

Генетические особенности несветлоклеточного рака почки

Д.С. Михайленко^{1, 2}, Б.Я. Алексеев¹, Г.Д. Ефремов¹, А.Д. Каприн¹

¹НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России; Россия, 105425, Москва, ул. 3-я Парковая, 51/4;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Дмитрий Сергеевич Михайленко dimserg@mail.ru

Рак почки (РП) входит в число частых онкоурологических заболеваний, самой распространенной формой которого является светлоклеточная карцинома. Однако доля менее изученных вариантов несветлоклеточного РП (НСРП) составляет до 25 %, что говорит о необходимости их исследования, совершенствования диагностики и лечения. В основе канцерогенеза лежат генетические изменения, включающие хромосомные aberrации и точковые мутации в протоонкогенах и генах-супрессорах. В обзоре рассмотрены цитогенетические aberrации в контексте разнообразия форм НСРП согласно действующей классификации Международной ассоциации уропатологов (International Society of Urological Pathology, ISUP). Отдельно охарактеризованы транслокационные варианты НСРП (MiT-РП) как частные случаи хромосомных перестроек с вовлечением генов семейства MiT: TFE3, TFEB, MITF. Описаны основные наследственные формы НСРП, обусловленные герминальными мутациями в генах FLCN, FH и MET, а также современные исследования спорадических опухолей с применением секвенирования следующего поколения. Эти эксперименты были направлены на поиск соматических мутаций в масштабах всего генома или экзона опухоли и позволили определить различные мутационные профили I/II подтипов папиллярного РП, хромофобной карциномы в сравнении с онкоцитомой. Обзор может представлять интерес для онкологов, урологов, генетиков и специалистов смежных наук.

Ключевые слова: несветлоклеточный рак почки, мутация, секвенирование, экзом, ДНК-диагностика

DOI: 10.17650/1726-9776-2016-12-3-14-21

Genetic characteristics of the non-clear cell renal cancer

D.S. Mikhaylenko^{1, 2}, B.Y. Alekseev¹, G.D. Efremov¹, A.D. Kaprin¹

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology — branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia; 51/4 3rd Parkovaya St., Moscow, 105425, Russia;

²Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow, 115478, Russia

Renal cancer (RC) is one of the most frequent diseases in oncological urology; the most common form of RC is the clear cell carcinoma. However, percentage of less-studied non-clear cell RC (nccRC) reaches up to 25 % of cases suggesting further studying, improvement of diagnosis and treatment of these tumors. The key events of carcinogenesis are genetic alterations including chromosomal aberrations and point mutations in proto-oncogenes and tumor suppressor genes. This review describes cytogenetic aberrations in the context of nccRC diversity according to the current ISUP classification. Translocation variants of nccRC (MiT-RC) were characterized separately as particular cases of the chromosome rearrangements involving MiT gene family (TFE3, TFEB, MITF). In addition, the main nccRC hereditary forms caused by germinal mutations in the genes FLCN, FH, and MET, as well as recent studies of sporadic tumors with using the next generation sequencing techniques were reviewed. These experiments were designed to search for somatic mutations throughout the tumor genome or exom and revealed the different mutational profiles of I/II papillary RC subtypes, chromophobe carcinoma versus oncocytoma. The review may be informative for oncologists, urologists, geneticists and specialists in related sciences.

Key words: non-clear cell renal cancer, mutation, sequencing, exom, DNA-diagnostics

Гетерогенность несветлоклеточного рака почки

На сегодняшний день злокачественные новообразования почек в России входят в число наиболее часто возникающих опухолей в общей структуре онкологических заболеваний. Среди мужчин в возрасте 30–59 лет рак почки (РП) занимает 4-е место по распространенности после рака легкого, кожи и желудка [1]. Около 95 % всех случаев РП представлены почечно-клеточными карциномами (далее сокращение РП будет обозначать именно эти опухоли), остальные 5 % — опухолями почечной лоханки и мочеточника. РП раз-

вивается из эпителия почечных канальцев, но, несмотря на общность происхождения, представляет собой морфологически гетерогенную группу опухолей. Выделяют следующие основные типы РП: светлоклеточный, папиллярный, хромофобный, редкие и неклассифицируемые формы [2, 3]. Большинство молекулярно-биологических и клинических исследований фокусируются на самой частой форме РП — светлоклеточной, включающей 75 % случаев заболевания. Характерной чертой этого типа РП является инактивация гена *VHL* и, как следствие, гиперэкспрес-

сия индуцируемого гипоксией фактора HIF и его генов-мишеней [4, 5]. Несветлоклеточный РП (НСРП) реже становится объектом исследования, чем светлоклеточный, однако его доля достигает 20–25 % в общей структуре, что является клинически значимой величиной. В настоящее время в описании НСРП придерживаются Ванкуверской классификации, рекомендованной Международной ассоциацией уропатологов (International Society of Urological Pathology, ISUP).

1. Папиллярный РП. Папиллярные карциномы почки составляют 10–15 % случаев РП, в свою очередь, их подразделяют на опухоли I (характеризуется более благоприятным прогнозом) и II типов. Иммуногистохимический профиль включает экспрессию CK7 (чаще при типе I, чем при II), AMACR, CD10 и RCC–Ma. На цитогенетическом уровне папиллярный РП характеризуется увеличением числа копий хромосом 7 и 17, утратой Y-хромосомы.

2. Хромобобный РП. Хромобобные карциномы составляют до 5 % случаев РП. Клетки этого типа НСРП диффузно позитивны по CK7, негативны по CD9/10. В хромобобной карциноме обнаруживают потери участков или целых хромосом 1, 2, 6, 10, 13, 17 и 21.

3. Карцинома собирательных трубочек (Беллини). Этот тип опухолей составляет менее 1 % случаев РП, характеризуется быстрым прогрессированием. Рак собирательных трубочек не имеет какого-либо специфического паттерна хромосомных aberrаций.

4. Муцинозная тубулярная и веретенноклеточная карцинома. Клетки имеют позитивное окрашивание на CK7 и CD10, несут потери участков хромосом 1, 4, 6, 13–15 и 22 [6, 7].

5. MiT-РП. Транслокационный тип РП. Встречается, в основном, у детей и подростков, реже – в более позднем возрасте, составляя лишь 1 % случаев РП у взрослых. На генетическом уровне этот тип РП обусловлен, как правило, транслокациями с вовлечением области Xq11.2 и образованием химерных генов с участием гена *TFE3* и, реже, других генов семейства MiT. На иммуногистохимическом уровне в нем наблюдают позитивное окрашивание на AMACR, CD10, RCC–Ma, но главным иммуногистохимическим маркером, используемым в рутинной диагностике, является выраженная экспрессия C-концевого домена фактора *TFE3*.

6. Тубулокистозный РП. По цитологическим и молекулярно-генетическим характеристикам (aberrации хромосом 7, 17, Y и экспрессионный профиль) близок с папиллярному РП, иммуногистохимически окрашивают на CK8, CK18, CK19, CD10 и AMACR.

7. Приобретенный поликистоз почек, ассоциированный с РП. Часто мультифокальная опухоль, на цитогенетическом уровне описаны aberrации хромосом 1–3, 6, 7, 16, Y.

8. Светлоклеточная папиллярная карцинома. Иммуногистохимически характеризуется позитивным окрашиванием на CK7 и CA9, негативным – на CD10 и AMACR, составляет около 1 % случаев РП. В отличие от светлоклеточного РП, для нее, в целом, не характерны делеции гена *VHL*.

Кроме того, в отдельные типы выделяют **медуллярный РП, ассоциированный с мутациями гена *SDHB*** (РП с недостаточностью сукцинатдегидрогеназы), **РП у больных наследственным лейомиоматозом, гибридный онкоцито-хромобобный РП**, который встречается у пациентов с множественными онкоцитомами почек и у пациентов с синдромом Берта–Хога–Дьюба, а также **РП с образованием химерного онкогена *VCL:ALK*** [8–10]. В 3 последних случаях определенные генетические нарушения могут являться классифицирующими признаками и диагностическими критериями.

Транслокационный (MiT) рак почки

В новой классификации ISUP существенные изменения затронули транслокационные варианты РП с участием генов MiT-семейства. Семейство транскрипционных факторов MiT включает *TFE3*, *TFEB*, *TFE1* и *MiTF*, активные, в основном, в регуляции дифференцировки меланоцитов и остеокластов, хотя их экспрессия отмечена и в клетках других типов. Факторы MiT имеют ДНК-связывающий и активационный домены, могут образовывать функциональные гетеродимеры между разными членами семейства MiT. Гены MiT-семейства вовлечены в перестройки, описанные в различных типах опухолей (табл. 1). В основном точки разрыва затрагивают область Xp11.2 [10]. Частота распространенности MiT-транслокационного РП у детей составляет до 50 % всех случаев РП и снижается до 1 % у взрослых. Транслокационный РП во взрослом возрасте имеет худший прогноз, чем в детском [8]. Морфологически MiT-РП неоднороден. Так, химера *ASPSCR1:TFE3* ассоциирована с объемными опухолевыми клетками, имеющими бесцветную или эозинофильную цитоплазму, собранными в участки с альвеолярным или папиллярным строением. В случае образования гена *PRCC:TFE3* опухолевые клетки имеют меньший объем цитоплазмы, зачастую в них присутствуют псаммоматозные тела или гиалиновые узелки.

Точная дифференциальная диагностика MiT-опухолей с другими типами РП затруднительна без использования иммуногистохимических или генетических методов. В качестве рутинных способов диагностики применяют FISH- или, чаще, иммуногистохимическую детекцию соответствующего домена *TFE3*. У некоторых пациентов описан вариант MiT-опухолей с транслокацией t(6;11)(p21;q12) и образованием химеры *alpha:TFEB*. Поскольку точка разрыва находится в промоторе, опухоли гиперэкспрессируют нативный

Таблица 1. Характеристика транслокации с вовлечением генов семейства *MiT* на цито- и молекулярно-генетическом уровнях

Транслокация	Химерный ген	Тип опухоли
t(X;17)(p11.2;q25)	<i>ASPScri:TFE3</i>	MiT-РП
t(X;1)(p11.2;q21)	<i>PRCC:TFE3</i>	MiT-РП
der(17)(X;17)(p11.2q25)	<i>ASPScri:TFE3</i>	Альвеолярная мягкотканная саркома
t(X;1)(p11.2;q34)	<i>SFPQ:TFE3</i>	MiT-РП
t(X;17)(p11.2;q23)	<i>CLTC:TFE3</i>	MiT-РП
t(X;11)(p11.2;q13)	<i>YAPI:TFE3</i>	Эпителиоидная гемангиома
inv(X)(p11.2;q12)	<i>NonO:TFE3</i>	MiT-РП
t(X;3)(p11.2;q23), t(X;10)(p11.2;q23)	Не идентифицирован	MiT-РП
t(6;11)(p21;q12)	<i>alpha:TFEB</i>	MiT-РП
Не идентифицирована	<i>RBM10:TFE3, DVL2:TFE3, COL21A1:TFEB, ACTG1:MITF</i>	Папиллярный РП
Не идентифицирована	<i>CLTC:TFEB</i>	MiT-РП

TFEB; для выявления этой перестройки также применяют FISH- или иммуногистохимический метод. Хотя в большинстве случаев при дифференциальной диагностике MiT-РП главными маркерами выступают TFE3 или TFEB, для уточнения диагноза можно использовать СА9, панцитокератины, эпителиальный мембранный антиген, а также протеазу катепсин К и меланоцитарные факторы HMB-45 и Melan-A, экспрессию которых стимулируют члены семейства MiT [6, 12]. В MiT-опухолях зачастую гиперэкспрессируется MET, что указывает на возможность использования ингибиторов MET как противоопухолевых агентов. Часть новых MiT-транслокаций была обнаружена благодаря секвенированию транскриптома (RNAseq) в образцах HCRP (*RBM10:TFE3, DVL2:TFE3, COL21A1:TFEB, CLTC:TFEB, ACTG1:MITF*) при поиске соматических мутаций, в которых также была показана гиперэкспрессия антиапоптотического фактора BIRC7 как возможной мишени для таргетных препаратов [13, 14]. Это указывает на более значительную роль MiT-транслокаций в канцерогенезе, чем предполагалось ранее.

Редкие наследственные формы несветлоклеточного рака почки

Случаи HCRP, обусловленного герминальными мутациями (унаследованными в ряду поколений или возникшими *de novo*), относятся к проявлениям наследственных онкологических синдромов. Их доля в общей структуре заболеваемости HCRP не превышает нескольких процентов, но данная патология имеет ряд клинических (ранняя манифестация, билатеральность и/или мультифокальность поражения,

патологические изменения в других органах-мишенях) и молекулярно-генетических особенностей.

Наследственный лейомиоматоз и почечно-клеточный рак (hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma – HLRCC, OMIM: 150800) манифестируют в среднем в 25 лет, проявляются в виде множественных лейомиом кожи и матки (иногда – лейомиосарком) и HCRP, который встречается у 15–20 % пациентов с HLRCC, и могут сочетаться с кистами почек. Злокачественные новообразования почки при этой семейной форме рака чаще представлены папиллярными карциномами II типа, в ряде случаев опухоли имеют тубулярное или тубуло-папиллярное строение. При HLRCC опухоли почки чаще солитарные, унилатеральные, однако характеризуются быстрой прогрессией и ранним метастазированием, поэтому тактика хирургического лечения при этом заболевании не отличается от таковой у пациентов со спорадическим РП. Развитие HLRCC связано с мутациями в гене *FH*, локализованном в области 1q42 и кодирующем фумаратгидратазу – один из ферментов цикла Кребса. Около 90 % из них составляют миссенс-мутации без выраженных «горячих точек», хотя у представителей европеоидной расы наблюдают локальный максимум частоты встречаемости в 190-м кодоне [15]. Инактивация 2-го аллеля в опухоли происходит по двухударной модели Кнадсена, что характеризует *FH* как опухолевый супрессор. Инактивация *FH* приводит к так называемому эффекту Варбурга, т. е. к переключению на гликолиз как основной путь получения аденозинтрифосфата (АТФ), что характерно для злокачественных клеток, а также к накоплению в клетке индуцируемого гипоксией фактора (HIF) и гиперэкспрессии его

генов-мишеней [16]. ДНК-диагностика HLRCC заключается в секвенировании 10 экзонов гена *FH* [17].

Наследственная папиллярная карцинома I типа (hereditary papillary renal carcinoma – HPRC, OMIM: 605074) – аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся развитием почечно-клеточных папиллярных карцином I типа, причем обнаруживают мультифокальные и билатеральные опухоли. Причина этой формы наследственного РП – активирующие мутации в протоонкогене *MET*, локализованном в районе 7q31. Мутации *MET* при HPRC приводят к конститутивной активации цитоплазматического домена рецептора и стимуляции деления клеток. Прямая ДНК-диагностика при HPRC заключается в идентификации мутации в экзонах 15–21 гена *MET*, кодирующих цитоплазматический домен рецептора [2, 18].

Синдром Берта–Хога–Дьюба (Birt–Hogg–Dube syndrome – BHDS, OMIM: 135150) – аутосомно-доминантный синдром, основным проявлением которого является развитие множественных фиброфолликулом. Они локализуются преимущественно на лице, шее и верхней части туловища. Примерно у 80 % больных развиваются легочные кисты. Количество и диаметр кист со временем могут увеличиваться, что в 10–30 % случаев приводит к спонтанному пневмотораксу. У 35 % пациентов с BHDS развиваются опухоли почки. Новообразования почки при этом синдроме, как правило, мультифокальные, билатеральные, принадлежат к разным патоморфологическим типам, но наиболее часто встречаются гибридные онкоцито-хромобные и хромобные карциномы. BHDS возникает вследствие герминальных мутаций в гене-супрессоре *FLCN*, локализованном в области 17p11.2 и кодирующем фолликулин. Примечательно, что биаллельная инактивация *FLCN* в опухоли приводит к активации сигнального пути АКТ–mTOR, как и при других типах НСРП. Генетическая лабораторная диагностика при BHDS заключается в анализе мутаций *FLCN* (секвенирование экзонов 4–14). Герминальные мутации *FLCN* относятся, преимущественно, к типу “loss of function”: инсерции, делеции и дупликации со сдвигом рамки считывания, комплексные мутации, нонсенс-мутации, мутации сайтов сплайсинга; миссенс-мутации были идентифицированы лишь в единичных случаях. Ген *FLCN* содержит «горячую точку» мутагенеза – мононуклеотидный тракт С8, локализованный в экзоне 11. Около 50 % семей несут герминальную мутацию в виде однонуклеотидной делеции/инсерции в этом тракте, поэтому целесообразно начинать поиск мутации с экзона 11 [19, 20]. Исследование *FLCN* на наличие точковых мутаций в экзонах может быть дополнено методом MLPA для выявления делеций. Показано, что промоторная область *FLCN* характеризуется повышенной частотой делеций относительно кодирующей части гена. Комбинация прямого секвенирования

и MLPA позволяет увеличить клиническую чувствительность молекулярно-генетического анализа с 80 до 95 % семей с BHDS [21].

Всего описано около 10 отдельных форм наследственного РП, НСРП чаще встречается в 3 из них. Выявление патологической герминальной мутации в этих случаях имеет решающее значение для постановки окончательного диагноза и выбора оптимальной тактики лечения [2, 4]. Отдельные молекулярно-генетические исследования при спорадическом НСРП до недавнего времени не имели прикладного значения, однако с развитием полногеномных технологий ситуация с пониманием роли точковых мутаций при НСРП стала меняться.

Генетические различия хромобной карциномы и онкоцитомы

С помощью метода сравнительной гибридизации на микрочипах показано, что все основные типы опухолей почек имеют свой паттерн отклонений от нормального числа копий (copy number variation, CNV) различных участков генома [22]. Это наблюдение относится и к различиям CNV между злокачественной опухолью – хромобной карциномой – и доброкачественной опухолью – онкоцитомой, в дифференциальной диагностике которых гистологическое и иммуногистохимическое исследования затруднительны.

Различия CNV были подтверждены также в сравнительном исследовании хромобного РП и онкоцитомы на наличие делеций и амплификаций с помощью определения копийности участков генома по SNP-микрочипу Affymetrix 100K SNP. Результаты этих работ во многом согласуются и показывают, что отклонения от диплоидного набора хромосом 2, 6, 10, 13q, 17 и в меньшей мере 1 и 21q в совокупности могут представлять собой критерий дифференциальной диагностики хромобного РП и онкоцитомы [23]. С учетом этих данных другими авторами была разработана панель из 10 STR-маркеров (D1S2142, D1S3465, D2S1782, GAAT3A06, D10S2469, D13S634, D13S742, D17S1298, D21S1411 и D21S11), локализованных в участках с наибольшими различиями CNV между хромобным РП и онкоцитомой. С помощью полимеразной цепной реакции и фрагментного анализа на капиллярном секвенаторе панель позволила различать эти типы опухолей с точностью до 90 % в информативных случаях [24].

Однако основные события канцерогенеза – это соматические мутации-драйверы, выявить которые в масштабах генома опухоли стало возможным только с развитием технологий секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing, NGS). В одной из работ провели полногеномное секвенирование 66 хромобных карцином. В митохондриальном геноме выявлены 142 соматические мутации с той или

иной степени гетероплазмии, из них 35 мутаций – в более чем 50 % митохондриальных ДНК (мтДНК), – ген *ND5* и другие, среди точковых мутаций ядерного генома наибольшие частоты были показаны для *TP53* и *PTEN*: 32 и 9 % соответственно. Несмотря на то, что большинство мутаций мтДНК потенциально могут нарушать функцию митохондрий, на уровне экспрессии генов мутации не имели последствий для функционирования цепи окислительного фосфорилирования. Этот факт наталкивает, в первую очередь, на мысль о том, что эффект Варбурга нивелируется в хромофобном РП за счет иных механизмов. Во-вторых, как минимум в 10 % случаев хромофобного РП обнаружены активирующие мутации в промоторе гена теломеразы *TERT*. Причем точковая мутация С228Т, приводящая к формированию дополнительного сайта связывания транскрипционных факторов и описанная ранее при уротелиальной карциноме и меланоме, обуславливала лишь двухкратное повышение экспрессии *TERT*. Существенно большее влияние на увеличение экспрессии *TERT* оказали впервые обнаруженные хромосомные перестройки с точками разрыва в промоторе *TERT* и затрагивающие в части случаев ген *NEK5* на хромосоме 13 [25, 26]. Полногеномное секвенирование 12 онкоцитом показало, что в них отсутствуют точковые мутации, часто встречающиеся в хромофобном РП (*TP53* и *PTEN*); по другим нарушениям их можно разделить на 2 группы: 1-я – перестройки с вовлечением гена *CCND1* без других aberrаций и 2-я – с CNV хромосом 1, 14, 21, X и/или Y. Мутации в мтДНК встречаются уже на ранних стадиях, причем во 2-й группе они ассоциированы с накоплением большого количества дефектных митохондрий, угнетением процесса их аутофагии и активацией гена *TP53*. Высказана интересная мысль о том, что обогашение дефектными органеллами и активация *TP53* «спасают» клетки онкоцитомы от злокачественной трансформации, но если они в ходе клональной эволюции приобретут инактивирующие мутации *TP53*, *PTEN* и перестройки *TERT*, то могут выступить источником формирования эозинофильного варианта хромофобного РП [27].

Молекулярная генетика спорадического папиллярного рака почки

Несмотря на то что активирующие герминальные миссенс-мутации *MET* являются причиной HPRC, при котором развиваются папиллярные карциномы I типа, аналогичные им точковые соматические мутации этого гена встречаются в спорадическом папиллярном РП I типа не более чем в 20 % случаев (в большинстве работ этот показатель не превышает 10 %). Вместе с тем амплификация локуса 7q31 с геном *MET* происходит в 45 % случаев, а гиперэкспрессия *MET* – в 90 % случаев папиллярного РП I типа, что делает его актуальной мишенью для разработки таргетных пре-

паратов [28]. На II стадии клинических испытаний находятся таргетные препараты – синтетические ингибиторы *MET* форетиниб (XL880), тивантиниб (ARQ197), волитиниб (HMPL-504); рилотумумаб (AMG-102) – моноклональное антитело к HGF (рецептору, кодируемому геном *MET*). Возможно, отдельные испытания в отношении HCRP будут проведены для кабозантиниба (XL184) и ингибитора ALK/*MET*/*ROS*/*RET* кризотиниба [29, 30]. Исследуют также возможности таргетной терапии папиллярного РП ингибиторами VEGFR2 (сунитинибом, сорафенибом), ингибиторами mTOR (темсиролимусом, эверолимусом), а также комбинированного назначения ингибиторов *MET* с ингибиторами EGFR [31]. Полученные ранее методами классической цитогенетики данные об увеличении количества копий хромосом 7, 17 и амплификации гена *MET*, как оказалось, относятся в основном к папиллярному РП I типа, тогда как для II типа более характерна утрата хромосом 8, 11, 18, что было показано методом сравнительной геномной гибридизации [30, 32].

К настоящему времени опубликованы результаты нескольких масштабных работ с применением методов NGS в отношении спорадического папиллярного РП. В одной из них провели комплексное генетическое исследование 161 образца папиллярного РП, включающее секвенирование экзома, анализ CNV, секвенирование транскриптома, анализ метилирования ДНК и протеомный анализ. Как и ожидалось, мутации *MET* были выявлены в 17 % опухолей I типа, причем 3 из 17 обнаруженных мутаций были не соматическими, а герминальными, что еще раз указывает на целесообразность диагностики HPRC у молодых пациентов с папиллярным РП. При проведении многофакторного анализа опухоли II типа разделились на 3 подгруппы с разными клиническими характеристиками, причем для одной из них были характерны мутации гена *SETD2*, а для другой – отличительный набор гиперметилированных локусов и мутации *FH*. Интересно, что в 8 случаях были выявлены опухоли с транслокациями MiT и образованием химерных генов. В 4 случаях это были ранее описанные химеры *PRCC:TFE3* и *SFPQ:TFE3*, а в остальных – новые варианты MiT-транслокаций: *RBM10:TFE3*, *DVL2:TFE3*, *COL21A1:TFEB* и *TFEB:CADM2*. Большинство из них были идентифицированы в опухолях II типа с суммарной частотой 12 %.

Как и при светлоклеточном, при папиллярном РП была выявлена высокая частота мутаций в генах ремоделлинга хроматина в опухолях I, и II типа. Мутации в генах *SMARCB1* и *PBRM1*, участвующих в формировании комплекса SWI/SNF, генах *SETD2*, *KDM6A*, *VAP1* и других модификаторах хроматина встречались при папиллярном РП с частотой 20–38 % случаев. Возможно, что мутации в генах, влияющих на состояние хроматина, повышают нестабильность генома и могут

Таблица 2. Генетические характеристики светлоклеточного рака почки

Тип	Хромосомные aberrации	Точковые мутации
Папиллярный	+7, +17 (I подтип); +8, +11, +18 (II подтип); +3q, +16, +20, -Y	<i>MET</i> (I подтип), <i>FH</i> (II подтип); <i>SETD2</i> , <i>KDM6A</i> , <i>BAP1</i> , <i>ARID2</i> и др. гены ремоделинга хроматина (суммарно до 38 % случаев)
МiТ-РП	Транслокации с перемещением Xp11.2 и 6p21 на другие хромосомы	Образование химерных генов с 3'-частью, состоящей из генов <i>TFE3</i> и <i>TTFB</i>
Хромофобный	-1, -2, -6, -10, -13, -17 и -21	<i>FLCN</i> (при ВНДС); точковые мутации в митохондриальной ДНК (50 % аллелей), мутации <i>TP53</i> и <i>PTEN</i> (9–32 % случаев)

рассматриваться как инициирующие мутации-драйверы, действующие на начальных этапах канцерогенеза, так же, как и редкие при папиллярном РП мутации-драйверы *PTEN*, *TP53*, *TSC2*, *NRAS*, *KRAS* и некоторых других онкогенов или генов-супрессоров [14, 33].

В другом исследовании был определен паттерн соматических мутаций в 19 генах, который различался между I и II типами папиллярного РП, показаны мутации и амплификация гена *ERBB2* в части случаев опухолей II типа, хотя, в целом, его активирующие мутации не характерны для РП [34]. Еще в одном исследовании был секвенирован экзом 31 образца папиллярного РП, где также в качестве мутаций-драйверов были идентифицированы нарушения в генах ремоделинга хроматина *SETD2*, *BAP1* и *ARID2* (кодируют гистоновую метилтрансферазу, деубиквитиназу и компонент ремоделирующего комплекса РВАF соответственно). Некоторые образцы в этом исследовании были взяты в виде серии кусочков ткани при мультифокальных опухолях или из разных участков одной и той же опухоли. Показано, что около 20 % соматических мутаций характеризуются внутриопухолевой гетерогенностью, которая обусловлена клональной эволюцией. Причем для опухолей на ранних стадиях заболевания были построены «классические» деревья дивергентной эволюции, тогда как у опухолей поздних стадий наблюдали явления конвергентной эволюции (например, независимое приобретение вторичных мутаций *SETD2*, изменения CNV участков хромосомы 3), аналогичные тем, которые ранее были показаны на примере светлоклеточного РП [35].

Следует отметить, что отдельный тип НСРП согласно классификации ISUP — светлоклеточная тубулопапиллярная карцинома — с одной стороны, имеет сочетание признаков светлоклеточного и папиллярного РП (например, в опухоли могут присутствовать соматические мутации *MET* и *VHL*), с другой — характеризуется специфическими признаками, в частности гиперэкспрессией микроРНК семейства miR-200, которая не характерна ни для светлоклеточного, ни для папиллярного РП [36]. Генетические различия между подтипами папиллярного РП имеют непосредственное отношение к поиску новых таргетных пре-

паратов. Активация гена *MET* и поиск ингибиторов HGF актуальны для опухолей I типа. Папиллярный РП II типа с дефицитом фумаратгидратазы вследствие инактивации гена *FH* отчетливо демонстрирует эффект Варбурга, в связи с чем была предложена гипотеза об эффективном воздействии именно на метаболические, а не на сигнальные пути при этом типе НСРП.

Повышенная концентрация фумарата посредством фактора KEAP1 стабилизирует ядерный E2-ассоциированный фактор (NRF2), увеличивая экспрессию генов, в промоторе которых присутствуют антиоксидант-чувствительные элементы. В настоящее время исследуют вещества, воздействующие на NRF2 [37]. Кроме того, в отношении НСРП проведены клинические испытания всех основных таргетных препаратов, которые используют при лечении метастатического РП: ингибиторов mTOR темсиролимуса и эверолимуса, мультикиназных ингибиторов сунитиниба и сорафениба, пазопаниба и некоторых других [7]. Наибольшую частоту объективных ответов при таргетной терапии НСРП наблюдали при применении сунитиниба или темсиролимуса, последний эффективен независимо от числа линий предшествующей терапии [38, 39]. В целом, на настоящем этапе изучения опухолей почки можно суммировать основные цитомолекулярно-генетические характеристики наиболее частых типов НСРП (табл. 2).

Заключение

Таким образом, НСРП представляет собой не только морфологически, но и генетически гетерогенную группу опухолей, которая может быть представлена как наследственными, так и спорадическими случаями. Разработаны алгоритмы ДНК-диагностики основных наследственных форм НСРП. Основной акцент в последние годы исследователи делают на секвенировании экзома НСРП, что позволяет определить полный профиль соматических мутаций. В результате этих работ была выявлена высокая частота мутаций в генах ремоделинга хроматина при папиллярном РП, а также расширено представление о роли химерных генов в развитии НСРП. Продукты генов с соматическими активирующими мутациями могут быть мишенями для поиска таргетных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2016. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2014: morbidity and mortality. Eds. by: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow, 2016. 250 p. (In Russ.)].
2. Linehan W.M. Genetic basis of kidney cancer: role of genomics for the development of disease-based therapeutics. *Genome Res* 2012;22:2089–100. DOI: 10.1101/gr.131110.111.
3. Muglia V.F., Prando A. Renal cell carcinoma: histological classification and correlation with imaging findings. *Radiol Bras* 2015;48(3):166–74. DOI: 10.1590/0100-3984.2013.1927.
4. Михайленко Д.С., Залетаев Д.В. Молекулярно-генетическая диагностика в онкоурологии. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing, 2013. 64 с. [Mikhailenko D.S., Zaltaev D.V. Molecular genetic diagnostics in urologic oncology. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing, 2013. (In Russ.)].
5. Матвеев В.Б., Волкова М.И. Последовательная таргетная терапия при диссеминированном раке почки. *Онкоурология* 2013;9(1):28–33. [Matveev V.B., Volkova M.I. Sequential targeted therapy for disseminated kidney cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2013;9(1):28–33. (In Russ.)].
6. Kuroda N., Tanaka A. Recent classification of renal epithelial tumors. *Med Mol Morphol* 2014;47(2):68–75. DOI: 10.1007/s00795-013-0033-0.
7. Bellmunt J., Dutcher J. Targeted therapies and the treatment of non-clear cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol* 2013;24(7):1730–40. DOI: 10.1093/annonc/mdt152.
8. Srigley J.R., Delahunt B., Eble J.N. et al. The International society of urological pathology (ISUP) Vancouver classification of renal neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2013;37(10):1469–89. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318299f2d1.
9. Rao Q., Xia Q.Y., Cheng L., Zhou X.J. Molecular genetics and immunohistochemistry characterization uncommon and recently described renal cell carcinomas. *Chin J Cancer Res* 2016;28(1):29–49. DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2016.01.03.
10. Nagashima Y., Kuroda N., Yao M. Transition of organizational category on renal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2013;43(3):233–42. DOI: 10.1093/jjco/hyt006.
11. Argani P. MiT family translocation renal cell carcinoma. *Semin Diagn Pathol* 2015;32(2):103–13. DOI: 10.1053/j.semmp.2015.02.003.
12. Magers M.J., Udager A.M., Mehra R. MiT family translocation-associated renal cell carcinoma: a contemporary update with emphasis on morphologic, immunophenotypic, and molecular mimics. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139(10):1224–33. DOI: 10.5858/arpa.2015-0196-RA.
13. Durinck S., Stawiski E.W., Pavia-Jimenez A. et al. Spectrum of diverse genomic alterations define non-clear cell renal carcinoma subtypes. *Nat Genet* 2015;47(1):13–21. DOI: 10.1038/ng.3146.
14. Linehan W.M., Spellman P.T., Ricketts C.J. et al. Comprehensive molecular characterization of papillary renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2016;374(2):135–45. DOI: 10.1056/NEJMoa1505917.
15. Schmidt L.S., Linehan W.M. Hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2014;7:253–60. DOI: 10.2147/IJNRD.S42097.
16. Menko F.H., Maher E.R., Schmidt L.S. et al. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer (HLRCC). Renal cancer risk, surveillance and treatment. *Fam Cancer* 2014;13(4):637–44. DOI: 10.1007/s10689-014-9735-2.
17. Raymond V.M., Herron C.M., Giordano T.J., Gruber S.B. Familial renal cancer as an indicator of hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome. *Fam Cancer* 2012;11(1):115–21. DOI: 10.1007/s10689-011-9485-3.
18. Wadt K., Gerdes A.M., Hansen T.V. et al. Novel germline c-Met mutation in a family with hereditary papillary renal carcinoma. *Fam Cancer* 2012;11(3):535–7. DOI: 10.1007/s10689-012-9542-6.
19. Haas N.B., Nathanson K.L. Hereditary renal cancer syndromes. *Adv Chronic Kidney Dis* 2014;21(1):81–90. DOI: 10.1053/j.ackd.2013.10.001
20. Schmidt L.S., Linehan W.M. Clinical features, genetics and potential therapeutic approaches for Birt–Hogg–Dube syndrome. *Expert Opin Orphan Drugs* 2015;3(1):15–29.
21. Benhammou J.N., Vöcke C.D., Santani A. et al. Identification of intragenic deletions and duplication in the FLCN gene in Birt–Hogg–Dube syndrome. *Genes Chromosomes Cancer* 2011;50(6):466–77. DOI: 10.1002/gcc.20872.
22. Krill-Burger J.M., Lyonce M.A., Kelly L.A. et al. Renal cell neoplasm contain shared tumor type-specific copy number variations. *Am J Pathol* 2012;180(6):2427–39. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.01.044.
23. Yusenko M.V. Molecular pathology of renal oncocytoma: a review. *Int J Urol* 2010;17(7):602–12. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2010.02574.x.
24. Аполихин О.И., Михайленко Д.С., Михальченко А.Е. и др. Молекулярно-генетические нарушения как критерии в дифференциальной диагностике редких опухолей почки. *Экспериментальная и клиническая урология* 2013;(3):21–7. [Apolikhin O.I., Mikhaylenko D.S., Mikhail'chenko A. E. et al. Molecular-genetic alterations as criteria in differential diagnostics of rare renal tumors. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya = Experimental and Clinical Urology* 2013;(3):21–7. (In Russ.)].
25. Davis C.F., Ricketts C.J., Wang M. et al. The genomic landscape of chromophobe renal cell carcinoma. *Cancer Cell* 2014;26(3):319–30. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.07.014.
26. Rathmell K.W., Chen F., Creighton C.J. Genomics of chromophobe renal cell carcinoma: implications from a rare tumor for pan-cancer studies. *Oncoscience* 2015;2(2):81–90.
27. Joshi S., Tolkunov D., Aviv H. et al. The genomic landscape of renal oncocytoma identifies a metabolic barrier to tumorigenesis. *Cell Rep* 2015;13(9):1895–908. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.10.059.
28. Albiqes L., Guegan J., Le Formal A. et al. MET is a potential target across all papillary renal cell carcinomas: result from a large molecular study of pRCC with CGH array and matching gene expression array. *Clin Cancer Res* 2014;20(13):3411–21. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2173.
29. Miyata Y., Asai A., Mitsunari K. et al. Met in urological cancers. *Cancer* 2014;6(4):2387–403. DOI: 10.3390/cancers6042387.
30. Courthod G., Tucci M., Di Maio M., Scaqliotti G.V. Papillary renal cell carcinoma: a review of the current therapeutic landscape. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015;96(1):100–12. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.05.008.
31. Twardowski P.W., Mack P.C., Lara P.N. Jr. Papillary renal cell carcinoma: current progress and future directions. *Clin Genitourinary Cancer* 2014;12(2):74–9. DOI: 10.1016/j.clgc.2013.11.013.
32. Kang X.L., Zou H., Pang L.J. et al. Chromosomal imbalances revealed in primary renal cell carcinomas by comparative genomic hybridization. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(4):3636–47.
33. Chen F., Zhang Y., Senbabaoglu Y. et al. Multilevel genomics-based taxonomy of renal cell carcinoma. *Cell Rep* 2016;14(10):2476–89. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.02.024.
34. Liu K., Ren Y., Pang L. et al. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathological and whole-genome exon sequencing study. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(7):8311–35.
35. Kovac M., Navas C., Horswell S. et al. Recurrent chromosomal gains and heterogeneous driver mutations characterise papillary renal cancer evolution. *Nat Commun* 2015;6:6336. DOI: 10.1038/ncomms7336.
36. Lawrie C.H., Larrea E., Larrinaga G. et al. Targeted next-generation sequencing

and non-coding RNA expression analysis of clear cell papillary renal cell carcinoma suggests distinct pathological mechanisms from other renal tumor subtypes.

J Pathol 2014;232(1):32–42.

DOI: 10.1002/path.4296.

37. Srinivasan R., Ricketts C.J., Sourbier C., Linehan W.M. New strategies in renal cell carcinoma: targeting the genetic and metabolic basis of disease.

Clin Cancer Res 2015;21(1):10–7.

DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2993.

38. Тимофеев И.В. Современные возможности лечения несветлоклеточного почечно-клеточного рака. Онкоурология 2015;11(4):24–33. [Timofeev I.V. Current treatment approaches to non-clear cell renal carcinoma. Onkourologiya = Cancer Urology 2015;11(4):24–33. (In Russ.)].

39. Алексеев Б.Я., Нюшко К.М., Калпинский А.С. Применение сунитиниба в реальной клинической практике у больных метастатическим раком почки. Онкоурология 2016;12(1):14–20. [Alekseev B.Ya., Nyushko K.M., Kalpinsky A.S. Using of sunitinib in patients with metastatic renal cancer in real clinical practice. Onkourologiya = Cancer Urology 2016;12(1):14–20. (In Russ.)].