

부산지역 유흥업소 종사여성으로부터 분리된 HPV16형의 발암유전자(E6/E7) 돌연변이 유형 분석

민상기* · 김성순¹ · 최병선¹ · 장대호¹ · 이미옥 · 최성화 · 김남호 · 박연경 · 정영아 · 김성준 · 빈재훈 · 박호국

부산광역시보건환경연구원, ¹질병관리본부 국립보건연구원 면역병리센터 에이즈·종양바이러스팀

Received January 30, 2009 / Accepted June 8, 2009

Intratyptic Variants of HPV-16 E6/E7 Oncogene Isolated from Sexually High-Risk Women in Busan.

Sang-Keek Min*, Sung Soon Kim¹, Byeong-Sun Choi¹, Dai-Ho Jang¹, Mee-Ok Lee, Seung-Hwa Choi, Nam-Ho Kim, Yon-Koung Park, Yeong-A Jeong, Seong-Joon Kim, Jae-Hun Bin and Ho-Kuk Park. *Division of Epidemiology, Busan Institute of Health and Environment, Busan 613-104, Korea, ¹Division of AIDS, Center for Immunology and Pathology, National Institute of Health, Korea Center for Disease Control & Prevention, Seoul 122-701, Korea* - Recent studies have reported that the distribution of HPV-16 sequence variation differs geographically, and more specifically that HPV-16 E6/E7 intratyptic variants might carry a high risk for development of ICC (invasive cervical cancer) and CIN (cervical intra-epithelial neoplasia) in a given population. To investigate the genetic diversities of HPV-16 E6/E7 oncogene by region, we collected nineteen HPV-16 isolates from sexually high-risk women in Busan, and analyzed the HPV-16 E6/E7 coding regions (nt 34 to 880) with HPV-16 E6/E7 specific PCR amplification. At the nucleotide level, eleven variants of the E6 genes and nine variants of the E7 genes were identified as follows: E6 T178G (n=11), E6 T178A (n=1), E6 T350G (n=3), E6 A442C (n=2), E6 A104T, E6 A111G, E6 C116T, E6 G145T, E6 T183G, E6 C335T, E6 G522C and E7 A647G (n=12), E7 A645C, E7 A777C, E7 G663A, E7 T732C, E7 T760C, E7 A775T, E7 T789C and E7 T795G, respectively. At the amino acid level, the isolated HPV-16 E6 and E7 genes showed eleven E6 variants: E6 D25E (n=12), E6 L83V (n=4), E6 E113D (n=2), E6 M1L, E6 Q3R, E6 P5S, E6 Q14H, E6 D25N, E6 I27R, E6 H78Y, E6 C140S and three E7 variants: N29S (n=12), L28F, T72S. HPV16 E6 L83V, the dominant variant in the Caucasian population, showed relatively low frequencies in our study population. We elucidated that the dominant HPV-16 E6/E7 variants were HPV-16 E6 D25E (63.2%) and HPV-16 E7 N29S (63.2%), which were phylogenetically included in Asian lineage. Further study is needed to evaluate the risk of cervical cancer related HPV-16 E6/E7 intratyptic variants in the Korean population.

Key words : Sexually high-risk women, HPV-16 E6 and E7 variants, E6 D25E, E7 N29S

서 론

인유두종바이러스(human papillomavirus, HPV)는 Papovaviridae family에 속하며 직경이 55 nm인 20면체의 외각을 가지는 원형의 이중나선 DNA 바이러스로서 그 유전자는 상류전사 조절부위(long control region, LCR), 조기 유전자부위(early region), 후기 유전자부위(late region)로 크게 세부분으로 구성된다. HPV는 DNA 염기서열의 유사성(sequence homology)에 따라 71~89%의 동일함을 보일 때 같은 종(species)으로 분류하며 90% 이상의 동일성을 보일 때는 형(type)으로 분류하며, 같은 형 내 특정 유전자 부위에서 2% 이내의 변이를 보일 때에 형내 변이(intratyptic variant)라고 한다[20]. 현재까지 capsid protein (L1)의 염기배열의 차이에 따라 120종 이상의 형이 밝혀져 있으며[5], 대부분 손, 발, 피부 상피세포의 사마귀 생성의 원인병원체로 알려져 있으나, 40여

종은 성병을 유발하며 성기사마귀(condyloma), 성기주변의 점막 이형성증, 후두암, 자궁경부암 등에서 검출된다고 알려져 있다[6,8,10,13]. 한편, HPV 유전자형은 감염장소 및 병변의 종류에 따라 양성종양의 일종인 유두종 및 외음부 포피염을 일으키는 저위험군(HPV-6, -11, -40, -42, -43, -44, -54, -61, -70, -72, -81)과 자궁경부암을 일으키는 고위험군(oncogenic genotypes: HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, -68, -73, -82)으로 구분된다[14]. HPV 특정 유전자형과 자궁경부암과의 역학연구에 의하면 HPV-16형이 아프리카인에서 42.5%, 유럽인 65.1%, 북미주인 58%, 동남아시아인 42.9%, 일본인 50%, 중국계 홍콩인 33.3%로 전 세계적으로 가장 높은 유병율을 차지하고 있다[9]. HPV-16, -18 등과 같은 고위험군 HPV 유전자형이 자궁경부암을 유발시키는 이유는 바이러스가 생산하는 E6/E7 발암 단백질 때문으로 알려져 있다. E7은 정상세포의 pRb 종양억제 단백질과 결합하여 전사조절인자 E2F를 유리하여 비정상적 세포주기 진행을 촉진시키며, E6는 p53 종양억제 단백질과 결합하여 DNA 손상 회복 등 정상 기능을 불활화시킴으로 세포성장 조절유전자(cellular growth

*Corresponding author

Tel : +82-51-757-7502, Fax : +82-51-757-2879

E-mail : girin@korea.kr

control genes)의 통제가 불가능해져서 염색체의 안전성 소실 및 암화가 촉진된다고 알려져 있다[17]. 일반적으로 자궁경부암의 초기 전구병소에서 HPV DNA가 부체형(episomal state)으로 존재하나 상피이형성증(CIN, cervical intraepithelial neoplasia)이나 침윤암(ICC, invasive cervical cancer)에서는 바이러스 유전자가 상피세포의 염색체에 융합된 상태로 존재하며 융합 시 발암유전자 E6, E7 유전자의 전사(transcription)가 활성화된다고 알려져 있다[9].

HPV-16형의 유전자 서열변이는 지역적으로 특징적인 차이가 나며, HPV-16형은 계통발생학적으로 차이가 있는 E (European), As (Asian), AA (Asian-American), Af1 and Af2 (African-1 and -2), NA (North American) 등 5개의 뚜렷한 그룹으로 나뉜다[1,7]. 예를 들어 HPV-16형 E6 L83V (E6 단백질의 83번째 아미노산 위치에 leucine (L) → valine (V)으로 치환된 변이주)의 유병율은 중남미 52.2%, 유럽 51.1%, 북미 40.0%, 동남아 5.7%, 아프리카 1.6%로 주로 미국과 유럽지역에 우점하는 변이주로 조사된 반면, HPV-16형 E6 D25E (E6 단백질의 25번째 아미노산 위치에 aspartate (D) → glutamate (E)으로 치환)는 중국 50.6%, 일본 44%, 독일 0.9%, 스웨덴 0%으로 아시아 지역의 우점 변이형으로 조사되었다[3].

유럽과 미국의 몇몇 연구에 의하면 HPV-16형 E6와 E7 유전자의 특정 변이주는 자궁경부암 및 자궁상피이형성증 유발의 고위험군으로 조사되었다. Zehbe 등[21]은 HPV-16형 E6 L83V 변이주는 스웨덴 여성의 자궁경부암 유발과 관련이 있다고 보고하였고, 일본의 경우[12] HPV-16형 E6 D25E 변이주가 자궁경부암 환자에서 가장 많은 유전자형으로 밝혀졌다. 만약 이러한 특정변이주가 자궁경부암 유발의 결정적인 역할을 한다면, 이들 변이주에 감염된 여성의 경우 자궁경부암으로 발전될 위험성이 높다고 할 수 있다. 또한 이들 변이주의 경우 아미노산 변이로 인한 항원성 변화로 백신에 대한 특이 면역반응도 유발할 수 있다. 따라서 자궁경부암 환자 및 일반 고위험 여성군 등 다양한 모집단으로부터 HPV-16형 E6/E7 유전자 및 아미노산 수준의 변이 유형 연구는 HPV-16형을 주 표적 유전자형으로 개발 시판되는 백신 Gadasil® (HPV-6, -11, -16, -18형 예방)과 Cervarix® (HPV-16, -18형 예방)의 예방 및 치료효과 검증의 기초 자료로 활용될 수 있다.

본 연구는 항구도시라는 지역적 특성을 지닌 부산지역의 HPV 감염 고위험 직업군인 유흥업소 종사여성으로부터 분리된 HPV-16형의 E6/E7 유전자에 대한 intratypic variation를 조사하여 HPV 바이러스의 지역적 특성을 규명하고 국내 도입된 예방백신의 효과 예측을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

연구 재료

2007년 4월부터 10월까지 부산시내 거주하면서 성병에 관

한 건강진단을 받아야 할 직업군(주로 유흥업소)에 종사하는 여성이 보건소에 검진 차 내원하였을 때, 본인의 검체사용 동의 후 자궁내 도찰물을 검체로 사용하였다. 총 660건의 검체는 면봉 채취 후 즉시 VTM (viral transport medium)에 넣어 4°C 유지하여 실험에 사용하였다. 검체의 DNA는 MyHPV Chip Kit®에서 제공하는 프로토콜에 의거 DNA추출, 유전자 증폭 시험 및 DNA chip hybridization을 실시하여 유전자형을 확인하였다(Table 1). 그 결과[13] 총 364건의 HPV DNA가 검출되었으며 그 중 HPV-16형은 전체 양성건수의 15.9% 차지하였고 이중 HPV-16형 E6/E7 유전자 증폭산물의 염기서열을 분석하여 재현성이 확인된 19건을 intratypic variation 분석에 사용되었다.

HPV-16형 E6/E7 PCR

HPV-16형 E6/E7 유전자(nt 34-880)의 intratypic variation을 조사하기 위한 검체는 Quiagen DNA isolation kit를 사용하여 genomic DNA를 추출하고 Qubit (Invitrogen Co., USA)으로 정량하여 DNA농도가 20 ng/μl 이상일 경우에만 주형으로 사용하였다. PCR은 주형 DNA 100 ng/μl, 10× buffer 5 μl, 25 mM MgCl₂ 5 μl, 10 mM dNTPs 2.0 μl, Taq polymerase 5 IU/μl (Takara Co., Japan), HPV-16 E6/E7 primer [HPV16 E6-13N (5'-AACCGAAATCGGTTGAACCG-3'), HPV16 E7-13C (5'-TGCAGGATCAGCCATGGTAGAT-3')] 각 20 pmol을 넣고 증류수로 총 50.0 μl 되게 하였다. PCR 수행은 PTC-200 (MJ Research Inc., USA)을 이용하여 94°C에서 3분간 초기 변성 후, 94°C에서 30초, 57°C에서 45초, 72°C에서 1분의 조건에서 30회 반복 수행 후 최종적으로 72°C에서 5분간 신장 후 종결하였다. 유전자 증폭이 끝난 후 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 847 bp 크기의 증폭산물을 확인하였다.

DNA 염기서열 분석

PCR 산물의 염기서열 분석은 솔젠트사(SolGent Co., Korea)에 의뢰하였다. BigDye® terminator V3.1 cycle

Table 1. HPV genotype distribution of HPV-positive sexually high-risk women in Busan, 2007

High-risk genotypes (N=261)		Low-risk genotypes (N=74)		Others genotypes (N=29)			
HPV	N(%)	HPV	N(%)	HPV	N(%)		
16	58(15.9)	52	7(1.9)	6	15(4.1)	62	6(1.6)
18	19(5.2)	53	37(10.2)	11	7(1.9)	67	2(0.5)
31	18(4.9)	54	9(2.5)	34	1(0.3)	72	2(0.5)
33	14(3.8)	56	12(3.3)	40	7(1.9)	81	14(3.8)
35	3(0.8)	58	28(7.7)	42	1(0.3)	83	2(0.5)
39	12(3.3)	59	1(0.3)	43	4(1.1)	84	1(0.3)
45	13(3.6)	66	16(4.4)	44	1(0.3)	86	1(0.3)
51	13(3.6)	68	1(0.3)	70	38(10.4)	87	1(0.3)

sequencing kit (Perkin Elmer, USA)을 사용하여 sequencing 반응을 하였고, Millipore-Montage dye removal kit로 sequencing 산물을 정제하였으며 ABI 3730XL capillary DNA analyzer (Applied Biosystems, USA)로 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 NCBI BLAST search program을 사용하여 기존의 보고된 바이러스와 염기서열 상동성을 비교하여 유전자형을 결정하였다. HPV-16형 E6/E7 유전자의 계통분석 및 intratypic variation 조사는 MegAlign program (DNASStar Inc., USA)을 이용하였다.

결 과

HPV-16형 E6 돌연변이

2007년 부산지역 유흥업소 종사여성으로부터 분리된 HPV-16형 19건에 대한 E6 유전자(nt 83-559)의 염기 및 아미노산 서열변이를 조사하였다(Table 2). 1건을 제외한 18건에서 15곳의 서로 다른 염기위치(nt)에서 변이가 있었으며 그 중 nt 178 (n=12), nt 350 (n=4)에서 변이가 가장 심하였다. 아미노산 변이를 일으킨 nucleotide 변이주는 E6 T178G (n=11), E6 T178A (n=1), E6 T350G (n=4), E6 A442C (n=2) 그리고 E6 A104T, E6 A111G, E6 C116T, E6 G145T, E6 T183G, E6 C335T, E6 G522C 각각 1건씩이었으며, nt 91 (A → C), nt 176 (G → A), nt 286 (T → A), nt 289 (A → G), nt 532 (A → G)위치에서 silent mutation을 일으킨 변이주가 각각 1건씩이었다. 아미노산 레벨에서 19건의 분리주로부터 11종의 특이 변이주가 있었으며, 그 중 Asian lineage에 속한 E6 D25E (n=12)이 가장 많이 나타났으며 그 외 E6 L83V (n=4), E6 E113D (n=2)과 E6 MIL, E6 Q3R, E6 P5S, E6 Q14H, E6 D25N, E6 I27R, E6 H78Y, E6 C140S 이 각각 1건씩이었다.

HPV-16형 E7 돌연변이

HPV-16형 E7 유전자(nt 562-858)의 염기 및 아미노산 서열 변이를 조사 결과는 Table 3에 나타내었다. 총 19건 중 16건에서 염기변이가 나타났고 9곳의 서로 다른 위치에서 6종의 변이 패턴을 보였다. Asian lineage에 속한 nucleotide level의 E7 A647G과 아미노산 level의 E7 N29S (12/19, 63.2%)이 우점 변이주로 나타났으며 A645C (a.a. level, L28F), A777C (a.a. level, T72S)이 각각 1건, 그 외 nt 663 (G → A), nt 732 (T → C), nt 760 (T → C), nt 775 (A → T), nt 789 (T → C), nt 795 (T → G)위치에서 silent mutation을 일으킨 변이주가 각각 1건씩이었다.

고 찰

최근 HPV-16형의 E6, E7, L1, L2, LCRs (long control region)을 포함한 특정부위의 유전자 서열 변이와 자궁경부암 발생과의 역학적 연구에 의하면 HPV-16형의 특정 변이주는 HPV의 지속감염과 자궁경부암으로 진행을 촉진한다고 알려져 있다[2,4,18,19]. 이들 intratypic variants는 지역 간, 인종 간 차이를 보이며 E, As, AA, Af1 and Af2, NA 등 5개의 그룹으로 나뉜다. Yamada 등[19]의 보고에 의하면 nucleotide level의 HPV-16 E6 T350G 변이주(아미노산 level, L83V 변이주)는 미국, 유럽지역의 우점 변이주로 유행하며 HPV-16 E6 T178G (아미노산 level, D25E 변이주)는 아시아 지역에 많이 유행하는 것으로 조사되었다. Chan 등[2]의 보고에 의하면 한국에서 분리된 HPV-16 E6/E7 유전자의 intratypic pattern 분석결과 Asian lineage (68%), European lineage (16%), North American-1 lineage (14%)이며, 아미노산 레벨의 우점 변이 유형은 HPV-16 E6 L83V (78%), E7 N29S (17%)라고 보고하였

Table 2. Nucleotide and amino acid sequence variation at HPV-16 E6 ORF

	No. of isolates	Nucleotide position of E6 ORF													Amino acid position											
		91	104	111	116	145	176	178	183	286	289	335	350	442	522	532	1	3	5	14	25	27	78	83	113	140
E6 Reference		A	A	A	C	G	G	T	T	T	A	C	T	A	G	A	M ^{a)}	Q	P	Q	D	I	H	L	E	C
prototype	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T350G	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-
G145T/C335T/T350G	1	-	-	-	-	T	-	-	-	A	G	T	G	-	-	G	-	-	-	H	-	-	Y	V	-	-
T178G/A442C	1	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	D
T178G	7	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-
variant C116T/T178G	1	-	-	-	T	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	E	-	-	-	-	-
type ^{b)} A104T/T178G	1	-	T	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	L	-	-	-	E	-	-	-	-	-
T178A/G522C	1	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	S
A91C	1	C ^{c)}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A111G/T178G/T183G	1	-	-	G	-	-	-	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	E	R	-	-	-	-
T350G/A442C	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	D	-
G176A	1	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-	-	-	-	-

^{a)}The one letter amino acid code was used. ^{b)}The name of variants was indicated by the variation at the specified nucleotide position compared to the reference sequence. Dash (-) means that no variation were found at nucleotide and amino acid position. The reference sequence for HPV-16 can be accessed to GeneBank K02718. ^{c)}Bold character stands for silent mutation.

Table 3. Nucleotide and amino acid sequence variation at HPV-16 E7 ORF

	No. of isolates	Nucleotide position of E7 ORF									Amino acid position		
		645	647	663	732	760	775	777	789	795	28	29	72
E7 Reference		A	A	G	T	T	A	A	T	T	L	N	T
variant type													
prototype	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T732C/T789C/T795G	1	-	-	-	C	-	-	-	C	G	-	-	-
A647G/G663A	1	-	G	A	-	-	-	-	-	-	-	S	-
A647G/	11	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-
A775T/A777C	1	-	-	-	-	-	T	C	-	-	-	-	S
A645C	1	C	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-
T760C	1	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-

Note The description is the same as Table 2.

다. 또 Choi 등[3]은 우리나라 윤락여성을 대상으로 조사결과 HPV-16 E6/E7 변이주 중 우점형은 HPV-16 E6 D25E (68%) 및 E7 N29S (73%)이며 그 외 HPV-16 E6 Q14H, E6 I27R, E6 H78Y, E6 L83V 등이 검출된다고 보고하였다. 본 연구에서는 비록 시험 대상건수가 한정적이지만 한국에서 HPV-16 E6 L83V가 우점 변이주라고 보고한 Chan 등[2]의 보고와는 차이가 있었으나, E6 D25E라고 보고한 Choi 등[3]의 연구 결과와는 비슷하였다. 본 연구 결과, HPV-16 E6의 경우 D25E (12/19, 63.2%) 외에 L83V (4/19, 21.1%), E113D (2/19, 10.5%)와 M1L, Q3R, P5S, Q14H, D25N, I27R, H78Y, C140S 변이주들이 각각 1건씩 검출되었다. 또 Choi 등[3]은 HPV-16 E6 D25E 변이주 다음으로 Q14H, H78Y, L83V 변이주들이 분포한다고 보고 하였는데 본 연구에서는 L83V, E113D 변이주가 높은 비율로 검출되었으며 M1L, Q3R, P5S, C140S 변이주는 본 연구에서 새롭게 검출되었다.

한편, HPV-16 E6 D25E 변이주는 일본의 경우[12] 44%, 독일의 경우[15] 0.9%, 스웨덴, 멕시코의 경우[11] 0% 각각 차지한다고 보고하였으며, 이는 HPV-16 E6 D25E 와 E7 N29S 변이주가 지역별로 차이가 있음을 시사한다. 또 Matsumoto 등[12]은 HPV-16 E6 D25E 변이주는 침습성 자궁경부암 일본여성에서 주로 발견되고, Zehbe 등[21]은 E6 L83V 변이주는 스웨덴, 이탈리아 여성의 자궁경부암 및 지속감염에 영향을 미친다고 보고하였으며, Pillai 등[16]은 인도의 젊은 여성에서 HPV-16 E6 L83V (90.9%), E6 H78Y (43.4%) 및 E7 N29S (37.8%) 변이주가 많이 검출되며 이들 변이주는 발암성과 관련이 있다고 제안하였다. 이렇게 E6/E7 특정 변이주가 자궁경부암 유발 고위험 요인이 될 수 있음을 보고하고 있으나, 다양한 연구 결과로 미루어 지역별 인종별 차이에 따라 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

HPV-16 E7의 경우, N29S (12/19, 63.2%)와 L28F, T72S 변이주가 각각 1건씩 검출되어 다양한 HPV-16 E6/E7 변이주가 분포함을 알 수 있었다. Song 등[18]은 한국 여성을 대상으로 HPV-16 E7 변이주 4종이 존재하며 그 중 HPV-16 E7 N29S 변이주는 우점종으로 병변조직에서 주로 발견되며 자궁경부

암 발생의 고위험 요인이라고 보고하였다. HPV-16 E7 N29S 변이는 HPV-16 E6 D25E 변이와 동시에 발생하고 주로 아시아 지역에 분포하며 중국의 경우[2] 58%, 한국의 윤락여성[3] 73%, 한국의 자궁경부암 여성환자[18] 59.5%, 인도네시아[4] 22.7% 각각 차지한다고 보고하였다.

이상과 같이 본 연구는 부산지역 HPV-16 E6/E7의 유전자 및 아미노산 차원에서의 특이 돌연변이주의 특성 및 분포현황을 조사함으로 부산지역 HPV 바이러스의 항원성 변이 예측과 HPV-16 및 -18형의 특이면역 반응을 유발하는 상용 예방백신과의 효과 예측 등 자궁경부암 예방의 기초 자료로서 가치가 있다고 사료된다.

요 약

HPV-16형의 염기배열 변이는 지역적, 인종적으로 특징적인 차이가 있으며 특히 HPV-16형 E6/E7 유전자의 특정 염기 서열변이는 자궁경부암 및 자궁상피내 신생종양물의 발생을 일으키는 고위험 요인으로 알려져 있다. 본 연구는 2007년 부산지역 유흥업소 종사여성으로 분리된 HPV-16형 19건을 대상으로 E6/E7 유전자 영역(nt 34-880)을 표적으로 지역적 염기 서열 변이를 조사하였다. nucleotide 수준에서 HPV16형 E6 유전자는 T178G (n=11), T178A (n=1), T350G (n=4), A442C (n=2), A104T, A111G, C116T, G145T, T183G, C335T, G522C 등 11종의 변이주가 발견되었고, E7 유전자는 A647G (n=12), A645C, A777C, G663A, T732C, T760C, A775T, T789C, T795G 등 9종의 변이주가 발견되었다.

아미노산 수준에서는 HPV-16형 E6 단백질의 경우 D25E (n=12), L83V (n=4), E113D (n=2), M1L, Q3R, P5S, Q14H, D25N, I27R, H78Y, C140S 등 11종의 변이주를, HPV16형 E7 단백질의 경우 N29S (n=12), L28F, T72S 등 3종의 변이주를 관찰할 수 있었다. 본 연구 결과, 부산지역의 HPV-16형 E6/E7 우점 돌연변이주는 E6 D25E (75%), E7 N29S (78%)로 각각 나타났다. 앞으로 자궁경부암 환자 및 일반여성을 포함한 더 많은 모집단을 대상으로 HPV-16형 E6/E7의 intratypic var-

iants를 비교 조사하여 실제 HPV-16형 E6/E7 어떤 변이주가 자궁경부암 유발 위험성과의 관련성은 더 많이 연구되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 질병관리본부 국립보건연구원의 지역거점진단 인프라구축사업의 일환으로 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Berumen, J., R. M. Ordonez, E. Lazcano, J. Salmeron, S. C. Galvan, R. A. Estrada, E. Yunes, C. A. Garcia, L. G. Gonzalez, and A. Campa. 2001. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: A case-control study. *J. Natl. Cancer Inst.* **93**, 1325-1330.
- Chan, P. K., C. W. Lam, T. H. Cheung, W. W. Li, K. W. Lo, M. Y. Chan, J. L. Cheung, L. Y. Xu, and A. F. Cheng. 2002. Human papillomavirus type 16 intratypic variant infection and risk for cervical neoplasia in southern China. *J. Infect. Dis.* **186**, 696-700.
- Choi, B. S., S. S. Kim, H. S. Yun, D. H. Jang, and J. S. Lee. 2007. Distinctive distribution of HPV16E6D25E and E7 N29S intratypic asian variants in Korean commercial sex workers. *J. Med. Virol.* **79**, 426-430.
- de Boer, M. A., L. A. Peters, M. F. Aziz, B. Siregar, S. Cornain, M. A. Verede, E. S. Jordanova, and G. J. Fleuren. 2004. Human papillomavirus type 16 E6, E7 and L1 variants in cervical cancer in Indonesia, Suriname, and The Netherlands. *Gynecol. Oncol.* **94**, 488-494.
- Eileen, F. D. and L. E. Markowitz. 2006. Genital human papillomavirus infection. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 624-629.
- Eileen, M. Burd. 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin. Microbiol.* **16**, 1-17.
- Ho, L., S. Y. Chan, V. Chow, T. Chong, S. K. Tay, L. L. Villa, and H. U. Bernard. 1991. 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.* **29**, 1765-1772.
- Kim, K. H., M. S. Yoon, Y. J. Na, C. S. Park, M. R. Oh, and W. C. Moon. 2006. Development evaluation of a highly sensitive human papillomavirus genotyping DNA chip. *Gynecol. Oncol.* **100**, 38-43.
- Kim, Y. T. 2007. Natural history of HPV and carcinogenesis of cervical cancer. *Korean J. Obstet. Gynecol.* **50**, 711-720.
- Levi, J. E., B. Kleter, G. V. Wim, C. S. Maria, L. M. Cynthia, M. Regina, L. Iara, and L. J. Doorn. 2002. High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus infected women in Brazil. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 3341-3345.
- Marcela, L., D. C. Erick, C. G. Adela, G. C. Alejandro, L. R. Sergio Ponce, D. G. Alfonso, H. H. Dulce Maria, and M. Alejandro. 2006. Distribution of HPV16 and 18 intratypic variants in normal cytology, intraepithelial lesions and cervical cancer in a Mexican population. *Gynecol. Oncol.* **102**, 230-235.
- Matsumoto, K., T. Yasugi, S. Nakagawa, M. Okubo, R. Hirata, H. Maeda, H. Yoshikawa, and Y. Taketani. 2003. Human papillomavirus type 16 E6 variants and HLA class II alleles among Japanese women with cervical cancer. *Int. J. Cancer* **106**, 919-922.
- Min, S. K., S. S. Kim, B. S. Choi, K. S. Cho, J. Y. Lee, S. J. Kim, J. H. Bin, and H. K. Park. 2009. Prevalence of HPV infection and HPV genotype spectrum among sexually high-risk women in Busan. *Journal of Life Science* **19**, 234-240.
- Munoz, N. 2003. International Agency for research on cancer multicenter cervical cancer study group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N. Eng. J. Med.* **348**, 518-527.
- Ningl, L., K. Rindfleisch, B. Lotz, A. Schneider, and M. Dust. 1999. Uniform distribution of HPV 16 E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intra-epithelial neoplasia and cervical cancer. *Int. J. Cancer* **82**, 203-207.
- Pillai, M. R., S. Sreevidya, B. H. Pollock, P. G. Jayaprakash, and B. Herman. 2002. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 gene variations in Indian cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* **87**, 268-273.
- Saranath, D., Z. Khan, T. Tandle, P. Dedhia, B. Sharma, R. Contractor, S. Shrivastava, and K. Dinshaw. 2002. HPV16/18 prevalence in cervical lesion/cancer and p53 genotypes in cervical cancer patients from India. *Gynecol. Oncol.* **86**, 157-162.
- Song, Y. S., S. H. Kee, J. W. Kim, N. H. Park, S. B. Kang, W. H. Chang, and H. P. Lee. 1997. Major sequence variants in E7 gene of human papillomavirus type 16 from cervical cancerous and non cancerous lesions of Korean women. *Gynecol. Oncol.* **66**, 275-281.
- Yamada, T., C. M. Wheeler, A. L. Halpern, A. C. Stewart, A. Hildesheim, and S. A. Jenison. 1995. 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.* **69**, 7743-7755.
- Yamada, T., M. M. Manos, J. Peto, C. E. Greer, N. Munoz, F. X. Bosch, and C. M. Wheeler. 1997. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Virol.* **71**, 2463-2472.
- Zehbe, I., J. Mytilineos, I. Wikstrom, R. Henriksen, L. Edler, and M. Tommiansino. 2003. Association between human papillomavirus 16 E6 variants and human leukocyte antigen class I polymorphism in cervical cancer of Swedish women. *Hum. Immunol.* **64**, 538-542.