Wolf: Identification of proteins encoded by Epstein-Barr viral trans-activator genes. *J. Virol.* 63 (1989) 938-942
10. Modrow, S. and H. Wolf: Characterization of two related Epstein-Barr virus-encoded membrane proteins that are differentially expressed in Burkitt lymphoma and in vitro-transformed cell lines. *PNAS* 83 (1986) 5703-5707
11. Motz, M., J. Fan, R. Seibl, W. Jilg, and H. Wolf: Expression of the Epstein-Barr virus 138-KDa early protein in *E. coli* for the use as antigen diagnostic tests. *Gene* 42 (1986) 303-312
12. Purtilo, D. T., K. Sakamoto, V. Barnabei et al.: Epstein-Barr virus induced diseases in males with X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP). *Am. J. Med.* 73 (1982) 49-55
13. Skare, J. and J. L. Strominger: Cloning and mapping of BamHI endonuclease fragments of DNA from the transforming B95-8 strain of Epstein-Barr virus. *PNAS* 77 (1980) 3860-3864
14. Wolf, H., M. Haas, and E. Wilmes: Persistence of Epstein-Barr virus in the parotid gland. *J. Virol.* 51 (1984) 795-798
15. Wolf, H. and R. Seibl: Benign and malignant disease caused by EBV. *J. Invest. Dermatol.* 83 (1984) 88s-95s
16. Wolf, H., H. zur Hausen, and V. Becker: EB viral genomes in epithelial nasopharyngeal carcinoma cells. *Nature New Biol.* 244 (1973) 245
17. Yates, J., N. Warren, D. Reisman, and B. Sugden: A cis-acting element from the Epstein-Barr viral genome that permits stable replication of recombinant plasmids in latently infected cells. *PNAS* 81 (1984) 3806-3810

Dr. Hans Helmut Niller und Prof. Dr. Hans Wolf, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universität Regensburg, Franz Josef Strauß Allee 11, D-8400 Regensburg