

DOI:10.13350/j.cjpb.220322

• 临床研究 •

医院宫颈病变患者感染 HPV 的基因分型特点

杨宗桥¹, 樊海琴², 龙丽¹, 侯小良¹, 付敏^{1*}

(1. 黔东南州人民医院检验科, 贵州凯里 556000; 2. 黔东南州人民医院血液内科)

【摘要】 目的 研究贵州省黔东南州女性感染 HPV 亚型分布, 以及宫颈病变样本中 HPV16 E2、E6、E7 和 L1 突变情况。 **方法** 采集 11 268 例就诊患者宫颈标本, 提取核酸进行型别检测。选取 HPV16 阳性的宫颈病变样本, PCR 扩增并测序。 **结果** ≤ 30 岁, 30~40 岁, 40~50 岁, 50~60 岁和 > 60 岁年龄组患者分别为 2 538、3 795、3 622、1 123 和 190 例。2 243 例患者样本检出 HPV 病毒, 总检出率 19.91%。分离出 2 781 株 HPV 病毒, 其中 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV43、HPV45、HPV51、HPV52、HPV53、HPV56、HPV58 和 HPV66 亚型分别为: 326、112、49、73、59、150、34、29、155、450、139、106、235 和 69 株。5 份 HPV16 阳性样本中检出 22 个 DNA 突变位点。HPV16 E2 检出 10 个位点突变, 其中 8 个错义突变和 2 个同义突变。错义突变分别为: G2827A(Asp→Asn)、C3158A(Thr→Lys)、T3383C(Ile→Thr)、C3409T(Pro→Ser)、G3448A(Glu→Lys) 和 C3786A(Asp→Gln)。HPV E6 检出 5 个错义突变, 分别为: G131A(Gly→Arg)、T178A(Asp→Glu)、T178G(Asp→Glu)、C278G(Pro→Ala) 和 G350T(Val→Leu)。HPV E7 发生 4 个位点突变, 其中 1 个错义突变和 3 个同义突变。错义突变为 A647G(Asn→Ser), 同义突变 G666A(Glu→Glu)、T843C(Cys→Cys) 和 T846C(Ser→Ser)。L1 序列检出 3 个错义突变分别为: A503G(Asp→Gly)、A620C(Asn→Thr) 和 G736A(Val→Ile)。 **结论** 本研究女性感染 HPV 亚型以 HPV52 检出率最高, 其次是 HPV16 和 HPV58; 60 岁以上患者各亚型检出率与其他组差异较大; HPV16 E2、E6、E7 和 L2 蛋白均有不同程度突变, 可能与宫颈病变的有关。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 亚型分布; 基因突变**【中图分类号】** R373.9**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2022)03-0348-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Mar;17(3):348-351, 355.]

Genotyping characteristics of HPV infection in patients with cervical lesions

YANG Zong-qiao¹, FAN Hai-qin², LONG Li¹, HOU Xiao-liang¹, FU Min¹ (1. The People's Hospital of Qiandongnan Department of Laboratory Science, Kaili 556000, Guizhou, China; 2. The People's Hospital of Qiandongnan Department of Hematology)*

【Abstract】 Objective The distribution of HPV subtypes and HPV16 E2, E6, E7 and L1 mutations in cervical lesions of women were studied in Qiandongnan Prefecture, Guizhou Province. **Methods** The cervical specimens of 11268 patients were collected, and the nucleic acid was extracted for type detection. HPV16 positive cervical lesions were selected, amplified by PCR and sequenced. **Results** There were 2538 cases, 3795 cases, 3622 cases, 1123 cases and 190 cases according to ≤ 30 years old, 30-40 years old, 40-50 years old, 50-60 years old and more than 60 years old. Among them, 2243 patients were detected HPV, the total detection rate was 19.91%. 2781 strains of HPV were isolated from the above samples, of which, HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV43, HPV45, HPV51, HPV52, HPV53, HPV56, HPV58 and HPV66 subtypes were 326 strains, 112 strains, 49 strains, 73 strains, 59 strains, 150 strains, 34 strains, 29 strains, 155 strains, 450 strains, 139 strains, 106 strains, 235 strains and 69 strains. A total of 22 DNA mutations were detected in 5 positive samples of HPV16. 10 mutations were detected in HPV16 E2, including 8 missense mutations and 2 synonymous mutations. The missense mutations were G2827A(Asp→Asn), C3158A(Thr→Lys), T3383C(Ile→Thr), C3409T(Pro→Ser), G3448A(Glu→Lys) and C3786A(Asp→Gln). 5 missense mutations were detected in E6, including G131A(Gly→Arg), T178A(Asp→Glu), T178G(Asp→Glu), C278G(Pro→Ala) and G350T(Val→Leu). There were four mutations in HPV E7, including 1 missense mutation and 3 synonymous mutations. The missense mutations were A647G(Asn→Ser), and the synonymous were mutations G666A(Glu→Glu), T843C(Cys→Cys) and T846C(Ser→Ser). Three missense mutations were detected in L1 sequence: A503G(Asp→Gly), A620C(Asn→Thr) and G736A(Val→Ile). **Conclusion** In this study, the detection rate of hpv52 was the highest, followed by HPV16 and HPV58. The detection rate of each subtype above 60 years old is different from other groups. HPV16 E2, E6, E7 and L2 protein mutations were found in the selected samples of cervical lesions, which were related to the occurrence of cervical lesions.

【Key words】 HPV; subtype distribution; gene mutation* **【通讯作者】** 付敏, E-mail: 1030477535@qq.com**【作者简介】** 杨宗桥(1980-), 男, 贵州凯里人, 医学硕士, 副主任技师。研究方向: 微生物感染与免疫。E-mail: rangyunhe5@163.com

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)是一种小环状双链 DNA 病毒,属乳头多瘤空泡病毒科乳头瘤病毒 A 属,具有高度的组织特异性和宿主特异性,可对皮肤和黏膜上皮侵犯^[1]。目前已发现的 HPV 病毒有 200 余种亚型,而能够造成人类皮肤和黏膜感染的有 120 余种^[2]。根据 HPV 造成感染组织的特性其可分为皮肤型和黏膜型。皮肤型有 HPV1、HPV2、HPV3 和 HPV4 等亚型。黏膜型有 HPV6、HPV11、HPV16 和 HPV18 等。根据其在肿瘤发展过程中的作用可分为:低危型和高危型。低危型有 HPV6 和 HPV11 等亚型,高危型有 HPV16、HPV18 和 HPV31 等亚型^[3-6]。HPV 基因组按功能结构其可分为:早期蛋白编码区(Early region),晚期蛋白编码区(Late region)和上游调控区(Upstream regulatory region)。早期编码基因主要有:E1、E2、E3、E4、E5、E6、E7 和 E8 个开放阅读框(open reading frame, ORFs),分别编码相应蛋白,其中大多数 HPV 亚型不表达 E3 和 E8 蛋白^[3]。低危型 HPV 持续感染多引起的尖锐湿疣,以肛门生殖器部位增生性损害为主,其多发年龄 18~50 岁。50 余种 HPV 感染能够引起尖锐湿疣,其中 HPV6 和 HPV11 约占 90%^[7]。高危型 HPV 持续感染则可诱发宫颈组织病变,90%以上的宫颈组织病变与 HPV 感染有关。宫颈癌是危害女性健康的第二大肿瘤,其仅次于乳腺癌,其发病趋于年轻化^[8]。因而调查研究 HPV 感染情况,以及对 HPV 分型研究有着重要意义。本次研究中对 HPV6、HPV11、HPV16、HPV18、HPV26、HPV31 等亚型进行检测,并对宫颈病变组织中 HPV16 的 E2、E6、E7 和 L1 的序列进行了研究。

材料与方法

1 材料

1.1 临床资料 选取 2017 年 10 月至 2020 年 1 月本院 11 268 例就诊成年女性患者临床资料进行分析,患者年龄最小 18 岁,最大 84 岁 5 月。所有患者均对本次研究知情。

1.2 仪器与试剂 LBP-3124 自动核酸分子杂交仪,广州安必平医药科技股份有限公司;ABI-2720 型荧光定量 PCR 分析仪,美国应用生物;凝胶成像系统,美国应用生物;微量高速离心机,德国 Eppendorf 公司;HPV 分型 PCR 反应管、HPV 阳性质控品、HPV 阴性质控品、离心柱、收集管, Triton×100 病毒裂解液、抑制物去除液、Tris-HCl、蛋白酶 K(干粉)、Carrier(干粉)等试剂购自广州安必平医药科技股份有限公司。

2 方法

2.1 标本采集 用窥阴器暴露宫颈,用宫颈刷置于宫颈口,顺时针旋转数周获取足量的上皮细胞,取出宫颈

刷置于盛有 2 ml 生理水试管中,送检。

2.2 实验前准备 抑制物去除液:将 48 人/份抑制物去除液(浓缩液)加入 10 ml 无水乙醇备用。蛋白质 K:将 48 人/份蛋白质 K 加入到 1.375 ml 洗脱液中混合,备用。Carrier RNA 干粉:48 人/份加入 110 μ l 洗脱液,混匀备用。

2.3 核酸提取 取 1 ml 含有细胞的洗脱液放入 1.5 ml 离心管中,10 000 r/min(离心半径 8.7 cm)离心 3 min,去上清。分别加入阳性和阴性质控,并参与提取过程。加入 50 μ l 蛋白质 K,加入 200 μ l 病毒裂解液,涡旋振荡 20 s,12 000 r/min 离心 10 s。72 $^{\circ}$ C 加热 10 min,洗脱液同步预热。加热 250 μ l 无水乙醇,振荡 15 s,将混合液吸入离心柱 12 000 r/min 离心 1 min。将离心柱放入新 EP 管,加入 500 μ l 抑制剂去除液,12 000 r/min 离心 1 min。将离心柱放入新 EP 管,加入 500 μ l 去离子水,12 000 r/min 离心 1 min,并重复一次。弃废液,12 000 r/min 离心 3 min,并移入新 EP 管。72 $^{\circ}$ C 干式恒温器加热 10 min。离心柱上方加入 72 $^{\circ}$ C 洗脱液 60 μ l,室温静置 5 min。12 000 r/min 离心 5 min,离心管内为核酸溶液,-20 $^{\circ}$ C 保存。

2.4 型别检测 PCR 扩增 取 PCR 反应管若干,分别加入样品 DNA、HPV 阳性、阴性质控品 DNA 各 20 μ l,5 000 r/min 离心 10 s,将各反应管放入 PCR 仪。反应条件:50 $^{\circ}$ C 3 min,95 $^{\circ}$ C 预变性 15 min;94 $^{\circ}$ C 变性 40 s,55 $^{\circ}$ C 退火 40 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s,循环 40 次;72 $^{\circ}$ C 终延伸 7 min。

2.5 杂交 杂交液配置见试剂操作手册。将 PCR 扩增产物 98 $^{\circ}$ C 变性 8 min,放入冰水混合物中 5 min。将标有待测样品编号 HPV 分型杂交条放入离心管中,放入杂交液 I 和与膜条编号相应的变形后 PCR 产物。42 $^{\circ}$ C 水浴,摇床低速转动,杂交 1 h。取出 HPV 分型杂交膜条并清洗。放入装有 50 ml 42 $^{\circ}$ C 杂交液 II 的试管中,42 $^{\circ}$ C 水浴,摇床中低速转动洗膜 10 min。将显色液放入洗涤后的 HPV 杂交膜条,25 $^{\circ}$ C 避光显色 10 min,取出膜条放入溶液中终止显色 3 min。吸取膜条水分,扫描仪扫描膜条。质量控制:CC 点信号值 $\geq$ cutoff 值,且为边缘清晰的圆点,则杂交正常。否则需要重新杂交。PC 点信号值 $\geq$ cutoff 值,表示采样,DNA 提取和 PCR 过程正常。否则需要重新采样和实验。HPV 阳性质控:CC 点呈阳性,PC 点呈阳性,对应分型位点为阳性(本次研究采用 HPV18 阳性质控)。HPV 阴性质控:CC 点呈阳性,其余为阴性。

2.6 宫颈病变标本 HPV16 序列分析 选取 5 份 HPV16 单一感染的宫颈病变样本,并按照 2.2 步骤提取核酸。引物设计参见文献^[5]和 GenBank 数据库,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 反应

体系: Taq 酶 12.5 μ l, 引物各 1 μ l, Mg^{2+} 2 μ l, dNTPs 4 μ l, ddH₂O 补足至 25 μ l。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 15 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 循环 40 次; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 7 min。扩增产物经 1.2% 琼脂糖 120 V 电泳 35 min, 0.5 mg/ml EB 染色。扩增产物测序由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

结 果

1 一般情况

11 268 例患者按年龄分组, ≤ 30 岁, 30~40 岁, 40~50 岁, 50~60 岁和 >60 岁年龄段患者分别为: 2 538、3 795、3 622、1 123 和 190 例, 分别占 22.52%、33.68%、32.14%、9.97% 和 1.69%。其中就诊时体检人员 1 081 例。其余患者按照阴道类疾病、宫颈类疾病、腹痛、盆腔炎、泌尿系感染、不孕及流产、月经相关疾病和其他临床症状分类, 分别为: 3 372、1 266、930、253、77、485、915 和 4 158 例。

2 HPV 病毒检出情况

本研究 11 268 例患者样本中, 2 243 例患者样本检出 HPV 病毒, 总检出率 19.91%。共计分离出 2 781 株 HPV 病毒, 主要 HPV 感染型别与年龄分布见表 1。HPV16 阳性 326 例, 阳性率 2.89%, 各年龄段阳性例数依次为: 75、96、96、48 和 11 例。HPV18 阳性 112 例, 阳性率 0.99%, 各年龄段阳性例数依次为: 26、34、30、18 和 4 例。HPV31 阳性 49 例, 阳性率 0.43%, 各年龄段阳性例数依次为: 12、15、15、7 和 0 例。HPV33 阳性 73 例, 阳性率 0.65%, 各年龄段阳性例数依次为: 17、20、29、3 和 4 例。HPV35 阳性 59 例, 阳性率 0.52%, 各年龄段阳性例数依次为: 17、13、18、9 和 2 例。HPV39 阳性 150 例, 阳性率 1.33%, 各

年龄段阳性例数依次为: 47、55、31、13 和 4 例。HPV43 阳性 34 例, 阳性率 0.30%, 各年龄段阳性例数依次为: 15、5、8、6 和 0 例。HPV45 阳性 29 例, 阳性率 0.26%, 各年龄段阳性例数依次为: 5、10、8、5 和 1 例。HPV51 阳性 155 例, 阳性率 1.38%, 各年龄段阳性例数依次为: 46、57、35、15 和 2 例。HPV52 阳性 450 例, 阳性率 3.99%, 各年龄段阳性例数依次为: 132、136、127、45 和 10 例。HPV53 阳性 139 例, 阳性率 1.23%, 各年龄段阳性例数依次为: 42、43、35、12 和 7 例。HPV56 阳性 106 例, 阳性率 0.94%, 各年龄段阳性例数依次为: 36、22、35、11 和 2 例。HPV58 阳性 235 例, 阳性率 2.09%, 各年龄段阳性例数依次为: 51、90、66、19 和 9 例。HPV66 阳性 69 例, 阳性率 0.61%, 各年龄段阳性例数依次为: 18、16、21、11 和 3 例。其中 HPV52 检出率最高, 其次是 HPV16 和 HPV58。

3 HPV16 致癌基因 E2、E6、E7 和衣壳蛋白决定基因 L1 序列分析

本次研究中 5 份 HPV16 DNA 阳性样本中共检出 22 个突变位点。HPV16 E2 检出 10 个位点突变, 其中 8 个错义突变和 2 个同义突变。错义突变分别为 G2827A(Asp $\rightarrow$ Asn)、C3158A(Thr $\rightarrow$ Lys)、T3383C(Ile $\rightarrow$ Thr)、C3409T(Pro $\rightarrow$ Ser)、G3448A(Glu $\rightarrow$ Lys) 和 C3786A(Asp $\rightarrow$ Gln), 对应数量为: 3、1、2、4、1、1、2 和 3 株。同义突变分别为 A2925G(Gln $\rightarrow$ Gln) 和 T3523C(Leu $\rightarrow$ Leu), 数量分别为 4 株和 2 株。HPV16 E6 共计检出 5 个错义突变, 分别为 G131A(Gly $\rightarrow$ Arg)、T178A(Asp $\rightarrow$ Glu)、T178G(Asp $\rightarrow$ Glu)、C278G(Pro $\rightarrow$ Ala) 和 G350T(Val $\rightarrow$ Leu), 数量分别为: 2、2、1、2 和 3 株。HPV16 E6 序列未检出同

表 1 不同年龄组 HPV 基因型分布
Table 1 The distribution of HPV by age

HPV 基因型 HPV genotype	≤ 30 岁		30~40 岁		40~50 岁		50~60 岁		>60 岁		合计 Total	
	阳性 例数 No.	阳性率 Rate (%)	阳性 例数 No.	阳性率 Rate (%)	阳性 例数 No.	阳性率 Rate (%)	阳性 例数 No.	阳性率 Rate (%)	阳性 例数 No.	阳性率 Rate (%)	阳性 例数 No.	阳性率 Rate (%)
HPV16	75	2.96	96	2.53	96	2.65	48	4.27	11	5.79	326	2.89
HPV18	26	1.02	34	0.90	30	0.83	18	1.60	4	2.11	112	0.99
HPV31	12	0.47	15	0.40	15	0.41	7	0.62	0	0.00	49	0.43
HPV33	17	0.67	20	0.53	29	0.80	3	0.27	4	2.11	73	0.65
HPV35	17	0.67	13	0.34	18	0.50	9	0.80	2	1.05	59	0.52
HPV39	47	1.85	55	1.45	31	0.86	13	1.16	4	2.11	150	1.33
HPV43	15	0.59	5	0.13	8	0.22	6	0.53	0	0.00	34	0.30
HPV45	5	0.20	10	0.26	8	0.22	5	0.45	1	0.53	29	0.26
HPV51	46	1.81	57	1.50	35	0.97	15	1.34	2	1.05	155	1.38
HPV52	132	5.20	136	3.58	127	3.51	45	4.01	10	5.26	450	3.99
HPV53	42	1.65	43	1.13	35	0.97	12	1.07	7	3.68	139	1.23
HPV56	36	1.42	22	0.58	35	0.97	11	0.98	2	1.05	106	0.94
HPV58	51	2.01	90	2.37	66	1.82	19	1.69	9	4.74	235	2.09
HPV66	18	0.71	16	0.42	21	0.58	11	0.98	3	1.58	69	0.61

义突变。HPV E7 共计发生 4 个位点突变,其中 1 个错义突变和 3 个同义突变。错义突变为 A647G(Asn→Ser),同义突变 G666A(Glu→Glu)、T843C(Cys→Cys)和 T846C(Ser→Ser)。其中有 2 株 HPV16 病毒样本发生 A647G 突变。发生上述同义突变的数量依次为:1、3 和 3 株。L1 序列共计检出 3 个错义突变分别为 A503G(Asp→Gly)、A620C(Asn→Thr)和 G736A(Val→Ile),数量分别为:2、3 和 1 株。HPV16 L1 序列未检出同义突变。

讨 论

早期的 HPV 筛查对于宫颈病变防治有着重要意义^[9]。HPV 感染率具有一定地域性,顾玉兰等^[10]对常熟地区 4 953 例体检和就诊女性宫颈脱落细胞标本中检出 HPV 阳性感染者 1 872 例,感染率 37.8%。其研究中检出前 3 位 HPV 型别依次为 HPV16 (6.3%)、HPV58(4.9%)和 HPV52(4.1%);45 岁是转折点,HPV 感染率 45 岁以下时随年龄增长而增长,45 岁以上则随年龄增长而降低,HPV 基因型的各年龄组分布趋于一致。吴云燕等^[11]对浙江省富阳地区 13 447 例就诊妇女中感染高危型 HPV 3 304 例,感染率为 24.57%。HPV 亚型感染率的前 3 位分别是 HPV52 (6.51%), HPV16 (5.87%) 和 HPV58 (4.47%)。本次研究 11 268 例患者的样本中,2 243 例患者样本检出 HPV 病毒,感染率 19.91%,共分离出 3 281 株 HPV 病毒,HPV 亚型感染前 3 位分别为 HPV52 (3.99%)、HPV16 (2.89%) 和 HPV58 (2.09%)。其中 60 岁以下各组 HPV 亚型前 3 位为上述三种亚型,但各亚型在不同年龄组分布略有差异,而 60 岁以上各亚型检出率与其他组差异较大,这可能与该年龄组样本数量较少有关。

HPV E2 在 HPV 持续感染中发挥着重要作用,它由 N-末端的反式激活结构域、铰链区和含有 C-末端的 DNA 结合域组成的多功能蛋白质^[12]。E2 蛋白可以穿梭于细胞质和细胞核之间,并能够促进细胞凋亡。它通过与 E6 和 E7 基因启动子附近位点靶向结合,替换其他转录子,从而对 E6 和 E7 负向调节。当 HPV E2 开放阅读窗被破坏,其表达缺失,则无法负向调节 E6 和 E7^[13-14]。本次研究中 5 份 HPV16 DNA 阳性样本中 HPV16 E2 共计检出 10 个位点突变,其中 8 个错义突变和 2 个同义突变。5 份 HPV16 DNA 阳性样本 E2 全部发生突变,其中有 4 份发生 C3409T(Pro→Ser)。HPV E6 和 E7 在 HPV 持续感染和癌变过程中发挥着重要作用。有研究显示 HPV E6 G131A(Gly→Arg)突变位于 E6 及 N 端结构域二聚体的交界处能够影响与 p53 结合,有适度增强细胞无限增殖

的能力。而 G350T(Val→Leu)突变能够促进 p53 的 bax 蛋白降解,增加 E6-BP 结合力,降低与 HDlg 结合力^[15]。它还能够下调 Notch 1 通路促进由原癌基因 Ras 介导的转化和协同转化作用^[16]。T178A(Asp→Glu)和 T178G(Asp→Glu)主要分布于亚洲,它也被认为能够与 HLA 基因多态性相互作用。HPV16 E7 其具有三级结构不易发生氨基酸突变,而 A647G(Asn→Ser)是最常见的突变,它能够加强宿主及病毒 DNA 的融合能力^[17]。HPV L1 蛋白外形为 5 聚体形式,分子量 54-58 ku,它的基因序列具有保守型和特异性。成熟的 HPV 病毒外壳由 72 个 L1 蛋白组成。Touze 的研究显示 6 株取自不同地区的 HPV 16 型病毒株与标准株比对有 15 个位点发生突变^[18]。而本次研究中检出 3 个错义突变,未检出同义突变。

【参考文献】

- [1] Martel C de, Plummer M, Vignat J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type[J]. Int J Cancer, 2017, 141(4):664-670.
- [2] 黄灵. 人乳头瘤病毒(HPV)相关疾病中 HPV16E2、E6、E7 基因突变及 E6、E7 抗原表达的研究[D]. 福建医科大学, 2015.
- [3] Lopera EA, Baena A, Florez V, et al. Unexpected inverse correlation between Native American ancestry and Asian American variants of HPV16 in admixed colombian cervical cancer cases[J]. Infect Gene Evolution, 2014(28):339-348.
- [4] Gagnon D, Joubert S, Senechal H, et al. Proteasomal degradation of the papillomavirus E2 protein is inhibited by over expression of bromodomain containing protein 4[J]. J Virol, 2009, 83(9):4127-4139.
- [5] Yang Y, Ren J, Zhang Q. Distribution of human papilloma virus type 16 E6 / E7 gene mutation in cervical precancer or cancer: A case control study in Guizhou Province, China[J]. J Med Virol, 2016, 88(2):345-350.
- [6] Angioli R, Lopez S, Aloisi A, et al. Ten years of HPV vaccines: State of art and controversies[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016 (102):65-72.
- [7] Sturegard E, Johansson H, Ekstrom J, et al. Human papilloma virus typing in reporting of condyloma[J]. Sex Transm Dis, 2013, 40(2):123-129.
- [8] 徐仲兰. 16 499 例妇女早期宫颈癌筛查及患者随访分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2013, 21(8):555-556.
- [9] Zur Hausen H, Meinhof W, Scheiber W, et al. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus[J]. Intern J Cancer, 1974, 13(5):650-656.
- [10] 顾玉兰, 赵一琳, 崔燕红, 等. 常熟地区临床妇科 HPV 26 种基因型感染现状与年龄分布特征研究[J]. 现代预防医学, 2019, 46(12):2183-2186, 2204.
- [11] 吴云燕, 裘明利. 女性高危型人乳头瘤病毒感染分布情况研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(1):122-123.

- and biofilm growth mode [J]. PLoS One, 2019, 14 (7): e0219038.
- [16] Bohsali A, Abdalla H, Velmurugan K, et al. The non-pathogenic mycobacteria *M. smegmatis* and *M. fortuitum* induce rapid host cell apoptosis via a caspase-3 and TNF dependent pathway[J]. BMC Microbiol, 2010(10):237.
- [17] Wang C, Zhang Q, Tang X, et al. Effects of CwIM on autolysis and biofilm formation in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis*[J]. Int J Med Microbiol, 2019, 309(1): 73-83.
- [18] Awuh J A, Flo T H. Molecular basis of mycobacterial survival in macrophages[J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(9):1625-1648.
- [19] Bamba Y, Moro H, Aoki N, et al. Multiplex cytokine analysis in *Mycobacterium avium* complex lung disease: relationship between CXCL10 and poor prognostic factors[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1):263.
- [20] Kim B, Kim B, Kook Y, et al. *Mycobacterium abscessus* infection leads to enhanced production of type 1 interferon and NLRP3 inflammasome activation in murine macrophages via mitochondrial oxidative stress[J]. PLoS Pathog, 2020, 16 (3): e1008294.
- [21] Bernut A, Nguyen-Chi M, Halloum I, et al. *Mycobacterium abscessus*-induced granuloma formation is strictly dependent on TNF signaling and neutrophil trafficking [J]. PLoS Pathog, 2016, 12(11):e1005986.
- [22] Le Moigne V, Bernut A, Cortes M, et al. Lsr2 Is an important determinant of intracellular growth and virulence in *Mycobacterium abscessus*[J]. Front Microbiol, 2019, 10:905.
- [23] Jonsson B, Ridell M, Wold AE. Phagocytosis and cytokine response to rough and smooth colony variants of *Mycobacterium abscessus* by human peripheral blood mononuclear cells[J]. AP-MIS, 2013, 121(1):45-55.
- [24] Jonsson B, Ridell M, Wold AE. Non-tuberculous mycobacteria and their surface lipids efficiently induced IL-17 production in human T cells[J]. Microbes Infect, 2012, 14(13):1186-1195.
- [25] Bernut A, Dupont C, Ogryzko NV, et al. CFTR Protects against *Mycobacterium abscessus* infection by fine-tuning host oxidative defenses[J]. Cell Rep, 2019, 26(7):1828-1840.
- [26] Tsukaguchi K, Yoneda T, Okamura H, et al. Defective T cell function for inhibition of growth of *Mycobacterium avium*-intracellular complex (MAC) in patients with MAC disease: restoration by cytokines[J]. J Infect Dis, 2000, 182(6):1664-1671.
- [27] Dubois V, Viljoen A, Laencina L, et al. MmpL8 MAB controls *Mycobacterium abscessus* virulence and production of a previously unknown glycolipid family[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(43):E10147-E10156.
- [28] Halaas O, Steigedal M, Haug M, et al. Intracellular *Mycobacterium avium* intersect transferrin in the Rab11(+) recycling endocytic pathway and avoid lipocalin 2 trafficking to the lysosomal pathway[J]. J Infect Dis, 2010, 201(5):783-792.

【收稿日期】 2021-10-08 【修回日期】 2021-12-11

(上接 351 页)

- [12] Senapati R, Senapati NN, Dwibedi B. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression[J]. Infect Agent Cancer, 2016, 11(6):59-62.
- [13] 陈丽华, 董滨华, 孙蓬明. 人乳头瘤病毒 E2 基因与 E6 基因比值与宫颈病变的研究进展[J]. 中国妇产科临床杂志, 2019, 20 (5):476-478.
- [14] Chojnacki M, Melengdy T. The HPV E2 Transcriptional trans-activation prote in stimulates cellular DNA polymerase epsilon [J]. Viruses, 2018, 10(6):321-327.
- [15] 杨丽娟, 姚宇峰, 严志凌, 等. HPV16 型 E6、E7 变异与宫颈癌发生发展的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(11):1829-1832.
- [16] Chakrabarti O, Veeraraghavalu K, Tergaonkar V, et al. Human papillomavirus type 16 E6 amino acid 83 variants enhance E6 mediated MAPK signaling and differentially regulate tumorigenesis by notch signaling and oncogenic Ras[J]. J Virol, 2004, 78(11): 5934-5945.
- [17] Duensing S, Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability[J]. Cancer Res, 2002, 62(23):7075-7082.
- [18] Antoine T, Slimane EM, 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]. J Clin Microbiol, 1998(36):2046-2051.

【收稿日期】 2021-11-10 【修回日期】 2022-01-12