

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1705.R.20130424.1427.005.html>

doi:10.3969/j.issn.1674-2257.2013.03.012

• 论 著 •

L1、E6 和 E7 基因序列分析

王有良^{1,2}, 朱一剑³, 丁显平^{1*}

(1. 四川大学生命科学学院遗传医学研究所/生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064; 2. 彭州市人民医院, 彭州 611930;
3. 重庆市人口和计划生育科学技术研究所/出生缺陷和生殖健康重点实验室, 重庆 400020)

【摘要】 目的 了解中国西南地区 HPV16 亚型基因的一级结构特点, 为由 HPV16 亚型感染引起的疾病特别是宫颈癌的临床诊断、治疗提供理论依据。**方法** 选取经分型明确为 HPV16 型感染的宫颈癌组织 32 例, 用 PCR 方法获得其 E6、E7 及 L1 基因的全长序列并进行测序分析。**结果** 与德国标准株相比, 32 个标本中总共发现 131 (G-A) (Gly-Arg)、178 (T-G) (Asp-Glu)、350 (G-T) (Val-Leu)、647 (A-G) (Asn-Asp)、846 (T-C) (同义突变)、L1 基因第 966 (C-T) (同义突变)、L1 基因第 1 302 (C-T) (同义突变) 和 L1 基因第 1 434 (A-G) (同义突变) 等 20 个突变位。**结论** 与标准序列比较, 中国西南地区 HPV16 亚型 L1、E6 和 E7 基因存在一定范围变异, 提示在预防治疗西南地区妇女宫颈癌病人以及研制该地区 HPV 疫苗时, 需要注意这些位点的变异, 特别是一些引起氨基酸变异的位点。

【关键词】 人类乳头瘤病毒; 宫颈癌; 序列分析

【中图分类号】 R737.33; Q523⁺.8 **【文献标志码】** A

Sequence Analysis of L1, E6 and E7 Genes WANG You-liang^{1,2}, ZHU Yi-jian³, DING Xian-ping^{1*} (1. Institute of Genetic Medicine, College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Pengzhou People's Hospital, Pengzhou 611930, China; 3. Science and Technology Institute for Population and Family Planning of Chongqing, Chongqing 400020, China)

【Abstract】 **Objective** This study was designed to analyze sequence variations in E6, E7 and L1 of HPV16, to identify novel HPV16 variants and to provide some theoretical bases for the clinical diagnosis and treatment of the infectious diseases caused by HPV16, especially the cervical cancer. **Methods** Biopsies from 32 HPV16-positive cervical neoplasia cases were analyzed by PCR (polymerase chain reaction) for E6, E7 and L1 genes. The sequences of the PCR products was determined by an automated DNA sequencer. **Results** Compared with the European-Germany131, 20 mutations were detected from all the 32 biopsies. Some of the mutations were nonsynonymous, such as 131 (G-A) (Gly-Arg), 178 (T-G) (Asp-Glu), 350 (G-T) (Val-Leu), 647 (A-G) (Asn-Asp), and so on. The others were synonymous mutations, including 846 (T-C), L1 966th (C-T), L1 1 302 (C-T) and L1 1 434th (A-G), etc. **Conclusion** Compared with other HPV16 reference sequences, the nucleotide sequences of the HPV16 E6, E7 and L1 genes from cervical carcinoma biopsy in Southwestern China have some variants to a certain degree, including synonymous mutation and nonsynonymous mutation. Above all, the results may suggest us to pay attention on the mutation sites, especially the ones that can cause the amino acid changes when considering the future researches on the vaccine development of HPV virus and the treatment of cervical cancer.

【Key words】 Human papilloma virus; Cervical cancer; Sequence analysis

全球范围内宫颈癌(cervical cancer)的发病率在妇科肿瘤中居第 2 位^[1], 新发病例以发展中国家为主占 80%^[2], 我国每年新发病例占全球新发病例

28.8%^[3]。宫颈癌发病近年呈年轻化趋势, 由 40~50 岁提前到 35 岁左右。人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是诱发宫颈癌的首要启动因素。已确定的 HPV 100 多种亚型中, 30 多种与生殖道感染有关, 只有少量的感染会发展为癌前

基金项目: 重庆市医药卫生攻关项目(NO: 渝卫科 0802344)

通讯作者: 丁显平, E-mail: Brainding@scu.edu.cn

万方数据

病变或者癌症^[4,5],其中高危型与宫颈癌前病变及宫颈癌的发生密切相关^[6,7]。宫颈癌组织中 99%以上携带有高危 HPV DNA,其中 70%的宫颈癌前病变和宫颈癌由 HPV16 和 HPV18 感染引起^[8]。

HPV16/18 致癌的关键是 E6 和 E7 转化基因及其产物。主要根据病毒的关键序列对 HPV 进行分型,与已知的 HPV DNA 序列的区别<10%时属于同一型,当 HPV 序列同源性在 90%~98%时,两种 HPV 为同一类型内的不同亚型^[9]。对 HPVE6、E7、L1 基因突变的研究表明特定定位点的突变会使病毒更易诱导产生癌变及增大再次感染或从宿主免疫系统逃逸的机会。不同的变异导致氨基酸的变化可影响宿主对病毒的免疫应答,进而与细胞恶性转化的危险性相关。因此,宫颈癌组织中 HPV16 亚型基因组突变的研究对宫颈癌疫苗研制策略及 HPV 致癌机理的研究具有重要意义。本文通过分析中国西南地区 HPV16 型 L1、E6 和 E7 基因序列,对本地区预防 HPV 感染及制备相应 HPV 疫苗具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

取自重庆第四人民医院妇瘤科及四川省肿瘤医院妇科宫颈癌患者手术切除标本 102 例,患者年龄 22~64 岁,平均 43 岁,经病理确诊为浸润性宫颈癌 CIN2/ CIN3(包括腺癌和鳞癌),其中 32 例标本经确认为 HPV16 型单重感染,并对其进行了基因序列分析。诊断符合国际妇产科联合会(FIGO)标准,资料收集包括年龄、病理诊断及疾病临床分期。

1.2 主要试剂

限制性内切核酸酶 DNA Marker DL2000、1 kb ladder、*Taq* DNA 聚合酶 IPTG X-gal 均购自宝生物(大连)工程有限公司;凝胶回收试剂盒购自 OMEGA 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 宫颈癌组织 DNA 的提取 取黄豆大小新鲜临床宫颈癌标本,剪碎后加入 pH8.0 的 TE 缓冲液 400 μ L,以匀浆器研磨至不见组织块。转入 1.5 mL 微量离心管中,以 100 μ L TE 缓冲液冲洗匀浆器并转入离心管,然后加入 20% SDS 至终浓度为 1%。混匀加蛋白酶 K 至终浓度为 100~200 μ g/mL,放入 37 $^{\circ}$ C 水浴 20 h,中间振摇数次。之后将 500 μ L Tris-平衡酚/氯仿/异戊醇倒转混匀,5 000 g 离心 10 min,取上层水相再重新抽提 1 次。吸取水相以氯仿/异戊醇抽提 1 次。5 000 g 离心 10 min 取上清加入 1/10 体积 3 M 乙酸钠和 2.5 倍体积-20 $^{\circ}$ C 预冷的乙醇,14 000g 离心 5 min。弃上清,以 70%乙醇洗涤 1 次,自然风干,以 100 μ L 水溶解沉淀,测取 OD 值达到要求后,-20 $^{\circ}$ C 存放备用。

1.3.2 型别鉴定 采用反向膜杂交技术对收集宫颈癌标本进行检测,筛选出 HPV16 型单独感染的样本。

1.3.3 引物的设计与合成 根据 Genebank 里的 HPV16 序列,采用 Primer 5.0、Oligo 6.0 等生物信息学软件,对 HPV16 E6、E7 和 L1 开放阅读框特异引物自行设计,经 BLAST 后,由上海英骏公司合成引物序列(见表 1)。

表 1 PCR 扩增引物

开放阅读框	引物名称	起始位点	引物序列	产物长度
E6	HPV16E6F	81	5'-TTATGCACCAAAAGAGAACTGCA-3'	498
	HPV16E6R	578	5'-GGTGTATCTCCATGCATGATTACAG-3'	
E7	HPV16E7F	559	5'-ATCATGCATGGAGATACACCTACATTG-3'	320
	HPV16E7R	878	5'-GCAGGATCAGCCATGGTAGATT-3'	
L1 ^a	HPV16L11F	5 500	5'-ACCAAGCTCCTTCATTACTTCCT-3'	545
	HPV16L11R	6 044	5'-GCATAAGCACTAGCATTTTCTGT-3'	
	HPV16L12F	5 955	5'-GGTAGGTCGTGGTCAGCCATTAG-3'	597
	HPV16L12R	6 551	5'-TGGGCATCAGAGGTAACCATAGAAC-3'	
	HPV16L13F	6 529	5'-TCTATGGTTACCTCTGATGCC-3'	660
	HPV16L13R	7 188	5'-ACAAACAACACTGAGTCAACA-3'	

a:为方便序列分析和引物设计,将 L1 基因分成 3 段进行测序

1.4 PCR 扩增 HPV16 型 E6、E7 和 L1 基因

1.4.1 PCR 反应体系 PCR 反应体系(25 μ L)为:

dNTP 2.5 mmol/L,引物各 50 μ mol/L,MgCl₂ 25 mmo/L,*Taq* 酶 2.5 U,加 H₂O 至 25 μ L。

1.4.2 扩增参数设定 95 ℃ 5 min 变性; 94 ℃ 45 s, 55 ℃ 45 s, 72 ℃ 1 min 后进行 35 个循环; 末次循环后 72 ℃ 延伸 5 min。

1.5 扩增产物的观察与回收

将上面 PCR 扩增产物以 1.2% 琼脂糖凝胶电泳, 0.5 mg/mL 溴化乙锭染色。以手术刀片切下含目的片段的凝胶, 放入 1.5 mL 微量离心管, 用核酸纯化试剂盒回收 DNA 片段, 操作步骤严格按照 OMEGA 凝胶回收试剂盒说明书进行: 1) 切胶时, 紫外线照射最好不超过 30 s, 以避免 DNA 降解。尽量切除多余凝胶。2) 将切下的胶块放入经高压灭菌处理的 1.5 mL EP 管中, 并称其质量, 按照 1 g/mL 的标准加入 Binding Buffer, 然后 55~60 ℃ 水浴 10 min, 并每隔 2~3 min 摇动 EP 管直到胶块完全融化。3) 将胶液全部转移到 1 个 2 mL 的收集管中(试剂盒提供), 1 000 g 室温离心 1 min。4) 弃去管中的液体, 加入 300 μL Binding Buffer, 1 000 g 离心 1 min。5) 加入 700 μL 无水乙醇饱和的 SPW Buffer, 静置 2~3 min, 1 000 g 室温离心 1 min。6) 重复上一步, 弃去管中液体, 对空柱子 1 000 g 离心 1 min, 使柱子尽量干燥。7) 将柱子置于经高压灭菌处理的 1.5 mL EP 管中, 加入 30~50 μL 双蒸去离子水, 37 ℃ 放置 10 min, 1 300 g 离心 10 min。-20 ℃ 保存送上海英骏公司测序, 每个样本都重复测 1 次。

2 结果

2.1 102 例 HPV 感染情况

102 例活检标本中, 99 例标本感染了 HPV, 单、双重感染均有(见表 2)。

2.2 HPV16 致癌基因 E6、E7 以及衣壳蛋白决定基因 L1 的序列变异分析

32 个 HPV16 单独感染标本中的 HPV16 致癌基因 E6、E7 以及衣壳蛋白决定基因 L1 经序列测定, 并且与标准株比较, 其中与标准株不同的位点被视为变异位点(见表 3)。

2.2.1 E6 基因 对于 E6 基因, 32 个标本中总共发现 4 个突变位点, 它们分别是: 131(G-A)(Gly-Arg)、178(T-G)(Asp-Glu)、350(G-T)(Val-Leu) 及 320(A-G)(Ile-Val)。

2.2.2 E7 基因 对于 E7 基因, 32 个标本中共发现 3 个突变位点, 其中两个位点为 18 个标本所共有, 它们分别是: 647(A-G)(Asn-Asp) 和 846(T-C)

(同义突变)。另外一个为 843(T-C)(同义突变)。

2.2.3 L1 基因 对于 L1 基因, 共发现 13 个突变位点, 第 966(C-T)(同义突变)、第 1 302(C-T)(同义突变)、第 1 434(A-G)(同义突变)、第 503(A-G)(Asp-Gly)、第 620(A-C)(Asn-Thr)、第 627(T-C)(同义突变)、第 648(A-G)(同义突变)、第 736(G-A)(Val-Ile)、第 1 113(T-C)(同义突变)、第 1 256(C-G)(Ser-Cys)、第 20(A-G)(Thr-Cys)、第 112(T-G)(Thr-Asp) 及第 1 508(A-G)(Lys-Arg)。

3 讨论

绝大多数宫颈癌患者癌组织中都能检测到高危 HPV DNA, 以 HPV 16、18 型为主, 其中 HPV 16 占 60% 以上^[10]。持续高危型 HPV 感染是宫颈上皮恶性转化的最重要危险因素^[11,12], 阻断 HPV 感染成了预防和治疗宫颈癌中最重要的环节, 由此引发世界各国研究 HPV 疫苗的热潮。由于不同国家 HPV 感染情况不同, 同一国家不同地区 HPV 感染也存在差异, 因此 HPV 疫苗研制必须要有针对性^[13]。本文针对中国西南地区 HPV16 型的 E6、E7 和 L1 基因序列进行分析。

研究的 102 例标本中, HPV 阳性 99 例, 感染率为 97.1%, 与邱爱东等^[14]报道的一致。但 HPV16 单重感染 32 例, 占总感染的 32.3%, HPV56 型感染(7.1%)、HPV31 型感染(7.1%) 比例也升高了, 这些与他们报道的不一致, 可能与标本来源面更广、HPV 的流行趋势发生部分改变有关。另外 67 例中, 28 例为单重感染, 其中 HPV18 为 9 例; 双重感染 15 例, 其中 HPV16/18 为 11 例, HPV16/31 共 4 例; 其他感染 24 例。双重感染中最常见的感染型为 HPV16, 本次研究也是如此。HPV 的多重感染与感染的 HPV 型有关^[15], 本次结果支持了这一观点。

宫颈鳞状与柱状上皮的连接处是 HPV 的易感部位, HPV 感染宿主细胞后, HPV DNA 与宿主染色体整合^[16], 导致基因组不稳定性^[17], HPV E6 和 E7 分别与抑癌基因 p53 和视网膜母细胞瘤基因(Rb)结合, 从而导致 p53 通路(p14-MDM2-p53 通路)和 Rb 通路(p16-CDK4/cyclin D1-pRb 通路)功能失活, 抑制抑癌基因功能, 从而诱导癌变。HPV 的主要致癌蛋白 E7 蛋白是包括 98 个氨基酸的磷酸化核酸蛋白, 通过位于 C 末端的锌指状结构形成二聚体; 通过 CR2 区的 LXCXE 结构特异地与 Rb 第 649~772 位氨基酸的口袋结构结合, 并释放核转

表 2 99 例 HPV 阳性的活检标本感染情况

型别	HPV16	HPV18	HPV31	HPV56	HPV58	HPV16/18	HPV16/31	其他	总数
<i>n</i>	32	9	7	7	5	11	4	24	99
百分比/%	32.3	9.1	7.1	7.1	5.1	11.1	4	24.2	100

表 3 HPV 16 E6、E7 和 L1 核苷酸突变

	E6				E7				L1 ^a				
位点	131	178	320	350	647	666	789	843	846	6 178	6 814	6 901/2	6 950~6 952
标准株	A	T	A	T	A	G	T	T	T	A	C		
E-G131	G			G	G	-	-	-	-				
AA				G						C			
Af1													
As					G								
EA		G			G					C			
CY001					G				C				
CY004		a			G				C				
CY005		G						C					
CY010				G	G				C				
CY013		a	G		G				C				
CY014	G	G								C	G		
CY021		a											
CY025		G			G				C			insCAT	delGAT
CY033		G											
CY038		G			G				C				
CY039		G			G				C				
CY040		a			G				C				
CY055					G				C		G		
CY057		G											
CY061		G			G				C	C			
CY068		a			G				C				
CY075		G											
CY077		G											
CY078		G			G				C		G		
CY079		a											
CY085		G			G				C			insCAT	delGAT
CY087		G											
CY088		a			G				C				
CY091		G			G				C		G		
CY092		G											
CY094													
CY095		G			G				C	C	G		
CY097		G			G				C				
CY098		G			G				C		G		
CY099		G											
CY100		a											
CY102		G											
氨基酸变异	Gly ↓ Arg	Asp ↓ Glu	Ile ↓ Val	Leu ↓ Val	Asn ↓ Ser					Asn ↓ Thr	Ser ↓ Cys	insSer	delAsp

AA:亚美型; AF1:非洲型; EA:东亚型; EG131:131 欧洲德国型
a:对于 L1 基因,表中只显示了有氨基酸突变的位点

录因子 E2F,使细胞进入 DNA 合成期。其 C 末端区域(CR3)能与 pRb 的第 803 位氨基酸至第 841 位氨基酸之间的区域相作用,导致 E2F 因子游离,游离的 E2F 因子进入核内,与一系列具有共同特殊

万方数据

序列的基因启动子结合,如 C2Myc、C2Myb、CDC22、腺苷酸激酶、二氢叶酸还原酶和 DNA 聚合酶 2 α 基因结合后的复合物不仅能诱发 DNA 复制(S 期)所需基因的转录,同时能诱导产生 G1 期调节因子,包括 CyclinA 和 CyclinE,进一步对 pRb 磷酸化,导致 G1 期的调节失控。E6 蛋白是一个含 151 个氨基酸的蛋白,包括 2 个锌指状结构,通过与 p53 和一种泛素连接酶 E62 AP 形成复合物,使 p53 泛素分解而失去作用^[18]。E6 还能通过将 p53 阻滞在胞浆内来阻止 p53 作用^[19]。对高危型 HPV 病毒 E6 基因突变的研究结果表明,特定位点的突变会使病毒更易诱导细胞产生癌变。本次研究共发现 7 个突变位点,其中 178(T-G)(Asp-Glu)和 647(A-G)(Asn-Asp)为 10 例标本共有,350(G-T)(Val-Leu)、647(A-G)(Asn-Asp)在其他研究^[20-22]中也有报道;647(A-G)(Asn-Asp)和 846(T-C)(同义突变)在中国湖北地区也有报道^[23]。

结构基因 L1 是编码病毒的主要衣壳蛋白,L1 基因序列保守,具有型特异性,不同地域亚型间也存变异^[24]。Touze 等^[25]发现 L1 蛋白氨基酸的变异可多达 15 个。本研究发现 13 个突变位点,其中第 966(C-T)、第 1 302(C-T)、第 1 434(A-G)、第 627(T-C)、第 648(A-G)和第 1 113(T-C)为同义突变,未发现插入或缺失。

根据病毒关键序列对 HPV 进行分型,可分为 E(European),As(Asian),AA(Asian-American),Af-1(African-1)和 Af-2(African-2)5 个分支^[26]。本文采用 phylip3.6 进化分析软件,发现单独以 E6 基因序列即可明显区分出中国西南地区 HPV16 型与其他分支型。

因宫颈癌发病率高、人乳头瘤病毒感染危害大、主要基因具有多态性等,因此,对本地 HPV 主要基因进行多态性分析,从而设计具有本地针对性的特异性疫苗,为预防本地 HPV 感染、开发生物制剂和疫苗都具有广阔的前景和重要意义。

参考文献

- [1] Parkin M, Bray F. Chapter 2: the burden of HPV-related cancers[J]. Vaccine, 2006, 24(suppl 3): S3, 11-25.
- [2] Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000 [J]. Lancet oncol, 2001, 2(10): 533-543.
- [3] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, *et al.* Estimating the world burden: globocan 2000 [J]. Int J cancer, 2001, 94: 153-56.
- [4] Song SH, Lee JK, Oh MJ, *et al.* Risk factors for the

progression or persistence of untreated mild dysplasia of the uterine cervix [J]. Int J Gynecol Cancer, 2006, 16 (4): 1608-1613.

- [5] Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, *et al.* Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions [J]. Cancer Res, 2008, 68(1): 307-313.
- [6] Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.
- [7] Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer [J]. Cell Mol Life Sci, 2001, 58 (12-13): 1923-1942.
- [8] Wiley D, Masongsong E. Human papillomavirus: the burden of infection [J]. Obstetrical & Gynecological Survey, 2006, 61 (6): S3-S14.
- [9] Torrisi A, Del Mistro A, Onnis GL, *et al.* Colposcopy, cytology and HPV-DNA testing in HIV-positive and HIV-negative women [J]. European Journal of Gynaecological Oncology, 2000, 21(2): 168-172.
- [10] Hubbard RA. Human papillomavirus testing methods [J]. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2003, 127(8): 940-945.
- [11] Kjaer SK, van den Brule AJ, Paull G, *et al.* Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study [J]. BMJ, 2002, 325(7364): 572.
- [12] Woodman CB, Collins S, Winter H, *et al.* Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: longitudinal cohorts study [J]. Lancet, 2001, 357(9271): 1831-1836.
- [13] Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, *et al.* The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer [J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [14] Qiu AD, Wu EQ, Yu XH, *et al.* HPV prevalence, E6 sequence variation and physical state of HPV16 isolates from patients with cervical cancer in Sichuan, china [J]. Gynecologic Oncology, 2007, 104(1): 77-85.
- [15] Levi JE, Kleter B, Quint WG, *et al.* High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40 (9): 3341-3345.
- [16] Arias-Pulido H, Peyton CL, Joste NE, *et al.* Human papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(5): 1755-1762.
- [17] Boccardo E. HPV-mediated genome instability: at the roots of cervical carcinogenesis [J]. Cytogenet Genome Res, 2010, 128 (1-3): 57-65.

doi:10.3969/j.issn.1674-2257.2013.03.013

• 论 著 •

女性乳腺癌危险因素成组病例对照研究

罗恩¹, 杨晓虹^{2*}, 王雪清¹

(1. 成都市第五人民医院普外科, 成都 611130; 2. 成都医学院公共卫生系流行病与卫生统计学教研室, 成都 610500)

【摘要】 目的 探讨女性乳腺癌的危险因素, 为建立有效的预防控制措施提供依据。方法 采用成组病例对照研究方法, 调查经组织病理学确诊为乳腺癌的女性病例 116 名及社区居民来源的健康女性对照 240 名。用统一设计的调查问卷获取病例和对照与乳腺癌相关危险因素的信息。采用非条件 Logistic 回归进行单因素和多因素分析。结果 多因素分析结果显示, 与乳腺癌发病有关的变量为乳癌家族史、吸烟和/或被动吸烟、生活事件刺激量大, OR 值(95%CI)分别为 2.571(2.019~4.951)、1.839(1.491~4.294)和 3.871(2.681~6.598); 对乳腺癌有保护作用的变量是定期乳房自检和定期锻炼, OR 值(95%CI)分别为 0.521(0.289~0.761)和 0.697(0.427~0.819)。结论 乳癌家族史、吸烟和/或被动吸烟、生活事件刺激量大是乳腺癌的危险因素, 定期乳房自检和定期锻炼是乳腺癌的保护因素。

【关键词】 乳腺癌; 危险因素; 成组病例对照研究

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

A Case-control Study in Groups on Risk Factors of Breast Cancer LUO En¹, YANG Xiao-hong^{2*}, WANG Xue-qing¹

(1. Department of General Surgery, the Fifth People's Hospital of Chengdu, Chengdu 611130, China; 2. Department of Public Health, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

【Abstract】 Objective To investigate the major risk factors of female breast cancer in Chengdu, a case control study in groups was designed. **Methods** 116 breast cancer patients with histopathological diagnosis and 240 healthy community controls were included. All data were collected with a unified questionnaire. Unconditional logistic regression model was used to analyze the significant risk factors. **Results** Active smoking and/or passive smoking, family history of breast cancer and stimulus quantity of life event were related to the incidence of breast cancer, the

通讯作者: 杨晓虹, Email: yxh@cmc.edu.cn

- [18] Cooper B, Schneider S, Bohl J, *et al.* Requirement of E6AP and the features of human papillomavirus E6 necessary to support degradation of p53 [J]. Virology, 2003, 306 (1): 87-99.
- [19] Mantovani F, Banks L. Inhibition of E6 induced degradation of p53 is not sufficient for stabilization of p53 protein in cervical tumour derived cell lines [J]. Oncogene, 1999, 18 (22): 3309-3315.
- [20] Velema JP, Ferrera A, Figueroa M, *et al.* Burning wood in the kitchen increases the risk of cervical neoplasia in HPV-infected women in Honduras [J]. International Journal of Cancer, 2002, 97(4): 536-541.
- [21] Schmitt M, Bravo IG, Snijders PJ, *et al.* Bead-based multiplex genotyping of human papillomaviruses [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(2): 504-512.
- [22] Ugozzoli LA. Multiplex assays with fluorescent microbead readout; a powerful tool for mutation detection [J]. Clinical Chemistry, 2004, 50(11): 1963-1965.
- [23] 王华, 蔡红兵, 丁晓华. 湖北地区 HPV16 E7 和 E5 基因突变与宫颈病变的相关性 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38 (3): 337-340.
- [24] Torres LA, Rojo HG, Torres RA, *et al.* Cervical cancer current view of its epidemiology and risk factors [J]. Gynecol Obstet Mex, 2004, 72: 466-474.
- [25] Touze A, El Mehdaoui S, Sizaret PY, *et al.* The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 16 variants affects yield of virus-like particles produced in an insect cell expression system [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1998, 36(7): 2046-2051.
- [26] de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, *et al.* Classification of papillomaviruses [J]. Virology, 2004, 324(1): 17-27.

(2013-02-12 收稿, 2013-03-18 修回)

L1、E6和E7基因序列分析

作者: [王有良](#), [朱一剑](#), [丁显平](#), [WANG You-liang](#), [ZHU Yi-jian](#), [DING Xian-ping](#)
作者单位: [王有良, WANG You-liang\(四川大学生命科学学院遗传医学研究所/生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都, 610064; 彭州市人民医院, 彭州, 611930\)](#), [朱一剑, ZHU Yi-jian\(重庆市人口和计划生育科学技术研究所/出生缺陷和生殖健康重点实验室, 重庆, 400020\)](#), [丁显平, DING Xian-ping\(四川大学生命科学学院遗传医学研究所/生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都, 610064\)](#)
刊名: [成都医学院学报](#)
英文刊名: [JOURNAL OF CHENGDU MEDICAL COLLEGE](#)
年, 卷(期): 2013, 8(3)

参考文献(26条)

1. [Parkin M; Bray F Chapter 2: the burden of HPV-related cancers 2006\(suppl 3\)](#)
2. [Parkin DM Global cancer statistics in the year 2000 2001\(10\)](#)
3. [Parkin DM; Bray F; Ferlay J Estimating the world burden: globocan 2000 2001](#)
4. [Song SH; Lee JK; Oh MJ Risk factors for the progression or persistence of untreated mild dysplasia of the uterine cervix\[外文期刊\] 2006\(04\)](#)
5. [Vinokurova S; Wentzensen N; Kraus I Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions\[外文期刊\] 2008\(01\)](#)
6. [Muñoz N; Bosch FX; de Sanjosé S Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer 2003\(06\)](#)
7. [Dell G; Gaston K Human papillomaviruses and their role in cervical cancer 2001\(12-13\)](#)
8. [Wiley D; Masongsong E Human papillomavirus: the burden of infection 2006\(06\)](#)
9. [Torrissi A; Del Mistro A; Onnis GL Colposcopy, cytology and HPV-DNA testing in HIV-positive and HIV-negative women 2000\(02\)](#)
10. [Hubbard RA Human papillomavirus testing methods 2003\(08\)](#)
11. [Kjaer SK; van den Brule AJ; Paull G Type specific persistence of high risk human papillomavirus \(HPV\) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study 2002\(7364\)](#)
12. [Woodman CB; Collins S; Winter H Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: longitudinal cohorts study\[外文期刊\] 2001\(9271\)](#)
13. [Bosch FX; Lorincz A; Muñoz N The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer \[外文期刊\] 2002\(04\)](#)
14. [Qiu AD; Wu EQ; Yu XH HPV prevalence, E6 sequence variation and physical state of HPV16 isolates from patients with cervical cancer in Sichuan, China 2007\(01\)](#)
15. [Levi JE; Kleter B; Quint WG High prevalence of human papillomavirus \(HPV\) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil\[外文期刊\] 2002\(09\)](#)
16. [Arias-Pulido H; Peyton CL; Joste NE Human papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer\[外文期刊\] 2006\(05\)](#)
17. [Boccardo E HPV-mediated genome instability: at the roots of cervical carcinogenesis 2010\(1-3\)](#)

18. [Cooper B;Schneider S;Bohl J Requirement of E6AP and the features of human papillomavirus E6 necessary to support degradation of p53](#)[外文期刊] 2003(01)
19. [Mantovani F;Banks L Inhibition of E6 induced degradation of p53 is not sufficient for stabilization of p53 protein in cervical tumour derived cell lines](#)[外文期刊] 1999(22)
20. [Velema JP;Ferrera A;Figuerola M Burning wood in the kitchen increases the risk of cervical neoplasia in HPV-infected women in Honduras](#)[外文期刊] 2002(04)
21. [Schmitt M;Bravo IG;Snijders PJ Bead-based multiplex genotyping of human papillomaviruses](#)[外文期刊] 2006(02)
22. [Ugozzoli LA Multiplex assays with fluorescent microbead readout:a powerful tool for mutation detection](#) 2004(11)
23. [王华;蔡红兵;丁晓华 湖北地区HPV16 E7和E5 基因突变与宫颈病变的相关性](#)[期刊论文]-[肿瘤防治研究](#) 2011(03)
24. [Torres LA;Rojo HG;Torres RA Cervical cancer current view of its epidemiology and risk factors](#) 2004
25. [Touze A;El Mehdaoui S;Sizaret PY The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 16 variants affects yield of virus-like particles produced in an insect cell expression system](#)[外文期刊] 1998(07)
26. [de Villiers EM;Fauquet C;Broker TR Classification of papillomaviruses](#)[外文期刊] 2004(01)

引用本文格式: [王有良. 朱一剑. 丁显平. WANG You-liang. ZHU Yi-jian. DING Xian-ping L1、E6和E7基因序列分析](#)
[期刊论文]-[成都医学院学报](#) 2013(3)