



Nota clínica

## Virus del papiloma humano en cáncer de pulmón no microcítico. Impacto de mutaciones del EGFR o respuesta a erlotinib

Diego Márquez-Medina<sup>a,\*</sup>, Ariadna Gasol-Cudós<sup>a</sup>, M. Teresa Taberner-Bonastre<sup>a</sup>, Juan Carlos Samamé Pérez-Vargas<sup>a</sup>, Antonieta Salud-Salvia<sup>a</sup> y Antonio Llombart-Cussac<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Oncología Médica, Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida, España

<sup>b</sup> Servicio de Oncología Médica, Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Valencia, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 1 de enero de 2012

Aceptado el 2 de abril de 2012

On-line el 22 de mayo de 2012

#### Palabras clave:

Epidemiología

Erlotinib

Virus del papiloma humano

Cáncer de pulmón no microcítico

Mutaciones del receptor del factor de crecimiento epidérmico

### R E S U M E N

Se ha sugerido que el virus del papiloma humano (HPV) puede originar cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC). La tasa de infección HPV es mayor en NSCLC de asiáticos, no fumadores, con adenocarcinoma o respuesta a inhibidores tirosín-cinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR-TKI). Hemos explorado retrospectivamente la relación entre mutaciones EGFR o respuesta a EGFR-TKI e infección HPV en 40 pacientes con NSCLC, considerando el impacto del sexo, de la edad, del subtipo histológico, del tabaquismo y del tipo de muestra. La tasa de infección HPV fue del 2,5%, y no influía ninguna variable analizada, aunque el escaso tamaño muestral no permite conclusiones definitivas. La tasa de infección HPV en NSCLC debería revisarse en pacientes con mutaciones EGFR o tendencia a presentarlas.

© 2012 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Human Papillomavirus in Non-Small-Cell Lung Cancer: The Impact of EGFR Mutations and the Response to Erlotinib

#### A B S T R A C T

It has been suggested that human papillomavirus (HPV) could participate in the development of non-small-cell lung cancer (NSCLC). A higher HPV infection rate has been reported in the NSCLC samples from Asian non-smoker patients, with adenocarcinomas or responders to EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKI). We explored a potential relationship between EGFR mutation, response to EGFR-TKI and HPV infection in Western NSCLC patients. We retrospectively analyzed 40 NSCLC samples and the impact of age, gender, histology, tobacco habit and sample type. HPV infection rate was 2.5% and it was not statistically modified by any analyzed variable, although the limited sample size did not provide definitive conclusions. The rate of HPV infection in NSCLC should be studied in patients with EGFR mutations or a tendency towards presenting them.

© 2012 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

### Introducción

El cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) es el tumor más frecuente y letal de nuestro entorno. El tabaco origina más del 90% de los casos, pero también aparece en pacientes no expuestos. Esto implica la existencia de otros factores etiológicos. En 1979, Syrjänen<sup>1</sup> sugirió que el DNAvirus del papiloma humano (HPV),

asociado al desarrollo de otros cánceres, podía participar en el del NSCLC.

La tasa de infección HPV en NSCLC depende de múltiples variables y puede aumentar con la respuesta a gefitinib, un inhibidor tirosín-cinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR-TKI) principalmente activo en EGFR mutado. Nunca se ha investigado la relación entre infección HPV y la presencia de mutaciones EGFR en NSCLC, aunque ambos fenómenos coinciden en pacientes similares: asiáticos, mujeres, no fumadores, adenocarcinomas (ADC) y respondedores a gefitinib. A fin de explorar esta posibilidad, comprobar la viabilidad del proyecto y el ajuste de los

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: dmarmed@hotmail.com (D. Márquez-Medina).

**Tabla 1**  
Porcentaje de infección HPV en muestras de NSCLC según las variables de nuestra muestra

Sexo (p=0,311)	Hombre: 20 (0%)	Mujer: 20 (5%)	No fumador: 20 (5%)
Edad media (rango) (p=0,263)	62 años (39-80)	62 años (38-80)	
Tabaquismo (p=0,599)	Fumador activo: 11 (0%)	Fumador leve: 2 (0%)	Exfumador: 7 (0%)
Tipo de muestra (p=0,366)	Biopsia en parafina: 12 (8,33%)	Botón celular en parafina: 14 (0%)	Citología: 14 (0%)
Histología (p=0,1)	Escamosa: 5 (0%)	Adenocarcinoma: 23 (0%)	BAC: 4 (25%)
Mutación EGFR (p=0,685)	Positiva: 11 (0%)	Negativa: 23 (4,34%)	Desconocida: 6 (0%)
Supervivencia libre de progresión a erlotinib (p=0,929)	> 120 días: 17 (5,88%)	< 120 días: 11 (0%)	Progresión: 12 (0%)
Respuesta a erlotinib (p=0,659)	Parcial: 11 (9,1%)	Estabilización: 5 (0%)	

BAC: adenocarcinoma con áreas de carcinoma bronquioloalveolar; EGFR: receptor del factor del crecimiento epidérmico.

resultados iniciales a la literatura, analizamos retrospectivamente 40 muestras de NSCLC tratados en nuestro centro entre abril de 2004 y septiembre de 2010.

### Observación clínica

Nuestra serie (tabla 1) se compone de 20 varones y 20 mujeres caucásicos de 38-80 años. Trece eran fumadores, 2 fumaban menos de 5 cigarrillos/día, 7 eran exfumadores y 20 nunca habían fumado. Las muestras eran 12 biopsias en parafina, 14 botones celulares obtenidos por punción-aspiración con aguja fina (PAAF) y conservados en parafina y 14 citologías obtenidas por PAAF. Poseíamos 5 carcinomas escamosos, 23 ADC, 4 ADC con carcinoma bronquioloalveolar (BAC) y 8 NSCLC sin especificar. Se desconocía el estatus EGFR de 6 muestras, 23 poseían EGFR nativo y 11 mutaciones sensibilizadoras: 9 e19(p.746-750del), 1 e19(L747-A750del Plns), 1 e19(L746-A752del VIns), 1 e19(c.2240-2257del), 1 e18 (p.G719R), 1 e18(E709A; G719R), 1 e18(E709G) y e21(L858R) y 1 e21(L858R). No se detectaron mutaciones de resistencia<sup>2</sup>. Recibieron erlotinib, otro EGFR-TKI más efectivo sobre EGFR mutado, 28 casos.

El ADN de las muestras se extrajo mediante DNeasy tissue kit (Qiagen GMBH, Hilden, Alemania) y se amplificaron 37 genotipos de HPV (incluyendo 13 variedades de alta oncogenicidad) con el Linear Array HPV genotyping test (Roche, Suiza). Valoramos el impacto de diversas variables en la tasa de infección HPV mediante test de Fisher o chi cuadrado.

La incidencia de infección HPV en la serie fue escasa. Se detectó en una de 40 muestras (mujer de 62 años, no fumadora, con ADC de pulmón y áreas de BAC, EGFR nativa, respondedora durante 7 meses a erlotinib). Ninguna variable influyó en el porcentaje de infección, aunque esto está condicionado por el tamaño de la serie (tabla 1). No influyó el sexo (0% varón frente a 5% mujer, p=0,31) o la edad (menor o mayor de 65 años, p=0,26). No hubo diferencias entre fumadores, fumadores leves, exfumadores y no fumadores (p=0,56), entre biopsia, botón celular o citología (p=0,36) o entre carcinomas escamosos, ADC con o sin BAC o NSCLC sin histología definida (p=0,1). No hubo diferencias entre muestras con mutación EGFR, EGFR nativo o no estudiado (p=0,68), o en relación a la respuesta (p=0,66) o supervivencia libre de progresión con erlotinib (p=0,93). La escasa muestra impidió también confirmar diferencias entre respuesta a erlotinib de NSCLC con mutación o sin ella.

### Discusión

La principal debilidad de nuestro estudio es el escaso tamaño de la muestra (n=40), que no permite sacar conclusiones sobre la incidencia y las asociaciones de la infección HPV en NSCLC de población mediterránea. Pero nuestro objetivo era solo explorar la asociación entre infección HPV y presencia de mutaciones EGFR, validar la técnica y comprobar que los datos preliminares se ajustaban a la literatura de cara a refrendarlos y ampliar la serie en una futura investigación. Mientras, como otros manuscritos de similar o menor número de casos<sup>3-5</sup>, dan pie a discusión y son los primeros en analizar directamente la relación entre sensibilidad a erlotinib, presencia de mutaciones EGFR e infección HPV en NSCLC.

La infección HPV en NSCLC depende del área geográfica. Un metaanálisis con 37 trabajos<sup>6</sup> (n=2.435) la sitúa entre el 1 y el 78,3%, con una media del 7,1% en Occidente y del 20,4% en Asia. Otro metaanálisis<sup>7</sup> (n=4.508) reduce la tasa global de infección del 24,5% al 16% en Europa y Norteamérica, y la aumenta al 35,7% en Asia. La baja tasa de infección HPV (0,5%) descrita en 399 NSCLC italianos<sup>8</sup> coincide con la nuestra (2,5%), aunque precisaría confirmarse en más pacientes. La infección HPV también depende de la muestra analizada. Ni un estudio canadiense<sup>9</sup> (n=1.241) ni otro croata<sup>10</sup> (n=84) hallan diferencias entre NSCLC y controles

sanos al comparar muestras de suero o aspirado bronquial. Pero sí se evidencian en biopsias. Dos estudios italianos<sup>4,11</sup> comunican tasas de infección del 21 y del 14%, respectivamente, al analizar 21 bloques de parafina y 95 muestras frescas de NSCLC. Y el Instituto de la Salud de Roma<sup>12</sup> reportó un 21,7% de infección HPV en 2.468 biopsias de NSCLC. El HPV se localiza en células tumorales y no en las sanas vecinas<sup>13</sup>, y por ello es más difícil evidenciar su ADN en aspirados o muestras de suero de menor celularidad tumoral. Aunque todas nuestras muestras presentaban tumor, no hubo diferencias entre biopsias, botones celulares y citologías.

Se han descrito diferencias en infección HPV según la histología del NSCLC. Un trabajo polaco<sup>14</sup> no encuentra diferencias entre 22 carcinomas escamosos, 13 ADC y 5 carcinomas de célula grande, mientras que un trabajo francés<sup>15</sup> reporta más incidencia en los ADC de 31 muestras congeladas (11% frente al 25%). En Oriente, un estudio japonés<sup>5</sup> con 36 NSCLC no observa diferencias entre carcinomas escamosos y ADC (10% frente al 9%); un estudio chino<sup>16</sup> con 72 carcinomas escamosos, 37 ADC y 71 controles sanos encuentra más HPV en carcinomas escamosos (51, 16 y 22%, respectivamente); otro trabajo japonés<sup>3</sup> encuentra más HPV en ADC que en carcinomas escamosos (30% frente al 7%;  $p=0,044$ ); y en otros trabajos<sup>17,18</sup> resulta 2,3 veces superior en mujeres, no fumadores y ADC. En trabajos asiáticos<sup>13,19</sup>, la infección HPV en NSCLC es mayor en mujeres (57,6% frente al 41,1%,  $p=0,048$ ) y no fumadores (10,12 veces superior).

Nuestro estudio sondea por primera vez la posibilidad de que la infección HPV sea más frecuente en pacientes con mutación EGFR o sensibles a erlotinib. Se ha publicado que la infección HPV aumenta en NSCLC respondedores a gefitinib<sup>3</sup> (75% frente al 0%) y este actúa principalmente sobre EGFR mutado. De hecho, se describe una mayor incidencia de mutaciones del EGFR e infección por HPV en poblaciones similares: mujeres, asiáticas, no fumadoras y con ADC.

## Conclusión

Nuestros datos no confirman la relación entre infección HPV de NSCLC y presencia de mutaciones EGFR o respuesta al erlotinib. Sin embargo, la técnica de determinación es viable y esta hipótesis merece ser explorada en una serie más amplia.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Giuliani L, Favalli C, Syrjanen K, Ciotti M. Human papillomavirus infections in lung cancer. Detection of E6 and E7 transcripts and review of the literature. *Anticancer Res.* 2007;27(4C):2697-704.
- Taus A, Vollmer I, Arriola E. Activating and resistance mutations of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene and non-small cell lung cancer: a clinical reality. *Arch Bronconeumol.* 2011;47:103-5.
- Baba M, Castillo A, Koriyama C, Yanagi M, Matsumoto H, Natsugoe S, et al. Human papillomavirus is frequently detected in gefitinib-responsive lung adenocarcinomas. *Oncol Rep.* 2010;23:1085-92.
- Ciotti M, Giuliani L, Ambrogi V, Ronci C, Benedetto A, Mineo TC, et al. Detection and expression of human papillomavirus oncogenes in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep.* 2006;16:183-9.
- Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Shindoh M, Fujino M, Akie K, Kato M, et al. Human papillomavirus type 18 DNA and E6-E7 mRNA are detected in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung. *Br J Cancer.* 1995;71:344-9.
- Srinivasan M, Taioli E, Ragin CC. Human papillomavirus type 16 and 18 in primary lung cancers—a meta-analysis. *Carcinogenesis.* 2009;30:1722-8.
- Klein F, Amin Kotb WF, Petersen I. Incidence of human papilloma virus in lung cancer. *Lung Cancer.* 2009;65:13-8.
- Koshiol J, Rotunno M, Gillison ML, Van Doorn LJ, Chaturvedi AK, Tarantini L, et al. Assessment of human papillomavirus in lung tumor tissue. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103:501-7.
- Simen-Kapeu A, Surcel HM, Koskela P, Pukkala E, Lehtinen M. Lack of association between human papillomavirus type 16 and 18 infections and female lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19:1879-81.
- Branica BV, Smojver-Jezek S, Juros Z, Grgić S, Srpać N, Mitrečić D, et al. Detection of human papillomaviruses type 16, 18 and 33 in bronchial aspirates of lung carcinoma patients by polymerase chain reaction: a study of 84 cases in Croatia. *Coll Antropol.* 2010;34:159-62.
- Giuliani L, Jaxmar T, Casadio C, Gariglio M, Manna A, D'Antonio D, et al. Detection of oncogenic viruses SV40, BKV, JCV, HCMV, HPV and p53 codon 72 polymorphism in lung carcinoma. *Lung Cancer.* 2007;57:273-81.
- Syrjänen KJ. HPV infections and lung cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:885-91.
- Cheng YW, Chiou HL, Chen JT, Chou MC, Lin TS, Lai WW, et al. Gender difference in human papillomavirus infection for non-small cell lung cancer in Taiwan. *Lung Cancer.* 2004;46:165-70.
- Miasko A, Niklińska W, Nikliński J, Chyczewska E, Naumnik W, Chyczewski L. Detection of human papillomavirus in non-small cell lung carcinoma by polymerase chain reaction. *Folia Histochem Cytobiol.* 2001;39:127-8.
- Thomas P, De Lamballerie X, Garbe L, Castelnau O, Kleisbauer JP. Detection of human papillomavirus by polymerase chain reaction in primary lung carcinoma. *Bull Cancer.* 1996;83:842-6.
- Yu Y, Yang A, Hu S, Yan H. Correlation of HPV-16/18 infection of human papillomavirus with lung squamous cell carcinomas in Western China. *Oncol Rep.* 2009;21:1627-32.
- Iwamasa T, Miyagi J, Tsuchiko K, Kinjo T, Kamada Y, Hirayasu T, et al. Prognostic implication of human papillomavirus infection in squamous cell carcinoma of the lung. *Pathol Res Pract.* 2000;196:209-18.
- Hsu NY, Cheng YW, Chan IP, Ho HC, Chen CY, Hsu CP, et al. Association between expression of human papillomavirus 16/18 E6 oncoprotein and survival in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Oncol Rep.* 2009;21:81-7.
- Cheng YW, Chiou HL, Sheu GT, Hsieh LL, Chen JT, Chen CY, et al. The association of human papillomavirus 16/18 infection with lung cancer among nonsmoking Taiwanese women. *Cancer Res.* 2001;61:2799-803.