

УДК 616.62-006.6
DOI: 10.36979/1694-500X-2023-23-9-16-21

МУТАЦИИ RB1 И TP53 ПРИ УРОТЕЛИАЛЬНОМ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ (Обзор литературы)

А.А. Амангельдыев, А.У. Улукбеков, Э.К. Макимбетов

Аннотация. Мышечно-инвазивная уротелиальная карцинома мочевого пузыря представляет собой соматические изменения RB1 и TP53 в различном проценте опухолей всех молекулярных подтипов. В обзоре изучена потенциальная корреляция различных геномных биомаркеров, таких как мутационная нагрузка опухоли, однонуклеотидные варианты, прогнозируемые неоантигены, гены реакции на повреждение ДНК, соматические сигнатуры ДНК в генах RB1 и TP53 (RB1&TP53). Показано, что образцы RB1 и TP53 имели самую высокую частоту ответа на атезолизумаб. Совместные изменения RB1 и TP53 тесно связаны с геномными биомаркерами ответа при мышечно-инвазивной уротелиальной карциноме мочевого пузыря.

Ключевые слова: RB1; TP53; мутация; ингибитор контрольной точки иммунитета; уротелиальный рак; мочевого пузыря.

ТАБАРСЫКТЫН УРОТЕЛИЙ РАГЫНДА RB1 ЖАНА TP53 МУТАЦИЯЛАРЫ (Адабияттарга сереп салуу)

А.А. Амангельдыев, А.У. Улукбеков, Э.К. Макимбетов

Аннотация. Табарсыктын булчуң-инвазивдик уротелий карциномасы бардык молекулярдык типтеги шишиктердин өзгөрүлмө пайызында RB1 жана TP53 соматикалык өзгөрүүлөрү менен коштолот. Сереп салууда шишиктин мутациялык жүгү, бир нуклеотиддик варианттар, болжолдонгон неоантигендер, ДНКга зыян келтирүүчү жооп гендер жана RB1 жана TP53 гендериндеги (RB1&TP53) соматикалык ДНК кол тамгалары сыяктуу ар кандай геномдук биомаркерлердин потенциалдуу корреляциясы изилденген. RB1 жана TP53 үлгүлөрү атзолизумабга эң жогорку жооп ченге ээ экени көрсөтүлгөн. RB1 жана TP53 биргелешкен өзгөртүүлөр булчуң-инвазивдик табарсыктын уротелий рак оорусунда жооптун геномдук биомаркерлери менен тыгыз байланышта.

Түйүндүү сөздөр: RB1; TP53; мутация; иммундук текшерүү пунктунун ингибитору; уротелий рагы; табарсык.

RB1 AND TP53 MUTATIONS IN UROTHELIAL BLADDER CANCER (Literary review)

A.A. Amangeldyev, A.U. Ulukbekov, E.K. Makimbetov

Abstract. Muscle-invasive urothelial bladder carcinoma is a somatic change of RB1 and TP53 in a different percentage of tumors of all molecular subtypes. The review examined the potential correlation of various genomic biomarkers, such as tumor mutation load, single-nucleotide variants, predicted neoantigens, DNA damage response genes, somatic DNA signatures in the RB1 and TP53 genes (RB1&TP53). It was shown that RB1 and TP53 samples had the highest response rate to atezolizumab. The joint changes of RB1 and TP53 are closely related to the genomic biomarkers of the response in muscle-invasive urothelial bladder carcinoma.

Keywords: RB1; TP53; mutation; immune checkpoint inhibitor; urothelial cancer; bladder.

Введение. Уротелиальная карцинома мочевого пузыря является одним из наиболее часто диагностируемых видов рака в США и Европе.

Примерно 25 % случаев уротелиального рака мочевого пузыря являются мышечно-инвазивными (МИРМП) или метастатическими [1].

Лечение местнораспространенного МИРМП заключается в химиотерапии на основе платины с последующей радикальной цистэктомией с двусторонней диссекцией тазовых лимфатических узлов. Однако у пациентов, не подходящих для лечения цисплатином или невосприимчивых к нему, лечение ингибиторами контрольных точек иммунитета (ICIS) может вызвать хорошие и длительные ответы как при неoadъювантном лечении, так и при метастазировании [2–5]. МИРМП являются гетерогенными опухолями и имеют высокую частоту соматических мутаций [1, 6]. Профилирование транскриптома выявило различные молекулярные подтипы, которые были предметом нескольких молекулярных классификаций [7–9]. Геномные исследования также выявили обогащение специфическими геномными изменениями в различных молекулярных подтипах, подтверждая точку зрения о том, что молекулярные подтипы являются различными формами заболевания [10]. Недавно междисциплинарная группа экспертов опубликовала согласованную классификацию молекулярных подтипов, в которой были учтены шесть ранее опубликованных систем классификации [11]. Эта работа представляет большой интерес как для клиницистов, так и для исследователей и может облегчить ее клиническое применение в отношении прогноза и терапии пациентов с МIBC.

Результаты. Была выявлена небольшая подгруппа пациентов с прогрессирующим МIBC с высокой вероятностью выживания после лечения атезолизумабом [12]. В частности, пациенты с нейроэндокринными маркерами являются одними из лучших респондентов с общей частотой ответа 72 % [12]. Наличие соматических изменений TP53 и RB1 является известным признаком низкодифференцированных нейроэндокринных карцином [13]. Неизвестно, может ли наличие мутаций или других геномных изменений в этих генах способствовать хорошему ответу этих опухолей на ICIs.

Имеются предварительные данные, свидетельствующие о том, что молекулярные aberrации как TP53, так и RB1 могут влиять на микроокружение опухоли, как показано в глобальном исследовании более 10 тыс. пациентов из Атласа генома рака (TCGA), в котором также были

включены пациенты с МИРМП [14]. Однако выборочный анализ потенциального влияния различных типов соматических изменений в TP53 и RB1 (по отдельности или в комбинации) на опухолевое микроокружение и потенциальную корреляцию совместного изменения этих 2-х генов с геномными предикторами ответа на ICIs не проводился. Это могло бы помочь понять хороший терапевтический ответ на ICIs при опухолях с нейроэндокринными маркерами.

Кроме того, не только пациенты с нейроэндокринными маркерами имеют мутации в TP53 (почти 100 %) и RB1 (> 60 %). Другие молекулярные подтипы МИРМП, согласно последней консенсусной классификации, также имеют мутации в этих 2-х генах: просветно-сосочковый (TP53 – 32 %, RB1 – 5 %), просветно-неспецифический (TP53 – 45 %, RB1 – 5 %), просветно-нестабильный (TP53 – 76 %, RB1 – 22 %), богатый стромой (TP53 – 28 %, RB1 – 21 %) и базальный/плоскоклеточный (TP53 – 61 %, RB1 – 25%) [11]. По этой причине лучшее понимание молекулярных взаимодействий этих генов с микроокружением опухоли и с другими геномными предикторами ответа имеет потенциальное клиническое значение, поскольку это может способствовать объяснению, по крайней мере частично, чувствительности к иммунотерапевтическим агентам не только при МИРМП с нейроэндокринными маркерами, но и у всего спектра рака, поскольку все молекулярные подтипы имеют разные пропорции сопутствующих изменений в TP53 и RB1 [15].

Авторы R.G. Manzano и др. изучили набор данных по уротелиальному раку мочевого пузыря, включающий 407 пациентов с мутационными данными, числом копий и транскриптомными данными. Принимая во внимание мутации и изменения числа копий: 187 пациентов (45,9 %) были изменения дикого типа как для TP53, так и для RB1 (с этого момента двойной WT, или DWT); у 30 пациентов (7,4 %) были только изменения генома RB1 (без молекулярных aberrаций TP53); у 121 (29,7 %) были только изменения генома TP53 (без изменений RB1) и у 69 (17 %) были геномные изменения одновременно в обоих генах – RB1 и TP53. Показатели сигнатур 10 изученных клеточных популяций

и 2-х иммунологических сигнатур (Ayers; также называемые сигнатурой воспаления Т-клеток и сигнатурой цитолиза) были впервые получены из нормализованных транскриптомных данных. Эти показатели сравнивались в соответствии с мутационным статусом TP53 и RB1 с использованием теста суммы рангов Уилкоксона (двусторонний).

Пациенты с геномными изменениями в RB1 не показали существенных различий ни по одному из 12 протестированных показателей. Образцы с изменениями TP53 показали только существенные различия (более низкие значения) в показателях эндотелиальных клеток ($p = 0,004$). Интересно, что пациенты с одновременными изменениями в RB1 и TP53 показали наибольшие различия в 3-х популяциях клеток: значительно более высокие показатели были в цитотоксических лимфоцитах ($p = 0,00495$) и NK-клетках ($p = 0,0081$) и значительно более низкие показатели в эндотелиальных клетках ($p = 0,0013$). Кроме того, сигнатура воспаления Т-клеток имела значительно более высокий балл у этих пациентов с изменениями как в RB1, так и в TP53 ($p = 0,02$).

Значительно более высокие баллы были обнаружены для следующих популяций клеток в образцах с мутацией RB1: цитотоксические лимфоциты ($p = 0,00036$), NK-клетки ($p = 0,0005$), линия В-клеток ($p = 0,001$), моноцитарная линия ($p = 0,0047$); а также значительно более высокие баллы для 2-х иммунологических сигнатур: сигнатура воспаления Т-клеток ($p = 0,0005$) и сигнатура цитолиза ($p = 0,00076$).

Как и ожидалось из предыдущих результатов, доля пациентов с мутацией TP53 была выше среди образцов с вредной мутацией RB1, чем среди образцов с RB1 (относительный риск (ОР) 4,80, 95% ДИ 2,53–9,51, $p = 3,219E-07$, точный критерий Фишера). Затем авторы рассмотрели гомозиготные делеции RB1 у 36 пациентов (8,8 %) и, сравнивая с образцами RB1, как и ранее, не обнаружили таких различий в вышеупомянутых клеточных популяциях или иммунологических сигнатурах ($p > 0,05$ для всех сравнений), несмотря на то, что также была более высокая доля TP53 у мутировавших пациентов

в образцах RB1 (ОР 2,57, 95% ДИ 1,2–5,67, $p = 0,011$, точный критерий Фишера).

Кроме того, доля образцов с мутацией TP53 существенно не отличается между вредными мутациями RB1 и образцами RB1 с гомозиготной делецией (ГД) (ОР 1,86, 95% ДИ 0,70–4,91, $p = 0,18$). Единственной клеточной популяцией, показатели которой значительно отличались между образцами RB1 ГД и RB1 дикого типа, были эндотелиальные клетки ($p = 0,041$), причем показатели RB1 ГД были ниже, чем у RB1 с диким типом.

Во-вторых, авторы сравнили усекающие мутации TP53 (включая нонсенс-мутации, слайсинг и сдвиг рамки; 67 пациентов, 16,5 %) с TP53 дикого типа (217 пациентов, 53,3 %). Три клеточные популяции имели значительно более высокие баллы: цитотоксические лимфоциты, NK-клетки и моноцитарную линию.

Таким образом, увеличение цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток, а также более высокие показатели сигнатур воспаления Т-клеток были популяциями клеток и сигнатурой, соответственно, которые показали наиболее последовательные изменения в микроокружении опухоли в образцах, пораженных мутациями в обоих генах, RB1 и TP53. Кроме того, RB1 ГД, по-видимому, оказывает меньшее влияние на популяции клеток в микроокружении опухоли, воздействуя только на популяцию эндотелиальных клеток (более низкие баллы). Более высокие показатели сигнатур воспаления Т-клеток, которые были связаны с генами, чувствительными к интерферону гамма и к ответу на ICIs [16, 17].

Обнаружено, что при сравнении образцов с миссенс-мутациями TP53 с TP53 дикого типа результаты не показали значительного увеличения 3-х клеточных популяций (цитотоксические лимфоциты, NK-клетки и моноцитарная линия) и 2-х сигнатур (воспаление Т-клеток и цитолиз). Не обнаружено какой-либо существенной разницы ни в одном из 50 сравнений между двумя наборами мутантов TP53. Следовательно, как отмечалось ранее, наблюдаемые различия в 3-х популяциях клеток и 2-х сигнатурах этих 2-х наборов мутантов с образцами TP53 WT, вероятно, объясняются более высокой долей RB1 ГД в миссенс-мутантах TP53.

Количество предсказанных неоантигенов SNV и TMB (немолчащие мутации/Mb) были значительно выше только в RB1 ($p = 0,005$ и $p = 0,003$, соответственно, двусторонний тест суммы рангов Уилкоксона) и в измененных опухолях RB1 и TP53 ($p < 0,001$ и $p < 0,001$, соответственно, двусторонний критерий суммы рангов Уилкоксона) по сравнению с двойным диким типом. Фракции TIL были значительно выше в опухолях RB1 и TP53 по сравнению с двойным диким типом ($p = 0,001$, двусторонний критерий суммы рангов Уилкоксона).

Что касается мутантов TP53, то усеченный TP53 (SNV неоантигены $p = 0,004$, TMB $p < 0,001$, фракция TILs $p = 0,003$) и миссенс TP53 (SNV неоантигены $p < 0,001$, TMB $p < 0,001$, фракция TILs $p = 0,01$) были значительно выше (для SNV неоантигенов, TMB и фракции TILs), чем опухоли TP53 WT (двусторонний тест суммы рангов Уилкоксона). Однако не было обнаружено существенных различий в неоантигенах SNV, TMB и фракции TILs между усеченными мутантами TP53 и миссенс-мутантами TP53 ($p > 0,4$ для всех сравнений, критерий суммы рангов Уилкоксона). Несмотря на то, что фракция TILs является самой высокой у усеченных мутантов TP53, и этот результат согласуется с увеличением цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток в этих образцах по сравнению с показанным выше массовым содержанием TP53.

Таким образом, наличие одновременно генотипически измененных RB1 и TP53 в MIBC в значительной степени связано с более высокой нагрузкой неоантигенами SNV, более высоким TMB, а также более высокой фракцией TILs, чем в опухолях с DWT, что делает эту особенность потенциально интересной для прогнозирования чувствительности к ICIs наряду с ранее описанными результатами.

Если оставить его без лечения, большинство пациентов с MIBC заболевают в течение двух лет после постановки диагноза [17]. Таким образом, радикальное удаление мочевого пузыря (РК) с сопутствующей тщательной диссекцией тазовых лимфатических узлов стало золотым стандартом лечения мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря на многие десятилетия.

Удивительно, но ценность лимфаденэктомии недавно была поставлена под сомнение, и ожидаются результаты продолжающегося рандомизированного исследования. Поскольку у большинства пациентов рецидивы с отдаленными метастазами, половина умирает от рецидива в течение пяти лет.

Действительно, было доказано, что комбинированная неоадьювантная химиотерапия на основе цисплатина продлевает общую выживаемость пациентов, подвергшихся радикальной цистэктомии из-за мышечно-инвазивного заболевания, и стала рутинным лечением. Однако у трети пациентов, подвергшихся предоперационной химиотерапии, заболевание не поддается лечению, что подтверждается патологией хирургического образца [18–20]. Их прогноз существенно хуже, чем у их ответивших коллег. Следовательно, срочно необходимы маркеры, которые предсказывали бы восприимчивость опухоли к химиотерапии.

Несколько авторов пытались связать молекулярный профиль опухоли с ее реакцией на химиотерапию. Изменения в одном или нескольких из трех генов репарации ДНК (ATM, RB1 и FANCC) были связаны с патологическим ответом и лучшей общей выживаемостью [21]. Аналогичные наблюдения были обнаружены в отношении статуса мутации гена клеточного цикла [22].

Заключение. Терапевтический спектр для пациентов с прогрессирующим заболеванием постоянно расширяется за счет ингибиторов иммунных контрольных точек. Их успех при метастатическом заболевании заставляет многих исследователей задуматься об их потенциальной роли на ранних стадиях рака мочевого пузыря.

В результате испытаний формируется иммунная картина, которая раскрывает сложность взаимоотношений между раком и его хозяином, что делает заболевание более склонным к определенной терапевтической стратегии. Были представлены по меньшей мере семь аспектов этого специфического взаимодействия, которые включают чужеродность опухоли, инфильтрацию иммунных клеток, отсутствие ингибирующих контрольных точек, общую работоспособность и иммунный статус, отсутствие

растворимых ингибиторов, отсутствие ингибирующего метаболизма опухоли и чувствительность опухоли к иммунным эффекторам.

Потенциальным кандидатам на применение пембролизумаба или эрдафитиниба рекомендуется пройти предварительную оценку экспрессии PD-L1 или профиля FGFR2/3, соответственно. Благодаря этому уроонкологическое сообщество вступило в эру индивидуальной терапии рака мочевого пузыря.

Поступила: 10.08.23; рецензирована: 15.08.23;
принята: 14.09.23.

Литература

1. Robertson A.G., Kim J., Al-Ahmadie H. et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder Cancer // *Cell*. 2017. 171 (3): 540–556 e525.
2. Necchi A., Anichini A., Raggi D. et al. Pembrolizumab as Neoadjuvant Therapy Before Radical Cystectomy in Patients With Muscle-Invasive Urothelial Bladder Carcinoma (PURE-01): An Open-Label, Single-Arm, Phase II Study // *J Clin Oncol*. 2018; Jco1801148.
3. Powles T., Duran I., van der Heijden M.S., Yohann L. 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 (London, England)* 2018; 391 (10122): 748–757. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33297-X.
4. 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 (London, England)*. 2016; 387 (10031): 1909–1920. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00561-4.
5. Powles T., Kockx M., Rodriguez-Vida A. et al. Clinical efficacy and biomarker analysis of neoadjuvant atezolizumab in operable urothelial carcinoma in the ABACUS trial // *Nat Med*. 2019; 25 (11): 1706–1714. DOI: 10.1038/s41591-019-0628-7.
6. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma // *Nature*. 2014; 507 (7492): 315–22.
7. Choi W., Porten S., Kim S., Willis D. et al. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy // *Cancer Cell*. 2014; 25 (2): 152–165. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.01.009.
8. Damrauer J.S., Hoadley K.A., Chism D.D. et al. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111 (8): 3110–3115. DOI: 10.1073/pnas.1318376111.
9. Sjodahl G., Lauss M., Lovgren K. et al. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma // *Clin Cancer Res*. 2012; 18 (12): 3377–3386. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T.
10. Choi W., Ochoa A., McConkey D.J. et al. Genetic alterations in the molecular subtypes of bladder Cancer: illustration in the Cancer genome atlas dataset // *Eur Urol*. 2017; 72 (3): 354–365. DOI: 10.1016/j.eururo.2017.03.010.
11. Kamoun A., de Reyniès A., Allory Y. et al. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder Cancer // *Eur Urol*. 2020; 77 (4): 420–433. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.09.006.
12. Kim J., Kwiatkowski D., McConkey D.J. et al. The Cancer genome atlas expression subtypes stratify response to checkpoint inhibition in advanced Urothelial Cancer and identify a subset of patients with high survival probability // *Eur Urol*. 2019; 75 (6): 961–964. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.02.017.
13. Rickman D.S., Beltran H., Demichelis F., Rubin M.A. Biology and evolution of poorly differentiated neuroendocrine tumors // *Nat Med*. 2017; 23 (6): 1–10. DOI: 10.1038/nm.4341.
14. Porta-Pardo E., Gao G.F., Plaisier C.L., Eddy J.A. et al. The immune landscape of Cancer // *Immunity*. 2018, 48 (4): 812–830 e814.
15. Mariathasan S., Turley S.J., Nickles D. et al. TGFbeta attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells // *Nature*. 2018; 554 (7693): 544–548. DOI: 10.1038/nature25501.
16. Ramon Gonzalez Manzano, Ana Catalan-Latorre, Antonio Brugarolas. RB1 and TP53 co-mutations correlate strongly with genomic biomarkers of response to immunity checkpoint inhibitors in urothelial bladder cancer // *BMC Cancer*. 2021 Apr 20; 21 (1): 432. DOI: 10.1186/s12885-021-08078-y.
17. Ayers M., Lunceford J., Nebozhyn M. et al. IFN-γ-related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade // *J Clin Invest*. 2017; 127 (8): 2930–2940. DOI: 10.1172/JCI91190.
18. Ott P.A., Bang Y.J., Piha-Paul S.A. et al. T-cell-inflamed gene-expression profile, programmed death ligand 1 expression, and tumor

- mutational burden predict efficacy in patients treated with Pembrolizumab across 20 cancers: KEYNOTE-028 // *J Clin Oncol.* 2019; 37 (4): 318–327. DOI: 10.1200/JCO.2018.78.2276.
19. *Necchi A., Raggi D., Gallina A., Ross J.S., Farè E., Giannatempo P. et al.* Impact of molecular subtyping and immune infiltration on pathological response and outcome following Neoadjuvant Pembrolizumab in muscle-invasive bladder Cancer // *Eur Urol.* 2020; 77 (6): 701–10.
 20. *Teo M.Y., Seier K., Ostrovskaya I. et al.* Alterations in DNA damage response and repair genes as potential marker of clinical benefit from PD-1/PD-L1 blockade in advanced Urothelial cancers // *J Clin Oncol.* 2018; 36 (17): 1685–1694. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.7740.
 21. *Yang R.K., Kuznetsov I.B., Ranheim E.A. et al.* Outcome-related signatures identified by whole Transcriptome sequencing of Resectable stage III/IV melanoma evaluated after starting Hu14.18-IL2 // *Clin Cancer Res.* 2020; 26 (13): 3296–3306. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3294.
 22. *Hanzelmann S., Castelo R., Guinney J.* GSVA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data // *BMC Bioinform.* 2013; 14:7. DOI: 10.1186/1471-2105-14-7.