



人乳头瘤病毒 58 型的系统地理学分析

李燕云^①, 李作峰^②, 何以丰^①, 康玉^①, 张晓燕^①, 程明军^①, 钟扬^{②③*}, 徐丛剑^{①*}

① 复旦大学附属妇产科医院, 上海 200011;

② 上海生物信息技术研究中心, 上海 200235;

③ 复旦大学生命科学学院, 上海 200433

* 联系人, E-mail: yangzhong@fudan.edu.cn; xucongjian@gmail.com

收稿日期: 2009-05-25; 接受日期: 2009-06-09

国家科技支撑计划(批准号: 2007BAI24B01)、国家重点基础研究发展计划(批准号: 2006AA02Z342)和上海市重点学科(批准号: B111)资助项目

摘要 人乳头瘤病毒 58 型(HPV58)是具有高度致癌危险性的 HPV 型别之一, 在亚洲和非洲等地呈现出特殊的流行状况. 由于全球 HPV58 数据分布零散, 加之一些高发地区(如中国内地)数据缺乏, 迄今为止尚未有对世界范围内 HPV58 地理分布的全面分析. 本研究对中国内地妇女宫颈癌组织标本进行了 HPV58 检测, 共获得 14 条 HPV58-E6, L1 基因序列. 对 GenBank 收录的自 1985 年起分离的 HPV58 序列进行了系统地理学分析. 结果表明, 在上海、江苏和四川等地检出的 HPV58-E6, L1 序列均与以往来自中国香港、西安和日本等 HPV58 亚洲株同源. HPV58 毒株可能由非洲西部起源, 而中国内地及东南亚地区则在接受“根部”来源的变异株之后, 成为毒株播散源“中转站”和新的策源地. HPV58 型可能与 HPV16、HPV18 相同, 也是宫颈癌发生和散播的主要 HPV 型别.

关键词

人乳头瘤病毒 58 型(HPV58)
宫颈癌
系统地理学
分子进化

人宫颈癌是影响妇女健康的重大疾病之一. 人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是宫颈癌的直接病因, 亦是诱发宫颈癌的首要因素^[1-3]. 迄今为止, 已知与生殖道恶性肿瘤发生有关的高危型 HPV 共有 18 型, 其中 HPV16 和 HPV18 最为常见, 它们各自与其他 6 种较为少见的 HPV 型别在进化上构成两个独立簇群——HPV16 簇群和 HPV18 簇群^[4]. 作为 HPV16 簇群中的成员, 人乳头瘤病毒 58 型(HPV58)属高危型 HPV, 较 HPV16 和 HPV18 少见, 但却因其特殊的全球地理分布及区域致癌高危性, 逐渐引起人们的关注. HPV58 虽在全球范围内感染率不高(阳性率仅 2%, 位于第 7 位)^[4], 但在亚洲和非洲却呈现出特殊的流行状况(阳性率高达 6%~30%, 最

高位于第 2 位, 仅次于 HPV16)^[5,6]. 中国内地是全球 HPV58 高发区之一, 1996~2007 年多次报道宫颈癌患者中 HPV58 阳性率仅次于 HPV16, 某些地区甚至高于 HPV16 和 HPV18, 远高于同期国外文献报道的数字. 在上海、江苏、四川、广东等地, 高发态势尤为明显^[6~13].

除了对妇女进行临床筛查以明确病毒感染的地理分布外, 对已知 HPV58 分子序列进行系统地理学分析可能是深入了解其特殊地理分布的一种有效方法, 其不仅可以追踪病毒的全球迁徙, 还有可能发现 HPV58 与宫颈癌流行的潜在关联. 类似方法已被成功用于禽流感病毒分析^[14]. 然而, 由于 HPV58 数据分布零散, 加之一些高发区数据的缺乏, 目前有关

HPV58 的系统地理学研究尚未见报道. 因序列较少及取材地的局限, 并未发现 HPV58 地域特定株, 也未能阐明 HPV58 的迁徙方式^[4,15,16]. 值得注意的是, 中国内地是全球 HPV58 高发区之一, 但源于中国内地的 HPV58 序列却十分缺乏, 因而对已有数据直接分析难以涵盖中国内地这一 HPV58 特殊分布区.

鉴此, 本研究在国内多点采集 HPV 病毒阳性的宫颈癌组织标本, 进行分型与测序. 将所获得的 HPV58 序列与全球自 1985 年起分离的 HPV58 序列联合进行系统地理学分析, 旨在重建 HPV58 的迁徙轨迹, 探讨中国内地在全球 HPV58 的传播和迁徙过程中的作用.

1 材料与方法

1.1 样本来源

取自 1996~2007 年间江苏、四川、上海等地妇女宫颈癌石蜡包埋组织(每个地区各 50 例), 每份组织标本切取厚度 10~20 μm 的切片 1~5 片, 均由病理检查明确诊断. 标本经 DNA 提取、扩增、测序等步骤, 获得 7 条 HPV58-E6 和 7 条 HPV58-L1 序列, 均在 2008 年提交 GenBank(表 1).

1.2 序列测定

石蜡标本经二甲苯脱蜡, 酒精脱水等处理后, 利用基因组 DNA 提取试剂盒(购自北京天为时代科技

有限公司)进行抽提 DNA, DNA 产物于 -20°C 保存. 将上述所有 DNA 产物用 HPV-L1 区通用型引物 MY09/MY11 进行 PCR 扩增, 提取 DNA 片段. 对上述阳性样品分别用 HPV58-E6 特异引物、L1 区段(分 4 个区段)特异引物扩增, 获得 HPV58-E6 片段(400~500 bp)以及 HPV58-L1 区段片段(300~500 bp). 每批次 PCR 反应中均包括阳性对照(HeLa 细胞)及阴性对照(蒸馏水), 每一 PCR 反应至少重复 3 次. PCR 产物进行 2%琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像分析系统观察结果并照相. PCR 扩增仪为 Applied Biosystems 公司的 PCR System 2700. L1 引物选择参阅文献[17]中 HPV-L1 区通用型引物 MY09/MY11, MY09: 5'-CGTC CMARRGGAWACTGATC-3', MY11: 5'-GCMCAGG GWCATAAYAATGG-3'; 自行设计 HPV58-E6 特异引物 Primer E6 A: 5'-ACCTCCTCCGTCTGCCAGTT-3', Primer E6 B: 5'-ATAGTGTAAGTACCACAACAAT TAT-3'; 自行设计 HPV58-L1 区段特异引物为 L1-1R(bp6004C): 5'-TGACCACTTACGCCAACACC-3', L1-1F(bp5600): 5'-ATTTTGCCTCGCAGACGTAA-3'; 1-2R(bp6494C): 5'-TGCAGTATTACCGGACCCTT-3', L1-2F(bp5965): 5'-TAGGTAGGGGACAGCCATT G-3', 1-3R(bp6913C): 5'-GCCTGGGAGGTAACAAAT CTAT-3', L1-3F(bp6424): 5'-TTAATAGGGCTGGAAA ACTTG-3', L1-4R(bp7280C): 5'-CAGGAAACTGAC AAGGACATAGA-3', L1-4F(bp6840): 5'-GACTGGCA ATTTGGTTTAACAC-3'. 上述引物均由 Invitrogen 生

表 1 本研究自测 HPV58 序列

GenBank 登录号	基因亚型	来源	序列长度/bp	采集年份
EU999957	L1	四川	1125	2005
EU999958	L1	四川	1125	2005
EU999959	L1	江苏	1124	2004
EU999960	L1	上海	1180	2006
EU999961	L1	上海	1168	2006
EU999962	L1	江苏	1135	2004
EU999963	L1	江苏	1143	2004
EU999964	E6	四川	450	2005
EU999969	E6	四川	436	2005
EU999970	E6	江苏	435	2004
EU999965	E6	上海	450	2006
EU999966	E6	上海	450	2006
EU999967	E6	江苏	450	2004
EU999968	E6	江苏	450	2004

物技术有限公司(上海)合成。

电泳结果阳性的 PCR 产物在复旦大学测序(美国 ABI 公司的 PRISM 310 型全自动 DNA 测序仪)。采用双向测通再拼接的方法, 因 L1 基因序列全长(1575 bp)较长, 故将 L1 分为 4 个区段, 分别测序后拼接。利用 BLAST 将所测序列与 GenBank 中 HPV 序列进行比对。

1.3 数据分析

从 GenBank 中获取 30 株 HPV58-E6 完整序列(450 bp)和 17 株 HPV58-L1 部分序列(359~449 bp), 与

本研究获得的 14 株组成数据集, 合并全同序列, 留取最完整的一条, 注明多个分离源地。合并后的 HPV58-E6, L1 序列分别为 11 和 14 株(表 2)。

GenBank 收录的 158 株 HPV16 簇群 7 个型别(HPV16, 31, 33, 35, 52, 58, 67)E6 核苷酸序列信息, 均为现有 E6 基因区完整(450 bp)或近乎完整(≥ 385 bp)的、有功能的 HPV 分离株。合并完全相同的序列, 后剩余互不相同序列信息 93 株(表 3)。

HPV 序列同基因型内毒株间核苷酸序列同源性分析采用 DNA STAR 软件, 最大值和最小值用以预测同源性的区间; 采用 Clustal W 进行序列比对; 用

表 2 本研究所用 HPV58 序列

HPV58 基因	数目	GenBank 登录号	部分或完整	提交年份	检出国/地区**
E6	11	EF060239	完整	2006	CHN-Xa
		DQ866823	完整	2006	ARG
		DQ057300	完整	2006	GBR
		DQ057296*(DQ057299,DQ057298,DQ057297,AF478161,AF478160,DQ057297,AF478161,AF478160,AF478159,AF478156,AF478151,AF478150,AF234529,AF478162,EU999965,EU999966,EU999967)	完整	2000/2002/2005/2008	USA/GBR/HKG/CHN-Sh/CHN-Js
		AF478167	完整	2002	HKG
		AF478166	完整	2002	HKG
		AF478164	完整	2002	HKG
		AF478163*(AF478154,AF478152,AF234530,EU999969,EU999970)	完整	2000/2002/2008	HKG/CHN-Js
		AF478157	完整	2002	HKG
		AF234531	完整	2000	HKG
		D90400*(AF478153,AF478155,AF478158,AF478165,DQ057301,EU999968,EU999964)	基因组	1991/2002/2005/2008	JPN/HKG/CHN-Js/CHN-Sc
L1	14	DQ431189	部分	2006	NGN
		U45929*(AY098920, DQ431188)	部分	2006/2002/1996	NGN/Mali/BRA
		DQ431187	部分	2006	NGN
		EU999963*(DQ057326)	近完整	2005/2008	HKG/CHN-Js
		U45924*(DQ057321, DQ057324)	部分	2005/1996	GBR/USA/BRA
		DQ057323*(DQ057322)	部分	2005	GBR
		U45928*(DQ057325)	部分	1996/2005	MLI/GBR
		U45927	部分	1996	BOL
		EU999962*(U45926)	近完整	1996/2008	PHI/CHN-Js
		EU999960*(EU999961,U45925)	近完整	1996/2008	PAR/CHN-Sh
		EU999957	近完整	2008	CHN-Sc
		EU999958	近完整	2008	CHN-Sc
		EU999959	近完整	2008	CHN-Js
		D90400	基因组	1991	JPN

* 合并全同序列, 取最完整的一条, 注明多个登录号及分离源地。 ** 国家/地区简称: 印度, IND; 朝鲜, PRK; 葡萄牙, POR; 越南, VIE; 乌干达, UGA; 韩国, KOR; 泰国, THA; 美国, USA; 巴西, BRA; 伊朗, IRL; 英国, GBR; 阿根廷, ARG; 日本, JPN; 摩洛哥, MON; 挪威, NOR; 中国台湾, TPE; 德国, GER; 法国, FRA; 玻利维亚, BOL; 马里, MLI; 尼日利亚, NGN; 菲律宾, PHI; 巴拉圭, PAR; 非洲, AF; 欧洲, Europe; 亚洲-美洲, As-Am; 中国香港, HKG; 中国西安, CHN-Xa; 中国上海, CHN-Sh; 中国江苏, CHN-Js; 中国四川, CHN-Sc

最大简约法(Maximum Parsimony, MP)构建进化树, 用自展(bootstrap)分析估计分支可靠性, 重复 100 次. 分别以牛乳头瘤病毒 BPV-1(NC_001522)和 HPV33 病毒(PPH33CG)为外类群.

将 HPV58-E6, L1 两组进化树中同区域来源变异株进行配对, 将树型信息与地理信息叠加标记于世界地图: 每个箭头代表 HPV58 病毒在某个时期内一次或多次的历史性迁移, 与进化树的每一级分支相对应; 箭头方向代表病毒迁移的地理位置变化, 箭头粗细代表该变异事件在进化树中所处分支级别, 越接近“根”越粗, 分支越远则越细. 最后, 将 HPV58 变异株迁移轨迹与全球宫颈癌发病率分布图相整合和比较.

2 结果与讨论

2.1 E6 基因的分型潜力

HPV 基因组为双链共价封闭环状 DNA, 由 3 个基因区组成, 包括编码 E1~E8 蛋白的早期转录区(E 区)、编码 L1, L2 蛋白的晚期转录区(L 区)和无编码的上游调节区(URR, 又称长调控区 LCR 区)^[18]. 其中, L1 基因被认为是较为保守的区域, 常用于 HPV 分型.

若分离株病毒 L1 可读框(ORF)与已知近源病毒株序列同源性少于 90%, 即可定为一种新型别. 除 L1 基因外, 一些学者对 HPV 各种基因片段的变异幅度及其携带的进化信息进行研究. 有报道^[1,19~21]认为, HPV 中不同基因片段的变异互相兼容, 而 E5, E6, L2 和 LCR 区携带的进化信息不一定是 L1 基因区所能替代的, 可显示不同的选择压力.

对 158 条 HPV16 簇群 7 个型别(HPV16, 31, 33, 35, 52, 58 和 67)的 E6 核苷酸序列进行了同源性分析, 发现 E6 基因型内核苷酸同源性为 93.6%~99.8%(表 4); 构建的进化树均分型准确, 树型稳定, 与已知 L1 分型结果相似; 对 HPV16 型构建进化树, 获得与以往 HPV16-L1 分析类似的结果, 即 HPV16 远古株“根”源于非洲, 与“走出非洲”的人类起源学说一致, 部分来自相邻地区的同源株(如非洲株、亚-美洲株及亚洲株等)聚合成同一分支^[22,23].

2.2 国内 HPV58 毒株序列特征及亲缘关系

对四川、江苏、上海等地采集的宫颈癌组织标本进行检测, 获得 5 条 HPV58-E6 全长序列(450 bp)、2 条近全长序列(435, 436 bp)及 7 条 HPV58-L1 近全长

表 3 HPV16 簇群序列

型别	数目	来源地 ^{a)}	首条序列 提交年份	首条序列 国家/地区 ^{a)}	GenBank 登录号
HPV16	55	IND, PRK, POR, VIE, UGA, KOR, THA, HKG, USA, BRA, IRL, CHN, GER, AF, As-Am, Europe	1985	GER	EF424416,EF424414,EF424413,EF433433,EF433432,EF122287,EF122286,EF122285,EF122284,EF122283,EF122281,EF122280,EF122276,EF122275,EF029180,EF029179,AF486323,AF486321,AF486320,AF486319,AF486318,AF486317,AF486316,AF486315,AF486309,AF486308,AF486307,AF486306,AF486303,AY098922,AF003018,AF003016,AF003015,AF003014,AF003013,EF432733,AY089953,AF187869,AF187868,AF187867,AF187866,AF125673,AF472508,AF472509,AF402678,AF534061,AF536179,AF536180,AY686579,AY686580,AY686581,AY686582,AY686583,AY686584,NC_001526
HPV31	9	POR, HKG, BRA, MON	1989	USA	EF566926,EF566927,EF566928,EF566929,EF566933,DQ057302,DQ057303,DQ057305,DQ057307
HPV33	3	POR, FRA	1986	FRA	EF566920,EF566921,PPH33CG
HPV35	3	NOR, TPE, GER	1991	USA	DQ057309,DQ057313,X74477
HPV52	10	POR,GBR,H KG,BRA	1994	GER	EF566922, EF566923, EF566934, EF566935, EF566936, DQ057290, DQ057292, DQ057293, DQ057294, DQ057295
HPV58	11	CHN,POR,H KG,GBR,AR G,JPN,USA	1990	JPN	EF060239, AF234531, AF478157, AF478164, AF478166, AF478167, DQ057300, DQ866823, DQ057296, AF478163, D90400
HPV67	1	JPN	1998	JPN	D21208

a) 国家/地区简称同表 2

表 4 同基因型内 HPV 毒株间核苷酸序列同源性分析

HPV 型别	序列数目/株	同源性(%)
HPV16-E6	55	96.2~99.8
HPV31-E6	9	98.4~99.8
HPV33-E6	3	93.6~99.3
HPV35-E6	3	99.3~99.6
HPV52-E6	10	97.8~99.6
HPV58-E6	11	97.3~99.8
HPV58-L1	14	97.6~99.8
HPV67	1	—

序列(1124~1480 bp). 序列同源性分析表明, 自测序列与 GenBank 收录的 HPV58-E6, L1 序列的核苷酸相似度很高: E6 为 97.3%~99.8%, L1 为 97.6%~99.8%, 符合分型规律^[24~26](表 4). 与 GenBank 标准株进行 BLAST 比对发现, 在上海和江苏检测出的 3 条 E6 序列(EU999965, EU999966, EU999967)与 DQ057296(香港、美国、德国)一致, 江苏和四川的 2 条 E6 序列(EU999968, EU999964)与 D90400(日本、香港)一致, 四川和江苏 2 条 E6 序列(EU999969, EU999970)与 AF478163(香港)一致. 而来自上海的 2 条 L1 序列(EU999960, EU999961)与 U45925(巴拉圭)一致, 江苏的 1 条 L1 序列(EU999962)与 U45926(菲律宾)一致,

江苏的 1 条 L1 序列(EU999963)与 DQ057326(香港)一致, 另外来自四川、江苏的 3 条 L1 序列(EU999957, EU999958, EU999959)均为新序列(表 2). 将本研究获得的国内数据融入全球数据, 对 E6, L1 基因分别构建进化树(图 1, 国内数据用加粗标示).

从两棵进化树中可以看出, E6 基因的同源株 AF478163 和 D90400 出现在日本、香港、江苏、四川; 同源株 AF478164 和 DQ057296 出现在香港、江苏、上海. L1 基因的同源株 EU999963, D90400 和 EU999958 出现在香港、江苏、日本、四川; 同源株 EU999959, EU999960, EU999957 和 EU999962 出现在江苏、上海、巴拉圭、四川、菲律宾. 总之, 本实验获得的国内 HPV58 序列多与香港、日本、菲律宾等 HPV58 东南亚株同源, 且有聚集于树型中下部的倾向, 表明国内及东南亚地区可能在接受“根部”来源的 HPV58 变异株后形成毒株播散源“中转站”, 并在全球 HPV58 的传播与迁徙过程中起到“播散源”作用.

2.3 HPV58 的系统地理学分析及意义

Clifford 等人^[5]采用 Meta 分析发现, 非洲南部及南亚地区宫颈癌患者 HPV58 感染明显高于其他地区

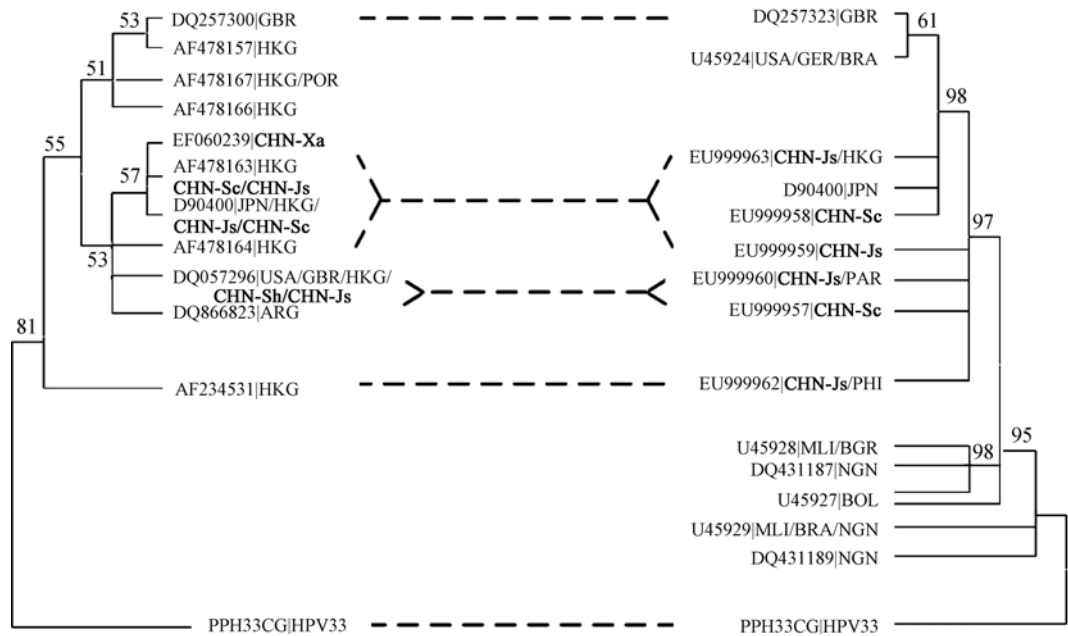


图 1 HPV58-E6 及 L1 进化树

左边为 E6 树, 右边为 L1 树. 所用序列包括自测与 GenBank 序列(全同序列已合并, 注明多个分离源地). 选择 HPV33(PPH33CG) 为外类群, 应用 MP 法构建进化树. 国家/地区简称同表 2

(欧洲、北美、澳大利亚等地), 可高达 6%, 远高于当地 HPV31, 33, 45 型比例, 在某些地区甚至高于 HPV16, HPV18. Xi 等人^[27]发现在非洲西部患宫颈癌前病变的 35 岁以上妇女中, HPV58 是继 HPV16 之后的第二位常见型别. Wu 等人^[8]、Chan 等人^[6]、Lai 等人^[12]、Xin 等人^[28]、Cho 等人^[29]分别报道了中国内地、香港、台湾以及日本、韩国等地 HPV58 的异常高感染率, 大多仅次于 HPV16, 且与严重上皮内瘤样病变明显相关. 继 HPV16, HPV18 之后, HPV58 因其独特性和高危性正越来越引起广泛重视.

HPV58 出现这一独特的流行病学分布差异的原因何在? 是否与变异株本身进化有关, 亦或与人群易感性或地区检测差异相关联? 针对病毒序列的系统地理学分析为探讨这一问题提供了有效的方法. 曾有学者对 HPV16 进行过系统地理学研究, 认为 HPV 的基因变异仅局限在相对小的范围内, 如 L1 基因变异率不足 2%. 因此, HPV 变异株的鉴定可以揭示该病毒流行病学与进化关系^[30]. HPV 地域特定株与人类族群几乎同时形成, 因而 HPV 的进化也在一定程度上与宿主(人类)的迁徙有关. 然而, 过去针对 HPV58 的系统地理学研究十分有限. 2005 年, Calleja-Macias 等人^[4]对 21 株 HPV58 基因组测序及分析, 发现较多 HPV58 相同株分散在世界各地, 大部分没有明确的地域特定株, 且其进化树型完全不同于 HPV16, 与人类进化和迁移关系不明确. 在此之前, 还有两次报道分别对 7 株^[15]和 8 株^[16] HPV58 基因型进行 L1 基因序列分析, 也与 Calleja-Macias 等人^[4]观点基本一致.

本研究构建了 E6 和 L1 两组进化树并进行了地理信息归并. 图 1 中左侧 E6 树表明“根”来源于香港分离株 AF234531, 进而分成两枝, 上部枝主要分布于香港及欧洲, 下部枝主要分布于东南亚及拉丁美洲. L1 树由于数据地域分布信息较 E6 丰富, 该进化树呈现出全球性态势: “根”来源于非洲分离株 DQ431189, 且所有非洲数据 U45929, U45927, DQ431187 和 U45928 均集中在树的根部. 当树枝分支至 EU999962(江苏及菲律宾株), 下级树枝开始呈现出与 E6 树型类似的形态, 散发至东南亚、欧洲、拉丁美洲等地. 为了直观显示分析结果, 将两组树型信息与地理信息叠加标记于世界地图上(图 2(A)和

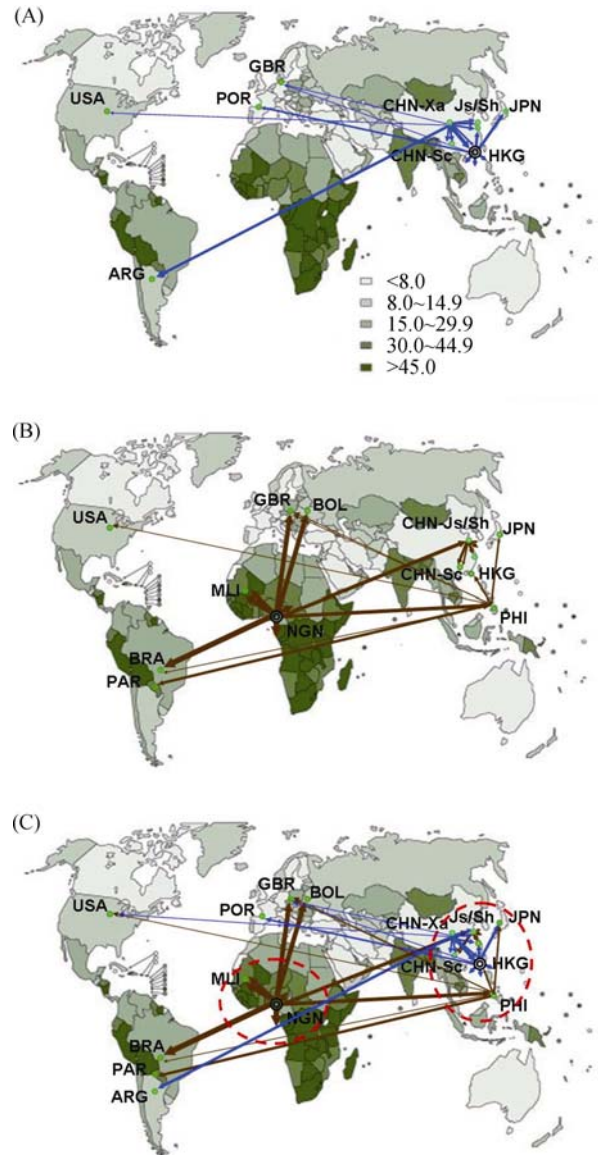


图 2 HPV58 的系统地理学分析

(A) HPV58-E6 全球迁移轨迹重建; (B) HPV58-L1 全球迁移轨迹重建; (C) 整合(A)与(B). 以 2005 年世界卫生组织全球宫颈癌发病率统计图为背景, 箭头粗细代表该变异迁移事件在进化树中所处的分支级别. 国家/地区简称同表 2

(B)), 再予合并(图 2(C)), 重建了 HPV58 的进化轨迹.

对图 2(C)分析发现, E6 树因缺失非洲数据, 仅显示了东南亚地区(香港)这一重要策源地; 而 L1 树则明确了 HPV58 的非洲起源性, 且可靠性较高. 两组信息对应补充、相互验证, 提示 HPV58 毒株由非洲西部起源, 变异株传入欧洲、拉丁美洲、东南亚等地,

其中在东南亚地区形成另一新的重要策源地, 再次以不同变异株播散至东南亚其他地区、欧洲、北美洲、拉丁美洲等地, 其中非洲、东南亚是两处重要的毒株散播源地, 这在一定程度上印证了该两地 HPV58 高检出率的流行病学报道. 可以推测, HPV58 在非洲、东南亚出现高感染率极有可能源于 HPV58 变异株时间上的较早存在(或传入), 亦有可能因为起源较早(接近“根”)的变异株毒力较强.

在欧洲和拉丁美洲, 虽有变异株多次传入, 且有的起源较早(接近“根”), 但并未像东南亚一样成为毒株新的策源地. 可能的解释是: 变异株改变, 即所有传入的变异株均发生适应性进化, 毒力减弱, 这与 DeFilippis 等人^[31]的观点相类似; 人群易感性不同, 即欧洲和拉丁美洲人群对 HPV58 毒株的易感性较东南亚和非洲差.

本研究以世界卫生组织全球宫颈癌发病率统计

图为背景, 将 HPV58 变异株的全球迁徙与宫颈癌的流行分布相比较, 结果表明非洲是全球宫颈癌疾病负担最为严重的大洲, 其次其在亚洲的印度、蒙古、中南亚岛屿以及拉丁美洲的部分地区也呈高发态势, 而在欧洲、北美洲则属低发区, 这与 HPV58 变异株由“非洲→东南亚、拉丁美洲→欧洲、北美洲”的逐次迁徙较吻合.

综上所述, HPV58 在全球宫颈癌发生中可能占据重要地位, 其对全球宫颈癌流行分布的影响超出人们目前的认知程度, 是主导宫颈癌发生和散播的 HPV 型别之一. 事实上, 全球已出现的宫颈癌疫苗均针对 HPV16、HPV18 型研发^[32,33], 而本研究结果对开发适合特殊区域(如非洲、南亚等地)的宫颈癌疫苗等有一定指导意义. 值得注意的事, HPV58 株随迁移及变异的次数增多, 毒性呈递减趋势, 但在东南亚地区, 其毒力可能并不削弱, 甚至增强.

致谢 感谢四川省广元市人民医院、江苏省淮安市第一人民医院、上海市公利医院、广东省惠州市中心医院提供标本.

参考文献

- 1 Lombard I, Vincent-Salomon A, Validier P, et al. Human papillomavirus genotype as a major determinant of the course of cervical. *J Clin Oncol*, 1998, 16(8): 2613—2619
- 2 McLachlin C M. Human papillomavirus in cervical neoplasia: role, risk factors and implications. *Clin Lab Med*, 2000, 20(2): 257—270
- 3 Franco E L, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ*, 2001, 164(7): 1017—1025
- 4 Calleja-Macias I E, Villa L L, Prado J C, et al. Worldwide genomic diversity of the high-risk human papillomavirus types 31, 35, 52, and 58, four close relatives of human papillomavirus type 16. *J Virol*, 2005, 79(21): 13630—13640
- 5 Clifford G M, Smith J S, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*, 2003, 88(1): 63—73
- 6 Chan P K, Lam C W, Cheung T H, et al. Association of human papillomavirus type 58 variant with the risk of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(16): 1249—1301
- 7 Lin Q Q, Yu S Z, Qu W, et al. Human papillomavirus types 52 and 58. *Int J Cancer*, 1998, 75(3): 484—485
- 8 Wu Y, Chen Y, Li L, et al. Associations of high-risk HPV types and viral load with cervical cancer in China. *J Clin Virol*, 2006, 35(3): 264—272
- 9 Huang S, Afonina I, Miller B A, et al. Human papillomavirus types 52 and 58 are prevalent in cervical cancer from Chinese women. *Int J Cancer*, 1997, 70(4): 408—411
- 10 刘继红, 黄欣, 廖革望, 等. 中国和澳大利亚共建癌患者人乳头瘤病毒感染及其他危险因素的对比较研究. *中华医学杂志*, 2003, 83(9): 748—752
- 11 Lai H C, Sun C A, Yu M H, et al. Favorable clinical outcome of cervical cancers infected with human papilloma virus type 58 and related types. *Int J Cancer*, 1999, 84(6): 553—557
- 12 Lai C H, Huang H J, Hsueh S, et al. Human papillomavirus genotype in cervical cancer: a population-based study. *Int J Cancer*, 2007,

120(9): 1999—2006

- 13 Chan P K, Li W H, Chan M Y, et al. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Chinese women with cervical cancer and precancerous lesions. *J Med Virol*, 1999, 59(2): 232—238
- 14 Robert G W, Hoang M H, Richard H L, et al. A statistical phylogeography of influenza A H5N1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(11): 4473—4478
- 15 Stewart A C, Eriksson A M, Manos M M, et al. Intratype variation in 12 human papillomavirus types: a worldwide perspective. *J Virol*, 1996, 70(5): 3127—3136
- 16 Cerqueira D M, Camara G N, da Cruz M R, et al. Variants of human papillomavirus types 53, 58 and 66 identified in Central Brazil. *Virus Genes*, 2003, 26(1): 83—87
- 17 Qu W, Jiang G, Cruz Y, et al. PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP⁵⁺/GP⁶⁺ primer systems. *J Clin Microbiol*, 1997, 35(6): 1304—1310
- 18 Cheah P L, Looi L M. Biology and pathological associations of the human papillomaviruses: a review. *Malays J Pathol*, 1998, 20(1): 1—10
- 19 Sichero L, Villa L L. Epidemiological and functional implications of molecular variants of human papillomavirus. *Braz J Med Biol Res*, 2006, 39(6): 707—717
- 20 Yamada T, Wheeler C M, Halpern A L, et al. Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States populations characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, L2, and L1 coding segments. *J Virol*, 1995, 69(12): 7743—7795
- 21 Chen Z, Terai M, Fu L, et al. Diversifying selection in human papillomavirus type 16 lineages based on complete genome analyses. *J Virol*, 2005, 79(11): 7014—7036
- 22 Ho L, Chan S Y, Burk R D, et al. The genetic drift of human papillomavirus type 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and the movement of ancient human populations. *J Virol*, 1993, 67(11): 6413—6435
- 23 Ho L, Chan S Y, 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(9): 1765—1836
- 24 Kirii Y, Iwamoto S, Matsukura T. Human papillomavirus type 58 DNA sequence. *Virology*, 1991, 185(1): 424—430
- 25 Chan P K, Chang A R, Cheung J L, et al. Determinants of cervical human papillomavirus infection: differences between high- and low-oncogenic risk types. *J Infect Dis*, 2002, 185(1): 28—35
- 26 Chan P K, Chang A R, Tam W H, et al. Prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus infection: comparison between pregnant women and non-pregnant controls. *J Med Virol*, 2002, 67(4): 583—590
- 27 Xi L F, Touré P, Critchlow C W, et al. Prevalence of specific types of human papillomavirus and cervical squamous intraepithelial lesions in consecutive, previously unscreened, West-African women over 35 years of age. *Int J Cancer*, 2003, 103(6): 803—811
- 28 Xin C Y, Matsumoto K, Yoshikawa H, et al. Analysis of E6 variants of human papillomavirus type 33, 52 and 58 in Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia/cervical cancer in relation to their oncogenic potential. *Cancer Lett*, 2001, 170(1): 19—24
- 29 Cho N H, An H J, Jeong J K, et al. Genotyping of 22 human papillomavirus types by DNA chip in Korean women: comparison with cytologic diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 188(1): 56—62
- 30 Bernard H U, Calleja-Macias I E, Dunn S T. Genome variation of human papillomavirus types: phylogenetic and medical implications. *Int J Cancer*, 2006, 118(5): 1071—1076
- 31 DeFilippis V R, Ayala F J, Villarreal L P. Evidence of diversifying selection in human papillomavirus type 16 E6 but not E7 oncogenes. *J Mol Evol*, 2002, 55(4): 491—499
- 32 Villa L L, Costa R L, Petta C A, et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus(types 6, 11 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol*, 2005, 6(5): 271—278
- 33 Harper D M, Franco E L, Wheeler C, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomized controlled trial. *Lancet*, 2004, 364(9447): 1757—1765