

Humán papillomavírusok szerepe a szájüreg daganatos elváltozásaiban F046479

OTKA zárójelentés 2007

Magyarországon a szájüregi rosszindulatú daganatok előfordulása és mortalitása európai és világviszonylatban is kiemelkedően magas. Számos kémiai (dohányzás, alkoholfogyasztás) és fizikai (UV sugárzás, mechanikai irritáció) karcinogén hatás, valamint genetikai kockázati tényező mellett a nyálkahártya-tropizmust mutató humán papillomavírusok (HPV) szerepe is felvetődött a szájüregi daganatok etiopatogenezisében. Pályázati célkitűzésünk a HPV fertőzés szájüregi tumorgenezisben játszott esetleges etiológiai szerepének feltárása és prognosztikai indikátorként való alkalmazhatóságának vizsgálata volt. A HPV infekció mellett feltérképeztük orális laphámsejtes karcinómában szenvedő betegeink körében a p53 mutációk előfordulását, valamint vizsgáltuk a p53 tumorszuppresszor gén 72 kodont érintő polimorfizmusának prognosztikai szerepét. Új elemként épült a pályázatba az 1. genocsoportú torque-tenovírus (g1TTV) lehetséges kokarcinogén szerepének, illetve prognosztikai indikátorként történő felhasználásának vizsgálata a szájüregi tumorképződés folyamatában. A TTV kiválasztása munkacsoportunk 2004-ben végzett tanulmányának eredményei alapján történt. A tanulmányban egy másik valószínűsíthetően HPV-asszociált fej-nyaki laphámrákban, a gége laphámsejtes karcinómájában szenvedő betegeket vizsgáltunk. A karcinómás betegekben mind a HPV, mind a g1TTV, mind a koinfekció gyakorisága szignifikánsan nagyobb volt, mint az egészséges kontrollokban, emellett a HPV és a g1TTV koinfekció szignifikánsan rosszabb túléléssel társult.[Szládek et al., 2005]

A klinikai mintákat és betegadatokat vizsgálatainkhoz a DE OEC Fogorvostudományi Kar Arc-, Állcsont és Szájsebészeti Osztálya, valamint Parodontológiai Osztálya biztosította az etikai előírásoknak megfelelően. A pályázat keretében a következő betegcsoportok kliniko-patológiai és virológiai jellemzőit vizsgáltuk és elemeztük:

- i.) Szájüregi laphámsejtes karcinómában (OSCC) szenvedő beteg – 65 fő (51 férfi, 14 nő; átlagéletkor 54,4 év; 25-80 év), akiknek a tumora operábilisnak bizonyult és nem részesültek a műtét előtt semmilyen neoadjuváns kezelésben.
- ii.) Orális leukoplakiában (OL) szenvedő betegek csoportja – 44 fő (14 férfi, 30 nő; átlagéletkor 56,3 év; 29-91 év)
- iii.) Orális lichen planusban szenvedő (OLP) betegek – 119 fő (31 férfi, 88 nő; átlagéletkor 55 év; 23-79 év)
 - a. Fehér (bullózus, plakk, retikuláris) OLP (F-OLP) – 60 fő (17 férfi, 43 nő; átlagéletkor 52,8 év; 23-75 év)
 - b. Vörös (atrófiás, erozív) OLP (V-OLP) – 59 fő (14 férfi, 45 nő; átlagéletkor 57,2 év; 23-79 év)

A betegcsoportokban kapott adatokat egy 72 egészséges egyénekből álló kontroll csoport adataihoz viszonyítottuk (18 férfi, 54 nő; átlagéletkor 51,8 év; 22-77 év).

Vizsgálati anyagként OSCC betegek esetében tumorszövet mintát és a klinikailag egészséges buccalis nyálkahártyáról és nyelvről származó exfoliált sejteket használtunk. Az OL és OLP betegek esetében a lézió területéről és a léziótól legtávolabb lévő egészséges buccalis nyálkahártyáról gyűjtöttünk exfoliált sejteket. Kontrollként egészséges egyének buccalis nyálkahártyájáról származó exfoliált sejteket használtuk. Az egészséges területekről történő mintavétel minden esetben megelőzte OSCC betegek esetében a műtéti beavatkozást, illetve az OLP és OL betegeknek a lézió területének mintázását. A nukleinsav izolálás TRI Reagent izoláló oldat felhasználásával és kisózásos technikával történt. A statisztikai analízis SPSS 15.0 szoftver segítségével történt. A prevalenciaadatokat khi-négyzet próbával vagy Fisher egzakt teszttel történt, a prognosztikai elemzéseket egyváltozós és többváltozós logisztikus regresszióval és Kaplan-Meier teszttel végeztük.

A betegek HPV státuszának vizsgálata és a prevalenciaadatok elemzése

A HPV-specifikus szekvenciák kimutatása a klinikai anyagban MY09/MY11 és GP5+/GP6+ konszenzus nested PCR rendszerrel történt, a vírus genotípusát pedig az amplimerek restrikciós mintázata alapján határoztuk meg. A tipizálás eredményeit HPV6, 11, valamint HPV16, 18, 31 és 33 esetében típus-specifikus primerek felhasználásával is megerősítettük.

A HPV hordozás a kontroll csoportban alacsony volt (3/72, 4.2%), két esetben HPV16-ot, egy esetben pedig HPV11-et azonosítottunk. A HPV prevalenciája az OLP, OL és OSCC betegek esetében az elváltozások súlyosságával fokozatosan emelkedett (39/119, 32,8%; 18/44, 40,9%; és 31/65, 47,7%). A léziók HPV pozitivitása minden esetben szignifikánsan magasabb volt mint a kontroll csoportban tapasztalt vírushordozás ($p < 0.001$). A betegcsoportok összehasonlításakor az OLP és OSCC csoport HPV prevalenciája is szignifikáns különbséget mutatott ($p = 0,047$), más összehasonlításban azonban nem találtunk szignifikáns különbséget. HPV genotípusok tekintetében jellemző volt mindhárom betegcsoportra a magas onkogén kockázatú vírus típusok (HPV16, 18, 31, 33, 39, 51, 59) dominanciája. Az OSCC csoportban 4 beteg (HPV11 pozitív), OL-ben 2 beteg (HPV6 és 32 pozitív), OLP-ben pedig 6 beteg (1 HPV6, 4 HPV11 és 1 HPV32 pozitív eset) mintájában találtunk alacsony onkogén kockázatú HPV genotípust.

Az orális premalignus léziók malignizációs hajlama a klinikai megjelenés függvényében jelentősen különbözik (fehér vs vörös léziók), így a precancerosisokat eszerint tovább osztályoztuk. Sajnos az OL betegek relatíve alacsony mintaszáma nem tette lehetővé a két csoportra bontás után is megbízható statisztikai elemzést, de az OLP betegek esetében a prevalenciaadatok statisztikai összehasonlítását a léziók típusa (fehér vs vörös léziók) szerint is elvégeztük. Ekkor mind a fehér, mind a vörös lichenes lézió HPV hordozása szignifikánsan magasabb volt a kontrollénál ($p = 0,001$ és $p < 0,001$), és ugyancsak szignifikánsan magasabb volt a fehér lichenhez képest a vörös lichenes léziók ($p = 0,026$), valamint az OSCC ($p = 0,004$) vírus pozitivitása. A fehér OLP léziók és az OL közötti különbség – talán az alacsony OL esetszám miatt – nem volt szignifikáns ($p = 0,056$). A vörös OLP lézió HPV prevalenciája nem különbözött jelentősen sem az OL, sem pedig az OSCC betegcsoportban tapasztalttól, illetve nem volt különbség az OL és OSCC csoportok HPV pozitivitásában sem.

Az OLP, OL és OSCC betegek klinikailag egészséges nyálkahártyája 14,3%-ban (17/119), 20,5%-ban (9/44) és 23,1%-ban (15/65) hordozott HPV DNS-t. A HPV pozitív betegek klinikailag egészséges nyálkahártyának vírus pozitivitása ennél jelentősen magasabb volt (OLP 14/39, 35,9%; OL 8/18, 44,4% és OSCC 14/31, 45,2%), és szignifikánsan különbözött mindhárom csoport esetében a kontroll csoport HPV prevalenciájától ($p < 0.001$), ugyanakkor a HPV hordozó betegek ép nyálkahártyájának pozitivitása nem különbözött szignifikánsan egymástól. A HPV-negatív betegek egészséges nyálkahártyájának vírus pozitivitása nem különbözött az egészséges kontrollok HPV hordozási arányától sem, és ezekben az esetekben az ép nyálkahártyában kizárólag alacsony kockázatú HPV-t detektáltunk (1 HPV6 OSCC-ben, 1 HPV11 OL-ben és 3 HPV11s az OLP betegekben). A HPV pozitív betegek klinikailag egészséges nyálkahártyájában kimutatott HPV genotípusa egy eset kivételével (lézióban HPV16, éppen HPV11) megegyezett a lézióban detektált vírus genotípusával. Ha az OLP betegek egészséges nyálkahártyára vonatkozó adatait különválasztva, fehér és vörös OLP-ként hasonlítottuk össze, csak a V-OLP betegek ép nyálkahártyájának HPV hordozása volt szignifikánsan magasabb a kontrollénál (13/59, 22,0%, $p = 0,002$). A F-OLP vírushordozásánál (4/60, 6,7%) pedig szignifikánsan magasabb volt a V-OLP ($p = 0,014$), OL (9/18, 44,4%, $p = 0,036$) és az OSCC (15/65, 23,1%, $p = 0,009$) vírus hordozása. A betegcsoportok között semmilyen összehasonlításban nem kaptunk szignifikáns különbséget és nem tért el jelentősen ebben az esetben sem a HPV-negatív betegek ép nyálkahártyájának vírus pozitivitása.

A HPV kópiaszám meghatározása valós idejű (real-time) PCR-rel

A HPV fej-nyaki tumorokban betöltött szerepének tisztázásához elengedhetetlen HPV prevalencia és a fertőző vírus típusának meghatározását követően a HPV DNS-t hordozó minták vírus terhelésének megismerése. Ennek érdekében mintáinkban meghatároztuk az egységnyi mintamennyiségben található virális DNS-kópiaszámot. Ehhez a konszenzus szekvenciákra specifikus MY09/MY11 primereket, valamint a HPV16 E7 ORF-jére specifikus ME60/ME78 és a HPV18 ugyancsak E7 régiójára specifikus ME59/ME87 primerpárt alkalmazó PCR-t optimalizáltuk real-time rendszerre, a detektáláshoz SYBR Green fluoreszcens festéket használtunk.

A standard görbék felállítása pBR322 plazmidba klónozott HPV6, HPV16 és HPV18 genomok felhasználásával történt, az ismert töménységű plazmidból 10-es léptékű hígítási sort készítve (10^{10} -1 kópiaszám-tartományban). A hígítási sor és a HPV16 illetve HPV18 genomot stabilan, ismert kópiaszámban hordozó SiHa, CaSki és HeLa sejtvonalakból származó DNS felhasználásával standard görbéket vettünk fel. Mivel a standard görbék paraméterei alapján az MY09/MY11 PCR nem bizonyult kellően érzékenynek, így második lépésben a mintáinkban legnagyobb számban előforduló HPV16 mennyiségi meghatározásához a HPV16 specifikus ME60/ME78 primereket alkalmazó PCR-t állítottunk be. A HPV16 kópiaszámának meghatározása 18 OSCC-ben, 10 OL-ben és 18 OLP-ben szenvedő beteg tumorszövetből illetve exfoliált sejtől származó mintájában járt sikerrel, emellett kvantitálni tudtuk a két HPV16 pozitív egészséges kontroll minta vírusterhelését is. Ezt követően optimalizáltuk a real-time PCR-t a HPV18 kópiaszámának vizsgálatára, a vírusterhelést 3 OSCC, 2 OL és 4 OLP beteg lézióból származó mintájában tudtuk meghatározni. A vírusterhelés vizsgálata mintáinkban két ismétlésben, a mintákat egy-egy reakcióban két párhuzamosban futtatva történt. Ezen eredmények alapján – függetlenül a betegcsoporttól – a vizsgált vírusok DNS-ét a mintákban alacsony és közepes kópiaszámban (10^1 - $2 \times 10^4/\mu\text{g}$ totál DNS) találtunk és nem érvényesült semmilyen tendencia a vírus DNS kópiaszámában sem a kontroll csoporthoz képest, sem a betegcsoportok között.

A HPV16 DNS fizikai állapotának meghatározása OSCC, OL és OLP betegek körében

A HPV16 DNS fizikai állapotának meghatározására a rendelkezésünkre álló kis mennyiségű DNS miatt nem tudtuk alkalmazni az integráció vizsgálatára legmegbízhatóbban használható restriktions hasításon és Southern blot hibridizáción alapuló technikát. Sajnos a vírus genom integrációja szempontjából kritikus E1 és E2 intaktságát vizsgáló PCR-eink sem bizonyultak elég érzékenynek a HPV DNS fizikai állapotának meghatározásához, így a HPV DNS fizikai állapotának prognosztikai szerepét nem tudtuk értékelni.

A HPV16 intratípusos varianciájának vizsgálata

A HPV-ok genetikai variabilitásuk alapján nemcsak különböző genotípusokba sorolhatók, hanem földrajzi régióknén is elkülönülő intratípusos variánsaik is léteznek (pl. európai vagy prototípus, afrikai, ázsiai-amerikai, észak-amerikai variánsok). Legjobban tanulmányozott a leggyakrabban detektált HPV16 E6 régiójának variabilitása. Munkánk során 15 HPV16 pozitív OSCC, 10 OL és 18 OLP beteg lézióból származó mintájában és a 2 HPV16 pozitív kontrollban tudtuk vizsgálni a HPV16 varianciáját az E6 és E2 ORF, valamint az LCR alapján, de a szekvencia analízist követően minden mintában európai variánst (prototípus) azonosítottunk.

Az OSCC betegek p53 kodon 72 genotípusának meghatározása

A p53 gén 72. kodont érintő - egyetlen nukleinsav cseréje révén megvalósuló - polimorfizmusa prolin (Pro) vagy arginin (Arg) aminosav-oldallánc jelenlétét eredményezi a tumorszuppresszor fehérjében. A Pro oldallánc Arg-nal történő helyettesítése megváltoztatja a p53 érzékenységét az HPV E6 mediált degradációra, így a beteg p53 genotípusa befolyásolhatja a fertőzés kimenetelét, azaz genetikai predisponáló tényezőként szerepelhet. Az OSCC betegek p53 kodon 72 genotípusának meghatározása mind a 65 beteg esetében sikeres volt és a betegcsoportban az alábbi genotípus megoszlást tapasztaltuk: p53Arg homozigóta 49% (32/65); p53ArgPro heterozigóta 43% (28/65) és p53Pro homozigóta 8% (5/65). Kontrollként ebben az esetben már egy korábbi, cervix carcinomához kapcsolódó, ugyanezen célból végzett vizsgálatsorozat véradókból

álló kontroll csoportjának (n=87) eredményeit használtuk. A genotípus gyakoriságok a kontrollban a következők: p53Arg homozigóta 60% (52/87); p53ArgPro heterozigóta 31% (31/87) és 4% (4/87). Az Arg és Pro allélok gyakorisága az OSCC csoportban 71% és 29%; míg a kontrollban 78% és 22%. Bár a kontrollhoz képest az OSCC betegek körében jelentősen csökkent az p53Arg homozigóta és nőtt az p53ArgPro heterozigóta és p53Pro homozigóta genotípus gyakorisága, a genotípus megoszlásban azonban khi-négyzet teszttel nem találtunk szignifikáns különbséget. A kontrollhoz képest a Pro allél gyakoriságának emelkedése figyelhető meg OSCC-ben, de ez a változás sem szignifikáns.

A p53 tumorszuppresszor gén mutációinak vizsgálata OSCC betegekben

A p53 tumorszuppresszor gén mutációja igen gyakori (50% feletti) a humán tumorokban. Munkánk során a gén - mutációs forró pontnak számító - 5-8. exonjának területét érintő mutációit térképeztük fel. Az 5-8. exon területe a tumorszuppresszor fehérje DNS-kötő doménjét határozza meg. Első lépésben a feltehetően mutációt hordozó minták kiválogatását végeztük el SSCP analízissel, majd a kontrollhoz képest futási különbséget mutató mintákat szekvenáltuk. A 65 beteg közül összesen 8 esetben találtunk aminosavcserét is eredményező nukleotid változást, két esetben a nukleotidcsere nem járt aminosavcserével. A mutációk 2 esetben az 5. exon, 5 esetben a 6. exon és 2 esetben a 8. exon területét érintették. A 7. exon vizsgálatakor nem találtunk eltérést az SSCP képből egyik minta esetében sem, és a szekvenálásra véletlenszerűen kiválasztott 8 minta nem mutatott szekvenciabeli különbséget.

Az 5. exon területén két HPV-negatív beteg mintájában azonosítottunk mutációt, az 13 172. pozícióban lévő C/T nukleotidcsere stop kodont, míg a másik mintában a 13 091. helyen lévő G/C csere Ala/Pro cserét eredményezett.

A 6. exon esetében a mutációt hordozó mintákban a következő eltéréseket találtuk: az első (HPV16 pozitív) betegnél több nukleotid eltérést is azonosítottunk, egy aminosavcserét nem eredményező C/A cserét a 13 346. pozícióban, egy stop kodont eredményező G inszerciót a 13 389. helyen, valamint kimutattuk a gén 13 399. nukleotidot érintő A/G polimorfizmusát, amely Asn/Ser cserét eredményez. A második, HPV-negatív beteg esetében szintén az utóbbi polimorfizmust detektáltuk. A harmadik, HPV16 pozitív betegnél a 13 337. pozícióban történt C/A csere His/Asn cseréhez vezetett. A következő, HPV16 pozitív beteg esetében a 13 418 pozícióban T/A csere történt, amin Tyr/Asn cseréhez vezetett. Az utolsó, HPV18 pozitív beteg esetében pedig egy aminosavcserét nem okozó A/G cserét találtunk a 13 399 pozícióban.

A 8. exon minták futási különbségeit 3 esetben erősítette meg a szekvenálás, az első betegnél egy, a 14 586. pozícióban lévő, aminosav-cserét nem okozó C/T cserét mutattunk ki, a második betegnél egy 14 505. helyen lévő G/A, a harmadik esetben pedig egy 14 526. pozícióban lévő A/G nukleotidcsere. A két utóbbi nukleotidcsere egy Gly/Glu, illetve egy Glu/Gly aminosavcserét eredményezett. A 8. exonban mutációt hordozó betegek mindegyike HPV-negatív volt.

A prognosztikai vizsgálatoknál kizárólag az aminosavcserét eredményező mutációkat vettük figyelembe.

Torque-tenovírus hordozás vizsgálata OSCC-ben és premalignus elváltozásaiban

Több munkacsoport eredményei vetették fel a TTV lehetséges társfertőző szerepét egyes kórképekben, így hepatitis C vírus okozta krónikus hepatitisben, Helicobacter-asszociált gastritisben, valamint felmerült a TTV társfertőző szerepe egyes EBV-hez társítható lymphoproliferatív kórképekben is. Munkacsoportunk korábbi vizsgálatai kimutatták, hogy az 1. genocsoportú torque-tenovírus (g1TTV) szignifikánsan nagyobb gyakorisággal fordul elő laryngealis laphámsejtes carcinómában és a malignizálódott gégepapillomás esetekben, mint a benignus gégepapillomatosisban és egészséges kontrollokban. Emellett a gégekarcinómás betegekben a HPV és az 1. genocsoportba tartozó torque-tenovírus (TTV) koinfekció szignifikánsan rosszabb túléléssel társult. Ezen eredményekből kiindulva kezdtük el az általános TTV és a g1TTV prevalencia felmérését OSCC, OL és OLP betegeink körében, az egészséges kontroll csoporthoz

viszonyítva. Az általános TTV prevalencia felmérése a vírus UTR-jére specifikus PCR segítségével történt, ez a PCR alkalmas minden TTV genotípus kimutatására, a g1TTV előfordulását pedig a vírus ORF1 régiójára specifikus primerekkel mutattuk ki.

Az általános TTV prevalencia mindhárom betegcsoportban és a kontroll populációban is magas volt, OSCC-ben 78,5% (51/65), OL-ben 54,5% (24/44), OLP-ben 53,8% (64/119) és a kontroll csoportban 54,7% (39/72) volt a lézióban, illetve kontrollok egészséges nyálkahártyájában a TTV pozitivitás. Hasonlóan magas volt a betegcsoportok egészséges nyálkahártyájának általános TTV pozitivitása, az OSCC csoportban 53,8% (35/65), OL-ben 47,4% (21/44), OLP-ben pedig 42,1% (50/119) pozitív arányt találtunk. A prevalenciaadatok összevetésekor szignifikánsan magasabb volt a TTV gyakorisága OSCC-ben a kontrollhoz, OL-hoz és OLP-hoz viszonyítva (OSCC vs. kontroll $p=0,002$; OSCC vs. OL $p<0,001$; OSCC vs. OLP $p=0,006$), ugyanakkor a kontroll és a prekancerózisok összevetésekor nem találtunk szignifikáns különbséget. A betegek klinikailag egészséges nyálkahártyájának TTV pozitivitása semmilyen összehasonlításban nem tért el sem a kontroll, sem a másik betegcsoport TTV pozitív arányától.

A g1TTV pozitív arány vizsgálati csoportjainkban a következőképpen alakult: az OSCC betegekben 24,6%-a (16/65), OL-ban 4,5% (2/44), OLP-ban 10,1% (12/119). A HPV-g1TTV koinfekció aránya OSCC-ban 12,3% (8/65), OL-ban 2,6%-a (1/44) és OLP-ban 6,7% (8/119). Az egészséges kontroll csoportban ($n=72$) egyetlen g1TTV pozitív egyént találtunk (1,4%), koinfekció nem fordult elő. A kontrollhoz képest OSCC-ban és OLP-ban szignifikánsan magasabb volt a koinfekció aránya ($p=0,002$; $p=0,026$).

OSCC, OL és OLP betegek kliniko-patológiai adatainak és virológia státuszának hatása a betegség prognózisára

Az OL és OLP esetében vizsgáltuk, hogy a nem, a kor és a HPV státusz fokozza-e a lézió kialakulásának kockázatát, illetve a nagyobb malignizációs hajlamú (vörös) léziók kialakulásának kockázatát. OLP esetében a vírus jelenléte jelentős kockázattal járt a kontrollhoz képest ($OR=11,21$; $p<0,001$), a kor és a nem nem volt hatással a kockázatra. A lézió malignizációs hajlama szerinti felosztás esetén a F-OLP esetén $OR=7,00$ ($p=0,003$), míg a V-OLP esetén $OR=16,91$ ($p<0,001$). A F-OLP és V-OLP összehasonlításakor a F-OLP-hez képest a V-OLP kialakulásának kockázata a HPV pozitív betegekben szignifikánsan nagyobb volt ($OR=2,42$; $p=0,029$), míg a nem és a kor nem gyakorolt hatást a kockázatra.

OL esetében a lézió kialakulásának kockázatát a kontrollhoz képest ismét csak a HPV pozitív arány fokozta ($OR=15,92$; $p<0,001$). A relatíve alacsony esetszám miatt az OL betegeket nem osztályoztuk a lézió természetére szerint.

OSCC esetében a következő tényezők prognosztikai szerepét vizsgáltuk: nem, kor, a tumor lokalizációja, dohányzás, alkoholfogyasztás, virológiai státusz (HPV és g1TTV pozitív arány, koinfekció jelenléte). A tumor stádiumának és grádusának hatását nem vizsgáltuk, mivel a projekt időtartama alatt paradigmaváltás következett be az OSCC kezelésében, a projekt második felében a magas TNM stádiumú (T3-4 és/vagy N1) betegek neoadjuváns terápiában részesültek, így a vizsgálat számára elérhetetlenné váltak (nem teljesültek a vizsgálatba vonás feltételei). Emiatt ezek a betegek a mintában alulreprezentáltak a valós előforduláshoz képest, tehát az adatsor ezen paraméterek kockázattal járó hatásának megítélésére csak korlátozottan lett volna alkalmas.

Az OSCC kialakulásának kockázatát szignifikánsan fokozta a beteg HPV pozitív aránya ($OR=20,97$; $p<0,001$) és a férfi nem ($OR=10,93$; $p<0,001$), az életkor hatása nem volt szignifikáns.

Az OSCC szignifikánsan rosszabb prognózisával önmagában egyik vizsgált tényező sem társult. Különböző tényezők együttes előfordulását vizsgálva azonban jelentős prognózisrosszabbodást (a rosszabb prognózis magasabb kockázatát illetve rosszabb túlélést) eredményezett az alkoholfogyasztás a tumor kedvezőtlen anatómiai lokalizációjával vagy dohányzással társulva (1. táblázat). A virológiai státuszt vizsgálva a HPV pozitív arány minden elemzett nem infekciós kockázati tényezővel (lokalizáció, dohányzás, alkoholfogyasztás, illetve ezek bármely kombinációja) társulva rosszabb prognózissal társult (1. táblázat). A g1TTV

önmagában semmilyen kombinációban nem befolyásolta a túlélést (1. táblázat). A koinfekció sem társult a HPV pozitivitáshoz képest rosszabb pronózzissal semmilyen összevetésben (1. táblázat).

Eredmények értékelése:

1. A projekt során megállapítottuk, hogy az OSCC-ben és prekancerózisaiban a kontrollhoz képest szignifikánsan nagyobb a HPV pozitívak aránya. A kimutatott HPV-ok többsége magas onkogén kockázatú volt. Ezek az adatok alátámasztják a HPV etiológiai szerepét az OSCC kialakulásában.
2. A betegek egészséges nyálkahártyájának HPV pozitívítási adatai szintén az etiológiai szerep mellett szólnak, hiszen az eredmények alapján a HPV pozitívítás elsősorban a lézióhoz társul, az egészséges nyálkahártyán talált HPV-ok feltehetően a lézióból másodlagosan származnak.
3. A HPV a prekancerózisokban is jelen van, tehát nemcsak a malignus tumor kialakításában lehet szerepe, hanem az egész tumorgenezis folyamatát befolyásolhatja.
4. A HPV igen alacsony kópiaszámban volt jelen az összes vizsgált mintában. Ez egybevághat a cervix és a gége karcinómájában tapasztalt eredményekkel.
5. A HPV fokozza a prekancerózisok kialakulásának kockázatát, továbbá a magasabb malignizációs potenciállal rendelkező vörös OLP léziók kialakulását is.
6. Az OSCC betegekben a normál populációhoz képest nőtt a p53Pro allél aránya, de ez az összefüggés nem volt szignifikáns, így ebből következtetést nem lehetett levonni. Hasonló adatokat kaptunk gégekarcinómában is. A p53 mutációi alacsony számban fordultak elő, így ezek etiológiai és prognosztikai jelentőségét sem lehetett megítélni.
7. Az OSCC prognózisát az adatok alapján önmagában egyik vizsgált tényező sem befolyásolja jelentősen.
8. A vártnak megfelelően a kockázat fokozódása legalább két kockázati tényező együttes előfordulásához társul, a nem infekciós tényezők közül meglepő módon az alkoholfogyasztás fontosabbnak tűnik a dohányzásnál ebben a populációban. (Ennek magyarázata a kelet-magyarországi alkoholfogyasztási szokásokban lehet, mivel más országokkal ellentétben a tömény szeszes italok fogyasztása nagyobb arányú.)
9. A HPV az összes nem infekciós kockázati tényezővel illetve azok kombinációival társulva fokozta a rossz prognózis kockázatát és csökkentette a túlélést. Ez alapján a HPV jelenléte prognosztikai faktornak tekinthető. Az új, neoadjuváns terápiát alkalmazó protokollok esetében érdemes lenne vizsgálni a HPV státusz hatását a neoadjuváns terápia hatékonyságára is.
10. A g1TTV is nagyobb arányban fordult elő az OLP és OSCC betegekben, mint a kontrollokban. Prognosztikai jelentősége azonban sem önmagában, sem társfertőzőként nem igazolódott. Ezek alapján valószínűbb, hogy valódi etiológiai szerepe nincsen. Kérdésként vetődik fel azonban, hogy mi okozza a g1TTV fokozott a prekancerózisok és az OSCC iránt mutatott preferenciáját.

1. táblázat: Az OSCC prognózisára ható tényezők statisztikai elemzése

FAKTOR	rossz prognózis	nyers OR	korrigált OR (nem, kor)	Kaplan-Meier teszt
HPV + LOKALIZÁCIÓ (-) 45 fő (+) 20 fő	4/45 (8,9%) 14/20 (70,0%)	OR = 23,92 (5,88-77,29) p < 0,001	OR = 16,88 (4,37-65,26) p < 0,001	91,1% 30,0% p < 0,001
HPV + DOHÁNYZÁS (-) 40 fő (+) 25 fő	2/40 (5,0%) 16/25 (64,0%)	OR = 33,78 (6,55-174,09) p < 0,001	OR = 19,24 (4,82-76,81) p < 0,001	95,0% 36,0% p < 0,001
HPV + ALKOHOL (-) 48 fő (+) 17 fő	1/48 (2,1%) 17/17 (100,0%)	OR = 1598,0 (51,25-49826,73) p < 0,001	OR = 201,47 (23,40-1734,69) p < 0,001	97,9% 0,0% p < 0,001
TTV + LOKALIZÁCIÓ (-) 56 fő (+) 9 fő	14/56 (25,0%) 4/9 (44,4%)	OR = 2,40 (0,57-10,20) p = 0,236	OR = 2,21 (0,51-9,54) p = 0,289	75,0% 55,6% p = 0,046
TTV + DOHÁNYZÁS (-) 52 fő (+) 13 fő	13/52 (25,0%) 5/13 (38,5%)	OR = 1,88 (0,52-6,75) p = 0,336	OR = 1,79 (0,49-6,56) p = 0,379	75,0% 61,5% p = 0,480
TTV + ALKOHOL (-) 58 fő (+) 7 fő	15/58 (25,9%) 3/7 (42,9%)	OR = 2,15 (0,43-10,74) p = 0,351	OR = 2,06 (0,40-10,54) p = 0,386	74,1% 57,1% p = 0,220
HPV + TTV (-) 55 fő (+) 10 fő	13/55 (23,6%) 5/10 (50,0%)	OR = 3,23 (0,80-12,93) p = 0,097	OR = 3,32 (0,76- 14,46) p = 0,110	76,4% 50,0% p = 0,103
KOINFEKCIÓ + LOKALIZÁCIÓ (-) 60 fő (+) 5 fő	15/60 (25,0%) 3/5 (60,0%)	OR = 4,50 (0,69-29,56) p = 0,117	OR = 3,86 (0,57-25,96) p = 0,165	75,0% 40,0% p = 0,003
KOINFEKCIÓ + DOHÁNYZÁS (-) 56 fő (+) 9 fő	14/56 (25,0%) 4/9 (44,4%)	OR = 2,40 (0,57-10,20) p = 0,236	OR = 2,34 (0,52-10,46) p = 0,267	75,0% 55,6% p = 0,201
KOINFEKCIÓ + ALKOHOL (-) 58 fő (+) 7 fő	15/58 (25,9%) 3/7 (42,9%)	OR = 2,15 (0,43-10,74) p = 0,351	OR = 2,06 (0,40-10,54) p = 0,386	74,1% 57,1% p = 0,220
DOHÁNYZÁS + ALKOHOL (-) 38 fő (+) 27 fő	3/38 (7,9%) 15/27 (55,6%)	OR = 14,58 (3,59-59,28) p < 0,001	OR = 8,30 (2,29-30,13) p = 0,001	92,1% 44,4% p < 0,001
DOHÁNYZÁS + LOKALIZÁCIÓ (-) 29 fő (+) 36 fő	6/29 (20,7%) 12/36 (33,3%)	OR = 1,92 (0,62-5,96) p = 0,261	OR = 1,02 (0,35-3,02) p = 0,967	79,3% 66,7% p = 0,359
ALKOHOL + LOKALIZÁCIÓ (-) 42 fő (+) 23 fő	4/42 (9,5%) 14/23 (60,9%)	OR = 14,78 (3,92-55,75) p < 0,001	OR = 9,51 (2,56-35,29) p = 0,001	90,5% 39,1% p < 0,001
ALKOHOL + DOHÁNYZÁS + HPV (-) 50 fő (+) 15 fő	3/50 (6,0%) 15/15 (100,0%)	OR = 470,0 (22,26-9922,15) p < 0,001	OR = 77,24 (12,40-481,24) p < 0,001	94,0% 0,0% p < 0,001

ALKOHOL + DOHÁNYZÁS + TTV (-) 58 fő (+) 7 fő	15/58 (25,9%) 3/7 (42,9%)	OR = 2,15 (0,43-10,74) p = 0,351	OR = 2,06 (0,40-10,54) p = 0,386	74,1% 57,1% p = 0,220
ALKOHOL + DOHÁNYZÁS + KOINF. (-) 58 fő (+) 7 fő	15/58 (25,9%) 3/7 (42,9%)	OR = 2,15 (0,43-10,74) p = 0,351	OR = 2,06 (0,40-10,54) p = 0,386	74,1% 57,1% p = 0,220

Közlésre benyújtott kéziratok:

Szarka K, Fehér E, Gáll T, D. Tóth E, Márton I, Tar

Progressive increase of human papillomavirus carriage rate in oral pathologies with increasing malignant potential

Szarka K, Gáll T, D.Tóth E. Boda R, Márton I

Human papillomavirus enhances the capacity of chemical risk factors to worsen the prognosis of oral squamous cell cancer

Fehér E, Gáll T, Murvai M, Tar I, D.Tóth E, Major T, Sápó T, Szarka K

Significant association of genogroup 1 Torque-tenovirus with human papillomavirus associated malignancies and their precanceroses: potential prognostic utility

Közlésre előkészített kéziratok

Tar I, Szarka K, Márton IJ, Kiss C: General health and human papillomavirus infection in patients with oral leukoplakia and oral lichen planus.

R. Boda., E. D.Tóth., P. Redl., K. Szarka., B. Dezső., C. Kiss C., I. Márton

Szájüregi laphámrákos betegek korszerű kivizsgálása, kezelése és utánkövetése

Contemporary diagnosis, treatment and follow-up of oral squamous cell carcinoma patients

R. Boda, E. D. Tóth, P. Redl, K. Szarka, B. Dezső, C. Kiss, I. Márton

A szájüregi laphámrákok immunhisztokémiai vizsgálata- a markerek expressziója és a betegek klinikai állapota közti összefüggés vizsgálata

Immunohistochemical investigation of oral squamous cell carcinoma in connection with the clinical appearance