



# Prognostic Impact of AJCC/UICC 8th Edition New Staging Rules in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma

Nora Würdemann<sup>1</sup>, Steffen Wagner<sup>1</sup>, Shachi Jenny Sharma<sup>1</sup>, Elena-Sophie Prigge<sup>2</sup>, Miriam Reuschenbach<sup>2</sup>, Stefan Gattenlöhner<sup>3</sup>, Jens Peter Klusmann<sup>1</sup> and Claus Wittekindt<sup>1\*</sup>

## ABSTRACT

**Introduction:** The purpose of this study was to test whether the 8th edition of the AJCC/UICC TNM staging system (UICC) precisely differentiates between stages and reflects disease outcome in human papilloma virus (HPV)-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC).

**Patients and methods:** OPSCC patients that were diagnosed between 2000 and 2016 were included in this analysis and HPV status was determined by combined DNA and p16 testing. Stratification was done according to 7th and 8th UICC staging rules. Incidence trends of HPV-associated tumorigenesis, 5-year overall survival (OS) according to tumor stages as well as the influence of therapy and prognostic factors toward the outcome were calculated using Kaplan–Meier method and Cox proportional-hazards model.

**Results:** A significant increase [2000;  $n = 8/39$  (21%)–2015;  $n = 17/32$  (53%);  $p = 0.002$ ] in HPV-associated OPSCC was seen in the observation period. Together, 150/599 (25.0%) of the patients had HPV-driven OPSCC and 64.7% of curative treatments in all OPSCC patients included upfront surgery of the primary and the neck. 7th edition staging rules led to no discrimination in all respective four UICC stages in HPV OPSCC underlining the need for new staging rules. However, only discrimination between stages I vs. II and III vs. IV was significant in our patients with HPV-OPSCC (94.4 vs. 77.5%;  $p = 0.031$  and 63.9 vs. 25.0%;  $p = 0.013$ ), and stages II vs. III did not differ in OS rates ( $p = 0.257$ ), when applying the new staging rules. For HPV-negative OPSCC, significant outcome differences were only seen between UICC stages III vs. IV (57.6 vs. 35.2%;  $p = 0.012$ ).

**Discussion:** While the 7th edition of UICC shows invalid discrimination between stages, the 8th edition is more suitable for HPV-associated carcinoma. Due to lack of differentiation between stages II and III further adaption is essential.

## **INTRODUZIONE**

Nelle ultime decadi, in numerose aree geografiche si è verificato un incremento dell'incidenza del carcinoma squamo-cellulare dell'orofaringe (OPSCC) (1-3). Una possibile ragione di questo incremento potrebbe essere la trasmissione sessuale dell'Human Papilloma Virus (HPV) mediante rapporti oro-genitali. Da una pooled analysis di 8 studi condotta su 5.642 pazienti con tumore del distretto testa – collo, il rischio di sviluppare OPSCC sembra essere correlato al numero di partner sessuali, numero di partner di rapporti orali ed all'età del primo rapporto (4). Al contrario, l'incidenza dei tumori del distretto testa – collo correlati con alcool e fumo, sembra rimanere costante o in riduzione (5). OPSCC legati all'HPV rappresentano un'entità distinta in termini cellulari, biologici e caratteristiche cliniche (6,7). Da studi retrospettivi e prospettici emerge che i pazienti affetti da OPSCC HPV-correlati hanno uno stato linfonodale avanzato rispetto agli OPSCC HPV-negativi e contrariamente a questo dato, un miglior controllo locale ed una migliore sopravvivenza (8 – 10).

Nella malattia localmente avanzata, la strategia terapeutica consiste nella radio-chemioterapia (CRT) oppure chirurgia seguita da una radio(chemio)terapia in base ai fattori di rischio (SRT). Ad oggi non è stata identificata la terapia più efficace e non esistono dei fattori predittivi che possano guidare la scelta del trattamento; le strategie terapeutiche e le scelte tra approccio chirurgico o non chirurgico dipendono dalle preferenze locali. Comunque, visto il buon outcome dopo CRT nei casi di OPSCC HPV correlati e vista l'assenza di evidenza del beneficio della chirurgia negli OPSCC, è stato indagato anche il ruolo della chirurgia (11 – 13).

La prognosi dei tumori solidi correla con l'estensione della malattia. Il sistema TNM è utilizzato per uniformare la descrizione delle dimensioni, della crescita e della diffusione del tumore. Le categorie TNM portano alla definizione di quattro stadi di malattia (14). Talvolta pazienti appartenenti allo stesso stadio di malattia mostrano sopravvivenze differenti; per questa ragione le regole della stadiazione TNM sono costantemente migliorate, specialmente quando si identificano nuovi biomarkers. Per esempio, è stato dimostrato un minore impatto dello stadio N negli OPSCC HPV correlati (15,16). L'infezione da HPV è diventata un biomarker prognostico negli OPSCC nelle ultime due decadi. In accordo con queste evoluzioni, nell'ultima versione della stadiazione secondo AJCC gli OPSCC HPV correlati sono stati descritti come un distinto tumore, con differenti regole di stadiazione (17). Obiettivo di questo studio è di verificare se l'ultima versione della stadiazione TNM e UICC/AJCC è adatta alla stratificazione in una coorte di pazienti affetti da OPSCC con bassa prevalenza di HPV e sottoposti a radio-chemioterapia post operatoria.

## **MATERIALI E METODI**

### **Pazienti, caratteristiche del tumore e raccolta dei dati clinici**

In accordo con la International Classification of Disease for Oncology C01, C02 e C10 (ICD-0), sono stati identificati 698 casi con OPSCC diagnosticati tra 01/01/2000 ed il 15/07/2017. Dopo aver escluso 99 pazienti per mancanza di informazioni relative all'infezione da HPV (60), relative allo stadio TNM o al trattamento effettuato (30), sono stati identificati 599 casi per lo studio. Dopo aver acquisito il consenso informato di tutti i pazienti e dopo l'approvazione del comitato etico locale per l'utilizzo dei dati e del materiale biologico, i pazienti sono stati stadati secondo la 7° ed 8° versione dell'UICC (clinica e patologica). Sono state riviste tutte le cartelle per la stadiazione TNM del tumore, i fattori prognostici (performance status-ECOG, fumo ed alcool) e la terapia (chirurgia, radioterapia e chemioterapia).

### **Modifiche nell' 8° versione dell'AJCC/UICC**

La nuova classificazione fornisce linee guida per il test del p16 negli OPSCC, nei quali una moderata espressione oppure espressione superiore al 75% è considerata positività, ed è quindi possibile considerare l'HPV come fattore etiologico.

Le categorie T rimangono le stesse in entrambi i gruppi OPSCC, con una eccezione per gli OPSCC HPV positivi: la classificazione non contiene più la distinzione nel gruppo T4 in T4a e T4b. Inoltre è stata eliminata la categoria T0 (per HPV positivi e negativi) assegnandola ad una nuova categoria di tumore a primitività non conosciuta.

In base alle diverse opzioni terapeutiche, è stata definita la classificazione clinica e patologica.

La classificazione clinica N nell'OPSCC HPV correlato definisce:

- cN1: linfonodi omolaterali, di dimensioni inferiori a 6 cm, indipendentemente dal numero;
- cN2: linfonodi omolaterali e controlaterale di dimensioni inferiori a 6 cm
- cN3: linfonodi di dimensioni superiori a 6 cm

La classificazione patologia dell'N:

- pN1: metastasi linfonodali in meno di 4 linfonodi
- pN2: metastasi linfonodale in 5 o più linfonodi

La classificazione dell'N dell'OPSCC HPV negativo è rimasta essenzialmente invariata, ad eccezione della diffusione extracapsulare, che indipendentemente dalle dimensioni del linfonodo è classificata come N3b nella stadiazione clinica e patologica.

Nella definizione clinica degli stadi UICC:

- Stadio I : T1-T2, N0-N1
- Stadio II: T1-T2, N2  
T3, N0-N2
- Stadio III: T3,N3; T4, N0-N3
- Stadio IV: M1

Nella definizione patologica degli stadi UICC:

- Stadio I: T1-T2, N0-N1
- Stadio II: T1-T2, N2  
T3, N0-N1
- Stadio III: T3-T4, N2
- Stadio IV: M1

Le principali differenze sono relative ai primi stadi della stadiazione UICC.

La definizione degli stadi UICC negli OPSCC HPV negativi è rimasta invariata.

### **TERAPIA**

I pazienti in analisi sono stati trattati tra il 2000 ed il 2016. Quando mancante è stato determinato in maniera retrospettiva lo stato dell'HPV. Negli stadi I e II, i pazienti sono stati trattati con RT o chirurgia su decisione del paziente. Gli stadi avanzati (III e IVa) sono stati avviati a chirurgia seguita poi da RT in base ai fattori di rischio; oppure sono andati a CRT definitiva (in base alla decisione del paziente). Pazienti con malattia inoperabile (IVb) sono stati trattati con RT o RTCT in base al performace status.

La chirurgia delle lesioni piccole T1 – T2 è stata effettuata in microchirurgia transorale con laser. Nei tumori localmente avanzati T3 – T4 si è proceduto con approccio combinato con faringotomia, resezione dei tessuti molli circostanti e confezionamento di lembo. La malattia confinata ad un solo lato, ha richiesto lo svuotamento linfonodale monolaterale. In tutti gli altri casi, la dissezione linfonodale è stata bilaterale. La RT adiuvante è stata effettuata con frazionamento di 1.8 – 2 Gy/frazione includendo i linfonodi del collo bilateralmente ed entro 6 – 10 settimane dalla chirurgia. La chemioterapia concomitante (cisplatino settimanale 30 – 40 mg/mq) è stata aggiunta in base ai fattori prognostici (margine positivo, extracapsularità, N3) I pazienti sottoposti a CRT esclusiva hanno ricevuto IMRT con cisplatino 100 mg/mq q21

oppure 5-fluoro-uracile 600 mg/mq nei giorni 1 – 5 con mitomicina C 10 mg/mq nei giorni 5 e 36.

## ISTOPATOLOGIA, GENOTIPIZZAZIONE HPV, IMMUNOISTOCHEMICA P16INK4a

Il grading è stato definito secondo i criteri WHO (19). I tumori sono stati classificati come associati ad HPV solo quando è stata trovata la combinazione di positività dell'HPV – DNA insieme alla positività del p16INK4.

## RISULTATI

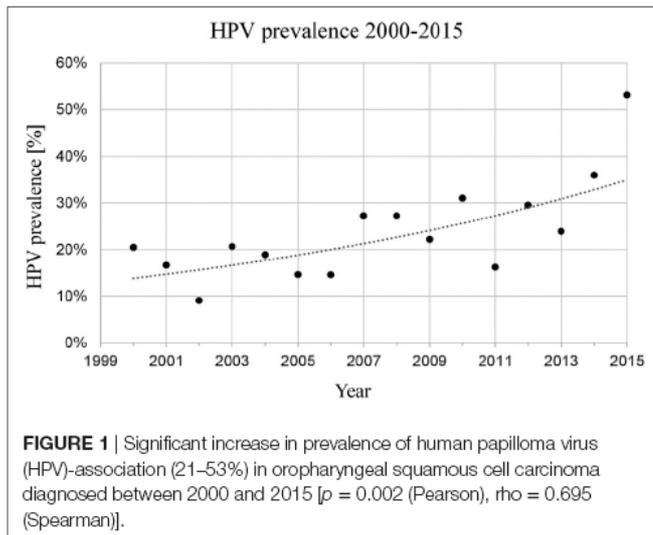
### Dati biometrici

L'età mediana dei 599 pazienti affetti da OPSCC era di 59.6 anni (range 36.9 – 91.8); 466 (77.8%) erano maschi; 385 in buone condizioni generali ( ECOG 0 – 1; 64.3%), 121 ( 20.2%) non fumatori e 288 ( 48.1%) bevitori di meno di due drink al giorno.

## PREVALENZA DELL'HPV IN BASE AI FATTORI PROGNOSTICI I E DATI BIOMETRICI (tabella 1 – fig.1 )

TABLE 1 | Characteristics of 599 patients with oropharyngeal cancers and known human papilloma virus (HPV) status.

Characteristics of all patients—no. (%)	HPV associated 150 (25.0%)	HPV negative 449 (75.0%)	p-Value*
Gender			0.129
Female—133 (22.2)	40 (30.1)	93 (69.9)	
Male—466 (77.8)	110 (23.6)	356 (76.4)	
Age			0.556
Young (<60 years)—300 (50.1)	72 (24)	228 (76)	
Old (≥60 years)—299 (49.9)	78 (26.1)	221 (73.9)	
ECOG			0.373
Moderate [0–1]—385 (64.3)	91 (23.6)	294 (76.4)	
Severe [2–4]—159 (26.5)	32 (20.1)	127 (79.9)	
Unknown—55 (9.2)	27 (49.1)	28 (50.9)	
Alcohol			<0.001
No (<2 standard drinks)—288 (48.1)	118 (41)	170 (59)	
Yes (≥2 standard drinks)—288 (48.1)	24 (8.3)	264 (91.7)	
Unknown—23 (3.8)	8 (34.8)	15 (65.2)	
Smoking			<0.001
No—121 (20.2)	71 (58.7)	50 (41.3)	
Yes—461 (77)	73 (15.8)	388 (84.2)	
Unknown—17 (2.8)	6 (35.3)	11 (64.7)	
Tumor stage, 7th edition			<0.001
I—62 (10.4)	4 (6.5)	58 (93.5)	
II—52 (8.7)	6 (11.5)	46 (88.5)	
III—99 (16.5)	37 (37.4)	62 (62.6)	
Any IV—386 (64.4)	103 (26.7)	283 (73.3)	
Tumor stage, 8th edition			<0.001
I—137 (22.9)	79 (57.7)	58 (42.3)	
II—77 (12.9)	31 (40.3)	46 (59.7)	
III—93 (15.5)	31 (33.3)	62 (66.7)	
Any IV—292 (48.7)	9 (3.1)	283 (96.9)	
Therapy			0.174
Curative therapy—561 (93.7)	144 (25.7)	417 (84.3)	
Non-curative therapy (BSC)—38 (6.3)	6 (15.8)	32 (84.2)	



In 150 pazienti di 599 (25.0%) l'HPV era associato al carcinoma. Un significativo aumento dei casi di OPSCC correlati con infezione da HPV è stato visto nell'intero periodo di 16 anni di analisi, più evidente negli anni 2008 – 2015 (figura 1). Lo stato dell'HPV è stato ulteriormente indagato in base ai dati biometrici ed ai fattori prognostici dei pazienti (tabella 1). L'associazione con HPV era indipendente dall'età, dal performance status e dal sesso. Significativamente più bassa è l'incidenza dell'HPV nei pazienti con storia di fumo e di abuso di alcol. La distribuzione per stadi in base alla 7° ed all'8° edizione del IUCC si è mostrata differente in maniera significativa tra il gruppo HPV negativo ed HPV positivo con uno shift verso lo stadio I e II nelle malattia HPV correlate.

## FATTORI PROGNOSTICI LEGATI ALLA TERAPIA (tabella 2)

**TABLE 2** | Prognostic factors in 561 consecutive patients with oropharyngeal cancer before curative therapy.

Prognostic factors		Upfront surgery—no. (%) 363 (64.7)	No upfront surgery—no. (%) 198 (35.3)	$p$ -Value*
Human papilloma virus (HPV)-association	Yes	100 (69.4)	44 (30.6)	0.168
	No	263 (63.1)	154 (36.9)	
Gender	Female	86 (68.3)	40 (31.7)	0.344
	Male	277 (63.7)	158 (36.3)	
Age	Young (<60 years)	197 (69.6)	86 (30.4)	<b>0.014</b>
	Old ( $\geq 60$ years)	166 (59.7)	112 (40.3)	
ECOG	Moderate [0–1]	288 (71.5)	107 (28.5)	<b>&lt;0.001</b>
	Severe [2–4]	60 (42.9)	80 (57.1)	
	Unknown	35 (76.1)	11 (23.9)	
Alcohol	No (<2 standard drinks)	189 (68.5)	87 (31.5)	0.083
	Yes ( $\geq 2$ standard drinks)	162 (61.4)	102 (38.6)	
	Unknown	12 (57.1)	9 (42.9)	
Smoking	No	82 (71.3)	33 (28.7)	0.093
	Yes	271 (62.9)	160 (37.1)	
	Unknown	10 (66.6)	5 (33.4)	
Tumor stage, 7th edition	I	61 (100)	0	<b>&lt;0.001</b>
	II	50 (96.2)	2 (3.8)	
	III	82 (82.8)	17 (17.2)	
	Any IV	170 (48.7)	179 (51.3)	
Tumor stage, 8th edition	I	57 (100)	0	<b>&lt;0.001</b>
	II	45 (97.8)	1 (2.2)	
HPV-negative	III	49 (79)	13 (21)	
	Any IV	112 (44.4)	140 (55.6)	
Tumor stage, 8th edition	I	72 (92.3)	6 (7.7)	<b>&lt;0.001</b>
	II	17 (54.8)	14 (45.2)	
	III	10 (34.5)	19 (65.5)	
	Any IV	1 (16.7)	5 (63.3)	

\* $p$ -Values calculated by Pearson's chi-square-test ( $\chi^2$ ), bold: significant values  $\leq 0.050$ .

La chirurgia è stata la prima opzione in 363 pazienti, mentre 198 pazienti hanno riveduto RT oppure CRT senza chirurgia (tabella 2). La distribuzione della terapia non differisce in base allo stato HPV. Tuttavia, pazienti più giovani e con migliore performance status erano più frequentemente trattati con chirurgia. La distribuzione in base agli stadi secondo la 7° ed 8° classificazione UICC ha mostrato delle differenze significative tra in gruppo trattato con RT post operatoria ed il gruppo trattato con CRT esclusiva.

### FATTORI PROGNOSTICI, CARATTERISTICHE DEL TUMORE E TIPO DI TRATTAMENTO: ANALISI UNIVARIATA DELLA SOPRAVVIVENZA ( tabella 3)

TABLE 3 | Prognostic factors for survival in patients with oropharyngeal cancer after curative therapy and with known human papilloma virus (HPV) status.

Factor	Group	No.	Survival (univariate)				Hazard ratios (HR) (95% CI)	p-Value**	Multivariate analyses	
			Median overall survival (OS) (years)	2-year OS (%)	5-year OS (%)	p-Value*			HR (95% CI)	p-Value***
All		561	5.723	71.7	54.5	–				
HPV	Yes	144	–	88	82.8	<b>&lt;0.001</b>	0.316	<b>&lt;0.001</b>		
	No	417	7.414	66.4	45.5					
Gender	Female	126	7.551	73.3	59.3	0.397	1.140	0.396	1.033	0.865
	Male	435	5.537	71.2	53					
Age	Young (<60 years)	283	8.838	77.7	61.7	<b>&lt;0.001</b>	1.627	<b>&lt;0.001</b>	1.460	<b>0.018</b>
	Old (≥60 years)	278	4.625	65.5	46.5					
ECOG	Moderate [0–1]	375	7.633	79.1	62.2	<b>&lt;0.001</b>	2.507	<b>&lt;0.001</b>	1.644	<b>0.004</b>
	Severe [2–4]	140	1.915	48.3	30.6					
Alcohol	No (<2 standard drinks)	276	–	78.9	66.1	<b>&lt;0.001</b>	2.059	<b>&lt;0.001</b>	2.357	<b>&lt;0.001</b>
	Yes (≥2 standard drinks)	264	4.480	66.2	45.5					
Smoking	No	115	–	78.9	66.8	<b>0.002</b>	1.801	<b>0.002</b>	1.253	0.355
	Yes	431	5.293	66.2	45.5					
Therapy	Upfront surgery	363	11.178	84.8	68.4	<b>&lt;0.001</b>	0.332	<b>&lt;0.001</b>		
	No upfront surgery	198	1.858	47.4	28.8					
Therapy (T1–T3)	Upfront surgery	339	11.178	85.2	68.5	<b>&lt;0.001</b>	0.400	<b>&lt;0.001</b>	0.461	<b>&lt;0.001</b>
	No upfront surgery	49	2.405	56.1	38.6					
UICC stage I	7th ed.	62	12.274	88.2	61.2	0.062	0.880	0.066		
	8th ed.	137	–	91.2	97					
UICC stage II	7th ed.	52	11.321	94.2	70.7	0.112	1.027	0.740		
	8th ed.	77	11.321	93.2	69.5					
UICC stage III	7th ed.	99	7.200	80.4	70.7	0.296	1.061	0.299		
	8th ed.	93	6.216	72	59.5					
UICC stage IV	7th ed.	386	3.063	58.7	43	<b>0.007</b>	1.070	<b>0.008</b>		
	8th ed.	292	2.011	50.4	32.5					

\*p-Value calculated by log-rank (Kaplan–Meier) test.

\*\*p-Value calculated by log-rank (Mantel–Cox) test; univariate.

\*\*\*p-Value calculated by log-rank (Mantel–Cox) test; multivariate, bold: significant values ≤ 0.050.

La sopravvivenza a 5 anni del gruppo in studio è stata del 54.5% (HPV positivo: 82.8% vs HPV negativo 45.5%). Nell'analisi delle sopravvivenze mediane, i pazienti più giovani (< 60 anni), ECOG basso (0 – 1) e consumo di alcol inferiore a due drinks al giorno hanno mostrato migliori sopravvivenze. Anche l'assenza di storia di fumo è associata a migliori sopravvivenze.

I pazienti trattati con chirurgia avevano una sopravvivenza mediana più lunga, sia includendo tutti gli stadi sia escludendo gli stadi T avanzati.

Quando vengono confrontati separatamente gli stadi I – IV secondo la 7° ed 8° edizione, lo stadio I ha un trend di significatività, mentre lo stadio IV risulta significativamente diverso in termini di outcome; mentre gli stadi II e III non hanno mostrato differenze. Questo cambiamento dello stadio I verso un miglior outcome e dello stadio IV verso un peggior outcome ha portato ad una migliore separazione delle curve di sopravvivenza quando vengono comparati i due modelli.

## FATTORI PROGNOSTICI, CARATTERISTICHE DEL TUMORE E TIPO DI TRATTAMENTO: ANALISI UNIVARIATA DELLA SOPRAVVIVENZA NEL PAZIENTI HPV POSITIVI

Dopo l'analisi dei fattori prognostici nei tumori dell'orofaringe in pazienti con malattia HPV correlata, i pazienti più giovani (< 60 anni) e con ECOG performance status favorevole (ECOG 0 - 1) raggiungono sopravvivenze migliori.

Il fumo e l'alcool non hanno alcuna influenza significativa nella sopravvivenza globale dei pazienti con OPSCC HPV correlato.

La chirurgia ha portato ad una migliore sopravvivenza (tutti i pazienti: chirurgia 93% vs CRT 57.7%; esclusi tumori T4: chirurgia 93.4% vs RTCT 73.4 %, p=0.009). Quando messi a confronto gli stadi secondo l'edizione 7° ed 8° dell'UICC, emerge un peggioramento della sopravvivenza a 5 anni degli stadi III (trend) e IV (significativo). Per gli stadi I e II il confronto delle sopravvivenze non ha portato a differenze: questo dato è da ascrivere al basso numero di pazienti stadio I e II secondo la 7° edizione. (tabella 4)

TABLE 4 | Prognostic factors for survival in human papilloma virus-associated cancer of the oropharynx.

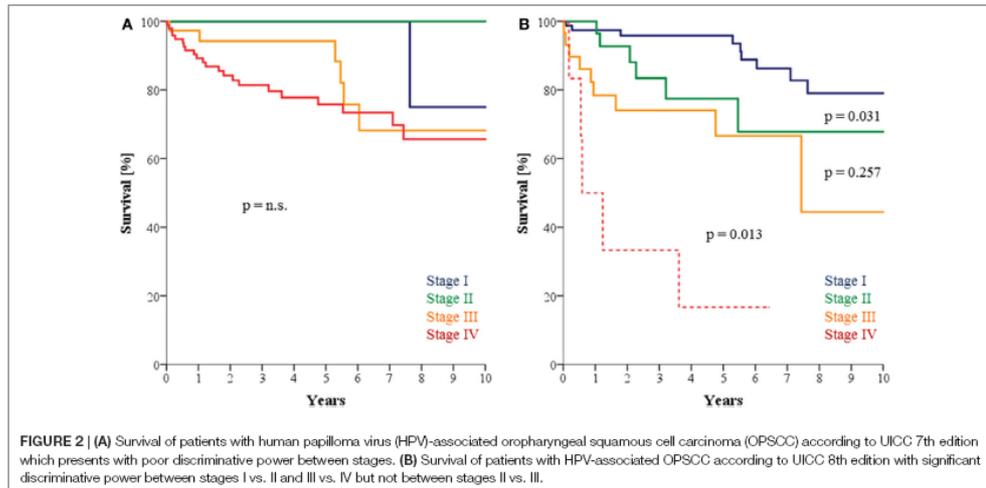
Factor	Group	No.	Survival (univariate)				Hazard ratios (HR) (95% CI)	p-Value**	Multivariate analyses	
			Median overall survival (OS) (years)	2-year OS (%)	5-year OS (%)	p-Value*			HR (95% CI)	p-Value***
Gender	Female	39	-	89.4	80.9	0.690	1.188	0.690		
	Male	105	-	87.5	83.3					
Age	Young (<60 years)	69	-	93.7	91.7	<b>0.003</b>	3.247	<b>0.005</b>	2.342	0.094
	Old (≥60 years)	75	11.468	82.9	74.3					
ECOG	Moderate [0-1]	90	-	93.2	91.7	<b>&lt;0.001</b>	3.545	<b>0.001</b>	0.695	0.695
	Severe [2-4]	31	7.438	70.3	55.3					
Alcohol	No (<2 standard drinks)	113	-	87.6	83.9	0.111	1.948	0.117		
	Yes (≥2 standard drinks)	23	7.438	90.6	82.4					
Smoking	No	69	-	87.5	83.3	0.236	1.592	0.240		
	Yes	69	11.468	87.7	83.1					
Therapy	Upfront surgery	100	-	97	93	<b>&lt;0.001</b>	0.206	<b>&lt;0.001</b>		
	No upfront surgery	44	7.438	65.8	57.7					
Therapy (T1-T3)	Upfront surgery	92	-	97.8	93.4	<b>0.009</b>	0.300	<b>0.013</b>	0.394	0.071
	No upfront surgery	24	7.438	79.5	73.4					
UICC stage I	7th ed.	4	-	75.0	75.0	0.968	1.011	0.968		
	8th ed.	79	-	94.4	94.4					
UICC stage II	7th ed.	6	-	-	-	0.138	2.429	0.374		
	8th ed.	31	-	92.7	77.5					
UICC stage III	7th ed.	37	11.468	97.3	94.3	0.055	1.271	0.064		
	8th ed.	31	7.438	71.0	63.9					
UICC stage IV	7th ed.	103	-	82.5	74.2	<b>0.003</b>	1.407	<b>0.006</b>		
	8th ed.	9	1.233	50.0	25.0					

\*p-Value calculated by log-rank (Kaplan-Meier) test.

\*\*p-Value calculated by log-rank (Mantel-Cox) test; univariate.

\*\*\*p-Value calculated by log-rank (Mantel-Cox) test; multivariate, bold: significant values ≤ 0.050.

Le curve della figura 2 mostrano meglio graficamente le differenze delle sopravvivenze applicando l'8° classificazione.



## FATTORI PROGNOSTICI, CARATTERISTICHE DEL TUMORE E TIPO DI TRATTAMENTO: ANALISI UNIVARIATA DELLA SOPRAVVIVENZA NEL PAZIENTI HPV NEGATIVI ( tabella 5)

Nei pazienti HPV negativi, la giovane età (< 60 anni), un basso performance status ECOG ( 0 – 1 ) ed il consumo di alcool inferiore a 2 drinks al giorno è associato ad una migliore sopravvivenza. La sopravvivenza a 5 anni differisce significativamente in base ai trattamenti (chirurgia + RT: 59.5% vs CRT 22%). Tale vantaggio si mantiene anche considerando solo gli stadi di malattia intermedi (chirurgia + RT 60.4% vs CRT 28.5 %)

**TABLE 5 |** Prognostic factors for survival in human papilloma virus-negative patients with oropharyngeal cancer.

Factor	Group	No.	Survival (univariate)				Hazard ratios (HR) (95% CI)	p-Value**	Multivariate analyses	
			Median overall survival (OS) (years)	2-year OS (%)	5-year OS (%)	p-Value*			HR (95% CI)	p-Value***
Gender	Female	87	5.197	66.6	50.6	0.711	1.063	0.711	1.005	0.979
	Male	330	4.364	66.4	44					
Age	Young (<60 years)	214	5.538	73.1	52.9	<b>&lt;0.001</b>	1.582	<b>0.001</b>	1.417	<b>0.043</b>
	Old (≥60 years)	203	2.866	59.1	37.1					
ECOG	Moderate [0–1]	285	5.323	74.7	53.1	<b>&lt;0.001</b>	2.480	<b>&lt;0.001</b>	1.904	<b>&lt;0.001</b>
	Severe [2–4]	109	1.668	41.9	23.3					
Alcohol	No (<2 standard drinks)	163	5.641	73	53.9	<b>0.003</b>	1.540	<b>0.003</b>	1.872	<b>0.001</b>
	Yes (≥2 standard drinks)	241	3.874	64	42.5					
Smoking	No	46	4.616	72.8	40.8	0.879	1.035	0.879	0.800	0.427
	Yes	362	4.408	66.3	46.5					
Therapy	Upfront surgery	263	6.655	80.3	59.5	<b>&lt;0.001</b>	0.364	<b>&lt;0.001</b>		
	No upfront surgery	154	1.718	42.7	22					
Therapy (T1–T3)	Upfront surgery	247	6.655	80.7	60.4	<b>&lt;0.001</b>	0.410	<b>&lt;0.001</b>	0.483	<b>&lt;0.001</b>
	No upfront surgery	70	1.929	49	28.5					

\*p-Value calculated by log-rank (Kaplan–Meier) test.

\*\*p-Value calculated by log-rank (Mantel–Cox) test; univariate.

\*\*\*p-Value calculated by log-rank (Mantel–Cox) test; multivariate, bold: significant values ≤ 0.050.

## ANALISI MULTIVARIATA DELLA SOPRAVVIVENZA

E' stata condotta l'analisi multivariata per individuare i fattori prognostici che portano ad una migliore sopravvivenza nel gruppo di pazienti sottoposti a chirurgia e RT. Sono stati inclusi nell'analisi il sesso, l'età, performance status, alcool, il fumo e la terapia (sono stati inclusi gli stadi T1 – T3). L'analisi multivariata Cox suggerisce che accanto all'età, all'ECOG ed al consumo di alcol la terapia (per gli stadi T1 – T3) è un fattore predittivo indipendente di migliore sopravvivenza in tutti i pazienti OPSCC ( tabella 3). Tuttavia, quando vengono analizzate l'età, l'ECOG e la terapia (T1 – T3) in base allo status HPV l'analisi multivariata

Cox non li conferma come fattori prognostici. Nei pazienti con OPSCC HPV negativo, l'età, l'ECOG, il consumo di alcool, la chirurgia + RT (escludendo gli stadi avanzati) rappresentano un fattore prognostico indipendente di migliore sopravvivenza (tabella 5).

## POTENZA NEL DISCRIMINARE GLI STADI NEGLI OPSCC

Per analizzare e discriminare meglio le sopravvivenze nei diversi gruppi, sono stati effettuati test log-rank (tabella 6). Sorprendentemente, per i pazienti HPV negativi solo per gli stadi III/IV (non per gli stadi I/II e II/III) esiste una distinzione significativa e rilevante tra stadi adiacenti secondo le classificazioni 7° ed 8° UICC. Gli stadi I/II mostrano gli stessi risultati. Gli stadi II / III mostrano un peggioramento della sopravvivenza quasi significativo.

Per gli stadi adiacenti nella malattia HPV correlata (I/II, II/III, III/IV) secondo la 7° ed 8° edizione UICC nei pazienti con OPSCC solo gli stadi I vs II vs III mostrano una differenza significativa nella sopravvivenza.

TABLE 6 | Survival differences and discriminative power of stage groupings in oropharyngeal cancer.

Human papilloma virus (HPV)-associated cancer of the oropharynx (2-year OS/5-year OS)					
UICC stages	I (95.8/95.8)	II (92.7/77.5)	III (74.1/66.6)	IV (33.3/16.7)	8th edition
I		<b>0.031</b>	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	I
II	0.480		0.257	<b>0.001</b>	II
III	0.388	0.139		<b>0.013</b>	III
Any IV	0.558	0.152	0.534		Any IV
7th edition	I (75.0/75.0)	II (0/0)	III (94.3/94.3)	Any IV (84.2/75.8)	

HPV-negative cancer of the oropharynx (2-year OS/5-year OS)					
UICC stages	I (88.9/58.1)	II (93.4/65.9)	III (72.4/57.6)	IV (54.4/35.2)	7/8th edition
I		0.685	0.156	<b>&lt;0.001</b>	I
II			0.096	<b>&lt;0.001</b>	II
III				<b>0.012</b>	III
Any IV					Any IV

p-Value calculated by log-rank (Kaplan-Meier) test, bold: significant values  $\leq 0.050$ ; light grey: UICC 8th edition; dark grey: UICC 7th edition; white: UICC 7th/8th edition.

## DISCUSSIONE

La sopravvivenza media dell'OPSCC è notevolmente migliorata nelle decenni recenti, anche in assenza di grandi modifiche al trattamento, probabilmente come risultato dell'aumento dei casi di OPSCC HPV positivi (22, 23). Sebbene l'obiettivo di un sistema di stadiazione sia quello di fornire informazioni solide sulla prognosi, nella 7° classificazione UICC l'HPV non era stato incluso come fattore prognostico. Di conseguenza, in numerose pubblicazioni sono stati descritti buoni risultati in carcinomi HPV negativi (15, 24, 25) senza riportare una forte differenza nei casi di tumore HPV positivo. L'ultima edizione (l'8° edizione dell'UICC) in base all'associazione o meno con l'HPV, definisce stadi diversi risultando capace di predire la sopravvivenza nei casi di OPSCC trattati con CRT (25) oppure con chirurgia ed RT (26). In questo studio è stato valutato il beneficio delle nuove regole di stadiazione nei pazienti con OPSCC HPV positivi in una coorte di pazienti non selezionati, trattati maggiormente con chirurgia seguita poi da radio(chemio) – terapia in base ai fattori di rischio. I nostri risultati mostrano una significativa stratificazione tra gli stadi I vs II, ma non tra gli stadi II vs III in pazienti con tumore HPV positivo. Questa mancanza di stratificazione tra lo stadio II e III potrebbe essere influenzata dal basso numero di casi e di eventi (morte) dovuto al miglioramento della sopravvivenza dei pazienti con OPSCC HPV positivi. Inoltre, esistono criteri diversi per la classificazione in stadi UICC, nei pazienti trattati con chirurgia o radiochemioterapia esclusiva.

I criteri TNM sono stati rivisitati nell'8° edizione dell'UICC considerando una grande coorte di pazienti (n= 1907 pazienti con carcinoma HPV correlato) trattati essenzialmente con radiochemioterapia (International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging – ICON-S). Gli stadi sono stati ri-adattati in base a sopravvivenze simili secondo la 7° edizione (nessuna differenza tra i T4, ridefinizione dell' N ) ed una nuova classificazione che porta ad una differenziazione significativa tra gli stadi I vs II, II vs III (25).

La distinzione tra gli stadi I e II sembra meno evidente nella casistica descritta da O'Sullivan. In questo studio solo una minima parte dei pazienti era stata sottoposta a chirurgia, quindi gli outcome non sono correttamente confrontabili. Nello stadio I, i risultati significativamente peggiori dei pazienti trattati con CRT potrebbero essere dovuti al rischio di una sottostadiazione del coinvolgimento linfonodale, essendo questi pazienti stadiati clinicamente e non con una dissezione linfonodale come avviene per il pazienti trattati con chirurgia primaria. Infine, gli autori hanno inserito l'espressione del p16INK4a o l'ibridizzazione in situ dell'HPV-DNA solo nella coorte ICON-S. E' risaputo che considerare pazienti HPV positivi dopo un test unico è a rischio di bias (27, 28).

In un altro studio, è stato utilizzato il sistema di stadiazione clinico su pazienti HPV positivi sottoposti a chirurgia (di cui si disponeva della stadiazione patologica) ed è emersa una certa sovrapposizione di sopravvivenze tra gli stadi (26). Quindi, la classificazione dello stato linfonodale è stata modificata considerando esclusivamente il numero di linfonodi infiltrati, non avendo la diffusione extracapsulare alcun impatto prognostico nella sopravvivenza dei pazienti con carcinoma HPV positivo (29). Utilizzando le nuove regole di stadiazione patologica si è dimostrata una differenza significativa tra gli stadi I vs II e II vs III (sopravvivenza a 5 anni: Stadio I: 90%; stadio II 84%; stadio III 48%) (26). Questo, è nuovamente in contrasto con i risultati di questo studio, avendo trovato poca differenza tra gli stadi II e III; tuttavia, il basso numero di pazienti con malattia HPV positiva nella nostra coorte e l'esclusivo test del p16INK4a nei 704 pazienti dello studio a confronto (26) potrebbero essere le ragioni di questa divergenza.

In una recente pubblicazione, l'8° edizione dell'UICC è stata testata su 195 pazienti con OPSCC (111 HPV positivi, confermati esclusivamente dalla p16INK4a) trattati con chirurgia e radioterapia oppure radiochemioterapia in Giappone ( 30).

Dati i simili risultati di sopravvivenza (sopravvivenza a 3 anni stadio I: 90.9%; stadio II: 90.9%; stadio III 70.2%) gli stadi I e II sono stati accorpati e sono risultati ben differenziati dagli stadi III all'analisi retrospettiva. Anche questo è in contrasto con il presente studio, e potrebbe essere il risultato dell'aver accorpati gli stadi I e II, dell'inaccurato test per HPV e dell'impropria classificazione dell'N. Sebbene i pazienti fossero trattati con chirurgia e radioterapia o con radiochemioterapia esclusiva è stata riportata solo la stadiazione clinica.

Avendo l'8° edizione della classificazione UICC separato diversi criteri per pazienti sottoposti o meno a chirurgia, la scelta del tipo di trattamento gioca un ruolo cruciale. Mentre per i tumori HPV negativi la chirurgia primaria sembra essere un fattore predittivo di migliore sopravvivenza, la modalità di trattamento sembra avere un minore impatto sull'outcome nei carcinomi HPV positivi. Sebbene in questo studio retrospettivo all'analisi multivariata di COX fattori quali l'età, l'ECOG, il consumo di alcol e la terapia si siano dimostrati fattori predittivi indipendenti per una migliore sopravvivenza, i risultati devono essere interpretati con cautela a causa dell'inevitabile bias di selezione dei pazienti. Studi ulteriori saranno necessari per chiarire se il tipo di trattamento può avere un impatto sulla distinzione per stadi UICC; inoltre migliorata la classificazione si potrebbe considerare una de-escalation dei trattamenti nei pazienti con OPSCC HPV correlati.

L'inclusione di altri fattori prognostici come fumo, età, performance status, qualità di vita, espressione EGFR, p-53, Bcl-2 ed ERCC-1 sono raccomandati dall'UICC (18) e potrebbero migliorare la stratificazione degli OPSCC.

In diverse casistiche, il fumo e lo stadio TNM è stato riportato avere un impatto sulla sopravvivenza (8,25,29,31); questo dato è in contrasto con i risultati di questo studio, essendo risultato l'alcool ma non il fumo un fattore prognostico. Probabilmente, nel presente modello, il fumo dovrebbe essere eliminato dalle valutazioni a causa dell'alta percentuale di fumatori tra i pazienti HPV negativi. Comunque il fumo potrebbe anche influenzare la radiosensibilità (riducendo l'ossigenazione del tumore, a causa dell'alto livello di carbossemoglobina nei fumatori) ed il suo impatto come fattore prognostico potrebbe essere meno importante nel caso di chirurgia come primo trattamento.

Esistono dei limiti a questo studio: casistica monoistituzione, analisi retrospettiva, con particolari limiti nell'analisi della assunzione di alcool e dell'abitudine al fumo. Inoltre la classificazione degli HPV negativi è stata effettuata secondo la 7° edizione dell'UICC e la extra capsularità linfonodale non è stata sempre documentata. Questo nuovo importante fattore prognostico è stato introdotto nell'8° edizione (sopravvivenza a 5 anni: N0 85.5%; N+/ECS – 62.5%; N+/ECS 29.9 %) (33, 34) le prossime analisi dovranno includere la valutazione dell'extra capsularità per la validazione dei nuovi stadi AJCC.

## CONCLUSIONI

I dati di questo studio dimostrano che la stadiazione che considera lo stato HPV e le modifiche delle categorie TNM previste nell'8° edizione dell'AJCC/IUCC migliora la discriminazione in un gruppo di pazienti non selezionati affetti da OPSCC e trattati primariamente con chirurgia. La distinzione tra gli stadi II e III nei casi con OPSCC HPV positivo sembra essere debole. Inoltre, l'alcool viene confermato come un importante fattore prognostico nei casi HPV negativi, mentre il fumo e l'alcool non sembravano influenzare significativamente la sopravvivenza nei pazienti HPV positivi. In conclusione, l'8° edizione del sistema di staging TNM AJCC/UICC sembra essere più adatto alla stadiazione del OPSCC HPV positivo, sebbene siano necessari ulteriori adattamenti per migliorare la predizione della prognosi.

## REFERENCES

1. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol* (2011) 29(32):4294–301. doi:10.1200/jco.2011.29.15\_suppl.5529
2. Gillison ML, Chaturvedi AK, Anderson WF, Fakhry C. Epidemiology of human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* (2015) 33(29):3235–42. doi:10.1200/JCO.2015.61.6995
3. Tinhofer I, Jöhrens K, Keilholz U, Kaufmann A, Lehmann A, Weichert W, et al. Contribution of human papilloma virus to the incidence of squamous cell carcinoma of the head and neck in a European population with high smoking prevalence. *Eur J Cancer* (2015) 51(4):514–21. doi:10.1016/j.ejca.2014.12.018
4. Heck JE, Berthiller J, Vaccarella S, Winn DM, Smith EM, Shan'gina O, et al. Sexual behaviours and the risk of head and neck cancers: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. *In J Epidemiol* (2010) 39(1):166–81. doi:10.1093/ije/dyp350
5. Simard EP, Torre LA, Jemal A. International trends in head and neck cancer incidence rates: differences by country, sex and anatomic site. *Oral Oncol* (2014) 50(5):387–403. doi:10.1016/j.oraloncology.2014.01.016
6. Klusmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Eckel HE, Pfister HJ, et al. Human papillomavirus-positive tonsillar carcinomas: a different tumor entity? *Med Microbiol Immunol* (2003) 192(3):129–32. doi:10.1007/s00430-002-0126-1

7. Maxwell JH, Grandis JR, Ferris RL. HPV-associated head and neck cancer: unique features of epidemiology and clinical management. *Annu Rev Med* (2016) 67:91–101. doi:10.1146/annurev-med-051914-021907
8. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* (2010) 363(1):24–35. doi:10.1056/NEJMoa0912217
9. Fakhry C, Zhang Q, Nguyen-Tan PF, Rosenthal D, El-Naggar A, Garden AS, et al. Human papillomavirus and overall survival after progression of oro-pharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* (2014) 32(30):3365–73. doi:10.1200/JCO.2014.55.1937
10. Keane FK, Chen YH, Neville BA, Tishler RB, Schoenfeld JD, Catalano PJ, et al. Changing prognostic significance of tumor stage and nodal stage in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx in the human papillomavirus era. *Cancer* (2015) 121(15):2594–602. doi:10.1002/cncr.29402
11. Panwar A, Batra R, Lydiatt WM, Ganti AK. Human papilloma virus positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: a growing epidemic. *Cancer Treat Rev* (2014) 40(2):215–9. doi:10.1016/j.ctrv.2013.09.006
12. Lybak S, Ljøkjel B, Haave H, Karlsdottir À, Vintermyr OK, Aarstad HJ. Primary surgery results in no survival benefit compared to primary radiation for oropharyngeal cancer patients stratified by high-risk human papilloma virus status. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2017) 274(1):477–87. doi:10.1007/s00405-016-4203-2
13. Licitra L, Felip E. Squamous cell carcinoma of the head and neck: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* (2009) 20(Suppl 4):121–2. doi:10.1093/annonc/mdp149
14. Wittekind C, Meyer H-J. *TNM: Klassifikation Maligner Tumoren. Vol. 7. Auflage.* Weinheim: WILEY-VCH (2010).
15. Wittekindt C, Klussmann JP. Tumor staging and HPV-related oropharyngeal cancer. *Recent Results in Cancer Research. Fortschritte der Krebsforschung. Progres dans les recherches sur le cancer.* (Vol. 206), (2017). p. 123–33.
16. Klozar J, Koslabova E, Kratochvil V, Salakova M, Tachezy R. Nodal status is not a prognostic factor in patients with HPV-positive oral/oropharyngeal tumors. *J Surg Oncol* (2013) 107(6):625–33. doi:10.1002/jso.23292
17. Lydiatt WM, Patel SG, O’Sullivan B, Brandwein MS, Ridge JA, Migliacci JC, et al. Head and neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* (2017) 67(2):122–37. doi:10.3322/caac.21389
18. Wittekind C. *TNM: Klassifikation Maligner Tumoren. Vol. Achte Auflage.* Weinheim: WILEY-VCH (2017).
19. Pindborg JJ, Wahi PN. International histological classification of tumours. *Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa.* 2nd ed. Berlin, New York: Springer (1997). p. x, 87.
20. Schmitt M, Bravo IG, Snijders PJ, Gissmann L, Pawlita M, Waterboer T. Bead-based multiplex genotyping of human papillomaviruses. *J Clin Microbiol* (2006) 44(2):504–12. doi:10.1128/JCM.44.2.504-512.2006
21. Prigge ES, Toth C, Dyckhoff G, Wagner S, Müller F, Wittekindt C, et al. p16(INK4a)/Ki-67 co-expression specifically identifies transformed cells in the head and neck region. *Int J Cancer* (2015) 136(7):1589–99. doi:10.1002/ijc.29130
22. Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J, Curado MP, Ferlay J, Franceschi S, et al. Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. *J Clin Oncol* (2013) 31(36):4550–9. doi:10.1200/JCO.2013.50.3870

23. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* (2008) 100(4):261–9. doi:10.1093/jnci/djn011
24. Malm IJ, Fan CJ, Yin LX, Li DX, Koch WM, Gourin CG, et al. Evaluation of proposed staging systems for human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* (2017) 123(10):1768–77. doi:10.1002/cncr.30512
25. O’Sullivan B, Huang SH, Su J, Garden AS, Sturgis EM, Dahlstrom K, et al. Development and validation of a staging system for HPV-related oropharyngeal cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging (ICON-S): a multicentre cohort study. *Lancet Oncol* (2016) 17(4):440–51. doi:10.1016/S1470-2045(15)00560-4
26. Haughey BH, Sinha P, Kallogjeri D, Goldberg RL, Lewis JS Jr, Piccirillo JF, et al. Pathology-based staging for HPV-positive squamous carcinoma of the oropharynx. *Oral Oncol* (2016) 62:11–9. doi:10.1016/j.oraloncology.2016.09.004
27. Prigge ES, Arbyn M, von Knebel Doeberitz M, Reuschenbach M. Diagnostic accuracy of p16INK4a immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* (2017) 140(5):1186–98. doi:10.1002/ijc.30516
28. Klussmann JP, Gültekin E, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Dienes HP, et al. Expression of p16 protein identifies a distinct entity of tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus. *Am J Pathol* (2003) 162(3):747–53. doi:10.1016/S0002-9440(10)63871-0
29. Sinha P, Kallogjeri D, Gay H, Thorstad WL, Lewis JS Jr, Chernock R, et al. High metastatic node number, not extracapsular spread or N-classification is a node-related prognosticator in transorally-resected, neck-dissected p16-positive oropharynx cancer. *Oral Oncol* (2015) 51(5):514–20. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.02.098
30. Mizumachi T, Homma A, Sakashita T, Kano S, Hatakeyama H, Fukuda S. Confirmation of the eighth edition of the AJCC/UICC TNM staging system for HPV-mediated oropharyngeal cancer in Japan. *Int J Clin Oncol* (2017). doi:10.1007/s10147-017-1107-0
31. Rietbergen MM, Witte BI, Velazquez ER, Snijders PJ, Bloemena E, Speel EJ, et al. Different prognostic models for different patient populations: validation of a new prognostic model for patients with oropharyngeal cancer in Western Europe. *Br J Cancer* (2015) 112(11):1733–6. doi:10.1038/bjc.2015.139
32. Wagner S, Wittekindt C, Sharma SJ, Wuerdemann N, Jüttner T, Reuschenbach M, et al. Human papillomavirus association is the most important predictor for surgically treated patients with oropharyngeal cancer. *Br J Cancer* (2017) 116(12):1604–11. doi:10.1038/bjc.2017.132
33. de Juan J, García J, López M, Orús C, Esteller E, Quer M, et al. Inclusion of extracapsular spread in the pTNM classification system: a proposal for patients with head and neck carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* (2013) 139(5):483–8. doi:10.1001/jamaoto.2013.2666
34. Wreesmann VB, Katabi N, Palmer FL, Montero PH, Migliacci JC, Gönen M, et al. Influence of extracapsular nodal spread extent on prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Head Neck* (2016) 38(Suppl 1):E1192–9. doi:10.1002/hed.24190