

Биомаркеры, определяющие лечебную тактику при метастатическом уротелиальном раке

Л.Ю. Гривцова¹, О.Б. Карякин¹, М.Г. Сядрин¹, С.М. Самборский¹, С.А. Иванов^{1,2}, А.Д. Каприн^{2,3}

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249031 Обнинск, ул. Королева, 4;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3

Контакты: Станислав Михайлович Самборский samborsky.stas@yandex.ru

Внедрение в клиническую практику инновационных методов лекарственной терапии и биотерапии существенно изменило тактику лечения метастатического уротелиального рака. В настоящее время лечебные схемы успешно дополняются иммунотерапией (ингибиторы иммунных контрольных точек) или таргетной терапией, и эффективность таких комбинаций может быть достаточно высокой, но оптимальную последовательность различных видов лекарственной терапии еще предстоит установить. Для выбора правильной последовательности назначения препаратов необходима разработка алгоритмов с применением надежных биомаркеров. До настоящего времени основополагающими маркерами выбора альтернативных схем лечения при метастатическом уротелиальном раке были экспрессия лиганда программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1) и изменение рецепторов фактора роста фибробластов 1–4-го типов (FGFR1–4). Список полезных и достаточно информативных биомаркеров расширяется. В статье суммированы данные относительно изученных биологических маркеров для выбора тактики лечения метастатического уротелиального рака.

Ключевые слова: метастатический уротелиальный рак, мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, биомаркер, химиотерапия, биотерапия, иммунотерапия, таргетная терапия

Для цитирования: Гривцова Л.Ю., Карякин О.Б., Сядрин М.Г. и др. Биомаркеры, определяющие лечебную тактику при метастатическом уротелиальном раке. Онкоурология 2023;19(2):111–26. DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-2-111-126

Biomarkers determining treatment tactics in metastatic urothelial cancer

L. Yu. Grivtsova¹, O. B. Karyakin¹, M. G. Syadrin¹, S. M. Samborsky¹, S. A. Ivanov^{1,2}, A. D. Kaprin^{2,3}

¹A. F. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 4 Koroleva St., Obninsk 249031, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

³National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinskiy Proezd, Moscow 125284, Russia

Contacts: Stanislav Mihaylovich Samborsky samborsky.stas@yandex.ru

The implementation of innovative methods of drug therapy and biotherapy into clinical practice has significantly changed the treatment tactics for metastatic urothelial cancer. Currently, treatment regimens are successfully supplemented with immunotherapy (immune checkpoint inhibitors) or targeted therapy, and the effectiveness of such combinations can be quite high, but the optimal sequence of different types of drug therapy remains to be established. The development of correct algorithms using reliable biomarkers is necessary to select the correct sequence of prescribing drugs. Until now, the expression of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) and changes in fibroblast growth factor receptors 1–4 (FGFR1–4) have been the fundamental markers for choosing alternative treatment regimens for metastatic urothelial cancer. At the same time, the list of useful and sufficiently informative biomarkers is expanding, and therefore we tried to summarize the available data on the known biological markers for selection of treatment tactics for metastatic urothelial cancer.

Keywords: metastatic urothelial cancer, muscle-invasive bladder cancer, biomarker, chemotherapy, biotherapy, immunotherapy, targeted therapy

For citation: Grivtsova L.Yu., Karyakin O.B., Syadrin M.G. et al. Biomarkers determining treatment tactics in metastatic urothelial cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2023;19(2):111–26. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-2-111-126

Введение

Химиотерапия (ХТ) в лечении пациентов с метастатическим уротелиальным раком (мУР) не дает оптимальных результатов. У пациентов с прогрессирующим заболеванием, которым возможно проведение ХТ 2-й линии, медиана общей выживаемости (ОВ) составляет не более 16 мес [1, 2]. Более точное понимание механизмов, лежащих в основе патогенеза уротелиального рака, привело к внедрению целевых методов лечения. Одобрение ингибиторов иммунных контрольных точек (immune checkpoint inhibitors, ICI) и таргетных препаратов, включая ингибиторы рецептора фактора роста фибробластов (FGFR) или конъюгаты антител против нектина 4, изменило ландшафт лечения мУР [3–11]. Широкий арсенал препаратов для лечения мУР, несомненно, ставит перед клиницистами вопрос выбора терапии, и индикатором выбора должны стать биомаркеры.

Биомаркеры можно подразделить на диагностические и маркеры прогноза ответа на терапию (предиктивные и собственно маркеры прогноза). Предиктивные биомаркеры связаны с ответом на конкретное терапевтическое воздействие, в то время как маркеры прогноза ассоциированы с ответом на лечение вне зависимости от проводимой терапии. Классификация биомаркеров может обновляться по мере изменения лечебных стратегий. Примером этому является трансформация наших взглядов на рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа (ErbB (HER2neu, EGFR)) при раке молочной железы. Изначально выраженная экспрессия данного биомаркера была фактором

неблагоприятного прогноза, однако с появлением эффективных анти-HER2-препаратов выраженная экспрессия маркера стала залогом эффективности таргетной терапии, т. е. предиктивным терапевтическим маркером.

В данном обзоре мы обсудим предиктивные биомаркеры терапии мУР как параметры, которые помогут объективно обосновать выбор конкретного лечебного воздействия.

Предиктивные биомаркеры эффективности химиотерапии

Основой лечебных схем мУР 1-й линии является комбинированная ХТ препаратами платины. Комбинация метотрексата, винбластина, доксорубицина и цисплатина (схема MVAC) улучшает показатели ОВ по сравнению с цисплатином в монорежиме или с комбинацией цисплатин + циклофосфамид + доксорубин [12, 13]. Комбинация гемцитабина и цисплатина (схема GC) имеет аналогичные результаты по показателям выживаемости, но более безопасна [14]. Сегодня ХТ на основе платины — все еще метод выбора для лечения пациентов с прогрессирующим уротелиальным раком при условии отсутствия противопоказаний. Биомаркеры эффективности ХТ важны для определения группы ХТ нереспондеров — пациентов, у которых, несмотря на возможность применения цисплатина, эффективность стандартных режимов будет низкой и кому более выгодным будет назначение альтернативных схем лечения [15–18]. Обобщенные данные по возможным биомаркерам ХТ представлены в табл. 1.

Таблица 1. Биомаркеры эффективности химиотерапии метастатического уротелиального рака. Система репарации ДНК

Table 1. Biomarkers of chemotherapy effectiveness in metastatic urothelial cancer. DNA repair system

Маркер Marker	Значимость Significance
Нуклеотидная эксцизионная репарация (путь NER; восстановление иссеченных нуклеотидов) Nucleotide excision repair (NER pathway; reparation of excised nucleotides)	
ERCC1	<ul style="list-style-type: none">Низкий уровень белка ERCC1 — лучший ответ на терапию цисплатином, увеличение показателя общей выживаемости (25,4 мес против 15,4 мес; $p = 0,03$ (оценка матричной РНК))Гиперэкспрессия белка ERCC1⁺⁺⁺ — худшая выживаемость без прогрессирования (отношение рисков 1,54; 95 % доверительный интервал 1,13–2,11; $p = 0,006$)Low level of ERCC1 protein: best response to cisplatin therapy, increased overall survival (25.4 months versus 15.4 months; $p = 0.03$ (assessment of matrix RNA))Protein hyperexpression ERCC1⁺⁺⁺: worst progression-free survival (hazard ratio 1.54; 95 % confidence interval 1.13–2.11; $p = 0.006$)
ERCC2	Выявление мутации ERCC2 — улучшение клинического и патоморфологического ответа у пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря, получавших в качестве неoadъювантной химиотерапии схему гемцитабин, цисплатин и ниволумаб (HCRN GU16-257) Detection of ERCC2 mutation: improved clinical and pathomorphological response in patients with muscle-invasive bladder cancer receiving gemcitabine, cisplatin and nivolumab (HCRN GU16-257)

Окончание табл. 1
End of table 1

Маркер Marker	Значимость Significance
Гомологичная рекомбинация (HRR) Homologous recombination (HRR)	
<i>BRCA1/2</i>	Выявление мутации <i>BRCA1/2</i> (в 19 % случаев мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря), особенно связанной с SBS5, — лучший ответ на химиотерапию Detection of <i>BRCA1/2</i> mutation (in 19 % of cases of muscle-invasive bladder cancer), especially linked with SBS5: best response to chemotherapy
<i>RAD51</i>	Гиперэкспрессия <i>RAD51</i> — снижение общей выживаемости в когорте пациентов, получающих платину <i>RAD51</i> hyperexpression: decreased overall survival in patient cohort receiving platinum
Другие гены системы репарации ДНК (DDR) и соматические изменения Other DNA damage response (DDR) proteins and somatic changes	
<i>ATM, RBL, FANCC</i>	Мутации в генах <i>ATM, RBL</i> или <i>FANCC</i> — стратификация пациентов на группы респондеров и нереспондеров: 5-летняя общая выживаемость при наличии мутации 85 % против 46 % без мутации в этих генах Mutations in <i>ATM, RBL</i> or <i>FANCC</i> : patient stratification into responders and non-responders; 5-year overall survival 85 % with mutation in these genes versus 46 % without mutation
<i>ERBB2 (HER2new)</i>	Миссенс-мутация гена <i>ERBB2 (HER2new)</i> — лучший ответ на неоадьювантную химиотерапию Missense mutation in <i>ERBB2 (HER2new)</i> gene: best response to neoadjuvant chemotherapy

Пути репарации повреждений ДНК

Цисплатин связывается с ДНК, создавая аддукты и перекрестные связи, которые ингибируют транскрипцию и репликацию ДНК и приводят к апоптозу клетки. В здоровых клетках в ответ на такие повреждения активируются пути повреждений ДНК (DDR), обеспечивая целостность клетки [19]. Для восстановления одноцепочечных повреждений ДНК клетка использует несколько путей: нуклеотидную эксцизионную репарацию (NER), базовую эксцизионную репарацию и репарацию несоответствующих пар оснований. В восстановлении канонических межцепочечных повреждений ДНК задействованы пути анемии Фанкони и пути гомологичной рекомбинации. Мутации в каждом из этих путей или в генах, регулирующих эти пути, ассоциированы с чувствительностью к платине при раке мочевого пузыря (РМП) и могут служить биомаркерами чувствительности к платиносодержащей ХТ.

Нуклеотидная эксцизионная репарация

Соматические мутации генов *ERCC1* и *ERCC2* могут изменять чувствительность опухоли к цисплатину. *ERCC1* — ключевой ген нуклеотидной эксцизионной репарации (пути NER), более низкие уровни которого в опухоли коррелируют с чувствительностью к цисплатину при раке легкого, шейки матки, яичников, желудка, толстой кишки и определяют эффективность адьювантной ХТ на основе платины при немелкоклеточном раке легкого [20–26].

При уротелиальной карциноме и метастатическом процессе с лучшим ответом на терапию цисплатином

в периоперационных схемах были связаны низкие уровни экспрессии гена (оценка матричной РНК (мРНК)) и низкие уровни самого белка на опухолевых клетках, определяемые иммуногистохимическими методами [27–38]. Ретроспективный анализ данных 57 пациентов с мУР, получающих схемы на основе GC, показал, что низкие уровни экспрессии мРНК *ERCC1* коррелировали с лучшей ОВ (25,4 мес против 15,4 мес; $p = 0,03$), а гиперэкспрессия *ERCC1* достоверно снижала выживаемость без прогрессирования ($p = 0,006$) и ОВ [39].

В 10 % случаев мышечно-инвазивного РМП (МИРМП) выявляются мутации гена *ERCC2*, кодирующего одноименный белок. Большинство мутаций *ERCC2* при мУР влияют именно на геликазный домен, снижая активность NER и опосредуя чувствительность к цисплатину [40, 41]. Наличие мутаций *ERCC2* ассоциировано с полным морфологическим ответом и увеличением ОВ после неоадьювантной ХТ на основе цисплатина в независимых когортах МИРМП [41–45]. В случае мУР при анализе данных 245 пациентов было показано, что с ответом коррелирует конкретная сигнатура гена *ERCC2*, а именно SBS5 [46, 47]. В контексте альтернативной 1-й линии терапии следует отметить, что мутации *ERCC2* связаны с клиническим и полным морфологическим ответом у пациентов с МИРМП, получавших в неоадьювантном режиме комбинацию GC с ниволумабом [48].

Известными генами гомологичной рекомбинации являются *BRCA1* и *BRCA2* — маркеры наследственной предрасположенности к раку, а также биомаркеры

чувствительности к ингибиторам поли(АДФ-рибоза)-полимеразы и ХТ на основе платины [49–51].

Соматические изменения *BRCA1/2* присутствуют в 19 % образцов МИРМП, в то время как герминальные мутации *BRCA1/2* выявляются в 2–4 % случаев мУР [52–54]. В отличие от мутаций *BRCA2* уровни экспрессии белка *BRCA1/2* не связаны с исходами у пациентов, получающих платиносодержащие режимы при уротелиальной карциноме [38, 55].

Как предиктивный биомаркер ХТ при мУР исследуется еще один ген — рекомбиназа *RAD51*, регулирующая процессы сопоставления поврежденных нитей с их гомологами [56]. Выявление значительного количества *RAD51* в ядрах опухолевых клеток связано со снижением ОВ пациентов с мУР, получающих цисплатину [55].

На предмет чувствительности к цисплатину исследовались и другие гены путей репарации множественных повреждений ДНК. Секвенирование 287 генов, ассоциированных с различными злокачественными новообразованиями, показало, что мутации в *ATM* (серин/треониновая протеинкиназа, рекрутируется и активируется двунитевыми разрывами ДНК), в корцепторе транскрипции *RBI* (ген ретинобластомы 1) или в *FANCC* (один из генов группы комплементации анемии Фанкони) четко подразделяли пациентов на группы респондеров и нереспондеров ХТ. При этом 5-летняя ОВ пациентов с мутациями *ATM/RBI/FANCC* составила 85 % против 46 % у пациентов без мутаций указанных генов. Возможно, миссенс-мутация *ERBB2* (ген, кодирующий белок ErbB2, тирозинкиназный рецептор 2-го типа), но не амплификация данного гена может быть связана с ответом на неоадьювантную платиносодержащую ХТ [41, 44, 57–59].

Роль биомаркеров ХТ при мУР оценивается и в рамках нескольких клинических исследований. Текущее исследование III фазы CALGB 90601 (NCT00942331) сопоставляет эффективность стандартного режима GC и комбинации GC + бевацизумаб в качестве терапии 1-й линии у 506 пациентов с мУР. Тестируются нескольких потенциальных биомаркеров ХТ — экспрессия в опухоли *ERCC1*, *RAD51*, *RRM1* (каталитическая единица рибонуклеотидредуктазы M1), *BRCA1*, *BRCA2* и кавеолина 1, соматические мутации в гене *ERCC2* и молекулярные подтипы уротелиальной карциномы по классификации центра MD Anderson (базальный, люминальный, p53-подобный) [60].

В 2 исследованиях II фазы оценивается возможность сохранения мочевого пузыря с учетом биомаркеров у пациентов с МИРМП, получающих неоадьювантную ХТ (NCT03609216, NCT02710734). Пациентам с мутациями в системе репарации ДНК (например, в генах *ATM*, *RBI*, *FANCC*, *ERCC2*), достигшим полного клинического ответа на неоадьювантную ХТ, может осуществляться активное наблюдение без проведения цистэктомии. Промежуточный анализ исследования

RETAIN показал, что 33 из 72 пациентов имели мутацию генов *DDR* и 28 из них назначено активное наблюдение [61].

Биомаркеры иммунотерапии

Доказательства пользы иммунотерапии с применением ИС при мУР получены в случае их использования после платиносодержащих режимов ХТ. В исследованиях KEYNOTE-045 и JAVELIN продемонстрировано преимущество в показателях ОВ у пациентов, получающих иммунотерапию в монорежиме в качестве 2-й линии или поддерживающей терапии после платиносодержащей ХТ [7, 8]. Однако в данных исследованиях никакие биомаркеры эффективности не изучались и в такой ситуации высока вероятность «перелеченности» отдельных пациентов, а выявить когорту пациентов без выгоды от ИС можно только на основании комплексного анализа нескольких биомаркеров.

С лучшей ОВ ассоциирована совокупность более высокого бремени опухолевой нагрузки и положительной экспрессии лиганда программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1) при назначении авелумаба в качестве поддерживающей терапии. Полезной для риск-стратификации пациентов может быть сигнатура экспрессии генов, отражающая состояние иммунного гомеостаза опухоли, однако на данный момент такие исследования технически сложно выполнимы [62].

Полезный маркер эффективности лечения, включая иммунотерапию, — минимальная остаточная болезнь — оценка величины остаточной опухоли на основании количества циркулирующих/диссеминированных опухолевых клеток или циркулирующей в крови опухолевой ДНК. Так, оценка количества циркулирующей опухолевой ДНК оказалась значимой для отбора пациентов с МИРМП для адьювантной иммунотерапии [63, 64]. Оценка минимальной остаточной болезни может быть использована при мУР после ХТ для выявления пациентов группы высокого риска, подходящих для проведения поддерживающей терапии ИС.

Суррогатный маркер неэффективности ИС — изменения в рецепторном репертуаре FGFR 2-го и 3-го типов (FGFR2/3). Это логично, поскольку такие изменения, как правило, ассоциированы с люминально-папиллярным подтипом опухоли, демонстрирующим более низкую экспрессию PD-L1 и сниженную инфильтрацию опухоли иммунокомпетентными клетками [65]. Иммуносупрессивное микроокружение подавлено в случае FGFR-измененных опухолей, и эффективность иммунотерапии практически одинакова вне зависимости от статуса FGFR. В исследовании комбинации дурвалумаба с ингибитором FGFR AZD4547 показаны сходные результаты с монотерапией AZD4547 (28,6 % против 31,3 %), что подтверждает ограниченную пользу иммунотерапевтического препарата у пациентов с наличием изменений FGFR [66–68].

Иммунотерапия в монорежиме в качестве терапии 1-й линии продемонстрировала хорошие результаты в исследованиях ранней фазы у пациентов, не получающих цисплатин [69, 70]. Клиническую выгоду от ICI в таком случае получали пациенты, хорошо переносящие карбоплатин (даже без учета экспрессии PD-L1). Однако оценка экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера необходима в случае выбора между монотерапией ICI или ХТ карбоплатином у пациентов, не подходящих для лечения цисплатином. Пациентам с низким уровнем PD-L1 не следует назначать иммунотерапию в 1-й линии, поскольку высок риск ранней смерти (IMvigor130, KEYNOTE-361) [15, 16, 71]. У пациентов с PD-L1⁺-опухолью, не подходящих для лечения цисплатином, возможно проведение предварительной терапии ICI или ХТ карбоплатином с поддержкой иммунопрепаратами, однако окончательного ответа, что из этого предпочтительнее, пока еще нет, как нет и четких биомаркеров выбора.

Изучается эффективность комбинации различных иммунотерапевтических препаратов с ХТ или без нее. Так, комбинация пембролизумаба с ХТ на основе платины не улучшила показатели безрецидивной выживаемости и ОВ в сравнении с ХТ (KEYNOTE-361) [16]. Вместе с тем увеличение безрецидивной выживаемости достигнуто путем комбинации атезолизумаба с платиносодержащей ХТ (IMvigor130) [15]. Комбинация 2 иммунотерапевтических агентов дурвалумаба (PD-L1) и тремелиумаба (анти-CTLA-4) не позволила улучшить показатели ОВ в сравнении с платиносодержащей ХТ с учетом экспрессии PD-L1 (исследование DANUBE) [17, 72].

Экспрессия лиганда программируемой клеточной гибели 1

Метаанализ проспективных исследований показал связь PD-L1 с рентгенологическим ответом на иммунотерапию у пациентов с мУР [73, 74]. Однако среди пациентов с PD-L1⁺-опухолями частота ответов на иммунотерапию в монорежиме варьирует от 20 до 40 % в различных рандомизированных исследованиях [8, 15–17, 75–78]. Причиной этому могут быть погрешности в оценке экспрессии биомаркера, обусловленные техническими и биологическими факторами. Кроме технических проблем первичная опухоль и метастатические очаги могут значительно отличаться по экспрессии PD-L1. Уже понятно, что контролировать клональную эволюцию опухоли посредством биопсии нецелесообразно и альтернативами этому должны стать жидкостная биопсия (оценка циркулирующих опухолевых клеток и ДНК), а также применение иммунотаргетных индикаторов для позитронно-эмиссионной томографии (ImmunoPET) [79–81].

Бремя мутационной нагрузки

Рак мочевого пузыря — одна из наиболее сильно мутировавших опухолей, бремя мутационной нагрузки

(tumor mutation burden, TMB) ассоциировано с ответом на иммунотерапию, в том числе при мУР [69, 82–86]. В 2020 г. пембролизумаб был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) при любом раке с TMB ≥ 10 мутаций для пациентов без других терапевтических альтернатив [87]. Таким образом, TMB может быть использовано как дополнительный биомаркер эффективности ICI при мУР. Анализ проспективных исследований показал, что комбинация уровня TMB и экспрессии PD-L1 более эффективно разделяет пациентов на респондеров и нереспондеров ICI, чем какой-либо один биомаркер [88–91].

Важным является взаимодействие неоантигенов с аллелями главного комплекса гистосовместимости (HLA) пациента, что определяет значимость оценки HLA в качестве биомаркера ответа на ICI [85, 92]. С реакцией на ICI связаны и определенные мутационные сигнатуры, например относящиеся к семейству цитидиндезаминаз APOVEC, распространенные при РМП. Согласно мета-анализу, включившему более 1000 пациентов, получивших иммунотерапию, в том числе 387 пациентов с мУР, клональное TMB определено как самый сильный предиктор ответа на ICI, а мультивариантный анализ показал значимость сигнатуры APOVEC как показателя ответа на иммунотерапию при РМП [52, 74, 82, 85, 90].

Экспрессия генов и факторы микроокружения опухоли

В исследовании пембролизумаба (CheckMate 275) и исследовании атезолизумаба (IMvigor210) показано, что определенные типы стромальных клеточных сигналов формируют так называемое иммуноисключенное микроокружение, в котором цитотоксические CD8⁺-Т-клетки отделены от опухоли плотной соединительной тканью, что снижает эффективность терапии [64, 69, 85, 93–95]. С отсутствием ответа на иммунотерапию и снижением ОВ была связана и экспрессия трансформирующего фактора роста β (TGF β), а анти-TGF β -антитела повышают эффективность терапии анти-PD-L1-антителами [85, 90, 96–98]. Важной для ответа на терапию ICI (атезолизумаб) оказалась особая TGF β -сигнатура фибробластов, значимая и для мУР [85].

С ответом на иммунотерапию при мУР связаны также сигнатуры воспалительных генов, отражающие активность CD8⁺-Т-клеток, или сигнальные пути интерферона γ [62, 69, 85, 98]. Как индивидуальные предикторы ответа проявили себя и белки, инициирующие интерферон γ , — лиганды хемокинов 9 и 10 (CXCL9, CXCL10). Самый сильный предиктор ответа на ICI — экспрессия CXCL9 [69, 74, 85, 93].

Эффективность ICI зависит от взаимодействия опухоли и клеток микроокружения [99–103]. Секвенирование РНК на уровне единичных клеток показало гетерогенность опухолевых, иммунных и стромальных

клеток при уротелиальной карциноме. Идентифицирована субпопуляция фибробластов, основной источник пропролиферативных факторов роста и хемокина CXCL12, опосредующая накопление иммуносупрессивных макрофагов в клетках микроокружения [95, 104–108]. Секвенирование РНК отдельных клеток при РМП позволило выявить субпопуляции CD4⁺-Т-клеток, сигнатура экспрессии которых определяла реакцию на атезолизумаб у пациентов с воспалительным типом микроокружения опухоли [104].

Биомаркеры таргетной терапии

Таргетная терапия при уротелиальной карциноме включает несколько препаратов.

Эрдафитиниб одобрен при прогрессировании после платиносодержащей ХТ при наличии изменений в тирозинкиназных рецепторах FGFR2/3 [11, 109].

Энфортумаб ведотин — конъюгат моноклонального антитела, специфичного к нектину 4 [110, 111].

Одобен для местно-распространенного уротелиального рака или мУР после платиносодержащей ХТ и иммунотерапии. Применение энфортумаба ведотина дает достоверное преимущество в показателях выживаемости по сравнению со стандартной ХТ, но уровни самого нектина 4 незначимы для получения эффекта [9].

Одобрение сацитузумаба говитекана, конъюгата моноклонального антитела к TROP2 с активным метаболитом иринотекана SN38, получено в 2021 г. по результатам исследования II фазы TROPHY-U-01, в котором после ХТ или ХТ + ICI была достигнута частота объективных ответов 27 % и медиана ОВ составила 10,9 мес [6]. Как и энфортумаб ведотин, сацитузумаб говитекан был одобрен без учета уровней его мишени TROP2.

Биомаркеры, поддающиеся оценке, для принятия решения о назначении таргетного препарата при мУР представлены в табл. 2.

Таблица 2. Биомаркеры таргетной терапии

Table 2. Biomarkers of targeted therapy

Препарат Drug	Биомаркер Biomarker	Эффект Effect
Ингибиторы тирозинкиназы — рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR) Tyrosine kinase inhibitors — fibroblast growth factor receptors (FGFR)		
Эрдафитиниб Erdafitinib	Мутации <i>FGFR3</i> Слияние генов <i>FGFR2/3</i> Циркулирующая ДНК <i>FGFR3</i> mutations <i>FGFR2/3</i> gene fusion Circulating DNA	Частота полных ответов 30–40 % в группе пациентов с положительным маркером в режиме после химиотерапии Повышение уровня циркулирующей ДНК — худшая выживаемость* Complete response rate 30–40 % in patient group with positive marker in the regimen after chemotherapy Increased circulating DNA level: worse survival*
Вофатамаб (B701) Vofatamab (B701)	Мутантный тип <i>FGFR3</i> «Дикий» тип <i>FGFR3</i> Циркулирующая ДНК Mutant type <i>FGFR3</i> Wild type <i>FGFR3</i> Circulating DNA	Частота общих ответов 33–44 % в группе комбинации с пембролизумабом на фоне химиотерапии Overall response rate 33–44 % in pembrolizumab combination during chemotherapy group
Рогаратиниб Rogaratinib	Мутации <i>FGFR1–3</i> и гиперэкспрессия матричной РНК Циркулирующая ДНК <i>FGFR1–3</i> mutations and matrix RNA overexpression Circulating DNA	Повышение частоты положительных ответов в режиме рогаратиниб + атезолизумаб при терапии 2-й линии Increased positive response rate for rogaratinib + atezolizumab regimen in the 2 nd line therapy
Конъюгаты моноклональных антител к нектину 4 Anti-nectin-4 monoclonal body-drug conjugates		
Энфортумаб ведотин Enfortumab vedotin	Молекулярный подтип опухоли Стадия Морфология Molecular tumor type Stage Morphology	Экспрессия белка вариабельна, но более выражена при люминальном подтипе опухоли, немышечно-инвазивном раке мочевого пузыря (87 % ответов) и плазмацитоидном подтипе опухоли (63 % ответов), что определяет большую эффективность препарата Variable protein expression but highest in luminal tumor subtypes, non-muscle-invasive bladder cancer (87 % responses) and plasmacytoid subtype (63 % responses) which determines overall drug effectiveness

Окончание табл. 2
End of table 2

Препарат Drug	Биомаркер Biomarker	Эффект Effect
Конъюгаты моноклональных антител к TROP2 Anti-TROP2 monoclonal body-drug conjugates		
Сацитузумаб govitecan Sacituzumab govitecan	Гиперэкспрессия TROP2 TROP2 hyperexpression	После химиотерапии на основе платины у пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря, не подходящих для лечения цисплатином, или в случае прогрессирующего рака мочевого пузыря с рефрактерностью к платине в сочетании с ингибиторами иммунных контрольных точек After platinum-based chemotherapy in patients with non-muscle invasive bladder cancer not suitable for cisplatin treatment, or in case of platinum-refractory progressing bladder cancer in combination with immune checkpoint inhibitors
Ингибиторы рецептора эпидермального фактора роста человека 2-го типа (ErbB (HER2, EGFR))** Human epidermal growth factor receptor 2 inhibitors (ErbB (HER2, EGFR))**		
Афатиниб Afatinib	Комплексные изменения в ErbB2/4 и EGFR Complex changes in ErbB2/4 and EGFR	3-месячная выживаемость без прогрессирования в группе с положительным маркером — 83 %, в группе с отрицательным маркером — 0 % 3-month progression-free survival in the positive marker group 83 %, in the negative marker group 0 %
Ингибиторы тирозинкиназы/фактор роста эндотелия сосудов** Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor**		
Сорафениб Sorafenib	Гены семейства ErbB ErbB family genes	Частота объективных ответов 36 % в группе с положительным маркером против 0 % в группе с отрицательным маркером Objective response rate 36 % in the group with positive marker versus 0 % in the group with negative marker
Кабозантиниб Cabozantinib	Циркулирующие опухолевые клетки с иммунофенотипом EpCam ⁺ MET ⁺ CXCR4 ⁺ Circulating tumor cells with EpCam ⁺ MET ⁺ CXCR4 ⁺ phenotype	Частота объективных ответов — 38,5 % Безрецидивная выживаемость — 12,8 мес для метастатического рака мочевого пузыря с лучшими результатами у пациентов, у которых количество циркулирующих опухолевых клеток <5 Objective response rate 38.5 % Recurrence-free survival: 12.8 months for metastatic bladder cancer with best outcomes in patients with circulating tumor cell number <5

*Справедливо для большинства мишеней FGFR.

**Незарегистрированные препараты, тестируемые в настоящее время.

*Applicable for most FGFR targets.

**Non-registered drugs currently in trials.

Рецепторы фактора роста фибробластов

Изменения в *FGFR3* выявляют при некоторых типах рака, в том числе в 81 % случаев неинвазивных карцином и до 54 % случаев инвазивного уротелиального рака [112–114]. Они имеют четкую ассоциацию с люминально-папиллярным молекулярным подтипом, составляющим 35 % при МИРМП [52]. Наиболее частой (61,0 % всех случаев *FGFR3*-мутированной уротелиальной карциномы) мутацией является S249. Частота изменений генов-активаторов сигнала через димеризацию лиганд-независимого рецептора или конститутивной активности рецептора менее существенна: Y375 — 19,0 %, R248C — 8,0 % и G370C — 6,0 %; еще более редкими случаями является амплификация (7 и 2 % случаев *FGFR1*

и *FGFR3* соответственно). Также редки случаи активации сигналинга посредством образования генов слияния (чаще всего *FGFR3*–*TACC3* — 2,5 % случаев) [115–118]. Все указанные изменения в *FGFR2/3* в целом являются основанием для назначения препарата, однако относительно пользы комбинации эрдафитиниба с другими видами терапии или в более ранних линиях терапии однозначного решения пока нет, и исследования в этом направлении продолжаются (NCT034737743) [119].

Ингибитор FGFR инфигратиниб (BGJ398) исследован в когорте пациентов с такими же альтерациями, как и эрдафитиниб. Продолжается тестирование этого препарата в качестве адъювантной терапии у пациентов, не подходящих для лечения цисплатином

(NCT04197986). При мУР в качестве 2-й линии тестируется ингибитор FGFR3 вофатамаб (B701). Эффективной оказалась его комбинация с пембролизумабом у пациентов с мутантным типом *FGFR3* (43 % общих ответов) и в когорте с «диким» типом *FGFR3* (частота общих ответов 33 %). Поскольку вофатамаб ингибирует *FGFR3* «дикого» типа, его комбинация с ICI может оказаться достаточно эффективной [120–125].

В качестве биомаркера ответа на ингибиторы тирозинкиназы исследуется также гиперэкспрессия мРНК *FGFR1–3*. Самая высокая частота ответов на препарат зарегистрирована у пациентов с соматическими мутациями *FGFR3*, т. е. мРНК является менее селективным биомаркером по сравнению с изменениями самого рецептора [126]. Однако в исследовании FORT-2 получен благоприятный ответ на терапию рогагатинибом в комбинации с ICI (атезолизумаб) у пациентов с мутациями *FGFR1–3* и гиперэкспрессией мРНК независимо от изменений ДНК FGFR или уровня PD-L1 [127].

Многообещающим биомаркером прогноза таргетной терапии является циркулирующая ДНК. В исследовании дурвалумаба в сочетании с таргетной терапией в популяции, отобранной по биомаркерам, показано, что в циркулирующей ДНК всегда обнаруживаются изменения FGFR. Количество этих изменений снижалось параллельно с ответом на терапию и повышалось в случае прогрессирования заболевания, а более высокие уровни циркулирующей ДНК коррелировали с худшей ОВ [68].

Кроме биомаркеров прогноза важным является точное определение маркеров резистентности к лечению, как исходных, так и приобретенных в ходе терапии. С резистентностью к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов ассоциировано выявление мутаций в АТФ-связывающем домене *FGFR3* [128]. При наличии мутации K650E в данной области *FGFR3* эффективность инфигратиниба снижается в 5–10 раз. Причиной резистентности к таргетной терапии были множественные вторичные мутации *FGFR2*. Альтернативным механизмом резистентности к ингибиторам тирозинкиназы служат нарушения в сигнальных путях PI3K-AKT и RAS-MAPK [128–131]. Эффективность ингибиторов FGFR могут ограничивать лизосомальная секвестрация ингибиторов тирозинкиназы, активация генов слияния и эпителиально-мезенхимальный переход. Все перечисленные изменения могут рассматриваться как биомаркеры прогноза резистентности к ингибиторам FGFR и должны более активно исследоваться для персонализации лечебных программ [128, 130–132].

Нектин 4 и TROP2

Экспрессия нектин 4 типична для клеток уротелиальной карциномы и практически не встречается в нормальных тканях [133]. Этот белок служит мишенью для энфортамаба ведотина, однако, несмотря

на целевой характер воздействия, он не используется в качестве биомаркера ответа на терапию, так как все скрининговые опухоли демонстрируют высокие уровни данного маркера [9]. При этом уровни нектин 4 варьируют в зависимости от стадии процесса (87 % при немышечно-инвазивном РМП против 58 % при МИРМП) и морфологического строения опухоли (например, 28 % при микропапиллярном раке и 63 % при плазмодитонклеточном раке), что должно учитываться при назначении таргетного препарата [134, 135].

В экспериментальных исследованиях показано, что и в люминальном, и в базальноклеточном подтипах РМП сверхэкспрессия генов нектин 4 определяет чувствительность к таргетному препарату, а нокаут этих генов опосредует устойчивость к воздействию энфортамаба ведотина [134].

Трансмембранный гликозилированный белок TROP2 участвует в передаче сигналов кальция и клеточной пролиферации. Его выраженная экспрессия выявляется более чем в 80 % случаев уротелиального рака, в нормальных тканях организма его количество минимально [136, 137]. Выявленная экспрессия белка ассоциирована с более распространенным процессом или с развитием рецидива. Несмотря на то что сацитузумаб говитекан приносит пользу вне зависимости от величины экспрессии TROP2, наибольшее преимущество получили пациенты с высокой экспрессией белка [138].

В настоящее время сацитузумаб говитекан тестируется при прогрессирующем РМП в исследовании III фазы TROPiCS-04 в режиме после ХТ на основе платины в сочетании с ICI, а также в исследовании фазы Ib/II в сочетании с атезолизумабом при МИРМП у пациентов, не подходящих для лечения цисплатином, или в случае прогрессирующего РМП с рефрактерностью к платине [139, 140].

Рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа

Рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа является биомаркером таргетной терапии ErbB2⁺-опухолей молочной железы и гастроэзофагеальных опухолей. В отдельных когортах пациентов с РМП его экспрессия достигает 76 % [141–143].

Из всех тестируемых ингибиторов ErbB2 наиболее эффективным при метастатической уротелиальной карциноме оказался препарат афатиниб с широкой блокирующей активностью. Так, 3-месячная выживаемость без прогрессирования у пациентов с изменениями EGFR, ErbB2, -3 и -4 составила 83 % по сравнению с 0 % в группе с отрицательным маркером [144–146].

Хороший эффект при прогрессирующем РМП после 1-й и более линий предшествующей терапии продемонстрировал диситамаб ведотин (RC48-ADC). Трас-тузумаб дерукстекан (DS-8201) тестируется в сочетании

с ниволумабом для прогрессирующего на фоне платины мУР ErbB2⁺ (NCT03523572). Адотрастузумаб эмтанзин (TDM-1) тестируется в когорте пациентов с РМП с амплификацией HER2 [147, 148].

Несмотря на проводимые исследования, оптимальное использование HER2 в качестве биомаркера для применения его ингибиторов или конъюгатов моноклональных антител при мУР еще предстоит выяснить.

Сигнальные пути PI3K-AKT/mTOR и RAS-MAPK

Аберрации в генах, кодирующих сигнальный путь PI3K-AKT/mTOR, выявлены более чем в 70 % случаев уротелиального рака. Наиболее частые — мутации *PI3KCA* (25 % случаев МИРМП). Утрата экспрессии *PTEN* выявляется в 39–94 % случаев, потеря гетерозиготности генов *TSC1/2* варьирует от 15 до 50 %. Значимыми для данного сигнального пути являются изменения на уровне FGFR и ErbB2 вследствие их управляющей функции в отношении PI3K [118, 149–157].

Ингибитор mTOR эверолимус оказался малоэффективным при уротелиальном раке в качестве терапии 2-й линии. Однако все случаи единичных клинических ответов ассоциированы с мутацией в *TSC1* и потерей функции рецептора. Неудачной оказалась и комбинация эверолимуса с пазопанибом, но у единичных пациентов с полным и частичным ответом выявлены мутации *TSC1*, *TSC2* и *mTOR* [158–160]. В последующих исследованиях не показано клинически значимой эффективности ингибирования mTOR при уротелиальном раке. Также не выявлено эффективности применения ингибиторов PI3K. Несмотря на то что у единичных респондеров были обнаружены мутации *TSC1* и *PI3KCA*, ни у одного из пациентов, включенных в исследование, не достигнут контроль над заболеванием. Однако исследования продолжаются (NCT02465060). Тестируются при уротелиальном раке и двойные ингибиторы PI3K и mTOR, такие как дактилизиб (BEZ-235) и омипализиб (GSK2126458) [161–167].

Дополнительные ингибиторы тирозинкиназы/фактор роста эндотелия сосудов

Многоцелевые ингибиторы тирозинкиназы являются перспективными препаратами для разработки оптимальных комбинированных схем при мУР. Некоторые из них, как уже отмечено, обладают иммуномодулирующими свойствами, что делает их кандидатами для комбинаций с иммунотерапевтическими препаратами. Однако их плейотропные эффекты осложняют выделение групп пациентов с максимальной выгодой, что еще раз подчеркивает важность поиска биомаркеров данных терапевтических стратегий при мУР.

Многоцелевой ингибитор тирозинкиназы сорафениб протестирован в условиях неoadъювантной терапии в комбинации с GC. У респондеров выявлены более высокие уровни мутаций в генах системы репа-

рации ДНК, генах пути RAS-RAF, генах ремоделирования хроматина и генах семейства ErbB. Значимыми оказались только гены семейства ErbB (частота полных ответов 36,4 % против 0 %, при ограниченной мощности исследования).

При рефрактерном к платине мУР был изучен и кабозантиниб. Анализ биомаркеров показал, что препарат может ремоделировать опухолевое микроокружение. Это дает основание к его применению в комбинации с ICI [168]. В исследовании I фазы, тестирующем кабозантиниб в комбинации с ниволумабом и/или ипилимумабом, показаны хорошие результаты, а предиктивным биомаркером ОБ в данном случае оказались циркулирующие опухолевые клетки с иммунофенотипом EpCam⁺MET⁺CXCR4⁺ [169].

Заключение

Наличие значительного количества препаратов и схем лекарственной терапии мУР ставит перед клиницистами задачу найти оптимальные последовательность и комбинацию, которые обеспечат конкретному пациенту наибольшую выгоду. Современным вектором персонализированной медицины является разделение уротелиального рака на все более специфические подтипы, которые определяют план лечения в каждом конкретном случае. Реализация такой доктрины требует разработки надежных маркеров-предикторов ответа на конкретный вид лекарственного лечения. Исследование механизмов развития уротелиального рака, в частности закономерностей канцерогенеза, уже позволило выявить различные биомаркеры-кандидаты (табл. 3).

В отношении ответа на ХТ препаратами платины у пациента необходимо оценивать изменения в генах нуклеотидной репарации ДНК (*ERCC1*, *ERCC2*), генах гомологичной рекомбинации (*BRCA2*, *RAD51*), генах регуляторов клеточного цикла (*ATM*, *RBI*), а также в генах, кодирующих путь анемии Фанкони (*FANCC*). С точки зрения эффективности цисплатина будет важной оценка соматических изменений в гене *ERBB2*.

В контексте ответа на иммунотерапию, кроме экспрессии собственно ICI, значимыми маркерами могут быть качественный и количественный состав опухолеинфильтрирующих иммунных клеток, тип внеклеточных сигналов опухолевого микроокружения, в частности интерферон γ , TMB и определенные изменения генома (сигнатура APOVEC, утрата TRAF2 и амплификация гена *CCND1*).

При оценке ответа на таргетную терапию значительного клинического эффекта следует ожидать в случае выраженной экспрессии соответствующих рецепторов, наличия комплексных изменений в генах *ERBB2* и *EGFR*. Важными параметрами ответа будут уровни (количество) и генетические особенности циркулирующих опухолевых клеток и циркулирующей ДНК.

Таблица 3. Суммарные данные по возможным биомаркерам лекарственной терапии метастатического уротелиального рака
Table 3. Summary data on possible biomarkers of drug treatment for metastatic urothelial cancer

Маркеры химиотерапии Chemotherapy markers		Маркеры иммунотерапии (ингибиторы иммунных контрольных точек) Immunotherapy markers (immune checkpoint inhibitors)		Маркеры таргетной терапии* Targeted therapy markers*	
Маркеры хорошего ответа на лечение Markers of good response to therapy	Маркеры плохого ответа на лечение Markers of bad response to therapy	Маркеры хорошего ответа на лечение Markers of good response to therapy	Маркеры плохого ответа на лечение Markers of bad response to therapy	Маркеры хорошего ответа на лечение Markers of good response to therapy	Маркеры плохого ответа на лечение Markers of bad response to therapy
<ul style="list-style-type: none">Низкий уровень экспрессии белка ERCC1 (иммуногистохимический метод)Мутации ERCC2Мутации BRCA1/2Миссенс-мутация в гене ERBB2 (HER2new)Low ERCC1 protein expression level (immunohistochemistry)ERCC2 mutationsBRCA1/2 mutationsMissense mutation in ERBB2 (HER2new) gene	<ul style="list-style-type: none">ERCC1+++ (иммуногистохимический метод)Повышенная экспрессия RAD51Отсутствие мутаций в генах ATM, RBI или FANCCERCC1+++ (immunohistochemistry)RAD51 hyperexpressionNo mutations in ATM, RBI or FANCC gene	<ul style="list-style-type: none">Достаточная экспрессия PD-L1 на опухолиЭкспрессия PD-L1 на циркулирующих опухолевых клеткахНизкие уровни циркулирующей опухолевой ДНК или их снижение в ответ на иммунотерапиюВысокий уровень мутационной нагрузки (бремя мутационной нагрузки ≥10)Иммуногенность опухоли, выявление мутационной сигнатуры APOBECЭкспрессия белка CXCL9Sufficient PD-L1 expression in tumorPD-L1 expression in circulating tumor cellsLow circulating tumor DNA level or its decrease in response to immunotherapyHigh mutation load (mutation load ≥10)Tumor immunogenicity, detection of APOBEC mutational signatureCXCL9 protein expression	<ul style="list-style-type: none">Отсутствие экспрессии (или низкий уровень) PD-L1 на опухолиЛюминально-папиллярный подтип опухолиИзменения в репертуаре рецепторов (суррогатный маркер)Особенности иммунного микроокружения опухоли (низкий уровень опухоли-инфильтрирующих иммунных клеток, наличие стромы-барьера)Выявление особой TGFβ-сигнатуры фибробластов микроокруженияAbsence (or low level) of PD-L1 expression in tumorLuminal-papillary tumor subtypeChanges in FGFR2/3 receptor repertoire (surrogate marker)Characteristics of tumor immune microenvironment (low numbers of tumor-infiltrating immunocompetent cells, presence of barrier stroma)Detection of specific TGFβ signature in microenvironment fibroblasts	<ul style="list-style-type: none">Мутации FGFR3Слияние генов FGFR2/3Повышенная экспрессия РНК FGFR1-3FGFR3 mutationsFGFR2/3 gene fusionFGFR1-3 matrix RNA hyperexpression	<ul style="list-style-type: none">Высокие уровни циркулирующей ДНКМутации в АТФ-связывающем домене FGFR3 (K650E3)Множественные вторичные мутации FGFR2Морфология опухоли: наличие признаков эпителиально-мезенхимального переходаHigh levels of circulating DNAMutations in FGFR3 ATP-binding domain (K650E3)Multiple secondary FGFR2 mutationsTumor morphology: signs of epithelial-mesenchymal transition
	<ul style="list-style-type: none">Немышечно-инвазивный рак мочевого пузыряЛюминальный и плазмодифференцированный подтипы опухолиNon-muscle invasive bladder cancerLuminal and plasmacytoid tumor subtypes			<ul style="list-style-type: none">Нокаут генов нектина 4Nectin 4 gene knockout	<ul style="list-style-type: none">Не исследовано Was not investigated

* Биомаркеры эффективности таргетных препаратов к TROP2 и рецептору эпидермального фактора роста 2-го типа (ErbB (HER2new, EGFR)) в таблицу не внесены, поскольку однозначным маркером препаратов этого ряда считается выявление экспрессии белка или наличие мутации соответствующего гена, а предикторы относительно неблагоприятной эффективности практически нет.

Примечание. PD-L1 – лиганд программируемой клеточной гибели 1; TGF β – трансформирующий фактор роста β .
* Effectiveness biomarkers for targeted drugs against TROP2 and epidermal growth factor receptor 2 (ErbB (HER2new, EGFR)) were not included in the table because the definitive marker for these drugs is protein expression or mutation in the corresponding gene, and there are almost no predictors of relatively unfavorable effectiveness.

Note. PD-L1 – programmed cell death-ligand 1; TGF β – fibroblast growth factor receptor; TGF β – transforming growth factor β .

Таким образом, в качестве возможных биомаркеров ответа на лечение и прогноза при мУР следует в первую очередь обозначить молекулярно-биологические характеристики самой опухоли, а также циркулирующих опухолевых клеток и циркулирующей

ДНК, которая регулярно секвенируется при других типах рака. Эти практические достижения, а также базовые трансляционные разработки имеют важное значение для реализации персонализированного подхода к терапии мУР.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bellmunt J., Théodore C., Demkov T. et al. Phase III trial of vinflunine plus best supportive care compared with best supportive care alone after a platinum-containing regimen in patients with advanced transitional cell carcinoma of the urothelial tract. *J Clin Oncol* 2009;27(27):4454–61. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.5534
2. McCaffrey J.A., Hilton S., Mazumdar M. et al. Phase II trial of docetaxel in patients with advanced or metastatic transitional-cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1997;15(5):1853–7. DOI: 10.1200/JCO.1997.15.5.1853
3. Szkliner K., Chmiel P., Michalski A., Mańdziuk S. New directions and challenges in targeted therapies of advanced bladder cancer: the role of FGFR inhibitors. *Cancers* 2022;14(6):1416. DOI: 10.3390/cancers14061416
4. Khalife N., Chahine C., Kordahi M. et al. Urothelial carcinoma in the era of immune checkpoint inhibitors. *Immunotherapy* 2021;13(11):953–64. DOI: 10.2217/imt-2021-0042
5. Heath E.I., Rosenberg J.E. The biology and rationale of targeting nectin-4 in urothelial carcinoma. *Nat Rev Urol* 2021;18(2):93–103. DOI: 10.1038/s41585-020-00394-5
6. Tagawa S.T., Balar A.V., Petrylak D.P. et al. TROPHY-U-01: a phase II open-label study of sacituzumab govitecan in patients with metastatic urothelial carcinoma progressing after platinum-based chemotherapy and checkpoint inhibitors abstract. *J Clin Oncol* 2021;39(22):2474–85. DOI: 10.1200/JCO.20.03489
7. Powles T., Park S.H., Voog E. et al. Avelumab maintenance therapy for advanced or metastatic urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2020;383(13):1218–30. DOI: 10.1056/NEJMoa2002788
8. Bellmunt J., de Wit R., Vaughn D.J. et al. KEYNOTE-045 Investigators. Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2017;376(11):1015–26. DOI: 10.1056/NEJMoa1613683
9. Powles T., Rosenberg J.E., Sonpavde G.P. et al. Enfortumab vedotin in previously treated advanced urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2021;384(12):1125–35. DOI: 10.1056/NEJMoa2035807
10. Loriot Y., Balar A., Petrylak D. et al. LBA24 TROPHY-U-01 cohort 1 final results: a phase II study of sacituzumab govitecan (SG) in metastatic urothelial cancer (mUC) that has progressed after platinum (PLT) and checkpoint inhibitors (CPI). *Ann Oncol* 2020;31:1142–215.
11. Loriot Y., Necchi A., Park S.H. et al. BLC2001 Study Group. Erdafitinib in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2019;381(4):338–48. DOI: 10.1056/NEJMoa1817323
12. Loehrer Sr P.J., Einhorn L.H., Elson P.J. et al. A randomized comparison of cisplatin alone or in combination with methotrexate, vinblastine, and doxorubicin in patients with metastatic urothelial carcinoma: a cooperative group study. *J Clin Oncol* 1992;10(7):1066–73. DOI: 10.1200/JCO.1992.10.7.1066
13. Logothetis C.J., Dexeus F.H., Finn L. et al. A prospective randomized trial comparing MVAC and CISCA chemotherapy for patients with metastatic urothelial tumors. *J Clin Oncol* 1990;8(6):1050–5. DOI: 10.1200/JCO.1990.8.6.1050
14. Von der Maase H., Hansen S.W., Roberts J.T. et al. Gemcitabine and cisplatin versus methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin in advanced or metastatic bladder cancer: results of a large, randomized, multinational, multicenter, phase III study. *J Clin Oncol* 2000;18(17):3068–77. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.17.3068
15. Galsky M.D., Ariba J.A., Bamias A. et al. Atezolizumab with or without chemotherapy in metastatic urothelial cancer (IMvigor130): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2020;395(10236):1547–57. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30230-0
16. Powles T., Csösz T., Özgüroğlu M. et al. Pembrolizumab alone or combined with chemotherapy versus chemotherapy as first-line therapy for advanced urothelial carcinoma (KEYNOTE-361): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2021;22(7):931–45. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00152-2
17. Powles T., van der Heijden M.S., Castellano D. et al. Durvalumab alone and durvalumab plus tremelimumab versus chemotherapy in previously untreated patients with unresectable, locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (DANUBE): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(12):1574–88. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30541-6
18. Rosenberg J.E., Flaig T.W., Friedlander T.W. et al. Study EV-103: durability results of enfortumab vedotin plus pembrolizumab for locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *J Clin Oncol* 2020;38:5044 (2021;39(15):4528).
19. Li X., Heyer W.D. Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance. *Cell Res* 2008;18(1):99–113. DOI: 10.1038/cr.2008.1
20. Reardon J.T., Vaisman A., Chaney S.G., Sancar A. Efficient nucleotide excision repair of cisplatin, oxaliplatin, and bis-acetaminine-dichloro-cyclohexylamine-platinum(IV) (JM216) platinum intrastrand DNA diadducts. *Cancer Res* 1999;59(16):3968–71.
21. Lord R.V.N., Brabender J., Gandara D. et al. Low *ERCC1* expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8(7):2286–91.
22. Britten R.A., Liu D., Tessier A. et al. *ERCC1* expression as a molecular marker of cisplatin resistance in human cervical tumor cells. *Int J Cancer* 2000;89(5):453–7.
23. Olausson K.A., Dunant A., Fouret P. et al. IALT Bio Investigators. DNA repair by *ERCC1* in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006;355(10):983–91. DOI: 10.1056/NEJMoa060570
24. Dabholkar M., Vionnet J., Bostick-Bruton F. et al. Messenger RNA levels of *XPAC* and *ERCC1* in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. *J Clin Invest* 1994;94(2):703–8. DOI: 10.1172/JCI117388
25. Metzger R., Leichman C.G., Danenberg K.D. et al. *ERCC1* mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 1998;16(1):309–16. DOI: 10.1200/JCO.1998.16.1.309
26. Shirota Y., Stoecklacher J., Brabender J. et al. *ERCC1* and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001;19(23):4298–304. DOI: 10.1200/JCO.2001.19.23.4298
27. Klatte T., Seitz C., Rink M. et al. *ERCC1* as a prognostic and predictive biomarker for urothelial carcinoma of the bladder

- following radical cystectomy. *J Urol* 2015;194(5):1456–62. DOI: 10.1016/j.juro.2015.06.099
28. Necchi A., Lo Vullo S., Raggi D. et al. Neoadjuvant sorafenib, gemcitabine, and cisplatin administration preceding cystectomy in patients with muscle-invasive urothelial bladder carcinoma: an open-label, single-arm, single-center, phase 2 study. *Urol Oncol* 2018;36(1):8.e1–8. DOI: 10.1016/j.urolonc.2017.08.020
29. Hemdan T., Segersten U., Malmström P. 122 *ERCC1*-negative tumors benefit from neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy whereas patients with *ERCC1*-positive tumors do not – results from a cystectomy trial database. *Eur Urol* 2014;13(1):e122.
30. Choueiri T.K., Jacobus S., Bellmunt J. et al. Neoadjuvant dose-dense methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin with pegfilgrastim support in muscle-invasive urothelial cancer: pathologic, radiologic, and biomarker correlates. *J Clin Oncol* 2014;32(18):1889–94. DOI: 10.1200/JCO.2013.52.4785
31. Sakano S., Ogawa S., Yamamoto Y. et al. *ERCC1* and *XRCC1* expression predicts survival in bladder cancer patients receiving combined trimodality therapy. *Mol Clin Oncol* 2013;1(3):403–10. DOI: 10.3892/mco.2013.85
32. Sun J.M., Sung J.Y., Park S.H. et al. *ERCC1* as a biomarker for bladder cancer patients likely to benefit from adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2012;12:187. DOI: 10.1186/1471-2407-12-187
33. Kawashima A., Takayama H., Kawamura N. et al. Co-expression of *ERCC1* and Snail is a prognostic but not predictive factor of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer. *Oncol Lett* 2012;4(1):15–21. DOI: 10.3892/ol.2012.689
34. Ozcan M.F., Dizdar O., Dincer N. et al. Low *ERCC1* expression is associated with prolonged survival in patients with bladder cancer receiving platinum-based neoadjuvant chemotherapy. *Urol Oncol* 2013;31(8):1709–15. DOI: 10.1016/j.urolonc.2012.06.014
35. Nikitas N., Karadimou A., Tsitoura E. et al. Association of *ERCC1* SNPs with outcome in platinum-treated patients with advanced urothelial cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group study. *Pharmacogenomics* 2012;13(14):1595–607. DOI: 10.2217/pgs.12.162
36. Kim K.H., Do I.G., Kim H.S. et al. Excision repair cross-complementation group 1 (*ERCC1*) expression in advanced urothelial carcinoma patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *APMIS* 2010;118(12):941–8. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2010.02648.x
37. Hoffmann A.C., Wild P., Leicht C. et al. *MDR1* and *ERCC1* expression predict outcome of patients with locally advanced bladder cancer receiving adjuvant chemotherapy. *Neoplasia* 2010;12(8):628–36. DOI: 10.1593/neo.10402
38. Bellmunt J., Paz-Ares L., Cuello M. et al. Spanish Oncology Genitourinary Group. Gene expression of *ERCC1* as a novel prognostic marker in advanced bladder cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Ann Oncol* 2007;18(3):522–8. DOI: 10.1093/annonc/mdl435
39. Urun Y., Leow J.J., Fay A.P. et al. *ERCC1* as a prognostic factor for survival in patients with advanced urothelial cancer treated with platinum based chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2017;120:120–6. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.10.012
40. Li Q., Damish A.W., Frazier Z. et al. *ERCC2* helicase domain mutations confer nucleotide excision repair deficiency and drive cisplatin sensitivity in muscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2019;25(3):977–88. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1001
41. Van Allen E.M., Mouw K.W., Kim P. et al. Somatic *ERCC2* mutations correlate with cisplatin sensitivity in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Cancer Discov* 2014;4(10):1140–53. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0623
42. Liu D., Plimack E.R., Hoffman-Censits J. et al. Clinical validation of chemotherapy response biomarker *ERCC2* in muscle-invasive urothelial bladder carcinoma. *JAMA Oncol* 2016;2(8):1094–6. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1056
43. Christensen E., Birkenkamp-Demtröder K., Sethi H. et al. Early detection of metastatic relapse and monitoring of therapeutic efficacy by ultra-deep sequencing of plasma cell-free DNA in patients with urothelial bladder carcinoma. *J Clin Oncol* 2019;37(18):1547–57. DOI: 10.1200/JCO.18.02052
44. Groenendijk F.H., de Jong J., Fransen van de Putte E.E. et al. *ERBB2* mutations characterize a subgroup of muscle-invasive bladder cancers with excellent response to neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 2016;69(3):384–8. DOI: 10.1016/j.eururo.2015.01.014
45. Groenendijk F.H., Fransen van de Putte E.E., van Rhijn B.W. et al. Garraway and Jonathan E. Rosenberg's Letter to the Editor re: Groenendijk F.H., de Jong J., Fransen van de Putte E.E. et al. *ERBB2* mutations characterize a subgroup of muscle-invasive bladder cancers with excellent response to neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 2015;68(2):e33–4.
46. Taber A., Christensen E., Lamy P. et al. Molecular correlates of cisplatin-based chemotherapy response in muscle invasive bladder cancer by integrated multiomics analysis. *Nat Commun* 2020;11(1):4858. DOI: 10.1038/s41467-020-18640-0
47. Kim J., Mouw K.W., Polak P. et al. Somatic *ERCC2* mutations are associated with a distinct genomic signature in urothelial tumors. *Nat Genet* 2016;48(6):600–6. DOI: 10.1038/ng.3557
48. Galsky M.D., Daneshmand S., Chan K.G. et al. Phase 2 trial of gemcitabine, cisplatin, plus nivolumab with selective bladder sparing in patients with muscle-invasive bladder cancer (MIBC): HCRN GU16-257. *J Clin Oncol* 2021;39:4503.
49. Yang D., Khan S., Sun Y. et al. Association of *BRCA1* and *BRCA2* mutations with survival, chemotherapy sensitivity, and gene mutator phenotype in patients with ovarian cancer. *JAMA* 2011;306(14):1557–65. DOI: 10.1001/jama.2011.1456
50. Sakai W., Swisher E.M., Karlan B.Y. et al. Secondary mutations as a mechanism of cisplatin resistance in *BRCA2*-mutated cancers. *Nature* 2008;451(7182):1116–20. DOI: 10.1038/nature06633
51. Tutt A., Tovey H., Cheang M.C.U. et al. Carboplatin in *BRCA1/2*-mutated and triple-negative breast cancer *BRCA*ness subgroups: the TNT Trial. *Nat Med* 2018;24(5):628–37. DOI: 10.1038/s41591-018-0009-7
52. Robertson A.G., Kim J., Al-Ahmadie H. et al. TCGA Research Network. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell* 2017;171(3):540–56.e25.
53. Carlo M.I., Ravichandran V., Srinivasan P. et al. Cancer susceptibility mutations in patients with urothelial malignancies. *J Clin Oncol* 2020;38(5):406–14. DOI: 10.1200/JCO.19.01395
54. Nassar A.H., Abou Alaiwi S., AlDubayan S.H. et al. Prevalence of pathogenic germline cancer risk variants in high-risk urothelial carcinoma. *Genet Med* 2020;22(4):709–18. DOI: 10.1038/s41436-019-0720-x
55. Mullane S.A., Werner L., Guancial E.A. et al. Expression levels of DNA damage repair proteins are associated with overall survival in platinum-treated advanced urothelial carcinoma. *Clin Genitourin Cancer* 2016;14(4):352–9. DOI: 10.1016/j.clgc.2015.12.029
56. Lord C.J., Ashworth A. *RAD51*, *BRCA2* and DNA repair: a partial resolution. *Nat Struct Mol Biol* 2007;14(6):461–2. DOI: 10.1038/nsmb0607-461
57. Plimack E.R., Dunbrack R.L., Brennan T.A. et al. Defects in DNA repair genes predict response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2015;68(6):959–67. DOI: 10.1016/j.eururo.2015.07.009
58. Miron B., Ross E.A., Anari F. et al. Defects in DNA repair genes and long-term survival in cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy for muscle invasive bladder cancer (MIBC). *J Clin Oncol* 2019;37:4536.
59. Teo M.Y., Bambury R.M., Zabor E.C. et al. DNA damage response and repair gene alterations are associated with improved survival in patients with platinum-treated advanced urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2017;23(14):3610–8. DOI: 10.1016/j.urolonc.2018.05.011
60. Rosenberg J.E., Ballman K.A., Halabi S. et al. Randomized phase III trial of gemcitabine and cisplatin with bevacizumab or placebo in patients with advanced urothelial carcinoma: results of CALGB 90601 (Alliance). *J Clin Oncol* 2021;39(22):2486–96. DOI: 10.1200/JCO.21.00286

61. Geynisman D.M., Abbosh P., Ross E.A. et al. A phase II trial of risk enabled therapy after initiating neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer (RETAIN BLADDER): interim analysis. *J Clin Oncol* 2021;39(6):397.
62. Powles T., Loriot Y., Bellmunt J. et al. 6990 avelumab first-line (1L) maintenance + best supportive care (BSC) vs BSC alone for advanced urothelial carcinoma (UC): association between clinical outcomes and exploratory biomarkers. *Ann Oncol* 2020;31(4):552–3. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.08.771
63. Powles T., Assaf Z.J., Davarpanah N. et al. ctDNA guiding adjuvant immunotherapy in urothelial carcinoma. *Nature* 2021;595(7867): 432–7. DOI: 10.1038/s41586-021-03642-9
64. Bellmunt J., Hussain M., Gschwend J.E. et al. Adjuvant atezolizumab *versus* observation in muscle-invasive urothelial carcinoma (IMvigor010): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2021;22(4):525–37. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00004-8
65. Kamoun A., de Reyniès A., Allory Y. et al. Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2020;77(4):420–33. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.09.006
66. Wang L., Gong Y., Saki A. et al. Fibroblast growth factor receptor 3 alterations and response to PD-1/PD-L1 blockade in patients with metastatic urothelial cancer. *Eur Urol* 2019;76(5):599–603. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.06.025
67. Rose T.L., Weir W.H., Mayhew G.M. et al. Fibroblast growth factor receptor 3 alterations and response to immune checkpoint inhibition in metastatic urothelial cancer: a real world experience. *Br J Cancer* 2021;125(9):1251–60. DOI: 10.1038/s41416-021-01488-6
68. Powles T., Carroll D., Chowdhury S. et al. An adaptive, biomarker-directed platform study of durvalumab in combination with targeted therapies in advanced urothelial cancer. *Nat Med* 2021;27(5):793–801. DOI: 10.1038/s41591-021-01317-6
69. Sharma P., Retz M., Siefker-Radtke A. et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(3):312–22. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30065-7
70. Powles T., O'Donnell P.H., Massard C. et al. Efficacy and safety of durvalumab in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: updated results from a phase 1/2 Open-label study. *JAMA Oncol* 2017;3(9):e172411. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.2411
71. FDA alerts health care professionals and oncology clinical investigators about an efficacy issue identified in clinical trials for some patients taking keytruda (pembrolizumab) or tecentriq (atezolizumab) as monotherapy to treat urothelial cancer with low expression of PD-L1. Available at: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-alerts-health-care-professionals-and-oncology-clinical-investigators-about-efficacy-issue>.
72. Galsky M.D., Necchi A., Sridhar S.S. et al. A phase III, randomized, open-label, multicenter, global study of first-line durvalumab plus standard of care (SoC) chemotherapy and durvalumab plus tremelimumab, and SoC chemotherapy *versus* SoC chemotherapy alone in unresectable locally advanced or metastatic urothelial cancer (NILE). *J Clin Oncol* 2021;39(6):TPS504. DOI: 10.1200/JCO.2021.39.6_suppl.TPS504
73. Rui X., Gu T.T., Pan H.F., Zhang H.Z. Evaluation of PD-L1 biomarker for immune checkpoint inhibitor (PD-1/PD-L1 inhibitors) treatments for urothelial carcinoma patients: a meta-analysis. *Int Immunopharmacol* 2019;67:378–85. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.12.018
74. Litchfield K., Reading J.L., Puttick C. et al. Meta-analysis of tumor- and T cell-intrinsic mechanisms of sensitization to checkpoint inhibition. *Cell* 2021;184(3):596–614.e14. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.002
75. Powles T., Durán I., van der Heijden M.S. et al. Atezolizumab *versus* chemotherapy in patients with platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (IMvigor211): a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2018;391(10122):748–57. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33297-X
76. Hirsch F.R., McElhinny A., Stanforth D. et al. PD-L1 immunohistochemistry assays for lung cancer: results from phase 1 of the blueprint PD-L1 IHC assay comparison project. *J Thorac Oncol* 2017;12(2):208–22. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.11.2228
77. Ratcliffe M.J., Sharpe A., Midha A. et al. Agreement between programmed cell death ligand-1 diagnostic assays across multiple protein expression cutoffs in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(14):3585–91. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2375
78. Tsao M.S., Kerr K.M., Kockx M. et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of blueprint phase 2 project. *J Thorac Oncol* 2018;13(9):1302–11. DOI: 10.1016/j.jtho.2018.05.013
79. Decazes P., Bohn P. Immunotherapy by immune checkpoint inhibitors and nuclear medicine imaging: current and future applications. *Cancers (Basel)* 2020;12(2):371. DOI: 10.3390/cancers12020371
80. Bensch F., van der Veen E.L., Lub-de Hooge M.N. et al. ⁸⁹Zr-atezolizumab imaging as a non-invasive approach to assess clinical response to PD-L1 blockade in cancer. *Nat Med* 2018;24(12):1852–8. DOI: 10.1038/s41591-018-0255-8
81. Niemeijer A.N., Leung D., Huisman M.C. et al. Whole body PD-1 and PD-L1 positron emission tomography in patients with non-smallcell lung cancer. *Nat Commun* 2018;9(1):4664. DOI: 10.1038/s41467-018-07131-y
82. Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C. et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 2013;500(7463): 415–21. DOI: 10.1016/j.celrep.2012.12.008
83. Rosenberg J.E., Hoffman-Censits J., Powles T. et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 2016;387(10031):1909–20. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00561-4
84. Samstein R.M., Lee C.H., Shoushtari A.N. et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet* 2019;51(2):202–6. DOI: 10.1038/s41588-018-0312-8
85. Mariathasan S., Turley S.J., Nickles D. et al. TGFβ attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature* 2018;554(7693):544–8. DOI: 10.1038/nature25501
86. Bellmunt J., de Wit R., Fradet Y. et al. 747P association of TMB with efficacy of pembrolizumab (pembro) in patients (pts) with advanced urothelial cancer (UC): results from KEYNOTE-045 and KEYNOTE-052. *Ann Oncol* 2020;31(suppl 4):580–1. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.08.819
87. FDA approves pembrolizumab for adults and children with TMB-H solid tumors. Available at: <https://www.fda.gov/drugs/drugapprovals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors>.
88. Yarchoan M., Albacker L.A., Hopkins A.C. et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers. *JCI Insight* 2019;4(6):126908. DOI: 10.1172/jci.insight.126908
89. Galsky M.D., Saki A., Szabo P.M. et al. Nivolumab in patients with advanced platinum-resistant urothelial carcinoma: efficacy, safety, and biomarker analyses with extended follow-up from checkmate 275. *Clin Cancer Res* 2020;26(19):5120–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-416
90. Galsky M.D., Banchereau R., Hamidi H.R. et al. Tumor, immune, and stromal characteristics associated with clinical outcomes with atezolizumab (atezo) + platinum-based chemotherapy (PBC) or atezo monotherapy (mono) *versus* PBC in metastatic urothelial cancer (mUC) from the phase III IMvigor130 study. *J Clin Oncol* 2020;38:5011. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.5011
91. Valero C., Lee M., Hoen D. et al. Response rates to anti-PD-1 Immunotherapy in microsatellite-stable solid tumors with 10 or more mutations per megabase. *JAMA Oncol* 2021;7(5):739–43. DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.7684
92. McGranahan N., Rosenthal R., Hiley C.T. et al. Allele-specific HLA loss and immune escape in lung cancer evolution. *Cell* 2017;171(6):1259–71.e11. DOI: 10.1016/j.cell.2017.10.001

93. Zhang J., Bu X., Wang H. et al. Cyclin D-CDK4 kinase destabilizes PD-L1 via cullin 3-SPOP to control cancer immune surveillance. *Nature* 2018;553(7686):91–5. DOI: 10.1038/nature25015
94. Wang L., Saci A., Szabo P.M. et al. EMT- and stroma-related gene expression and resistance to PD-1 blockade in urothelial cancer. *Nat Commun* 2018;9(1):3503. DOI: 10.1038/s41467-018-05992-x
95. Calon A., Lonardo E., Berenguer-Llargo A. et al. Stromal gene expression defines poor-prognosis subtypes in colorectal cancer. *Nat Genet* 2015;47(4):320–9. DOI: 10.1038/ng.3225
96. Massagué J. TGFbeta in cancer. *Cell* 2008;134(2):215–30. DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.001
97. Lin R.L., Zhao L.J. Mechanistic basis and clinical relevance of the role of transforming growth factor- β in cancer. *Cancer Biol Med* 2015;12(4):385–93. DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0015
98. O'Donnell P.H., Grivas P., Balar A.V. et al. Biomarker findings and mature clinical results from KEYNOTE-052: first-line pembrolizumab (pembro) in cisplatin-ineligible advanced urothelial cancer (UC). *J Clin Oncol* 2017;35:4502. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_SUPPL.4502
99. Chen B., Khodadoust M.S., Liu C.L. et al. Profiling tumor infiltrating immune cells with CIBERSORT. *Methods Mol Biol* 2018;1711:243–59. DOI: 10.1007/978-1-4939-7493-1_12
100. Aran D., Hu Z., Butte A.J. xCell: digitally portraying the tissue cellular heterogeneity landscape. *Genome Biol* 2017;18(1):220. DOI: 10.1186/s13059-017-1349-1
101. Cao J., Yang X., Li J. et al. Screening and identifying immune-related cells and genes in the tumor microenvironment of bladder urothelial carcinoma: based on TCGA database and bioinformatics. *Front Oncol* 2019;9:1533. DOI: 10.3389/fonc.2019.01533
102. Gohil S.H., Iorgulescu J.B., Braun D.A. et al. Applying high-dimensional single-cell technologies to the analysis of cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2021;18(4):244–56. DOI: 10.1038/s41571-020-00449-x
103. Guruprasad P., Lee Y.G., Kim K.H., Ruella M. The current landscape of single-cell transcriptomics for cancer immunotherapy. *J Exp Med* 2021;218(1):e20201574. DOI: 10.1084/jem.20201574
104. Oh D.Y., Kwek S.S., Raju S.S. et al. Intratumoral CD4⁺ T cells mediate anti-tumor cytotoxicity in human bladder cancer. *Cell* 2020;181(7):1612–25.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.017
105. Chen Z., Zhou L., Liu L. et al. Single-cell RNA sequencing highlights the role of inflammatory cancer-associated fibroblasts in bladder urothelial carcinoma. *Nat Commun* 2020;11(1):5077. DOI: 10.1038/s41467-020-18916-5
106. Sfakianos J.P., Daza J., Hu Y. et al. Epithelial plasticity can generate multi-lineage phenotypes in human and murine bladder cancers. *Nat Commun* 2020;11(1):2540. DOI: 10.1038/s41467-020-16162-3
107. Mota J.M., Leite C.A., Souza L.E. et al. Post-sepsis state induces tumor-associated macrophage accumulation through CXCR4/CXCL12 and favors tumor progression in mice. *Cancer Immunol Res* 2016;4(4):312–22. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0170
108. Wang L., Sfakianos J.P., Beaumont K.G. et al. Myeloid cell-associated resistance to PD-1/PD-L1 blockade in urothelial cancer revealed through bulk and single-cell RNA sequencing. *Clin Cancer Res* 2021;27(15):4287–300. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4574
109. Siefker-Radtke A.O., Necchi A., Park S.H. et al. ERDAFITINIB in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (mUC): long-term outcomes in BLC2001. *J Clin Oncol* 2020;38(15):5015. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.5015
110. Challita-Eid P.M., Satpayev D., Yang P. et al. Enfortumab vedotin antibody-drug conjugate targeting nectin-4 is a highly potent therapeutic agent in multiple preclinical cancer models. *Cancer Res* 2016;76(10):3003–13. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1313
111. Doronina S.O., Toki B.E., Torgov M.Y. et al. Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy. *Nat Biotechnol* 2003;21(7):778–84. DOI: 10.1038/nbt832
112. Itoh N., Ornitz D.M. Fibroblast growth factors: from molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *J Biochem* 2011;149(2):121–30. DOI: 10.1093/jb/mvq121
113. Plotnikov A.N., Schlessinger J., Hubbard S.R., Mohammadi M. Structural basis for FGF receptor dimerization and activation. *Cell* 1999;98(5):641–50. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80051-3
114. Dieci M.V., Arnedos M., Andre F., Soria J.C. Fibroblast growth factor receptor inhibitors as a cancer treatment: from a biologic rationale to medical perspectives. *Cancer Discov* 2013;3(3):264–79. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0362
115. Di Martino E., Tomlinson D.C., Knowles M.A. A decade of FGF receptor research in bladder cancer: past, present, and future challenges. *Adv Urol* 2012;2012:429213. DOI: 10.1155/2012/429213
116. Helsten T., Elkin S., Arthur E. et al. The FGFR landscape in cancer: analysis of 4,853 tumors by nextgeneration sequencing. *Clin Cancer Res* 2016;22(1):259–67. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3212
117. Costa R., Carneiro B.A., Taxter T. et al. FGFR3-TACC3 fusion in solid tumors: mini review. *Oncotarget* 2016;7(34):55924–38. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3212
118. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 2014;507(7492):315–22. DOI: 10.1038/nature12965
119. Siefker-Radtke A., Loriot Y., Siena S. et al. 752P Updated data from the NORSE trial of erdafitinib (ERDA) plus cetrelimab (CET) in patients (pts) with metastatic or locally advanced urothelial carcinoma (mUC) and specific fibroblast growth factor receptor (FGFR) alterations. *Ann Oncol* 2020;31:584–5. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.08.824
120. Pal S.K., Rosenberg J.E., Hoffman-Censits J.H. et al. Efficacy of BGJ398, a fibroblast growth factor receptor 1–3 inhibitor, in patients with previously treated advanced urothelial carcinoma with FGFR3 alterations. *Cancer Discov* 2018;8(7):812–21. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0229
121. Bellmunt J., Picus J., Kohli M. et al. FIERCE-21: phase 1b/2 study of docetaxel + b-701, a selective inhibitor of FGFR3, in relapsed or refractory (R/R) metastatic urothelial carcinoma (mUCC). *J Clin Oncol* 2018;36:4534.
122. Necchi A., Castellano D.E., Mellado B. et al. Fierce-21: Phase II study of vofatmab (B-701), a selective inhibitor of FGFR3, as salvage therapy in metastatic urothelial carcinoma (mUC). *J Clin Oncol* 2019;37:409.
123. Siefker-Radtke A.O., Currie G., Abella E. et al. FIERCE-22: clinical activity of vofatmab (V) a FGFR3 selective inhibitor in combination with pembrolizumab (P) in WT metastatic urothelial carcinoma, preliminary analysis. *J Clin Oncol* 2019;37:4511. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_SUPPL.4511
124. Abdul-Karim R.M., Chaudhry A., Patrikidou A. et al. Derazantinib (DZB) in combination with atezolizumab (AZB) in patients with solid tumors: results from the dose-finding phase Ib substudy of FIDES-02. *J Clin Oncol* 2021;39:437. DOI: 10.1200/JCO.2021.39.6_suppl.437
125. Chaudhry A., Sternberg C.N., De Santis M. et al. FIDES-02, a phase Ib/II study of derazantinib (DZB) as monotherapy and combination therapy with atezolizumab (A) in patients with surgically unresectable or metastaticurothelial cancer (UC) and FGFR genetic aberrations. *J Clin Oncol* 2020;38:TPS590. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.6_suppl.TPS590
126. Quinn D.I., Petrylak D.P., Bellmunt J. et al. FORT-1: phase II/III study of rogaratinib versus chemotherapy (CT) in patients (pts) with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (UC) selected based on FGFR1/3 mRNA expression. *J Clin Oncol* 2020;38:489.
127. Rosenberg J.E., Gajate P., Morales-Barrera R. et al. Safety and preliminary efficacy of rogaratinib in combination with atezolizumab in a phase Ib/II study (FORT-2) of first-line treatment in cisplatin-ineligible patients (pts) with locally advanced or metastatic urothelial cancer (UC) and FGFR mRNA overexpression. *J Clin Oncol* 2020;38(15_suppl):5014. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.5014
128. Yue S., Li Y., Chen X. et al. FGFR–TKI resistance in cancer: current status and perspectives. *J Hematol Oncol* 2021;14(1):23. DOI: 10.1186/s13045-021-01040-2

129. Goyal L., Saha S.K., Liu L.Y. et al. Polyclonal secondary FGFR2 mutations drive acquired resistance to FGFR inhibition in patients with FGFR2 fusion-positive cholangiocarcinoma. *Cancer Discov* 2017;7(3):252–63. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-1000
130. Datta J., Damodaran S., Parks H. et al. Akt activation mediates acquired resistance to fibroblast growth factor receptor inhibitor BGJ398. *Mol Cancer Ther* 2017;16(4):614–24. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-1010
131. Wang L., Šuštić T., Leite de Oliveira R. et al. A functional genetic screen identifies the phosphoinositide 3-kinase pathway as a determinant of resistance to fibroblast growth factor receptor inhibitors in FGFR mutant urothelial cell carcinoma. *Eur Urol* 2017;71(6):858–62. DOI: 10.1016/j.eururo.2017.01.021
132. Ryan M.R., Sohl C.D., Luo B., Anderson K.S. The FGFR1 V561M gatekeeper mutation drives AZD4547 resistance through STAT3 activation and EMT. *Mol Cancer Res* 2019;17(2):532–43. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0429
133. Mandai K., Rikitake Y., Mori M., Takai Y. Nectins and nectin-like molecules in development and disease. *Curr Top Dev Biol* 2015;112:197–231. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2014.11.019
134. Chu C.E., Sjöström M., Egusa E.A. et al. Heterogeneity in NECTIN4 expression across molecular subtypes of urothelial cancer mediates sensitivity to enfortumab vedotin. *Clin Cancer Res* 2021;27(18):5123–30. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4175
135. Hoffman-Censits J.H., Lombardo K.A., Parimi V. et al. Expression of nectin-4 in bladder urothelial carcinoma, in morphologic variants, and nonurothelial histotypes. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2021;29(8):619–25. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000938
136. Rapani E., Sacchetti A., Corda D., Alberti S. Human TROP-2 is a tumor-associated calcium signal transducer. *Int J Cancer* 1998;76(5):671–6. DOI: 10.1002/(sici)1097-0215(19980529)76:5<671::aid-ijc10>3.0.co;2-7
137. Faltas B., Goldenberg D.M., Ocean A.J. et al. Sacituzumab govitecan, a novel antibody – drug conjugate, in patients with metastatic platinum-resistant urothelial carcinoma. *Clin Genitourin Cancer* 2016;14(1):e75–9. DOI: 10.1016/j.clgc.2015.10.002
138. Hurvitz S.A., Tolaney S.M., Punie K. et al. Biomarker evaluation in the phase 3 ASCENT study of sacituzumab govitecan *versus* chemotherapy in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *Cancer Res* 2021;81:Abstract GS3–6.
139. Grivas P., Tagawa S.T., Bellmunt J. et al. TROPiCS-04: study of sacituzumab govitecan in metastatic or locally advanced unresectable urothelial cancer that has progressed after platinum and checkpoint inhibitor therapy. *J Clin Oncol* 2021;39:TPS498.
140. Drakaki A., Rezazadeh Kalebasty A., Lee J. et al. Phase Ib/II umbrella trial to evaluate the safety and efficacy of multiple 2L cancer immunotherapy (CIT) combinations in advanced/metastatic urothelial carcinoma (mUC): MORPHEUS-mUC. *J Clin Oncol* 2020;38:TPS591.
141. Iqbal N., Iqbal N. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications. *Mol Biol Int* 2014;2014:852748. DOI: 10.1155/2014/852748
142. Coogan C.L., Estrada C.R., Kapur S., Bloom K.J. HER-2/neu protein overexpression and gene amplification in human transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2004;63(4):786–90. DOI: 10.1016/j.urolgy.2003.10.040
143. Latif Z., Watters A.D., Dunn I. et al. HER2/neu overexpression in the development of muscle-invasive transitional cell carcinoma of the bladder. *Br J Cancer* 2003;89(7):1305–9. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601245
144. Choudhury N.J., Campanile A., Antic T. et al. Afatinib activity in platinum-refractory metastatic urothelial carcinoma in patients with ERBB alterations. *J Clin Oncol* 2016;34(18):2165–71. DOI: 10.1200/JCO.2015.66.3047
145. Font Pous A., Puente J., Castellano D.E. et al. Phase II trial of afatinib in patients with advanced/metastatic urothelial carcinoma (UC) with genetic alterations in ERBB receptors 1–3 who failed on platinum-based chemotherapy (CT). *J Clin Oncol* 2018;36(6):TPS540. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.6_suppl.TPS540
146. Hainsworth J.D., Meric-Bernstam F., Swanton C. et al. Targeted therapy for advanced solid tumors on the basis of molecular profiles: results from MyPathway, an open-label, phase IIa multiple basket study. *J Clin Oncol* 2018;36(6):536–42. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.3780
147. Sheng X., Zhou A., Yao X. et al. A phase II study of RC48-ADC in HER2-positive patients with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *J Clin Oncol* 2019;37(15_suppl):4509. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.4509
148. Bob T., Makker V., Buonocore D.J. et al. A multi-histology basket trial of ado-trastuzumab emtansine in patients with HER2 amplified cancers. *J Clin Oncol* 2018;36(15_suppl):2502. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.2502
149. Duan Y., Haybaeck J., Yang Z. Therapeutic potential of PI3K/AKT/mTOR pathway in gastrointestinal stromal tumors: rationale and progress. *Cancers (Basel)* 2020;12(10):2972. DOI: 10.3390/cancers12102972
150. Sathe A., Nawroth R. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in bladder cancer. *Methods Mol Biol* 2018;1655:335–50. DOI: 10.1007/978-1-4939-7234-0_23
151. Iyer G., Al-Ahmadie H., Schultz N. et al. Prevalence and co-occurrence of actionable genomic alterations in high-grade bladder cancer. *J Clin Oncol* 2013;31(25):3133–40. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.5740
152. Platt F.M., Hurst C.D., Taylor C.F. et al. Spectrum of phosphatidylinositol 3-kinase pathway gene alterations in bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15(19):6008–17. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0898
153. Calderaro J., Rebouissou S., de Koning L. et al. PI3K/AKT pathway activation in bladder carcinogenesis. *Int J Cancer* 2014;134(8):1776–84. DOI: 10.1002/ijc.28518
154. Cappellen D., Gil Diez de Medina S., Chopin D. et al. Frequent loss of heterozygosity on chromosome 10q in muscle-invasive transitional cell carcinomas of the bladder. *Oncogene* 1997;14(25):3059–66. DOI: 10.1038/sj.onc.1201154
155. Aveyard J.S., Skilleter A., Habuchi T., Knowles M.A. Somatic mutation of PTEN in bladder carcinoma. *Br J Cancer* 1999;80(5–6):904–8. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690439
156. Tsuruta H., Kishimoto H., Sasaki T. et al. Hyperplasia and carcinomas in Pten-deficient mice and reduced PTEN protein in human bladder cancer patients. *Cancer Res* 2006;66(17):8389–96. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4627
157. Knowles M.A., Habuchi T., Kennedy W., Cuthbert-Heavens D. Mutation spectrum of the 9q34 tuberous sclerosis gene *TSC1* in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 2003;63(22):7652–6.
158. Milowsky M.I., Iyer G., Regazzi A.M. et al. Phase II study of everolimus in metastatic urothelial cancer. *BJU Int* 2013;112(4):462–70. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2012.11720.x
159. Bellmunt J., Lalani A.A., Jacobus S. et al. Everolimus and pazopanib (E/P) benefit genomically selected patients with metastatic urothelial carcinoma. *Br J Cancer* 2018;119(6):707–12. DOI: 10.1038/s41416-018-0261-0
160. Wagle N., Grabiner B.C., van Allen E.M. et al. Activating mTOR mutations in a patient with an extraordinary response on a phase I trial of everolimus and pazopanib. *Cancer Discov* 2014;4(5):546–53. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0353
161. Kim J.W., Milowsky M.I., Hahn N.M. et al. Sapanisertib, a dual mTORC1/2 inhibitor, for *TSC1*- or *TSC2*-mutated metastatic urothelial carcinoma (mUC). *J Clin Oncol* 2021;39(6):431.
162. McPherson V., Reardon B., Bhayankara A. et al. A phase 2 trial of buparlisib in patients with platinum-resistant metastatic urothelial carcinoma. *Cancer* 2020;126(20):4532–44. DOI: 10.1002/cncr.33071
163. Flaherty K.T., Gray R.J., Chen A.P. et al. NCI-MATCH team. Molecular landscape and actionable alterations in a genomically

- guided cancer clinical trial: national cancer institute molecular analysis for therapy choice (NCI-MATCH). *J Clin Oncol* 2020;38(33):3883–94. DOI: 10.1200/JCO.19.03010
164. Sathe A., Gueth F., Cronauer M.V. et al. Mutant PIK3CA controls DUSP1-dependent ERK 1/2 activity to confer response to AKT target therapy. *Br J Cancer* 2014;111(11):2103–13. DOI: 10.1038/bjc.2014.534
165. Dickstein R.J., Nitti G., Dinney C.P. et al. Autophagy limits the cytotoxic effects of the AKT inhibitor AZ7328 in human bladder cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2012;13(13):1325–38. DOI: 10.4161/cbt.21793
166. Seront E., Rottey S., Filleul B. et al. Phase II study of dual phosphoinositol-3-kinase (PI3K) and mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor BEZ235 in patients with locally advanced or metastatic transitional cell carcinoma. *BJU Int* 2016;118(3):408–15. DOI: 10.1111/bju.13415
167. Munster P., Aggarwal R., Hong D. et al. First-in-human phase I study of GSK2126458, an oral pan-class I phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumor malignancies. *Clin Cancer Res* 2016;22(8):1932–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1665
168. Apolo A.B., Nadal R., Tomita Y. et al. Cabozantinib in patients with platinum-refractory metastatic urothelial carcinoma: an openlabel, single-centre, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(8):1099–109. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30202-3
169. Apolo A.B., Nadal R., Girardi D.M. et al. Phase I study of cabozantinib and nivolumab alone or with ipilimumab for advanced or metastatic urothelial carcinoma and other genitourinary tumors. *J Clin Oncol* 2020;38(31):3672–84. DOI: 10.1200/JCO.20.01652

Вклад авторов

Л.Ю. Гривцова, О.Б. Карякин: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи, редактирование статьи; М.Г. Сядрин, С.М. Самборский, С.А. Иванов, А.Д. Каприн: анализ полученных данных, редактирование статьи.

Authors' contributions

L.Yu. Grivtsova, O.B. Karyakin: developing the research concept and design, article writing, article editing; M.G. Syadrin, S.M. Samborsky, S.A. Ivanov, A.D. Kaprin: analysis of the obtained data, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Л.Ю. Гривцова / L.Yu. Grivtsova: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>
О.Б. Карякин / O.B. Karyakin: <https://orcid.org/0000-0002-6112-2840>
М.Г. Сядрин / M.G. Syadrin: <https://orcid.org/0000-0001-5409-9382>
С.М. Самборский / S.M. Samborsky: <https://orcid.org/0000-0003-3095-4158>
С.А. Иванов / S.A. Ivanov: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>
А.Д. Каприн / A.D. Kaprin: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.