

Wpływ infekcji HPV16 na funkcjonowanie szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR i rokowanie u chorych na płaskonabłonkowe nowotwory terenu głowy i szyi

Słowa kluczowe: aktywna infekcja HPV, HNSCC, szlak EGFR/PI3K/AKT/mTOR, AKT, EGFR, niezależne czynniki prognostyczne

Streszczenie

Infekcja wirusami brodawczaka ludzkiego (Human Papillomavirus, HPV) z grupy dużego ryzyka jest głównym czynnikiem etiologicznym w rozwoju niektórych płaskonabłonkowych raków narządów głowy i szyi (HNSCC), zwłaszcza tych umiejscowionych w gardle środkowym. Najczęściej wykrywanym w HNSCC typem jest HPV16. Dane literaturowe wskazują, że do powstania nowotworu prowadzi jedynie aktywna infekcja HPV, podczas której dochodzi do integracji wirusowego DNA z genomem komórek gospodarza i nadekspresji onkogennych białek wirusowych E6 i E7.

Przeprowadzone badanie miało na celu: a) wyróżnienie osób z aktywną infekcją HPV16 wśród chorych na raka jamy ustnej, gardła bądź krtani; b) porównanie ekspresji wybranych białek szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR oraz białek regulujących ten szlak (EGFR, AKT, pAKT(Ser473), pAKT(Thr308), mTOR, PTEN, pPTEN, APOBEC3B), a także częstości występowania mutacji genu *PIK3CA* pomiędzy nowotworami HPV16 pozytywnymi i HPV negatywnymi; c) określenie wzajemnych relacji między badanymi cechami molekularnymi i cechami populacyjnymi oraz klinicznymi; d) analizę wpływu wybranych cech molekularnych na przeżycie chorych.

Do badania zakwalifikowano grupę 155 chorych na HNSCC, w tym na raka jamy ustnej 25 osób, na raka gardła środkowego 66 osób, na raka nosogardła 6 osób i na raka krtani 58 osób. W celu oceny obecności aktywnej infekcji HPV zastosowano metody: nested PCR (po raz pierwszy w Polsce ze starterami PGMY09/PGMY11 i GP5+/GP6+), qPCR oraz immunohistochemiczną ocenę ekspresji białka p16. Występowanie mutacji (p.E542K, p.E545K i p.H1047R) genu *PIK3CA* oznaczono metodą qPCR. Ekspresję białek szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR (EGFR, AKT, pAKT(Ser473), pAKT(Thr308), mTOR) oraz białek regulujących ten szlak (PTEN, pPTEN, APOBEC3B) oceniono w oparciu o barwienia immunohistochemiczne.

Najważniejsze wyniki:

1. W badanej grupie 155 chorych na HNSCC z Małopolski odsetek nowotworów zależnych od HPV wyniósł 20,65%. Były to głównie nowotwory w obrębie gardła środkowego. HPV16 był najczęściej identyfikowanym typem wirusa (81,25%). Ponadto wykryto HPV35 (9,38%) i podwójne infekcje: HPV16 i 35 (6,25%) oraz HPV35 i 18 (3,12%).
2. U chorych na HNSCC po raz pierwszy w Polsce wykryto aktywną infekcję HPV35.
3. Analiza przeżyć wykazała, że spośród badanych białek pozytywny potencjał rokowniczy, zarówno w przypadku OS jak i DFS, miały: brak nadekspresji pAKT(Ser473), pAKT(Thr308) i EGFR. Dłuższy DFS charakteryzował dodatkowo chorych z brakiem nadekspresji APOBEC3B.
4. Korzystnymi niezależnymi czynnikami prognostycznymi w badanej grupie chorych (zarówno dla OS jak i DFS) były: niewielki rozmiar guza, obecność aktywnej infekcji HPV16 i brak nadekspresji pAKT(Thr308). Dodatkowo dla OS korzystne prognostyczne znaczenie miała płeć żeńska. Obecność aktywnej infekcji HPV była związana z większymi odsetkami przeżyć chorych na HNSCC (OS: 80,89 vs. 37,08%, $p=0,000$; DFS: 93,00 vs. 53,35%, $p=0,000$). Dłuższe przeżycia obserwowano zarówno u osób z płaskonabłonkowymi rakami gardła środkowego jak i z nowotworami głowy i szyi w innych lokalizacjach.
5. U chorych na HNSCC z Małopolski rzadko dochodzi do mutacji genu *PIK3CA* w tkance nowotworowej (u chorych z aktywną infekcją HPV16 odsetek guzów z mutacją wynosił 7,14%, a w guzach HPV negatywnych 2,5%).
6. W guzach HPV16 pozytywnych istotnie częściej odnotowano nadekspresję całkowitego AKT (67,86%) i obniżony poziom pAKT(Ser473) (64,29%). Zdecydowana większość (89,29%) guzów z infekcją wirusową charakteryzowała się ponadto brakiem nadekspresji EGFR.

Otrzymane wyniki sugerują zatem występowanie istotnych różnic w funkcjonowaniu szlaku EGFR/PI3K/AKT/mTOR u pacjentów zarażonych HPV16 i pacjentów bez wirusowej infekcji, co z kolei może wpływać na przeżycie chorych w tych dwóch podgrupach. Hipoteza ta wymaga jednak potwierdzenia w badaniach w większej grupie chorych, zwłaszcza z aktywną infekcją HPV.