

Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика молекулярных подтипов уротелиальных карцином

© Ю.И. ОСМАНОВ^{1,2}, Ж.А. ГАИБОВ², Е.А. КОГАН¹, С.Г. РАДЕНСКА-ЛОПОВОК¹, Х.З. ТУРСУНОВ³

¹Кафедра патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России, Москва, Россия;

²Отделение патологической анатомии Научного клинического центра ОАО РЖД, Москва, Россия;

³Кафедра патологической анатомии Ташкентской медицинской академии, Ташкент, Республика Узбекистан

РЕЗЮМЕ

Молекулярные подтипы уротелиальной карциномы в каждой классификационной схеме имеют характерные иммуногистохимические особенности. Вместе с тем результаты проведенных исследований нередко демонстрируют несоответствие геномного профиля уротелиальной карциномы ее иммунофенотипу, что усложняет иммуногистохимическую верификацию молекулярных подтипов этих опухолей.

Цель исследования — сравнительная морфологическая и иммунофенотипическая характеристика молекулярных подтипов уротелиальной карциномы.

Материал и методы. Исследование выполнено на операционном материале 196 пациентов с уротелиальной карциномой почечной лоханки и мочевого пузыря. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах по стандартному протоколу. Использовали антитела: CK5/6, CK17, Rb1 («Dako»), CK14, CK18, CK20, CyclinD1, CyclinE1, CyclinA, CyclinB, Chromogranin, E-Cadherin, P-Cadherin, p16, UroplakinII, TUBB2B, Vimentin, ZEB-2 («Novocastra»), CD44, GATA-3, UroplakinIII («CellMarque»).

Результаты. Из 68 (35%) поверхностных папиллярных уротелиальных карцином 24 (12%) опухоли составили I молекулярный класс, а 12 (6%) и 32 (16%) случая — II и III молекулярные классы соответственно. Из 128 (65%) мышечно-инвазивных уротелиальных карцином 57 (29%) опухолей вошли в состав люминально-папиллярного молекулярного подтипа, а 24 (12%) и 14 (7%) — люминально-инфильтративного и люминального молекулярного подтипов соответственно. В 31 (16%) новообразовании верифицирован базально-плоскоклеточный молекулярный подтип, а в 2 (1%) случаях выявлен нейрональный фенотип.

Выводы. Большинство опухолей в стадии pT₁ соответствует II молекулярному классу. В группе мышечно-инвазивных уротелиальных карцином новообразования с люминальным фенотипом преобладают над опухолями базального и нейронального фенотипов.

Ключевые слова: уротелиальная карцинома, почечная лоханка, мочевого пузыря, иммунопрофиль, молекулярная классификация.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Османов Ю.И. — <https://orcid.org/0000-0002-7269-4190>;

Гаибов Ж.А. — <https://orcid.org/0000-0002-1174-9098>;

Коган Е.А. — <https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>;

Раденска-Лоповок С.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-4669-260X>;

Турсунов Х.З. — <https://orcid.org/0000-0002-7504-3932>

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Османов Ю.И., Гаибов Ж.А., Коган Е.А., Раденска-Лоповок С.Г., Турсунов Х.З. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика молекулярных подтипов уротелиальных карцином. *Архив патологии*. 2019;81(5):35-44. <https://doi.org/10.17116/patol20198105135>

Morphological and immunohistochemical characteristics of the molecular subtypes of urothelial carcinomas

© Yu.I. OSMANOV^{1,2}, Zh.A. GAIBOV², E.A. KOGAN¹, S.G. RADENSKA-LOPOVOK¹, Kh.Z. TURSUNOV³

¹Acad. A.I. Strukov Department of Anatomic Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

²Department of Anatomic Pathology, Research Clinical Center of the OAO RhD, Moscow, Russia;

³Department of Anatomic Pathology, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

ABSTRACT

The molecular subtypes of urothelial carcinoma in each classification scheme have characteristic immunohistochemical features. At the same time, the results of conducted studies often demonstrate a discrepancy between the genomic profile of urothelial carcinoma and its immunophenotype, which complicates the immunohistochemical verification of the molecular subtypes of these tumors.

Objective — to compare the morphological and immunophenotypic characteristics of the molecular subtypes of urothelial carcinoma.

Material and methods. Surgical specimens from 196 patients diagnosed with urothelial carcinoma of the renal pelvis and bladder were investigated. Paraffin-embedded sections were immunohistochemically examined using the standard protocol. Antibodies against

CK5/6, CK17, Rb1 (Dako), CK14, CK18, CK20, Cyclin D1, Cyclin E1, Cyclin A, Cyclin B, Chromogranin, E-Cadherin, P-Cadherin, p16, Uroplakin II, TUBB2B, Vimentin, ZEB-2 («Novocastra»), CD44, GATA-3, and Uroplakin III («Cell Marque») were used.

Results. Out of 68 (35%) superficial papillary urothelial carcinomas, 24 (12%) tumors constituted Molecular Class I and 12 (6%) and 32 (16%) ones did Molecular Classes II and III, respectively. Of the 128 (65%) muscle-invasive urothelial carcinomas, 57 (29%) tumors were referred to as the luminal-papillary molecular subtype, and 24 (12%) and 14 (7%) were as the luminal-infiltrated and luminal molecular subtypes, respectively. The basal squamous molecular subtype was verified in 31 (16%) neoplasms and the neuronal phenotype was detected in 2 (1%) cases.

Conclusion. Most pT₁ tissues correspond to Molecular Class II. In the muscle-invasive urothelial carcinoma group, the neoplasms with a luminal phenotype predominate over the tumors with basal and neuronal phenotypes.

Keywords: urothelial carcinoma, renal pelvis, bladder, immunoprofile, molecular classification.

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Osmanov Yu.I. — <https://orcid.org/0000-0002-7269-4190>;

Gaibov Zh.A. — <https://orcid.org/0000-0002-1174-9098>;

Kogan E.A. — <https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>;

Radenska-Lopovok S.G. — <https://orcid.org/0000-0002-4669-260X>;

Tursunov Kh.Z. — <https://orcid.org/0000-0002-7504-3932>

TO CITE THIS ARTICLE:

Osmanov YuI, Gaibov ZhA, Kogan EA, Radenska-Lopovok SG, Tursunov KhZ. Morphological and immunohistochemical characteristics of the molecular subtypes of urothelial carcinomas. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2019;81(5):35-44. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20198105135>

Молекулярно-генетические исследования в диагностике уротелиальной карциномы (УК) органов мочевыделительной системы (МВС) свидетельствуют о том, что эти опухоли объединяют множество молекулярно-гетерогенных вариантов с различными лечебными эффектами и прогностическими результатами. Так, впервые D. Lindgren и соавт. (2012) установили, что мышечно-инвазивная УК (МИУК) с фенотипом плоскоклеточного рака клинически имеет более агрессивное течение. В своих исследованиях D. Lindgren и соавт. (2012) и W. Choi и соавт. (2014) верифицировали эту опухоль как УК базального фенотипа, которая характеризовалась p63-активизацией, экспрессией CK5/6, EGFR и CD44, агрессивным клиническим течением, но являлась чувствительной к неoadъювантной химиотерапии (НХТ). Другую группу УК с мутацией FGFR3 идентифицировали как люминальный фенотип. Наряду с этим был установлен p53-подобный фенотип, устойчивый к НХТ [1, 2].

В последнее время имеется множество данных по поиску и анализу молекулярно-генетических маркеров УК МВС. В первую очередь это связано с быстрым развитием методов, позволяющих обнаружить функциональные и структурные генетические изменения в УК. К наиболее современным методам в диагностике УК относят выявление дифференциально-экспрессирующихся м-РНК. Установлено, что м-РНК участвуют в канцерогенезе в качестве онкогенных или онкосупрессивных молекул и их экспрессия служит важным показателем для определения заболевания, а также для его прогнозирования. В настоящее время известны наборы, выявляющие дифференциально значимую для молекулярной диагностики различных гистологических вариантов УК экспрессию м-РНК [3, 4]. В связи с этим на сегодняшний день существует 4 основные классификации, определяющие молекулярные типы непрогрессирующих и прогрессирующих УК МВС:

1) классификация Университета Северной Каролины, США (UNC) — МИУК люминального и базального подтипов;

2) классификация Онкологического центра им. М.Д. Андерсона, США (MDA) — МИУК люминального, TP53-подобного и базального подтипов;

3) классификация Лундского университета, Швеция (Lund) — мышечно-неинвазивные (МНУК) и МИУК уро-базального А/В, геномно-нестабильного, эпителиально-инфильтративного, мезенхимально-инфильтративного, плоскоклеточного и мелкоклеточного/нейроэндокринного подтипов;

4) классификация Атласа ракового генома, США (TCGA) — МИУК I, II, III и IV кластеры [5–7].

Следует отметить, что молекулярные подтипы УК в каждой классификационной схеме имеют характерные иммуногистохимические (ИГХ) особенности. Вместе с тем результаты проведенных исследований нередко демонстрируют несоответствие геномного профиля УК ее иммунофенотипу, что усложняет ИГХ-верификацию молекулярных подтипов [8, 9]. Вследствие этого в 2017 г. группа ученых TCGA на основании исследования всего генома и молекулярного профилирования разработали и опубликовали альтернативную консенсусную классификацию УК МВС с наиболее широким ИГХ-профилем для каждого молекулярного подтипа. В последней классификации TCGA поверхностные УК подразделены на три различные геномные группы (I, II и III классы), а МИУК — на люминально-папиллярный (ЛП), люминально-инфильтративный (ЛИ), люминальный (ЛМ), базально-плоскоклеточный (БП) и нейрональный (НР) подтипы с индивидуальной тактикой лечения (рис. 1) [10, 11].

Цель исследования — сравнительная морфологическая и иммунофенотипическая характеристика молекулярных подтипов УК МВС.

Материал и методы

Клинические данные. Объектом исследования послужили архивные биологические и текущие биопсийные материалы от 196 больных (127 мужчин и 69 женщин) в возрасте от 33 до 89 лет (средний возраст 66,2 года), проходивших хирургиче-

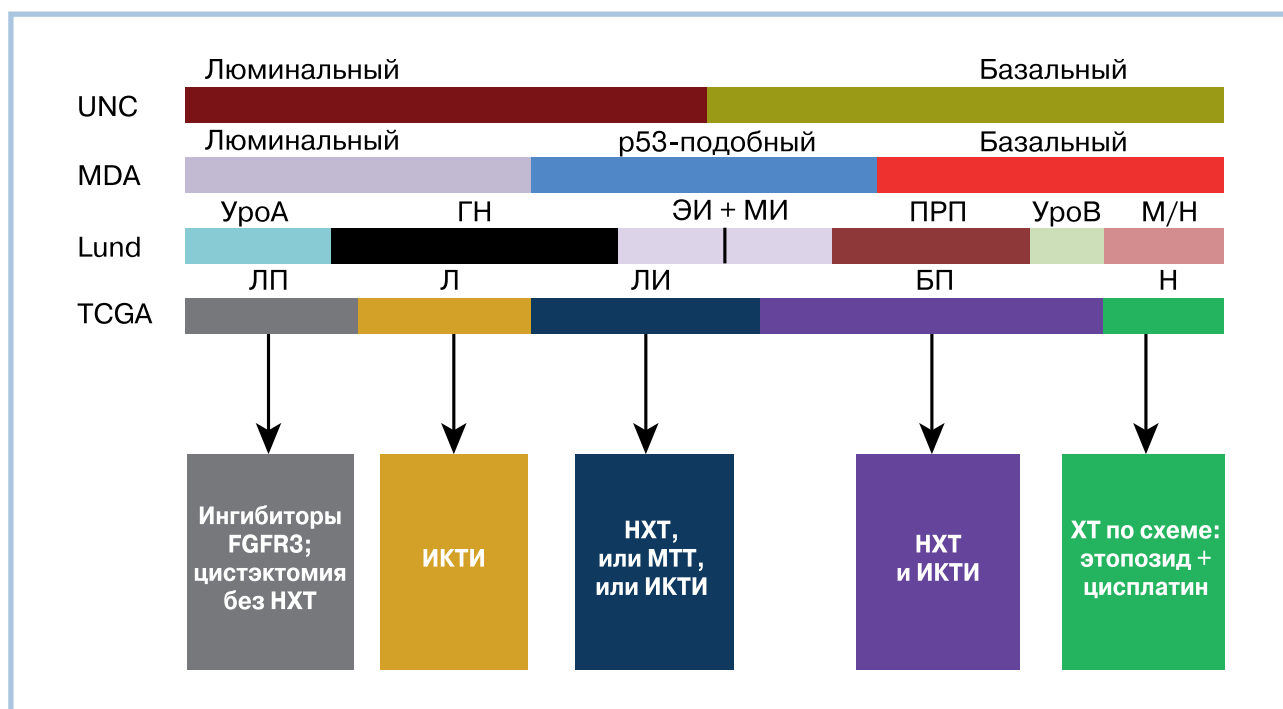


Рис. 1. Схема пропорционального распределения и перекрытия молекулярных подтипов УК в классификационных системах.

Стрелки — методы лечения для каждого молекулярного подтипа МИУК по классификации TCGA [12, 22]. УроА — уробазальный А; ГН — геномно-нестабильный; ЭИ — эпителиально-инфильтративный; МИ — мезенхимально-инфильтративный; ПРП — плоско-клеточный рак-подобный; УроВ — уробазальный В; М/Н — мелкоклеточный/нейроэндокринный; ЛП — люминально-папиллярный; ЛМ — люминальный; ЛИ — люминально-инфильтративный; БП — базально-плоскоклеточный; НР — нейрональный; НХТ — неоадьювантная химиотерапия; ИКТИ — ингибиторы контрольных точек иммунного ответа; МТТ — молекулярная таргетная терапия.

Fig. 1. Scheme for the proportional distribution and overlapping of the molecular subtypes of UC in the classification systems. Arrows: treatment methods for each molecular subtype of MIUC according to the TCGA classification [12, 22].

ское лечение в Урологической клинике ПМГМУ им. И.М. Сеченова и Урологическом центре научного клинического центра (НКЦ) ОАО РЖД по поводу уротелиального рака почечной лоханки и мочевого пузыря в период с 2010 по 2017 г.

Гистологическое исследование. Все новообразования распределялись по соответствующим группам на основании последней гистологической классификации опухолей мочевыделительной системы с изменениями (ВОЗ, 2016). Уровень инвазии (pT_{a-4}) определяли согласно протоколу 7-го издания TNM-классификации опухолей мочевыделительной системы [12–15].

ИГХ-исследование. Серийные срезы толщиной 5 мкм депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Для «демаскировки» антигенов срезы подвергали высокотемпературной обработке в цитратном буфере и инкубировали 5 мин с 3% H₂O₂ (для каждого антигена в соответствии с рекомендуемым протоколом). Список использованных антител приводится в **табл. 1**. Для оценки количества экспрессирующих при ИГХ-реакции клеток подсчитывали число антиген-положительных клеток в 10 полях зрения микроскопа (×400), затем определяли уровень экспрессии маркера по формуле: степень экспрессии маркера = число антиген-положительных клеток (в 10 полях зрения микроскопа) · 100/1000 опухолевых клеток. ИГХ-реакцию оценивали как негативную — 0 (менее 0,1% окрашенных клеток), слабоположительную — 1 (10% и менее окрашенных клеток), умеренно-положительную — 2 (11–49% окрашенных клеток), сильноположительную — 3 (50–

89% окрашенных клеток) и выраженно-положительную — 4 (90% и более окрашенных клеток) по J. Rajcani и соавт. [16].

Результаты

Поверхностные папиллярные УК (ППУК) выявлены в 65 (35%) случаях (42 мужчины и 23 женщины). Преобладали неинвазивные папиллярные уротелиальные карциномы (НПУК, n=49). Из них в 37 (19%) наблюдениях опухолевые клетки имели низкую степень анаплазии, а в 12 (6%) случаях неинвазивный рак соответствовал высокой степени анаплазии. У остальных 19 (10%) пациентов обнаружена УК в стадии pT₁. Из них в 14 случаях морфология опухоли соответствовала классической инвазивной УК, а в 3 случаях отмечался инвертированный характер роста. По 1 случаю в опухолевой ткани визуализировались очаги парадоксальной дифференцировки и тубулярные структуры.

При ИГХ-исследовании в 36 наблюдениях выявлена сильноположительная коэкспрессия маркерных антигенов люминального фенотипа (СК18, СК20 и уроплакин III). Из них в 24 случаях обнаружена сильноположительная экспрессия циклинов ранней фазы (G1) клеточного цикла (циклины D1 и E1). По иммунофенотипическим показателям, согласно классификации TCGA (2017 г.), все 24 опухоли были включены в I молекулярный класс. В остальных 12 наблюдениях выявлена сильноположительная коэкспрессия на циклины поздних фаз (S и M) клеточного цикла — циклины A и B. Кроме того, эти опухоли в умеренно-положительном диапа-

Таблица 1. Панель использованных в исследовании антител

Антитела	Клон	Производитель	Разведение	Источник
CK5/6	D5/16 B4	Dako	RTU	Мыши
CK14	LL002	Novocastra	1:40	”
CK17	Ks 17.E3	Dako	RTU	”
CK18	DC10	Novocastra	RTU	”
CK20	Ks20.8	Novocastra	RTU	”
CD44	MRQ-13	Cell Marque	RTU	”
GATA3	L50-823	Cell Marque	RTU	”
FOXA1	3A8	Novocastra	1:100	”
Uroplakin II	BC21	Novocastra	RTU	”
Uroplakin III	AU-1	Cell Marque	RTU	”
SNX31	PA5-55037	Novocastra	1:100	Кролики
Cyclin D1	P2D11F11	Novocastra	1:50	Мыши
Cyclin E1	HE12	Novocastra	1:50	”
Cyclin A	6E6	Novocastra	1:200	”
Cyclin B	D-1	Novocastra	1:50	”
p16	G175-405	Novocastra	RTU	”
Rb1	1F8	Dako	RTU	”
E-Cadherin	36B5	Novocastra	RTU	”
P-Cadherin	56C1	Novocastra	RTU	”
Vimentin	V9	Novocastra	RTU	”
ZEB2	E-11	Novocastra	RTU	”
TUBB2B	7B9	Novocastra	RTU	”
CHG	5H7	Novocastra	RTU	”

зоне реагировали на ИГХ-маркеры эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП): виментин, ZEB-2 и соответствовали II молекулярному классу.

В III молекулярный класс вошло 32 случая с сильно-позитивной коэкспрессией специфических антител базальных клеток: CK5/6, CK14, CD44 (табл. 2, рис. 2) [17–19].

Таким образом, из 24 ППУК, составляющих I молекулярный класс, 22 (92%) опухоли соответствовали стадии pTa. Из них в 16 (67%) случаях опухолевая ткань состояла из клеток низкой степени анаплазии, а в 6 (25%) наблюдениях в клетках визуализировались признаки высокой степени анаплазии.

Из 12 ППУК, вошедших во II молекулярный класс, морфология 11 (92%) новообразований соответствовала МНУК (pT1). Из них в 9 (76%) наблюдениях верифицирована МНУК классического строения и по 1 (8%) случаю МНУК с парадоксальной дифференциацией и инвертированным характером роста соответственно. Только в 1 (8%) случае обнаружена НПУК (pTa).

Из 32 ППУК, составляющих III молекулярный класс, 26 (81%) опухолей соответствовали стадии pTa. Из них 21 (66%) и 5 (16%) новообразований имели гистологическую структуру НПУК НС и ВС соответственно. Из 6 (19%) МНУК (pT₁) в 4 наблюдениях выявлена МНУК классического строения, а в 2 — МНУК с инвертированным характером роста (табл. 3).

Наряду с этим в отличие от предыдущих молекулярных классов в III классе преобладали пациенты женского пола (n=18; 56%). Соотношение общего числа мужчин и женщин в группе МНУК составило 1,83.

МИУК выявлены в 131 (65%) случае (85 мужчин и 46 женщин). Из них 64 новообразования соответствовали стадии pT₂. МИУК классического строения выявлена в 35 (27%) случаях. В 5 МИУК выявлены морфологические признаки плоскоклеточной, а в 2 — железистой метаплазии. Микро-

папиллярный, микролюминальный и светлоклеточный варианты МИУК обнаружены в 12 случаях (по 4 соответственно). По 2 случая имели место при МИУК с парадоксальной, плазмодитоидной и перстневидно-клеточной дифференцировкой, а также МИУК с тубулярным компонентом соответственно. В 1 наблюдении МИУК имела инвертированный характер роста, а 3 случаях — псевдосаркоматозную строму.

Глубина инвазии в 54 опухолях соответствовала стадии pT₃. Среди них также преобладали МИУК классического строения и с плоскоклеточной метаплазией (15 и 13 наблюдений соответственно). В 6 МИУК в экстрацеллюлярном матриксе визуализировались псевдосаркоматозные микроарелы. По 3 случая МИУК верифицированы лимфоэпителиомоподобного и липоидного вариантов, а также МИУК с плазмодитоидной и перстневидно-клеточной дифференцировкой соответственно. В 4 наблюдениях выявлена низкодифференцированная МИУК. В 2 случаях обнаружены светлоклеточная МИУК и МИУК с железистой метаплазией, по 1 случаю — микролюминальный и саркоматоидный варианты МИУК, а также МИУК с тубулярным компонентом соответственно.

У 3 из 10 пациентов с микропапиллярной МИУК выявлена стадия pT₄. По 1 случаю диагностированы лимфоэпителиомоподобная липоидная низкодифференцированная саркоматоидная МИУК, а также МИУК с плоскоклеточной метаплазией, псевдосаркоматозной стромой и канцеризацией собирательных канальцев.

При ИГХ-исследовании в 95 (74%) МИУК выявлена сильно- и выраженно-позитивная коэкспрессия маркерных антигенов люминального фенотипа: CK20, GATA-3 и FOXA-1. В 57 (44%) случаях микроскопически опухоль была представлена сосочковыми выростами с гнездовидным, псевдоальвеолярным, трабекулярным, солитарно-диффузным характером роста в зонах инвазии. В соответствии с классификацией ТС-

Таблица 2. Экспрессия исследуемых маркеров в поверхностной папиллярной УК

N	CK5/6	CK14	CK17	CD44	CK18	CK20	UPK3	ZEB2	Vim	Cyclin D1	Cyclin E1	Cyclin A	Cyclin B
37	0/0	0/3	0/2	0/0	0/0	0/9	0/0	0/36	0/37	0/7	0/9	0/19	0/17
	1/3	1/2	1/5	1/4	1/2	1/0	1/0	1/1	1/0	1/11	1/7	1/16	1/19
	2/6	2/10	2/11	2/12	2/19	2/17	2/0	2/0	2/0	2/3	2/5	2/2	2/1
	3/28	3/22	3/19	3/21	3/16	3/11	3/29	3/0	3/0	3/16	3/16	3/0	3/0
	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/8	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
Всего	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37
12	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/10	0/12	0/1	0/2	0/5	0/3
	1/2	1/0	1/0	1/2	1/1	1/0	1/0	1/2	1/0	1/4	1/2	1/6	1/8
	2/7	2/4	2/7	2/6	2/4	2/3	2/5	2/0	2/0	2/1	2/2	2/0	2/0
	3/3	3/8	3/5	3/4	3/7	3/7	3/7	3/0	3/0	3/6	3/6	3/1	3/1
	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
Всего	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
19	0/0	0/7	0/3	0/0	0/0	0/0	0/6	0/5	0/7	0/10	0/6	0/5	0/6
	1/8	1/1	1/2	1/5	1/5	1/2	1/0	1/8	1/12	1/6	1/8	1/2	1/2
	2/5	2/9	2/8	2/8	2/1	2/4	2/13	2/6	2/0	2/1	2/3	2/1	2/0
	3/6	3/0	3/5	3/4	3/13	3/13	3/0	3/0	3/0	3/2	3/2	3/11	3/11
	4/0	4/2	4/1	4/2	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
Всего	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19

Примечание. НС — низкая степень анаплазии; ВС — высокая степень анаплазии. В числителе — интенсивность экспрессии, в знаменателе — число случаев.

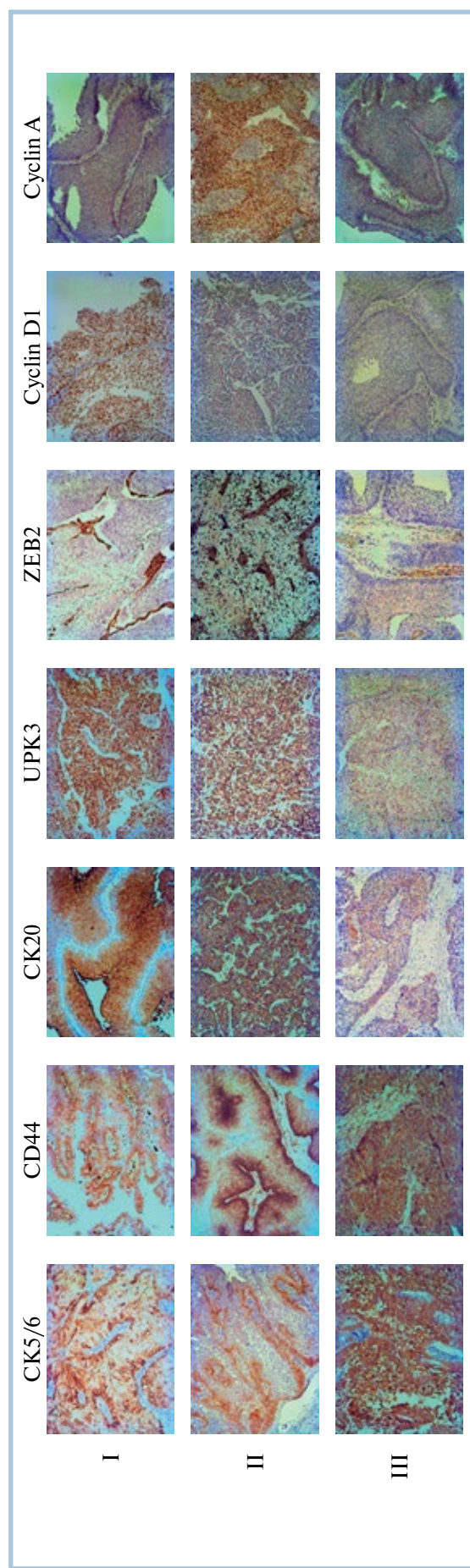


Рис. 2. Иммуногистохимическая характеристика I, II и III молекулярных классов по классификации TCGA.
Fig. 2. Immunohistochemical characteristics of molecular classes I, II, and III according to the TCGA classification.

Таблица 3. Распределение молекулярных классов поверхностной папиллярной УК по классификации TCGA в зависимости от гистологического строения и стадии опухоли

Переменная	I класс	II класс	III класс
Стадия:			
pT _a	22 (92%)	1 (8%)	26 (81%)
pT ₁	2 (8%)	11 (92%)	6 (19%)
Всего	24	12	32
Морфология:			
НПУК низкой степени анаплазии	16 (67%)		21 (66%)
НПУК высокой степени анаплазии	6 (25%)	1 (8%)	5 (16%)
МНУК классического строения	1 (4%)	9 (76%)	4 (12%)
МНУК с парадоксальной дифференцировкой		1 (8%)	
МНУК с инвертированным характером роста	1 (4%)		2 (6%)
Микролюминальная МНУК		1 (8%)	
Всего	24	12	32

GA (2017) все опухоли папиллярного строения с люминальным фенотипом вошли в ЛП-молекулярный подтип [20]. В опухолях с ЛП-фенотипом в сильноположительном диапазоне в 25 наблюдениях также выявлена экспрессия E-Cadherin, в 19 случаях — SNX31, в 12 новообразованиях — Cyclin D1, в 9 — Rb1, а в 4 — p16. Кроме того, в 16 случаях обнаружена выраженно-положительная экспрессия E-Cadherin. Полученные результаты демонстрируют, что для ЛП-опухолей наиболее характерна умеренно-положительная коэкспрессия Cyclin D1, уроплакина II, SNX31, p16, Rb1 и P-Cadherin.

По данным исследователей TCGA, опухоли с ЛИ-фенотипом отличаются интенсивной экспрессией белков ЭМП [21]. В нашем исследовании в 24 (19%) МИУК с люминальным иммунофенотипом выявлена положительная реакция на ZEB-2 и виментин. В 20 и 11 случаях обнаружена сильноположительная коэкспрессия ZEB-2 и виментина соответственно. В то же время экспрессия ZEB-2 и виментина в умеренно-положительном диапазоне наблюдалась в 4 и 2 новообразованиях соответственно. В 14 случаях с фенотипом ЛИ обнаружена сильноположительная экспрессия P-Cadherin.

Люминальные МИУК с преобладанием в опухолевой популяции кластеров с иммунофенотипом «зонтичных» клеток отнесены в ЛМ-молекулярный подтип. Опухоли ЛМ-подтипа характеризуются интенсивной экспрессией уроплакинов I и II, а также SNX31 [10]. В нашем исследовании ЛМ-подтип составили 14 (11%) новообразований. Во всех случаях выявлена сильноположительная коэкспрессия уроплакина II и SNX31. Экспрессия уроплакина III во всех опухолях наблюдалась в умеренно-положительном диапазоне. В 4 случаях обращала на себя внимание умеренно-положительная коэкспрессия E- и P-Cadherin.

В 31 (24%) новообразовании обнаружена выраженная коэкспрессия антител базального фенотипа: CK5/6, CK14 и CD44. Все эти случаи составили БП-молекулярный подтип [22]. Из остальных использованных в исследовании ИГХ-маркеров в сильноположительном диапазоне экспрессия P-Cadherin и GATA-3 выявлена в 25 и 6 случаях соот-

ветственно. В 6 наблюдениях визуализировалась выраженно-положительная реакция на P-Cadherin.

В 2 (2%) наблюдениях обнаружена сильноположительная экспрессия ИГХ-маркеров нейроэндокринной дифференцировки, а именно хромогранина и TUBB2B. Оба случая вошли в состав НР-молекулярной группы [23]. Эти опухоли также отличались сильноположительной экспрессией P-Cadherin. В обоих случаях из остальных использованных в исследовании ИГХ-маркеров выявлена лишь коэкспрессия CK5/6 и CD44 в умеренно-положительном диапазоне (табл. 4; рис. 3, 4).

Таким образом, из 57 МИУК, составляющих ЛП-молекулярный подтип, 44 (77%) опухоли соответствовали стадии pT_a, а 13 (23%) новообразований — стадии pT₃. Из них в 35 (60%) наблюдениях верифицирована МИУК классического строения, по 4 случая МИУК соответственно микролюминального, микропапиллярного и светлоклеточного вариантов. В 3 (5%) опухолях диагностирована МИУК с псевдосаркоматозной стромой и по 2 (4%) случая МИУК с парадоксальной дифференциацией, железистой метаплазией и тубулярным компонентом. В 1 (2%) наблюдении выявлена МИУК с инвертированным характером роста.

Из 24 МИУК с ЛИ-фенотипом в 16 (67%) случаях глубина инвазии опухоли соответствовала стадии pT₃. В 6 (25%) случаях обнаружена стадия pT₄, в 2 (8%) — pT₂. Из них в 8 (33%) наблюдениях верифицирована МИУК с псевдосаркоматозной стромой, по 4 случая лимфоэпителиомоподобного и липоидного вариантов МИУК. В 5 (21%) опухолях обнаружены морфологические признаки МИУК с плазмцитойдной и перстневидно-клеточной дифференциацией. В 3 (12%) случаях диагностирована микропапиллярная УК.

Из 14 МИУК, вошедших в ЛМ-молекулярный подтип, в 9 (64%) опухолях выявлена стадия pT2. В 5 (36%) МИУК глубина инвазии соответствовала стадии pT₃. Из них в 6 (43%) наблюдениях обнаружена МИУК с псевдосаркоматозной стромой. В 3 (21%) случаях опухоль имела гистологическое строение МИУК с парадоксальной дифференциацией, в 2 (14%) наблюдениях — МИУК с железистой метаплазией. В 1 (8%) МИУК визуализировались микролюминальные структуры.

Из 31 МИУК, составляющих БП-молекулярный подтип, 19 (61%) опухолей соответствовали стадии pT3. В 9 (29%) случаях обнаружена стадия pT₂, в 3 (10%) — pT₄. Из них в 19 (62%) наблюдениях верифицирована МИУК с плоскоклеточной метаплазией, в 4 (13%) опухолях — низкодифференцированная МИУК. В 3 (10%) новообразованиях диагностирована МИУК с псевдосаркоматозной стромой, в 2 (6%) — МИУК классического строения. Саркоматоидный вариант МИУК и МИУК с тубулярным компонентом, а также МИУК с канцеризацией собирательных канальцев выявлены по 1 (3%) случаю. Как и III молекулярный класс МНУК, БП-молекулярный подтип также преобладал у больных женского пола (n=22; 71%), соотношения общего числа мужчин и женщин в группе МИУК составило 1,85.

Из 2 МИУК, составляющих НР-молекулярный подтип, в 1 случае глубина инвазии соответствовала стадии pT₄, а в другом — pT₃. Из них 1 опухоль имела гистологическое строение саркоматоидного варианта МИУК, а другая на светооптическом уровне была представлена разрастаниями плеоморфных клеток с большим количеством митозов и верифицирована как низкодифференцированный вариант (табл. 5).

Заключение

Среди ППУК I и III молекулярные классы в основном составляют НПУК. Большинство опухолей в стадии pT₁

Таблица 4. Экспрессия исследуемых маркеров в молекулярных подтипах МИУК

N	Профиль	СК5/6	СК14	CD44	FOXA1	СК20	GATA-3	UPK2	UPK3	SNX31	Сыв. ДИ	p16	Rb1	E-Cad	P-Cad	Vim.	ZEB-2	TUB2B	CHG	
57	ЛП	0/22 1/16 2/19 3/0 4/0	0/57 1/0 2/0 3/0 4/0	0/26 1/15 2/16 3/0 4/0	0/0 1/0 2/18 3/39 4/0	0/0 1/0 2/40 3/17 4/0	0/0 1/0 2/0 3/31 4/26	0/0 1/0 2/57 3/0 4/0	0/0 1/48 2/9 3/0 4/0	0/0 1/2 2/36 3/19 4/0	0/0 1/0 2/45 3/12 4/0	0/2 1/7 2/44 3/4 4/0	0/0 1/5 2/43 3/9 4/0	0/4 1/5 2/7 3/25 4/16	0/0 1/19 2/38 3/0 4/0	0/28 1/29 2/0 3/0 4/0	0/21 1/36 2/0 3/0 4/0	0/57 1/0 2/0 3/0 4/0	0/57	
Всего	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	
24	ЛИ	0/3 1/11 2/10 3/0 4/0	0/24 1/0 2/0 3/0 4/0	0/5 1/11 2/8 3/0 4/0	0/0 1/0 2/7 3/17 4/0	0/0 1/11 2/0 3/11 4/0	0/0 1/0 2/0 3/0 4/24	0/0 1/5 2/19 3/0 4/0	0/0 1/10 2/0 3/0 4/0	0/0 1/22 2/2 3/0 4/0	0/0 1/8 2/0 3/0 4/0	0/16 1/6 2/0 3/0 4/0	0/18 1/4 2/0 3/0 4/0	0/20 1/4 2/0 3/0 4/0	0/0 1/24 2/0 3/0 4/0	0/0 1/11 2/2 3/11 4/0	0/0 1/0 2/4 3/20 4/0	0/0 1/0 2/0 3/0 4/0	0/24 1/0 2/0 3/0 4/0	0/24
Всего	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
14	ЛМ	0/3 1/7 2/4 3/0 4/0	0/14 1/0 2/0 3/0 4/0	0/7 1/3 2/4 3/0 4/0	0/0 1/0 2/2 3/12 4/0	0/0 1/8 2/1 3/5 4/0	0/0 1/0 2/0 3/0 4/14	0/0 1/0 2/0 3/14 4/0	0/0 1/0 2/14 3/0 4/0	0/0 1/0 2/0 3/14 4/0	0/0 1/3 2/0 3/0 4/0	0/11 1/3 2/0 3/0 4/0	0/0 1/9 2/5 3/0 4/0	0/12 1/2 2/0 3/0 4/0	0/0 1/5 2/9 3/0 4/0	0/2 1/8 2/4 3/0 4/0	0/12 1/2 2/0 3/0 4/0	0/12 1/2 2/0 3/0 4/0	0/14 1/0 2/0 3/0 4/0	0/14
Всего	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	
31	БП	0/0 1/0 2/5 3/26 4/0	0/4 1/3 2/13 4/0	0/0 1/0 2/1 3/19 4/11	0/19 1/12 2/0 3/0 4/0	0/21 1/10 2/0 3/0 4/0	0/5 1/20 2/0 3/6 4/0	0/31 1/0 2/0 3/0 4/0	0/31 1/0 2/0 3/0 4/0	0/31 1/0 2/0 3/0 4/0	0/28 1/3 2/0 3/0 4/0	0/24 1/7 2/0 3/0 4/0	0/28 1/3 2/0 3/0 4/0	0/28 1/3 2/0 3/0 4/0	0/13 1/18 2/0 3/0 4/0	0/0 1/0 2/0 3/25 4/6	0/8 1/19 2/0 3/0 4/4	0/10 1/14 2/3 3/0 4/4	0/31 1/0 2/0 3/0 4/0	0/31
Всего	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	
2	НР	0/0 1/0 2/2 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/0 1/0 2/2 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/1 1/1 2/0 3/0 4/0	0/0 1/2 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/2 1/0 2/0 3/0 4/0	0/1 1/1 2/0 3/0 4/0	0/0 1/1 2/0 3/2 4/0	0/0 1/1 2/0 3/0 4/1	0/0 1/0 2/0 3/0 4/0	0/0 1/0 2/1 3/0 4/0	0/0
Всего	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	

Примечание. В числителе — интенсивность экспрессии, в знаменателе — число случаев.

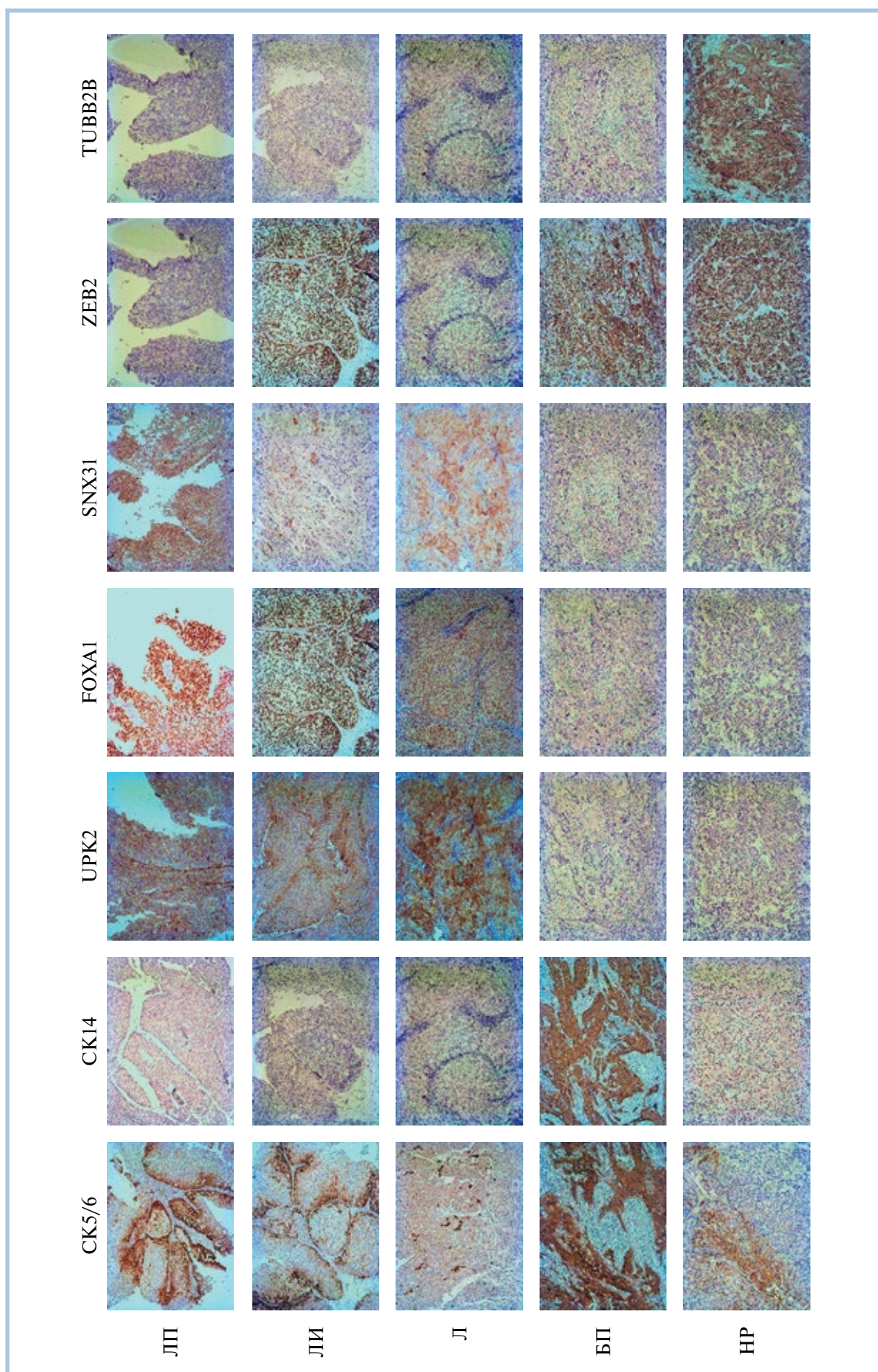


Рис. 3. Иммуногистохимическая характеристика молекулярных подтипов МИУК по классификации ТССА.
 Fig. 3. Immunohistochemical characteristics of molecular subtypes of MIUC according to the TSCA classification.



Рис. 4. Соотношение молекулярных подтипов МИУК по классификации TCGA.

Fig. 4. Ratio of molecular subtypes of MIUC according to the TCGA classification.

соответствуют II молекулярному классу. В группе МИУК новообразования с люминальным фенотипом преобладают над опухолями базального и нейронального феноти-

пов. В подавляющем большинстве случаев (74%) молекулярный профиль опухолей соответствовал люминальному фенотипу. ЛП-молекулярный подтип МИУК в преобладающем большинстве случаев характеризуется ограниченной инвазией в мышечный слой (стадия pT2 — 69% случаев). УК МВС с базальным фенотипом наиболее часто встречается у лиц женского пола. В нашем исследовании, несмотря на численное преобладание мужчин над женщинами (1,84 раза), в обеих группах среди опухолей базального фенотипа (III молекулярный класс и БП-молекулярный подтип соответственно) преобладали пациенты женского пола. Иммунопрофиль молекулярных подтипов МИУК имеет ряд особенностей. Выявлено, что для ЛП-молекулярного подтипа характерна выраженно-позитивная экспрессия E-Cadherin и умеренно-позитивная коэкспрессия циклина D1, уроплакина II, SNX31, p16, Rb1 и P-Cadherin, а для ЛП и БП — сильнопозитивная экспрессия P-Cadherin.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Ю.И.О.
Сбор и обработка материала — Ю.И.О., Ж.А.Г.
Написание текста — Ю.И.О.
Редактирование — Ю.И.О., Е.А.К., С.Г.Р.
Научное руководство — Е.А.К., Х.З.Т.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

Таблица 5. Распределение молекулярных подтипов МИУК по классификации TCGA в зависимости от гистологического строения и стадии опухоли

Переменная	ЛП	ЛИ	ЛМ	БП	НР
Стадия:					
pT ₂	44 (77%)	2 (8%)	9 (64%)	9 (29%)	
pT ₃	13 (23%)	16 (67%)	5 (36%)	19 (61%)	1 (50%)
pT ₄		6 (25%)		3 (10%)	1 (50%)
Всего	57	24	14	31	2
Морфология:					
УК классического строения	35 (60%)	8 (33%)	6 (43%)	2 (6%)	
УК с псевдосаркоматозной стромой	3 (5%)		3 (21%)	3 (10%)	
УК с парадоксальной дифференцировкой	2 (4%)				
УК с инвертированным характером роста	1 (2%)				
УК с канцеризацией собирательных канальцев				1 (3%)	
УК с плазмоцитойдной и перстневидно-клеточной дифференцировками		5 (21%)			
УК с плоскоклеточной метаплазией				19 (62%)	
УК с железистой метаплазией	2 (4%)		2 (14%)		
УК с тубулярным компонентом	2 (4%)			1 (3%)	
Лимфоэпителиомоподобная УК		4 (17%)			
Липоидная УК		4 (17%)			
Микропапиллярная УК	4 (7%)	3 (12%)			
Микролюминальная УК	4 (7%)		1 (8%)		
Низкодифференцированная УК				4 (13%)	1 (50%)
Саркоматоидная УК				1 (3%)	1 (50%)
Светлоклеточная УК	4 (7%)		2 (14%)		
Всего	57	24	14	31	2

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Lindgren D, Sjødahl G, Lauss M, Staaf J, Chebil G, Lovgren K, Gudjonsson S, Liedberg F, Patschan O, Månsson W, Fernö M, Höglund M. Integrated genomic and gene expression profiling identifies two major genomic circuits in urothelial carcinoma. *PLoS One*. 2012;7(6):e38863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038863>
2. Choi W, Porten S, Kim S, Willis D, Plimack ER, Hoffman-Censits J, Roth B, Cheng T, Tran M, Lee IL, 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. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.009>
3. Carrington JC, Ambros V. Role of microRNAs in plant and animal development. *Science*. 2003;301(5631):336-338. <https://doi.org/10.1126/science.1085242>
4. Dyrskjot L, Ostensfeld MS, Bramsen JB, Silahtaroglu AN, Lamy P, Ramanathan R, Fristrup N, Jensen JL, Andersen CL, Zieger K, et al. Genomic profiling of microRNAs in bladder cancer: miR-129 is associated with poor outcome and promotes cell death in vitro. *Cancer Res*. 2009;69(11):4851-4860. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4043>
5. Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD, Fan Ch, Tiganelli ChJ, Wobker SE, Yeh JJ, Milowsky MI, Iyer G, Parker JS, Kim WY. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(8):3110-3115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318376111>
6. Sjødahl G, Lauss M, Lövgren K, Chebil G, Gudjonsson S, Veerla S, Patschan O, Aine M, Fernö M, Ringnér M, et al. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3377-3386. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0077-T>
7. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*. 2014;507(7192):315-322. <https://doi.org/10.1038/nature12965>
8. Eriksson P, Aine M, Veerla S, Liedberg F, Sjødahl G, Höglund M. Molecular subtypes of urothelial carcinoma are defined by specific gene regulatory systems. *BMC Med Genomics*. 2015;8:25. <https://doi.org/10.1186/s12920-015-0101-5>
9. Sjødahl G, Eriksson P, Liedberg F, Höglund M. Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification. *J Pathol*. 2017;242(1):113-125. <https://doi.org/10.1002/path.4886>
10. Inamura K. Bladder cancer: new insights into its molecular pathology. *Cancers (Basel)*. 2018;10(4):100. <https://doi.org/10.3390/cancers10040100>
11. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, Bellmunt J, Guo G, Cherniack AD, Hinoue T, Laird PW, Hoadley KA, Akbani R, et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell*. 2017;171(3):540-56.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.007>
12. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs. 4th ed. *Eur Urol*. 2016;70(1):106-119. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.028>
13. Lopez-Beltran A, Cheng L. Histologic variants of urothelial carcinoma: differential diagnosis and clinical implications. *Hum Pathol*. 2006;37(11):1371-1388. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2006.05.009>
14. Amin MB, Grignon DJ, Srigley JR, Eble JN. *Urological pathology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2015:261-461.
15. Cheng L, Montironi R, Davidson DD, Lopez-Beltran A. Staging and reporting of urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Mod Pathol*. 2009;22(Suppl.2):70-95. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2009.1>
16. Rajcani J, Kajo K, Adamkov M, Moravekova E, Lauko L, Felcano-va D, Bencat M. Immunohistochemical characterization of urothelial carcinoma. *Bratisl Lek Listy*. 2013;114(8):431-438.
17. Sanli O, Dobruch J, Knowles MA, Burger M, Alemezaffar M, Nielsen ME, Lotan Y. Bladder cancer. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:17022. <https://doi.org/10.1038/nrdp.201722>
18. Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, Algaba F, Hoyer S, Ulhoi BP, Vang S, Reinert T, Hermann GG, Mogensen K, et al. Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma. *Cancer Cell*. 2016;30:27-42. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.05.004>
19. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, Dawson N, O'Donnell PH, Balmanoukian A, Loriot Y, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: A single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet*. 2016;387(10031):1909-1920. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00561-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00561-4)
20. Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, Robinson JT, Garraway LA, Golub TR, Meyerson M, Gabriel SB, Lander ES, Getz G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*. 2014;505(7484):495-501. <https://doi.org/10.1038/nature12912>
21. Aine M, Eriksson P, Liedberg F, Höglund M. On molecular classification of bladder cancer: out of one, many. *Eur Urol*. 2015;68(6):921-923. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.07.021>
22. Rebouissou S, Bernard-Pierrot I, de Reynie's A, Lepage M-L, Krucker C. EGFR as a potential therapeutic target for a subset of muscle-invasive bladder cancers presenting a basal-like phenotype. *Sci Transl Med*. 2014;6:244ra91. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008970>
23. Lerner SP, McConkey DJ, Hoadley KA, Chan KS, Kim W, Radvanyi F, Höglund M, Real FX. Bladder cancer molecular taxonomy: summary from a consensus meeting. *Bladder Cancer*. 2016;2(1):37-47. <https://doi.org/10.3233/BLC-150037>

Поступила 15.01.19

Received 15.01.19