

Молекулярные подтипы рака мочевого пузыря: эволюция классификаций и клиническое значение

**О. Н. Сулаева¹, А. А. Селезнев¹, Д. А. Шапочка¹, А. Э. Стаховский²,
Р. Н. Пономарчук¹, П. Н. Боцун¹**

¹Патоморфологическая лаборатория CSD, г. Киев,
²Национальный институт рака МЗ Украины, г. Киев

Molecular subtypes of a bladder cancer: evolution of classifications and clinical significance

**O. N. Sulaieva¹, A. A. Seleznev¹, D. A. Shapochka¹, A. E. Stakhovskiy²,
R. N. Ponomarchuk¹, P. N. Botsun¹**

¹Pathomorphological Laboratory CSD, Kyiv,
²National Cancer Institute, Kyiv

В данном обзоре проведен анализ современного состояния вопроса о молекулярных подтипах мышечно-неинвазивного (МНИ) и мышечно-инвазивного (МИ) рака мочевого пузыря (РМП), их ключевых биомаркерах и рекомендованных подходах к лечению. Известно несколько вариантов молекулярных классификаций РМП, включая версии Медицинского колледжа Бейлора (BCM), Университета Северной Каролины (UNC), Центра рака М. Д. Андерсона (MDA), проекта «Атлас генома рака» (TCGA) и Университета Лунда (Швеция). На сегодня разработана консенсусная международная классификация МИ РМП, которая не только углубила понимание биологии РМП, но и показала взаимосвязь определенных геномных нарушений с конкретными молекулярными подтипами, а также клиническим течением РМП. Разработанные варианты молекулярных классификаций МНИ и МИ РМП позволяют не только прогнозировать течение опухолевого процесса, но и стратифицировать пациентов по вероятному ответу на химиотерапию (ХТ) и иммунотерапию (ИТ).

Молекулярная патология и генетика стали неотъемлемой частью современной клинической медицины, в особенности онкологии. Комплексное изучение генетических альтераций, специфики экспрессии генов в комбинации с клинико-лабораторными, инструментальными и патогистологическими данными позволяет лучше понять биологию различных вариантов карцином, является основой разработки молекулярной классификации опухолей [1 – 3] и развития персонализированной медицины [4 – 7]. Примером успешной молекулярной классификации является молекулярная классификация рака молочной железы (РМЖ), определение молекулярных подтипов которого существенно облегчает выбор оптимальной терапии [8, 9]. Учитывая растущие частоту РМП и смертность от данной патологии, а также экономические затраты на мониторинг и лечение пациентов с уротелиальными неоплазиями, очевидно, что разработка молекулярной клас-

сификации РМП была и остается одной из наиболее «горячих» тем онкоурологии [10, 11]. При этом молекулярное типирование уротелиальных опухолей направлено на решение важных фундаментальных вопросов и клинических задач, а именно: определение спектра генов, вовлеченных в патогенез РМП; верификация драйверных мутаций и эпигенетических механизмов, сопряженных с инвазией РМП в мышечную оболочку; определение взаимосвязи между генетической экспрессией и патогистологическими характеристиками опухолей мочевого пузыря (МП); валидация прогностических биомаркеров и их кластеризация; оптимизация выбора потенциальных мишеней терапии для разных молекулярных подтипов РМП.

До сегодняшнего дня неоднократно предпринимались попытки разработать и внедрить молекулярную классификацию РМП [12 – 15]. Сложность данной задачи связана с чрезвычайной гетерогенностью РМП как в клинико-патогенетическом, так и в молекулярном аспекте. Помимо многочисленных хромосомных реаранжировок, при РМП идентифицированы генетические альтерации в более чем 50 онкогенах и генах-супрессорах опухолевого роста [16, 17]. Хотя стоит отметить, что анализ транскриптома ускорил процесс классификации РМП, а также определение прогностических и предиктивных факторов, позволяющих оптимизировать выбор терапии [18, 19].

Не менее серьезной проблемой в истории разработки молекулярной классификации РМП стали разные методологические аспекты проведенных ранее исследований – для классификации РМП были использованы разные по размеру и составу выборки пациентов, разные методы, генные классификаторы и биомаркеры. Тем не менее, накопленные на сегодня данные позволяют все-таки говорить о возможности выделения разных молекулярных подтипов РМП, имеющих свой морфологический и молекулярный портрет и характеризующихся разным прогнозом и чувствительностью к терапии.

История молекулярного типирования РМП

Первые попытки разработать молекулярную классификацию РМП были предприняты еще в начале 2000-х гг., однако серьезно обсуждать данный вопрос стали в период 2010 – 2014 гг., когда несколько исследовательских групп представили результаты независимых исследований. К наиболее известным и значимым относятся классификации BCM, UNC, MDA, TCGA и Лунда [20–25]. Каждая из этих классификаций насчитывает несколько версий и представляет разное количество молекулярных подтипов (рис. 1).

В 2012 г. группа исследователей из Медицинского колледжа Бейлора предложила классификацию, которая базировалась на данных о программе стандартной дифференцировки клеток уротелия [26]. Согласно базовой концепции, исходным источником линии клеток уротелия являются самообновляющиеся стволовые клетки (СК), экспрессирующие цитокератин 14 (KRT14) – KRT14/Thy-1/CD44. Они дают начало всем остальным клеткам уротелия. Процесс дифференцировки клеток уротелия начинается с экспрессии набора KRT5/KRT17/CD44, на следующем этапе клетки приобретают экспрессию KRT8/18, а терминально дифференцированные эпителиоциты поверхностного слоя уротелия (клетки-зонтики) экспрессируют уроплакины и KRT20 [27]. Авторы обнаружили, что экспрессия KRT14 при отсутствии KRT5 и KRT20 в клетках РМП ассоциирована с наиболее низким уровнем дифференцировки РМП и худшим прогнозом [17, 28]. Исходя из уровня дифференцировки опухолевых клеток, было предложено выделить три подтипа РМП: базальный, промежуточный (с промежуточным уровнем дифференцировки) и дифференцированный. Более того, авторы показали прогностическую значимость экспрессии маркеров раковых СК, включая KRT14, ALDH1A1 и p63 [29]. Позже было доказано, что группа KRT14⁺ опухолей (базальный подтип) резистентна к неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) цисплатином [18]. Используя 18-генный классификатор, включавший маркеры дифференцировки, авторы подтвердили, что базальноклеточные опухоли действительно богаты стволовыми и прогениторными клетками уротелия, экспрессирующими такие маркеры, как KRT14/5/17, CD44 и CD49, а также сигнальные молекулы EGFR, JAK2 и STAT3 [28, 29].

В классификации UNC исследовательская группа, по аналогии с классификацией РМЖ, предложила выделение базального и люминального подтипов [30]. Каждый из этих подтипов характеризовался экспрессией соответствующих сигнатур. Набор маркеров базального подтипа включал CD44, KRT5, KRT6, KRT14, CDH3. Люминальный подтип характеризовался экспрессией CD24, FOXA1, GATA3, ERBB2, ERBB3, XBP1 и KRT20 [12, 20]. Кроме того, авторы показали, что для базального подтипа РМП характерно нарушение в генах RB1 и NFE2L2, тогда как в люминальных опухолях преобладали альтерации генов FGFR3 и KDM6A [21]. Позже в этой классификации был выделен еще один подтип – с низкой экспрессией клаудина [27, 30].

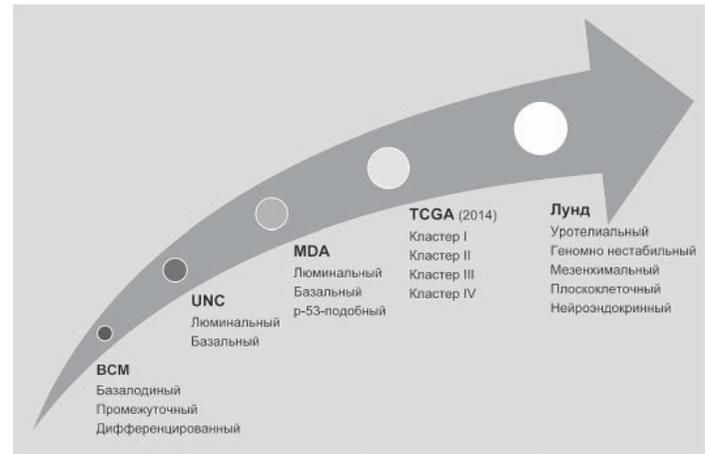


Рис. 1. Эволюция молекулярных классификаций РМП.

Классификация, разработанная группой исследователей MDA, исходно предусматривала выделение трех молекулярных подтипов: люминальный, базальный и p53-подобный [20]. Позже было выделено еще два подтипа. В результате классификация была расширена до пяти подтипов: люминальный, люминальный–p53, базальный, базальный–p53 и дважды–негативный [21].

Независимо от этого группа TCGA провела полноэкзомное секвенирование опухолей 130 пациентов с РМП, идентифицировав при этом 39,312 соматических мутаций (включая 38,012 точечных мутаций и 1,138 инсерций/делеций) и установив, что в среднем в пределах одной карциномы встречается 7.7 или 5.5 на Mb точечных мутаций [18, 19, 22]. Помимо уже известных генетических альтераций, группа TCGA идентифицировала вовлечение ряда других генов, альтерации которых имели клиническую значимость при РМП. К ним относятся: MLL (27%), CDKN1A (14%), ERCC2 (12%), STAG2 (11%), RXR (9%), ELF3 (8%), NFE2L2 (8%), KLF5 (8%), TXNIP (7%), FOXQ1 (5%), RHOV (5%), FOXA1 (5%), PAIP1 (5%), BTG2 (5%), ZFP36L1 (5%), RHOA (4%) и CCND3 (4%). В результате кластеризации данных mRNA, miRNA и данных протеомического анализа сигнальных путей в рамках проекта TCGA версии 2014 г. было идентифицировано четыре молекулярных подгруппы МРМП: опухоли кластеров I, II, III и IV. Кластер I («папиллярноподобный» тип) включал опухоли с папиллярной морфологией, характеризующиеся высокой частотой мутаций или амплификаций FGFR3 при низкой экспрессии miR-99a и miR-100, ограничивающих FGFR3 сигнализацию [22, 29]. Опухоли с альтерациями FGFR3 могут отвечать на ингибиторы FGFR или мишени нисходящего сигнального потока. Уротелиальные карциномы кластеров I и II экспрессировали маркеры уротелиальной дифференцировки, включая уроплакины (например, UPK3A). Но в то же время эти опухоли экспрессировали маркеры GATA3 и FOXA1, типичные для люминального типа А карцином молочной железы [17]. Кроме того, РМП кластеров I и II часто имел высокий уровень экспрес-

сии HER2 (ERBB2) и повышенный уровень экспрессии эстрогеновых рецепторов бета (ESR2), что определяет его потенциальную чувствительность к гормональной терапии, включая тамоксифен и ралоксифен, а также к ингибиторам HER2 [23]. Кластер III РМП («базально/плоскоклеточно-подобный») имел характеристики, схожие с базальным типом РМЖ, плоскоклеточным раком головы и шеи, а также раком легких [16, 22]. Кластер IV имел признаки эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ), экспрессировал низкий уровень E-кадгерина и miR-200 [23]. При всех преимуществах классификация TCGA имела один важный недостаток – продвинутый анализ геномных альтераций и сигнатур опухолевых клеток не учитывал тот важный факт, что опухоль исходно является гетерогенной системой, которая включает не только опухолевые клетки, но и клетки микроокружения. Эти недочеты были устранены в версии классификации TCGA 2017 г. (см. ниже).

Важным шагом в развитии концепции молекулярной классификации РМП стала классификация группы исследователей Университета Лунда, которая учитывала характеристики как клеток опухоли, так и опухолевого микроокружения [15, 24]. Исходная версия классификации Лунда включала пять молекулярных подтипов: уротелиоподобный, геномно нестабильный, инфильтрированный (мезенхимальный), плоскоклеточный и нейроэндокринный. Стоит отметить, что 2/3 пациентов когорты Лунда имели МНИ РМП. И в этом состоит ключевое отличие классификации Лунда от предыдущих классификаций UNC, MDA и TCGA. В конечном итоге оказалось, что разные классификации имеют разное применение: классификация Лунда разработана для всех видов РМП [15, 25], тогда как классификации UNC, MDA и TCGA предназначены исключительно для МИ РМП [23, 25, 26, 31]. Кроме того, ряд проектов был направлен на разработку молекулярной классификации МНИ РМП [32, 33].

Универсальная молекулярная классификация РМП

Примером универсальной молекулярной классификации РМП, включая МНИ и МИ РМП, является классификация группы Университета Лунда. Молекулярные подтипы по версии Лунда учитывают не только специфику геномной экспрессии, но и гистологические параметры и биологические характеристики опухолей, включая маркеры пролиферации, гистогенетической дифференцировки, сигнатуры клеток опухолевого микроокружения (T-лимфоцитов, миелоидных клеток, компонентов внеклеточного матрикса) [1, 7, 15, 26]. В основе алгоритма данной классификации предусмотрено определение гистогенетического происхождения опухолевых клеток по следующим направлениям дифференцировки: уротелиальная, плоскоклеточная, мезенхимальная, нейроэндокринная [24]. На основе этого были выделены следующие молекулярные подтипы: уротелиальный (маркеры: FGFR3⁺, CCND1⁺, RB1⁺, p16⁻), геномно нестабильный (маркеры: FGFR3⁻, CCND1⁻, RB1⁻, p16⁺), мезенхимальный / инфильтрированный (Vim⁺, Zeb2⁺, CDH1⁻, EpCAM⁻), плоскокле-

точный (KRT5⁺, KRT14⁺, FOXA1⁻, GATA3⁻), нейроэндокринный (TUBB2B⁺, EPCAM⁺, CDH1⁻, GATA3⁻).

Дальнейшие работы в этой сфере привели к выделению дополнительных подклассов опухолей в рамках уротелиального (люминального) типа [15, 25]. Кроме того, в последние годы проведены масштабные исследования, направленные на интеграцию накопленных разными группами данных. Одним из таких исследований является работа T. Z. Tan и соавторов, выполненная на основе анализа данных 2411 пациентов с включением как МНИ РМП, так и МИ РМП, и дающая представление о выживаемости пациентов с разными молекулярными прототипами РМП и клинически значимых молекулярных мишенях для персонализированной терапии [31]. Предложенные авторами данной работы молекулярные подтипы включают следующие варианты.

Папиллярно-подобный. Характерен преимущественно для МНИ РМП. Медиана общей выживаемости (ОВ) – более 135 мес. Этот подтип характеризовался высокой экспрессией генов уротелиальной дифференцировки и высокой частотой мутаций и амплификаций FGFR3.

Люминально-подобный. Определялся преимущественно у пациентов с МНИ РМП. Медиана ОВ – 91,7 мес. Характеризовался активацией MAPK-ассоциированных сигнальных путей и имел более высокую частоту мутаций KRAS и KMT2 C/D в сравнении с другими подтипами.

HER2-подобный. Медиана ОВ – 107,7 мес. Определялся как у пациентов с МНИ РМП, так и у пациентов с МИ РМП. Характеризовался повышением экспрессии или амплификацией ERBB2.

Мезенхимально-подобный. Демонстрировал выраженную стромальную инфильтрацию, имел высокий уровень AXL-ассоциированного сигналинга. Медиана ОВ – 86,6 мес.

Плоскоклеточный. Медиана ОВ – 20,6 мес. Был характерен для пациентов с МИ РМП и демонстрировал повышенные уровни экспрессии PD1, CTLA4, а также инфильтрацию M2-макрофагами.

Нейроподобный. Определялся у пациентов с МИ РМП. Медиана ОВ – 87 мес. Характеризовался высоким уровнем экспрессии молекул WNT/β-катенин сигнального каскада.

Несмотря на достаточно полноценную картину, представленную общей молекулярной классификацией РМП, стоит отметить, что исходно задачи молекулярно-генетического типирования МНИ РМП и МИ РМП отличаются [13, 20, 23, 26, 32, 34]. Учитывая тот факт, что у части больных МНИ РМП имеет риск прогрессии в МИ РМП, анализ генетической экспрессии при МНИ РМП направлен в первую очередь на поиск прогностических биомаркеров, тогда как при МИ РМП наиболее важным является вопрос о выборе терапии, что предусматривает акцент на определении предиктивных биомаркеров.

Молекулярные подтипы МНИ РМП

Большинство существующих версий молекулярных классификаций посвящены МИ РМП. И хотя это один из наиболее агрессивных вариантов карцином, все-таки

Таблица 1. Молекулярные подтипы МНИ РМП

Признаки	Классы		
	1 (люминальный)	2 (геномно нестабильный)	3 (базальный)
Люминальная дифференцировка	UPKs PPARG BAMBI SPINK1	UPKs PPARG KRT20 GRHL3 BAMBI SPINK	GATA3
Базальная дифференцировка		KRT14	KRT4 KRT14 KRT15 CD44
Раковые СК	SHH RPSA, ALDH1A3 ITGA6	PROM1, ALDH1A1-1A3 NES PLK1 SOX9 TWIST1 FOXF1 ZEB1 ZEB2 GATA4 CDC20 CDC25A CDKs PLK1	ITGA6
Эпителиально-мезенхимальная трансформация		CIS+ TP3 ERCC2 APOBEC-мутационные сигналы	
Регуляторы клеточного цикла	CCND1 ID1 RBL2		
Молекулярные сигнатуры			BASE47+
Мутации	FGFR3		Сигнатуры РНК-редактирования

более 75% наблюдений РМП представлено МНИ карциномами [14, 17]. В то же время, несмотря на более благоприятный прогноз, у 70% больных МНИ РМП рецидивирует и, кроме того, у около 15 – 20% больных прогрессирует в МИ РМП. В связи с этим, с клинической точки зрения, именно МНИ РМП весьма значим, и классификация данного вида опухолей в первую очередь направлена на корректную оценку прогноза.

МНИ опухоли растут в полость МП с минимальным вовлечением окружающих тканей, что делает их удобными для глобальной оценки экспрессии генов с возможностью четкого описания фенотипа опухолевых клеток [3, 14]. При прочих равных условиях (возраст, статус курения) общая мутационная нагрузка при МНИ РМП приблизительно в 3 – 4 раза ниже, чем при МИ РМП [35].

Первые попытки классификации МНИ РМП были предприняты С. D. Hurst и соавторами, которые на основе хромосомного и мутационного анализа выделили два геномных подтипа МНИ РМП [25]: GS1 – с редкими хромосомными аномалиями, высокой частотой мутаций в генах ремоделирования хроматина и благоприятным прогнозом; GS2 – с утратой хромосомы 9q, высокой мутационной нагрузкой и экспрессией mTORC1. Последнее связывают с утратой при делеции хромосомы 9q гена TSC1, кодирующего транскрипционный регулятор mTORC1. Высокая мутационная нагрузка и увеличение активности mTORC1 в свою очередь ассоциированы с усилением синтеза липидов и нуклеотидов, а также усилением аэ-

робного гликолиза. GS2–опухоли имели более высокую степень злокачественности и агрессивное течение, что негативно отражалось на показателях ОВ.

В то же время J. Nedegaard и соавторы провели комплексный транскрипционный анализ 460 МНИ уротелиальных опухолей в рамках проекта UROMOL, выделив три их ключевых класса, имеющие разные морфологические характеристики и клинические исходы [24]. Ключевые различия между этими классами заключаются в особенностях экспрессии регуляторов таких ключевых биологических процессов, как клеточный цикл, ЭМТ и дифференцировка. Анализ вариантов транскриптов выявил частые мутации в генах, кодирующих регуляторы организации хроматина и цитоскелета. Кроме того, в опухолях с высокой степенью риска обнаружены мутации в TP53 и ERBB2, а также APOBEC–ассоциированные мутационные сигнатуры [24, 36].

Классы 1 и 2 характеризовались уротелиальной морфологией и экспрессией уроплакинов, характерных для люминальных клеток–зонтиков. Ключевое различие заключалось в том, что опухоли класса 1 (уротелиальный/люминальный тип) имели высокую экспрессию ранних генов клеточного цикла и благоприятный прогноз, а опухоли класса 2 (геномно нестабильный тип) характеризовались экспрессией поздних генов–регуляторов клеточного цикла и неблагоприятным прогнозом. При этом высокая экспрессия поздних генов–регуляторов клеточного цикла была ассоциирована с агрессивностью карцином.

Таблица 2. Молекулярные подтипы МИ РМП (по TCGA 2017)

Нормальная слизистая оболочка МП				
Высокая экспрессия уротелиальных (люминальных) маркеров: KRT20, PPARG, FOXA1, GATA3, ERBB2, уроплакинов				
Низкая экспрессия маркеров базально/плоскоклеточной дифференцировки: CD44, KRT5, KRT14, DSC3, TP63, EGFR				
Люминальный подтип (60%)			БКК/ПКК-подобный	НЭ-подобный
люминальный папиллярный	люминальный инфильтрированный	люминальный	базально/плоскоклеточный	нейроэндокриноподобный
35%	19%	6%	35%	5%
Наиболее благоприятный прогноз		Чаще у женщин		Наиболее неблагоприятный прогноз
Гистология				
Папиллярная морфология	Значительная инфильтрация стромальными клетками	Сохранена уротелиальная дифференцировка	Базальноклеточная или плоскоклеточная дифференцировка Инфильтрация лимфоцитами Часто ассоциация с CIS	Мелкоклеточный фенотип, характерный для нейроэндокринных опухолей Высокая пролиферация
Молекулярные биомаркеры				
Альтерации FGFR3 Активный SHH-сигнальный путь Редко CIS Низкая TMB Слабая реакция матрикса Низкий уровень гиперметилирования Делеции CDKN2A miR200 и CDH1 ↓ miR-99 и miR100	Соответствует кластеру II TCGA (2014) Высокая экспрессия мезенхимальных сигнатур Маркеры ЭМТ Умеренная экспрессия иммунных маркеров: PD0L1, CTLA4	Высокая экспрессия уроплакинов и SNX31 KRT20	↑ экспрессия: CD44, KRT5, KRT14, DSC3, TP63, EGFR ↓ экспрессия: KRT20, PPARG, FOXA1, GATA3, ERBB2, уроплакинов Потеря SHH-сигнализации Мутации TP53	Высокая экспрессия генов, определяющих нейроэндокринную дифференцировку
Рекомендации в отношении лечения				
Низкий ответ на HAXT FGFR3-ингибиторы Ранняя цистэктомия без HAXT	Низкий ответ на HAXT Ингибиторы иммунных контрольных точек	HAXT или таргетная терапия Или ингибиторы иммунных контрольных точек	Ингибиторы иммунных контрольных точек HAXT на основе цисплатина	Этопозид плюс ХТ на основе цисплатина

Характерной также была экспрессия маркеров раковых стволовых клеток (включая ALDH1A1, ALDH1A2, PROM1, NES, THY1), регуляторов ЭМТ, ферментов репарации ДНК, а также альтерации в семействах генов MAPK/ERK и ERBB. В опухолях класса 3 (базальноклеточный вариант) определялась экспрессия маркеров, типичных для базалоидного варианта МИ РМП (KRT5+, KRT14+, CD44+, KRT20- и PPARG-) [37]. Кроме того, в опухолях классов 2 и 3 определялась также экспрессия KRT14, считающегося марке-



Рис. 2. Молекулярные подтипы РМП (согласно таксономической классификации МИ РМП).

ром наиболее недифференцированных клеток (табл. 1).

Недавно был опубликован результат второй фазы проекта UROMOL, выполненной на обновленной когорте, включавшей 537 пациентов с МНИ РМП, с использованием мультиплексной иммунофлюоресценции, направленной на идентификацию в опухоли Т-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), Т-регуляторных клеток (Treg), макрофагов, В-лимфоцитов и клеток карциномы, экспрессирующих МНС [38]. Это исследование позволило дополнить предыдущую классификацию за счет выделения в рамках класса 2 двух подтипов – 2a и 2b. Опухоли класса 2a имели наиболее неблагоприятный прогноз, тогда как опухоли класса 2b характеризовались высоким уровнем инфильтрации иммунными клетками. У этих пациентов показатели ОВ были лучше, чем у пациентов с опухолями класса 2a. В заключение стоит отметить, что разработанная для МНИ РМП классификация является прогностической и не имеет предиктивного значения.

Молекулярная классификация МИ РМП

Проведенные в 2014 г. исследования в отношении молекулярной классификации МИ РМП, а также результаты классификации Лунда стали основой пересмотра классификации TCGA с привлечением дополнительной когорты пациентов. В результате в 2017 г. вышла в свет обнов-

Таблиця 3. Характеристика молекулярних підтипів МІ РМП згідно консенсусної класифікації

Молекулярні підтипи	Генетическі зміни	Гістологія	ІГХ-маркери	Клінічні характеристики, лікування
Люмінальний папілярний	Експресія ↑ FGFR3 ↓ CDKN ↑ FOXA1 ↑ GATA3 Мутації FGFR3 (40%) KDM6A (38%) STAG2 (22%)	Папілярна морфологія	E-cadherin+ UPK-1-3+ KRT20+ P-cadherin+ KRT5+ (basal)	НМІ РМП РМП стадія 2 ОВ - 4 роки Мишені терапії: FGFR3 ERBB2 EGFR+
Люмінальний неспецифічний	Експресія ↑ PPARγ ↑ RXRA ↑ GATA3 ↑ FOXA1 ↑ FOXM1 Мутації ELF3 (35%)	Мікропапілярний варіант	E-cadherin+ UPK-1-3+ KRT20+ P-cadherin- KRT5-	Пацієнти в віці 80 років і старші ОВ – 1,8 років Мишені терапії: ERBB2 EGFR+ FGFR3
Люмінальний нестабільний	Експресія ↑ PPARγ ↑ E2F3 ↑ ERBB2 APOBEC+ Мутації TP53 (76%) ERCC2 (22%) TMB+	Варіабельна морфологія	E-cadherin+ UPK-1-3+ KRT20+ P-cadherin- KRT5-	ОВ – 2,9 років Мишені терапії: імунні чек-поінти
Мезенхімальний (багатий стромою)	Експресія ↑ SNAIL ↑ ZEB2	Многостромальні клітини: фібробласти, міофібробласти, гладкі міоцити, В-лімфоцити	E-cadherin- Vimentin +	ОВ – 3,8 років Мишені терапії: імунні чек-поінти
Базально/плоскоклеточний	↑ EGFR+ ↑↑ STAT3, ↑↑↑ FOXM1 ↓↓ PPARG, ↓↓ GATA3, ↓↓ FOXA1- Мутації TP53 (61%) RB1 (25%)	Плоскоклеточна диференціація Лімфоцитарна інфільтрація: CD8+ лімфоцити, NK клітини	P-cadherin+ KRT5+ KRT14+ GATA3- FOXA1- E-cadherin- UPK1-3- KRT20-	Чаще у жінок Стадія 3-4 ОВ – 1,2 роки Мишені терапії: імунні чек-поінти ХТ
Нейроендокринний	Експресія ↑ онкогени Мутації TP53 (94%) RB1 (39%)	Мелкоклеточні карциноми з нейроендокринною диференціацією		Найгірший прогноз ОВ – 1 рік ІТ? ХТ?

ленна класифікація TCGA, передбачаюча виділення п'яти молекулярних підтипів МІ РМП, відрізняються не тільки генетическими сигнатурами і маркерами, але і морфологією, прогнозом і чутливістю до різних варіантів терапії (табл. 2) [39]. Потрібно відзначити, що дана класифікація отримала високу популярність і була ініційована ряд досліджень по її валідації [40 – 43].

Однак історія молекулярного типізування МІ РМП на цьому не завершилася. Спільні дослідження на протязі декількох років 20 дослідницьких груп з 10 країн привели до розробки єдиної консенсусної класифікації МІ РМП, представленої в 2019 г. Ця класифікація розроблена на основі аналізу даних генома, транскриптома і протеома 1750 опухольок з урахуванням патогістологічних і клінічних даних [31].

Згідно консенсусної класифікації, МІ РМП представлено шістьма класами: люмінальний папілярний (24%), люмінальний неспецифічний (8%), люмінальний генетически нестабільний (15%), мезенхімальний (багатий стромою) (15%), базальний/плоскоклеточний (35%), нейроендокринний (3%).

Ці класи відрізняються по механізмах канцерогенезу, вираженості інфільтрації імунними і стромальними клітинами, а також гістологіческими і клініческими характеристиками (рис. 2; табл. 3).

Дана класифікація є більш повною і відображає як біологіческі, так і клініческі аспекти РМП. Більш того, вона охоплює широкую гетерогенність молекулярно-генетических порушень, спостережуваних при РМП. І це дозволяє розраховувати на ефективність її застосування при виборі індивідуалізованої страте-

гии лечения пациентов с РМП. При этом классификация дает четкое представление о взаимосвязях между морфологическим фенотипом и молекулярным подтипом РМП.

Однако, празднуя успех, не стоит забывать об ограничениях применения молекулярной классификации РМП. Во-первых, в основе молекулярной классификации лежит анализ данных транскриптомики на основе оценки экспрессии РНК, что оптимально при использовании замороженных тканей, тогда как в стандартной практике работают с фиксированным в формалине и залитым в парафиновые блоки материалом [39, 40]. Второе важное ограничение заключается в том, что молекулярное субтипирование РМП до и после НАХТ может дать совершенно разные результаты [41]. И наконец, ответ МИ РМП на терапию может зависеть от экспрессии дополнительных генов, анализ которых не предусмотрен классификаторами [43].

Таким образом, внедрение молекулярной классификации РМП требует проведения дальнейших валидационных исследований.

Подтверждение

Финансирование. Подготовка данного обзора не требовала финансирования.

Вклад каждого автора. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке данного обзора. Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Согласие на публикацию. Все авторы дали согласие на публикацию данной рукописи.

References

- Aine M, Eriksson P, Liedber F, Sjö Dahl G, Höglund M. Biological determinants of bladder cancer gene expression subtypes. *Sci Rep*. 2015;5:10957. doi: 10.1038/srep10957.
- Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer*. 2015;15(1):25–41. doi: 10.1038/nrc3817.
- Bernardo C, Eriksson P, Marzouka N, Liedberg F, Sjö Dahl G, Höglund M. Molecular pathology of the luminal class of urothelial tumors. *J Pathol*. 2019;249(3):308–18. doi: 10.1002/path.5318.
- Aine M, Eriksson P, Liedberg F, Höglund M, Sjö Dahl G. On Molecular Classification of Bladder Cancer: Out of One, Many. *Eur Urol*. 2015;68(6):921–3. doi: 10.1016/j.eururo.2015.07.021.
- Lerner SP, McConkey DJ, Hoadley KA, Chan KS, Kim WY, Radvanyi F, et al. Bladder cancer molecular taxonomy: summary from a consensus meeting. *Bladder Cancer*. 2016;2(1):37–47. doi: 10.3233/BLC-150037.
- Weinstein J, Akbani R, Broom B, Wang W, Verhaak RGW, McConkey D, et al. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*. 2014;507(7492):315–22. doi:10.1038/nature12965.
- McConkey DJ, Choi W, Dinney CP. New insights into subtypes of invasive bladder cancer: Considerations of the clinician. *Eur Urol*. 2014;66(4):609–10. doi: 10.1016/j.eururo.2014.05.006.
- Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD, Fan C, Tiganelli CJ, Wobker SE, et al. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(8):3110–15. doi: 10.1073/pnas.1318376111.
- Sulaieva ON, Stakhovskiy OE, Shapochka DO, Seleznev AA. Molecular pathology of urothelial carcinoma: prognostic and predictive biomarkers. *Practical oncology*. 2019;2(4):29–40. doi: 10.22141/2663–3272.2.4.2019.195. [In Ukrainian].
- Mo Q, Nikolos F, Chen F, Tramel Z, Lee Y–C, Hayashi K, et al. Prognostic Power of a Tumor Differentiation Gene Signature for Bladder Urothelial Carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst*. 2018;110(5):448–59. doi: 10.1093/jnci/djx243.
- Biton A, Bernard–Pierrot I, Lou Y, Krucker C, Chapeaublanc E, Rubio–Pérez C, López–Bigas N, et al. Independent analysis uncovers the landscape of the bladder tumor transcriptome and reveals insights into luminal and basal subtypes. *Cell Rep*. 2014;9(4):1235–45. doi: 10.1016/j.celrep.2014.10.035.
- Eriksson P, Aine M, Veerla V, Liedberg F, Sjö Dahl G, Höglund M. Molecular subtypes of urothelial carcinoma are defined by specific gene regulatory systems. *BMC Medical Genomics*. 2015;8:25. doi: 10.1186/s12920–015–0101–5.
- Sjö Dahl G, Lövgren K, Lauss M, Patschan O, Gudjonsson S, Chebil G, et al. Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. *Am J Pathol*. 2013;183(3):681–91. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.05.013.
- Fishwick C, Higgins J, Percival–Alwyn L, Hustler A, Pearson J, Bastkowski S, et al. Heterarchy of transcription factors driving basal and luminal cell phenotypes in human urothelium. *Cell Death Differ*. 2017;24(5):809–18. doi: 10.1038/cdd.2017.10.
- Warrick JI, Sjö Dahl G, Kaag M, Raman JD, Merrill S, Shuman L, et al. Intratumoral Heterogeneity of Bladder Cancer by Molecular Subtypes and Histologic Variants. *Eur Urol*. 2019;75(1):18–22. doi: 10.1016/j.eururo.2018.09.003. doi: 10.1016/j.eururo.2018.09.003.
- Chan KS, Espinosa I, Chao M, Wong D, Ailles L, Diehn M, et al. Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor–initiating cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(33):14016–21. doi: 10.1073/pnas.0906549106.
- Choi W, Porten S, Kim SS, Willis D, Plimack ER, Hoffman–Censits J, et al. Identification of Distinct Basal and Luminal Subtypes of Muscle–Invasive Bladder Cancer with Different Sensitivities to Frontline Chemotherapy. *Cancer Cell*. 2014;25:152–65. doi: 10.1016/j.ccr.2014.01.009.
- Hurst CD, Platt FM, Taylor CF, Knowles MA. Novel tumor subgroups of urothelial carcinoma of the bladder defined by integrated genomic analysis. *Clin Cancer Res*. 2012;18(21):5865–77. doi: 10.1158/1078–0432.CCR–12–1807.
- Choi W, Czerniak B, Ochoa A, Su X, Siefker–Radtko A, Dinney C, et al. Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle–invasive bladder cancer. *Nat Rev Urol*. 2014;11(7):400–10. doi: 10.1038/nrurol.2014.129.
- Sjö Dahl G. Molecular Subtype Profiling of Urothelial Carcinoma Using a Subtype–Specific Immunohistochemistry Panel. *Methods Mol Biol*. 2018;1655:53–64. doi: 10.1007/978–1–4939–7234–0_5. doi: 10.1007/978–1–4939–7234–0_5.
- Thomsen MBH, Nordentoft I, Lamy P, Vang S, Reinert L, Mapenda–CK, et al. Comprehensive multiregional analysis of molecular heterogeneity in bladder cancer. *Sci. Rep*. 2017;7(1):11702. doi: 10.1038/s41598–017–11291–0.
- Lindgren D, Sjö Dahl G, Lauss M, Staaf J, Chebil G, Lövgren K, et al. Integrated genomic and gene expression profiling identifies two major genomic circuits in urothelial carcinoma. *PLoS One*. 2012;7(6):e38863. doi: 10.1371/journal.pone.0038863.
- Robertson AG, Kim J, Al–Ahmadie H, Bellmunt J, Guo G, Cherniack AD, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle–Invasive Bladder Cancer. *Cell*. 2017;174(4):540–56.e25. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.036.
- Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, Algaba F, Høyer S, Ulhøi BP, et al. Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma. *Cancer Cell*. 2016;30(1):27–42. doi: 10.1016/j.ccell.2016.05.004.
- Hurst CD, Alder O, Platt FM, Droop A, Stead LF, Burns JE, et al. Genomic subtypes of non–invasive bladder cancer with distinct metabolic profile and female gender bias in KDM6A mutation frequency. *Cancer Cell*. 2017;32(5):701–15. doi: 10.1016/j.ccell.2017.08.005.

26. Sjö Dahl G, Lauss M, Lovgren K, Chebil G, Gudjonsson S, Veerla S, et al. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2012;18(12):3377–86. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T.
27. Sjö Dahl G, Eriksson P, Liedberg F, Höglund M. Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour–cell phenotype classification. *J Pathol.* 2017;242(1):113–25. doi: 10.1002/path.4886. doi: 10.1002/path.4886.
28. Ho PL, Kurtova A, Chan KS. Normal and neoplastic urothelial stem cells: Getting to the root of the problem. *Nat Rev Urol.* 2012;9(10):583–94. doi: 10.1038/nrurol.2012.142.
29. Volkmer JP, Sahoo D, Chin RK, Ho PL, Tang C, Kurtova AV, et al. Three differentiation states risk–stratify bladder cancer into distinct subtypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(6):2078–83. doi:10.1073/pnas.1120605109
30. Adam RM, DeGraff DJ. Molecular mechanisms of squamous differentiation in urothelial cell carcinoma: A paradigm for molecular subtyping of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urol Oncol.* 2015;33(10):444–50. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.06.006.
31. Tan TZ, Rouanne M, Tan KT, Huang RY–J, Thiery J–P. Molecular Subtypes of Urothelial Bladder Cancer: Results from a Meta–cohort Analysis of 2411 Tumors. *Eur. Urol.* 2019;75(3):423–32. doi: 10.1016/j.eururo.2018.08.027.
32. Seiler R, Ashab HAD, Erho N, Rhijn BWG., Winters B, Douglas J, et al. Impact of Molecular Subtypes in Muscle–invasive Bladder Cancer on Predicting Response and Survival after Neoadjuvant Chemotherapy. *Eur Urol.* 2017;72(4):544–54. doi: 10.1016/j.eururo.2017.03.030.
33. Koga F, Takemura K, Fukushima H. Biomarkers for Predicting Clinical Outcomes of Chemoradiation–Based Bladder Preservation Therapy for Muscle–Invasive Bladder Cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):E2777. doi: 10.3390/ijms19092777.
34. Patschan O, Sjö Dahl G, Chebil G, Lövgren K, Lauss M, Gudjonsson S, et al. A Molecular Pathologic Framework for Risk Stratification of Stage T1 Urothelial Carcinoma. *Eur Urol.* 2015;68(5):824–32. doi: 10.1016/j.eururo.2015.02.021.
35. Rodriguez PMDC, Chau A, Eich ML, Tregnago AC, Taheri D, Borhan W, et al. Immunohistochemical assessment of basal and luminal markers in non–muscle invasive urothelial carcinoma of bladder. *Virchows Arch.* 2019;475(3):349–56. doi: 10.1007/s00428–019–02618–5.
36. Marzouka N, Eriksson P, Rovira C, Liedberg F, Sjö Dahl G, Höglund MA. Validation and extended description of the Lund taxonomy for urothelial carcinoma using the TCGA cohort. *Sci Rep.* 2018;8(1):3737. doi: 10.1038/s41598–018–22126–x.
37. Kim J, Kwiatkowski D, McConkey DJ, Meeks JJ, Freeman SS, Bellmunt J, et al. The Cancer Genome Atlas Expression Subtypes Stratify Response to Checkpoint Inhibition in Advanced Urothelial Cancer and Identify a Subset of Patients with High Survival Probability. *Eur Urol.* 2019;75(6):961–64. doi: 10.1016/j.eururo.2019.02.017.
38. Todenhöfer T, Seiler R. Molecular subtypes and response to immunotherapy in bladder cancer patients. *Transl Androl Urol.* 2019;8(Suppl 3):S293–S295. doi: 10.21037/tau.2019.06.21.
39. Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y, Sjö Dahl G, Robertson AG, Seiler R, et al. A consensus molecular classification of muscle–invasive bladder cancer *European urology.* 2019;pii:S0302–2838(19)30695–5. doi: 10.1101/488460
40. McConkey DJ, Choi W. Molecular Subtypes of Bladder Cancer. *Curr Oncol Rep.* 2018;20(10):77. doi: 10.1007/s11912–018–0727–5.
41. Satyal U, Sikder RK, McConkey D, Plimack ER, Abbosh PH. Clinical implications of molecular subtyping in bladder cancer. *Curr Opin Urol.* 2019;29(4):350–56. doi: 10.1097/MOU.0000000000000641.
42. Yoshihara K, Shahmoradgoli M, Martínez E, Vegesna R, Kim H, Torres–García W, et al. Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data. *Nat Commun.* 2013;4:2612. doi: 10.1038/ncomms3612.
43. Song D, Powles T, Shi L, Lirong Z, Ingersoll MA, Lu YL. Bladder cancer, a unique model to understand cancer immunity and develop immunotherapy approaches. *J Pathol.* 2019; 249(2):151–65. doi: 10.1002/path.5306.

Надійшла 24.09.2019