

Humán papillómavírus asszociált orofaringeális laphámkarcinóma patológiája

TÓTH ERIKA

Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Budapest

Levelezési cím:

Dr. Tóth Erika, Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, 1122 Budapest, Ráth György u. 7–9. E-mail: erika66toth@gmail.com

Közlésre érkezett:

2018. június 20.

Elfogadva:

2018. július 30.

A fej-nyaki régió HPV-asszociált laphámkarcinómái külön entitást képeznek a régió daganatai között. A konvencionális laphámkarcinómáktól eltérő etiológiájuk és epidemiológiájuk, jellegzetes orofaringeális lokalizációjuk, szövettani megjelenésük és biológiai viselkedésük alapján az új WHO-klaszifikáció is külön entitásként sorolja be őket, illetve a TNM-besorolásuk is eltér a régió ún. konvencionális laphámrákjaiétól. Az esetek több mint 90%-ában a HPV16 magas rizikójú vírus mutatható ki a daganatban, jellemzően fiatalabb életkorban, nem dohányzóknál, döntően férfiakban fordul elő. Általában jobban reagál a radiokemoterápiára és kedvezőbb túlélést mutat a konvencionális laphámrákokkal összehasonlítva. Összefoglalónkban röviden áttekintjük a szájgarat-laphámkarcinómák epidemiológiáját, a vírus daganatkeltő mechanizmusát, részletesen kitérünk a morfológiai jellemzőkre és összefoglaljuk a patológiai diagnosztikus alapelveket, összehasonlítva a konvencionális laphámkarcinómákkal. Ismertetjük a vírus kimutatásának lehetőségeit, illetve a HPV-asszociált laphámkarcinómák új TNM-klaszifikációját. *Magy Onkol* 62:139–144, 2018

Kulcsszavak: orofarinx, HPV16, laphámkarcinóma, p16 immunhisztokémia

Over the past decade, human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma has become a distinct entity that differs from conventional head and neck cancer in many ways including its epidemiology, genetics, tumor behavior, and prognosis. Human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinomas also exhibit characteristic histologic features. This review will cover the histomorphologic appearances of human papillomavirus-related oropharyngeal carcinoma, with an emphasis on their differences from conventional, human papillomavirus-unrelated cancer. Besides these we summarize the mechanism of carcinogenesis and the last guidelines for diagnosing this type of cancers.

*Tóth E. Pathology of HPV-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Magy Onkol* 62:139–144, 2018*

Keywords: oropharynx, HPV16, squamous cell carcinoma, p16 immunohistochemistry

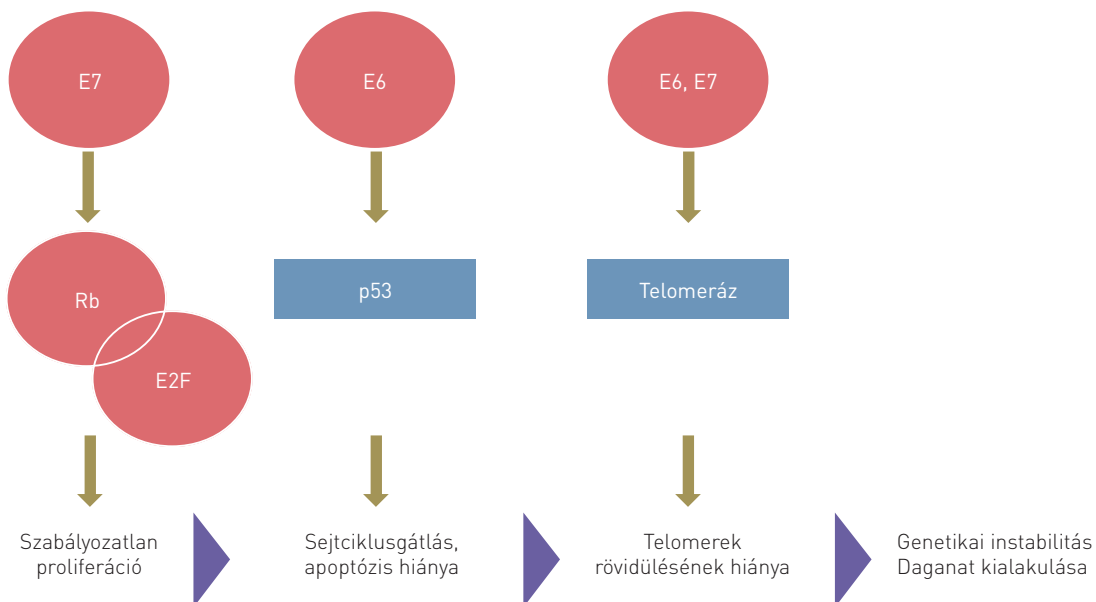
BEVEZETÉS

Ma már egyértelműen elfogadott tény, hogy a fej-nyaki régió HPV-asszociált laphámkarcinómája külön entitás a fej-nyaki daganatok között. Etiológiáját, epidemiológiáját, szövettani megjelenését és klinikai viselkedését tekintve egyaránt eltér a konvencionális laphámrákaktól. Ennek megfelelően önálló entitásként szerepel a legutóbbi WHO-klasszifikációban, illetve a biológiai viselkedésében mutatott eltérések alapján a legutóbbi TNM-klasszifikációban is a konvencionális fej-nyaki laphámrákokétól eltérő a besorolása. Az esetek több mint 90%-ában a HPV16 magas rizikójú vírus mutatható ki a daganatban, jellemzően fiatalabb életkorban, nem dohányzóknál, döntően férfiakban az orofarinxban fordul elő [1]. Magyarországon a rendelkezésre álló irodalmi adatok [2] és a szerző saját, még nem publikált adatai szerint 30–40% között van a HPV-asszociált laphámrák aránya az orofaringeális régióban. Ez elmarad az USA-ban vagy más fejlett nyugati országokban mért gyakoriságtól, de az előfordulás mindenképpen növekvő tendenciát mutat. Teljesen objektív adatok akkor állnak majd rendelkezésre, ha országosan, minden szájgarati régióból kiinduló daganat esetén vizsgálják a HPV-asszociációt. A HPV-asszociált laphámrákok általában jobban reagálnak a radiokemoterápiára és kedvezőbb túlélést mutatnak a konvencionális laphámrákokkal összehasonlítva. Mindezek miatt ma már orofaringeális régióból kiinduló laphámkarcinóma esetén kötelező a HPV-asszociáció vizsgálata.

A HPV-fertőzés talaján kialakuló laphámrákok jellegzetes morfológiai megjelenést mutatnak, így az orofarinx mellett a szájüreg, hipofarinx, orofarinx határterületeiről kiinduló laphámkarcinómák, illetve ismeretlen eredetű nyaki nyirokcsomóáttétek esetén, a szövettani megjelenés alapján is indikálhatja a patológus a HPV kimutatását.

A HPV DAGANATKELTŐ HATÁSÁNAK MECHANIZMUSA

A HPV daganatkeltő hatásának mechanizmusára vonatkozó ismereteink elsősorban a méhnyakrák kialakulásának kutatása során szerzett ismereteken alapulnak. A két lokalizációban számos eltérés figyelhető meg a fertőzés módját és a daganat kialakulását illetően, de a jelenlegi ismereteink alapján az alapvető molekuláris mechanizmusok lényegében egyezők [3]. A HPV más vírusokkal ellentétben nem képes a gazdasajtól független szaporodásra. Mivel a szaporodásához közvetlenül szükséges fehérjét nem kódol a vírusgenom, a gazdaszervezet replikációs rendszerét használja. A vírus fehérjei folyamatosan proliferatív fázisban tartják a gazdas sejteket, ezzel biztosítva a vírus szaporodását. A gazdasajt sejtciklusának befolyásolásában és a daganat kialakulásában két vírusfehérje játsza a fő szerepet, az E7 és E6 fehérjék. Az E6 fehérje a p53 tumorszuppresszor fehérje funkcióját gátolja ubiquitinmediált p53-degradáción keresztül, az E7 a retinoblasztóma (Rb) tumorszuppresszor fehérjéhez kötődve megakadályozza annak sejtproliferáció-gátló hatását.

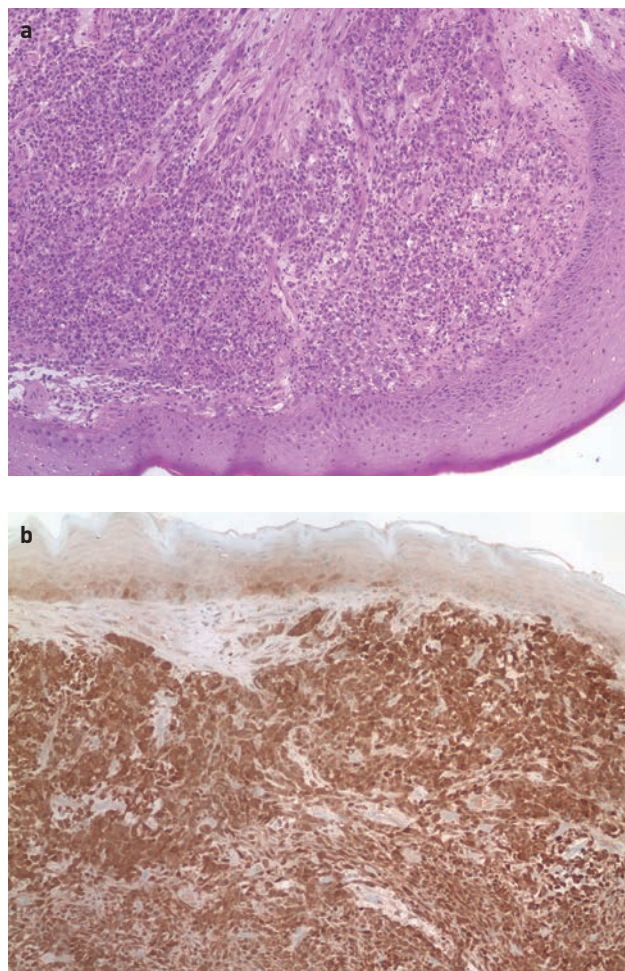


1. ÁBRA. A HPV-fertőzés daganatkeltő hatásának mechanizmusa. Az E6 fehérje a p53 tumorszuppresszor fehérje funkcióját gátolja ubiquitinmediált p53-degradáción keresztül, az E7 az Rb tumorszuppresszor fehérjéhez kötődve megakadályozza annak sejtproliferáció-gátló hatását. Emellett az E6, E7 fehérjék megakadályozzák a telomerek megrövidülését, így a természetes sejttöredést

Emellett az E6, E7 fehérjék megakadályozzák a telomerek megrövidülését, így a természetes sejtöregedést. Az E6, E7 fehérjék immortalizálják a sejtet, de a direkt transzformációhoz nem elegendő a hatásuk, további onkogénekre van szükség a malignus átalakuláshoz. Összességében azonban a két fehérje genetikai instabilitást okoz, ami további onkogén mutációk kialakulásához vezet. Az Rb fehérje HPV E7 mediálta gátlásának következménye a p16 fehérje (egy ciklindependens kinázgátló) fokozott expressziója. A p16-expresszió kimutatását alkalmazzuk a mindennapi gyakorlatban a HPV-fertőzés kimutatására a daganatban [4]. HPV-asszociált laphámkarzinóma az orofaringeális régióban leggyakrabban a tonsilla palatina és a tonsilla lingualis régiójában alakul ki. Itt a tonsillakripták specializált limfoepiteliális háma kifejezetten expresszálja a PD-L1-et (programmed death ligand 1), ami a HPV-fertőzés hatására kialakuló T-sejtes immunválaszt elnyomja, így kedvező környezetet biztosít a kezdeti vírusfertőzésnek. A HPV genomja a fertőzött sejtekben általában episzomálisan (a gazdasejt genomján kívül) található. A HPV-génexpresszió szorosan függ a fertőzött hámsejtek differenciációjától, mivel – ahogy korábban említettük – a vírus a gazdasejtek replikációs rendszerét használja a saját szaporodásához. A karcinogenezis kulcslépésének tekinthető, amikor a vírusgenom integrálódik, beépül a gazdasejt genomjába. Ilyenkor az E6, E7 fehérjék expressziója fokozódik, mivel kiszabadulnak a normális körülmények között őket szabályozó E2 fehérje hatása alól, és képesek a fent részletezett hatásukat kifejteni. A HPV daganatkeltő hatásához az orofaringeális régióban az is hozzájárul, hogy a laza tonsillaris hámat könnyen megfertőzi a vírus, ugyanakkor szabályos stratifikáció hiányában a vírus komplett életciklusához szükséges szignálokat nem kap [3]. Az 1. ábrán foglaltuk össze a HPV daganatkeltő hatásmechanizmusát.

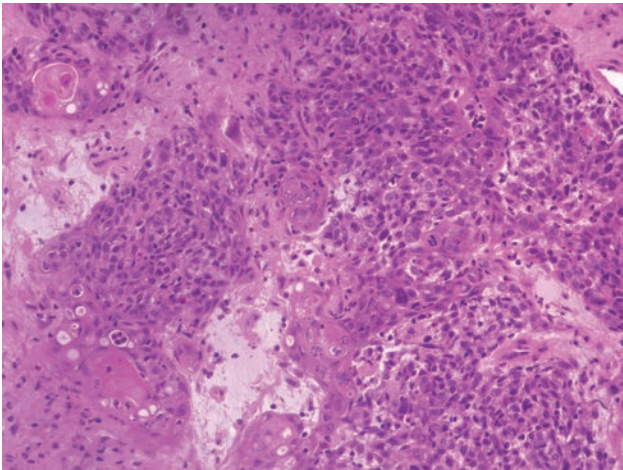
A HPV-ASSZOCIÁLT LAPHÁMKARCINÓMÁK SZÖVETTANI JELLEGZETESSÉGEI, DIAGNOSZTIKUS ALAPELVEK

A HPV-asszociált laphámkarzinóma (HPV-SCC, HPV-related squamous cell carcinoma) szövettani megjelenését tekintve jelentős eltéréseket mutat a fej-nyaki régió konvencionális laphámrákjaitól [5]. Utóbbi a felszíni hámból indul ki, ami általában különböző súlyossági fokú diszpláziát, *in situ* karcinómát mutat a daganat környezetében. A HPV-SCC a retikuláris jellegű limfoepiteliális hámból indul ki, rák-megelőző atípiá nem jellemző. A felszíni hám érintettsége esetén az elváltozás éles határú, nincs a környezetében különböző súlyossági fokú diszplázia. A limfoepiteliális hám nem rendelkezik folyamatos jellegű bazálmembránnal, így az *in situ* karcinóma itt nem értelmezhető. Ezt igazolja az is, hogy egészen kis tumorok mellett, ahol egyértelmű, klasszikus értelemben vett invázió nem azonosítható, nagy nyaki nyirokcsomóáttétek vannak jelen. Emiatt minden HPV-SCC-t invazív tumornak kell tekinteni, ami eleve metasztatikus potenciállal bír. A konvencionális laphámkarzinómák általában dezmozplasztikus strómával rendelkeznek,



2. ÁBRA. (a) HPV-asszociált laphámkarzinóma típusos szövettani képe. Bazaloid morfológia, nincs dezmozplasztikus stróma és elszarusodás. (b) p16-immunhisztokémiai vizsgálattal a daganatsejtek több mint 70%-a intenzív citoplazmatikus és nukleáris pozitivitást mutat

infiltratív mintázatot mutatnak, míg a HPV-asszociált tumorokra inkább a fészkes elrendeződés és a dezmozplasztikus stróma hiánya jellemző (2. ábra). Citológiailag is jelentős eltéréseket mutat a két daganattípus. A nem HPV-asszociált tumorokban általában valamilyen szintű keratinizáció és nagyszámú intercelluláris híd látható, ezzel szemben a HPV-asszociált tumorokra a keratinizáció hiánya, a magas mag-citoplazma arány, gyakori osztódások, nekrozisok és a metasztázisokban cisztikus átalakulás a jellemző. Ez utóbbi miatt laterális nyaki cisztával téveszthető össze a nyaki nyirokcsomóáttét. Ha keratinizáció van a HPV-SCC-ben, az inkább a fészkek széli részén fordul elő, amit ún. reverz érésnek is neveznek (3. ábra). A HPV-asszociált laphámkarzinómák döntő többsége a fenti morfológiai képet mutatja, de ritkán előfordulnak ettől eltérő morfológiai variánsok is, melyek a nem HPV-asszociált laphámkarzinómák morfológiai variánsaival egyező megjelenésűek. A HPV-



3. ÁBRA. A daganatsejtfészkek széli részén megjelenő ún. reverz elszarusodás

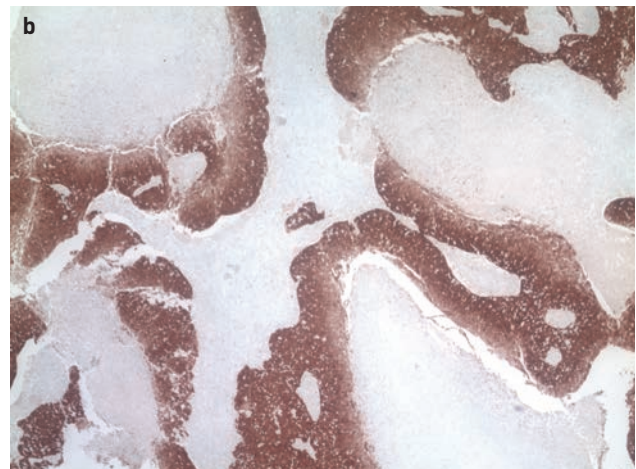
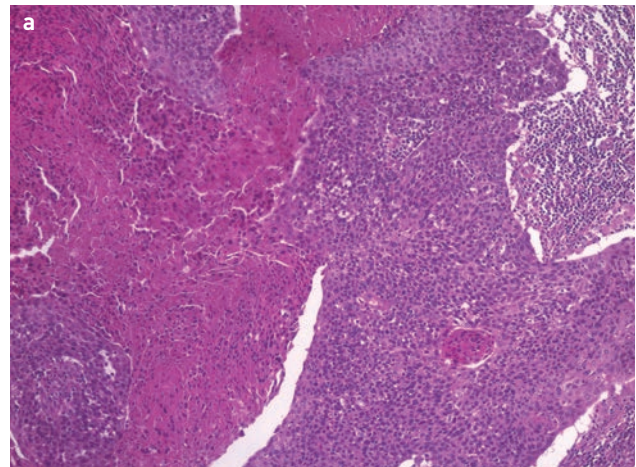
SCC-k citológiai megjelenésükben szinte mindig bazaloid jellegűek, és a bazaloid típusú klasszikus, nem HPV-asszociált laphámkarzinómákhoz nagymértékben hasonló képet mutathatnak. A hiperkróm magokat keskeny, alig látható citoplazma övezi, hialinos alapállományban puzzle-szerűen összefekvő daganatsejtfészkek láthatók. Csak HPV-teszttel különíthető el a két típus, aminek elvégzése elengedhetetlen, mivel a HPV-asszociált laphámkarzinómák prognózisa kedvezőbb. A nem HPV-asszociált bazaloid laphámkarzinómák agresszív, rossz prognózisú daganatok (6).

A HPV-SCC-k általában endofitikus növekedést mutatnak, de ritkán előfordulhat exofitikus növekedés, amikor fibrovaszkuláris nyéllal bíró papillákat képez a daganat. Külön kiemelendő a HPV-asszociált laphámkarzinóma kissejtes variánsa, ami a nem HPV-asszociált kissejtes karzinómákkal egyező morfológiájú, és a prognózisa a HPV-asszociált többi karzinómától eltérően a nem HPV talaján kialakulókéhez hasonlóan kedvezőtlen (7).

A HPV-KIMUTATÁS MÓDSZEREI

A molekuláris patológiai diagnosztikában mindig a daganatban jelen lévő, biológiailag releváns HPV kimutatása a cél. A jelenleg elfogadott ún. aranystandard, aminek a közel 100%-os szenzitivitása mellett a specificitása is 100%, friss anyagból az aktív HPV E6/E7 mRNS-nek a kimutatása kvantitatív reverz transzkriptáz polimeráz láncreakcióval (qRT-PCR). Ugyanakkor ennek a módszernek a mindennapi rutindiagnosztikában való alkalmazása nehézkes, inkább csak kutatási körülmények között működik. A patológiai laboratóriumokban elsősorban formalinfixált anyag áll rendelkezésre, az RNS pedig nagyon sérülékeny molekula, formalinfixált anyagból való izolálása problematikus. A klinikai, patológiai laboratóriumokban alkalmazott teszttel szemben elvárás, hogy validált, könnyen kivitelezhető és olcsó, illetve hogy a leletátfutás időtartama elfogadható legyen.

Jelenleg a HPV-asszociáció vizsgálatára kétlépcsős vizsgálat javasolt a fej-nyaki régióban, ami eltér a cervikális HPV-fertőzés kimutatásában alkalmazott gyakorlattól. Az elsődleges szűrőmódszer a p16INK4-immunhisztokémia. Ez olcsó, gyors és magas szenzitivitású módszer, az orofaringeális régióban elfogadott önmagában is a HPV-asszociáció igazolására. A közel 100%-os szenzitivitás mellett a specificitása alacsonyabb – mutációk, nem HPV okozta sejtciklus-szabályozási zavarok, besugárzás szintén okozhatnak p16INK4-overexpressziót – (79–82%), ezért második lépcsőben javasolt a vírus kimutatása. A p16INK4-immunhisztokémiai reakció megfelelő kiértékelése nagyon fontos. A daganatsejtek több mint 70%-ában megjelenő magi és citoplazmatikus pozitivitás esetén tekinthető egy daganat pozitívnak (4. ábra). A p16INK4-immunhisztokémia kiértékelésekor ezt figyelembe véve pozitívként vagy negatívként értékelhetünk egy esetet. A p16-pozitív esetekben a vírus kimutatása elsősorban DNS-*in situ* hibridizációval ajánlott (4).



4. ÁBRA. Cisztikus átalakulást mutató, részben elszarusodó laphámkarzinóma nyaki nyirokcsomóáttéte (a). p16-immunhisztokémiai vizsgálat során a daganat intenzív pozitivitást mutat, ami szájrati kiindulás lehetőségére utal elsősorban (b)

Az *in situ* hibridizáció közel 100%-os specificitású módszer, az érzékenysége azonban alacsonyabb, 80% körüli. A két módszer együttes alkalmazásával kellően biztonságos eredmény érhető el az esetek döntő többségében. A konszenzus primerrel végzett PCR-alapú módszer alkalmazása a fej-nyaki régióban, formalinfixált anyagon önmagában nem javasolt, de p16-immunhisztokémiával kombinálva, illetve az *in situ* hibridizáció sikertelensége esetén alkalmas a vírustipizálásra. Az esetek több mint 90%-ában HPV16-fertőzés mutatható ki, az esetek kisebb részében egyéb magas kockázatú vírusok. Számos vizsgálati eredmény szerint a p16-pozitivitás az orofaringeális laphámrákokban HPV-fertőzés kimutathatósága nélkül is kedvező prognosztikai markernek tekinthető [2, 8]. Az orofaringeális régió kívül a p16INK4 immunhisztokémiai pozitivitás prediktív értéke HPV-asszociációt tekintve jóval alacsonyabb.

A HPV-ASSZOCIÁLT OROFARINGEÁLIS LAPHÁMKARCINÓMÁK SZÖVETANI TNM-KLASSZIFIKÁCIÓJA T-klaszifikáció

A TNM 8. kiadásának szájgarati HPV-asszociált tumorokra vonatkozó összefoglalása az 1. táblázatban látható. A T-kategóriában nincs különbség a klinikai és szövettani osztályozás között. A 2018-as TNM-klaszifikációban a HPV-asszociált tumorok esetén megmaradt a T0 stádium, szemben az EBV-és a nem HPV-asszociált tumorokkal, ahol ez a kategória már nem szerepel a T-klaszifikációban. Ismeretlen primer tumor mellett HPV-asszociált laphámkarzinóma nyirokcsomó-metasztázisa T0-ként osztályozandó. Mivel az orofaringeális régióban az *in situ* karzinóma nem értelmezhető, így Tis kategória sem létezik az orofarinxban HPV-asszociált daganatoknál. A T4 kategória nem oszlik T4a és T4b csoportra, mivel a túlélésben nincs szignifikáns különbség.

N-klaszifikáció

A szövettani alapú osztályozásban pNx, pN1 és pN2 kategóriákba sorolják a daganatokat. 4 vagy kevesebb nyirokcsomóattétt pN1, 5 vagy 5-nél több metasztázis pN2 kategória. A klinikai és patológiai nyirokcsomó-klaszifikáció között diszcrepancia van, mivel a klinikai besorolás alapvetően az áttétek méretétől és lokalizációjától függ, így míg egy 6 cm-nél nagyobb átmérőjű nyirokcsomó-metasztázis klinikailag N3, addig szövettani vizsgálat során ez a pN1-be sorolható [9].

ÖSSZEFOGLALÁS

A HPV-asszociált laphámkarzinóma döntően a szájgarat területéből kiinduló, általában bazaloid morfológiájú, magas mitotikus aktivitású daganat. Magas rizikójú HPV-onkoproteinek, döntően az E6, E7 fehérjék az Rb és p53 sejtciklus-szabályozó fehérjék működésének befolyásolásával genetikai instabilitást okoznak, ami végül a daganat kialakulásához vezet. A HPV-asszociált orofaringeális laphámkarzinómák aránya világszerte emelkedik, a nem HPV-asszociált tumorokhoz képest fiatalabb életkorban jelentkezik, döntően nem dohányzó férfiakban.

1. TÁBLÁZAT. AJCC (8. kiadás) TNM-kategóriák és definíciók HPV-asszociált (p16+) OPSCC esetén

T-kategória*	Kritérium
T0	Nincs azonosított primer tumor
T1	A tumor legnagyobb átmérője <2 cm
T2	A tumor mérete >2 cm, de <4 cm
T3	A tumor mérete >4 cm, vagy ráterjed a gégefedő lingvális felszínére
T4	Közepesen előrehaladott tumor, amely ráterjed a gégére, az extrinzik nyelvizmokra, a m. pterygoideus medialisra, a kemény szájpadra, az állkapocsra vagy további más képletekre
Klinikai N-kategória	Kritérium
Nx	A regionális nyirokcsomók nem vizsgálhatók
N0	Nincs metasztázis a regionális nyirokcsomókban
N1	Metasztázis egy vagy több, azonos oldali nyirokcsomóban, <6 cm
N2	Metasztázis az ellenoldali vagy mindkét oldali nyirokcsomókban, <6 cm
N3	Bármely, >6 cm metasztázis a nyaki nyirokcsomókban
Kórszövettani N-kategória	Kritérium
Nx	A regionális nyirokcsomók nem vizsgálhatók
pN0	Nincs metasztázis a regionális nyirokcsomókban
pN1	Metasztázis 4 vagy kevesebb nyirokcsomóban
pN2	Metasztázis 5 vagy több nyirokcsomóban
M-kategória	Kritérium
M0	Nincs távoli metasztázis
M1	Van távoli metasztázis

*A klinikai és kórszövettani T-klaszifikációs sémák hasonlóak. AJCC: American Joint Committee on Cancer; HPV: humán papillómavírus; OPSCC: orofaringeális laphámrák

Általában jobb a prognóza, mint a dohányzással összefüggő karzinómáké, de a betegek egy részében recidíva és távoli metasztázis is megjelenik. Jellegzetes szövettani megjelenésük mellett konvencionális laphámkarzinómákra jellemző morfológiát is mutathatnak. Az eltérő biológiai viselkedés miatt lényeges e daganatok pontos szövettani diagnózisa, ennek megfelelően az összes orofaringeális laphámkarzinómában, illetve ismeretlen primer laphámkarzinóma nyaki nyirokcsomó-metasztázisa esetén a HPV-asszociáció vizsgálata. Ennek elsődleges módszere a p16INK4-immunhisztokémia, illetve pozitivitás esetén HPV-kimutatás *in situ* hibridizációs vagy PCR-alapú technikákkal.

IRODALOM

1. Young D, Xiao CC, Murphy B, et al. Increase in head and neck cancer in younger patients due to human papillomavirus (HPV). *Oral Oncol* 51:727–730, 2015
2. Brauswetter D, Birtalan E, Danos K, et al. P16INK4 expression is of prognostic and predictive value in oropharyngeal cancers independent of human papillomavirus status: a Hungarian study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 274:1959–1965, 2017
3. Powell NG, Evans M. Human papillomavirus-associated head and neck cancer: oncogenic mechanisms, epidemiology and clinical behaviour. *Diagn Histopathol* 21:49–64, 2015
4. Moutasim KA, Robinson M, Thavaraj S. Human papillomavirus testing in diagnostic head and neck histopathology. *Diagn Histopathol* 21:77–84, 2015
5. Bishop JA. Histopathology of human papillomavirus-related oropharyngeal carcinoma: A review of classic and variant forms. *Diagn Histopathol* 21:70–76, 2015
6. El-Mofty SK. Human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma variants. *Semin Diagn Pathol* 32:23–31, 2015
7. Maxwell JH, Grandis JR, Ferris RL. HPV-associated head and neck cancer: unique features of epidemiology and clinical management. *Annu Rev Med* 67:1.1–1.11, 2016
8. Lewis JS Jr, Thorstad WL, Chernock RD, et al. p16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: an entity with a favorable prognosis regardless of tumor HPV status. *Am J Surg Pathol* 34:1088–1096, 2010
9. UICC TNM Classification of Malignant Tumours, Eight Edition, Ed. Brierty JD, Gospodarowitz MK, Wittekind C. Wiley Blackwell, 2017, pp. 24–26