

Hoewel de incidentie van tabak gerelateerde kanker de afgelopen twee decennia is afgenomen, vanwege een afname van de prevalentie van roken in de meeste welvarende landen, is er een toename van HPV-geassocieerde orofaryngeale plaveiselcelcarcinoom (OPSCC). Meer specifiek is de prevalentie van HPV in OPSCC gestegen van 21.4% in 2004 naar 50% in 2011 in het Maastricht Universitair Medisch Centrum. Er is al enige tijd een HPV vaccin beschikbaar, dat niet alleen de incidentie van baarmoederhalskanker kan verminderen, maar ook van HPV-geassocieerd hoofd-hals plaveiselcelcarcinoom (HNSCC). In Nederland is het HPV vaccin sinds 2010 beschikbaar voor meisjes en sinds 2022 voor jongens, voor beiden vanaf tien jaar. Om de potentiële voordelen van HPV-vaccinatie te maximaliseren, is het noodzakelijk om de vaccinatiegraad zo hoog mogelijk te krijgen. Daarom is het belangrijk dat patiënten en zorgverleners op de hoogte zijn van het humaan papillomavirus, de associatie van het virus met kanker en de beschikbaarheid van een HPV-vaccinatie. Tot nu toe was het onduidelijk wat de kennis is over de rol van HPV bij OPSCC onder de algemene bevolking en huisartsen in Nederland.

**Hoofdstuk 2** toont de resultaten van het onderzoek naar de bekendheid van HPV-geassocieerde OPSCC onder een representatieve steekproef van de Nederlandse bevolking. 30.6% van de deelnemers had gehoord van HPV en slechts 29.9% van deze deelnemers wist van het verband tussen HPV en OPSCC. 49.7% van de deelnemers wist dat er een HPV vaccin beschikbaar is. De resultaten van dit onderzoek geven aan dat het publieke bewustzijn van HPV en de associatie met OPSCC ontbreekt. Het bewustzijn over HPV, het HPV vaccin en de link van HPV met OPSCC was groter bij vrouwen en suggereert dat deze kennis voornamelijk te danken is aan de kennis over de rol van HPV bij de ontwikkeling van baarmoederhalskanker. Een groter bewustzijn van de rol van HPV-infectie bij OPSCC is nodig om de vaccinatiegraad te verhogen, bij vrouwen maar vooral ook bij mannen.

Het besef van het verband tussen HPV en OPSCC is veel hoger onder de huisartsen in Nederland (72%), maar meer dan een kwart van hen is niet op de hoogte van HPV als oorzakelijke factor voor OPSCC. De resultaten in **hoofdstuk 3** laten zien dat huisartsen zich maar beperkt bewust waren van geslacht, leeftijd en prognose van patiënten met HPV geassocieerde OPSCC. Slechts 35.5% van de deelnemende huisartsen wist dat HPV geassocieerde OPSCC patiënten vaker mannelijk zijn en iets meer dan de helft van de deelnemers wist dat deze patiënten over het algemeen jonger zijn. Interventies om het bewustzijn van HPV en de associatie ervan met niet-baarmoederhalskanker te vergroten, moeten worden overwogen, wat zou kunnen helpen om de vaccinatiegraad van HPV en een eerdere diagnose van deze ziekte te vergroten, wat kan leiden tot een betere overleving.

HPV vaccinatie en een groter bewustzijn van HPV gerelateerde OPSCC zijn mogelijkheden om de prognose van deze kanker te verbeteren. De meeste HPV positieve tumoren hebben een gunstigere prognose in vergelijking met HPV negatieve tumoren, maar een subgroep van HPV positieve tumoren heeft een minder gunstige prognose met een groter risico op recidief van de ziekte of het ontwikkelen van een tweede primaire tumor. Om de prognose van HNSCC patiënten te verbeteren, zijn nieuwe therapeutische strategieën nodig. Er zijn verschillende cellulaire signaalroutes (pathways) waarbij de deregulatie een rol speelt bij de ontwikkeling van HPV positieve en -negatieve HNSCC en dus mogelijke doelwitten kunnen zijn bij de behandeling van HNSCC. Daarom hebben we onderzocht of medicatie gericht op enkele van de belangrijkste signaalroutes (pathways) de behandeling kan verbeteren.

Omdat HNSCC geassocieerd is met activering van de PI3K/Akt/mTOR signaalroute (pathway) en ook met deregulering van de cel cyclus, hebben we de in vitro antiproliferatieve effecten van verschillende PI3K/Akt/mTOR remmers (alpelisib, buparlisib en gedatolisib) en CDK4/6 remmers (palbociclib en ribociclib) onderzocht in HPV positieve en -negatieve HNSCC cellijnen (**hoofdstuk 4**). Daarnaast hebben we de remmers vergeleken met het groei remmende effect van cisplatine, de

huidige, meest gebruikte chemotherapeutische behandelingsoptie bij HNSCC. PI3K remmers en CDK4/6 remmers bleken hun respectieve signaalroutes en HNSCC celgroei in vitro efficiënt te remmen, de laatste alleen in HPV negatieve cellijnen. Terwijl PI3K remming vooral apoptose induceert en het cellulaire metabolisme remt, leidt CDK4/6 remming vooral tot het stoppen van de celcyclus. Verder onderzoek moet uitwijzen of (een combinatie van) deze remmers effectieve therapeutische middelen kunnen zijn voor HNSCC patiënten.

Een andere mogelijke therapeutische optie voor HNSCC is het antivirale middel Cidofovir (CDV), een middel dat zich richt op DNA virussen die coderen voor hun eigen DNA polymerase. Naast directe antivirale effecten in DNA virussen heeft CDV ook antiproliferatieve eigenschappen aangetoond tegen HPV positieve en HPV negatieve maligniteiten in vitro en in vivo. Het moleculaire mechanisme dat ten grondslag ligt aan de werkzaamheid van CDV wordt niet volledig begrepen, aangezien HPV de DNA polymerase van de gastheer gebruikt voor replicatie. Daarom werden in **hoofdstuk 5** de antiproliferatieve effecten van CDV onderzocht in HPV positieve en HPV negatieve HNSCC cellijnen en de normale orale keratinocyten cel (NOK) cellijn. We onderzochten of het antiproliferatieve effect werd veroorzaakt door een verschil in reactie op DNA schade. CDV remde de celgroei van alle HPV positieve en -negatieve HNSCC cellijnen. Behandeling met CDV veroorzaakte DNA schade door middel van DNA-dubbelstrengsbreuken (DSB's) en als gevolg daarvan werd de signaalroute voor DNA schade geactiveerd. Er was meer DNA schade zichtbaar in de HPV positieve cellijnen die de sterkste remming vertoonden in vergelijking met de HPV negatieve cellijnen die significant minder remming door CDV vertoonden. CDV behandeling resulteerde in ophoping van cellen in de G2/M-fase, maar apoptose leek niet op te treden. Onze resultaten wijzen eerder op het optreden van een mitotische catastrofe.

Na een HPV infectie kan het virus in zijn episomale vorm blijven, of het HPV genoom wordt uiteindelijk geïntegreerd in het genoom van de gastheer cel. Tot nu toe is er weinig bewijs dat virale integratie invloed kan hebben op de prognose en het is onduidelijk of er een biologisch gevolg is van virale integratie. Daarom identificeerden we in **hoofdstuk 6**, door het vergelijken van HPV16 positieve OPSCC met episomaal of geïntegreerd virus met behulp van mRNA microarray-expressieprofiel, een unieke signatuur van differentieel tot expressie gebrachte menselijke mRNA's in relatie tot de virale fysieke toestand. De tumoren met virale integratie vertoonden gedereguleerde expressie van genen die betrokken zijn bij metabole routes, waaronder vaak opgereguleerde expressie van Aldo-keto-reductase 1C1 en/of 1C3 (AKR1C1 en AKR1C3). Overlevingsanalyse van 141 extra immuungekleurde OPSCC (HPV positief en HPV negatief) toonde ongunstige overlevingspercentages voor tumoren met opgereguleerde AKR1C1 of AKR1C3.

Als deze resultaten in grotere onderzoeken zouden kunnen worden bevestigd, dan zouden AKR1C1 en AKR1C3 kunnen worden opgenomen in OPSCC voorspellingsmodellen, onafhankelijk van de HPV status. Groepen met een laag risico (bijvoorbeeld HPV positieve OPSCC tumoren zonder AKR1C upregulatie) zouden dan potentieel kunnen profiteren van de-intensivering van behandelprotocollen, terwijl groepen met een gemiddeld en hoog risico zouden kunnen worden geselecteerd voor andere therapeutische opties, zoals remmers van de PI3K- en NRF2-signalroutes, waaronder AKR1C.