



Н.В. Митюшкина¹, Е.Н. Имянитов^{1,2}

Молекулярная диагностика нарушений в генах семейства *FGFR*

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, Санкт-Петербург

Соматические активирующие изменения генов *FGFR1-4* выявляются в 5–10 % всех опухолей человека. Применение новых селективных *FGFR*-ингибиторов позволяет улучшить результаты лечения местно-распространённого и метастатического уротелиального рака и холангиокарциномы с активирующими изменениями в генах *FGFR2* и *FGFR3*. В рамках клинических испытаний изучаются возможности применения препаратов из этого класса и при других типах новообразований. Для отбора пациентов на лечение таргетными ингибиторами *FGFR*-рецепторов обычно требуется проводить молекулярно-генетическое исследование опухолевой ткани. В настоящем обзоре рассмотрены различные аспекты, связанные с молекулярной диагностикой нарушений в генах семейства *FGFR* при метастатическом уротелиальном раке, холангиокарциноме и некоторых других типах опухолей.

Ключевые слова: обзор; молекулярная диагностика; рецептор фактора роста фибробластов; таргетная терапия; *FGFR*-ингибитор
Для цитирования: Митюшкина Н.В., Имянитов Е.Н. Молекулярная диагностика нарушений в генах семейства *FGFR*. Вопросы онкологии. 2023;69(3):364–372. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-3-364-372

Введение

Семейство рецепторов фактора роста фибробластов включает четыре основных гена: *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3* и *FGFR4*. Эти рецепторы играют важную роль в развитии организма, в процессах восстановления повреждённых тканей, в развитии воспалительной реакции и в регуляции метаболизма [1, 2]. Наследственные активирующие мутации в генах рецепторов фактора роста фибробластов приводят к различным нарушениям формирования костей черепа и скелета (краниостенозу, карликовости), а инактивирующие повреждения могут вызывать врожденный гипогонадотропный гипогонадизм [1–3]. Соматические активирующие изменения генов *FGFR1-*

4 выявляются в 5–10 % всех опухолей человека [4–6]. Спектр этих изменений чрезвычайно широк — они включают амплификации, точечные мутации и разнообразные генные перестройки. При этом гены *FGFR1* и *FGFR4* наиболее часто подвергаются амплификациям, в то время как активация рецепторов *FGFR2* и *FGFR3* в опухолях чаще всего происходит вследствие точечных мутаций и перестроек [4, 5]. Активированные в результате мутаций, транслокаций или амплификаций *FGFR*-рецепторы могут служить мишенями для таргетных препаратов из группы низкомолекулярных ингибиторов тирозинкиназ (ТКИ). Такие препараты можно условно разделить на мультикиназные ингибиторы, воздействующие одновременно на несколько близких по структуре белков, в число которых входят рецепторы из семейства *FGFR*, и селективные *FGFR*-ингибиторы — более новый класс препаратов, специфично подавляющих только активность рецепторов фактора роста фибробластов [6, 7]. Использование мультикиназных ингибиторов, как правило, менее эффективно для подавления активности *FGFR*-рецепторов и часто сопровождается серьёзными побочными эффектами. К препаратам из этой группы относятся понатиниб, довитиниб, ленватиниб, нинтеданиб и ряд других. Ни один из них в настоящее время не рекомендован для терапии опухолей с активирующими изменениями генов семейства *FGFR*. В то же время за период с 2019 по 2022 гг. для клинического применения были одобрены четыре новых препарата из группы селективных ингибиторов рецепторов *FGFR* для лечения метастатического уротелиального рака и холангиокарциномы с мутациями или перестройками, затрагивающими гены *FGFR2* и *FGFR3*. В этой работе будут рассмотрены различные аспекты, связанные с молекулярной диагностикой нарушений в генах семейства *FGFR* при метастатическом уротелиальном раке, холангиокарциноме и некоторых других типах новообразований.

Изменения в генах рецепторов семейства *FGFR* при уротелиальном раке. Для уротелиальных опухолей наиболее характерны точечные замены в гене *FGFR3*. По разным данным,

их встречаемость при этом типе новообразований составляет от 15 до 70 %: чаще всего они выявляются на ранних стадиях, в опухолях низкой степени злокачественности, реже — при местнораспространённом и метастатическом раке [8–11]. Кроме того, в исследовании J.P. Sfakianos и соавт. (2015) была выявлена зависимость частоты мутаций *FGFR3* от анатомической локализации опухоли: нарушения чаще выявлялись в опухолях, распложенных в верхних частях уротелиального тракта, чем в новообразованиях мочевого пузыря (21 % и 14 % соответственно) [12]. Однако эта закономерность не была подтверждена в недавней работе, выполненной С.К. Park и соавт. (2022) [11]. Мутации, а также транслокации с участием гена *FGFR3*, обычно обнаруживаются в опухолях с определёнными гистологическими характеристиками, а именно — в новообразованиях, относящихся к люминально-папиллярному подтипу [13, 14]. К наиболее распространённым вариантам мутаций гена *FGFR3* относятся *S249C*, *R248C*, *Y373C* и *S371C*. Эти мутации расположены во внеклеточном домене гена *FGFR3*, их присутствие приводит к лиганд-независимой активации рецептора [15]. Примечательно, что в уротелиальных опухолях эти четыре замены составляют до 80–90 % всех мутаций, выявляемых в гене *FGFR3*. Следующим по частоте генетическим изменением в уротелиальных карциномах являются транслокации с участием генов *FGFR2/FGFR3*, присутствующие в 2–8 % опухолей [9–12]. Наиболее часто выявляются перестройки между генами *FGFR3* и *TACC3*, расположенными на близком расстоянии внутри одной хромосомы; в результате образуются химерные транскрипты, содержащие большую часть гена *FGFR3* (включая киназный домен). Амплификации генов *FGFR2* и *FGFR3* встречаются в уротелиальных карциномах существенно реже. Их клиническое значение в настоящее время неочевидно.

Эрдафитиниб стал первым препаратом из группы специфических ингибиторов киназ FGFR1-4, одобренным управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) к применению у пациентов с местнораспространённым и метастатическим уротелиальным раком с определёнными генетическими изменениями в рецепторах *FGFR2* и *FGFR3* [16]. Данный препарат получил ускоренное одобрение в 2019 г. на основании клинического испытания второй фазы BLC2001, в результате которого была зарегистрирована частота объективных ответов 40 % и медиана продолжительности безрецидивной выживаемости 5,5 мес., при использовании препарата во второй и последующих линиях терапии [17].

Ограниченный спектр нарушений в генах семейства *FGFR*, характерный для опухолей уротелиального тракта, позволяет использовать полимеразную цепную реакцию (ПЦР) для тестирования этих нарушений. В качестве диагностической тест-системы, рекомендованной FDA для выявления маркеров чувствительности к эрдафитинибу, был зарегистрирован набор реагентов theascreen FGFR RGQ RT-PCR Kit (QIAGEN Manchester Ltd., Германия). Этот набор позволяет выявлять четыре наиболее распространённые в уротелиальных опухолях миссенс-мутации в гене *FGFR3*: *R248C*, *S249C*, *G370C* и *Y373C*, а также несколько транслокаций: *FGFR3-TACC3v1 (F17;T11)*, *FGFR3-TACC3v3 (F17;T10)*, *FGFR3-BAIAP2L1 (F17;B2)*, *FGFR2-BICC1 (F17;B3)* и *FGFR2-CASP7 (F17;C2)*. Примечательно, что среди пациентов, принявших участие в клиническом испытании BLC2001, объективные клинические ответы были зафиксированы у 4 из 11 (36 %) пациентов с транслокацией *FGFR3-TACC3v1*, но ни у одного из 14 пациентов с другими вариантами транслокаций. В то же время частота объективных ответов среди пациентов с миссенс-мутациями в гене *FGFR3* составила 49 %, и эта частота не зависела от конкретного варианта мутации [17].

Использование ПЦР в клинической диагностике, безусловно, имеет множество преимуществ: данный метод отличает высокая чувствительность, быстрота выполнения анализа и относительно невысокая стоимость. В то же время спектр выявляемых этим методом генетических нарушений, в особенности транслокаций, всегда ограничен известными и/или включёнными в используемый набор вариантами. В связи с этим стоит отметить, что спектр транслокаций с участием генов семейства *FGFR* в уротелиальных карциномах представляется недостаточно полно охарактеризованным в настоящее время. Хотя вариант *FGFR3-TACC3v1*, по-видимому, является самым распространённым, другие варианты перестроек с участием генов *FGFR3* и *TACC3* могут быть также достаточно широко представлены. Так в двух исследованиях, выполненных с использованием секвенирования нового поколения (NGS), суммарно было описано 8 транслокаций *FGFR3-TACC3*; две из них (25 %) содержали «необычные» точки разрыва внутри гена *TACC3* и, соответственно, не могли бы быть обнаружены с использованием набора theascreen FGFR RGQ RT-PCR Kit [11, 12]. Оценить относительную частоту редких вариантов перестроек *FGFR3-TACC3* в уротелиальных опухолях сложно ввиду немногочисленности проведённых исследований и из-за того, что в публикациях не всегда указываются геномные координаты точек разрыва, либо соответствующи-

щие им экзоны генов, участвующих в перестройках. Однако стоит отметить, что в других типах новообразований, таких как опухоли головного мозга и рак лёгкого, показано значительное разнообразие вариантов перестроек между генами *FGFR3* и *TACC3* [18, 19]. Кроме того, работы, проведённые с использованием NGS, демонстрируют значительное разнообразие генов-партнёров, участвующих в перестройках с генами *FGFR2/3* в уротелиальных опухолях [4, 9–11].

Изменения в генах рецепторов семейства *FGFR* при холангиокарциноме. Первым препаратом из группы FGFR-ингибиторов, получившим разрешение на клиническое применение в США в 2020 г. для лечения местнораспространённой или метастатической холангиокарциномы, стал пемигатиниб. В клиническом испытании второй фазы FIGHT-202 частота объективных ответов при применении пемигатиниба у пациентов с перестройками гена *FGFR2* составила 36 %, а медиана времени до прогрессирования — 6,9 мес. [20]. Сравнимые показатели в исследовании второй фазы продемонстрировал и другой FGFR-ингибитор — инфигратиниб [21], одобренный FDA в 2021 г. Критерием для назначения обоих препаратов является наличие в опухоли перестроек с участием гена *FGFR2*. Наконец, в сентябре 2022 г. ускоренное одобрение FDA получил ещё один препарат — футибатиниб, который можно отнести к новой группе необратимых ингибиторов FGFR-рецепторов. Кроме того, что его применение в рамках клинических испытаний привело к некоторому увеличению частоты объективных ответов (до 42 %) и медианы времени до прогрессирования (до 8,9 мес.) в сравнении с пемигатинибом и инфигратинибом, в части случаев футибатиниб позволяет преодолеть вторичную резистентность, развившуюся на фоне использования других FGFR-ингибиторов [22–24].

Холангиокарциномы относятся к опухолям билиарного тракта и по анатомической локализации разделяются на внутривнутрипечёчные и внепечёчные. Перестройки с участием гена *FGFR2* наблюдаются почти исключительно во внутривнутрипечёчных карциномах [25, 26], где их частота составляет 5–14 % [13, 25, 27, 28]. Другим фактором, определяющим вероятность обнаружения *FGFR2*-транслокаций, является наличие паразитарной инвазии печени: в опухолях, развившихся на фоне инфицирования печёчным сосальщиком, *FGFR2*-транслокации встречаются редко [26, 27].

В качестве диагностического теста-компаньона для назначения пемигатиниба и инфигратиниба, была зарегистрирована коммерческая платформа FoundationOne CDx (Foundation Medicine, Inc., США) — она представляет со-

бой мультигенную гибридационную NGS-панель, включающую последовательности 324 генов [29]. Анализ, основанный на NGS использовался и при отборе пациентов в клиническое испытание футибатиниба. Необходимость использования методов, основанных на NGS, для выявления перестроек гена *FGFR2* в холангиокарциномах объясняется очень большим количеством возможных генов-партнёров, участвующих в этих перестройках. Так у 107 пациентов, принимавших участие в клиническом испытании пемигатиниба, были выявлены транслокации с участием гена *FGFR2* и 57 различных генов-партнёров [20], а в работе M. Javle и соавт. (2019) упоминается 128 генов-партнёров *FGFR2* по перестройкам [30], обнаруженных при анализе когорты из 3634 случаев холангиокарциномы. Недостатками использования NGS в клинической лабораторной диагностике являются необходимость наличия сложного оборудования, длительность проведения анализа и его сравнительно высокая стоимость. Высокая стоимость проведения теста FoundationOne CDx, в частности, обусловлена исследованием большого количества генных последовательностей, т. к. данный тест предназначен для анализа широкого спектра генетических маркеров в различных типах новообразований. Кроме того, этот анализ выполняется только в лабораториях FoundationOne за рубежом, что дополнительно увеличивает время до получения результата из-за необходимости длительной транспортировки образцов. Разработка небольших NGS-панелей для анализа перестроек с участием гена *FGFR2* и других генетических маркеров, имеющих значение для индивидуализированного подбора терапии при холангиокарциноме, может в дальнейшем сделать подобный тест более доступным. При этом предпочтение должно отдаваться методам NGS-секвенирования ПНК: при исследовании перестроек посредством NGS-секвенирования ДНК результат часто оказывается ложно-отрицательным из-за сложностей, возникающих при анализе интронных последовательностей [31, 32]. В качестве альтернативы NGS для анализа перестроек гена *FGFR2* может быть использован метод FISH.

Однако транслокации с участием гена *FGFR2* — не единственное генетическое изменение, способное приводить к лиганд-независимой активации этого рецептора, и опосредовать чувствительность опухолей к FGFR-ингибиторам. В работе D. Zingg и соавт., опубликованной в журнале Nature в августе 2022 года, убедительно продемонстрировано, что потеря 3'-концевой части гена *FGFR2*, включая, полностью или частично, экзон 18, является драйверным собы-

тием канцерогенеза вне зависимости от того, в результате чего это событие произошло — перестройки, частичной амплификации экзонов 1–17, мутации в сайте сплайсинга, нонсенс-мутации или мутации со сдвигом рамки считывания внутри экзона 18 [33]. Этим, отчасти, может объясняться наличие у *FGFR2* такого большого числа генов-партнёров и разнообразие точек разрыва внутри этих генов: функции генов-партнёров для активации рецептора *FGFR2* не являются критичными. Более того, перестройки могут происходить без сохранения рамки считывания внутри гена-партнёра; иногда в перестройках гена *FGFR2* участвуют некодирующие геномные последовательности. В своей работе, D. Zingg и соавт. показали, что опухоли, экспрессирующие «укороченный» вариант *FGFR2* ΔE18, чувствительны к *FGFR*-ингибиторам [33]. Практический вывод, который можно сделать по результатам этой работы состоит в том, что при анализе данных NGS-секвенирования обязательно необходимо учитывать все возможные события, которые могут приводить к экспрессии *FGFR2* без 3'-концевой последовательности в холангиокарциномах.

Другая группа мутаций, ассоциированная с чувствительностью холангиокарцином к *FGFR*-ингибиторам, была описана в работе Cleary и соавт. (2021): это небольшие делеции, располагающиеся во внеклеточном домене рецептора *FGFR2* [23]. Описаны и другие мутации во внеклеточном и примембранном доменах *FGFR2*, присутствие которых в опухолях обуславливает чувствительность к данному классу препаратов [34], в то время как мутации, располагающиеся внутри киназного домена, чаще бывают связаны с первичной или вторичной резистентностью [6, 35].

Хотя критерием для отбора пациентов на лечение всеми тремя уже одобренными для клинического применения препаратами (пемигатинибом, инфигратинибом и футибатинибом) является присутствие перестроек с участием гена *FGFR2*, все эти препараты являются также ингибиторами рецепторов *FGFR1* и *FGFR3*, а футибатиниб — ещё и *FGFR4*. Соответственно, выявление активированных форм всех четырёх рецепторов семейства *FGFR* может иметь значение при отборе пациентов на лечение этими препаратами. В связи с этим стоит отметить, что в холангиокарциномах, хотя и с невысокой частотой, встречаются перестройки с участием гена *FGFR3* [28, 30], и очень редко могут быть выявлены *FGFR1*-транслокации [30]. Однако клинические данные о результатах применения *FGFR*-ингибиторов для лечения холангиокарцином с такими типами транслокаций в литературе на настоящий момент отсутствуют.

Активирующие изменения в генах *FGFR* и перспективы таргетной терапии *FGFR*-ингибиторами при солидных опухолях других типов. В опухолях лёгкого активирующие изменения в генах *FGFR*-рецепторов выявляются сравнительно редко, однако в плоскоклеточных карциномах их частота может быть существенной. Самыми частыми, по-видимому, являются амплификации гена *FGFR1* (до 20 % случаев плоскоклеточного рака лёгкого) [4, 36–38]. Точечные мутации (преимущественно замены *S249C*, *R248C* и *K650E* в гене *FGFR3*) выявляются при раке лёгкого значительно реже: в опухолях плоскоклеточного типа они обнаруживаются приблизительно в 1,5 % случаев [4, 38]. Частота перестроек генов *FGFR1-4* в плоскоклеточных карциномах, по данным различных исследований, составляет от 0,5 до 5 % [19, 38–40], а в аденокарциномах лёгкого — от < 0,1 % до 0,6 % [19, 38, 39, 41]. В подавляющем большинстве опухолей лёгкого с *FGFR*-транслокациями был выявлен один из вариантов перестройки *FGFR3-TACC3*. В ряде работ были отмечены случаи возникновения этой перестройки *de novo* на фоне лечения *EGFR*-ингибиторами [38, 42]. В этих случаях транслокация *FGFR3-TACC3* служит вероятным механизмом развития вторичной резистентности. Обращает на себя внимание, что в тех работах, где перестройки выявлялись на основе NGS-анализа ДНК [4, 19, 38], их частота оказалась почти на порядок ниже, чем в исследованиях, где материалом для анализа служила ПНК [39–41].

Применение *FGFR*-ингибиторов при раке лёгкого в рамках клинических испытаний оказалось малоэффективно, но при этом у некоторых пациентов наблюдались выраженные и длительные ответы на лечение [43–45]. Отбор пациентов для указанных клинических испытаний производился на основании анализа молекулярных маркеров: в два из них преимущественно входили случаи с амплификациями гена *FGFR1*, критерием включения в третье служил высокий уровень экспрессии мРНК хотя бы одного из генов *FGFR1-4* в опухоли. В связи с этим стоит упомянуть работы, в которых было показано, что экспрессия гена *FGFR1* в опухолях лёгкого слабо коррелирует с количеством копий гена *FGFR1* [37, 46], что позволяет усомниться в целесообразности использования амплификации *FGFR1* в качестве маркера чувствительности к *FGFR*-ингибиторам при раке лёгкого. Недостаточно изученным остаётся вопрос о чувствительности к таргетной терапии опухолей лёгкого с другими изменениями (мутациями, транслокациями) *FGFR*-рецепторов.

Амплификации гена *FGFR1* и, значительно реже, других генов семейства *FGFR* обнаружи-

ваются в 7–15 % опухолей молочной железы [4, 38, 47, 48]. Амплификацию/гиперэкспрессию гена *FGFR1* в первичной опухоли связывают с резистентностью к гормональной терапии и неблагоприятным прогнозом при люминальном типе опухолей [47–50]. Более того, активация генов *FGF/FGFR*, по-видимому, является одним из распространённых механизмов развития вторичной резистентности как к эндокринной терапии, так и к терапии CDK4/6-ингибиторами, которые часто применяются в комбинации при лечении метастатического рака молочной железы, экспрессирующего рецепторы к эстрогену/прогестерону [48, 51, 52]. Р. Мао и соавт. (2020), проведя полноэкзомное секвенирование 60 парных образцов опухолевой ДНК, полученных до начала эндокринной терапии и после развития резистентности, обнаружили у 15 % пациентов амплификацию гена *FGFR1*, у 5 % — амплификацию гена *FGFR2*, у 28 % — амплификацию гена *FGF3* и ещё у 3 % — активирующие мутации в гене *FGFR2* [52]. В половине случаев указанные нарушения были выявлены только в образцах, полученных после развития лекарственной резистентности. Было сделано предположение о том, что использование FGFR-ингибиторов может вернуть чувствительность к эндокринной терапии у части пациентов с развившейся в результате лечения вторичной резистентностью. R.C. Coombes и соавт. (2022) провели клиническое испытание фазы IIa, в процессе которого пациенты с раком молочной железы и резистентностью к ингибиторам ароматазы получали терапию препаратами анастрозол/летрозол в комбинации с селективным ингибитором рецепторов FGFR1-3 AZD4547 [53]. Результаты этого испытания, в целом, показали ограниченную эффективность такого подхода: частота объективных ответов составила лишь 10 %, а медиана безрецидивной выживаемости для всей когорты пациентов — 3 мес. Однако, как и в клинических испытаниях ингибиторов FGFR для лечения рака лёгкого, у небольшой части пациентов наблюдались длительная, год и более, стабилизация процесса или ответ на терапию. Основываясь на анализе экспрессии 2549 генов в образцах опухолей, полученных до начала какой-либо терапии, у 12 пациентов со стабилизацией и у 6 пациентов с прогрессированием заболевания на фоне экспериментального лечения с применением FGFR-ингибитора, авторы исследования попытались найти маркеры, ассоциированные с терапевтическим эффектом. В результате была выделена сигнатура из 6 генов (*CHGA*, *FGF10*, *PTPRC*, *MIA*, *TRIM72* и *SEC14L2*), гиперэкспрессия которых наблюдалась у пациентов с лучшим эффектом от проводимого лечения. Ассоциации с амплификацией

FGFR1 в плазме крови пациентов в этой работе обнаружено не было.

В опухолях желудка чаще всего выявляются амплификации гена *FGFR2* (их частота у разных авторов варьирует от 3 до 15 % и зависит от выбранного метода анализа и пороговых значений), реже встречаются мутации и перестройки, затрагивающие различные гены семейства *FGFR* [4, 5, 54]. Использование селективных низкомолекулярных FGFR-ингибиторов у пациентов с *FGFR2*-амплификациями оказалось эффективным лишь в малом проценте случаев [54]. Возможное объяснение этому было получено в работе А. Pearson и соавт. (2016), где при использовании экспериментального FGFR-ингибитора AZD4547 ответ на лечение наблюдался лишь у тех пациентов, у которых во всех клетках опухоли присутствовал высокий уровень амплификации *FGFR2* [55]. Интересно, что у всех ответивших на лечение пациентов в этом исследовании также была детектирована экспрессия короткой изоформы FGFR2-C3, лишённой 3'-концевой части. Бемаритузумаб — препарат из нового класса FGFR-ингибиторов, представляющий собой моноклональные антитела к изоформе IIIb рецептора FGFR2. Было проведено клиническое исследование эффективности этого препарата при раке желудка в комбинации с химиотерапией по схеме mFOLFOX6 у пациентов с гиперэкспрессией изоформы FGFR2-IIIb [56]. Гиперэкспрессия этой изоформы, по результатам иммуногистохимического анализа (ИГХ), была обнаружена в 30 % исследованных опухолей. Добавление бемаритузумаба к химиотерапии позволило добиться увеличения медианы продолжительности безрецидивной выживаемости с 7,4 до 9,5 мес. по сравнению с плацебо, но при этом сопровождалось большей частотой нежелательных побочных явлений. Ввиду того, что наблюдаемые различия между группами не достигли уровня статистической значимости, было запланировано клиническое исследование третьей фазы, имеющее целью подтвердить полученный результат.

В глиомах активирующие изменения в генах рецепторов семейства FGFR (в основном, *FGFR1* и *FGFR3*) наблюдаются с частотой около 8 % [4]. В 2022 г. были опубликованы результаты клинического испытания второй фазы по применению инфигратиниба при лечении рецидивирующих глиом головного мозга с такими изменениями [57]. Несмотря на то, что препарат продемонстрировал, в целом, низкую эффективность в данной выборке пациентов (частота объективных ответов — 3,8 % и медиана продолжительности безрецидивной выживаемости — 1,7 мес.), у четырёх из 26 больных был достигнут длительный (более 1 года) контроль над

заболеванием. Интересно, что у трёх из этих четырёх пациентов в опухоли были выявлены мутации в аналогичных позициях внутри киназного домена генов *FGFR1* (K656E, n = 2) и *FGFR3* (K650E, n = 1); других случаев с мутациями в тех же позициях в исследуемой выборке не было. В четвертом случае в опухоли присутствовала транслокация *FGFR3-TACC3* (всего в испытании препарата участвовали 10 пациентов с такими транслокациями).

В 2022 г. были также опубликованы результаты клинических испытаний эффективности пемигатиниба и футибатиниба в терапии солидных опухолей различных локализаций с нарушениями, затрагивающими FGFR-рецепторы или их лиганды [58, 59]. В обоих исследованиях наибольшая доля объективных ответов наблюдалась среди пациентов с холангиокарциномой, у которых в опухоли присутствовала *FGFR2*-транслокация. В то же время, случаи ответа на терапию наблюдались и среди пациентов с другими типами опухолей с самыми разнообразными генетическими нарушениями. Дальнейшее уточнение молекулярно-генетических и гистологических детерминант ответа на терапию FGFR-ингибиторами необходимо для более эффективного назначения этого класса препаратов при широком спектре новообразований. Учитывая, что сейчас различные этапы разработки и клинических испытаний проходят уже более десяти таргетных препаратов, специфично подавляющих активность FGFR-рецепторов, особый интерес представляют работы, направленные на определение и сравнение чувствительности опухолевых клеток с определёнными мутациями и другими изменениями генов семейства *FGFR* к различным FGFR-ингибиторам в условиях *in vitro* [60, 61]. Такие исследования в будущем могут помочь более обоснованно производить назначение определённых препаратов из группы FGFR-ингибиторов пациентам с редкими мутациями/перестройками. Определение маркеров чувствительности и резистентности к FGFR-ингибиторам важно ещё и потому, что применение этих препаратов, даже в случае селективных ингибиторов, почти всегда сопровождается нежелательными побочными явлениями, самыми частыми из которых являются гиперфосфатемия, слабость, диарея, а также различные проявления токсичности в отношении кожных покровов и глаз. В настоящее время представляется обоснованным тестирование нарушений в генах *FGFR1-4* путём включения их в мультигенные NGS-панели при любых типах опухолей, для того, чтобы пациенты с такими нарушениями в дальнейшем могли принять участие в клинических испытаниях новых препаратов из класса FGFR-ингибиторов.

Заключение

Применение новых селективных FGFR-ингибиторов позволяет улучшить результаты лечения местнораспространённого и метастатического уротелиального рака и холангиокарциномы с активирующими изменениями в генах *FGFR2/3*. Для отбора пациентов на лечение требуется проводить молекулярно-генетическое исследование опухолевой ткани. Оптимальный метод исследования зависит от типа новообразования и используемого для лечения препарата. В уротелиальных опухолях спектр мутаций ограничен, и наиболее практичным методом их тестирования является ПЦР. Для холангиокарцином, напротив, характерно большое разнообразие вариантов транслокаций с участием гена *FGFR2*, и, реже, — *FGFR3*; также в этих опухолях встречаются иные генетические изменения (точечные мутации, делеции), связанные с чувствительностью к таргетной терапии FGFR-ингибиторами. Это обуславливает необходимость использования секвенирования нового поколения (NGS) при молекулярно-генетическом анализе опухолей этого типа. Применение таргетных ингибиторов рецепторов FGFR при других типах новообразований пока осуществляется лишь в рамках клинических испытаний. Низкая частота объективных ответов, регистрируемая в результате этих испытаний, вероятно, объясняется отсутствием эффективных предиктивных маркеров для большинства опухолевых локализаций.

Участие авторов

Митюшкина Н.В. — поиск и анализ данных литературы, составление черновика статьи;

Имянитов Е.Н. — критический анализ работы и редактирование текста с внесением ценного интеллектуального содержания.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Финансирование

Исследование было поддержано грантом РНФ № 22-15-00487.

ЛИТЕРАТУРА

1. Helsten T, Schwaederle M, Kurzrock R. Fibroblast growth factor receptor signaling in hereditary and neoplastic disease: biologic and clinical implications. *Cancer Metastasis Rev.* 2015;34(3):479-496. doi:10.1007/s10555-015-9579-8.
2. Xie Y, Su N, Yang J, et al. FGF/FGFR signaling in health and disease. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):181. doi:10.1038/s41392-020-00222-7.

3. Amato LGL, Montenegro LR, Lerario AM, et al. New genetic findings in a large cohort of congenital hypogonadotropic hypogonadism. *Eur J Endocrinol.* 2019;181(2):103–119. doi:10.1530/EJE-18-0764.
4. Helsten T, Elkin S, Arthur E, et al. The FGFR Landscape in Cancer: Analysis of 4,853 Tumors by Next-Generation Sequencing. *Clin Cancer Res.* 2016;22(1):259–267. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-3212.
5. Gu W, Yang J, Wang Y, et al. Comprehensive identification of FGFR1-4 alterations in 5 557 Chinese patients with solid tumors by next-generation sequencing. *Am J Cancer Res.* 2021;11(8):3893–3906.
6. Krook MA, Reeser JW, Ernst G, et al. Fibroblast growth factor receptors in cancer: genetic alterations, diagnostics, therapeutic targets and mechanisms of resistance. *Br J Cancer.* 2021;124(5):880-892. doi:10.1038/s41416-020-01157-0.
7. Facchinetti F, Hollebecque A, Bahleda R, et al. Facts and New Hopes on Selective FGFR Inhibitors in Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2020;26(4):764-774. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-2035.
8. Billerey C, Chopin D, Aubriot-Lorton MH, et al. Frequent FGFR3 mutations in papillary non-invasive bladder (pTa) tumors. *Am J Pathol.* 2001;158(6):1955–1959. doi:10.1016/S0002-9440(10)64665-2.
9. Pietzak EJ, Bagrodia A, Cha EK, et al. Next-generation Sequencing of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer Reveals Potential Biomarkers and Rational Therapeutic Targets. *Eur Urol.* 2017;72(6):952-959. doi:10.1016/j.eururo.2017.05.032.
10. Ross JS, Wang K, Khaira D, et al. Comprehensive genomic profiling of 295 cases of clinically advanced urothelial carcinoma of the urinary bladder reveals a high frequency of clinically relevant genomic alterations. *Cancer.* 2016;122(5):702-711. doi:10.1002/cncr.29826.
11. Park CK, Cho NH. Differences in genomic profile of high-grade urothelial carcinoma according to tumor location. *Urol Oncol.* 2022;40(3):109.e1–109.e9. doi:10.1016/j.urolonc.2021.08.019.
12. Sfakianos JP, Cha EK, Iyer G, et al. Genomic Characterization of Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Eur Urol.* 2015;68(6):970-977. doi:10.1016/j.eururo.2015.07.039.
13. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell.* 2017;171(3):540-556.e25. doi:10.1016/j.cell.2017.09.007.
14. Османов ЮИ, Гаибов ЖА, Коган ЕА и соавт. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика молекулярных подтипов уротелиальных карцином. *Архив патологии.* 2019;81(5):35-44 [Osmanov Yul, Gaibov ZhA, Kogan EA, et al. Morphological and immunohistochemical characteristics of the molecular subtypes of urothelial carcinomas. *Archive of Pathology (Arkhiv patologii).* 2019;81(5):35-44 (In Russ.)] doi:10.17116/patol20198105135.
15. Gallo LH, Nelson KN, Meyer AN, et al. Functions of Fibroblast Growth Factor Receptors in cancer defined by novel translocations and mutations. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26(4):425-449. doi:10.1016/j.cytogfr.2015.03.003.
16. Roubal K, Myint ZW, Kolesar JM. Erdafitinib: A novel therapy for FGFR-mutated urothelial cancer. *Am J Health Syst Pharm.* 2020;77(5):346–351. doi:10.1093/ajhp/zxz329.
17. Loriot Y, Necchi A, Park SH, et al. Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med.* 2019;381(4):338–348. doi:10.1056/NEJMoa1817323.
18. Di Stefano AL, Fucci A, Frattini V, et al. Detection, Characterization, and Inhibition of FGFR-TACC Fusions in IDH Wild-type Glioma. *Clin Cancer Res.* 2015;21(14):3307–3317. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2199.
19. Qin A, Johnson A, Ross JS, et al. Detection of Known and Novel FGFR Fusions in Non-Small Cell Lung Cancer by Comprehensive Genomic Profiling. *J Thorac Oncol.* 2019;14(1):54-62. doi:10.1016/j.jtho.2018.09.014.
20. Abou-Alfa GK, Sahai V, Hollebecque A, et al. Pemigatinib for previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2020;21(5):671-684. doi:10.1016/S1470-2045(20)30109-1.
21. Javle M, Roychowdhury S, Kelley RK, et al. Infigratinib (BGJ398) in previously treated patients with advanced or metastatic cholangiocarcinoma with FGFR2 fusions or rearrangements: mature results from a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021;6(10):803-815. doi:10.1016/S2468-1253(21)00196-5.
22. Goyal L, Shi L, Liu LY, et al. TAS-120 Overcomes Resistance to ATP-Competitive FGFR Inhibitors in Patients with FGFR2 Fusion-Positive Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Cancer Discov.* 2019;9(8):1064–1079. doi:10.1158/2159-8290.CD-19-0182.
23. Cleary JM, Raghavan S, Wu Q et al. FGFR2 Extracellular Domain In-Frame Deletions Are Therapeutically Targetable Genomic Alterations That Function as Oncogenic Drivers in Cholangiocarcinoma. *Cancer Discov.* 2021;11(10):2488–2505. doi:10.1158/2159-8290.CD-20-1669.
24. Rengan AK, Denlinger CS. Robust Response to Fufitinib in a Patient With Metastatic FGFR-Addicted Cholangiocarcinoma Previously Treated Using Pemigatinib. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022;1-6. doi:10.6004/jnccn.2021.7121.
25. Arai Y, Totoki Y, Hosoda F, et al. Fibroblast growth factor receptor 2 tyrosine kinase fusions define a unique molecular subtype of cholangiocarcinoma. *Hepatology.* 2014;59(4):1427–1434. doi:10.1002/hep.26890.
26. Jusakul A, Cutcutache I, Yong CH, et al. Whole-Genome and Epigenomic Landscapes of Etiologically Distinct Subtypes of Cholangiocarcinoma. *Cancer Discov.* 2017;7(10):1116–1135. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-0368.
27. Kongpetch S, Jusakul A, Lim JQ, et al. Lack of Targetable FGFR2 Fusions in Endemic Fluke-Associated Cholangiocarcinoma. *JCO Glob Oncol.* 2020;6:628-638. doi:10.1200/GO.20.00030.
28. Zhu Z, Dong H, Wu J et al. Targeted genomic profiling revealed a unique clinical phenotype in intrahepatic cholangiocarcinoma with fibroblast growth factor receptor rearrangement. *Transl Oncol.* 2021;14(10):101168. doi:10.1016/j.tranon.2021.101168.
29. Takeda M, Takahama T, Sakai K et al. Clinical Application of the FoundationOne CDx Assay to Therapeutic Decision-Making for Patients with Advanced Solid Tumors. *Oncologist.* 2021;26(4):e588–e596. doi:10.1002/onco.13639.
30. Javle MM, Murugesan K, Shroff RT, et al. Profiling of 3,634 cholangiocarcinomas (CCA) to identify genomic alterations (GA), tumor mutational burden (TMB), and genomic loss of heterozygosity (gLOH). *Journal of Clinical Oncology.* 2019;37(15_suppl):4087.

31. Bruno R, Fontanini G. Next Generation Sequencing for Gene Fusion Analysis in Lung Cancer: A Literature Review. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(8):521. doi:10.3390/diagnostics10080521.
32. Heydt C, Wölwer CB, Velazquez Camacho O, et al. Detection of gene fusions using targeted next-generation sequencing: a comparative evaluation. *BMC Med Genomics*. 2021;14(1):62. doi:10.1186/s12920-021-00909-y.
33. Zingg D, Bhin J, Yemelyanenko J, et al. Truncated FGFR2 is a clinically actionable oncogene in multiple cancers. *Nature*. 2022;608(7923):609-617. doi:10.1038/s41586-022-05066-5.
34. Bitzer M, Spahn S, Babaei S, et al. Targeting extracellular and juxtamembrane FGFR2 mutations in chemotherapy-refractory cholangiocarcinoma. *NPJ Precis Oncol*. 2021;5(1):80. doi:10.1038/s41698-021-00220-0.
35. Goyal L, Saha SK, Liu LY, et al. Polyclonal Secondary FGFR2 Mutations Drive Acquired Resistance to FGFR Inhibition in Patients with FGFR2 Fusion-Positive Cholangiocarcinoma. *Cancer Discov*. 2017;7(3):252–263. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-1000.
36. Weiss J, Sos ML, Seidel D, et al. Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. *Sci Transl Med*. 2010;2(62):62ra93. doi:10.1126/scitranslmed.3001451.
37. Bogatyrova O, Mattsson JSM, Ross EM, et al. FGFR1 overexpression in non-small cell lung cancer is mediated by genetic and epigenetic mechanisms and is a determinant of FGFR1 inhibitor response. *Eur J Cancer*. 2021;151:136–149. doi:10.1016/j.ejca.2021.04.005.
38. Zhou Z, Liu Z, Ou Q, et al. Targeting FGFR in non-small cell lung cancer: implications from the landscape of clinically actionable aberrations of FGFR kinases. *Cancer Biol Med*. 2021;18(2):490–501. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0120.
39. Wang R, Wang L, Li Y, et al. FGFR1/3 tyrosine kinase fusions define a unique molecular subtype of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2014;20(15):4107-4114. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-0284.
40. Moes-Sosnowska J, Skupinska M, Lechowicz U, et al. FGFR1-4 RNA-Based Gene Alteration and Expression Analysis in Squamous Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(18):10506. doi:10.3390/ijms231810506.
41. Capelletti M, Dodge ME, Ercan D, et al. Identification of recurrent FGFR3-TACC3 fusion oncogenes from lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2014;20(24):6551-6558. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1337.
42. Raphael A, Dudnik E, Hershkovitz D, et al. FGFR fusions as an acquired resistance mechanism following treatment with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR TKIs) and a suggested novel target in advanced non-small cell lung cancer (aNSCLC). *J Clin Med*. 2022;11(9):2475. doi:10.3390/jcm11092475.
43. Nogova L, Sequist LV, Perez Garcia JM, et al. Evaluation of BGJ398, a fibroblast growth factor receptor 1-3 kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumors harboring genetic alterations in fibroblast growth factor receptors: results of a global phase I, dose-escalation and dose-expansion study. *J Clin Oncol*. 2017;35(2):157–165. doi:10.1200/JCO.2016.67.2048.
44. Aggarwal C, Redman MW, Lara PN Jr, et al. SWOG S1400D (NCT02965378), a phase II study of the fibroblast growth factor receptor inhibitor AZD4547 in previously treated patients with fibroblast growth factor pathway-activated stage IV squamous cell lung cancer (Lung-MAP Substudy). *J Thorac Oncol*. 2019;14(10):1847–1852. doi:10.1016/j.jtho.2019.05.041.
45. Schuler M, Cho BC, Sayehli CM, et al. Rogaratinib in patients with advanced cancers selected by FGFR mRNA expression: a phase 1 dose-escalation and dose-expansion study. *Lancet Oncol*. 2019;20(10):1454–1466. doi:10.1016/S1470-2045(19)30412-7.
46. Kotani H, Ebi H, Kitai H, et al. Co-active receptor tyrosine kinases mitigate the effect of FGFR inhibitors in FGFR1-amplified lung cancers with low FGFR1 protein expression. *Oncogene*. 2016;35(27):3587–3597. doi:10.1038/onc.2015.426.
47. Erber R, Rbner M, Davenport S, et al. Impact of fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) amplification on the prognosis of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2020;184(2):311–324. doi:10.1007/s10549-020-05865-2.
48. Mouron S, Manso L, Caleiras E, et al. FGFR1 amplification or overexpression and hormonal resistance in luminal breast cancer: rationale for a triple blockade of ER, CDK4/6, and FGFR1. *Breast Cancer Res*. 2021;23(1):21. doi:10.1186/s13058-021-01398-8.
49. Shi YJ, Tsang JY, Ni YB, et al. FGFR1 is an adverse outcome indicator for luminal A breast cancers. *Oncotarget*. 2016;7(4):5063-5073. doi:10.18632/oncotarget.6563.
50. Aleksakhina SN, Kramchaninov MM, Mikushina AD, et al. CCND1 and FGFR1 gene amplifications are associated with reduced benefit from aromatase inhibitors in metastatic breast cancer. *Clin Transl Oncol*. 2021;23(4):874-881. doi:10.1007/s12094-020-02481-w.
51. Formisano L, Lu Y, Servetto A, et al. Aberrant FGFR signaling mediates resistance to CDK4/6 inhibitors in ER+ breast cancer. *Nat Commun*. 2019;10(1):1373. doi:10.1038/s41467-019-09068-2.
52. Mao P, Cohen O, Kowalski KJ, et al. Acquired FGFR and FGF Alterations Confer Resistance to Estrogen Receptor (ER) Targeted Therapy in ER+ Metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(22):5974-5989. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3958.
53. Coombes RC, Badman PD, Lozano-Kuehne JP, et al. Results of the phase IIa RADICAL trial of the FGFR inhibitor AZD4547 in endocrine resistant breast cancer. *Nat Commun*. 2022;13(1):3246. doi:10.1038/s41467-022-30666-0.
54. Ooki A, Yamaguchi K. The beginning of the era of precision medicine for gastric cancer with fibroblast growth factor receptor 2 aberration. *Gastric Cancer*. 2021;24(6):1169–1183. doi:10.1007/s10120-021-01235-z.
55. Pearson A, Smyth E, Babina IS, et al. High-level clonal FGFR amplification and response to FGFR inhibition in a translational clinical trial. *Cancer Discov*. 2016;6(8):838-851. doi:10.1158/2159-8290.CD-15-1246.
56. Wainberg ZA, Enzinger PC, Kang YK, et al. Bemarituzumab in patients with FGFR2b-selected gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma (FIGHT): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2022;23(11):1430–1440. doi:10.1016/S1470-2045(22)00603-9.
57. Lassman AB, Sepúlveda-Sánchez JM, Cloughesy TF, et al. Infigratinib in patients with recurrent gliomas and FGFR alterations: a multicenter phase II study. *Clin Cancer Res*. 2022;28(11):2270–2277. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-2664.

58. Meric-Bernstam F, Bahleda R, Hierro C, et al. Futibatinib, an Irreversible FGFR1-4 Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Tumors Harboring FGF/FGFR Aberrations: A Phase I Dose-Expansion Study. *Cancer Discov.* 2022;12(2):402-415. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0697.
59. Subbiah V, Iannotti NO, Gutierrez M, et al. FIGHT-101, a first-in-human study of potent and selective FGFR 1-3 inhibitor pemigatinib in pan-cancer patients with FGF/FGFR alterations and advanced malignancies. *Ann Oncol.* 2022;33(5):522-533. doi:10.1016/j.annonc.2022.02.001.
60. Patani H, Bunney TD, Thiagarajan N, et al. Landscape of activating cancer mutations in FGFR kinases and their differential responses to inhibitors in clinical use. *Oncotarget.* 2016;7(17):24252–24268. doi:10.18632/oncotarget.8132.
61. Nakamura IT, Kohsaka S, Ikegami M, et al. Comprehensive functional evaluation of variants of fibroblast growth factor receptor genes in cancer. *NPJ Precis Oncol.* 2021;5(1):66. doi:10.1038/s41698-021-00204-0.

Поступила в редакцию 08.12.2022
 Прошла рецензирование 27.01.2023
 Принята в печать 16.02.2023

N.V. Mitiushkina¹, E.N. Imyanitev^{1,2}

Molecular diagnostics of aberrations in the *FGFR* family genes

¹N.N. Petrov National Medical Research Center
of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation
²Saint Petersburg State Pediatric Medical University,
Saint Petersburg, the Russian Federation

Somatic activating mutations in *FGFR1-4* genes are detected in 5–10 % of all human tumors. Newly developed selective FGFR inhibitors allow to improve the treatment results for locally advanced and metastatic urothelial cancer and cholangiocarcinoma with specific aberrations in the *FGFR2* and *FGFR3* genes. Clinical trials are investigating the possibility of using FGFR inhibitors for other types of neoplasms as well.

Selection of patients for targeted therapy with FGFR inhibitors normally requires molecular genetic analysis of tumor tissue. Within this review, we discuss various aspects of molecular diagnostics of *FGFR* genes abnormalities in metastatic urothelial cancer, cholangiocarcinoma and other tumors.

Keywords: review; molecular diagnostics; fibroblast growth factor receptor; targeted therapy; FGFR inhibitor

For citation: Mitiushkina NV, Imyanitev EN. Molecular diagnostics of aberrations in the *FGFR* family genes. *Voprosy Onkologii.* 2023;69(3):364–372. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-3-364-372

Сведения об авторах:

Митюшкина Наталья Владимировна, канд. биол. наук, науч. сотр. научной лаборатории молекулярной онкологии, отдел биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, 197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0179-3191>, nmmail@inbox.ru.

Имянитов Евгений Наумович, д-р мед. наук, чл.-корр. РАН, заведующий отделом биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, 197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>, evgeny@imyanitov.spb.ru.

Mitiushkina Natalia Vladimirovna, PhD (Bio.), Researcher at the Research Molecular Oncology Laboratory, Research Division of Tumor Growth Biology, NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia, 68 Leningradskaya St., Pesochny, St. Petersburg, Russia 197758, email: nmmail@inbox.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0179-3191>.

Imyanitov Evgeny Naumovich, DSc (Med.), Corr. Member of the RAS, Chief of the Research Division of Tumor Growth Biology, NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia, 68 Leningradskaya St., Pesochny, St. Petersburg, Russia 197758, email: evgeny@imyanitov.spb.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>.