

## · 实验室研究 ·

# hnRNP E1 对 HPV16 早期基因 E2、E6 的调控 及其对宫颈癌细胞生物学功能的影响

宋丽 丁玲 冯美娟 李小雪 高雯 祁卓 刘虹 王铭 王金桃

山西医科大学公共卫生学院流行病学教研室, 太原 030001

通信作者: 王金桃, Email: wangjt59@163.com

**【摘要】目的** 探讨 hnRNP E1 对 HPV16 早期基因 E2、E6 表达的调控及宫颈癌细胞生物学功能的影响。**方法** 采用体外细胞实验方法, 对 HPV16 阳性人宫颈鳞癌 SiHa 细胞株采用 hnRNP E1cDNA 质粒上调 hnRNP E1 表达, 于上调前、后采用 Real-time PCR 和 Western blot 分别检测各组细胞 HPV16 E2、E6 mRNA 和蛋白表达水平, 同时, 应用 CCK-8 法和流式细胞术检测细胞增殖、周期及凋亡。采用 SPSS 22.0 和 Graphpad Prism 7.0 软件进行相关资料分析。**结果** 随着转染时间的增加(24、48、72 h), hnRNP E1 过表达组的 SiHa 细胞活性及处于增殖状态的细胞数逐渐减少( $P<0.05$ ), 而 G0/G1 期细胞比例增高, S、G2/M 期细胞比例及增殖指数降低( $P<0.05$ ), 晚期凋亡率和细胞总凋亡率逐渐增加( $P<0.05$ )。hnRNP E1 过表达组 HPV16 E6 mRNA 和蛋白表达水平低于空白组和空质粒组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 且随着 HPV16 E6 mRNA 和蛋白表达水平的降低, SiHa 细胞增殖指数下降, 而总凋亡率有增加趋势。3 组间 HPV16 E2 mRNA 表达量差异无统计学意义( $P=0.427$ ), HPV16 E2 蛋白未被检测到。**结论** hnRNP E1 可抑制 HPV16 E6 的转录和翻译, 进而抑制宫颈癌细胞增殖, 促使凋亡, hnRNP E1 可作为抑制宫颈癌变的潜在靶标。但本研究未发现 hnRNP E1 与 HPV16 E2 在 SiHa 细胞中的关系。

**【关键词】** 宫颈癌; 核内不均一性核糖核蛋白; 人乳头瘤病毒

**基金项目:** 国家自然科学基金(81872705, 81473060, 81703313); 国家卫生和计划生育委员会公益性行业科研专项(201402010)

## Effects of hnRNP E1 on expression of early genes E2, E6 of HPV16 and biological function in cervical cancer cells

Song Li, Ding Ling, Feng Meijuan, Li Xiaoxue, Gao Wen, Qi Zhuo, Liu Hong, Wang Ming, Wang Jintao  
Department of Epidemiology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China  
Corresponding author: Wang Jintao, Email: wangjt59@163.com

**[Abstract]** **Objective** To explore the effects of hnRNP E1 on the expression of early genes E2, E6 of HPV16 and the biological function in cervical cancer SiHa cell lines. **Methods** The cell experiments *in vitro* were carried out in cervical cancer cell lines SiHa. The expression levels of E2, E6 mRNA and protein of HPV16 were detected by Real-time PCR and Western blot, respectively, before and after up-regulating hnRNP E1. Meanwhile, the cell proliferation, cycle and apoptosis were evaluated by CCK-8 and flow cytometry. Data analyses were performed using SPSS 22.0 and Graphpad Prism 7.0 software. **Results** Compared with the blank and the blank plasmid group, the cells activity and proliferation decreased at 24, 48 and 72 h after up-regulating hnRNP E1 ( $P<0.05$ ), while the percentage of cells in G0/G1 phase increased and the percentage in S and G2/M phase and proliferation index decreased ( $P<0.05$ ). Moreover, the late apoptotic rate and the total apoptotic rate increased ( $P<0.05$ ). The expression levels of E6 mRNA and protein of HPV16 in hnRNP E1 up-regulated group were significantly lower than that in both blank group and blank plasmid group,

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20191009-00723

收稿日期 2019-10-09 本文编辑 万玉立

引用本文: 宋丽, 丁玲, 冯美娟, 等. hnRNP E1 对 HPV16 早期基因 E2、E6 的调控及其对宫颈癌细胞生物学功能的影响[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(2): 321-326. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20191009-00723.



the differences were significant ( $P<0.05$ ), showing the tendency of cells proliferation index decrease and total apoptotic rate increase with decreased HPV16 E6 expression. There were no significant differences in the expression of E2 mRNA of HPV16 among the three groups ( $P=0.427$ ), and no E2 protein of HPV16 was detected. **Conclusions** hnRNP E1 could inhibit the transcription and translation of E6 oncogene of HPV16 and further inhibit the proliferation and promote apoptosis of cervical cancer cells, suggesting that hnRNP E1 might be a potential target marker to prevent cervical lesions. But no association between hnRNP E1 and HPV16 E2 was found in SiHa cells.

**[Key words]** Cervical cancer; Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins; Human papillomavirus type

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81872705, 81473060, 81703313); Nonprofit Scientific Research Industry Special Fund of National Health and Family Planning Commission of China (201402010)

核内不均一性核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins, hnRNPs)是人细胞内特有的一类RNA结合蛋白,已被发现20余种<sup>[1]</sup>。hnRNP E1作为hnRNPs家族中的重要成员,含有3个高度保守的K同源域(K homology, KH),通过其与RNA结合或者特异性与多种基因启动子序列相互作用,参与基因的可变剪接,以及基因转录调节、翻译调控、信号转导、细胞代谢等一系列生物学转化过程<sup>[2]</sup>。研究显示,hnRNP E1与胃癌、肺癌、甲状腺癌、宫颈癌等多种肿瘤的发生密切相关<sup>[3]</sup>。高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)感染是宫颈癌发生最主要的因素,其中HPV16感染与宫颈癌的发生最为密切<sup>[4]</sup>,而HPV16 E2和E6基因在癌症的发生发展过程中起着重要作用<sup>[5-6]</sup>。值得关注的是,HPV16基因中含有多个与hnRNP E1特异结合的位点,而hnRNP E1具有的KH域提供了与HPV16基因发生特异性结合的独特分子结构,据此我们推测hnRNP E1可能对HPV16早期基因E2、E6的表达具有调控作用,进而影响宫颈癌细胞的生物学功能。为此,本研究在课题组前期研究基础上<sup>[7]</sup>,采用体外实验方法,深入探讨上调hnRNP E1对HPV16 E2、E6的调控作用及宫颈癌细胞生物学功能的影响,以期为宫颈癌变病因及机制研究提供一定的理论依据。

## 材料与方法

1. 细胞来源及培养:HPV16阳性宫颈鳞癌SiHa细胞株购自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心,在本实验室保存。用含10%胎牛血清和1%青、链霉素的DMEM高糖培养基,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、95%湿度培养箱中常规培养。

2. hnRNP E1质粒转染及分组:调整细胞密度

为 $2\times10^5$ 个/ml,以每孔1 ml接种至24孔板,常规培养细胞汇合度达到75%左右时进行转染。根据转染试剂(X-treme GENE HP DNA Transfection Reagent,德国Roche公司)说明书配制转染复合剂,转染试剂(μl)与含绿色荧光蛋白(GFP)报告基因的质粒DNA(μg)按不同比例(1:1、2:1、3:1、4:1)进行转染,计算转染后不同时间(6、12、24、48、72 h)转染效率,筛选出转染试剂与质粒最佳转染比例和时间。采用含有hnRNP E1 cDNA的过表达质粒(CMV-MCS-IRES-EGFP-SV40-Neomycin,上海吉凯基因化学技术有限公司)上调hnRNP E1,形成空白组(仅用转染试剂处理)、空质粒组(空质粒转染)、hnRNP E1过表达组(hnRNP E1过表达质粒转染)进行后续实验。每组均设3个复孔,所有实验重复3次。

## 3. 实验方法:

(1)Real-time PCR法检测目的基因mRNA表达水平:hnRNP E1、HPV16 E2、E6和β-actin的基因特异引物序列及扩增片段长度见表1。常规消化、收集各组细胞,按照TransZol说明书(中国北京全式金生物技术有限公司)提取细胞总RNA。按照TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(中国北京全式金生物技术有限公司)和QuantiFast SYBR Green RT-PCR(德国Qiagen公司)说明书进行反转录、扩增。扩增程序:95℃5 min;95℃10 s,60℃30 s,40个循环;熔解曲线程序:95℃15 s,60℃30 s,95℃15 s。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值反映实验组目的基因mRNA的表达相对于对照组的变化倍数。

(2)Western blot法检测细胞中hnRNP E1和HPV16 E2、E6蛋白表达水平:常规消化、收集细胞,加入含PMSF的RIPA裂解液(100 μl/10<sup>6</sup>个细胞),冰上裂解25 min,4℃、15 294 g离心15 min,收集上

表 1 目的基因引物序列及扩增长度

基因名称	引物序列(5'~3')	扩增片段长度(bp)
hnRNP E1	FP: TCA ACA GCT CCA TGA CCA AC RP: GAT CTT ACA CCC GCC TTT CC	113
HPV16 E2	FP: TGG AAA CAC ATG CGC CTA GAA RP: GAT ACA GCC AGT GTT GGC AC	98
HPV16 E6	FP: AGC GAC CCA GAA AGT TAC CA RP: GCA TAA ATC CCG AAA AGC AA	134
β-actin	FP: TGG CAC CCA GCA CAA TGA A RP: CTA AGT CAT AGT CCG CCT AGA AGC A	186

清。采用二喹啉甲酸法进行蛋白定量,参照课题组前期建立的方法<sup>[8]</sup>检测 hnRNP E1、HPV16 E2 和 E6 蛋白表达水平。一抗分别为兔抗人 hnRNP E1 蛋白(1:1 000, 英国 Abcam 公司)、兔抗人 HPV16 E2 蛋白(1:100, 英国 Abcam 公司)、鼠抗人 HPV16 E6 蛋白(1:500, 英国 Abcam 公司),设内参对照为鼠抗人 β-actin 抗体(1:300, 英国 Abcam 公司),分别在 43、42、18、43 kDa 处获得 hnRNP E1、HPV16 E2、HPV16 E6 和 β-actin 特异性抗体结合蛋白条带。利用 Image Lab 软件分析条带灰度值,以目的条带与内参 β-actin 条带灰度值的比值作为 hnRNP E1、HPV16 E2、E6 蛋白的相对表达量。

(3) CCK-8 法检测细胞增殖:于 96 孔板接种 SiHa 细胞( $3 \times 10^3$  个/ $100 \mu\text{l}$ ),常规培养 24 h 后进行转染,在转染 0、12、24、48、72 h 后,加入 10  $\mu\text{l}$  CCK-8 试剂,继续培养 2 h,测定 450 nm 处的 A 值。

(4) 流式细胞术检测细胞周期和凋亡:细胞周期分布:3组细胞培养 48 h,将细胞样品提取、离心,调整细胞密度为  $2 \times 10^5$  个/ml。取 1 ml 单细胞悬液,离心后弃上清,在细胞中加入 500  $\mu\text{l}$  70% 乙醇,4 ℃ 固定 12 h,离心去乙醇并用 PBS 漂洗,加 100  $\mu\text{l}$  RNaseA 于 37 ℃ 水浴 30 min,再加入 400  $\mu\text{l}$  碘化丙啶染色混匀,4 ℃ 避光 30 min,1 h 内于流式细胞仪完成检测。细胞凋亡检测:转染 48 h 后收集 3 组细胞,调整细胞密度为  $2 \times 10^5$  个/ml,将收集后的细胞以 106 g 离心 5 min,弃上清,加 500  $\mu\text{l}$  Binding Buffer 重悬细胞,加 Annexin V-APC 和碘化丙啶各 5  $\mu\text{l}$  混匀,室温避光 15 min,1 h 内于流式细胞仪检测细胞凋亡率。

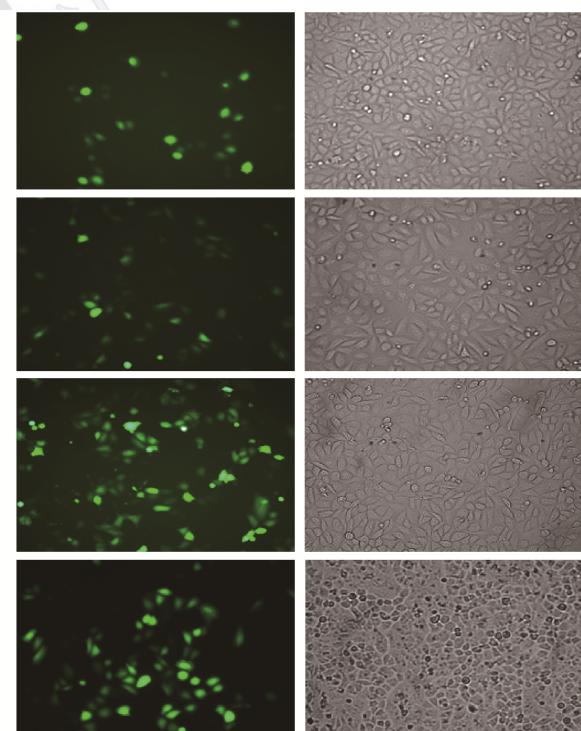
4. 统计学分析:利用 SPSS 22.0 和 Graphpad Prism 7.0 软件分别完成统计分析和作图。符合正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  描述,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Bonferroni 法,不符合正态分布的定量资料采用  $M(Q_R)$  进行描述,

多组间比较采用非参数检验,组间两两比较采用 Wilcoxon 秩和检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 结 果

1. hnRNP E1 转染条件优化及效果评价:转染试剂与质粒 DNA 比例在 3:1、转染 48 h 时,转染效率最高,平均可达 70% (图 1),故以此作为后续实验的转染条件。

由图 2 可见,过表达组 hnRNP E1 mRNA 表达量显著高于空白组和空质粒组,空白组与空质粒组 mRNA 相对表达量差异无统计学意义( $P=0.513$ )。Western blot 结果显示,hnRNP E1 过表达组蛋白表达水平是空白组与空质粒组的近 4 倍,空白组和空质粒组蛋白表达水平差异无统计学意义( $P=0.827$ )。表明 hnRNP E1 cDNA 转染成功。



注:转染试剂与质粒比例:(A):1:1;(B):2:1;(C):3:1;(D):4:1(左:荧光光源;右:普通光源)

图 1 空质粒转染 SiHa 细胞 48 h 时效果( $\times 200$ )

2. hnRNP E1 对 HPV16 E6 基因表达的抑制作用:HPV16 E6 基因的 mRNA 表达量在空白组、空质粒组和过表达组差异有统计学意义( $F=19.062, P=0.003$ ),hnRNP E1 过表达组 HPV16 E6 mRNA 水平低于空白组与空质粒组,差异有统计学意义( $P<$

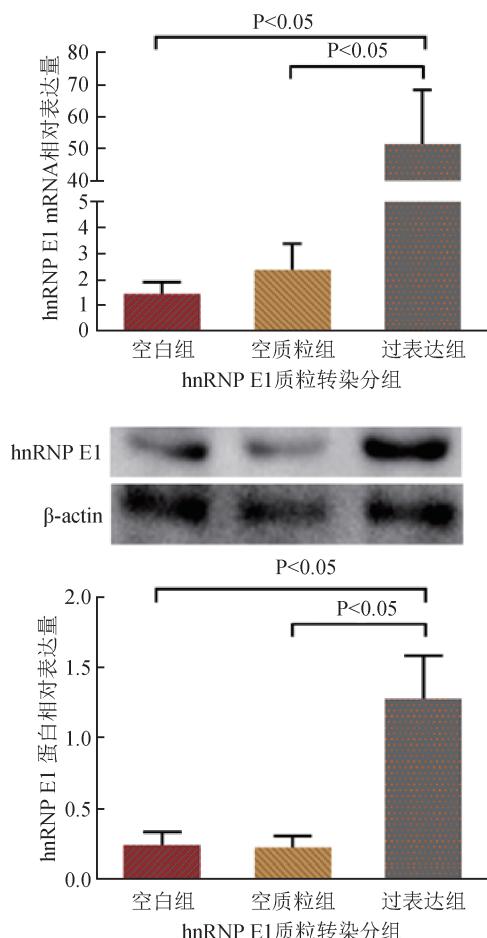


图2 转染前后hnRNP E1相对表达水平

0.05);3组HPV16 E2 mRNA表达量差异无统计学意义( $H=1.703, P=0.427$ )。见图3。HPV16 E6蛋白表达水平在空白组、空质粒组和过表达组差异有统计学意义( $F=9.595, P=0.014$ ),hnRNP E1过表达组HPV16 E6蛋白表达水平显著低于空白组和空质粒组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$ ),但HPV16 E2蛋白在3组中均未检测到,见图3。

3. hnRNP E1过表达对SiHa细胞生物学功能的影响:在24、48、72 h时, hnRNP E1过表达组细胞活性低于空白组和空质粒组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),空白组和空质粒组在不同时点细胞活性差异无统计学意义( $P>0.05$ ), hnRNP E1对SiHa细胞的生长表现为抑制作用。见图4。

空白组、空质粒组和过表达组间处于G0/G1期和G2/M期的细胞数目及增殖指数(PI)总体差异有统计学意义(均 $P<0.05$ ),与空白组和空质粒组相比,过表达组G0/G1期的细胞比例显著升高,而S、G2/M期细胞比例及PI下降。空白组和空质粒组各周期细胞比例相比,差异无统计学意义(均 $P>0.05$ )。见图5。

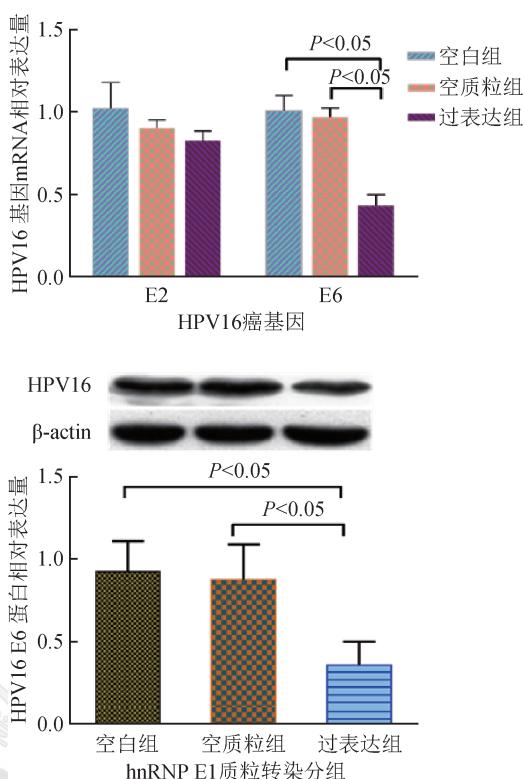


图3 hnRNP E1过表达对HPV16 E2、E6 mRNA和蛋白表达水平的影响

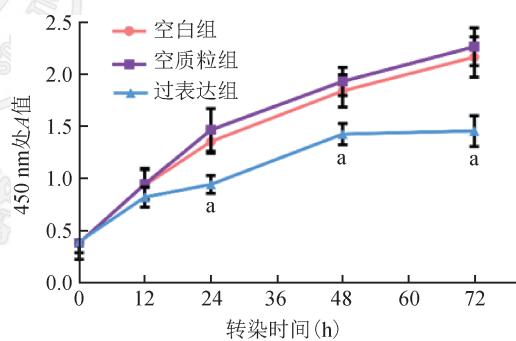
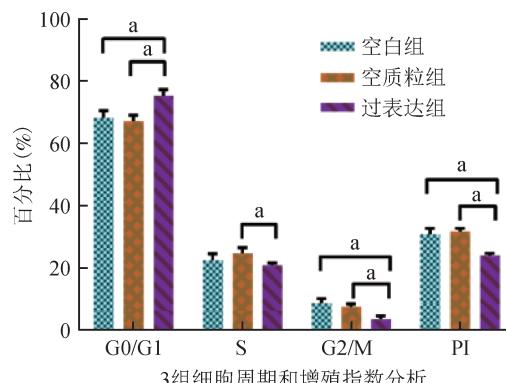
注:<sup>a</sup> $P<0.05$ 

图4 hnRNP E1过表达对SiHa细胞增殖的影响

图5 hnRNP E1过表达对SiHa细胞周期的影响  
注:<sup>a</sup> $P<0.01$

hnRNP E1表达上调后,细胞晚期凋亡率和总凋亡率均高于空白组和空质粒组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$ ),而空白组和空质粒组间早、晚期凋亡率及总凋亡率差异无统计学意义(均 $P>0.05$ )。见图6。

4. HPV16 E6基因与SiHa细胞生物学功能的关系:基于前述上调hnRNP E1对HPV16 E6基因的表达及细胞生物学功能均有影响的基础上,进一步分析了hnRNP E1上调前后HPV16 E6基因表达与细胞增殖和凋亡的关系。结果显示,从hnRNP E1空白组、空质粒组到过表达组,随着HPV16 E6 mRNA和蛋白表达水平的降低,SiHa细胞PI下降( $P<0.01$ ),而总凋亡率逐渐增加( $P<0.01$ ),尤其在hnRNP E1过表达组,它们之间的关联性更为明显( $P<0.01$ )。见图7。

## 讨 论

宫颈癌是全球女性第四大常见肿瘤,病死率居女性肿瘤之首<sup>[9]</sup>。高危型HPV持续感染是导致宫颈癌的主要病因。HPV E6、E7是主要的癌基因,不仅可直接转化细胞,还可干扰正常的细胞周期调控,引起癌变,特别是E6基因与癌变发生的关系更为紧密。E6可与许多蛋白相互作用并使相应蛋白失活,而这些蛋白在调节细胞凋亡、肿瘤抑制基因

转录和控制细胞增殖方面发挥关键作用。E2蛋白可调节病毒mRNA转录及DNA复制,对E6、E7基因的转录进行调控<sup>[10-14]</sup>。

然而,越来越多的研究提示HPV致癌过程中,其基因的表达可能受到诸多因素的调节。hnRNP E1广泛分布于人体组织和细胞,其特有的KH结构域具有多聚胞嘧啶结合特性,可通过与RNA结合或者特异性与多种基因启动子序列相互作用,调控mRNA的稳定性及表达,受调控的基因涉及免疫应答、上皮细胞恶性转化、肿瘤形成与进展等多个过程<sup>[1]</sup>。hnRNP E1与调控细胞周期的原癌基因c-myc的IRES区域结合以调控c-myc的转录水平,从而可能影响细胞周期进程<sup>[15]</sup>。Wang等<sup>[16]</sup>发现hnRNP E1通过下调PRL-3的翻译抑制肿瘤的形成。Zhang等<sup>[17]</sup>研究发现,在营养缺乏条件下, hnRNP E1过表达可抑制人结直肠癌细胞和卵巢癌细胞增殖,促进凋亡。已有研究显示, hnRNP E1低表达可增加宫颈癌发病风险<sup>[18-19]</sup>。本结果表明,上调hnRNP E1可抑制宫颈癌细胞增殖及细胞周期向G2/M期转变,促进细胞凋亡,提示hnRNP E1对宫颈癌的发生具有抑制作用,可作为宫颈病变生物治疗的潜在靶点。

Collier等<sup>[20]</sup>研究发现hnRNP E1对HPV16晚期基因L2 mRNA的翻译具有抑制作用,但hnRNP E1对HPV16早期基因是否具有调控作用国内外鲜

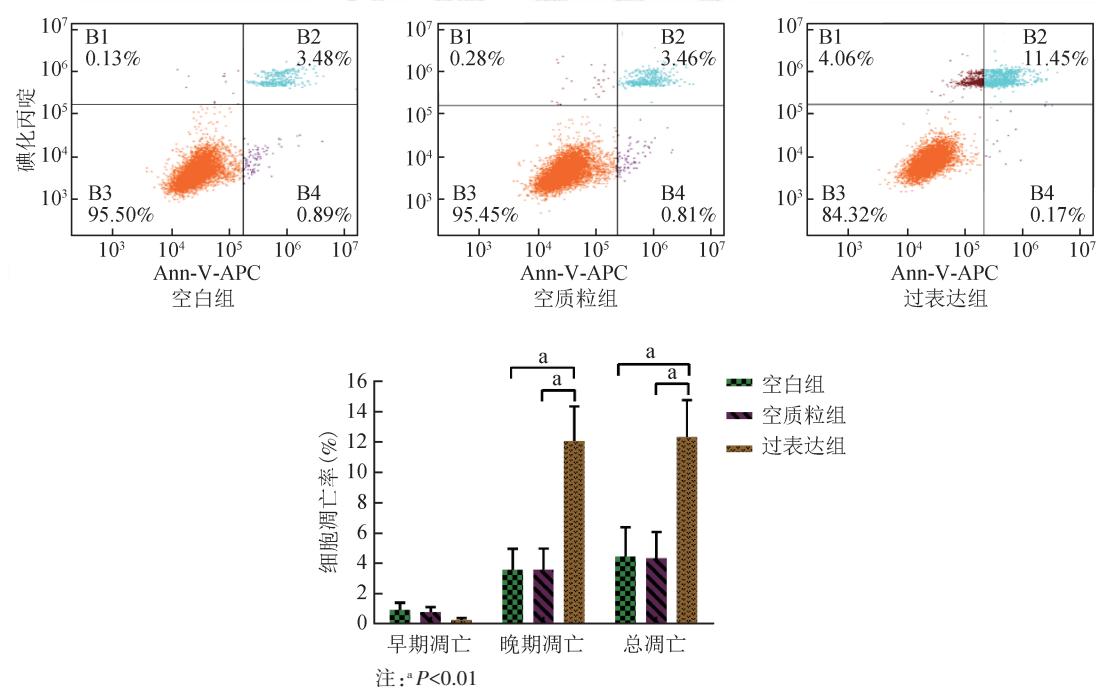
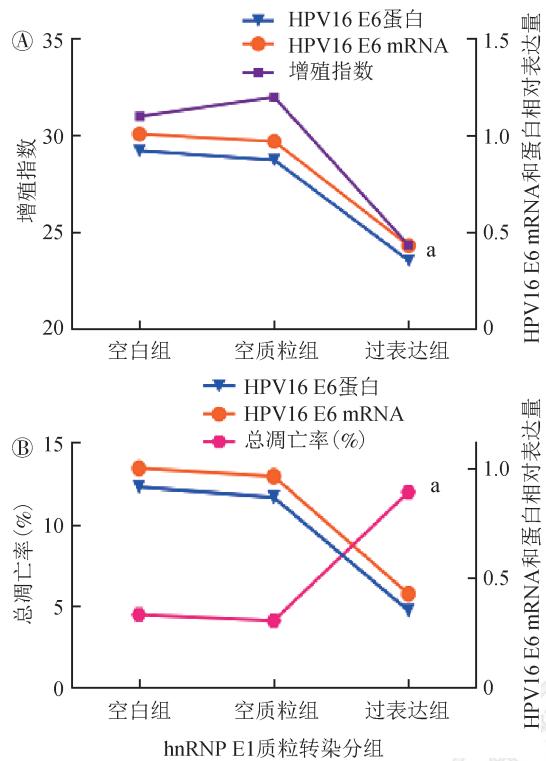


图6 hnRNP E1过表达对SiHa细胞凋亡的影响



注: \*与空白组和空质粒组相比,  $P < 0.01$

图7 HPV16 E6基因表达与SiHa细胞增殖和凋亡的关系

见报道。本研究结果显示,上调hnRNP E1可降低HPV16 E6 mRNA和蛋白表达水平。E6是病毒感染后最早表达的基因之一,含有hnRNP E1选择性结合位点<sup>[10]</sup>。hnRNP E1结构中存在的KH结构域可能通过与HPV16 E6基因调控元件结合,降低HPV16 E6蛋白的表达<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,随着HPV16 E6 mRNA和蛋白表达水平的降低,SiHa细胞增殖指数下降,总凋亡率增加,而值得关注的是,上调hnRNP E1后,这种效应更为显著。提示HPV16 E6的低表达可抑制宫颈癌细胞增殖,促进其凋亡,而这种效应可能受到hnRNP E1的调控。上调hnRNP E1,特别是结合HPV16感染的控制模式,可能为宫颈癌的防治开拓新思路。研究显示,HPV16 E2可编码调节病毒DNA转录的蛋白质,在细胞转化、启动和抑制凋亡、转录调控以及调控HPV的永生化转化潜能等方面发挥重要作用<sup>[22]</sup>。本研究中未发现hnRNP E1与HPV16 E2在SiHa细胞中的关系,可能与SiHa细胞中HPV16主要以整合形式存在,而整合时HPV16 E2 DNA缺失,进而导致蛋白不表达有关。当然,本研究结果尚不能提供hnRNP E1在宫颈癌进展中调控HPV16基因、影响细胞增殖和凋亡的直接证据,其详细机制尚需深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] Chaudhury A, Chander P, Howe PH. Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs) in cellular processes: Focus on hnRNP E1's multifunctional regulatory roles[J]. RNA, 2010, 16(8):1449-1462. DOI:10.1261/rna.2254110.
- [2] Choi HS, Hwang CK, Song KY, et al. Poly(C)-binding proteins as transcriptional regulators of gene expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 380(3): 431-436. DOI:10.1016/j.bbrc.2009.01.136.
- [3] Guo JH, Jin R. Splicing factor poly(rC)-binding protein 1 is a novel and distinctive tumor suppressor[J]. J Cell Physiol, 2018, 234(1):33-41. DOI:10.1002/jcp.26873.
- [4] Bernard HJ, Burk RD, Chen ZG, et al. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments[J]. Virology, 2010, 401(1):70-79. DOI:10.1016/j.virol.2010.02.002.
- [5] Kajitani N, Schwartz S. RNA binding proteins that control human papillomavirus gene expression[J]. Biomolecules, 2015, 5(2):758-774. DOI:10.3390/biom5020758.
- [6] Graham SM, Sullivan CS. Human papillomavirus E2 protein: linking replication, transcription, and RNA processing[J]. J Virol, 2016, 90(19):8384-8388. DOI:10.1128/jvi.00502-16.
- [7] 吕元婧, 丁玲, 李巧玲, 等. hnRNP E1与HPV16早期基因E2和E6在宫颈癌中的作用及交互效应[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(4): 466-470. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.04.018.
- [8] Lyu YJ, Ding L, Li QL, et al. Effects of hnRNP E1 and both early genes E2 and E6 of HPV16 together with their interactions on cervical carcinogenesis[J]. Chin J Epidemiol, 2019, 40(4): 466-470. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.04.018.
- [9] 王金桃, 雷晓旭, 丁玲, 等. 叶酸与DNA甲基转移酶1在宫颈癌及癌前病变中的作用[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(6): 617-621. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.06.019.
- [10] Wang JT, Huo XX, Ding L, et al. Effect of folic acid and DNA methyltransferase 1 on cervical cancer and its precancerous lesion[J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32(6): 617-621. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.06.019.
- [11] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [12] Tungteakkhun SS, Duerksen-Hughes PJ. Cellular binding partners of the human papillomavirus E6 protein[J]. Arch Virol, 2008, 153(3): 397-408. DOI: 10.1007/s00705-007-0022-5.
- [13] Thomas M, Banks L. Human papillomavirus (HPV) E6 interactions with Bak are conserved amongst E6 proteins from high and low risk HPV types[J]. J General Virol, 1999, 80(6):1513-1517. DOI:10.1099/0022-1317-80-6-1513.
- [14] Wernis BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53[J]. Science, 1990, 248(4951): 76-79. DOI: 10.1126/science.2157286.
- [15] Kinoshita T, Shirasawa H, Shino Y, et al. Transactivation of prothymosin  $\alpha$  and c-myc promoters by human papillomavirus type 16 E6 protein[J]. Virology, 1997, 232(1):53-61. DOI:10.1006/viro.1997.8536.
- [16] Borbely AA, Murvai M, Kónya J, et al. Effects of human papillomavirus type 16 oncoproteins on survivin gene expression[J]. J Gen Virol, 2006, 87(2): 287-294. DOI: 10.1099/vir.0.81067-0.
- [17] Evans JR, Mitchell SA, Spriggs KA, et al. Members of the poly (rC) binding protein family stimulate the activity of the c-myc internal ribosome entry segment *in vitro* and *in vivo*[J]. Oncogene, 2003, 22(39):8012-8020. DOI:10.1038/sj.onc.1206645.
- [18] Wang HH, Vardy LA, Tan CP, et al. PCBP1 suppresses the translation of metastasis-associated PRL-3 phosphatase [J]. Cancer Cell, 2010, 18(1): 52-62. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.04.028.
- [19] Zhang WL, Shi HS, Zhang MM, et al. Poly C binding protein 1 represses autophagy through downregulation of LC3B to promote tumor cell apoptosis in starvation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2016, 73: 127-136. DOI: 10.1016/j.biocel.2016.02.009.
- [20] 李巧玲. hnRNP E1与HPV16早期基因E2和E6在宫颈癌中的作用及交互效应[D]. 太原:山西医科大学, 2017.
- [21] Li QL. Effects of hnRNP E1 and HPV16 early gene E2 and E6 in cervical lesions and their interaction[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2017.
- [22] Pillai MR, Chacko P, Kesari LA, et al. Expression of folate receptors and heterogeneous nuclear ribonucleoprotein E1 in women with human papillomavirus mediated transformation of cervical tissue to cancer[J]. J Clin Pathol, 2003, 56(8):569-574. DOI:10.1136/jcp.56.8.569.
- [23] Collier B, Goobar-Larsson L, Sokolowski M, et al. Translational inhibition *in vitro* of human papillomavirus type 16 L2 mRNA mediated through interaction with heterogenous ribonucleoprotein K and Poly (rC)-binding proteins 1 and 2[J]. J Biol Chem, 1998, 273 (35): 22648-22656. DOI:10.1074/jbc.273.35.22648.
- [24] Leffers H, Dejaardt K, Celis JE. Characterisation of two major cellular poly (rC)-binding human proteins, each containing three K-homologous (KH) domains[J]. Eur J Biochem, 1995, 230(2): 447-453. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1995.0447.h.x.
- [25] Morshed K, Polz-Gruszka D, Szymański M, et al. Human Papillomavirus (HPV) —structure, epidemiology, and pathogenesis[J]. Otolaryngol Pol, 2014, 68(5): 213-219. DOI:10.1016/j.otol.2014.06.001.