

ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ И ПРОГРЕССИЯ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВЫ И ШЕИ

В.А. Бычков, Л.Н. Уразова, Е.Г. Никитина, О.В. Черемисина, С.Ю. Чижевская

ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение влияния HPV на лимфогенное метастазирование и выживаемость у пациентов с плоскоклеточными карциномами головы и шеи. ДНК выделена из опухолевой ткани и прилежащего нормального эпителия 64 пациентов с опухолями головы и шеи различной локализации. Детекцию 12 типов HPV проводили методом ПЦР с использованием диагностических наборов фирмы «AmpliSens» (Россия). Оценивалась ассоциация HPV с клинико-патологическими параметрами пациентов. Распространенность HPV в опухолевой и прилежащей нормальной ткани составила 22%, наиболее часто встречающимися оказались HPV 16 и 51. Не обнаружено ассоциации HPV с полом, возрастом, локализацией, TNM-характеристиками опухоли и степенью ее дифференцировки. Метод Каплана–Мейера показал тенденцию HPV-положительных пациентов с ОГШ к улучшению показателей общей и безрецидивной выживаемости ($p = 0,09$ и $p = 0,12$, соответственно). Мультивариантный анализ Кокса показал, что на функцию выживаемости максимальное влияние оказывают возраст пациента ($p = 0,014$) и наличие метастазов в региональных лимфоузлах ($p = 0,002$).

Ключевые слова: вирус папилломы человека, прогрессия опухоли, выживаемость, метастазы.

Введение

По данным ВОЗ, опухоли головы и шеи (ОГШ) находится на 6 месте по распространенности в структуре онкологической заболеваемости [9]. При этом у $2/3$ пациентов опухоль обнаруживаются на поздней стадии, в связи с чем в 80% случаев в регионарных лимфатических узлах шеи обнаруживаются метастазы [14]. Смертность от ОГШ составляет около 350 000 людей ежегодно [16].

Показано, что при плоскоклеточных ОГШ канцерогенным действием, наряду с курением и потреблением алкоголя, могут обладать и некоторые инфекционные патогены, в частности, вирус папилломы человека (ВПЧ) [4, 14]. Согласно литературным данным, частота инфицирования ВПЧ плоскоклеточных карцином головы и шеи варьирует от 22,0 до 34,0% [3, 12, 21]. Канцерогенное действие ВПЧ, впервые показанное для опухолей аногенитальной области, к настоящему времени считается признанным и для некоторых локализаций ОГШ. Показа-

но, что шанс возникновения опухоли гортани при наличии ВПЧ-инфекции увеличивается в 5,4 раза, опухоли ротоглотки — в 4,3 раза, опухоли ротовой полости — в 2 раза [7].

Установлено влияние ВПЧ на прогрессию и исход опухолевого процесса, при этом у вирусологически положительных больных ОГШ на фоне терапии отмечается более благоприятное течение заболевания в сравнении с ВПЧ-негативными, что выражается в увеличении показателей общей и безрецидивной выживаемости [5, 19, 20]. Показано, что для плоскоклеточных карцином гортани вероятность летального исхода у ВПЧ-положительных пациентов на 50% ниже, чем у ВПЧ-негативных [15].

С другой стороны, в ряде работ у инфицированных ВПЧ пациентов указывают на повышенную частоту лимфогенного метастазирования в региональные лимфоузлы, что, как известно, является неблагоприятным фактором в отношении прогноза ОГШ [6]. Обнаружена связь между ВПЧ-носительством и наличием метастазов в сторожевых лимфатических узлах

Авторы:

Бычков В.А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории онковирусологии ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск, Россия;
Уразова Л.Н., д.б.н., профессор, зав. лабораторией онковирусологии ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск, Россия;
Никитина Е.Г., младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск, Россия;
Черемисина О.В., д.м.н., зав. эндоскопическим отделением, ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск, Россия;
Чижевская С.Ю., д.м.н., старший научный сотрудник отделения опухолей головы и шеи ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск, Россия.

Адрес для переписки:

Бычков Вячеслав Алексеевич
634009, Россия, г. Томск, Кооперативный пер., 5.
Тел.: (3822) 51-29-57. Факс: (3822) 51-40-97.
E-mail: virology@oncology.tomsk.ru

поступила в редакцию 30.04.2014
отправлено на доработку 30.04.2014
принята к печати 13.05.2014

© Бычков В.А. и соавт., 2014

у пациентов с опухолью миндалин [8], ротовой полости [13], гортани и гортаноглотки [2], орофарингеальным раком [10, 22].

Таким образом, требуется уточнение влияния ВПЧ на прогрессию ОГШ, что позволит не только получить новые фундаментальные представления об особенностях ВПЧ-ассоциированных новообразований, но и в дальнейшем разработать пути воздействия на опухолевую прогрессию.

Цель: оценить значение ВПЧ-инфекции в прогрессии опухолей головы и шеи.

Задачи:

1. оценить частоту инфицирования типами ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) опухолей головы и шеи различной локализации;
2. оценить связь ВПЧ-инфекции с анамнестическими и клинико-патологическими характеристиками опухоли;
3. оценить общую и безрецидивную выживаемость ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных пациентов с опухолями головы и шеи.

Материалы и методы

В работу включено 64 пациента с ОГШ различных локализаций, проходивших лечение в клиниках ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН в 2010–2012 гг. Материалом для исследования служила свежезамороженная опухолевая и морфологически неизменная ткань прилежащего эпителия, взятого на расстоянии не менее 2 см от границ опухоли. Экстракцию тотальной ДНК проводили фенол-хлороформным методом, качество выделенной ДНК подтверждалось спектрофотометрически. Для определения 12 типов ВПЧ ВКР использовали метод мультиплекс-ПЦР с применением диагностических наборов «Amlisens» (Россия).

ТАБЛИЦА 1. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВПЧ-ИНФЕКЦИИ В ОГШ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ И В ПРИЛЕЖАЮЩЕМ ЭПИТЕЛИИ

ВПЧ	Опухолевая ткань (n = 64)	Прилежащий эпителий (n = 64)
16 тип	7	7
33 тип	1	2
51 тип	5	3
56 тип	1	2

Анализ полученных данных проводился методами непараметрической статистики с применением критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Анализ функции выживания осуществлялся с помощью процедуры Каплана–Мейера и критерия Гехана, а также с помощью модели пропорциональных рисков Кокса.

Результаты

Распространенность ВПЧ ВКР в опухолевой ткани и прилежащем неизменном эпителии составила 22,0% (табл. 1). Согласно полученным данным, наиболее часто детектировались ВПЧ 16, 51, 33 и 56 типов.

На рис. 1 представлена частота встречаемости типов ВПЧ в зависимости от локализации опухолевого процесса. Интересен факт незначительного инфицирования опухолевой ткани и прилежащего неизменного эпителия определенными типами вируса. Встречаются случаи, когда отмечается инфицирование только неизменного эпителия либо опухолевой ткани, или одновременно того и другого.

Поскольку в научных работах отмечается связь процесса метастазирования с ВПЧ-инфекцией, определяемой именно в опухолевой ткани, нами далее была изучена связь наличия вируса в опухоли с ее клинико-патологическими

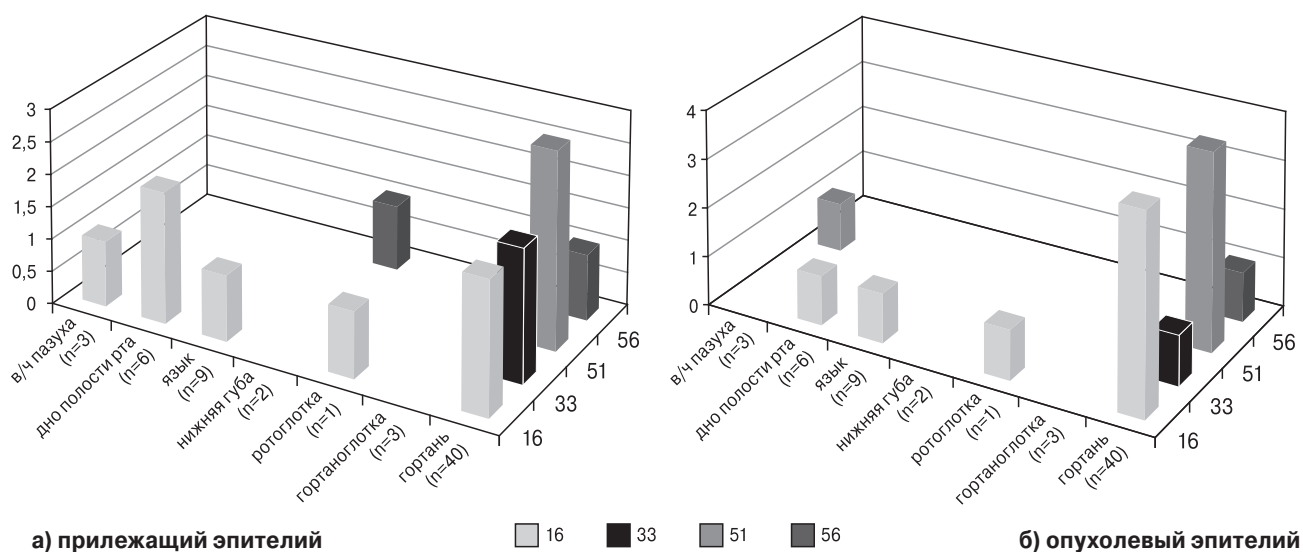


Рисунок 1. Частота встречаемости различных типов ВПЧ в зависимости от локализации

характеристиками (табл. 2). Полученные результаты не показали достоверной ассоциации ВПЧ-инфекции с полом, возрастом, исходной локализацией процесса, распространенностью опухоли по классификации TNM и степени ее дифференцировки ($p > 0,05$).

При анализе общей и безрецидивной выживаемости ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных пациентов с ОГШ, статистически значимых различий не установлено, однако обнаружена тенденция к более высокой выживаемости у ВПЧ-положительных пациентов ($p = 0,09$ и $p = 0,12$ соответственно) (рис. 2, 3). На модели пропорциональных рисков Кокса показано, что среди изучаемых клинико-патологических характеристик опухоли и ВПЧ-инфекции на функцию выживаемости оказывает значимое влияние возраст пациентов (старше 60 лет) и наличие в региональных лимфоузлах метастазов, при этом риск летального исхода был выше в 4,3 и 7,6 раз соответственно ($p = 0,014$ и $p = 0,002$).

Метод Каплана–Мейера также подтверждает высокую значимость критерия N в оценке общей и безрецидивной выживаемости ($p = 0,0046$ и $p = 0,0053$ соответственно), однако критерий возраста признается не значимым ($p = 0,08$ и $p = 0,25$).

Обсуждение

При изучении распространения ВПЧ ВКР среди больных ОГШ показано, что лидирующую позицию по частоте встречаемости занимает ВПЧ 16, что согласуется с литературными данными. На втором месте — ВПЧ 51, что противоречит данным метаанализов [3, 12], согласно которым далее должен превалировать ВПЧ 18, который в нашем исследовании не обнаружен. Полученные данные соответствуют полученным ранее для жительниц Томской области,

ТАБЛИЦА 2. ВПЧ И КЛИНИКО-ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОГШ

	ВПЧ– (абс., %)	ВПЧ+ (абс., %)	p
Пол муж. жен.	41 (82%) 9 (18%)	9 (64,3%) 5 (35,7%)	0,32
Возраст < 60 > 60	30 (60%) 20 (40%)	8 (57,1%) 6 (42,9%)	0,87
Локализация верхнечелюстная пазуха дно полости рта язык нижняя губа ротоглотка гортаноглотка гортань	2 (4%) 5 (10%) 8 (16%) 2 (4%) 0 (0%) 3 (6%) 30 (60%)	1 (7,1%) 1 (7,1%) 1 (7,1%) 0 (0%) 1 (7,1%) 0 (0%) 10 (71,4%)	0,41
Стадия T T1 T2 T3 T4	6 (12%) 12 (24%) 21 (42%) 11 (22%)	3 (21,4%) 5 (35,7%) 5 (35,7%) 1 (7,2%)	0,45
Стадия T1,2/T3,4 T1,2 T3,4	18 (36%) 32 (64%)	8 (57,1%) 6 (42,9%)	0,23
Стадия N N0 N>0	39 (81,3%) 9 (18,7%)	12 (85,7%) 2 (14,3%)	0,80
Стадия M M0 M>0	49 (98%) 1 (2%)	14 (100%) 0 (0%)	0,91
Степень дифференцировки высокая умеренная низкая	13 (27,1%) 24 (50,0%) 11 (22,9%)	2 (14,3%) 8 (57,1%) 4 (28,6%)	0,61

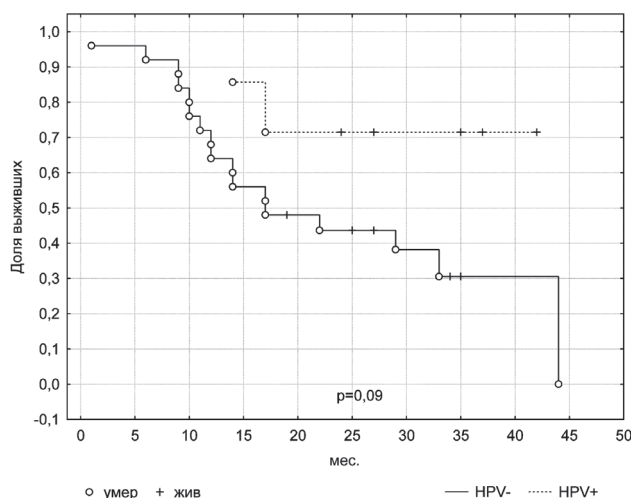


Рисунок 2. Общая выживаемость пациентов ОГШ в зависимости от HPV-статуса

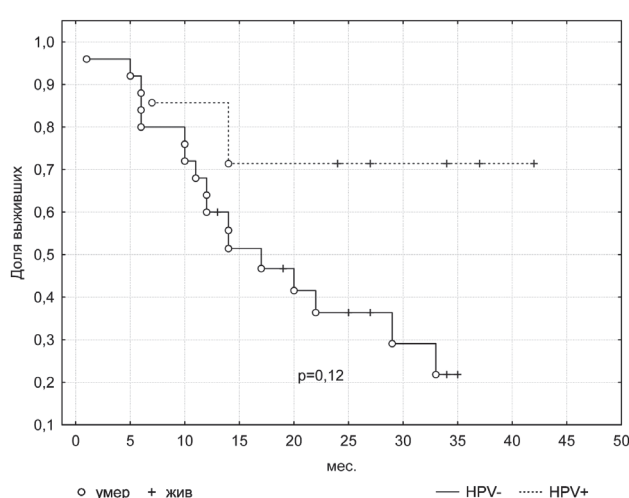


Рисунок 3. Безрецидивная выживаемость пациентов ОГШ в зависимости от HPV-статуса

больных раком шейки матки [1]. По-видимому, полученные данные являются особенностями распространения ВПЧ, характерными для данного региона.

Нами не было получено убедительных данных об увеличении частоты лимфогенного метастазирования в региональные лимфоузлы у ВПЧ-позитивных больных. Некоторые авторы также не отмечают подобной связи [11, 18]. Тем не менее, убедительны данные о значительном снижении выживаемости пациентов при наличии метастазов, независимо от статуса ВПЧ-инфекции.

При изучении влияния вирусной инфекции на продолжительность жизни обследованных больных обнаружена тенденция к более высокой общей и безрецидивной выживаемости у ВПЧ-позитивных пациентов в сравнении с ВПЧ-негативными. Отсутствие достоверных различий в этих двух группах может быть осо-

бенностью именно данной выборки. В нашем исследовании 63,0% от общего числа опухолей гортани представлены плоскоклеточными карциномами. Согласно анализу современных публикаций, максимальное увеличение выживаемости у ВПЧ-позитивных пациентов наблюдается при локализации первичного очага в ротоглотке, в то время как для опухолей гортани данный феномен не характерен [22].

Таким образом, проведенное исследование показало, что инфицированная ВПЧ ВКР плоскоклеточная карцинома области головы и шеи имеет более благоприятное клиническое течение, что не противоречит литературным данным. Этот феномен требует продолжения исследований на более репрезентативных выборках пациентов с целью получения новых данных относительно механизмов участия вирусной компоненты в процессе канцерогенеза ОГШ.

Список литературы

1. Уразова Л.Н., Мерзлякова М.К., Никитина Е.Г., Писарева Л.Ф., Коломиец Л.А., Чуруксаева О.Н., Шивит-Оол А.А. Сравнительное изучение уровня инфицированности вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска женского населения Томской области и Республики Тыва // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2012. — № 6 (68). — С. 15–20.

Ссылки 2–22 см. в References (с. 166). See References for numbers 2–22 at p. 166.

Infekciã i imunitet (Infection and Immunity)
2014, vol. 4, no. 2, pp. 162–166

SHORT COMMUNICATIONS

HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION AND HEAD AND NECK CANCER PROGRESSION

Bychkov V.A., Urazova L.N., Nikitina E.G., Cheremisina O.V., Chizhevskaya S.Y.

Tosmk cancer research institute of the Russian Academy of Medical Science

Abstract. The aim of present study was to evaluate the influence of HPV infection on lymphogenic metastasis and survival of patients with head and neck squamous cell carcinoma. DNA was isolated from tumor tissue and tumor-adjacent normal epithelium of 64 patients with head and neck tumors of different localization. Detection of 12 HPV genotypes was carried out by the PCR using AmpliSens diagnostic kits (Russia). The association between HPV infection and clinical-pathological parameters of the patients was assessed. HPV was detected in tumor tissue and in the surrounding normal tissue in 22% of patients. The most common HPV genotypes were 16 and 51. No association of HPV infection with sex, age, location, TNM stage and differentiation grade was found. The Kaplan Meier method showed a tendency towards the improvement of the overall and recurrence-free survival of HPV-positive patients with head and neck cancer ($p = 0.09$ and $p = 0.12$ respectively). The multivariate survival analysis using Cox's regression model showed that the patient's age and the presence of lymph node metastases ($p = 0.002$) significantly influence on patient survival ($p = 0.014$ and $p = 0.002$ respectively).

Key words: *Human papillomavirus, tumor progression, surviving, metastasis.*

Authors:

Bychkov V.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Oncovirology, Tosmk Cancer Research Institute; 634009, Russian Federation, Tosmk, Kooperativnyi lane, 5.

Phone: (3822) 51-29-57. Fax: (3822) 51-40-97. E-mail: virology@oncology.tosmk.ru

Urazova L.N., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Oncovirology, Tosmk Cancer Research Institute, Tosmk, Russian Federation;

Nikitina E.G., Junior Researcher, Laboratory of Oncovirology, Tosmk Cancer Research Institute, Tosmk, Russian Federation;

Cheremisina O.V., PhD, MD (Medicine), Head of the Endoscopy Department, Tosmk Cancer Research Institute, Tosmk, Russian Federation;

Chizhevskaya S.Y., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Head and Neck Cancer Department, Tosmk Cancer Research Institute, Tosmk, Russian Federation.

References

1. Urazova L.N., Merzliakova M.K., Nikitina E.G., Pisareva L.F., Kolomiets L.A., Churuksaeva O.N., Shivit-Ool A.A. Sravnitel'noe izuchenie urovnia infitsirovannosti virusom papillomy cheloveka vysokogo onkogenogo riska zhenskogo naseleniia Tomskoi oblasti i Respubliki Tyva [Comparative study of the level of infection with high oncogenic risk human papillomavirus of female population of Tomsk region and the Republic of Tyva]. *Epidemiologiia i vaksinoprofilaktika — Epidemiology and Vaccination*, 2012, vol. 6, no. 68, pp. 15–20.
2. Bozdayi G., Kemaloglu Y., Ekinci O., Dogan B., Ilhan M.N., Aydil U., Akyol G., Koybasioglu A., Inal E., Rota S. Role of human papillomavirus in the clinical and histopathologic features of laryngeal and hypopharyngeal cancers. *J. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2009, vol. 38, no. 1, pp. 119–125.
3. Dayyani F., Etzel C.J., Liu M., Ho C.H., Lippman S.M., Tsao A.S. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol.*, 2010, vol. 29, pp. 2–15.
4. Duray A., Descamps G., Arafa M., Decaestecker C., Rimmelink M., Sirtaine N., Ernoux-Neufcoeur P., Mutijima E., Somja J., Depuydt C.E., Delvenne P., Saussez S. High incidence of high-risk H.PV in benign and malignant lesions of the larynx. *Int. J. Oncol.*, 2011, vol. 39, no. 1, pp. 51–59.
5. Fakhry C., Westra W.H., Li S., Cmelak A., Ridge J.A., Pinto H., Forastiere A., Gillison M.L. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2008, vol. 100, pp. 261–269.
6. Fang K.H., Kao H.K., Chi L.M., Liang Y., Liu S.C., Hseuh C., Liao C.T., Yen T.C., Yu J.S., Chang K.P. Overexpression of B.S.T2 is associated with nodal metastasis and poorer prognosis in oral cavity cancer. *Laryngoscope*, 2014.
7. Hobbs C.G., Sterne J.A., Bailey M., Heyderman R.S., Birchall M.A., Thomas S.J. Human papillomavirus and head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Otolaryngol.*, 2006, vol. 31, no. 4, pp. 259–266.
8. Hoffmann M., Gottschlich S., Görögh T., Lohrey C., Schwarz E., Ambrosch P., Kahn T. Human papillomaviruses in lymph node neck metastases of head and neck cancers. *Acta. Otolaryngol.*, 2005, vol. 125, no. 4, pp. 415–421.
9. Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.*, 2011, vol. 6, no. 2, pp. 69–90.
10. Joo Y.H., Cho K.J., Park J.O., Nam I.C., Kim M.S. Factors influencing the outcomes of primary surgery with postoperative radiotherapy for pN2 oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral. Oncol.*, 2012, vol. 48, no. 1, pp. 90–94.
11. Klozar J., Kratochvil V., Salakova M., Smahelova J., Vesela E., Hamsikova E., Betka J., Tachezy R. HPV status and regional metastasis in the prognosis of oral and oropharyngeal cancer. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2008, vol. 265, suppl. 1, pp. 75–82.
12. Kreimer A.R., Clifford G.M., Boyle P., Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005, vol. 14, no. 2, pp. 467–475.
13. Lee L.A., Huang C.G., Liao C.T., Lee L.Y., Hsueh C., Chen T.C., Lin C.Y., Fan K.H., Wang H.M., Huang S.F., Chen I.H., Kang C.J., Ng S.H., Yang S.L., Tsao K.C., Chang Y.L., Yen T.C. Human papillomavirus-16 infection in advanced oral cavity cancer patients is related to an increased risk of distant metastases and poor survival. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 7, p. e40767.
14. Lutzky V.P., Moss D.J., Chin D., Coman W.B., Parsons P.G., Boyle G.M. Biomarkers for cancers of the head and neck. *Clinical Medicine: Ear, Nose and Throat*, 2008, vol. 1, pp. 5–15.
15. O'Rourke M.A., Ellison M.V., Murray L.J., Moran M., James J., Anderson L.A. Human papillomavirus related head and neck cancer survival: a systematic review and meta-analysis. *Oral. Oncol.*, 2012, vol. 48, no. 12, pp. 1191–1201.
16. Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., Pisani, P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J. Clin.*, 2005, vol. 55, pp. 74–108.
17. Patel M.R., Zhao N., Ang M.K., Stadler M.E., Fritchie K., Weissler M.C., Zanation A.M., Harris S.L., Funkhouser W.K., Olshan A.F., Shores C.G., Hayes D.N. ERCC1 protein expression is associated with differential survival in oropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2013, vol. 149, no. 4, pp. 587–595.
18. Pintos J., Franco E.L., Black M.J., Bergeron J., Arella M. Human papillomavirus and prognoses of patients with cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer*, 1999, vol. 85, no. 9, pp. 1903–1909.
19. Shaughnessy J.N., Farghaly H., Wilson L., Redman R., Potts K., Bumpous J., Silverman C., Dunlap N.E. HPV: a factor in organ preservation for locally advanced larynx and hypopharynx cancer? *Am. J. Otolaryngol.* 2014, vol. 35, no. 1, pp. 19–24.
20. Smith E.M., Summersgill K.F., Allen J., Hoffman H.T., McCulloch T., Turek L.P., Haugen T.H. Human papillomavirus and risk of laryngeal cancer. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 2009, vol. 109, pp. 1069–1076.
21. Termine N., Panzarella V., Falaschini S., Russo A., Matranga D., Lo Muzio L., Campisi G. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988–2007). *Ann. Oncol.*, 2008, vol. 19, no. 10, pp. 1681–1690.
22. Ukpo O.C., Pritchett C.V., Lewis J.E., Weaver A.L., Smith D.I., Moore E.J. Human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinomas: primary tumor burden and survival in surgical patients. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 2009, vol. 118, no. 5, pp. 368–373.

Received 30.04.2014

Revision received 30.04.2014

Accepted 13.05.2014