JOURNAL
OF MALIGNANT
TUMOURS

Рецепторы фактора роста фибробластов при злокачественных опухолях

ФЕДЯНИН М. Ю., ХМЕЛЬКОВА Д. Н., СЕРЕБРИЙСКАЯ С., НИКОЛЬСКАЯ Т. А., ТЮЛЯНДИН С. А.

Одними из наиболее исследуемых в настоящее время в онкологии маркеров являются рецепторы к фактору роста фибробластов, а также лиганды к нему. В данном обзоре мы сконцентрируемся на молекулярных процессах, возникающих при активации рецепторов к фактору роста фибробластов. А также рассмотрим, с какой частотой встречаются нарушения экспрессии компонентов сигнального пути данного рецептора при различных онкологических заболеваниях.

Ключевые слова: солидные опухоли, рецептор к фактору роста фибробластов, предикторные и прогностические факторы

Контактная информация:
Федянин Михаил Юрьевич — к.м.н., врач-онколог отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина». Россия, г. Москва, Каширское шоссе 24, fedianinmu@mail.ru
Хмелькова Дарья Николаевна — н.с. лаборатории трансляционных исследований и персонализированной медицины Центра живых систем, МФТИ, Россия, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., darya.khmelkova@gmail.com
Серебрийская Татьяна Сауловна — к.б.н., с.н.с. лаборатории трансляционных исследований и персонализированной медицины Центра живых систем, МФТИ, Россия, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., ts.serebriyskaya@gmail.com
Никольская Татьяна Анатольевна — к.б.н., заведующая лабораторией трансляционных исследований и персонализированной медицины Центра живых систем, МФТИ, Россия, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер.
Тюляндин Сергей Алексеевич — д.м.н., профессор, заведующий отделением клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина». Россия, г. Москва, Каширское шоссе 24, stjulandin@mail.ru

Fibroblast growth factor receptor in cancer

Fedyanin M, Chmelkova D, Serebriyskaya T, Nikolskaya T, Tjulandin S.

Abstract: Fibroblast growth factors (FGFs) and their receptors (FGFRs) are involved in key cellular functions, from embryogenesis to angiogenesis. Because of the ability of FGFR signaling to induce cell proliferation, migration and survival in cancer, nowadays FGFR and their ligands are one of the most investigated markers in oncology. In this article, we review FGFR signaling and describe the alterations of this pathway in specific tumors types and show that these observations make FGFRs attractive as targets for specific therapy in cancer

Key words: solid tumors, fibroblast growth factor receptor, predictive and prognostic factors

Последнее десятилетие ознаменовалось развитием персонализированного подхода в лечении онкологических заболеваний.

Каждый год исследователи находят новые потенциальные биомаркеры, которые могут определять прогноз течения болезни или предсказывать эффективность назначения различных лекарственных препаратов, а в отдельных случаях могут служить мишенями для разработки новых лекарственных средств.

Одними из таких, наиболее исследуемых в настоящее время в онкологии маркеров яв-

ляются рецепторы к фактору роста фибробластов, а также лиганды к нему. В данном обзоре мы сконцентрируемся на молекулярных процессах, возникающих при активации рецепторов к фактору роста фибробластов. А также рассмотрим, с какой частотой встречаются нарушения экспрессии компонентов сигнального пути данного рецептора при различных онкологических заболеваниях.

Факторы роста фибробластов, их рецепторы и сигнальные пути

Семейство человеческого фактора роста фибробластов (fibroblast growth factor, FGF) включает 22 белковых молекулы. По принципу действия их можно разделить на следующие группы:

- Лиганды к рецепторам (Fibroblast growth factor receptors, FGFRs): FGF1–10, 16–23.
  - Лиганды, обладающие ауто- и/или паракринным действием: FGF1–10, 16–18, 20, 22.
  - Лиганды, функционирующие как гормоны: FGF19, 21, 23.
- Факторы, не способные связываться с рецепторами, также известные как FGF-гомологичные факторы: FGF11–14. Они действуют внутриклеточно. Предполагается, что белки этой группы участвуют в регуляции работы мембранных натриевых каналов [1–3].

Факторы роста фибробластов — многофункциональные белки, играющие важнейшую роль как в эмбриогенезе, так и в жизнедеятельности взрослого организма. Они участвуют в процессах дифференцировки и пролиферации клеток различных типов, а также в регуляции клеточной миграции и выживания, регенерации тканей, в процессах ангиогенеза и нейрогенеза. Множество данных также свидетельствует о том, что нарушенный сигнальный путь FGF может приводить к канцерогенезу [3, 4].

Факторы роста фибробластов воздействуют на клетки через группу рецепторов (FGFRs). У человека описано 4 функционально активных рецептора к семейству белков FGF (FGFR1–4). У пятого рецептора, FGFR5, отсутствует тирозинкиназный домен, в связи с чем он, будучи способным связывать молекулы FGF, не проводит сигнал внутрь клетки, выступая, таким образом, как негативный регулятор сигнального пути FGF [3, 5].

FGFs — это секретируемые гликопротеиды, однако их локализация может быть различной: они обнаруживаются как во внеклеточном матриксе, так и в цитоплазме, а также в ядре клетки. Находясь в экстрацеллюлярном пространстве, FGFs образуют комплексы с гепарин сульфат протеогликанами (ГСП) матрикса. Взаимодействие с рецептором на поверхности клетки (FGFR) возможно только при высвобождении молекулы FGF из комплекса с ГСП; этот процесс обеспечивается гепариназами и протеазами внеклеточного матрикса. После высвобождения молекула FGF связывается с ГСП на мембране клетки, что облегчает дальнейшее образование лиганд-рецепторного комплекса с FGFR [3].

Обнаружение FGFs (а также их рецепторов) в ядре клетки позволило предположить, что они также могут регулировать процессы жизнедеятельности клеток через механизмы, отличные от классического тирозинкиназного сигнального пути [6, 7].

Наиболее изученными представителями описанного семейства факторов роста являются FGF1 и FGF2. FGF1 — единственный фактор из всего семейства, который с высокой аффинностью способен связываться со всеми изоформами рецепторов к фактору роста фибробластов; все остальные FGFs проявляют специфичность к изоформам FGFRs. FGF1 играет роль в процессах ангиогенеза и адипогенеза [5, 8].

FGF2 вовлечен в регуляцию основных процессов существования клетки: пролиферацию, дифференцировку, выживание, клеточную адгезию, миграцию, подвижность и апоптоз. In vivo FGF2 регулирует процессы формирования конечностей, заживления ран, ангиогенеза, васкулогенеза и процессы ремоделирования кровеносных сосудов, а также участвует в процессах канцерогенеза. FGF2 проявляет митогенную и хемоаттрактивную активность в отношении эндотелиоцитов и клеток гладкой мускулатуры сосудов, а также активирует пролиферацию перицитов. Следует отметить, что FGF2 также стимулирует образование активатора плазминогена и экспрессию металлопротеиназ, играя важную роль в процессах сосудистой стабилизации и моделирования экстрацеллюлярного

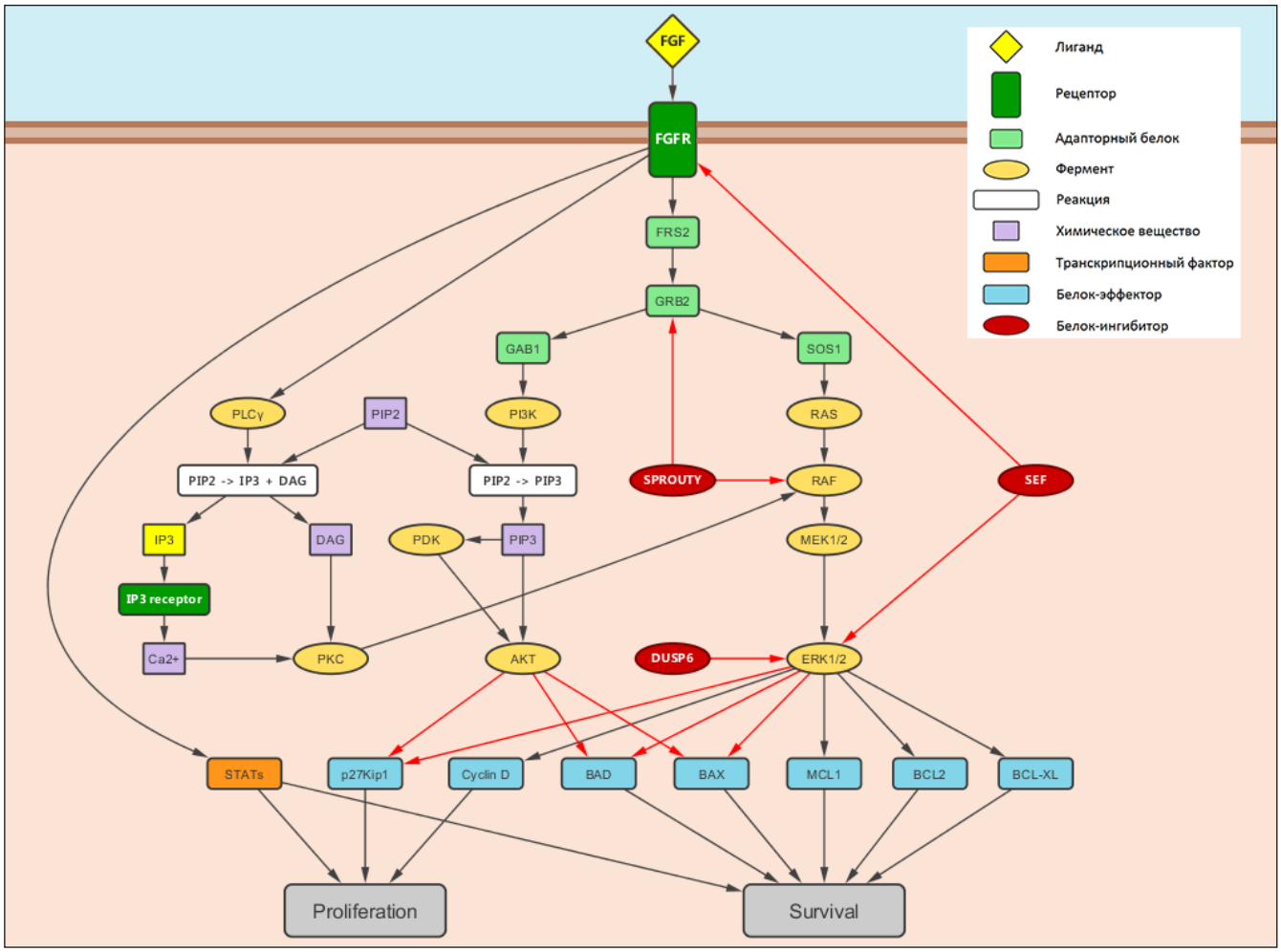

Рис.1. **Сигнальный путь FGF**

матрикса [5, 8]. Однако его активность проявляется лишь в совокупности с работой других факторов. Показано, что при выключении гена FGF2 у мышей сохраняется способность к нормальному ангиогенезу, отмечаются незначительные нарушения в формировании скелета и сердечнососудистой и нервной систем [9, 10].

Различные эффекты белков семейства FGF на клетку определяются лиганд-специфичностью соответствующих рецепторов и их изоформ, а также тканеспецифичностью их экспрессии. Структурно молекула рецептора состоит из экстрацеллюлярной части, включающей в себя 3 иммуноглобулин-подобных домена, способных связываться с FGF, трансмембранного перешейка и цитоплазматического внутриклеточного тирозинкиназного домена. В результате альтернативного сплайсинга третьего иммуноглобулин-подобного домена образуется 2 группы изоформ FGFR: IIIB и IIIC. Исключение составляет FGFR4, который экспрессируется только в виде IIIC изоформы. Интересно отметить, что экспрессия изоформ рецепторов имеет тканеспецифичный характер. Так, изоформы IIIB обнаружены преимущественно в эпителиальных тканях, тогда как изоформы IIIC характерны для клеток соединительной ткани. Большинство из FGFs могут активировать несколько рецепторов, за исключением FGF7, который способен связываться только с IIIB изоформой FGFR2 [3, 5].

FGFs осуществляют свои функции в клетке через классический сигнальный путь, включающий в себя активацию PI3K/AKT, MAPK, PLCγ сигнальных каскадов, а также активацию транскрипционных факторов STAT (см. рис.1).

После связывания с лигандом FGFRs могут формировать как гомо-, так и гетеродимеры.

Димеризация рецептора и интернализация лиганда необходимы для дальнейшей передачи FGF сигнала в клетку. В данных процессах участвуют ГСП, экспрессированные на мембране клетки (например, синдеканы и глипиканы) [3, 11]. Связывание лиганда с рецептором приводит к димеризации FGFR и последующей активации его тирозинкиназного домена. Остатки тирозина в киназном домене служат местом посадки адапторных белков, главным из которых является FRS2. Связывание FRS2 с FGFR приводит к фосфорилированию адапторной молекулы за счет киназной активности рецептора. Фосфорилирование FRS2 в свою очередь приводит к активации MAPK (mitogen-activated protein kinase) -киназного каскада RAS-RAF-MEK1/2-ERK1/2 через дополнительные адапторные молекулы GRB2 и SOS1, а также к активации фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) через адаптор GAB1. PI3K в свою очередь запускает реакцию образования фосфатидилинозитол-3-фосфата (PIP3) из фосфатидилинозитол-2-фосфата (PIP2). PIP3 совместно с киназой PDK активирует еще одну киназу — AKT [3, 12, 13]. Активация RAS-RAF-MEK-ERK пути приводит к усилению экспрессии циклина D [3, 14–16]. Кроме того, активация как RAS-ERK пути, так и PI3K-AKT ведет к подавлению активности ингибитора циклин-зависимой киназы p27KIP1 [17, 18]. Это определяет усиление пролиферации клетки. Активация как RAS, так и PI3K пути способствует выживанию клетки в стрессовых условиях в результате ингибирования апоптотических белков, таких как BAD и BAX [3, 19, 20]. Кроме этого, клетка ускользает от апоптоза путем активации антиапоптотических белков MCL-1, BCL-2 и BCL–XL [3, 19, 21].

Адаптор-независимым путем происходит взаимодействие между остатками тирозина в киназном домене FGFR и SH2 доменом фосфолипазы Cγ (PLCγ), что приводит к ее активации [22]. Данная фосфолипаза катализирует реакцию превращения PIP2 в инозитол-3-фосфат (IP3) и диацилглицерол (DAG). IP3 связывается со своим рецептором в мембране эндоплазматического ретикулума (ЭПР), что в итоге приводит к открытию кальциевых каналов и выходу ионов кальция из ЭПР в цитоплазму. DAG и кальций необходимы для активации протеинкиназы C (PKC), которая, в свою очередь, способствует дополнительной активации MAPK пути за счет фосфорилирования RAF [3]. Четвертый сигнальный путь, который могут активировать FGFRs — STAT путь (signal transduction and activation of transcription), который приводит к экспрессии генов, ответственных за такие клеточные процессы как рост, дифференцировка, апоптоз [3, 23].

В регуляции активности сигналов FGFR участвуют различные молекулы:

- DUSP6 (инактивирует ERK),
- белок SPROUTY (ингибирует GRB2 и RAF (BRAF и/или CRAF), приводя к инактивации пути RAS-ERK),
- SEF (подавляет фосфорилирование FGFR, ингибирует ERK) [24–26].

В норме FGFRs отвечают за развитие костно-суставной системы у позвоночных, участвуя в регуляции дифференцировки и пролиферации остеобластов и хондроцитов. Повышенная активность сигнального пути FGF у эмбриона и детей приводит к развитию аномалий скелета, включая карликовость и краниосиностозные синдромы, ахондроплазии. Во взрослом организме FGFs вовлечены в процессы физиологического и патологического ангиогенеза. Нарушения в системе FGF-FGFR наблюдаются также при болезни Альцгеймера, мышечной дистрофии Дюшена, диабетической ретинопатии, атеросклерозе [27].

В большом количестве работ отмечаются изменения активности лиганд-рецепторного комплекса FGF-FGFR в опухолевых клетках. При этом гиперэкспрессия различных представителей семейств FGF и FGFR может быть обусловлена появлением активирующих мутаций, транслокаций или амплификаций соответствующих генов. Также выявлены альтерации в различных изоформах FGFRs, нарушения экспрессии корецепторов, подавление активности негативных регуляторов FGFRs, например SPROUTY [28].

Рассмотрим изменения в системе FGF-FGFR при ряде наиболее часто встречающихся злокачественных заболеваниях.

Рак мочевого пузыря

Самая высокая встречаемость мутаций в генах FGFR была обнаружена у больных раком мочевого пузыря. Показано, что около 50% пациентов с данным типом рака явля-

ются носителями мутаций в кодирующей последовательности гена FGFR3. Интересно, что мутации в FGFR3 ассоциированы главным образом с неинвазивной формой (50–70% пациентов имеют мутации в FGFR3) и гораздо реже возникают при инвазивной форме (в 10–15% случаев) [3, 29–32]. Более половины мутаций в FGFR3, наблюдающихся при раке мочевого пузыря, приходится на долю полиморфизма Ser249Cys в экстрацеллюлярном домене белка. Этот полиморфизм приводит к конститутивной димеризации и лиганд-независимой активации рецептора. К числу наиболее часто встречающихся мутаций можно также отнести полиморфизмы в трансмембранном домене (например, Tyr373Cys). Реже встречаются полиморфизмы в киназном домене, такие как Lys652Glu. Мутации Tyr373Cys и Lys652Glu также приводят к конститутивной активации рецептора FGFR3 [3].

Рак молочной железы

В неизмененной ткани молочной железы наиболее высокая экспрессия FGFs и FGFRs отмечается в клетках при образовании протоков, так как этот процесс сопровождается высокой пролиферативной активностью эпителиальных клеток [33]. Таким образом, в отношении молочных желез FGF следует рассматривать как митоген и, следовательно, он может быть вовлечен в процессы канцерогенеза рака молочной железы.

При раке молочной железы амплификация FGFR1 в опухолевых клетках встречается в 4–15% случаях [34]. Выявлена корреляция между амплификацией FGFR1 и гиперэкспрессией белка FGFR1; последняя выявляется в 16–27% случаях люминального В подтипа рака молочной железы, тогда как частота амплификации гена при люмиальном В подтипе рака доходит практически до 30% [35]. Отметим, что гиперэкспрессия FGFR1 выявляется практически в половине случаев долькового рака молочной железы.

В моделях in vivo показано, что активация FGFR1 приводит к усилению способности опухолевых клеток к инвазии. Это происходит за счет активации матриксной металлопротеиназы-3 и деградации Е-кадхерина [36]. Последнее является характерной особенностью долькового рака молочной железы, а FGFR1 при данном подтипе рака рассматривается как терапевтическая мишень [37]. Также интересно, что амплификация FGFR1 характерна в большей степени для инвазивного рака, в отличие от карциномы in situ. Это является возможным доказательством необходимости активации FGFR1 для инвазии опухоли [38].

Выявлено влияние гиперэкспрессии FGFR1 на выживаемость больных раком молочной железы. Так, в исследовании Elbauomy Elsheikh с соавторами, наличие гиперэкспрессии гена явилось независимым негативным прогностическим фактором для больных с рецептор-эстроген положительным раком молочной железы [34]. Также отметим, что ингибирование FGFR1 приводит к гибели клеток рака молочной железы с гиперэкспрессией данного рецептора [39]. При амплификации гена FGFR1 в 30–40% случаях выявляется и амплификация участка на длинном плече 11 хромосомы, который содержит ген CCND1 (циклин Д1) [40]. Известно, что сочетание амплификаций различных генов, включая FGFR1 при раке молочной железы, ухудшает прогноз течения болезни [41]. При гиперэкспресии HER-2/neu амплификация гена FGFR1 — событие крайне редкое, возможно, взаимоисключающее [34].

Амплификация гена FGFR2 встречается в 4–12% случаях рака молочной железы [42]. При этом в опухолях с тройным негативным фенотипом частота амплификации составляет 4% [3]. Выявлена значимость некоторых полиморфизмов гена FGFR2 в предполагаемом развитии рака молочной железы [43, 44]. Принимая во внимание высокую частоту распространения данного варианта аллеля гена FGFR2 (0,4), описанный полиморфизм может определять развитие болезни у большого числа женщин. При этом исследователи заметили, что выявленный полиморфизм ассоциирован в большей степени с развитием эстроген-рецептор положительных опухолей [45]. Выявление и цитоплазматической, и ядерной экспрессии FGFR2 при инвазивном протоковом раке ассоциировано с низкими показателями безрецидивной и общей выживаемости [46].

Мутации в гене FGFR3 не были выявлены при раке молочной железы [47, 48]. Однако гиперэкспрессия данного рецептора описана

и коррелирует с низкими показателями выживаемости больных раком молочной железы [49]. Кроме того, в одной из работ было показано, что, основываясь на экспрессии FGFR3, можно отбирать пациентов, которые ответят на терапию тамоксифеном [50]. Биологическое значение FGFR3 в процессах канцерогенеза до конца не раскрыто. Вначале ген работает как онкосупрессор: активируя белки семейства STAT, приводит к снижению пролиферации и усилению процессов дифференцировки клеток. В итоге клетки стареют и погибают через апоптоз [51]. Однако появление мутаций в других генах может приводить к передаче сигнала с FGFR3 на другие сигнальные пути, тем самым усиливая пролиферацию опухолевых клеток. Также замечено, что при сочетании с гиперэкспрессией белков MAPK пути экспрессия FGFR3 наблюдается в клетках с эпителиально-мезенхимальным фенотипом [51].

Гиперэкспрессия FGFR4 встречается намного чаще — у 30% больных [52]. При этом увеличение экспрессии в 4–10 раз от нормы выявляется у 10% больных. Амплификация FGFR4 чаще встречается при гормоно-позитивном раке молочной железы, а также ассоциирована с метастатическим поражением регионарных лимфоузлов и может являться предиктором резистентности к тамоксифену [53]. Ингибирование FGFR2 и FGFR4 приводит лишь к прекращению пролиферации клеток рака молочной железы с гиперэкспрессией данных рецепторов [16, 42]. В работе 2009 года показано, что наличие гиперэкспрессии FGFR4 ассоциировано с резистентностью клеточных линий рака молочной железы к доксорубицину и циклофосфамиду. Вероятно это связано с антиапоптотическим действием FGFR4 через активацию белка BCL–XL [54]. Прогностически неблагоприятным оказалось наличие полиморфизма гена FGFR4 — Gly388Arg, приводящего к замене в молекуле FGFR4 аминокислоты глицина на аргинин в 388 положении. Данный полиморфизм определяет стабилизацию рецептора и поддерживает его в активном состоянии более длительное время [55–57].

Другим механизмом вовлечения FGF-FGFR в процессы канцерогенеза при раке молочной железы является альтернативный сплайсинг мРНК FGFR. К примеру, альтернативный сплайсинг приводит к изменению экстрацелюлярной части и С-терминального домена внутриклеточной части FGFR2. Одним из вариантов такой изоформы рецептора является FGFR2-IIIC. Он не встречается в неизмененном эпителии, однако экспрессирован в клетках рака молочной железы [58]. Выявлено и снижение активности одного из регуляторов работы FGF-FGFR комплекса при раке молочной железы — белка SEF [59].

Кроме процессов канцерогенеза, изменение активности FGF-FGFR комплекса отмечается при развитии резистентности к антиэстрогенам при рецептор-эстроген положительных опухолях молочной железы [60]. Примером служит FGFR1, гиперэкспрессия которого приводит к резистентности ER+ клеточных линий рака молочной железы к эндокринотерапии [35].

Таким образом, наличие гиперэкспрессии или мутации в генах FGFR при раке молочной железы ассоциировано с неблагоприятным прогнозом течения болезни и может рассматриваться как мишень для разработки препаратов целенаправленного действия, особенно при дольковом раке молочной железы, и для преодоления резистентности к терапии ингибиторами ароматазы и тамоксифеном при гормоно-позитивных опухолях.

Немелкоклеточный рак легкого

При раке легкого также описаны нарушения в структуре генов FGFR. Однако частота обнаружений мутаций не превышает 10% и изменения затрагивают преимущественно ген FGFR4 [61, 62].

Амплификация гена FGFR1 выявляется в 20% случаях плоскоклеточного рака легкого. При этом клеточные линии данного подтипа опухоли легкого крайне чувствительны к ингибиторам FGFR [63]. Совместная экспрессия FGFR1 и PDGFR (рецептора тромбоцитарного фактора роста) в клеточных линиях немелкоклеточного рака легкого приводит к продукции трансформирующего фактора роста (TGF), который в свою очередь индуцирует процессы эпителиально-мезенхимального перехода. Кроме этого, более высокая экспрессия FGFR1 обнаруживается в клетках опухоли легкого с мезенхимальным фенотипом в сравнении с клетками эпителиального фенотипа [64]. Так-

же при раке легкого отмечена высокая экспрессия FGFR1 и 2 в совокупности с гиперэкспрессией лигандов к данным рецепторам — FGF2 и 9. FGF2 в клеточных линиях рака легкого активирует процессы эпителиально-мезенхимального перехода. Таким образом, FGFR1 может поддерживать эпителиально-мезенхимальный переход клеток и способствовать метастазированию опухоли.

В исследовании итальянских авторов на выборке из 274 больных аденокарциномой легкого статистически значимо показано негативное прогностическое значение наличия полиморфизма гена FGFR4 — Gly388Arg. Обнаружение последнего определяет повышенный риск прогрессирования болезни, наличие метастазов в лимфоузлах и низкие показатели выживаемости при аденокарциноме легкого [65]. Однако в трех других исследованиях негативное влияние наличия данного полиморфизма на выживаемость больных раком легкого не было подтверждено [66–68]. Тем не менее, в исследовании японских авторов неблагоприятное прогностическое значение полиморфизма гена FGFR4 — Gly388Arg было выявлено у больных с поражением лимфоузлов при раке легкого [68].

Рассматривая прогностическое значение экспрессии комплекса FGF2-FGFR1 при раке легкого, отметим противоречие в полученных результатах исследований. Особенно это касается роли FGF2 [69–74]. Так, в исследовании, включившем данные 335 больных немелкоклеточным раком легкого, высокий уровень экспрессии FGF2 в опухолевых клетках был ассоциирован с низкими показателями 5-летней выживаемости (37% против 59%, p=0,015). Однако влияния экспрессии FGFR1 на выживаемость доказать не удалось. С другой стороны, высокая экспрессия FGF2 в строме опухоли была ассоциирована с высокими показателями 5-летней выживаемости (70% против 53%, p=0,024) [75]. А в исследовании Bremnes с соавторами получены противоположные результаты: отмечено значимое негативное влияние экспрессии FGFR1, но не FGF2, на показатели выживаемости [76]. Отметим, что у больных I стадией экспрессия FGF2 не была ассоциирована с низкими показателями выживаемости [77]. Исследования отличались методами определения экспрессии FGF2 (иммуногистохимия или ELISA), стадиями болезни. Возможно, при унификации оценки экспрессии FGF2 и FGFRs на однородной группе пациентов немелкоклеточного рака легкого удастся более четко определить прогностическое влияние данных белков на течение болезни.

В итоге можно отметить, что исследование ингибиторов как рецепторов FGFR1 и 4, так и лигандов (FGF2 и 9) при раке легкого является крайне востребованным в онкологии.

Рак желудка

Не менее значимой патологией является рак желудка, что обусловлено его распространением в популяции и неблагоприятным прогнозом при распространенных формах болезни.

В небольшом исследовании, включившем 24 больных раком желудка, в 50% образцах опухоли была выявлена амплификация гена FGFR1, тогда как гиперэкспрессия белка FGFR1 выявляется у 61% пациентов. В данной работе не было выявлено корреляций между экспрессией FGFR1 и клинико-морфологическими характеристиками заболевания [78].

При рассмотрении молекулярных изменений в опухоли, было отмечено, что гиперэкспрессия Her-2/neu и мутации в гене KRAS характерны для высокодифференцированного рака желудка с относительно благоприятным течением болезни [79, 80], тогда как амплификация MET и FGFR2 является отличительной особенностью агрессивных опухолей желудка с диффузным характером роста [81, 82].

Амплификация FGFR2 выявляется как в клеточных линиях, так и в опухолях желудка [83]. При этом частота выявления амплификации данного гена составляет порядка 10% [84–86]. Кроме этого обнаруживаются и активирующие мутации в гене FGFR2 [85]. Интересно отметить, что амплификация FGFR2, выявленная в клеточных линиях рака желудка, приводит к формированию лиганд-независимомой активации сигнального пути. Опухолевая клетка начинает продуцировать FGF7. В итоге секретируемый клеткой FGF7 поддерживает дальнейшую пролиферацию клеток [87]. Кроме этого отмечено, что амплификация гена FGFR2 может сочетаться с делецией С-терми-

нального экзона гена, что препятствует интернализации рецептора, а это поддерживает рецептор в активном состоянии [88]. Клеточные линии рака желудка с амплификацией FGFR2 также имеют повышенный уровень фосфорилирования тирозинкиназных рецепторов из семейства рецептора эпидермального фактора роста: EGFR, Her-2/neu и ErbB3. В этой ситуации невозможно ингибировать EGFR гефитинибом и эрлотинибом [86].

Амплификация гена FGFR3 — событие редкое не только в опухолях желудка, но и при других нозологиях. В клеточных линиях рака желудка не было выявлено нарушений экспрессии данного гена [89]. В клиническом же исследовании экспрессия FGFR3 не имела значимого влияния на прогноз [90].

При раке желудка выявлена и амплификация гена FGFR4, наличие которой ассоциировано с неблагоприятным прогнозом. Как и при других опухолях, прогностически значимым также оказалось наличие полиморфизма гена FGFR4 — Gly388Arg, приводящее к замене в молекуле FGFR4 аминокислоты глицина на аргинин в 388 положении [91].

В исследовании японских авторов, включившем данные 222 больных раком желудка, высокий уровень экспрессии FGFR1, 2, 3, 4 (без амплификации) был выявлен в 30%, 51%, 64% и 79% опухолях, соответственно. При этом гиперэкспрессия FGFR1, 2 и 4 ассоциирована с более выраженной глубиной инвазии опухоли, наличием метастазов в лимфоузлах и распространенной стадией заболевания, а также с наличием висцеральных метастазов. Интересно отметить некоторое несоответствие экспрессии FGFR в первичной опухоли и в метастазах в лимфоузлах: конкордантность в экспрессии FGFR1 составила 69%, для FGFR2–50%, для FGFR4–76%. При однофакторном анализе гиперэкспрессия FGFR1, 2, 4 в первичной опухоли была статистически значимо ассоциирована с низкими показателями выживаемости. Однако при многофакторном анализе достоверное влияние гиперэкспрессии подтверждено не было. Только коэкспрессия нескольких FGFR, наряду со стадией болезни, оказывала достоверное негативное влияние на выживаемость при многофакторном анализе [90].

Таким образом, блокирование FGFR2 и 4 при диссеминированном раке желудка видится перспективным направлением фармацевтической онкологии.

Рак толстой кишки

Все четыре наиболее изученных рецептора к фактору роста фибробластов экспрессируются клетками рака толстой кишки [92, 93]. FGFR1 и FGFR2 экспрессированы как в аденомах толстой кишки, так и в клетках инвазивного рака, что может указывать на участие FGFRs в процессах трансформации неизмененного эпителия в опухоль [94].

Амплификация гена FGFR1 при раке толстой кишки — событие редкое и составляет 5%. При этом отмечена высокая степень конкордантности статуса гена FGFR1 между первичной опухолью и метастазами в регионарных лимфоузлах — 98%. Интересно, что амплификация гена FGFR1 не всегда ассоциирована с высоким уровнем мРНК и уровнем белка на мембране опухолевых клеток. Антипролиферативный эффект ингибитора FGFR1 наблюдается только в клеточных линиях с высоким уровнем белка FGFR1 [95]. Таким образом, можно сделать вывод, что для определения популяции больных раком толстой кишки, потенциально чувствительных к анти-FGFR1 терапии, необходимо оценивать экспрессию данного белка в опухоли с помощью метода иммуногистохимии.

Отметим, что экспрессия FGFR2 в эпителиоцитах неизмененной крипты толстой кишки отмечается в дифференцированных клетках, локализующихся в верхней части кишечной крипты [96]. В нормальном эпителии FGFR2 участвует в процессах пролиферации и дифференцировки клеток [92, 97]. В клетках рака толстой кишки, белок FGFR2 выявляется как на мембране, так и в цитоплазме. При этом в клеточных линиях рака толстой кишки определяется повышенная экспрессия таких лигандов FGFR2, как FGF2, 8, 9 и 18 [98]. То есть регуляция пролиферации клеток рака толстой кишки через FGFR2 происходит аутокринным путем. Снижение экспрессии FGFR2 приводило к угнетению пролиферации, инвазии и миграции клеток рака толстой кишки in vitro и in vivo [99].

Рассматривая клинико-морфологические особенности опухоли при гиперэкспрессии FGFR2, отметим высокую степень дифференци-

ровки таких опухолей [92, 93]. Нейроэндокринные клетки мироокружения опухоли способны экскретировать FGF7 — лиганд изоформы рецептора FGFR2 IIIB [98]. Данный белок вовлечен в процессы опухолевого ангиогенеза при раке толстой кишки, а также способствует прикреплению опухолевых клеток к базальной мембране сосудов [99, 100]. Опухолевые клетки способны экскретировать FGF10, также являющийся лигандом рецептора FGFR2 IIIB [101]. Тем самым опять подчеркиваем, что рост и ангиогенез рака толстой кишки регулируются, наряду с паракринным и аутокринным путям.

С учетом роли межклеточных взаимодействий между опухолевыми клетками и клетками стромы опухоли, была изучена экспрессия FGF1, FGF2 и FGFR1, FGFR2 в клетках рака и прилегающем эпителии неизмененной слизистой толстой кишки. Уровень экспрессии FGFR2 был выше в прилегающем к опухоли неизмененном эпителии, тогда как уровень экспрессии FGF1, FGF2, FGFR1 не различался между опухолевыми клетками и эпителиоцитами. Авторы также отметили, что при наличии метастазов в печени гиперэкспрессия в опухоли и неизмененном эпителии была характерна только для FGFR1 [102].

В клетках рака толстой кишки обнаруживаются измененные формы FGFR3, образованные в результате нарушенного сплайсинга, роль которых до конца не изучена [103]. Также выявляется коэкспрессия FGFR4 и его лиганда FGF19 [104]. Кроме этого в 5% опухолей обнаруживаются мутации в гене FGFR3, прогностическое значение которых также пока не определено [85]. При изучении белка активации фибробластов (FAP) отмечена его роль в процессах инвазии и миграции клеток рака толстой кишки. Данный белок приводит к активации внутриопухолевых фибробластов, которые в свою очередь начинают продуцировать FGF1. Выявлено, что FGF1 при формировании комплекса с FGFR3 повышает способность клеток рака толстой кишки к инвазии и миграции [105].

При раке толстой кишки FGFR4 играет важную роль в процессах взаимодействия опухолевых клеток и стромы [106]. Наличие полиморфизма рецептора G388R значимо коррелирует с распространением первичной опухоли и поражением метастазами регионарных лимфоузлов [107]. Ингибирование моноклональными антителами к FGF19 образования комплекса FGF19-FGFR4 прекращает рост опухоли у ксенографтных моделей рака толстой кишки HCT116 и Colo201 [104].

Отмечена высокая экспрессия FGFR4 в клетках рака толстой кишки, резистентных к фторурацилу и оксалиплатину. Совместное введение химиопрепаратов и ингибитора FGFR4 в данный тип клеточной линии значимо увеличивало число клеток в апоптозе за счет подавления экспрессии антиапоптотического белка c-FLIP. При этом именно резистентные к оксалиплатину клетки опухоли были более чувствительны к комбинации оксалиплатина и ингибитора FGFR4, нежели клетки, изначально чувствительные к оксалиплатину. Таким образом, авторы сделали вывод, что гиперэкспрессия FGFR4 может быть ответственна за развитие устойчивости рака толстой кишки к химиотерапии фторурацилом и оксалиплатином [108].

Таким образом, комплекс FGF-FGFR играет одну из важных ролей в процессе развития опухолей толстой кишки. При этом воздействие на весь спектр рецепторов к фактору роста фибробластов, по-видимому, будет иметь значение при терапии диссеминированного рака толстой кишки. Кроме этого по экспрессии FGFR1 в опухоли можно прогнозировать наличие у пациента метастазов в печени.

Перспективы терапевтического воздействия на комплекс FGF-FGFR

В настоящее время основными препаратами таргетной терапии являются моноклональные антитела к рецепторам и их лигандам, а также малые молекулы, ингибирующие тирозинкиназную активность белков, в том числе рецепторов. Число ингибиторов тирозинкиназ, селективно блокирующих FGFR, на данный момент крайне невелико. Большинство ингибиторов тирозинкиназ способны подавлять фосфорилирование тирозинкиназ различных молекул. В связи с чем блокируется не только FGFR, но зачастую и VEGFR и PDGFR, что обусловлено схожестью тирозинкиназных доменов данных рецепторов. Это с одной стороны усиливает эффект препаратов, а с другой — расширяет спектр осложнений лечения. Ряд существующих препаратов в высоких концентрациях также обладает способностью ингибировать FGFR — сорафениб, вандетаниб, мотесаниб, однако повышение концентрации

этих препаратов ассоциировано с выраженной токсичностью лечения. В рекомендованных же терапевтических концентрациях адекватное блокирование данными препаратами тирозинкиназного домена FGFR сомнительно.

Некоторые селективные ингибиторы тирозинкиназы FGFR были исключены из исследований в связи с неприемлемой токсичностью [109]. В ряде случаев исследования, для которых шел отбор пациентов по наличию мутации в генах FGFR, закрывались досрочно в связи с крайне медленным набором. К примеру, в исследование препарата FP-1039 предполагалось включать больных раком эндометрия с мутациями в гене FGFR2. Из 70 скринированных больных ни одного не удалось включить в исследование (clinicaltrials.gov).

Одними из наиболее изученных ингибиторов тирозинкиназ рецепторов с зарегистрированной анти-FGFR активностью являются пазопаниб, седираниб, бриваниб, нинтеданиб. При этом в опухолях с выраженной активностью FGFR пути, применение пазопаниба, бриваниба, нинтеданиба оказалось не эффективным [110–116]. Обнадеживающие результаты получены при изучении препарата сидераниб при раке яичников. Однако описанные эффекты, вероятнее всего связанны с анти-VEGFR действием данной малой молекулы [117]. Следует отметить, что в проведенных исследованиях с представленными препаратами не применялся дифференцированный отбор пациентов по экспрессии предполагаемых мишеней воздействия препаратов, в том числе и FGF-FGFR.

Большие надежды возлагались на препарат довитиниб, имеющий другой спектр мишеней, наряду с FGFR он блокирует FLT3, KIT и CSF1R. На ESMO2014 были представлены результаты исследования довитиниба у больных раком эндометрия во 2 линии лечения в зависимости от наличия мутации в гене FGFR2. Исследование было досрочно завершено, так как не была выполнена статистическая гипотеза. Однако были получены неожиданные результаты: объективный эффект от применения FGFR2 ингибитора (довитиниба) оказался выше в группе больных без мутации в гене FGFR2 (16% против 5%), время до прогрессирования не различалось между группами. Тем не менее, медиана продолжительности жизни была выше в группе с мутацией (20,2 против 9,3 месяцев). С одной стороны, препарат показал активность у больных раком эндометрия, с другой стороны, роль мишени (мутация FGFR2), на которую должен был бы воздействовать препарат, не подтвердилась [118].

Примером моноклонального антитела к FGF служит молекула FP1039 — белковая молекула, состоящая из внеклеточной части FGFR1-IIIc и Fc домена иммуноглобулина IgG1. Данный препарат способен предотвращать связывание различных факторов роста фибробластов с их рецепторами. При этом препарат показывает антипролиферативный и антиангиогенный эффект на клеточных линиях злокачественных опухолей [119].

Несмотря на то, что анти-FGFR терапия находится на раннем этапе клинического изучения в онкологии, уже сейчас видны определенные трудности в реализации данного лечебного подхода, такие как высокая токсичность, не всегда валидированная мишень воздействия, необходимость отбора пациентов в зависимости от активности FGF-FGFR пути, а также в зависимости от наличия мутаций в молекулах нижележащих сигнальных путей.

Заключение

Значимость комплекса FGF-FGFR в процессах канцерогенеза и в прогрессировании опухолей различной нозологии не вызывает сомнений. Это создает предпосылки для появления работ, посвященных поиску возможностей лекарственного воздействия на данный сигнальный путь. Тем не менее, существует ряд ограничений для быстрого выхода на терапевтическую арену препаратов с анти-FGFR активностью. Основным препятствием, на наш взгляд, является отсутствие валидированного биомаркера FGFR сигнального пути в отношении эффективности препаратов с анти-FGFR активностью. Тем самым в ряде исследований воздействию лекарственным препаратом подвергались все больные, большинство из которых не имели мишени для действия препарата. Однако улучшение фармацевтической составляющей в создании препаратов с избирательной анти-FGFR активностью и развитие методов молекулярной диагностики в онкологии позволит преодолеть все сложности.

Литература

1. Itoh N., The Fgf families in humans, mice, and zebrafish: their evolutional processes and roles in development, metabolism, and disease. Biol Pharm Bull, 2007. 30 (10): p. 1819–1825.
2. Ornitz D. M., Xu J., Colvin J. S., McEwen D.G., MacArthur C.A., Coulier F., et al., Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. J Biol Chem, 1996. 271 (25): p. 15292–15297.
3. Turner N., Grose R., Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. Nat Rev Cancer, 2010. 10 (2): p. 116–129.
4. Katoh M., Nakagama H., FGF receptors: cancer biology and therapeutics. Med Res Rev, 2014. 34 (2): p. 280–300.
5. Beenken A., Mohammadi M., The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. Nat Rev Drug Discov, 2009. 8 (3): p. 235–253.
6. Bryant D. M., Stow J. L., Nuclear translocation of cell-surface receptors: lessons from fibroblast growth factor. Traffic, 2005. 6 (10): p. 947–954.
7. Imamura T., Engleka K., Zhan X., Tokita Y., Forough R., Roeder D., et al., Recovery of mitogenic activity of a growth factor mutant with a nuclear translocation sequence. Science, 1990. 249 (4976): p. 1567–1570.
8. Bikfalvi A., Klein S., Pintucci G., Rifkin D. B., Biological roles of fibroblast growth factor-2. Endocr Rev, 1997. 18 (1): p. 26–45.
9. Miller D. L., Ortega S., Bashayan O., Basch R., Basilico C., Compensation by fibroblast growth factor 1 (FGF1) does not account for the mild phenotypic defects observed in FGF2 null mice. Mol Cell Biol, 2000. 20 (6): p. 2260–2268.
10. Dono R., Texido G., Dussel R., Ehmke H., Zeller R., Impaired cerebral cortex development and blood pressure regulation in FGF-2-deficient mice. EMBO J, 1998. 17 (15): p. 4213–4225.
11. Simons M., Horowitz A., Syndecan-4-mediated signalling. Cell Signal, 2001. 13 (12): p. 855–862.
12. Ong S. H., Guy G. R., Hadari Y. R., Laks S., Gotoh N., Schlessinger J., et al., FRS2 proteins recruit intracellular signaling pathways by binding to diverse targets on fibroblast growth factor and nerve growth factor receptors. Mol Cell Biol, 2000. 20 (3): p. 979–989.
13. Ong S. H., Hadari Y. R., Gotoh N., Guy G. R., Schlessinger J., Lax I., Stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase by fibroblast growth factor receptors is mediated by coordinated recruitment of multiple docking proteins. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. 98 (11): p. 6074–6079.
14. Lin N., Chen S., Pan W., Xu L., Hu K., Xu R., NP603, a novel and potent inhibitor of FGFR1 tyrosine kinase, inhibits hepatic stellate cell proliferation and ameliorates hepatic fibrosis in rats. Am J Physiol Cell Physiol, 2011. 301 (2): p. C469–477.
15. Meloche S., Pouyssegur J., The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. Oncogene, 2007. 26 (22): p. 3227–3239.
16. Koziczak M., Holbro T., Hynes N. E., Blocking of FGFR signaling inhibits breast cancer cell proliferation through downregulation of D-type cyclins. Oncogene, 2004. 23 (20): p. 3501–3508.
17. Lee J. G., Kay E. P., PI 3-kinase/Rac1 and ERK1/2 regulate FGF-2-mediated cell proliferation through phosphorylation of p27 at Ser10 by KIS and at Thr187 by Cdc25A/Cdk2. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. 52 (1): p. 417–426.
18. Miyake M., Ishii M., Koyama N., Kawashima K., Kodama T., Anai S., et al., 1-tert-butyl-3- [6- (3,5-dimethoxy-phenyl) –2- (4-diethylamino-butylamino) -pyrido [2,3 -d] pyrimidin-7-yl] -urea (PD173074), a selective tyrosine kinase inhibitor of fibroblast growth factor receptor-3 (FGFR3), inhibits cell proliferation of bladder cancer carrying the FGFR3 gene mutation along with up-regulation of p27/Kip1 and G1/G0 arrest. J Pharmacol Exp Ther, 2010. 332 (3): p. 795–802.
19. Pardo O. E., Arcaro A., Salerno G., Raguz S., Downward J., Seckl M. J., Fibroblast growth factor-2 induces translational regulation of Bcl-XL and Bcl-2 via a MEK-dependent pathway: correlation with resistance to etoposide-induced apoptosis. J Biol Chem, 2002. 277 (14): p.12040–12046.
20. Goetz R., Mohammadi M., Exploring mechanisms of FGF signalling through the lens of structural biology. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013. 14 (3): p. 166–180.
21. Balmanno K., Cook S. J., Tumour cell survival signalling by the ERK1/2 pathway. Cell Death Differ, 2009. 16 (3): p. 368–377.
22. Mohammadi M., Honegger A. M., Rotin D., Fischer R., Bellot F., Li W., et al.,

A tyrosine-phosphorylated carboxy-terminal peptide of the fibroblast growth factor receptor (Flg) is a binding site for the SH2 domain of phospholipase C-gamma 1. Mol Cell Biol, 1991. 11 (10): p. 5068–5078.
23. Hart K. C., Robertson S. C., Kanemitsu M. Y., Meyer A. N., Tynan J. A., Donoghue D. J., Transformation and Stat activation by derivatives of FGFR1, FGFR3, and FGFR4. Oncogene, 2000. 19 (29): p. 3309–3320.
24. Smith T. G., Karlsson M., Lunn J. S., Eblaghie M. C., Keenan I. D., Farrell E. R., et al., Negative feedback predominates over cross-regulation to control ERK MAPK activity in response to FGF signalling in embryos. FEBS Lett, 2006. 580 (17): p. 4242–4245.
25. Mason J. M., Morrison D. J., Basson M. A., Licht J. D., Sprouty proteins: multifaceted negative-feedback regulators of receptor tyrosine kinase signaling. Trends Cell Biol, 2006. 16 (1): p. 45–54.
26. Kovalenko D., Yang X., Nadeau R. J., Harkins L. K., Friesel R., Sef inhibits fibroblast growth factor signaling by inhibiting FGFR1 tyrosine phosphorylation and subsequent ERK activation. J Biol Chem, 2003. 278 (16): p. 14087–14091.
27. Baird A., Böhlen P., Fibroblast growth factors, in Peptide growth factors and their receptors I. 1990, Springer. p. 369–418.
28. Matthews D. J., Gerritsen M. E., Targeting protein kinases for cancer therapy. 2011: John Wiley & Sons.
29. Iyer G., Milowsky M. I., Fibroblast growth factor receptor-3 in urothelial tumorigenesis. Urol Oncol, 2013. 31 (3): p. 303–311.
30. Cappellen D., De Oliveira C., Ricol D., de Medina S., Bourdin J., Sastre-Garau X., et al., Frequent activating mutations of FGFR3 in human bladder and cervix carcinomas. Nat Genet, 1999. 23 (1): p. 18–20.
31. Hernandez S., Lopez-Knowles E., Lloreta J., Kogevinas M., Amoros A., Tardon A., et al., Prospective study of FGFR3 mutations as a prognostic factor in nonmuscle invasive urothelial bladder carcinomas. J Clin Oncol, 2006. 24 (22): p. 3664–3671.
32. di Martino E., Tomlinson D. C., Knowles M. A., A Decade of FGF Receptor Research in Bladder Cancer: Past, Present, and Future Challenges. Adv Urol, 2012. 2012: p. 429213.
33. Welm B. E., Freeman K. W., Chen M., Contreras A., Spencer D. M., Rosen J. M., Inducible dimerization of FGFR1: development of a mouse model to analyze progressive transformation of the mammary gland. J Cell Biol, 2002. 157 (4): p. 703–714.
34. Elbauomy Elsheikh S., Green A. R., Lambros M. B., Turner N. C., Grainge M. J., Powe D., et al., FGFR1 amplification in breast carcinomas: a chromogenic in situ hybridisation analysis. Breast Cancer Res, 2007. 9 (2): p. R23.
35. Turner N., Pearson A., Sharpe R., Lambros M., Geyer F., Lopez-Garcia M.A., et al., FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer. Cancer Res, 2010. 70 (5): p. 2085–2094.
36. Xian W., Pappas L., Pandya D., Selfors L. M., Derksen P. W., de Bruin M., et al., Fibroblast growth factor receptor 1-transformed mammary epithelial cells are dependent on RSK activity for growth and survival. Cancer Res, 2009. 69 (6): p. 2244–2251.
37. Brunello E., Brunelli M., Bogina G., Calio A., Manfrin E., Nottegar A., et al., FGFR-1 amplification in metastatic lymph-nodal and haematogenous lobular breast carcinoma. J Exp Clin Cancer Res, 2012. 31: p. 103.
38. Jang M., Kim E., Choi Y., Lee H., Kim Y., Kim J., et al., FGFR1 is amplified during the progression of in situ to invasive breast carcinoma. Breast Cancer Res, 2012. 14 (4): p. R115.
39. Reis-Filho J.S., Simpson P. T., Turner N. C., Lambros M. B., Jones C., Mackay A., et al., FGFR1 emerges as a potential therapeutic target for lobular breast carcinomas. Clin Cancer Res, 2006. 12 (22): p. 6652–6662.
40. Courjal F., Cuny M., Simony-Lafontaine J., Louason G., Speiser P., Zeillinger R., et al., Mapping of DNA amplifications at 15 chromosomal localizations in 1875 breast tumors: definition of phenotypic groups. Cancer Res, 1997. 57 (19): p. 4360–4367.
41. Cuny M., Kramar A., Courjal F., Johannsdottir V., Iacopetta B., Fontaine H., et al., Relating genotype and phenotype in breast cancer: an analysis of the prognostic significance of amplification at eight different genes or loci and of p 53 mutations. Cancer Res, 2000. 60 (4): p. 1077–1083.
42. Ray M. E., Yang Z. Q., Albertson D., Kleer C. G., Washburn J. G., Macoska J. A., et al., Genomic and expression analysis of the 8p11–12 amplicon in human breast cancer cell lines. Cancer Res, 2004. 64 (1): p. 40–47.

43. Easton D. F., Pooley K. A., Dunning A. M., Pharoah P. D., Thompson D., Ballinger D. G., et al., Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. Nature, 2007. 447 (7148): p. 1087–1093.
44. Boyarskikh U. A., Zarubina N. A., Biltueva J. A., Sinkina T. V., Voronina E. N., Lazarev A. F., et al., Association of FGFR2 gene polymorphisms with the risk of breast cancer in population of West Siberia. Eur J Hum Genet, 2009. 17 (12): p. 1688–1691.
45. Fanale D., Amodeo V., Corsini L. R., Rizzo S., Bazan V., Russo A., Breast cancer genome-wide association studies: there is strength in numbers. Oncogene, 2012. 31 (17): p. 2121–2128.
46. Sun S., Jiang Y., Zhang G., Song H., Zhang X., Zhang Y., et al., Increased expression of fibroblastic growth factor receptor 2 is correlated with poor prognosis in patients with breast cancer. J Surg Oncol, 2012. 105 (8): p. 773–779.
47. Sibley K., Stern P., Knowles M. A., Frequency of fibroblast growth factor receptor 3 mutations in sporadic tumours. Oncogene, 2001. 20 (32): p. 4416–4418.
48. Greenman C., Stephens P., Smith R., Dalgliesh G. L., Hunter C., Bignell G., et al., Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. Nature, 2007. 446 (7132): p. 153–158.
49. Kuroso K., Imai Y., Kobayashi M., Yanagimoto K., Suzuki T., Kojima M., et al., Immunohistochemical detection of fibroblast growth factor receptor 3 in human breast cancer: correlation with clinicopathological/molecular parameters and prognosis. Pathobiology, 2010. 77 (5): p. 231–240.
50. Tomlinson D. C., Knowles M. A., Speirs V., Mechanisms of FGFR3 actions in endocrine resistant breast cancer. Int J Cancer, 2012. 130 (12): p. 2857–2866.
51. Lafitte M., Moranvillier I., Garcia S., Peuchant E., Iovanna J., Rousseau B., et al., FGFR3 has tumor suppressor properties in cells with epithelial phenotype. Mol Cancer, 2013. 12: p. 83.
52. Jaakkola S., Salmikangas P., Nylund S., Partanen J., Armstrong E., Pyrhonen S., et al., Amplification of fgfr4 gene in human breast and gynecological cancers. Int J Cancer, 1993. 54 (3): p. 378–382.
53. Meijer D., Sieuwerts A. M., Look M. P., van Agthoven T., Foekens J. A., Dorssers L. C., Fibroblast growth factor receptor 4 predicts failure on tamoxifen therapy in patients with recurrent breast cancer. Endocr Relat Cancer, 2008. 15 (1): p. 101–111.
54. Roidl A., Berger H. J., Kumar S., Bange J., Knyazev P., Ullrich A., Resistance to chemotherapy is associated with fibroblast growth factor receptor 4 up-regulation. Clin Cancer Res, 2009. 15 (6): p. 2058–2066.
55. Becker N., Nieters A., Chang-Claude J., The fibroblast growth factor receptor gene Arg388 allele is not associated with early lymph node metastasis of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003. 12 (6): p. 582–583.
56. Jezequel P., Campion L., Joalland M. P., Millour M., Dravet F., Classe J. M., et al., G388R mutation of the FGFR4 gene is not relevant to breast cancer prognosis. Br J Cancer, 2004. 90 (1): p. 189–193.
57. Spinola M., Leoni V. P., Tanuma J., Pettinicchio A., Frattini M., Signoroni S., et al., FGFR4 Gly388Arg polymorphism and prognosis of breast and colorectal cancer. Oncol Rep, 2005. 14 (2): p. 415–419.
58. Moffa A. B., Tannheimer S. L., Ethier S. P., Transforming potential of alternatively spliced variants of fibroblast growth factor receptor 2 in human mammary epithelial cells. Mol Cancer Res, 2004. 2 (11): p. 643–652.
59. Zisman-Rozen S., Fink D., Ben-Izhak O., Fuchs Y., Brodski A., Kraus M. H., et al., Downregulation of Sef, an inhibitor of receptor tyrosine kinase signaling, is common to a variety of human carcinomas. Oncogene, 2007. 26 (41): p. 6093–6098.
60. McLeskey S.W., Zhang L., El-Ashry D., Trock B. J., Lopez C. A., Kharbanda S., et al., Tamoxifen-resistant fibroblast growth factor-transfected MCF-7 cells are cross-resistant in vivo to the antiestrogen ICI 182,780 and two aromatase inhibitors. Clin Cancer Res, 1998. 4 (3): p. 697–711.
61. Ding L., Getz G., Wheeler D. A., Mardis E. R., McLellan M.D., Cibulskis K., et al., Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. Nature, 2008. 455 (7216): p. 1069–1075.
62. Marks J. L., McLellan M.D., Zakowski M. F., Lash A. E., Kasai Y., Broderick S., et al., Mutational analysis of EGFR and related signaling pathway genes in lung adenocarcinomas identifies a novel somatic kinase domain mutation in FGFR4. PLoS One, 2007. 2 (5): p. e426.
63. Weiss J., Sos M. L., Seidel D., Peifer M., Zander T., Heuckmann J. M., et al., Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically

tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. Sci Transl Med, 2010. 2 (62): p. 62ra93.
64. Thomson S., Petti F., Sujka-Kwok I., Epstein D., Haley J. D., Kinase switching in mesenchymal-like non-small cell lung cancer lines contributes to EGFR inhibitor resistance through pathway redundancy. Clin Exp Metastasis, 2008. 25 (8): p. 843–854.
65. Spinola M., Leoni V., Pignatiello C., Conti B., Ravagnani F., Pastorino U., et al., Functional FGFR4 Gly388Arg polymorphism predicts prognosis in lung adenocarcinoma patients. J Clin Oncol, 2005. 23 (29): p. 7307–7311.
66. Falvella F. S., Frullanti E., Galvan A., Spinola M., Noci S., De Cecco L., et al., FGFR4 Gly388Arg polymorphism may affect the clinical stage of patients with lung cancer by modulating the transcriptional profile of normal lung. Int J Cancer, 2009. 124 (12): p. 2880–2885.
67. Matakidou A., El Galta R., Rudd M. F., Webb E. L., Bridle H., Eisen T., et al., Further observations on the relationship between the FGFR4 Gly388Arg polymorphism and lung cancer prognosis. Br J Cancer, 2007. 96 (12): p. 1904–1907.
68. Sasaki H., Okuda K., Kawano O., Yukiue H., Yano M., Fujii Y., Fibroblast growth factor receptor 4 mutation and polymorphism in Japanese lung cancer. Oncol Rep, 2008. 20 (5): p. 1125–1130.
69. Shou Y., Hirano T., Gong Y., Kato Y., Yoshida K., Ohira T., et al., Influence of angiogenetic factors and matrix metalloproteinases upon tumour progression in non-small-cell lung cancer. Br J Cancer, 2001. 85 (11): p. 1706–1712.
70. Takanami I., Tanaka F., Hashizume T., Kikuchi K., Yamamoto Y., Yamamoto T., et al., The basic fibroblast growth factor and its receptor in pulmonary adenocarcinomas: an investigation of their expression as prognostic markers. Eur J Cancer, 1996. 32A (9): p. 1504–1509.
71. Iwasaki A., Kuwahara M., Yoshinaga Y., Shirakusa T., Basic fibroblast growth factor (bFGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels, as prognostic indicators in NSCLC. Eur J Cardiothorac Surg, 2004. 25 (3): p. 443–448.
72. Brattstrom D., Bergqvist M., Larsson A., Holmertz J., Hesselius P., Rosenberg L., et al., Basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in sera from non-small cell lung cancer patients. Anticancer Res, 1998. 18 (2A): p. 1123–1127.
73. Isa S., Kawaguchi T., Teramukai S., Minato K., Ohsaki Y., Shibata K., et al., Serum osteopontin levels are highly prognostic for survival in advanced non-small cell lung cancer: results from JMTO LC 0004. J Thorac Oncol, 2009. 4 (9): p. 1104–1110.
74. Brattstrom D., Bergqvist M., Hesselius P., Larsson A., Lamberg K., Wernlund J., et al., Elevated preoperative serum levels of angiogenic cytokines correlate to larger primary tumours and poorer survival in non-small cell lung cancer patients. Lung Cancer, 2002. 37 (1): p. 57–63.
75. Donnem T., Al-Shibli K., Al-Saad S., Busund L. T., Bremnes R. M., Prognostic impact of fibroblast growth factor 2 in non-small cell lung cancer: coexpression with VEGFR-3 and PDGF-B predicts poor survival. J Thorac Oncol, 2009. 4 (5): p. 578–585.
76. Bremnes R. M., Camps C., Sirera R., Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. Lung Cancer, 2006. 51 (2): p. 143–158.
77. Kojima H., Shijubo N., Abe S., Thymidine phosphorylase and vascular endothelial growth factor in patients with Stage I lung adenocarcinoma. Cancer, 2002. 94 (4): p. 1083–1093.
78. Oki M., Yamamoto H., Taniguchi H., Adachi Y., Imai K., Shinomura Y., Overexpression of the receptor tyrosine kinase EphA4 in human gastric cancers. World J Gastroenterol, 2008. 14 (37): p. 5650–5656.
79. Yokota J., Yamamoto T., Miyajima N., Toyoshima K., Nomura N., Sakamoto H., et al., Genetic alterations of the c-erbB-2 oncogene occur frequently in tubular adenocarcinoma of the stomach and are often accompanied by amplification of the v-erbA homologue. Oncogene, 1988. 2 (3): p. 283–287.
80. Yashiro M., Nishioka N., Hirakawa K., K-ras mutation influences macroscopic features of gastric carcinoma. J Surg Res, 2005. 124 (1): p. 74–78.
81. Kuniyasu H., Yasui W., Kitadai Y., Yokozaki H., Ito H., Tahara E., Frequent amplification of the c-met gene in scirrhous type stomach cancer. Biochem Biophys Res Commun, 1992. 189 (1): p. 227–232.
82. Tsujimoto H., Sugihara H., Hagiwara A., Hattori T., Amplification of growth factor receptor genes and DNA ploidy pattern in the progression of gastric cancer. Virchows Arch, 1997. 431 (6): p. 383–389.

83. Hattori Y., Odagiri H., Nakatani H., Miyagawa K., Naito K., Sakamoto H., et al., K-sam, an amplified gene in stomach cancer, is a member of the heparin-binding growth factor receptor genes. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. 87 (15): p. 5983–5987.
84. Yoshida T., Sakamoto H., Terada M., Amplified genes in cancer in upper digestive tract. Semin Cancer Biol, 1993. 4 (1): p. 33–40.
85. Jang J. H., Shin K. H., Park J. G., Mutations in fibroblast growth factor receptor 2 and fibroblast growth factor receptor 3 genes associated with human gastric and colorectal cancers. Cancer Res, 2001. 61 (9): p. 3541–3543.
86. Kunii K., Davis L., Gorenstein J., Hatch H., Yashiro M., Di Bacco A., et al., FGFR2-amplified gastric cancer cell lines require FGFR2 and Erbb3 signaling for growth and survival. Cancer Res, 2008. 68 (7): p. 2340–2348.
87. Nakazawa K., Yashiro M., Hirakawa K., Keratinocyte growth factor produced by gastric fibroblasts specifically stimulates proliferation of cancer cells from scirrhous gastric carcinoma. Cancer Res, 2003. 63 (24): p. 8848–8852.
88. Cha J. Y., Maddileti S., Mitin N., Harden T. K., Der C. J., Aberrant receptor internalization and enhanced FRS2-dependent signaling contribute to the transforming activity of the fibroblast growth factor receptor 2 IIIb C3 isoform. J Biol Chem, 2009. 284 (10): p. 6227–6240.
89. Shin E. Y., Lee B. H., Yang J. H., Shin K. S., Lee G. K., Yun H. Y., et al., Up-regulation and co-expression of fibroblast growth factor receptors in human gastric cancer. J Cancer Res Clin Oncol, 2000. 126 (9): p. 519–528.
90. Murase H., Inokuchi M., Takagi Y., Kato K., Kojima K., Sugihara K., Prognostic significance of the co-overexpression of fibroblast growth factor receptors 1, 2 and 4 in gastric cancer. Mol Clin Oncol, 2014. 2 (4): p. 509–517.
91. Ye Y., Shi Y., Zhou Y., Du C., Wang C., Zhan H., et al., The fibroblast growth factor receptor-4 Arg388 allele is associated with gastric cancer progression. Ann Surg Oncol, 2010. 17 (12): p. 3354–3361.
92. Yoshino M., Ishiwata T., Watanabe M., Komine O., Shibuya T., Tokunaga A., et al., Keratinocyte growth factor receptor expression in normal colorectal epithelial cells and differentiated type of colorectal cancer. Oncol Rep, 2005. 13 (2): p. 247–252.
93. Otte J. M., Schmitz F., Banasiewicz T., Drews M., Folsch U. R., Herzig K. H., Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in colorectal cancer. Eur J Clin Invest, 2000. 30 (3): p. 222–229.
94. Jayson G. C., Vives C., Paraskeva C., Schofield K., Coutts J., Fleetwood A., et al., Coordinated modulation of the fibroblast growth factor dual receptor mechanism during transformation from human colon adenoma to carcinoma. Int J Cancer, 1999. 82 (2): p. 298–304.
95. Goke F., Goke A., von Massenhausen A., Franzen A., Sharma R., Kirsten R., et al., Fibroblast growth factor receptor 1 as a putative therapy target in colorectal cancer. Digestion, 2013. 88 (3): p. 172–181.
96. Matsuda Y., Ishiwata T., Yamahatsu K., Kawahara K., Hagio M., Peng W. X., et al., Overexpressed fibroblast growth factor receptor 2 in the invasive front of colorectal cancer: a potential therapeutic target in colorectal cancer. Cancer Lett, 2011. 309 (2): p. 209–219.
97. Visco V., Belleudi F., Marchese C., Leone L., Aimati L., Cardinali G., et al., Differential response to keratinocyte growth factor receptor and epidermal growth factor receptor ligands of proliferating and differentiating intestinal epithelial cells. J Cell Physiol, 2004. 200 (1): p. 31–44.
98. Watanabe M., Ishiwata T., Nishigai K., Moriyama Y., Asano G., Overexpression of keratinocyte growth factor in cancer cells and enterochromaffin cells in human colorectal cancer. Pathol Int, 2000. 50 (5): p. 363–372.
99. Narita K., Fujii T., Ishiwata T., Yamamoto T., Kawamoto Y., Kawahara K., et al., Keratinocyte growth factor induces vascular endothelial growth factor-A expression in colorectal cancer cells. Int J Oncol, 2009. 34 (2): p. 355–360.
100. Kudo M., Ishiwata T., Nakazawa N., Kawahara K., Fujii T., Teduka K., et al., Keratinocyte growth factor-transfection-stimulated adhesion of colorectal cancer cells to extracellular matrices. Exp Mol Pathol, 2007. 83 (3): p. 443–452.
101. Matsuike A., Ishiwata T., Watanabe M., Asano G., Expression of fibroblast growth factor (FGF) –10 in human colorectal adenocarcinoma cells. J Nippon Med Sch, 2001. 68 (5): p. 397–404.
102. Sato T., Oshima T., Yoshihara K., Yamamoto N., Yamada R., Nagano Y., et al., Overexpression of the fibroblast growth factor receptor-1 gene correlates with liver metastasis in colorectal cancer. Oncol Rep, 2009. 21 (1): p. 211–216.
103. Jang J. H., Shin K. H., Park Y. J., Lee R. J., McKeehan W.L., Park J. G., Novel transcripts of

fibroblast growth factor receptor 3 reveal aberrant splicing and activation of cryptic splice sequences in colorectal cancer. Cancer Res, 2000. 60 (15): p. 4049–4052.
104. Desnoyers L. R., Pai R., Ferrando R. E., Hotzel K., Le T., Ross J., et al., Targeting FGF19 inhibits tumor growth in colon cancer xenograft and FGF19 transgenic hepatocellular carcinoma models. Oncogene, 2008. 27 (1): p. 85–97.
105. Henriksson M. L., Edin S., Dahlin A. M., Oldenborg P. A., Oberg A., Van Guelpen B., et al., Colorectal cancer cells activate adjacent fibroblasts resulting in FGF1/FGFR3 signaling and increased invasion. Am J Pathol, 2011. 178 (3): p. 1387–1394.
106. Liu R., Li J., Xie K., Zhang T., Lei Y., Chen Y., et al., FGFR4 promotes stroma-induced epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer. Cancer Res, 2013. 73 (19): p. 5926–5935.
107. Bange J., Prechtl D., Cheburkin Y., Specht K., Harbeck N., Schmitt M., et al., Cancer progression and tumor cell motility are associated with the FGFR4 Arg (388) allele. Cancer Res, 2002. 62 (3): p. 840–847.
108. Turkington R. C., Longley D. B., Allen W. L., Stevenson L., McLaughlin K., Dunne P. D., et al., Fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4): a targetable regulator of drug resistance in colorectal cancer. Cell Death Dis, 2014. 5: p. e1046.
109. Knights, V. and S. J. Cook, De-regulated FGF receptors as therapeutic targets in cancer. Pharmacol Ther, 2010. 125 (1): p. 105–17.
110. Taylor, S.K., et al., A phase II study of pazopanib in patients with recurrent or metastatic invasive breast carcinoma: a trial of the Princess Margaret Hospital phase II consortium. Oncologist, 2010. 15 (8): p. 810–8.
111. Cristofanilli, M., et al., A randomized phase II study of lapatinib + pazopanib versus lapatinib in patients with HER2+ inflammatory breast cancer. Breast Cancer Res Treat, 2013. 137 (2): p. 471–82.
112. Brady, J., et al., An open-label study of the safety and tolerability of pazopanib in combination with FOLFOX6 or CapeOx in patients with colorectal cancer. Invest New Drugs, 2013. 31 (5): p. 1228–35.
113. Shiang, C.Y., et al., Amplification of fibroblast growth factor receptor-1 in breast cancer and the effects of brivanib alaninate. Breast Cancer Res Treat, 2010. 123 (3): p. 747–55.
114. Siu, L., et al., NCIC Clinical Trials Group and AGITG: Phase III randomized trial of cetuximab (CET) plus either brivanib alaninate (BRIV) or placebo in patients (pts) with metastatic (MET) chemotherapy refractory K-RAS wild-type (WT) colorectal carcinoma (CRC): The NCIC Clinical Trials Group and AGITG CO. 20 trial. J Clin Oncol, 2012. 30 (suppl 4): p. 3504.
115. Dempke, W.C. and R. Zippel, Brivanib, a novel dual VEGF-R2/bFGF-R inhibitor. Anticancer Res, 2010. 30 (11): p. 4477–83.
116. Du Bois, A., et al. AGO-OVAR 12: A randomized placebo-controlled GCIG/ENGOT-INTERGROUP phase III trial of standard frontline chemotherapy plus/- nintedanib for advanced ovarian cancer. Internatioanal Journal of Gynecological Cancer. 2013.
117. Raja, F., et al., Randomized double-blind phase III trial of cediranib (AZD 2171) in relapsed platinum sensetive ovarisn cancer: results of the ICON6 trial. International Journal of Cynecological Cancer, 2013. 23 (8)
118. Konecny G, F.N., Garcia A, et al., Phase 2 study of second-line dovitinib (TKI258) in patients with fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) -mutated or nonmutated advanced and/or metastatic endometrial cancer.ESMO2014. LBA27.
119. Zhang, H., et al., FP-1039 (FGFR1: Fc), a soluble FGFR1 receptor antagonist, inhibits tumor growth and angiogenesis. Molecular Cancer Therapeutics, 2007. 6 (11 Supplement): p. B55-B55.