

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2021.01.011

· 综述 ·

人类乳头瘤病毒阳性口咽癌对放疗敏感的研究进展

陈永菊, 黄子贤, 陈睿, 陈伟良

中山大学孙逸仙纪念医院口腔颌面外科, 广东 广州(510120)

【摘要】 口咽癌(oropharyngeal carcinoma)是一种高度异质性疾病,其主要病因是烟草、酒精的滥用或高危人类乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染的结果。HPV阳性口咽癌与HPV阴性口咽癌存在明显的病因、流行病学、预后等方面的差异,因此治疗上应采取不同的方法。目前已知HPV阳性口咽癌对放射治疗敏感,认为其对放疗敏感可能通过多种机制共同完成。HPV阳性口咽癌存在低表达的野生肿瘤蛋白p53(tumor protein p53, TP53)基因,放射治疗可通过DNA双链断裂损伤方式激活p53并诱导细胞发生凋亡;细胞对DNA损伤存在常见的非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)修复路径,HPV癌蛋白抑制该路径可使肿瘤对放疗更为敏感;此外,免疫应答在放疗作用下进一步激活也参与对肿瘤的消除作用。本文就HPV阳性口咽癌对放疗敏感的研究进行综述,为未来临床上针对口咽癌不同致病因素及临床分期采取针对性的治疗手段提供科学依据。

【关键词】 口咽癌; 人类乳头瘤病毒; 放疗敏感; DNA损伤; 肿瘤蛋白p53; 非同源末端连接; 免疫应答; 细胞凋亡

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2021)01-0065-04

【引用著录格式】 陈永菊,黄子贤,陈睿,等.人类乳头瘤病毒阳性口咽癌对放疗敏感的研究进展[J].口腔疾病防治,2021,29(1):65-68. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2021.01.011.



开放科学(资源服务)标识码(OSID)

Research progress on HPV-positive oropharyngeal carcinoma sensitive to radiation therapy CHEN Yongju, HUANG Zixian, CHEN Rui, CHEN Weiliang. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China

Corresponding author: CHEN Weiliang, Email: drchen@vip.163.com, Tel: 86-20-81332429

【Abstract】 Oropharyngeal carcinoma is a highly heterogeneous disease that is mainly caused by tobacco and alcohol abuse or high-risk human papillomavirus (HPV) infection. HPV-positive oropharyngeal carcinoma and HPV-negative oropharyngeal carcinoma have obvious differences in etiology, epidemiology and prognosis; therefore, different methods should be adopted for treatment. It is known that the TP53 gene is not mutated in HPV-positive oropharyngeal carcinoma, and radiation therapy can activate it and induce cell apoptosis via DNA damage. There are common repair pathways to DNA damage, such as nonhomologous end joining, and this pathway is more sensitive to radiotherapy under the inhibition of HPV oncoprotein. In addition, the further activation of the immune response under the effect of radiation also participates in the elimination of tumors. In this paper, we reviewed the research on the sensitivity of HPV-positive oropharyngeal cancer to radiotherapy to provide a scientific basis for targeted treatment for various pathogenic factors and clinical stages of oropharyngeal cancer in the future.

【Key words】 oropharyngeal carcinoma; human papillomavirus; radiosensitization; DNA damage; tumor protein p53; non-homologous end joining; immune response; apoptosis

J Prev Treat Stomatol Dis, 2021, 29(1): 65-68.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from general program of National Natural Science Foundation of China (No. 81772888).

【收稿日期】 2020-03-07; **【修回日期】** 2020-08-25

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81772888)

【作者简介】 陈永菊, 医师, 博士研究生在读, Email: 282530449@qq.com

【通信作者】 陈伟良, 主任医师, 教授, Email: drchen@vip.163.com, Tel: 86-20-81332429

人类乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)持续感染是目前诱导口咽癌(oropharyngeal carcinoma)的常见病因,其作为口咽癌的独立风险因子引起越来越多的关注。HPV阳性口咽癌具有特异的发病机制及临床表现,且预后更为良好。多项研究指出HPV阳性口咽癌良好预后及无病生存率与放疗敏感有关,因此探讨HPV阳性口咽癌对放疗敏感的作用机制极为重要。本文将对HPV阳性口咽癌对放疗敏感的作用机制作一综述,以期为临床个性化治疗提供理论依据。

1 HPV生物学特性及致病机制

HPV为乳头多瘤空泡病毒科乳头瘤病毒属,闭合环状双链DNA病毒,大小8 kb,其病毒颗粒由核酸和衣壳蛋白组成,无外包膜包被。该病毒类型目前已超过200种,其中黏膜感染的12种HPV类型被世界卫生组织归类为致癌物质,最常见的为HPV-16型,HPV-18型^[1]。高危型HPV通常含三个功能基因分区,即非编码调控区域(long control region, LCR),早期编码区(E1、E2、E4-E7)和晚期编码区域(L1、L2);其中E1-E2、E4-E7负责基因复制、发病机制的发生和细胞恶性转化;L1、L2负责构造病毒衣壳的形成及装备。

HPV是常见的性传播病毒,常通过皮肤、黏膜组织等微小的损伤而进入基底层细胞,随着基底层细胞的分裂和向表层分化合成子代病毒,最后经细胞的退行性改变而释放到胞外。然而,持续性的高危HPV病毒感染将会使自身病毒基因组整合到细胞染色体上,并导致病毒致癌基因E6和E7的持续高表达。E6和E7蛋白是相对较小的蛋白,E6与人乳头瘤病毒E6相关蛋白(E6-associated protein, E6AP)结合,通过三聚体E6/E6AP/p53复合物的形成,导致p53蛋白降解,使细胞内部积累更多突变^[2-3]。E7结合到视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)并破坏其与E2F转录因子的结合,导致E2F激活细胞并进入细胞周期的合成阶段(S阶段)。以上过程导致受损的DNA无法进行正常的凋亡或老化,细胞基因组DNA突变累积,最终导致细胞发生恶性转化。

2 HPV阳性口咽癌病因学与流行病学

HPV能够导致多种常见癌症,包括宫颈癌、阴道癌、外阴癌、阴茎癌以及肛门癌和口咽癌^[4]。病理学数据提示口咽部肿瘤,尤其是舌根和扁桃体

部位,与HPV相关的频率更高^[5]。HPV阳性口咽癌的风险因素往往与有多位口交性伴侣有关,与吸烟、饮酒无明显相关性。

美国疾病控制与预防中心数据显示,每年近3.5万人被诊断HPV相关癌症,其中近14 100例为男性,且多为口咽癌。更有调查研究显示:每年60万例头颈癌病例中约85 000例HPV相关口咽肿瘤^[6]。

3 HPV阳性口咽癌对放疗敏感

HPV阳性口咽癌具有明显的预后良好性,无病生存率较高及较低的复发率。美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第八版将HPV阳性和阴性口咽癌患者单独分期,并将HPV阳性肿瘤分期进行降级^[7],并认为HPV阳性口咽癌存在的良好的预后与HPV阳性细胞对放射敏感有关,体外实验表明,放疗后HPV阳性细胞的平均存活率明显低于HPV阴性细胞^[8]。肿瘤的放射增敏有多种机制:①诱导肿瘤细胞凋亡;②抑制DNA损伤修复;③免疫微环境改善等。

3.1 放疗通过TP53激活诱导HPV阳性口咽癌细胞凋亡

肿瘤的放射增敏可通过诱导细胞凋亡的机制进行。有研究认为,HPV阳性肿瘤对放化疗敏感的原因,可能是保留完整的未发生突变的衰老和凋亡的分子介质。TP53是一种的重要的抑癌基因,大小为53 kD,定位于染色体17p13上,编码p53蛋白在细胞周期调控及诱导细胞凋亡方面发挥重要的作用。而TP53突变预示着较差的预后^[9]。目前超过50%的肿瘤患者中发现TP53基因存在缺失或突变,且在HPV阴性头颈癌中,TP53突变达到80%,并导致其编码p53蛋白功能受损,且使肿瘤表现更强的侵袭性及放疗抵抗性^[10]。

研究认为,放疗可导致DNA的双链断裂,并进一步诱导共济失调毛细血管扩张突变基因(ataxia telangiectasia mutated, ATM)及共济失调性毛细血管扩张和Rad3-相关性(ATM-Rad3-Related, ATR)的过表达,然后直接或间接的诱导p53磷酸化及稳定,并导致细胞的凋亡程序的进行^[11]。而多项研究已证明,HPV阳性口咽癌存在未发生突变的TP53,其良好的预后及生存率可能归因于低表达的野生型p53。研究者对HPV阳性细胞和HPV阴性细胞放射后进行全基因组微阵列分析,与HPV阴性细胞比较,HPV阳性细胞表现出4.6倍的TP53

基因表达,且 HPV 阳性细胞接受放疗后显示延长的 G₂/M 细胞周期停滞及激活的 p53 信号介导的细胞凋亡。此外,研究发现,HPV 阳性口咽癌细胞接受放疗后,损伤严重的 DNA 将通过激活 TP53 的表达,诱发进一步的细胞凋亡程序,p53 凋亡路径主要包括:p53-caspase 通路,p53-Bax-caspase 通路和 p53-Fas-caspase 级联反应路径^[12]。但也有研究表明,放疗诱导的 HPV 阳性细胞死亡与诱导的 p53 通路活化并无相关^[13]。因此,尚不能认为 p53 是主要 HPV 阳性口咽癌放射敏感性的因素,但可认为 HPV 阳性肿瘤中存在的野生 TP53 基因在放疗后诱导的细胞凋亡及肿瘤消除发挥重要作用。

3.2 放疗通过 DNA 损伤修复抑制诱导 HPV 阳性口咽癌细胞凋亡

放疗主要通过诱导 DNA 损伤进一步消除癌细胞,DNA 修复系统对于放疗的敏感性至关重要。因此,肿瘤细胞的放疗敏感不仅依赖于 DNA 损伤,更需要结合 DNA 修复缺陷共同进行。放疗造成的 DNA 损伤主要是双链断裂(double-strand break, DSB),即 DNA 两条链的骨架—磷酸二酯键发生了断裂,为最严重的 DNA 损伤类型^[4]。一般情况下,DNA 损伤常伴随着修复,DSB 的最常见的 DNA 损伤修复(DNA damage repair,DDR)途径主要包括同源重组(homologous recombination,HR)修复及非同源末端连接(non-homologous end joining,NHEJ)修复^[15]。HR 修复是一种较精确的修复方式,只能修复发生在细胞周期的合成期(S期)和第二间期(G₂期)。NHEJ 修复是一种常发生于哺乳动物中的修复方式,广泛的修复细胞各周期,最常见于 G₁期^[16]。而 DNA 依赖性蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase,DNA-PK)属于 PI3K-mTOR 蛋白激酶家族的成员,是 NHEJ 修复途径的关键酶^[17]。

研究发现,HPV 阳性口咽癌细胞存在 DNA 双链断裂修复缺陷,尤其是 NHEJ 修复缺陷,并认为 HPV 相关癌蛋白表达可抑制 NHEJ 的修复。更有研究证明 HPV 阳性口咽癌细胞系在 DDR 抑制状态下具有显著的放疗敏感性。因此,结合 DDR 抑制与放疗应用已成为较大的临床课题并应用于临床肿瘤治疗。此外,在 HPV 阳性肿瘤中,DDR 被抑制后可使持续激活的 p53 发挥促进细胞凋亡和细胞周期停滞的作用^[18]。在 HeLa 细胞的研究显示,DNA-PK 的抑制或沉默使其对放疗更加敏感。因此可认为,HPV 阳性肿瘤放疗更为敏感可能与 HPV E6 和 E7 癌蛋白对 DNA 修复的损害有关,E7

可直接对抗并抑制 HR 修复,E6 则通过依赖或非依赖 p53 的方式使 NHEJ 调节紊乱。

3.3 放疗通过免疫激活诱导 HPV 阳性口咽癌细胞凋亡

放疗通过树突状细胞产生免疫原性,并将细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes,CTL)募集入肿瘤微环境,共同促进抗肿瘤作用^[19]。HPV 阳性肿瘤对放疗或放化疗产生积极的影响与 HPV 的感染诱导的免疫增强有关^[20]。研究显示,HPV 阳性口咽癌对放疗敏感可能原因是存在的更为明显的肿瘤浸润淋巴细胞(tumour infiltrating lymphocytes,TIL),主要是 CD8 阳性 TIL,使肿瘤表现出更为有效的辐射后免疫反应和放疗敏感性。然而,为了逃避宿主的免疫反应,TIL 可以通过分泌 γ -干扰素(interferon- γ ,IFN- γ)促进程序性死亡配体 1(programmed death ligand-1,PD-L1)的表达,因此,HPV 阳性口咽癌中 PD-L1 表达更为显著^[21]。程序性死亡受体 1(programmed death-1,PD-1)与 PD-L1 均为重要的免疫逃逸检查点分子,可通过启动 T 细胞的程序性死亡,使肿瘤细胞获得免疫逃逸。

免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors,ICIs)的开发成为近期研究热点,免疫检查点的抑制是一类用于阻断或下调免疫反应蛋白的药物。且多项临床试验已证明抗 PD-1/PD-L1 治疗在头颈部肿瘤患者中具有明显的作用和可接受的安全性。此外,结合 ICIs 与放射治疗被证明可以诱导“免疫原性”形式的肿瘤细胞死亡。研究显示,在 HPV 阳性口咽癌中,抗 PD-1/PD-L1 抗体(pembrolizumab)的应用效果更好,尤其是与放疗结合应用^[22]。一项临床研究结果显示,HPV 阳性肿瘤且 PD-1/TILs 表达高的患者表现出更好的预后,在结合放疗与 ICIs(pembrolizumab)的应用后,因此,可认为 HPV 阳性口咽癌中,高表达的 PD-1/PD-L1 预示着更好的治疗效果^[21],但具体机制还有待进一步研究。

4 小结

在 HPV 阳性口咽癌中放疗中 HPV 相关癌蛋白的表达可抑制 DNA 损伤修复,使其修复受损,而发生断裂的 DNA 双链在修复缺损状态下诱导并促进 p53 的持续表达,并发挥诱导癌细胞凋亡的作用。此外,免疫反应的特异性诱导及激活增强了 HPV 阳性口咽癌的放疗效果。这些机制的结合作用分别或共同参与促进 HPV 阳性口咽癌对放疗敏感及预后良好作用,可为临床个性化及降级治疗提供

依据。

【Author contributions】 Chen YJ wrote the article. Huang ZX and Chen R revised the article. Chen WL guided the writing of the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Mirabello L, Clarke MA, Nelson CW, et al. The intersection of HPV epidemiology, genomics and mechanistic studies of HPV-mediated carcinogenesis[J]. *Viruses*, 2018, 10(2): 80. doi: 10.3390/v10020080.
- [2] Hoppe-Seyler K, Bossler F, Braun JA, et al. The HPV E6/E7 Oncogenes: key factors for viral carcinogenesis and therapeutic targets[J]. *Trends Microbiol*, 2018, 26(2): 158-168. doi: 10.1016/j.tim.2017.07.007.
- [3] Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM et al. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53[J]. *Cell*, 1990, 63(6): 1129-1136. doi: 10.1016/0092-8674(90)90409-8.
- [4] Taberna M, Mena M, Pavón MA, et al. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(10): 2386-2398. doi: 10.1093/annonc/mdx304.
- [5] Götz C, Bischof C, Wolff KD, et al. Detection of HPV infection in head and neck cancers: promise and pitfalls in the last ten years: a meta-analysis[J]. *Mol Clin Oncol*, 2019, 10(1): 17-28. doi: 10.3892/mco.2018.1749.
- [6] Senkomago V, Henley SJ, Thomas CC, et al. Human papillomavirus-attributable cancers - united states, 2012 - 2016[J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2019, 68(33): 724-728. doi: 10.15585/mmwr.mm6833a3.
- [7] Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(2): 93-99. doi: 10.3322/caac.21388.
- [8] Prevc A, Kranjc S, Cemazar M, et al. Dose-modifying factor of radiation therapy with concurrent cisplatin treatment in HPV-positive squamous cell carcinoma: a preclinical study[J]. *Radiat Res*, 2018, 189(6): 644-651. doi: 10.1667/RR14984.1.
- [9] Singh RD, Patel KR, Patel PS. "p53 mutation spectrum and its role in prognosis of oral cancer patients: a study from Gujarat, West India"[J]. *Mut Res*, 2016, 783: 15-26. doi: 10.1016/j.mrfmm.2015.12.001.
- [10] Zhou G, Liu Z, Myers JN. TP53 mutations in head and neck squamous cell carcinoma and their impact on disease progression and treatment response[J]. *J Cell Biochem*, 2016, 117(12): 2682-2692. doi: 10.1002/jcb.25592.
- [11] Liu C, Mann D, Sinha UK, et al. The molecular mechanisms of increased radiosensitivity of HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC): an extensive review[J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2018, 47(1): 59. doi: 10.1186/s40463-018-0302-y.
- [12] Wang H, Wang B, Wei J, et al. Molecular mechanisms underlying increased radiosensitivity in human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(6): 1035-1043. doi: 10.7150/ijbs.40880.
- [13] Steve, Seltzsa, Frank, et al. In HPV-positive HNSCC cells, functional restoration of the p53/p21 pathway by proteasome inhibitor bortezomib does not affect radio- or chemosensitivity[J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(3): 417-25. doi: 10.1016/j.tranon.2018.11.013.
- [14] Barnes RP, Fouquerel E, Opreko PL. The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis[J]. *Mech Ageing Dev*, 2018, 177: 37-45. doi: 10.1016/j.mad.2018.03.013.
- [15] Vitti ET, Parsons JL. The radiobiological effects of proton beam therapy: impact on DNA damage and repair[J]. *Cancers(Basel)*, 2019, 11(7): 946. doi: 10.3390/cancers11070946.
- [16] Piazza A, Heyer WD. Homologous recombination and the formation of complex genomic rearrangements[J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(2): 135-149. doi: 10.1016/j.tcb.2018.10.006.
- [17] Chang HHY, Pannunzio NR, Adachi N, et al. Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(8): 495-506. doi: 10.1038/nrm.2017.48.
- [18] Wieringa HW, van der Zee AG, de Vries EG, et al. Breaking the DNA damage response to improve cervical cancer treatment[J]. *Cancer Treat Rev*, 2016, 42: 30-40. doi: 10.1016/j.ctrv.2015.11.008.
- [19] Lyu X, Zhang M, Li G, et al. PD-1 and PD-L1 expression predicts radiosensitivity and clinical outcomes in head and neck cancer and is associated with HPV infection[J]. *J Cancer*, 2019, 10(4): 937-948. doi: 10.7150/jca.27199.
- [20] Rödel F, Martin D, Balermipas P, et al. Modulation of radiation sensitivity and antitumor immunity by viral pathogenic factors: implications for radio-immunotherapy[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871(1): 126-137. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.12.006.
- [21] Kim HS, Lee JY, Lim SH, et al. Association between PD-L1 and HPV status and the prognostic value of PD-L1 in oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res Treat*, 2016; 48(2): 527-536. doi: 10.4143/crt.2015.249.
- [22] Seiwert TY, Burtneß B, Mehra R, et al. Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(7): 956-965. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30066-3.

(编辑 周春华)



官网



公众号