

Aus dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums  
Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Harald Stein  
Arbeitsgruppe: PD Dr. Michael Hummel

Epstein-Barr-Virus in partiell EBER-positiven Non-  
Hodgkin-Lymphomen und epithelialen Tumoren:  
Infektionsstatus und Bedeutung für die  
Tumorgenese

Inauguraldissertation zur Erlangung der medizinischen  
Doktorwürde des Fachbereichs Humanmedizin der Freien  
Universität Berlin

Vorgelegt von: Patricia Hänel  
Aus: Berlin

Berlin im September 2002

1. Gutachter: Prof. Dr. Harald Stein, Institut für Pathologie
2. Gutachter: Prof. Dr. Heinz Zeichhardt, Institut für Infektionsmedizin

Tag der Disputation: 10.6.2003  
Promotionsdatum: 5.9.2003

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>5</b>
<b>1.1. EPSTEIN-BARR-VIRUS</b>	<b>5</b>
1.1.1. ENTDECKUNG DES EPSTEIN-BARR-VIRUS	5
1.1.2. KRANKHEITSBILDER	6
1.1.2.1. Infektiöse Mononukleose	7
1.1.2.2. EBV und Lymphome	8
1.1.2.2.1. EBV und Burkitt-Lymphom	8
1.1.2.2.2. EBV und Morbus Hodgkin	9
1.1.2.2.3. Non-Hodgkin-Lymphome bei Immunkompetenten	10
1.1.2.2.4. Non-Hodgkin-Lymphome bei Immunsupprimierten	10
1.1.2.3. EBV und epitheliale Tumoren	11
1.1.2.3.1. EBV und Nasopharynx-Karzinom	11
1.1.2.3.2. EBV und Magenkarzinome	12
1.1.3. EBV: MOLEKULARE EIGENSCHAFTEN	12
1.1.3.1. Die lytische Phase	13
1.1.3.2. Die latente Phase	13
1.1.4. NACHWEISMETHODEN VON EPSTEIN-BARR-VIRUS	16
1.1.4.1. In situ Nachweis von EBV	16
1.1.4.2. In vitro Nachweis von EBV	17
<b>1.2. UNTERSCHIEDLICHE EBER-EXPRESSIONSMUSTER BEI DEN EBV-ASSOZIERTEN TUMOREN</b>	<b>18</b>
1.2.1. ERKLÄRUNGSMODELLE FÜR PARTIELLE EBER-POSITIVITÄT	20
<b>1.3. FRAGESTELLUNG DER ARBEIT</b>	<b>21</b>
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>22</b>
<b>2.1. FÄLLE</b>	<b>22</b>
2.1.1. LYMPHOME	22
2.1.2. EPITHELIALE TUMOREN	23
<b>2.2. IN SITU-HYBRIDISIERUNG (ISH)</b>	<b>24</b>
2.2.1. HERSTELLUNG DER CRNA-SONDEN	24
2.2.2. EBER-ISH	25
2.2.2.1. Prähybridisierung	25
2.2.2.2. Hybridisierung	25
2.2.2.3. Posthybridisierung	26
<b>2.3. EINZELZELLISOLIERUNG</b>	<b>28</b>
2.3.1. DURCHFÜHRUNG	28
2.3.1.1. Anfertigung der Glaskapillaren für die Mikromanipulation	28
2.3.1.2. Präparation der Schnitte	28
2.3.1.3. Mikromanipulation	29
2.3.2. KONTROLLEN	29
<b>2.4. PCR</b>	<b>30</b>
2.4.1. ETABLIERUNG	30
2.4.1.1. Etablierung der Einzelzell-PCR an Zelllinien-DNA	31
2.4.1.2. Etablierung an isolierten Einzelzellen	33
2.4.2. POSITIV- UND NEGATIVKONTROLLEN	33

<b>3. ERGEBNISSE</b>	<b>35</b>
<hr/>	
<b>3.1. EBER-ISH</b>	<b>35</b>
3.1.1. LYMPHOME	35
3.1.2. KARZINOME	36
<b>3.2. EBV-EINZELZELL-PCR</b>	<b>36</b>
3.2.1. ETABLIERUNG DER EBV-EINZELZELL-PCR	36
3.2.2. ERGEBNISSE DER EBV-EINZELZELL-PCR AN LYMPHOMEN	37
<b>4. DISKUSSION</b>	<b>51</b>
<hr/>	
<b>4.1. DIE PARTIELL EBER-POSITIVEN B-ZELL-NON-HODGKIN-LYMPHOME</b>	<b>52</b>
4.1.1. ALLE EBER-POSITIVEN LYMPHOMZELLEN SIND EBV-INFIZIERT	52
4.1.2. ALLE EBER-NEGATIVEN LYMPHOMZELLEN SIND FREI VON EBV	53
4.1.3. BEDEUTUNG DIESER PARTIELLEN EBV-INFEKTION	53
4.1.3.1. Ad 1.: Sekundärinfektion mit EBV	54
4.1.3.1.1. Bedeutung des möglichen Vorliegens einer Sekundärinfektion mit EBV für die Rolle des EBV bei der Tumorgenese	55
4.1.3.2. Ad 2.: EBV-Verlust	55
4.1.3.2.1. Wie kann es zu einem Verlust von EBV aus den Tumorzellen kommen?	56
4.1.3.2.2. Bedeutung eines möglichen Verlustes von EBV aus den Tumorzellen für die Rolle des EBV bei der Tumorgenese	57
<b>4.2. DIE PARTIELL EBER-POSITIVEN EPITHELIALEN TUMOREN</b>	<b>57</b>
4.2.1. EBER-NEGATIVE KARZINOMZELLEN ENTHALTEN EBV	58
4.2.2. EBER-POSITIVE KARZINOMZELLEN ENTHALTEN MEHR KOPIEN DES EBV-GENOMS ALS EBER-NEGATIVE KARZINOMZELLEN	59
4.2.3. KARZINOMZELLEN ENTHALTEN MEHR EBV-EPIHOME ALS LYMPHOMZELLEN	60
<b>5. VERWENDETE CHEMIKALIEN UND LÖSUNGEN</b>	<b>61</b>
<hr/>	
<b>6. QUELLEN</b>	<b>63</b>
<hr/>	
<b>7. DANKSAGUNG</b>	<b>70</b>
<hr/>	