

ORAL KAVİTE VE OROFARENKS SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA HPV SIKLIĞI, İMMUN KONTROL NOKTASI İNHİBİTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ

HPV Frequency in Oral Cavity and Oropharynx Squamous Cell Carcinomas and its Association with Immune Checkpoint Inhibitors

Hayriye TATLI DOĞAN¹ , Mustafa TAHTACI¹ 

Affiliasyon / Affiliation:

¹Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

Sorumlu Yazar /

Correspondence:

Doç. Dr. Hayriye TATLI DOĞAN

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD Bilkent, Ankara, Türkiye
E-mail: hayrietatlidogan@aybu.edu.tr

Geliş / Received: 22.11.2024

Kabul / Accepted: 11.12.2024

Cite as:

Doğan Tatlı, H., Tahtacı, M. (2025). HPV Frequency in Oral Cavity and Oropharynx Squamous Cell Carcinomas and its Association with Immune Checkpoint Inhibitors. Turkish Medical Journal, 10(1),1-5.
<https://doi.org/10.70852/tmj.1589582>

ÖZET

Amaç: Human papilloma virüs (HPV) ilişkili orofaringeal skuamöz hücreli karsinomların (SHK) prevalansı, etnik ve coğrafi farklılıklar göstermektedir. HPV ilişkili orofaringeal SHK'ların prognozunun, HPV ilişkisi negatif olanlara göre daha iyi olduğu bilinmektedir. Orofaringeal SHK gelişiminde immün sistemden kaçış da önemli mekanizmalardan biridir. T hücrelerinden eksprese olan programlanmış hücre ölüm reseptörü 1 (PD-1) ile programlanmış hücre ölüm reseptör ligandının (PD-L1) etkileşimi T hücre baskılanmasına neden olmaktadır. Çalışmamızda oral kavite ve orofarenks SHK'lerinde prognoz ve tedavide önemi olan, lenfoid doku ile yakından ilişkili HPV sıklığını, PD-1/PD-L1 etkileşimini değerlendirmeyi amaçladık. **Yöntem:** Orofarenks ve oral kavite yerleşimli SHK tanısı almış 70 olguda biyopsi ve eksizyon materyallerine ait parafin bloklardan hazırlanan kesitlerde HPV varlığı, p16 antikoru ile immunohistokimyasal boyama yöntemi ve HPV in-situ hibridizasyon (ISH) yöntemi ile retrospektif olarak araştırıldı. Ayrıca tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu ve tümör mikro çevresindeki lenfoid hücrelerde PD-1 ekspresyonunu immunohistokimyasal boyama yöntemi ile değerlendirildi. **Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen olgulardan ikisi orofarenks ve biri dil laterali olmak üzere üç olguda tümörde HPV pozitifliği saptanmıştır. PD-L1 pozitifliği 45 (%64,3) olguda izlenmiştir. PD1 ekspresyonu, PD-L1 pozitif olguların %75,6'sında, PD-L1 negatif olanların %24'ünde orta veya şiddetli olup bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. HPV pozitif olan 3 olgunun yalnızca birinde PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. PD-L1 pozitif olanlarda genel sağ kalım açısından PD-L1 negatif olanlara göre anlamlı farklılık saptanmamıştır. **Tartışma:** Oral kavite ve orofarenks SHK'de HPV durumundan bağımsız olarak PD-1 ya da PD-L1 ekspresyonu gözlenebilmektedir. HPV pozitifliğinin sıklıkla iyi prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmekle birlikte özellikle ülkemizdeki çalışmalar kısıtlıdır. Bu biyobelirteçlerin prognostik ve prediktif önemi daha kapsamlı çalışmalar ile desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: HPV, Oral kavite, Orofarenks, PD-L1

ABSTRACT

Objectives: The prevalence of human papillomavirus (HPV) associated oropharyngeal squamous cell carcinomas (SqCCs) varies ethnically and geographically and has better prognostic features compared to HPV negative cases. Escaping from the immune system is one of the important mechanisms in the development of oropharyngeal SCC. The interaction of programmed cell death receptor 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) causes T cell suppression. In our study, we aimed to evaluate the frequency of HPV and its relation with PD-1/PD-L1, which is closely related to lymphoid tissue and important in prognosis and treatment in oral cavity and oropharynx SCCs. **Method:** We retrospectively investigated the presence of HPV in sections prepared from paraffin blocks of biopsy and excision materials by immunohistochemical staining method with p16 antibody and HPV in-situ hybridization (ISH) method in our series of 70 patients diagnosed with oral (SqHC). We also evaluated PD-L1 expression in tumor cells and PD-1 expression in lymphoid cells in the tumor microenvironment by immunohistochemically staining method. **Results:** HPV positivity was detected in three tumors, two in the oropharynx and one lateral to the tongue. PD-L1 positivity was observed in 45 (64.3%) cases. PD-1 expression was moderate or severe in 75.6% of PD-L1 positive cases and 24% of PD-L1 negative cases and this ratio was statistically significant. PD-L1 positivity was detected in only one of the 3 HPV positive cases. There was no significant difference in overall survival in PD-L1 positive patients compared to PD-L1 negative ones. **Discussion:** PD-1 or PD-L1 expression can be observed in oral cavity and oropharynx SCC regardless of HPV status. Although HPV positivity is frequently reported to be associated with good prognosis, studies are limited especially in our country. The prognostic and predictive importance of these biomarkers should be supported by more comprehensive studies.

Keywords: HPV, Oral Cavity, Oropharynx, PD-L 1

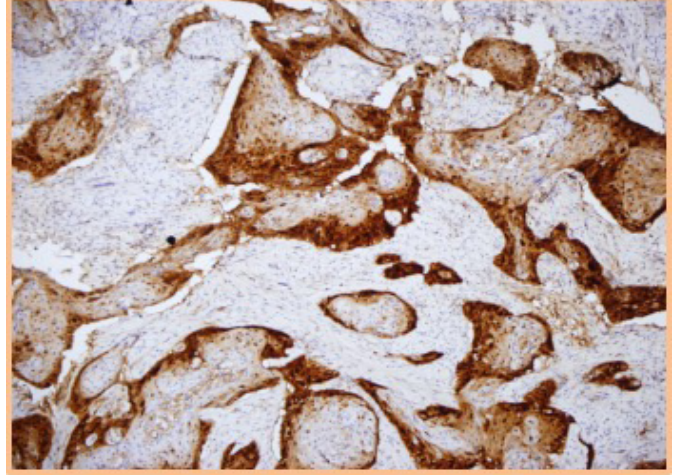
GİRİŞ

Human papilloma virüs (HPV) baş-boyun skuamöz hücreli karsinomların (SHK) bir kısmının etyolojisinde yer almakta ve özellikle orofarenkste gelişim göstermektedir (Gillison ve ark., 2000). Amerika'da orofaringeal SHK'lerin %40-60'ı HPV ilişkili olup enfeksiyonun tetiklediği kronik inflamasyonun karsinogenezde etkili olduğu öne sürülmektedir (Marur ve ark., 2010). HPV ilişkili kanserler genellikle daha iyi prognozlu olup, daha genç yaşta ve yüksek sosyoekonomik düzeyli toplumlarda daha sık görülmektedir (Richards, 2010). Baş boyun SHK'lerinde de immün sistemden kaçış mekanizmalarından birisi immün kontrol noktası regülasyon bozukluklarıdır (Bauman & Ferris, 2014). Tümörü infiltrate eden lenfositler sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 ve programlanmış hücre ölüm reseptörü (PD-1) eksprese ederler. Hücre yüzey glikoproteini olan programlanmış hücre ölüm ligandı (PD-L1) ise T hücre yüzeyindeki PD-1 reseptörleri ile etkileşerek T hücre inhibisyonu veya apoptozuna neden olur (Flies ve ark., 2011). PD-1 ve PD-L1 etkileşiminin inhibisyonunu hedef alan antikör temelli immunoterapiler küçük hücreli dışı akciğer kanseri, melanom, baş boyun SHK'leri gibi pek çok kanser türünde son zamanlarda olumlu sonuçlar veren tedaviler arasında yerini almıştır (Garon ve ark., 2015; Robert ve ark., 2015). Sitotoksik T lenfositlerde PD-1 ekspresyonunun HPV pozitif baş-boyun SHK'de HPV negatif olanlara göre daha fazla olduğu bildirilmektedir. Ancak oral SHK'de PD-L1 ekspresyonunun HPV varlığı ile ilişkisi net değildir (Badoual ve ark., 2013). Bu çalışmada oral SHK'de HPV sıklığının belirlenmesi, immün kontrol noktası inhibitörlerinin ekspresyonu ve birbirleri ile olan ilişkisi ele alınmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

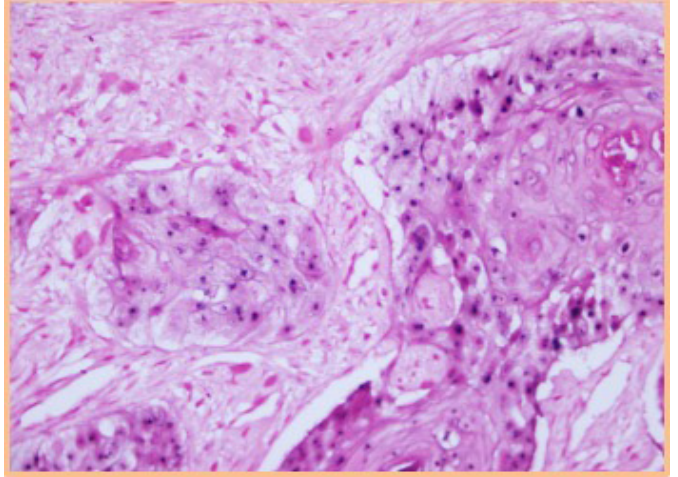
Çalışmamız için Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Tıbbi Araştırmalar Bilimsel ve Etik Değerlendirme Kurulu'ndan TABED 1-24-781 numaralı Etik Kurul Onayı alınmıştır. 2013-2018 yılları arasında SHK tanısı alan ve arşivde materyali bulunan 15'i orofarenks, 55'i oral kavite lokalizasyonlu olmak üzere

toplam 70 olguya ait parafin bloklardan doku mikrodizilim yöntemi ile yeni parafin blok oluşturulmuştur. Bu bloklardan hazırlanan kesitlere yüksek risk HPV'yi saptamaya yönelik immunhistokimyasal olarak P16 boyaması (Resim 1)



Resim 1. Tümör hücrelerinde immunohistokimyasal olarak p16 pozitifliği

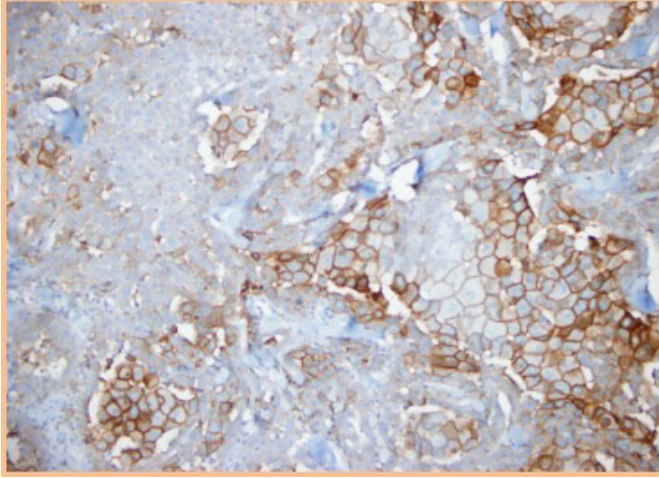
ve Inform HPV III, Family 16 probe16, 18, 31,33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 66 kiti ile in situ hibridizasyon (ISH) çalışması yapılmıştır (Resim 2).



Resim 2. Kromojenik in-situ hibridizasyon yöntemi ile HPV pozitifliği

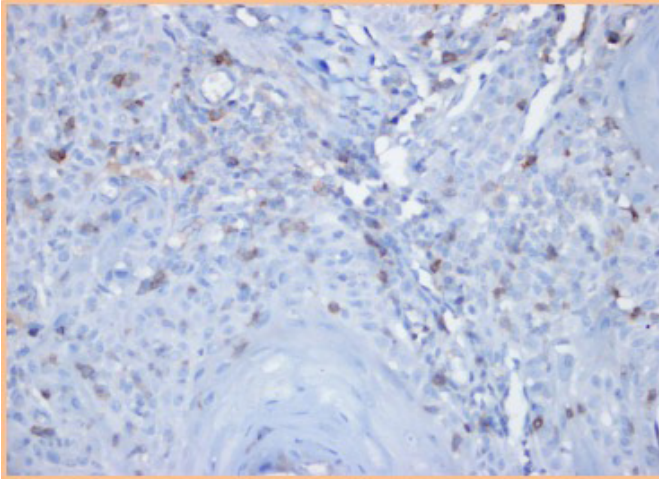
PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesine yönelik ise yine parafin bloklardan hazırlanan kesitlere PD-1 (Clone NAT 105) ve PD-L1 (Clone SP263) antikörleri ile Ventana otomatik boyama platformunda immunhistokimyasal çalışma yapılmıştır. PD-L1 ekspresyonu tümör hücrelerinde, PD-1 ekspresyonu tümör komşuluğundaki lenfositlerde değerlendirilmiştir. PD-L1 ile tümör hü-

relerinde >5% boyanma pozitif olarak (Resim 3)



Resim 3. Skuamöz hücreli karsinomda PD-L1 ekspresyonu

ve tümör mikroçevresinde PD-1 eksprese eden lenfosit yoğunluğu ise hafif, orta ve şiddetli olarak değerlendirilmiştir (Resim 4).



Resim 4. Tümör mikroçevresinde PD-1 eksprese eden orta yoğunlukta lenfoid hücreler

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

IBM SPSS v21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programı kullanıldı. Kategorik değişkenler için sıklık (n) ve yüzde (%) değerleri kullanıldı. Kategorik değişkenlere yönelik Pearson- χ^2 ve Fisher's exact testleri kullanıldı. Sağ kalım analizi için Kaplan Meier metodu kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen olguların 45'i erkek, 25'i kadın ve ortalama yaş 64,3 idi. Tümör 43 olguda dil, 8 olguda ağız tabanı, 4 olguda bukkal mukoza, 15 ol-

guda orofarenks yerleşimliydi. HPV varlığını saptamaya yönelik p16 yaygın pozitifliği toplam 3 (%4,3) olguda tespit edilmiş olup bu olgularda yüksek risk HPV varlığı ISH yöntemi ile de kanıtlanmıştır. HPV pozitif olan olguların ikisinde tümör orofarenks, diğerinde ise dil laterali yerleşimliydi. Median 36 aylık takipte HPV pozitif olguların hepsi sağ idi. PD-L1 için %5 değeri sınır değer olarak kabul edildiğinde 45 (%64,3) olguda PD-L1 pozitif bulunmuştur. PD-1 ekspresyonu, PD-L1 pozitif olguların %75,6'sında, PD-L1 negatif olanların %24'ünde orta veya şiddetli olup bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 1). HPV pozitif olan 3 olgunun yalnızca birinde PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. PD-L1 pozitif olan olgularda tümör boyutu ve genel sağ kalım açısından PD-L1 negatif olanlara göre anlamlı farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$).

Tablo 1. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile lenfoid hücrelerde PD-1 ekspresyonu ilişkisi

PD-1 eksprese eden lenfosit yoğunluğu	PD-L1 Negatif	PD-L1 Pozitif	Total
Hafif	19 %76	11 %24,4	30 %42,9
Orta-belirgin	6 %24	34 %75,6	40 %57,1
Total	25 %35,7	45 %64,3	70 %100

TARTIŞMA

HPV pozitif baş-boyun kaynaklı SHK'ler sıklıkla dil kökü, derin kriptler ve tonsil yerleşimli olup HPV negatif olanlara oranla mikroçevrede daha yoğun lenfosit infiltrasyonu göstermektedirler (Westra, 2009). Son zamanlarda PD-1: PD-L1 yolağının da HPV pozitif baş-boyun kanserleri ile ilişkisi bildirilmiştir (Gildener-Leapman ve ark., 2013; Lyford-Pike ve ark., 2013). Ancak bu ilişkinin nedeni tam olarak açıklanamamaktadır. Orofaringeal ve oral kavite SHK'de PD-L1 ekspresyonu %50-90 gibi yüksek oranlarda saptanabilmektedir. Ancak HPV durumu ile immün kontrol noktası

inhibitörlerini ele alan oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Lyford- Pike ve ark. ile Upko ve ark. HPV pozitif oral kanserlerde HPV negatiflere oranla daha yüksek PD-L1 ekspresyonu olduğunu ve ayrıca tümör mikroçevresinde PD-1 eksprese eden T lenfositlerin HPV pozitif olgularda daha yoğun olduğunu bildirmişlerdir (Lyford-Pike ve ark., 2013; Ukpö ve ark., 2013). Pike ve ark. ayrıca PD-1: PD-L1 etkileşiminin HPV pozitif hücrelerin immün kaçışı ve hayatta kalması için bağıklık ayrıcalıklı bir alan oluşturduğunu göstermiştir (Lyford-Pike ve ark., 2013). Kim ve ark. 133 olgulu çalışmada orofaringeal SHK'da HPV varlığını %67, PD-L1 ekspresyonunu %68 olarak bildirmiş, HPV pozitifliği ile PD-L1 ekspresyonu arasında ilişki tespit edememiştir. PD-L1 ekspresyonu ile genel sağ kalım arasında da ilişki bulunamamıştır (Kim ve ark., 2016). Bizim çalışmamızda PD-L1 pozitifliği %64 olarak saptanmakla birlikte HPV pozitifliği %4,3 olup batılı toplumlara oranla daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızın kısıtlayıcı bir yönü HPV pozitif tümörlerin çok az olması nedeni ile HPV durumunun PD-L1 ekspresyonu ile ilişkisinin net olarak değerlendirilememesidir. PD-L1'in prognostik ve prediktif biyobelirleyici olabilmesine yönelik daha geniş prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. PD-L1 pozitifliğini değerlendirmek için daha standart boyama ve skorlama metotları geliştirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Badoual, C., Hans, S., Merillon, N., Van Ryswick, C., Ravel, P., Benhamouda, N., Levionnois, E., Nizard, M., Si-Mohamed, A., Besnier, N., Gey, A., Rotem-Yehudar, R., Pere, H., Tran, T., Guerin, C. L., Chauvat, A., Dransart, E., Alanio, C., Albert, S., Barry, B., ... Tartour, E. (2013). PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer. *Cancer research*, 73(1), 128–138. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2606>
- Bauman, J. E., & Ferris, R. L. (2014). Integrating novel therapeutic monoclonal antibodies into the management of head and neck cancer. *Cancer*, 120(5), 624-632
- Flies, D. B., Sandler, B. J., Sznol, M., & Chen, L. (2011). Blockade of the B7-H1/PD-1 pathway for cancer immunotherapy. *The Yale journal of biology and medicine*, 84(4), 409.
- Garon, E. B., Rizvi, N. A., Hui, R., Leighl, N., Balmanoukian, A. S., Eder, J. P., ... & Gandhi, L. (2015). Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 372(21), 2018-2028.
- Gildener-Leapman, N., Ferris, R. L., & Bauman, J. E. (2013). Promising systemic immunotherapies in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral oncology*, 49(12), 1089-1096.
- Gillison, M. L., Koch, W. M., Capone, R. B., Spafford, M., Westra, W. H., Wu, L., ... & Sidransky, D. (2000). Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck

SONUÇ

PD-L1 ekspresyonu HPV durumundan bağımsız olarak oral kavite ve orofarenks SHK'lerinin çoğunda bulunabilir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre prognostik önemi nedeni ile orofarenks tümörlerinde HPV test edilmelidir. PD-L1 ya da PD-1 ekspresyonu ise immunoterapiden fayda göreceğ hasta seçiminde yardımcı olabilir. İmmun kontrol noktası inhibitörlere yanıtı öngörmeye yardımcı olan biyobelirleyiciler ve beraberinde HPV durumu oral kanserli hastaların klinik yönetiminde ve uygun tedavinin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

Çıkar Çatışması: Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı: Hayriye Tatlı Doğan: Çalışmanın ortaya çıkması ve sürdürülmesinde fikir sahibi olma, plan, tasarım, materyal desteği, literatürün gözden geçirilmesi, kaleme alma ve düzeltmeler, kontrol etme ve gözden geçirme. Mustafa Tahtacı: Veri toplanması ve toplanan verilerin analize hazırlanması için işlenmesi, veri analizi ve analiz yorumlanması, kontrol etme ve gözden geçirme.

- cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(9), 709-720.
- Kim, H. S., Lee, J. Y., Lim, S. H., Park, K., Sun, J. M., Ko, Y. H., ... & Ahn, M. J. (2016). Association between PD-L1 and HPV status and the prognostic value of PD-L1 in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*, 48(2), 527-536.
- Lyford-Pike, S., Peng, S., Young, G. D., Taube, J. M., Westra, W. H., Akpeng, B., ... & Pai, S. I. (2013). Evidence for a role of the PD-1: PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer research*, 73(6), 1733-1741.
- Marur, S., D'Souza, G., Westra, W. H., & Forastiere, A. A. (2010). HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *The lancet oncology*, 11(8), 781-789.
- Richards, L. (2010). Human papillomavirus—a powerful predictor of survival in patients with oropharyngeal cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 7(9), 481-481.
- Robert, C., Schachter, J., Long, G. V., Arance, A., Grob, J. J., Mortier, L., ... & Ribas, A. (2015). Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *New England Journal of Medicine*, 372(26), 2521-2532.
- Ukpo, O. C., Thorstad, W. L., & Lewis, J. S. (2013). B7-H1 expression model for immune evasion in human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head and neck pathology*, 7, 113-121.
- Westra, W. H. (2009). The changing face of head and neck cancer in the 21st century: the impact of HPV on the epidemiology and pathology of oral cancer. *Head and neck pathology*, 3, 78-81.