

• 临床论著 •

成都地区人乳头瘤病毒 16 型 E2 基因和长控制区序列分析

陈刚毅 丁显平 陈林 权强 聂双双

【摘要】 目的 研究人乳头瘤病毒(HPV)16 型 E2 基因和长控制区(LCR)序列变异以及其与子宫颈病变的相关性。**方法** 成都地区 HPV16 型感染者标本 50 份,包括 38 份 HPV 携带者的子宫颈脱落细胞,8 份生殖器疣患者的疣体组织,2 份子宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅱ级和 2 份子宫颈 CIN Ⅲ级的病变组织。PCR 扩增 E2 基因与 LCR 序列并测序,构建进化树。**结果** 50 份标本中,E2 基因有 12 个突变位点,其中 1 份生殖器疣标本 3683 有 C→A 突变;其他 48 份标本均存在≥2 个位点的突变。所有标本的 LCR 序列都有突变,共有 28 个突变位点。选择 10 份标本测序并构建进化树,8 份为 Asian 变异株;E2 突变在各种子宫颈病变中均存在,而 LCR 7867 G→A 为 4 份子宫颈 CIN 所特有。**结论** LCR 7867 G→A 突变是成都地区子宫颈病变相关的一个突变位点。

【关键词】 基因;病毒;结合部位;人乳头瘤病毒 16;突变;序列分析

Analysis of human papillomavirus 16 subtypes E2 gene and long control region sequence in Chengdu

CHEN Gang-yi, DING Xian-ping, CHEN Lin, QUAN Qiang, NIE Shuang-shuang. Institute of Genetics and Disease, Key Laboratory of Bio-resources and Eco-Environment, Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Corresponding author: DING Xian-ping, Email: Brainding@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the relevance between sequence variation of human papillomavirus (HPV)16 subtypes E2 gene or long control region (LCR) and cervical lesions. **Methods** Fifty specimens from HPV16 infected people in Chengdu were collected, including cervical exfoliated cells from 38 HPV carriers, papilloma tissues from 8 cases of genital warts, 2 with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) Ⅱ and 2 with CIN Ⅲ in this study. Polymerase chain reaction was used to amplify E2 gene and LCR, then an evolutionary tree was constructed. **Results** In all the 50 specimens, there were 12 mutation sites in E2 gene, among which, C→A existed in one specimen of genital warts, and ≥2 mutation sites existed in all the other 48 specimens. There were 28 mutation sites of LCR sequence of all the specimens. Ten specimens were chosen to construct evolutionary tree and were sequenced. The data showed that 8 specimens were Asian variants, E2 gene mutation existed in all the specimens while the LCR 7867 G→A only existed in the four CIN. **Conclusion** LCR 7867 G→A is a correlative mutation site of cervical lesions in Chengdu.

【Key words】 Genes, viral; Binding sites; Human papillomavirus 16; Mutation; Sequence analysis

子宫颈癌是世界上恶性肿瘤中的第二大杀手^[1],大部分病例集中在发展中国家。在一些发

展中国家,子宫颈癌甚至居女性癌症死亡原因的首位。流行病学研究证实,感染 15 种高危型或致癌型人乳头瘤病毒(HPV)的其中任何一种是导致子宫颈癌的必要条件^[2]。在子宫颈鳞状细胞癌标本中,HPV16 型出现的频率很高,其与鳞状细胞癌的发生具有较高的相关性^[3-14]。HPV16 型的致癌性主要表现在 E6、E7 蛋白对细胞周期调控蛋白

DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6680.2013.05.008

作者单位:610065 成都,四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室,遗传与疾病研究所

通信作者:丁显平,Email: Brainding@scu.edu.cn

P53 和磷酸化视网膜神经胶质瘤蛋白(pRB)的降解作用^[5],影响细胞周期的调控而使细胞不断增殖。研究发现,不同地区各 HPV 亚型都存在不同程度的变异,且不同的序列变异引起的 HPV 致病性有很大差异^[6]。在 HPV16 型的系统发育中,序列分析是以非编码的长控制区(LCR)为标准^[7]。在此基础上将 HPV16 分为 European(E), Asian(As), Asian American(AA), African 1(Af1), African 2(Af2)和 North American 1(NA1)6 种变异株,其中 As 在进化树中与 E 相距很近,更像是 E 的一个亚型^[8]。以前的研究主要集中在 HPV16 型的致癌蛋白和衣壳蛋白的变异分析,成都地区至今鲜见对 HPV16 型调控蛋白与序列的研究。本研究分析成都地区 HPV16 型感染者 HPV E2 基因和 LCR 序列突变,以期发现该地区 HPV16 型 E2 基因和 LCR 序列的突变位点。

对象与方法

一、研究对象和试剂

50 份经反向点杂交确定为 HPV16 型感染患者的标本,包括 38 份 HPV 携带者的子宫颈脱落细胞,8 份生殖器疣患者的疣体组织,2 份子宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅱ级和 2 份子宫颈 CINⅢ级的病变组织。标本均来自成都市的妇幼保健院和妇科医院,采集后即置入含 0.9%氯化钠溶液的采集管中。患者均来自成都市及其郊县,均为汉族。HPV DNA 检测试剂盒购于亚能生物技术(深圳)有限公司,Taq DNA 聚合酶、PCR 试剂和脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)均购自北京全式金生物技术有限公司。

二、方法

1. DNA 提取:将漂洗子宫颈刷的含 0.9%氯化钠的洗脱液转移至 1.5 mL EP 管中,14 000 r/min 离心 10 min,离心半径为 13.5 cm,弃上清液,加 50 μ L 裂解液,悬浮沉淀,100 $^{\circ}$ C 加热 10 min;14 000 r/min 离心 10 min,离心半径为 13.5 cm,保留上清液待用。操作严格按试剂盒说明书,获得 HPV DNA。

2. PCR 扩增:从美国国立生物技术信息中心(NCBI) GenBank 数据库中检索 HPV16 全基因组(NC_001526.2)。找出 E2 基因和 LCR 序列的位置,用 Primer Premier 5.0 软件分别设计引物,

见表 1,分别扩增 E2 基因和 LCR。PCR 反应体系:总体积 50 μ L,包括 200 ng 模板 DNA,1.5 mmol/L Mg^{2+} ,每条引物 5 pmol/L,2.5 U Taq 酶,800 μ mol/L dNTP。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 10 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,52 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 40 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 5 min。扩增产物经 2%琼脂糖凝胶电泳,130 V,80 mA,0.5 h,凝胶成像系统分析电泳结果。

表 1 聚合酶链反应的引物

引物名称	位置(核苷酸)	引物序列(5'→3')
E2-S1	2729~3480	GCACGAGGACGAGGACAAG
E2-A1		TCTTGGTCGCTGGATAGTCGT
E2-S2	3447~3896	CGAAGAAACACAGACGACTATCC
E2-A2		CAAAAAGCACGCCAGTAATG
LCR-S	7003~106	TCTGCAGACCTAGATCAGTTTC
LCR-A		CATTGCAGTTCTCTTTTGGTG

注:LCR 为长控制区

3. 序列分析:PCR 产物纯化后送上海英骏生物技术有限公司测序,结果与 NCBI 中 HPV16 参照序列进行比对,构建系统发育树。

结 果

一、测序结果

E2 基因和 LCR 序列与 NCBI 中 HPV16 参照序列比较后发现,50 份标本中 E2 基因有 12 个突变位点,1 份生殖器疣标本有 3683 C→A 突变;其他 48 份标本均存在 ≥ 2 个位点的突变。所有标本的 LCR 序列都有突变,共有 28 个突变位点,见表 2、3。

二、DNA 系统分析

选择 10 份标本以 LCR 序列为标准与已证实的地方株进行比对,用 Mega 4.0 软件系统分析,见图 1,HPV16 参照序列属于 E 株,本研究的 2 份(图 1 中编号 111 和 68)为 E 株,8 份为 As 变异株;2 份 E 株标本在 E2 基因位点 1 份无突变,1 份存在 3683 C→A 突变,8 份 As 株标本有表 2 所列的大部分突变。As 变异株由 E 株发展而来。

三、蛋白结合序列分析

测序结果表明,E2 未见任何突变和只存在 3683 C→A 突变的标本 LCR 不存在突变,而其他标本 E2 和 LCR 均存在突变。比较 HPV 携带者标本与子宫颈 CIN 标本发现,E2 突变无明显差异,而 LCR 7867 G→A 为 4 例子宫颈 CIN 所特有。见图 2、3。

表 2 HPV16 型 E2 基因突变位点与相应标本来源

核苷酸		蛋白质		标本来源(共 38 份 HPV 携带者子宫颈脱落细胞,8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III)
位置	突变	位置	变化	
转录激活区				
2827	G→A	25	Asp→Asp	36 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,1 份 CIN II, 2 份 CIN III
2925	A→G ^a	—	—	—
3158	C→A	135	Thr→Lys	35 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,2 份 CIN II, 2 份 CIN III
3248	G→A	165	Arg→Gln	35 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,2 份 CIN II, 2 份 CIN III
3273	T→G	173	Asp→Glu	2 份 HPV 携带者
3383	T→C	210	Ile→Thr	37 份 HPV 携带者,7 份生殖器疣,2 份 CIN II, 2 份 CIN III
3409	C→T	219	Pro→Ser	37 份 HPV 携带者,7 份生殖器疣,2 份 CIN II, 2 份 CIN III
铰链区				
3448	G→A	232	Glu→Lys	38 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,1 份 CIN II
3515	C→A	254	Thr→Asp	1 份生殖器疣
3523	T→C	257	Leu→Leu	35 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,2 份 CIN II, 2 份 CIN III
DNA 结合域				
3683	C→A	310	Thr→Lys	35 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,2 份 CIN II, 2 份 CIN III
3786	C→A	344	Asp→Glu	36 份 HPV 携带者,8 份生殖器疣,1 份 CIN II, 2 份 CIN III

注: HPV 为人乳头瘤病毒; — 为无意义; Asp 为天冬氨酸; Thr 为苏氨酸; Lys 为赖氨酸; Arg 为精氨酸; Gln 为谷氨酰胺; Glu 为谷氨酸; Ile 为异亮氨酸; Pro 为脯氨酸; Ser 为丝氨酸; Leu 为亮氨酸; CIN 为上皮内瘤变。^a 2925 位点突变是因为美国国立生物技术信息中心数据库中参照序列测序错误导致^[9]

表 3 HPV16 型长控制区序列突变位点与相应标本来源

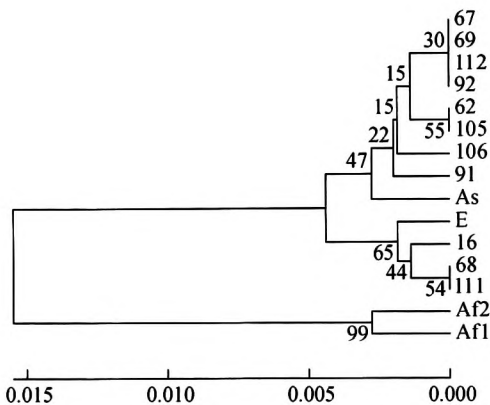
核苷酸		标本来源(共 38 份 HPV 携带者子宫颈脱落细胞, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III)	核苷酸		标本来源(共 38 份 HPV 携带者子宫颈脱落细胞, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III)
位置	突变		位置	突变	
7059	G→A	35 份 HPV 携带者, 7 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	7288	A→C	38 份 HPV 携带者, 7 份生殖器疣, 1 份 CIN II, 1 份 CIN III
7064	C→G	1 份 HPV 携带者	7383	T→G	1 份 HPV 携带者
7066	A→C	1 份 HPV 携带者	7418	A→G	2 份 HPV 携带者, 1 份 CIN III
7068	插入 AC	1 份 HPV 携带者	7432 ^a	插入 C	—
7167	A→G	1 份 HPV 携带者	7434 ^a	C→G	—
7174	A→C	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	7519	G→A	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III
7176	T→C	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	7728	A→C	35 份 HPV 携带者, 7 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III
7192	G→T	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	7779	T→C	2 份 HPV 携带者
7200	T→C	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	7800	C→A	1 份生殖器疣
7209	C→A	1 份 HPV 携带者	7840	G→A	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III
7232	A→G	1 份 CIN II	7862 ^a	缺失 A	—
7269	C→T	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	7867	G→A	2 份 CIN II, 2 份 CIN III
7286	A→C	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III	13	C→A	1 份生殖器疣
			24	C→T	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III
			47	缺失 T	36 份 HPV 携带者, 8 份生殖器疣, 2 份 CIN II, 2 份 CIN III

注: HPV 为人乳头瘤病毒; CIN 为上皮内瘤变; — 为无意义。^a 7432、7434、7862 位点突变是因为美国国立生物技术信息中心数据库中参照序列测序错误导致^[9]

讨 论

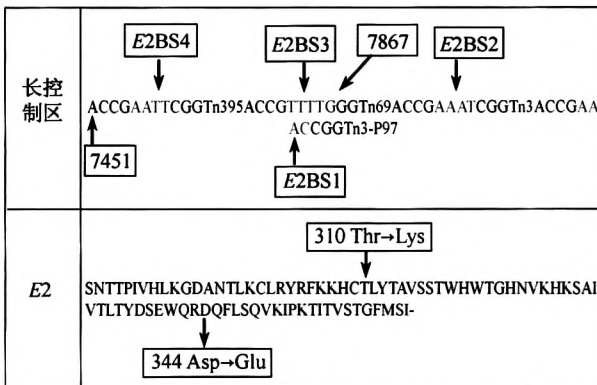
子宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一, HPV 感染是其发生的主要原因。由于 HPV 无法在体外培养, 在体内也不易诱导出可方便检测的

免疫反应^[15-22]。传统的细胞学技术是检测 HPV 感染的一种简便且经济的方法, 常用于 HPV 的过筛检查。临床上应用较多的巴氏涂片法由于其局限性, 已逐渐被液基薄层细胞检测所替代, 检测子宫颈癌的准确率达 100%。但细胞学检测是针对



注:图中数字标号除 16 代表美国国立生物技术信息中心参考序列外,其他都代表标本编号;E 为 European 变异株;As 为 Asian 变异株;Af2 为 African 2 变异株

图 1 成都地区人乳头瘤病毒 16 型系统发育树



注:Thr 为苏氨酸;Lys 为赖氨酸;Asp 为天冬氨酸;Glu 为谷氨酸。长控制区序列中,存在 4 个 E2 结合位点(E2BS1~E2BS4)和 E2 DNA 结合域氨基酸序列。长控制区每个结合位点中蓝色代表间隔序列,与结合特异性无关;每个结合位点之间的“n 数字”代表它们间隔的核苷酸数,P97 为下游启动子。E2 中“数字”代表结合域中氨基酸突变位点

图 2 人乳头瘤病毒 16 型 E2 蛋白和长控制区相互作用区域序列

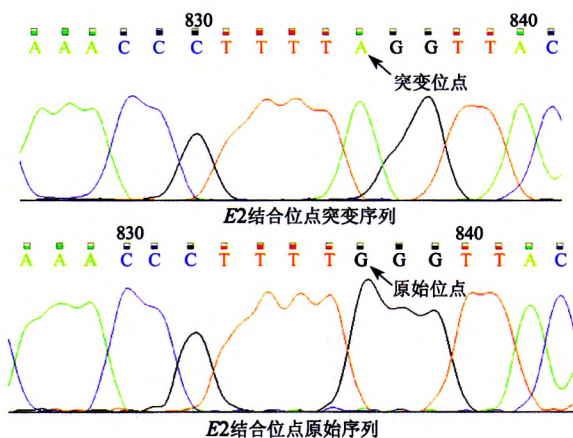


图 3 人乳头瘤病毒 16 型 E2 基因测序图

子宫颈细胞已发生形态学异常的情况,HPV 携带不一定会引起子宫颈细胞病变,但有这种潜在可能,所以,要明确是否感染 HPV 需要进行 DNA 检测^[13]。

目前 HPV DNA 检测方法主要是运用基于 L1 序列保守区的 PCR 后核酸杂交的方法^[16],但只能区分 HPV 的型别。研究发现,HPV 的不同型别在不同地域有高度多态性,如 HPV16 亚型就分为 E、As、AA、Af1、Af2 和 NA1,各株的致病性和免疫反应存在差异,这就要求不同地区必须针对本地区 HPV16 亚型基因的特点,研制相应的 HPV 疫苗和 HPV 检测探针。

本研究结果表明,E2 基因未见任何突变和只存在 3683 C→A 突变的标本 LCR 不存在突变,而其他标本 E2 和 LCR 均共同存在突变,这与 Yamada 等^[8]的研究结果一致。E2 蛋白是一个很重要的 HPV 复制和转录调控蛋白,而 LCR 又是 E2 蛋白调控的结合区,这两个序列在 HPV 的生活史中有举足轻重的作用。感染生殖器的 HPV E6、E7 启动子,如 HPV16 P97,几乎均被 E2 蛋白抑制,E2 蛋白与其识别位点的结合导致附近位点已结合的细胞转录激活因子,如刺激蛋白-1 和转录因子 II D 被取代。由此可知,E2 基因和 LCR 序列的变异对病毒功能有重大影响,而不同变异株致癌能力不同,E 株致病性较其他株更弱。

Kim 等^[15]研究发现,虽然 E2 蛋白均能特异性地结合 LCR 中 12 个碱基的 ACCgNNNNcGGT (小写字母代表 E2 偏爱的核苷酸,NNNN 是间隔序列)回文结构,但高危型 HPV E2 蛋白对 DNA 弹性和固有曲率有很强的分辨能力。LCR 序列中 E2 结合位点的突变可改变 DNA 的弹性和固有曲率,从而影响 E2 蛋白对 DNA 的亲合性。本研究发现,成都地区 HPV16 型多属于 As 变异株。子宫颈 CIN 病变患者 E2 蛋白的变异与 HPV 携带者、生殖器疣无明显差异;但 4 例子宫颈 CIN 均存在 7867 G→A 突变,而 HPV 携带者、生殖器疣不存在这一突变,且这一突变恰好位于 E2 结合位点中,所以,其与子宫颈病变有一定的相关性。由于收集的 HPV16 感染者发生子宫颈 CIN 病变的标本较少,明确它们之间的相关性还需扩大标本量,进一步做蛋白结合位点序列改变的功能分析也有必要。

HPV 各个亚型具有很高的多态性,各个地域

感染情况也很不一样。本研究根据这一情况确定了成都地区 HPV16 亚型的突变热点和所属突变株与成都地区子宫颈病变具有相关性的突变位点,对于临床诊断和疫苗研制都具有重要的意义。

参 考 文 献

- [1] 吴赞,郑辉,沈佐君. 以 PCR 技术为基础的 HPV 分型检测研究进展. 中华全科医学, 2010,8:488-489.
- [2] 王雪茜. HPV 主要型别与疾病的相关性. 医学研究杂志, 2010,39:12-15.
- [3] Gravitt PE, Peyton CL, Apple RJ, et al. Genotyping of 27 human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization, reverse line blot detection method. J Clin Microbiol, 1998,36:3020-3027.
- [4] 冷平,朱一剑,丁显平,等. 中国西南地区人乳头瘤病毒 16 亚型基因序列分析研究. 现代预防医学, 2010, 37: 4132-4135,4138.
- [5] Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. Nat Rev Cancer, 2007,7:11-22.
- [6] Giannoudis A, Duin M, Snijders PJ, et al. Variation in the E2-binding domain of HPV 16 is associated with high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. Br J Cancer, 2001, 84:1058-1063.
- [7] Schmidt M, Kedzia W, Gozdicka-Józefiak A. Intratype HPV16 sequence variation within LCR of isolates from asymptomatic carriers and cervical cancers. J Clin Virol, 2001,23:65-77.
- [8] Yamada T, Manos MM, Peto J, et al. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. J Virol, 1997,71:2463-2472.
- [9] Sathish N, Abraham P, Peedicayil A, et al. E2 sequence variations of HPV 16 among patients with cervical neoplasia seen in the Indian subcontinent. Gynecol Oncol, 2004,95: 363-369.
- [10] 杨丹球. 人乳头瘤病毒感染与子宫颈癌发病关系的研究. 临床和实验医学杂志, 2010, 9:1653-1655.
- [11] zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer, 2002,2:342-350.
- [12] Phelps WC, Howley PM. Transcriptional trans-activation by the human papillomavirus type 16 E2 gene product. J Virol, 1987,61:1630-1638.
- [13] Coutlée F, Gravitt P, Kornegay J, et al. Use of PGMV primers in L1 consensus PCR improves detection of human papillomavirus DNA in genital samples. J Clin Microbiol, 2002,40:902-907.
- [14] Stewart AC, Eriksson AM, Manos MM, et al. Intratype variation in 12 human papillomavirus types: a worldwide perspective. J Virol, 1996,70:3127-3136.
- [15] Kim SS, Tam JK, Wang AF, et al. The structural basis of DNA target discrimination by papillomavirus E2 proteins. J Biol Chem, 2000,275:31245-31254.
- [16] Ho L, Chan SY, Chow V, et al. Sequence variants of human papillomavirus type 16 in clinical samples permit verification and extension of epidemiological studies and construction of a phylogenetic tree. J Clin Microbiol, 1991,29:1765-1772.
- [17] Stern PL. Immune control of human papillomavirus (HPV) associated anogenital disease and potential for vaccination. J Clin Virol, 2005,32 Suppl 1:S72-81.
- [18] Kurvinen K, Yliskoski M, Saarikoski S, et al. Variants of the long control region of human papillomavirus type 16. Eur J Cancer, 2000,36:1402-1410.
- [19] Ferenczy A, Franco E. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. Lancet Oncol, 2002,3:11-16.
- [20] Cuschieri KS, Cubie HA. The role of human papillomavirus testing in cervical screening. J Clin Virol, 2005,32 Suppl 1: S34-42.
- [21] Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. Vaccine, 2006,24 Suppl 1:S16-22.
- [22] Muñoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. J Clin Virol, 2000,19:1-5.

(收稿日期:2012-02-20)

(本文编辑:沈洁)

• 读者 • 作者 • 编者 •

医学论文中有关实验动物描述的要求

在医学论文的描述中,凡涉及实验动物者,在描述中应符合以下要求:① 品种、品系描述清楚;② 强调来源;③ 遗传背景;④ 微生物学质量;⑤ 明确体质量;⑥ 明确等级;⑦ 明确饲养环境和实验环境;⑧ 明确性别;⑨ 有无质量合格证;⑩ 有对饲养的描述(如饲养类型、营养水平、照明方式、温度、湿度要求);⑪ 所有动物数量准确;⑫ 详细描述动物的健康状况;⑬ 对动物实验的处理方式有单独清楚的交代;⑭ 全部有对照,部分可采用双因素方差分析。

作者: [陈刚毅](#), [丁显平](#), [陈林](#), [权强](#), [聂双双](#), [CHEN Gang-yi](#), [DING Xian-ping](#), [CHEN Lin](#), [QUAN Qiang](#), [NIE Shuang-shuang](#)
作者单位: 610065成都, 四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 遗传与疾病研究所
刊名: [中华传染病杂志](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名: [Chinese Journal of Infectious Diseases](#)
年, 卷(期): 2013, 31 (5)

参考文献(22条)

1. [吴赟;郑辉;沈佐君](#) 以PCR技术为基础的HPV分型检测研究进展 2010
2. [王雪茜](#) HPV主要型别与疾病的相关性[期刊论文]-[医学研究杂志](#) 2010(4)
3. [Gravitt PE;Peyton CL;Apple RJ](#) Genotyping of 27human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization,reverse line blot detection method 1998
4. [冷平;朱~剑;丁显平](#) 中国西南地区人乳头瘤病毒16亚型基因序列分析研究[期刊论文]-[现代预防医学](#) 2010(21)
5. [Woodman CB;Collins SI;Young LS](#) The natural history of cervical HPV infection:unresolved issues 2007
6. [Giannoudis A;Duin M;Snijders PJ](#) Variation in the E2 binding domain of HPV 16 is associated with high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix 2001
7. [Schmidt M;Kedzia W;Gozdzicka-J6zefiak A](#) Intratype HPV16 sequence variation within LCR of isolates from asymptomatic carriers and cervical cancers 2001
8. [Yamada T;Manos MM;Peto J](#) Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers:a worldwide perspective[外文期刊] 1997(3)
9. [Sathish N;Abraham P;Peedicayil A](#) E2 sequence variations of HPV 16 among patients with cervical neoplasia seen in the Indian subcontinent 2004
10. [杨丹球](#) 人乳头瘤病毒感染与子宫颈癌发病关系的研究[期刊论文]-[临床和实验医学杂志](#) 2010(21)
11. [zur Hausen H](#) Papillomaviruses and cancer:from basic studies to clinical application 2002
12. [Phelps WC;Howley PM](#) Transcriptional trans-activation by the human papillomavirus type 16 E2 gene product 1987
13. [Coutiée F;Gravitt P;Kornegay J](#) Use of PGMY primers in L1 consensus PCR improves detection of human papillomavirus DNA in genital samples 2002
14. [Stewart AC;Eriksson AM;Manos MM](#) Intratype variation in 12 human papillomavirus types:a worldwide perspective 1996
15. [Kim SS;Tam JK;Wang AF](#) The structural basis of DNA target discrimination by papillomavirus E2 proteins 2000
16. [Ho L;Chan SY;Chow V](#) Sequence variants of human papillomavirus type 16 in clinical samples permit verification and extension of epidemiological studies and construction of a phylogenetic tree 1991
17. [Stern PL](#) Immune control of human papillomavirus (HPV)associated anogenital disease and potential for vaccination 2005(Suppl 1)
18. [Kurvinen K;Yliskoski M;Saarikoski S](#) Variants of the long control region of human papillomavirus type 16 2000
19. [Ferenczy A;Franco E](#) Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia 2002
20. [Cuschieri KS;Cubie HA](#) The role of human papillomavirus testing in cervical screening 2005(Suppl 1)
21. [Stanley M](#) Immune responses to human papillomavirus[外文期刊] 2006(Suppl 1)
22. [Munoz N](#) Human papillomavirus and cancer:the epidemiological evidence 2000

引用本文格式: [陈刚毅](#), [丁显平](#), [陈林](#), [权强](#), [聂双双](#), [CHEN Gang-yi](#), [DING Xian-ping](#), [CHEN Lin](#), [QUAN Qiang](#), [NIE Shuang-shuang](#) 成都地区人乳头瘤病毒16型E2基因和长控制区序列分析[期刊论文]-[中华传染病杂志](#) 2013(5)