

Роль мутационного статуса гена *FGFR3* в предсказании прогрессирования рака мочевого пузыря без мышечной инвазии

А.И. Ролевич¹, М.П. Смаль², С.А. Красный¹, Р.И. Гончарова²

¹ ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»; Республика Беларусь, 223040, Минский район, пос. Лесной;

² Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси; Республика Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27

Контакты: Александр Игоревич Ролевич alexander.rolevich@gmail.com

Проведено проспективное исследование по оценке прогностического значения мутационного статуса гена *FGFR3* у пациентов с раком мочевого пузыря без мышечной инвазии. В исследование включено 265 пациентов, у 168 (63,4 %) обнаружены мутации гена *FGFR3*. Установлено, что частота мутаций гена *FGFR3* была статистически значимо выше в высокодифференцированных опухолях ($p = 0,00004$). При медиане наблюдения 34 мес не выявлено статистически значимого показателя относительного риска прогрессирования рака мочевого пузыря без мышечной инвазии при наличии мутации гена *FGFR3* по сравнению с ее отсутствием (0,50; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,17–1,49; $p = 0,21$). При анализе прогностического значения мутационной изменчивости гена *FGFR3* в различных подгруппах было обнаружено, что у пациентов с опухолями T1 high grade ($n = 41$) мутации гена *FGFR3* были связаны со статистически значимо лучшим прогнозом: 3-летняя выживаемость до прогрессирования при наличии мутации ($n = 17$) составила 100 % по сравнению с 71,2 % (95 % ДИ 42,8–99,6 %) при отсутствии мутации ($n = 24$). При остальных категориях опухолей (Ta, T1 low grade) статистически значимых различий в выживаемости до прогрессирования в зависимости от мутационного статуса *FGFR3* не выявлено.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря без мышечной инвазии, прогноз, выживаемость до прогрессирования, раковоспецифическая выживаемость, ген *FGFR3*, мутации гена, факторы прогноза, мутационный статус

DOI: 10.17650/1726-9776-2015-11-3-62-70

Role of the *FGFR3* gene mutation status in predicting progression of non-muscle-invasive bladder cancer

A.I. Rolevich¹, M.P. Smal², S.A. Krasnyi¹, R.I. Goncharova²

¹ N.N. Aleksandrov Republican Research and Practical Center for Oncology and Medical Radiology; Lesnoy Settlement, Minsk District, 223040, Belarus;

² Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus; 27, Akademicheskaya St., Minsk 220072, Belarus

A prospective study was conducted to assess the prognostic value of *FGFR3* gene mutation status in patients with non-muscle invasive bladder cancer. A total of 265 patients were included in the study. *FGFR3* gene mutations were found in 168 (63.4 %) cases. *FGFR3* mutation rate was significantly higher in low-grade tumors ($p = 0.00004$). With a median follow-up of 34 months hazard ratio of progression in *FGFR3* mutant cases compared to *FGFR3* wild type was 0.50 (95 % CI 0.17–1.49; $p = 0.21$). In the subgroup analysis, it was found that *FGFR3* mutations in patients with T1 high grade tumors ($n = 41$) were associated with a significantly better prognosis: 3-year progression-free survival (PFS) in *FGFR3* mutant cases ($n = 17$) was 100 % compared to 71.2 % (95 % CI 42.8–99.6 %) in the absence of mutations ($n = 24$). For other subgroups (Ta, T1 low grade) no statistically significant difference in PFS by *FGFR3* mutation status was noted.

Key words: non-muscle-invasive bladder cancer, clinical prognosis, progression-free survival, overall survival, cancer-specific survival, *FGFR3* gene, gene mutations, predictors, mutation status

Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) является 3-м по частоте встречаемости онкоурологическим злокачественным новообразованием после рака предстательной железы и почки [1]. Заболеваемость РМП в большинстве стран СНГ стабильно растет, что связывают с распространенностью факторов риска, к которым отно-

сятся курение и профессиональные вредности [2]. Более 50 % всех впервые выявленных опухолей относятся к РМП без мышечной инвазии (РМПБМИ), при котором, несмотря на относительно благоприятный прогноз в отношении жизни, около 50 % опухолей рецидивирует и до 10 % прогрессирует в мышечно-инвазивный РМП. Последнее событие считается

наиболее значимым показателем неудачного лечения, поскольку смертность от РМП главным образом связана с прогрессированием и, по данным ряда исследователей, может превышать смертность при первичном мышечно-инвазивном РМП [3].

Для профилактики прогрессирования и связанной с ним смертности было предложено выполнение ранней цистэктомии при РМПБМИ с высоким риском прогрессирования. Однако существующие методы прогнозирования прогрессирования, основанные на клинических и морфологических параметрах, не позволяют точно предсказать это событие, что может приводить к избыточному лечению до 50 % пациентов группы крайне высокого риска, у которых прогрессирование после радикального лечения не наблюдается [4, 5].

В настоящее время становится очевидным, что совершенствование методов прогнозирования РМП возможно за счет использования дополнительных биомаркеров, указывающих на злокачественный потенциал опухоли. Мутации гена *FGFR3* с высокой частотой встречаются при РМПБМИ и, по мнению ряда исследователей, являются маркером благоприятного пути канцерогенеза [6, 7]. Тем не менее прогностическое значение мутационного статуса гена *FGFR3* было продемонстрировано не во всех клинических исследованиях и остается спорным [8, 9].

Цель исследования — оценка прогностической роли мутационного статуса гена *FGFR3* в опухолевой ткани в отношении выживаемости до прогрессирования при РМПБМИ.

Материалы и методы

Проведено проспективное когортное исследование по оценке прогностической значимости мутационного статуса гена *FGFR3*. Критериями включения в исследование послужили наличие первичного или рецидивного гистологически верифицированного переходного-клеточного РМП, отсутствие мышечной инвазии (в том числе и в анамнезе для рецидивных опухолей), макроскопически полная (радикальная) трансуретральная резекция (ТУР) опухоли, длительность наблюдения не менее 12 мес.

Для генетического исследования выделяли ДНК из свежего опухолевого материала и срезов парафиновых блоков посредством ферментативной обработки образцов протеиназой К с последующей фенол-хлороформной экстракцией. Для идентификации мутаций гена *FGFR3* проводили амплификацию фрагментов, покрывающих сайты наиболее часто встречающихся мутаций в 7, 10 и 15-м экзонах, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Праймеры и условия ПЦР подобраны в соответствии с рекомендациями J.M. van Oers и соавт. [10]. Очистку ПЦР-продуктов осуществляли с помощью щелочной

фосфатазы и экзонуклеазы I (Thermo Scientific). SNaPshot-реакцию проводили с использованием подобранных для каждого SNP внутренних праймеров, описанных в работе [10], и набора ABI Prism SNaPshot multiplex kit (Applied Biosystems), после чего осуществляли дополнительную обработку продуктов щелочной фосфатазой. Анализ продуктов SNaPshot-реакции проводили на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems). После окончания разделения образцов полученные данные анализировали с помощью программы GeneMapper v 4.1.

Пациенты с местным прогрессированием РМП в течение первых 6 мес после начала лечения исключались из анализа.

Всего в исследование включено 265 пациентов: 208 (78 %) мужчин и 57 (22 %) женщин в возрасте от 31 до 93 лет (медиана 67 лет) (табл. 1). Первичные опухоли наблюдались у 191 (72 %) пациента, у 74 (28 %) — рецидивные. Одиночные опухоли были у 91 (34 %) пациента, от 2 до 7 — у 129 (49 %) и 8 и более — у 34 (13 %). Диаметр опухоли в наибольшем измерении колебался от 0,3 до 8,5 см, медиана — 2,0 см. У 85 (32 %) пациентов после патоморфологического исследования установлена стадия Ta, у 177 (67 %) — T1 и у 3 (1 %) — Tis. В зависимости от гистопатологической градации по классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 1973 и 2004 г. распределение пациентов было следующим: G₁ — у 132 (50 %) пациентов, G₂ — у 109 (41 %) и G₃ — у 18 (7 %). В соответствии с классификацией ВОЗ 2004 г. папиллярная уротелиальная опухоль с низким злокачественным потенциалом (ПУОНЗП) выявлена у 8 (3 %) пациентов, low grade — у 209 (79 %) и high grade — у 42 (16 %). У 26 (10 %) пациентов выполнена повторная ТУР, 59 (22 %) проведена адъювантная внутривезикулярная иммунотерапии вакциной БЦЖ.

Для оценки прогностического значения мутационного статуса гена *FGFR3* в отношении выживаемости до прогрессирования за всеми пациентами в исследовании проводилось наблюдение, включавшее цистоскопию и/или УЗИ мочевого пузыря 1 раз в 3 мес на первом году наблюдения, 1 раз в 6 мес в течение последующих 2 лет и затем 1 раз в год. За местный рецидив принимали появление морфологически верифицированной переходного-клеточной опухоли стадии Ta, T1 или Tis, локализующейся в мочевом пузыре. Прогрессирование опухолевого процесса устанавливали в случае развития мышечно-инвазивной опухоли в мочевом пузыре и/или регионарных либо отдаленных метастазов РМП.

Оценена частота мутации гена *FGFR3* в зависимости от различных клинических факторов, статистическая значимость различий оценена с помощью χ^2 -теста. Выживаемость до прогрессирования и ее 95 % доверительный интервал (ДИ) вычисляли

Таблица 1. Характеристика пациентов и частота мутаций гена *FGFR3* в зависимости от различных клинических факторов

Характеристика	Всего, n (%)	Мутация <i>FGFR3</i> , n (%)	Дикий тип <i>FGFR3</i> , n (%)	p
Пол: женский мужской	208 (78,5) 57 (21,5)	35 (61,4) 133 (63,9)	22 (38,6) 75 (36,1)	0,72
Возраст: < 60 61–70 ≥ 70	66 (24,9) 82 (30,9) 117 (44,2)	38 (57,6) 48 (58,5) 82 (70,1)	28 (42,4) 34 (41,5) 35 (29,9)	0,13
Характер опухоли: первичная рецидивная	191 (72,1) 74 (27,9)	117 (61,3) 51 (68,9)	74 (38,7) 23 (31,1)	0,56
Количество опухолей: 1 2–7 ≥ 8 нет данных	91 (34,3) 129 (48,7) 34 (12,8) 11 (4,2)	52 (57,1) 83 (64,3) 26 (76,5) 7 (63,6)	39 (42,9) 46 (35,7) 8 (23,5) 4 (36,4)	0,13
Размер опухоли в наибольшем измерении: < 3 см ≥ 3 см	171 (64,5) 94 (35,5)	105 (61,4) 63 (67,0)	66 (38,6) 31 (33,0)	0,94
Стадия опухоли: Tis Ta T1	3 (1,1) 85 (32,1) 177 (66,8)	1 (33,3) 61 (71,8) 106 (59,9)	2 (66,7) 24 (28,2) 71 (40,1)	0,097
Степень дифференцировки (ВОЗ, 1973): G ₁ G ₂ G ₃ нет данных/CIS	132 (49,8) 109 (41,1) 18 (6,8) 6 (2,3)	99 (75,0) 61 (56,0) 5 (27,8) 3 (50,0)	33 (25,0) 48 (44,0) 13 (72) 3 (50)	0,00004
Степень дифференцировки (ВОЗ, 2004): ПУОНЗП low grade high grade нет данных/CIS	8 (3,0) 209 (78,9) 42 (15,8) 6 (2,3)	3 (37,5) 144 (68,9) 18 (42,9) 3 (50,0)	5 (63) 65 (31) 24 (57) 3 (50,0)	0,002
Категория риска: Ta low grade/ПУОНЗП T1 low grade T1 high grade нет данных/CIS	64 (24,2) 137 (51,7) 40 (15,1) 6 (2,3)	59 (72,0) 89 (65,0) 17 (43,5) 3 (50,0)	23 (28,0) 48 (35) 23 (57,5) 3 (50,0)	0,006
Статус курильщика: не курит курил ранее курит нет данных	82 (30,9) 82 (30,9) 89 (33,6) 12 (4,5)	48 (58,5) 51 (62,2) 63 (70,8) 6 (50,0)	34 (41,5) 31 (37,8) 26 (29,2) 6 (50,0)	0,099

по методу Каплана–Майера. Показатели выживаемости сравнивали в зависимости от мутационного статуса гена *FGFR3* как в общей группе пациентов, так и в подгруппах в зависимости от основных клинико-морфологических факторов. Статистическая значимость различий в 2 группах определялась с помощью *log-rank*-теста, в 3 и более группах — χ^2 -теста.

Результаты

Среди 265 пациентов активирующие мутации гена *FGFR3* выявлены у 168, что составило 63,4 %. У 156

пациентов обнаружены одиночные и у 12 — двойные мутации указанного гена. Восемь различных мутаций, а именно S249C, R248C, Y375C, G372C, A393E, S373C, K652M и G382R, были определены в горячих точках 7, 10 и 15-го экзонов.

Среди 12 случаев с двойными мутациями в 6 наблюдениях были обнаружены мутации S249C/R248C, в остальных случаях выявлены следующие сочетания: A393E/R248C, S249C/Y375C, K652M/A393E, R248C/Y375C, Y375C/S373C и S249C/G372C. Мутация S249C наблюдалась в 114 случаях и составила 63,3 % всех выявленных мутаций гена *FGFR3*. Второй

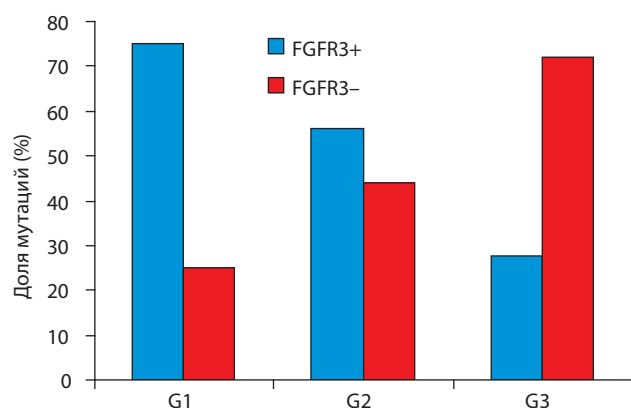


Рис. 1. Частота встречаемости дикого (FGFR3-) и мутированного (FGFR3+) типа FGFR3 в зависимости от степени дифференцировки опухоли

по частоте встречаемости (16,1 %) оказалась мутация Y375C, установленная в 29 случаях.

При статистическом анализе данных не было выявлено значимой корреляции между присутствием мутации гена *FGFR3* и такими характеристиками, как пол пациента, возраст, статус курильщика, характер роста опухоли, а также ее размер (см. табл. 1). Установлено, что частота мутаций гена *FGFR3* статистически значимо выше в высокодифференцированных опухолях ($p = 0,00004$). Так, в подгруппе опухолей G₁ мутации указанного гена были выявлены с частотой 75,0 % (в 99 из 132 случаев), в то время как в подгруппах G₂ и G₃ этот показатель составил 56,0 % (61/109) и 27,8 % (5/18) соответственно (рис. 1).

Длительность наблюдения колебалась от 12 до 54 мес, медиана наблюдения составила 34 мес. В течение это-

го периода выявлено 90 рецидивов, 13 случаев прогрессирования, 31 пациент умер, в том числе 8 — от РМП. Трехлетняя безрецидивная выживаемость составила 67,1 % (95 % ДИ 61,1–73,1), выживаемость до прогрессирования — 93,9 % (95 % ДИ 90,6–97,2), общая выживаемость — 87,1 % (95 % ДИ 82,4–91,9), скорректированная выживаемость — 96,8 % (95 % ДИ 94,4–99,3).

При анализе выживаемости до прогрессирования в зависимости от мутационного статуса гена *FGFR3* в общей группе пациентов не выявлено статистически значимых различий. Так, 3-летняя выживаемость до прогрессирования при отсутствии мутации *FGFR3* составила 92,0 % (95 % ДИ 86,2–97,8), тогда как при наличии мутации — 95,0 % (95 % ДИ 90,9–99,1). Наличие мутации гена *FGFR3* в опухолевом материале несколько снижало риск прогрессирования РМПБМИ, однако это снижение не достигло уровня статистической значимости: отношение рисков (ОР) составило 0,50 (95 % ДИ 0,17–1,49; $p = 0,21$).

Проведен анализ прогностического значения мутационной изменчивости гена *FGFR3* в отношении прогрессирования РМПБМИ в различных подгруппах пациентов в зависимости от значений стандартных факторов прогноза (табл. 2).

При анализе прогностического значения мутационной изменчивости гена *FGFR3* в отношении прогрессирования РМПБМИ обнаружено, что в подгруппе опухолей с высокой степенью гистологической злокачественности (high grade, $n = 42$) мутации гена *FGFR3* были связаны со статистически лучшим прогнозом: 3-летняя выживаемость до прогрессирования

Таблица 2. Анализ прогностического значения мутационного статуса гена *FGFR3* в отношении выживаемости до прогрессирования в различных подгруппах пациентов

Показатель	Подгруппа	Количество прогрессирований/Число пациентов	3-летняя выживаемость до прогрессирования	<i>p</i>
Пол				
женский	FGFR3– FGFR3+	2/22 0/35	90,5 ± 6,4 100,0	0,11
мужской	FGFR3– FGFR3+	5/75 6/133	93,0 ± 3,0 93,7 ± 2,6	0,49
Возраст, лет				
< 60	FGFR3– FGFR3+	2/28 0/38	91,6 ± 5,8 100,0	0,12
60–69	FGFR3– FGFR3+	2/34 1/48	93,8 ± 4,2 96,3 ± 3,6	0,47
> 70	FGFR3– FGFR3+	3/35 5/82	91,4 ± 4,7 92,3 ± 3,4	0,53
Характер опухоли				
первичная	FGFR3– FGFR3+	3/74 2/117	95,1 ± 2,8 97,6 ± 1,7	0,36
рецидивная	FGFR3– FGFR3+	4/23 4/51	82,1 ± 8,1 89,7 ± 5,0	0,19

Показатель	Подгруппа	Количество прогрессирований/Число пациентов	3-летняя выживаемость до прогрессирования	p
Количество опухолей				
единичная	FGFR3– FGFR3+	1/39 1/52	97,4 ± 2,5 97,0 ± 3,0	0,87
множественные	FGFR3– FGFR3+	6/58 5/116	88,4 ± 4,5 94,2 ± 2,6	0,14
Размер опухоли в наибольшем изменении, см				
< 3	FGFR3– FGFR3+	6/66 6/105	90,1 ± 3,9 92,2 ± 3,2	0,44
> 3	FGFR3– FGFR3+	1/31 0/63	96,0 ± 3,9 100,0	0,16
Категория T				
Ta	FGFR3– FGFR3+	1/24 1/61	95,8 ± 4,1 96 ± 3,9	0,57
T1	FGFR3– FGFR3+	6/71 5/106	90,6 ± 3,7 94,3 ± 2,5	0,31
Категория G				
G ₁	FGFR3– FGFR3+	1/33 4/99	97,0 ± 3,0 94,1 ± 2,9	0,72
G ₂	FGFR3– FGFR3+	2/48 2/61	94,9 ± 3,6 96,5 ± 2,4	0,88
G ₃	FGFR3– FGFR3+	3/13 0/5	71,2 ± 14,5 100,0	0,25
Прогностическая группа				
TaG _{1–2}	FGFR3– FGFR3+	0/23 1/59	100,0 95,7 ± 4,3	0,45
T1G _{1–2}	FGFR3– FGFR3+	3/58 5/101	94,3 ± 3,3 94,1 ± 2,6	0,97
T1G ₃	FGFR3– FGFR3+	3/13 0/5	71,2 ± 14,5 100,0	0,25
Степень дифференцировки (ВОЗ, 2004 г.)				
ПУОНЗП/low grade	FGFR3– FGFR3+	2/70 6/147	97,1 ± 2,0 94,2 ± 2,4	0,58
high grade	FGFR3– FGFR3+	4/24 0/18	76,3 ± 10,9 100,0	0,043
Прогностическая группа				
Ta	FGFR3– FGFR3+	0/23 1/59	100,0 95,7 ± 4,3	0,45
T1 low grade	FGFR3– FGFR3+	2/48 5/89	95,8 ± 2,9 93,1 ± 3,0	0,69
T1 high grade	FGFR3– FGFR3+	4/23 0/17	75,9 ± 11,0 100,0	0,048
Риск рецидива по EORTC				
низкий/промежуточный риск	FGFR3– FGFR3+	0/32 2/65	100,0 95,6 ± 3,1	0,29
высокий риск	FGFR3– FGFR3+	6/55 3/76	87,6 ± 4,8 94,3 ± 3,3	0,12
крайне высокий риск	FGFR3– FGFR3+	0/7 1/23	100,0 95,5 ± 4,4	0,60
Риск прогрессирования по EORTC				
низкий/промежуточный риск	FGFR3– FGFR3+	0/32 2/78	100,0 94,9 ± 3,5	0,30
высокий риск	FGFR3– FGFR3+	4/57 4/83	92,2 ± 3,8 94,5 ± 2,7	0,56

Окончание табл. 2.

Показатель	Подгруппа	Количество прогрессирований/Число пациентов	3-летняя выживаемость до прогрессирования	<i>p</i>
крайне высокий риск	FGFR3– FGFR3+	2/5 0/3	40 ± 29,7 100,0	0,24
Адьювантная терапия				
нет БЦЖ	FGFR3– FGFR3+	4/68 5/138	93,4 ± 3,3 94,6 ± 2,4	0,50
БЦЖ	FGFR3– FGFR3+	3/29 1/30	89,1 ± 6,0 96,7 ± 3,3	0,28
Статус курильщика				
не курят	FGFR3– FGFR3+	2/34 0/48	92,4 ± 5,2 100,0	0,099
курили ранее	FGFR3– FGFR3+	5/31 4/51	82,3 ± 7,4 89,4 ± 5,3	0,21
не курят или курили ранее	FGFR3– FGFR3+	7/65 4/99	87,6 ± 4,5 94,8 ± 2,6	0,094
курят сейчас	FGFR3– FGFR3+	0/26 2/63	100,0 95,4 ± 3,2	0,31

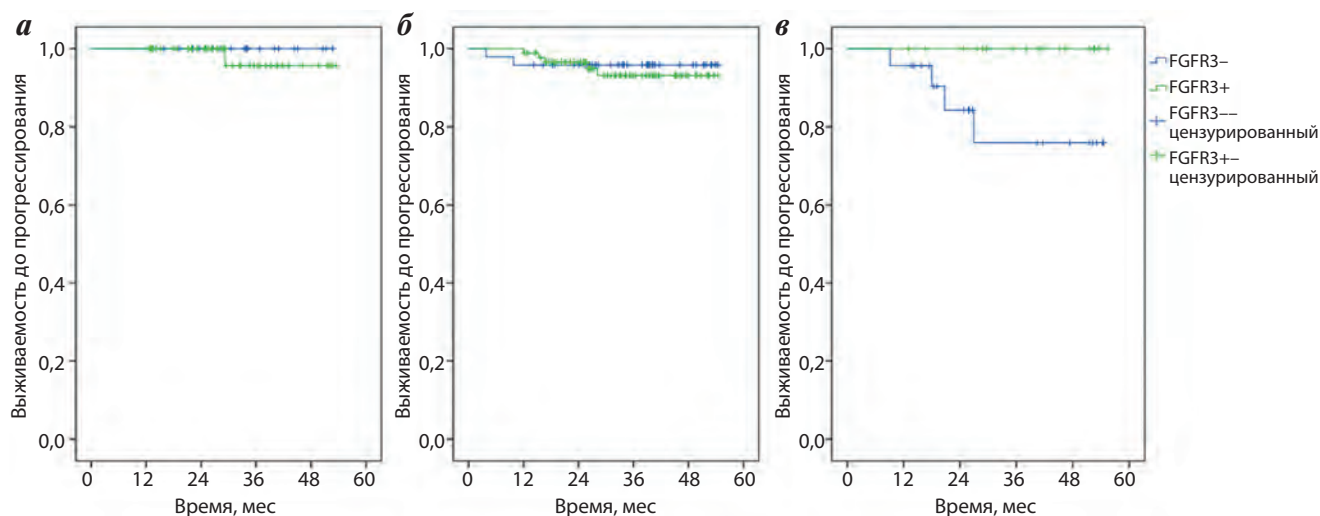


Рис. 2. Выживаемость до прогрессирования в зависимости от мутационного статуса *FGFR3* в подгруппах с опухолями *Ta* (а), *T1 low grade* (б) и *T1 high grade* (в)

при наличии мутации ($n = 18$) составила 100 % по сравнению с 76,3 % (95 % ДИ 54,9–97,7) при отсутствии мутации ($n = 24$) (рис. 2). Поскольку все эти пациенты относились к категории *T1 high grade*, такие же различия наблюдались и в данной подгруппе (см. рис. 2). При остальных категориях опухолей статистически значимых различий в выживаемости до прогрессирования в зависимости от мутационного статуса *FGFR3* не выявлено.

Обсуждение

Хорошо известна генетическая обусловленность практически всех злокачественных заболеваний, причем количество известных генов, вовлеченных в про-

цессы канцерогенеза, быстро увеличивается. Наиболее значительным событием в генетике РМП в последние годы стало обнаружение несколькими группами исследователей высокой частоты мутаций гена *FGFR3* [11, 12].

Затем 2 независимыми группами исследователей было обосновано существование 2 альтернативных генетических путей в патогенезе уротелиальной карциномы [6, 7]. Было отмечено, что мутации генов *FGFR3* и *p53* практически взаимно исключают друг друга, так как только для 5,7 % опухолей было характерно одновременное наличие мутаций обоих генов [7]. На этом основании была выдвинута гипотеза о том, что для первого пути характерны, в первую оче-

редь, мутации гена *FGFR3* в опухолях pTa/1G_{1/2}, низкая частота рецидивов, низкий риск прогрессирования и благоприятный клинический прогноз. Для 2-го пути характерны высокая частота мутаций гена *p53* в опухолях pTa/1G_{2/3} (включая CIS), высокая частота рецидивов, развитие инвазии и метастазирования.

Открытие 2 различных молекулярно-генетических путей неопластической трансформации уротелиальной карциномы создало новые возможности для разработки усовершенствованных методов прогнозирования клинического течения и лечения РМП. Так, были опубликованы результаты исследований, в ходе которых оценивалось прогностическое значение мутации *FGFR3* в отношении развития рецидивов и прогрессирования.

В 2001 г. в небольшой работе с участием 57 пациентов В.В. van Rhijn и соавт. обнаружили, что у пациентов с РМПБМИ и мутацией *FGFR3* наблюдалось значительно меньше рецидивов, чем у пациентов без данной мутации [13]. Так, частота рецидивов в год была 0,24 при опухолях с мутацией по сравнению с 1,12 при РМПБМИ с диким типом гена *FGFR3*. Кроме того, мутационный статус *FGFR3* оказался более сильным фактором прогноза рецидива по сравнению со стадией и степенью дифференцировки.

Два года спустя В.В. van Rhijn и соавт. опубликовали работу, в которой оценили прогностическое значение комбинации из 4 молекулярных маркеров — мутации гена *FGFR3* и гиперэкспрессии *MIB-1*, *p53* и *P27kip1*, определяемых иммуногистохимически [14]. Было обнаружено, что при высокодифференцированных опухолях мутации *FGFR3* встречаются в 88 % случаев по сравнению с 16 % при низкодифференцированном раке. Напротив, гиперэкспрессия *MIB-1*, *p53*, и *P27kip1* наблюдались в 5, 2 и 3 % высокодифференцированных и 85, 60 и 56 % низкодифференцированных опухолей соответственно. В мультивариантном анализе комбинация *FGFR3* и *MIB-1*, которую авторы назвали молекулярной степенью злокачественности, оказалась значимым независимым прогностическим фактором в отношении риска развития рецидивов, прогрессирования и смерти от РМП. При этом благоприятный прогноз отмечался при наличии мутации *FGFR3* и нормальной экспрессии *MIB-1*, неблагоприятный прогноз — при отсутствии мутации *FGFR3* и гиперэкспрессии *MIB-1* и промежуточный — в остальных случаях. Преимуществом определения молекулярной степени злокачественности являлась хорошая межисследовательская воспроизводимость (85–100 %) по сравнению с патоморфологическим определением дифференцировки (47–61 %).

С. Hernandez и соавт. оценили прогностическое значение мутаций *FGFR3* и *p53* в проспективном исследовании в когорте из 119 пациентов с категорией РМПБМИ T1G₃ [8]. Мутации гена *FGFR3* обнаружены

в 16,8 % случаев, мутации *p53* — в 65,5 %. В отличие от предыдущих работ исследователи не обнаружили связи между изучаемыми мутациями, более того эти молекулярно-генетические изменения не были связаны с определенными клинико-патологическими характеристиками опухоли и не играли роли в предсказании рецидива или смерти от РМП.

В другом, более крупном проспективном исследовании S. Hernandez и соавт. определили мутационный статус гена *FGFR3* в опухолевой ткани 772 пациентов, страдающих РМПБМИ, и оценили его прогностическое значение в отношении рецидивирования и прогрессирования при медиане наблюдения 62,6 мес [15]. Как и в предыдущей работе, мутации чаще встречались при ПУОНЗП (77 %), TaG₁ (61 %) и TaG₂ (58 %), чем при опухолях TaG₃ (34 %) и T1G₃ (17 %). При мультивариантном анализе отмечено, что наличие мутации было связано с повышенным риском рецидива, но не прогрессирования. При стратификации в зависимости от категорий T и G в категории TaG₁ отмечалось более чем двукратное увеличение риска рецидива при наличии мутации (ОР 2,12; 95 % ДИ 1,28–3,53; $p = 0,004$).

В проспективном исследовании с участием 221 пациента, результаты которого были опубликованы в 2008 г., М. Burger и соавт. оценили прогностическое значение дифференцировки опухоли по морфологическим классификациям ВОЗ 1973 и 2004 гг., а также таких молекулярных маркеров, как *FGFR3*, *CK20* и *Ki-67* [9]. При медиане наблюдения 35 мес ни один из изучаемых параметров не коррелировал с вероятностью рецидива опухоли. В то же время *CK20*, *Ki-67*, мутация *FGFR3*, комбинация статусов *FGFR3* и *Ki-67*, как и гистологические параметры, статистически значимо коррелировали с риском прогрессирования опухоли. Тем не менее в мультивариантном анализе только гистологическая дифференцировка опухоли по морфологическим классификациям ВОЗ 1973 и 2004 гг. оставалась статистически значимым предиктором прогрессирования. Мутационный статус *FGFR3* проявлял свои прогностические характеристики только в подгруппе пациентов с низкодифференцированными опухолями ($p = 0,009$).

В 2010 г. в работе, являющейся продолжением предыдущего ретроспективного исследования [14], с большей продолжительностью наблюдения В.В. van Rhijn и соавт. провели валидацию прогностической классификации EORTC, а также ранее разработанного молекулярного grade, основанного на мутационном статусе *FGFR3* и экспрессии *MIB-1* [16]. При медиане наблюдения 8,6 года категория риска EORTC оказалась значимым предиктором рецидива и прогрессирования в мультивариантном анализе, в то время как молекулярная степень злокачественности оказалась значимой в отношении прогрессирования и раково-специфической выживаемости. Добавление молеку-

Таблица 3. Результаты исследований, посвященных анализу прогностического значения мутации гена *FGFR3*

Автор, ссылка	Тип исследования/Число пациентов/Медиана наблюдения	Маркер	Результаты оценки прогностического значения биомаркеров
van Rhijn B.W. et al., 2001 [13]	Проспективное/57/12 мес	FGFR3	Мутация связана со снижением риска рецидивов
van Rhijn B.W. et al., 2003 [14]	Ретроспективное/286/5,5 года	FGFR3/ MIB-1	Независимый прогностический фактор в отношении рецидивов, прогрессирования и смерти
Hernandez S. et al., 2005 [8]	Проспективное/119 (T1G ₃)/54 мес	FGFR3, Tp53	Нет прогностической роли в отношении рецидивов и смерти от рака
Hernandez S. et al., 2006 [15]	Проспективное/772/62,6 мес	FGFR3	Мутация связана с повышенным риском рецидива, но не прогрессирования
Burger M. et al., 2008 [9]	Проспективное/221/35 мес	FGFR3, FGFR3/ Ki-67	Нет прогностической роли в общей группе пациентов. Мутация <i>FGFR3</i> связана с низким риском прогрессирования в подгруппе пациентов с низкодифференцированными опухолями
van Rhijn B.W. et al., 2010 [16]	Ретроспективное/230/8,6 года	FGFR3/ MIB-1	Независимый прогностический фактор в отношении прогрессирования и раково-специфической выживаемости
Ploussard G. et al., 2011 [17]	Ретроспективное/58/28 мес	Аллельная потеря 9p22/ FGFR3	Мутация <i>FGFR3</i> связана с уменьшением риска рецидива и прогрессирования только при аллельной потере 9p22, при аллельной стабильности не имеет прогностического значения
van Rhijn B.W. et al., 2012 [18]	Ретроспективное/132 (T1)/6,5 года	FGFR3, p53	Мутация <i>FGFR3</i> связана с уменьшением риска прогрессирования
Настоящее исследование	Проспективное/265/34 мес	FGFR3	Нет прогностической роли в общей группе пациентов. Мутация <i>FGFR3</i> связана с низким риском прогрессирования в подгруппе пациентов с низкодифференцированными опухолями

лярной степени злокачественности в прогностическую модель повышало точность предсказания модели с 74,9 до 81,7 % ($p < 0,001$). Как и ранее, молекулярная оказалась лучше воспроизводимой (89 %), чем морфологическая степень злокачественности (41–74 %).

В проспективном исследовании G. Ploussard и соавт. изучили прогностическую роль мутационного статуса *FGFR3* в комбинации с делецией в области короткого плеча 9 хромосомы (9p22) [17]. Авторы обнаружили, что мутационный статус *FGFR3* не обладал прогностическими свойствами, однако комбинация статуса 9p22/*FGFR3* значительно коррелировала с риском рецидива и прогрессирования в мультивариантном анализе. Было установлено, что при аллельной потере 9p22 мутация *FGFR3* является маркером благоприятного прогноза, в то время как при аллельной стабильности мутация либо не имеет прогностического значения, либо несколько ухудшает прогноз.

B.W. van Rhijn и соавт. в ретроспективном исследовании оценили частоту и прогностическую роль мутаций *FGFR3* и p53 у 132 пациентов с первичным РМПБМИ в категории pT1 [18]. Мутации *FGFR3* были выявлены у 37 (28 %) пациентов, гиперэкспрессия p53 – у 71 (54 %). Только у 8 % пациентов отмечалось сочетание этих изменений. При медиане наблюдения

6,5 года значимыми предикторами прогрессирования в моно- и мультивариантном анализе были статус гена *FGFR3* и наличие карциномы *in situ*, но не статус p53.

В настоящем исследовании с включением пациентов как с первичным, так и с рецидивным РМПБМИ мы обнаружили высокую частоту мутаций гена *FGFR3*, которая составила 63,4 %. Это соответствует данным других авторов, согласно которым в первичных немышечно-инвазивных опухолях мочевого пузыря вышеуказанные мутации наблюдаются с частотой 60 % в нидерландской популяции пациентов с РМПБМИ [14], 50 % в испанской когорте [15] и у 64 % пациентов из Германии [9]. Кроме того, в нашей работе установлено, что частота мутаций гена *FGFR3* статистически значимо выше в высокодифференцированных опухолях ($p = 0,00004$), что также согласуется с ранее опубликованными данными [11, 14, 15].

В нашей работе, оценивающей прогностическое влияние мутационной изменчивости гена *FGFR3* в отношении прогрессирования, не выявлено прогностической ценности данного маркера в общей группе пациентов. Тем не менее в подгруппе пациентов с низкодифференцированными опухолями были обнаружены существен-

ные различия в риске прогрессирования в зависимости от мутационного статуса *FGFR3*. Необходимо отметить, что в этом вопросе опубликованные данные исследований показывают противоречивые результаты (табл. 3). Так, из 4 исследований, оценивающих прогностическую значимость мутации *FGFR3* в отношении прогрессирования РМПБМИ, только в работах B.W. van Rhijn и соавт. было показано уменьшение риска прогрессирования при наличии мутации *FGFR3* в общей группе пациентов [18], а в исследовании M. Burger и соавт. — уменьшение риска прогрессирования в подгруппе пациентов с низкодифференцированными опухолями [9]. В исследовании S. Hernandez и соавт. [8], оценивающем прогностическое значение этого маркера у пациентов с опухолями T1G₃, не выявлено различий в раково-специфической выживаемости, выживаемость до прогрессирования ав-

торами не изучалась. Таким образом, наша работа подтверждает результаты проспективного исследования M. Burger и соавт. [9], в котором показана значимая прогностическая ценность мутаций гена *FGFR3* в подгруппе пациентов с низкодифференцированными опухолями. Различия в результатах опубликованных работ по данной теме подчеркивают необходимость проведения более крупных исследований по оценке прогностической роли различных маркеров и их сочетаний в подгруппах пациентов с РПМБМИ.

Выводы

Мутационный статус гена *FGFR3* имеет значимую прогностическую ценность в подгруппе пациентов с РМП T1 high grade, что позволяет существенно улучшить предсказание прогрессирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поляков С.М., Левин Л.Ф., Шебеко Н.Г. Злокачественные новообразования в Беларуси, 1998—2007. Под ред. А.А. Граковича, И.В. Залужского. Минск: РНПЦ МТ, 2008. 197 с. [Polyakov S.M., Levin L.F., Shebeko N.G. Malignant neoplasms in Belarus, 1998—2007. By eds.: A.A. Grakovich, I.V. Zalutskiy. Minsk: RNPС МТ, 2008. 197 p. (In Russ.).]
2. Burger M., Catto J.W., Dalbagni G. et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol* 2013;63(2):234—41.
3. Herr H.W., Sogani P.C. Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? *J Urol* 2001;166(4):1296—9.
4. Sylvester R.J., van der Meijden A.P., Oosterlinck W. et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage TaT1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2006;49(3):466—75.
5. Xylinas E., Kent M., Kluth L. et al. Accuracy of the EORTC risk tables and of the CUETO scoring model to predict outcomes in non-muscle-invasiveurothelial carcinoma of the bladder. *Br J Cancer* 2013;109(6):1460—6.
6. Bakkar A.A., Wallerand H., Radvanyi F. et al. *FGFR3* and *TP53* gene mutations define two distinct pathways in urothelial cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 2003;63(23):8108—12.
7. van Rhijn B.W., van der Kwast T.H., Vis A.N. et al. *FGFR3* and *P53* characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Cancer Res* 2004;64(6):1911—4.
8. Hernandez S., Lopez-Knowles E., Lloreta J. et al. *FGFR3* and *Tp53* mutations in T1G₃ transitional bladder carcinomas: independent distribution and lack of association with prognosis. *Clin Cancer Res* 2005;11(15):5444—50.
9. Burger M., van der Aa M.N., van Oers J.M. et al. Prediction of progression of non-muscle-invasive bladder cancer by WHO 1973 and 2004 grading and by *FGFR3* mutation status: a prospective study. *Eur Urol* 2008;54(4):835—43.
10. van Oers J.M., Lurkin I., van Exsel A.J. et al. A simple and fast method for the simultaneous detection of nine fibroblast growth factor receptor 3 mutations in bladder cancer and voided urine. *Clin Cancer Res* 2005;11(21):7743—8.
11. Cappellen D., De Oliveira C., Ricol D. et al. Frequent activating mutations of *FGFR3* in human bladder and cervix carcinomas. *Nat Genet* 1999;23(1):18—20.
12. Sibley K., Stern P., Knowles M.A. Frequency of fibroblast growth factor receptor 3 mutations in sporadic tumours. *Oncogene* 2001;20(32):4416—8.
13. van Rhijn B.W., Lurkin I., Radvanyi F. et al. The fibroblast growth factor receptor 3 (*FGFR3*) mutation is a strong indicator of superficial bladder cancer with low recurrence rate. *Cancer Res* 2001;61(4):1265—8.
14. van Rhijn B.W., Vis A.N., van der Kwast T.H. et al. Molecular grading of urothelial cell carcinoma with fibroblast growth factor receptor 3 and MIB-1 is superior to pathologic grade for the prediction of clinical outcome. *J Clin Oncol* 2003;21(10):1912—21.
15. Hernandez S., Lopez-Knowles E., Lloreta J. et al. Prospective study of *FGFR3* mutations as a prognostic factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas. *J Clin Oncol* 2006;24(22):3664—71.
16. van Rhijn B.W., Zuiverloon T.C., Vis A.N. et al. Molecular grade (*FGFR3*/MIB-1) and EORTC risk scores are predictive in primary non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2010;58(3):433—41.
17. Ploussard G., Soliman H., Dubosq F. et al. The prognostic value of *FGFR3* mutational status for disease recurrence and progression depends on allelic losses at 9p22. *Am J Cancer Res* 2011;1(4):498—507.
18. van Rhijn B.W., van der Kwast T.H., Liu L. et al. The *FGFR3* mutation is related to favorable pT1 bladder cancer. *J Urol* 2012;187(1):310—4.