

# Молекулярно-генетические аспекты внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака: обзор литературы

Б.Н. Гурмиков, Ю.А. Коваленко, В.А. Вишнеvский, А.В. Чжао

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишнеvского» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Большая Серпуховская, 27

**Контакты:** Беслан Нуралиевич Гурмиков [gurmikov@mail.ru](mailto:gurmikov@mail.ru)

Современная концепция как терапии, так и хирургического лечения внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака должна учитывать достижения молекулярной биологии и современные принципы стадирования заболевания. Детальное понимание молекулярных (генетических и эпигенетических) нарушений, лежащих в основе патогенеза холангиокарциномы, позволит улучшить результаты хирургического лечения и расширит возможности персонализированной (таргетной) терапии. Основанное на новых данных о холангиокарциногенезе молекулярное профилирование опухолей желчных протоков может быть наиболее целесообразным для подбора лечения в случаях, рефрактерных к стандартной терапии. Современные потенциальные мишени таргетной терапии включают рецепторы эндотелиального фактора роста, фактора роста фибробластов, MET тирозинкиназы, сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR и мутации изоцитратдегидрогеназы. В обзоре рассматриваются молекулярно-генетические аспекты, лежащие в основе патогенеза, и современные принципы стадирования внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака.

**Ключевые слова:** внутрипеченочный холангиоцеллюлярный рак, молекулярно-генетические аспекты, таргетная терапия, стадирование

**Для цитирования:** Гурмиков Б.Н., Коваленко Ю.А., Вишнеvский В.А., Чжао А.В. Молекулярно-генетические аспекты внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака: обзор литературы. *Успехи молекулярной онкологии* 2019;6(1):37–43.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-1-37-43

## Molecular genetic aspects of intrahepatic cholangiocarcinoma: literature review

B.N. Gurmikov, Yu.A. Kovalenko, V.A. Vishnevsky, A.V. Chzhao

A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Ministry of Health of Russia; 27 Bol'shaya Serpukhovskaya St., Moscow 117997 Russia

The modern concept of therapy for intrahepatic cholangiocarcinoma including surgical treatment, must take into account the achievements of molecular biology and modern staging principles. A detailed understanding of the molecular genetic (genetic and epigenetic) disorders underlying the pathogenesis of cholangiocarcinoma is important, which will improve the results of surgical treatment and expand the possibilities of personalized (targeted) therapy. Based on new data on cholangiocarcinogenesis, molecular profiling of bile duct tumors may be most appropriate for the selection of treatment in cases refractory to standard therapy. Current potential target therapy targets include endothelial growth factor receptors, fibroblast growth factor, MET tyrosine kinase, PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and isocitrate dehydrogenase mutation. The review considers the molecular-genetic aspects underlying the pathogenesis and modern principles of staging intrahepatic cholangiocarcinoma.

**Key words:** intrahepatic cholangiocarcinoma, molecular genetic aspects, targeted therapy, staging

**For citation:** Gurmikov B.N., Kovalenko Yu.A., Vishnevsky V.A., Chzhao A.V. Molecular genetic aspects of intrahepatic cholangiocarcinoma: literature review. *Uspekhii molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(1):37–43.

Внутрипеченочный холангиоцеллюлярный рак (ВПХЦР) – агрессивная злокачественная опухоль с высокой летальностью и риском развития рецидива заболевания после радикального хирургического лечения [1, 2]. Особенностью данной опухоли является длительное бессимптомное течение, вследствие чего на момент обращения выявляются распространенные формы заболевания с региональными и отдаленными метастазами [3]. Современная концепция терапии злокачественных новообразований учитывает успехи мо-

лекулярной биологии, в том числе и при планировании хирургического вмешательства. К сожалению, при холангиоцеллюлярном раке (ХЦР) существующие общепринятые схемы терапии обладают недостаточной эффективностью [2]. Поэтому важное значение имеет детальное понимание молекулярно-генетических нарушений, лежащих в основе патогенеза холангиокарциномы, позволяющее улучшить результаты хирургического лечения и расширить возможности персонализированной терапии ВПХЦР.

### Молекулярно-генетические аспекты холангиокарциногенеза

Процесс холангиокарциногенеза запускается воздействием таких медиаторов воспаления, как цитокины, факторы роста опухоли, тирозинкиназы и желчные кислоты, которые нарушают клеточную пролиферацию, регуляцию клеточного цикла, а также угнетают апоптоз [4]. Некоторые медиаторы воспаления через активацию NO-синтазы способствуют образованию избыточного количества оксида. Последний обладает цитотоксическим эффектом и, являясь высокорекреационноспособным радикалом, взаимодействует с компонентами различных биологических мембран, а также повреждает структуру ДНК вследствие ее дезаминирования. Кроме этого, оксид азота угнетает активность рибонуклеотидредуктазы – фермента, восстанавливающего гидроксил при С2 рибозы, и таким образом, обеспечивающего необходимый пул нуклеозидтрифосфатов для репарации ДНК [5]. На дальнейшее выживание клеток с поврежденной ДНК влияет медиатор воспаления – интерлейкин 6 (IL-6), секретируемый стромальным клеточным окружением, увеличивающий пролиферативную активность [6]. В дальнейшем IL-6 активирует MCL1 (ингибитор апоптоза), связанный с активацией транскрипции STAT (signal transducer and activator of transcription) и протеинкиназы B (Akt). В свою очередь, транскрипция MCL1 активирует IL-6 в сигнальном пути MAPK. IL-6 активирует киназы JAK1 и JAK2, а через них – STAT3 [7]. Активируется воспалительный сигнальный путь, что приводит к некоторому снижению апоптоза – важнейшего процесса, направленного на уничтожение клетки с поврежденной ДНК. Таким образом, хронический воспалительный процесс индуцирует через медиаторы воспаления пролиферацию клеток, повреждение структуры ДНК и угнетение апоптоза, которые в комплексе приводят к трансформации нормальной клетки в опухолевую [8].

В эмбриогенезе билиарного тракта ключевую роль играют сигнальные пути, нарушение регуляции которых ассоциировано с онкогенезом ХЦП. Такими сигнальными путями являются Notch и Hedgehog. Активация сигнального пути Notch способствует переходу нормальных гепатоцитов в билиарные клетки-предшественники ВПХЦП. Экспериментально показано, что гиперэкспрессия Notch 1 ведет к развитию ВПХЦП, а ингибитор  $\gamma$ -секретазы, расщепляющей Notch, подавляет онкогенез [8, 9]. Также нарушения сигнального пути Hedgehog ассоциированы с развитием ХЦП. Ингибирование Hedgehog циклопамином тормозит миграцию, пролиферацию и снижает инвазивность клеток ХЦП [8, 10].

Сигнальный путь Wnt также участвует в развитии внутрипеченочных желчных путей [11]. Известно, что путь Wnt высокоактивирован при ХЦП. Ингибирование передачи сигналов Wnt с помощью ингибиторов Wnt в моделях мышей и крыс заметно снижает пролиферацию холангиокарциномы и увеличивает

апоптоз, что приводит к регрессии опухоли [12]. Кроме этого, установлена роль сигнального пути p44/42 MAPK, который запускается активацией эпидермального фактора роста (EGFR). Роль последнего как индуктора развития опухоли из билиарного эпителия при развитии ХЦП также установлена в экспериментальных работах [13].

Нарушение регуляции сигнального пути PI3K/PTEN/Akt/mTOR играет ключевую роль в патогенезе ВПХЦП. Снижение экспрессии PTEN является независимым предиктором низкой общей выживаемости больных ВПХЦП в послеоперационном периоде [14].

При изучении патогенеза ВПХЦП исследуются механизмы, связанные с генетическими нарушениями. В работах ряда авторов изучалось влияние хромосомных aberrаций (дупликации, делеции, амплификации), генетических и эпигенетических нарушений в генах-супрессорах и онкогенах. При исследовании образцов опухолевой ткани 98 пациентов с ВПХЦП выявлены хромосомные делеции 1p, 4q, 8p, 9p, 17p и 18q и дупликации на 5p, 7p, 8q, 17q и 20q [8, 15]. Немаловажную роль в холангиокарциногенезе играет нарушение регуляции клеточного цикла и апоптоза: по данным исследования опухолевой ДНК у 229 пациентов с ХЦП, мутации TP53 встречались в 21 % случаев [8, 16].

Частота встречаемости мутаций KRAS выше для дистальных форм ХЦП, чем для ВПХЦП (40 и 9–24 % соответственно). Тем не менее это одно из самых распространенных генетических нарушений при ВПХЦП [17].

Доказана ассоциация соматических мутаций в генах, кодирующих изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1 и IDH2) с развитием ХЦП. Мутации IDH встречаются в 28 % случаев ВПХЦП. Нарушения этих генов ассоциированы с повышением количества мутаций в гене TP53 и гиперметилированием ДНК [8, 18]. Ингибиторы IDH изучаются в целях таргетной терапии ХЦП. При выявлении мутации гена IDH у пациентов после проведенного хирургического лечения 3-летняя выживаемость достоверно ниже (33 % против 81 %). Кроме этого, мутации IDH чаще выявляются у пациентов с ВПХЦП по сравнению с внепеченочными ХЦП (28 и 7 % соответственно) [19].

### Эпигенетические нарушения при внутрипеченочном холангиоцеллюлярном раке

В последнее время в работах зарубежных авторов большое внимание уделяется эпигенетическим нарушениям при ВПХЦП, в частности гиперметилированию ДНК и модификациям гистонов, которые участвуют в регуляции экспрессии генов. Следует отметить, что гиперметилирование ДНК может быть индуцировано хроническим воспалительным процессом [20].

Снижение экспрессии генов-супрессоров при гиперметилировании ДНК ассоциировано с повышением нестабильности ДНК. Гиперметилирование ДНК, наблюдаемое при ВПХЦП, приводит к снижению

экспрессии генов-супрессоров: *CDKN2* (83 % случаев ХЦП), *SOCS3* (62 %), *RASSF1A* (69 %) и *APC* (47 %) [16]. В работе Т. Накаока и соавт. сообщается, что при гиперметилировании происходит подавление экспрессии генов *MHL1*, *p14*, *DARK* (death-associated protein kinase). Указанные изменения ассоциированы с ХЦП. К генам, наиболее часто подвергающимся метилированию при ВПХЦП, относятся *CCDN2*, *CDY13*, *GRIN2B*, *RUNX3*, *TWIST1*. В работах вышеуказанных авторов также сообщается об эффективности эпигенетической терапии препаратами, ингибирующими метилирование ДНК, у пациентов с ХЦП [21].

В нескольких исследованиях показано, что гиперметилирование ДНК в промоторной области гена *MLH1*, участвующего в процессах репарации ДНК, связано с неблагоприятным прогнозом пациентов с холангиокарциномой [22].

Х. Ф. Liu и соавт. продемонстрировали, что подавление транскрипции гена *DAPK* путем гиперметилирования ДНК приводит к снижению активности апоптоза [23].

Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК, регулируют не только белоккодирующие гены, но также кодирующие микроРНК [20]. Последние могут взаимодействовать с матричной РНК различных генов-мишеней как онкогенов, так и супрессоров опухолевого роста, и участвовать в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии этих генов путем РНК-интерференции. В работах разных авторов показано, что экспрессия miR-370 инактивируется ДНК-метилированием в клетках холангиокарциномы [24, 25]. МикроРНК играют важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе и дифференцировке клеток.

Эпигенетические лекарственные препараты, такие как ингибиторы метилирования ДНК и ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), являются перспективными для лечения ХЦП. В нескольких исследованиях изучалась эффективность ингибиторов ДНК-метилирования. Зебуларин обладает противоопухолевым действием при холангиокарциноме благодаря ингибированию ДНК-метилтрансфераз [26]. Главный недостаток таких препаратов — неспецифичность их действия, поэтому продолжается поиск препаратов, которые бы более избирательно метилировали CpG-островки в промоторах генов-супрессоров. Ожидается, что такие препараты позволят уменьшить побочные эффекты эпигенетической терапии ХЦП [27].

В процессе холангиокарциногенеза немаловажную роль играют **стромы и опухолевое микроокружение**. ВПХЦП характеризуется повышенным содержанием в стромальной ткани опухолеассоциированных фибробластов, способствующих прогрессированию опухолевого процесса [28].

Детальные механизмы взаимодействия опухоли и стромы до конца не изучены. С учетом влияния стромы на прогрессирование ХЦП важное значение

имеет перспектива поиска таргетного воздействия на опухолеассоциированные фибробласты.

### Молекулярное профилирование опухолей желчных путей и таргетная терапия

С учетом ограниченной эффективности традиционной химиотерапии в отношении нерезектабельных форм ВПХЦП интерес представляет поиск новых методов лечения. В свою очередь, использование методов высокопроизводительного секвенирования нового поколения позволяет расширить представления о патогенезе ВПХЦП и определить ключевые молекулярные мишени для таргетной терапии [2].

Основанное на новых данных о холангиокарциногенезе молекулярное профилирование опухолей желчных протоков может быть наиболее целесообразным для подбора лечения в случаях, рефрактерных к стандартной терапии.

**EGFR-ингибиторы.** Рецепторы EGFR (EGFR; ErbB-1; HER1) входят в группу семейства тирозинкиназ. Активируясь в результате точечной мутации, EGFR запускает каскад нескольких сигнальных путей (в частности, RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/Akt/mTOR, JAK/STAT). Эти сигнальные пути играют важную роль в регуляции дифференцировки клеток, пролиферации, миграции и ангиогенеза. Гиперэкспрессия EGFR встречается у 10–32 % пациентов с внутривенной холангиокарциномой [29]. Результаты нескольких доклинических исследований продемонстрировали, что ингибирование мутантного EGFR позволяет эффективно подавлять рост клеток и индуцировать апоптоз клеток с данной мутацией [30]. Результаты клинических испытаний II фазы также продемонстрировали эффективность анти-EGFR-терапии такими препаратами, как цетуксимаб (моноклональные антитела к внеклеточному домену EGFR) и эрлотиниб (ингибитор тирозинкиназного домена EGFR) отдельно или в сочетании с гемцитабином и оксалиплатином (GEMOX) в терапии пациентов с прогрессирующим раком желчных протоков [31]. По данным J. Lee и соавт., в исследовании III фазы при анализе подгруппы из 84 пациентов с ХЦП добавление эрлотиниба к химиотерапии сопровождалось увеличением безрецидивной выживаемости (5,9 мес) [32].

**Ингибиторы FGFR2.** Трансмембранные рецепторные тирозинкиназы семейства рецептора фактора роста фибробластов (FGFR) участвуют в регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки, миграции и выживания клеток. FGFR2 является членом семейства FGFR (FGFR1–4), его геномные aberrации выявляются у пациентов с ВПХЦП с частотой 3–50 % [33]. Выявление роли FGFR-сигнализации в патогенезе ВПХЦП открыло новые возможности для таргетной терапии заболевания с применением FGFR-селективных и FGFR-неселективных ингибиторов, а также моноклональных антител к FGFR2.

В доклиническом исследовании S. Rizvi и соавт. сообщили, что ингибирование FGFR препаратом BGJ398 индуцировало гибель клеточных линий ВПХЦР и значительно снижало прогрессию опухоли в мышинных моделях и ксенографтах ВПХЦР [34]. M.J. Vora и соавт. использовали понатиниб, неселективный FGFR-ингибитор, при лечении 2 пациентов с прогрессирующим ВПХЦР после системной химиотерапии. У 1-го пациента с хромосомной перестройкой, которая привела к образованию слитного белка FGFR2-MGEA5, лечение с помощью понатиниба способствовало снижению сывороточного уровня антигена 19-9 (CA 19-9) и индуцировало некроз опухоли. У 2-го пациента с химерным геном *FGFR2-TACC3* терапия понатинибом привела к стабилизации заболевания [35].

По данным J.C. Soria и соавт., результаты клинических исследований I фазы свидетельствуют о потенциальной эффективности анти-FGFR-терапии при мутациях генов *FGFR1-3*. Частота объективного эффективного ответа составила 27 %, а отсутствие прогрессирования заболевания было достигнуто у 60 % пациентов [36].

В настоящее время проходят исследования II фазы понатиниба в лечении пациентов с прогрессирующими формами холангиокарцином с выявленными генетическими абберациями FGFR.

#### **Ингибиторы пути передачи сигналов HGF/MET.**

Рецептор фактора роста гепатоцитов (HGF) MET представляет собой тирозинкиназный рецептор, гиперэкспрессия которого, по данным разных авторов, определяется в 12–58 % опухолей (ВПХЦР). MET активируется лигандом HGF, который индуцирует MET-киназу и запускает ряд процессов, обеспечивающих инвазивный рост опухоли [37].

Существует несколько молекулярных мишеней для прерывания пути HGF/MET, включая ингибирование взаимодействия между HGF и MET-рецептором, прямое ингибирование MET-тирозинкиназы. Разработка ингибиторов MET все еще находится на ранней стадии. Новый препарат LY2801653 ингибирует пролиферацию, миграцию и инвазию клеточных линий холангиокарциномы, а также подавляет рост опухолей ксенотрансплантата [38]. В I фазе клинических испытаний участвовали 73 пациента с солидными опухолями, и полученные результаты свидетельствовали о хорошей переносимости и безопасности его комбинации с тивантинибом (с-MET ингибитор) и гемцитабином. В этом исследовании у 26 (46 %) пациентов продемонстрирована стабилизация заболевания [39].

**Ингибиторы IDH.** Фермент IDH участвует в цикле Кребса, катализирует превращение изоцитрата в  $\alpha$ -кетоглутарат. Мутации *IDH* усиливают образование 2-гидроксиглутарата (2-HG) из  $\alpha$ -кетоглутарата, что ассоциировано с более высоким метилированием ДНК и, в свою очередь, способствует клеточной пролиферации, инвазии, выживанию и неоангиогенезу. Мутации 2 генов семейства, *IDH1* и *IDH2*, идентифицированы у 15–22 % пациентов с ВПХЦР. Для ВПХЦР с мута-

цией *IDH1/2* результаты клинических исследований I фазы свидетельствуют о потенциальной эффективности анти-IDH-терапии (препараты AGI-5198 и AGI-6780). Частота ответа на терапию составила 6 %, а стабилизация заболевания – 56 %, 6-месячная выживаемость без рецидива – 40 % [40].

**Ингибиторы ROS1.** ROS1 представляет собой рецепторную тирозинкиназу, кодируемую геном *ROS1*. Транслокация гена *ROS1* обнаруживается у 1–9 % пациентов с ВПХЦР [41]. Онкогенная роль химерных белков, образованных с участием ROS1, подтверждается данными исследований, демонстрирующими усиление холангиокарциногенеза на экспериментальных мышинных моделях. В доклинических исследованиях форетиниб ингибировал холангиокарциногенез, ассоциированный с транслокациями FIG-ROS. Этот препарат продемонстрировал клиническую эффективность при установленной резистентности к другому ингибитору ROS1 – кризотинибу [42].

**Ингибиторы пути передачи сигналов PI3K/PTEN/Akt/mTOR.** PI3K/Akt/mTOR – внутриклеточные сигнальные пути, приводящие к активации нескольких тирозинкиназ, включая EGFR, HER2 и MET.

PTEN является естественным ингибитором этих путей. Нарушение регуляции пути PI3K способствует развитию опухоли, пролиферации и выживаемости клеток, повышению инвазивности опухоли и неоангиогенеза. Активация этого сигнального пути также может играть ключевую роль в патогенезе ВПХЦР [43]. F. Ewald и соавт. сообщают об эффективности ингибитора mTOR (RAD001) в подавлении пролиферации клеточных линий ХЦР [44]. В этом исследовании ингибирование Akt препаратом МК-2206 дополнительно усиливало эффект ингибирования mTOR как *in vitro*, так и в экспериментальных моделях на животных. Кроме этого, синергическая противоопухолевая активность двойного ингибирования путей PI3K/mTOR и HSP90, а также путей PI3K/Akt/mTOR и RAF/MEK/ERK доказана в доклинических исследованиях для ХЦР. В I фазе клинического исследования В.А. Costello и соавт. продемонстрировали эффективность эверолимуса (ингибитора mTOR) в сочетании с гемцитабином и цисплатином для пациентов с ХЦР, устойчивым к химиотерапии [45].

**Ингибиторы RAS/RAF/MEK/ERK.** Сигнальный путь RAS/RAF/MEK/ERK, также известный как путь MAPK/ERK, играет важную роль в регуляции дифференцировки, миграции и инвазии клеток. Каскад MAPK/ERK часто активирован при ХЦР, что может быть использовано в таргетной терапии. К сожалению, попытки прямого ингибирования мутантного RAS пока не дали значимых результатов, поэтому в последнее время усилия сосредоточены на непрямых способах блокирования активности RAS и регулируемых им компонентов данного сигнального каскада [46].

**JAK/STAT-ингибиторы.** Роль нарушения сигнального пути IL-6/JAK/STAT в патогенезе ВПХЦР

доказана. Взаимодействие IL-6 с рецепторами gp130 индуцирует фосфорилирование связанных с gp130 JAK-киназ (JAK1, JAK2 и TYK2) с последующей активацией STAT3 и экспрессией MCL1. Активация сигнального пути JAK/STAT выявлена в 50 % случаев ВПХЦР. Следовательно, компоненты IL-6/JAK/STAT-пути могут рассматриваться в качестве мишеней для молекулярно направленной терапии. Однако возможность применения антител к IL-6 в терапии ВПХЦР нуждается в дальнейшем изучении [47].

Результаты данных исследований демонстрируют потенциал индивидуализированного подхода к терапии злокачественных опухолей на основе данных молекулярного профилирования опухолевой ткани.

### **Влияние данных о молекулярно-биологических особенностях внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака на современный подход к стадированию заболевания**

В 2017 г. Американский объединенный комитет по изучению рака (AJCC) пересмотрел существующую систему классификации TNM и была издана ее 8-я редакция. В новом издании классификации перидуктальная инвазия исключена как прогностический фактор, в то же время новым параметром стадирования является размер опухоли (>5 см или <5 см) [48].

При стадировании заболевания, кроме клинико-анатомических характеристик, учитываются также данные об особенностях ВПХЦР, полученные на основе генетического профилирования и молекулярно-биологических исследований. В частности, учитывается наличие в опухоли мутации *FGFR2*.

### **Заключение**

Внутрипеченочный холангиоцеллюлярный рак — крайне агрессивная злокачественная опухоль, ее лечение должно быть комплексным с учетом молекулярно-биологических особенностей. Исходя из этого перспективным является молекулярно-генетическое исследование опухоли (высокопроизводительное секвенирование (NGS), флуоресцентная гибридизация *in situ*) в целях выявления различных генетических мутаций. Результаты этих исследований должны быть учтены при диагностике, стадировании и составлении схемы лечения пациентов с ВПХЦР. Эти исследования позволят выявить возможные мишени (специфические мутации) для персонализированной таргетной терапии. В настоящее время потенциальные мишени для таргетной терапии включают рецептор MET тирозинкиназы, сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR и мутации *IDH*.

Особый интерес представляют поиски новых методов ранней диагностики ВПХЦР, эффективного сочетания хирургии и химиотерапии. Таким образом, с учетом существующих в настоящее время неудовлетворительных результатов хирургического лечения ВПХЦР актуальным остается проведение исследований по поиску новых эффективных биомаркеров ранней диагностики (скрининга) заболевания, а также молекулярно-генетических маркеров эффективности хирургического лечения ВПХЦР и новых эффективных таргетных препаратов. Проблему лечения резектабельного ВПХЦР следует решать сочетанием хирургического лечения и таргетной терапии, основанной на результатах молекулярно-генетического профилирования опухоли.

## **ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES**

1. Гришечкина И.А., Викторова И.А., Трухан Д.И., Кондратьева Н.А. Актуальные аспекты диагностики внутрипеченочной холангиокарциномы. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований 2016;11(1):61–5. [Grishechkina I.A., Viktorova I.A., Trukhan D.I., Kondratyeva N.A. Actual aspects of diagnostics of intrahepatic cholangiocarcinoma. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research 2016;11(1):61–5. (In Russ.)].
2. Rahnemai-Azar A.A., Weisbrod A.B., Dillhoff M. et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: current management and emerging therapies. Expert Rev Gastroenterol Hepatol 2017;11(5):439–49. DOI: 10.1080/17474124.2017.1309290. PMID:28317403.
3. Buettner S., van Vugt J., Ijzermans J.N., Groot Koerkamp B. Intrahepatic cholangiocarcinoma: current perspectives. Onco Targets Ther 2017;10:1131–42. DOI: 10.2147/OTT.S93629. PMID: 28260927.
4. Blechacz B.G., Feldman G.J. Tumors of the bile ducts, gallbladder, and ampulla. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease 2010;1:1171–6. DOI: https://doi.org/10.4143/crt.2015.497. PMID: 24140396.
5. Jaiswal M., LaRusso N.F., Burgart L.J., Gores G.J. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. Cancer Res 2000;60(1):184–90. PMID: 10646872.
6. Park J., Tadlock L., Gores G.J., Patel T. Inhibition of interleukin 6-mediated mitogen-activated protein kinase activation attenuates growth of a cholangiocarcinoma cell line. Hepatology 1999;30:1128–33. DOI: 10.1002/hep.510300522. PMID: 10534331.
7. Isomoto H., Kobayashi S., Werneburg N.W. et al. Interleukin 6 upregulates myeloid cell leukemia-1 expression through a STAT3 pathway in cholangiocarcinoma cells. Hepatology 2005;42(6):1329–38. DOI:10.1002/hep.20966. PMID: 10534331.
8. Ротин Д.Л. Холангиоцеллюлярная карцинома сегодня. Литературный аналитический обзор. Злокачественные опухоли 2015;3(14):3–16. DOI: 10.18027/2224-5057-2015-3-3-16. [Rotin D.L. Cholangiocarcinoma today. Literary analytical review. Zlokachestvennye opukhohli = Malignant tumors 2015;3(14):3–16. (In Russ.)].
9. Zender S., Nickeleit I., Wuestefeld T. et al. A critical role for notch signaling in the formation of cholangiocellular carcinomas. Cancer Cell 2013;23(6):784–95. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.04.019. PMID: 23727022.
10. Jinawath A., Akiyama Y., Sriya B., Yuasa Y. Dual blockade of the Hedgehog

- and ERK1/2 pathways coordinately decreases proliferation and survival of cholangiocarcinoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007;133:271–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-006-0166-9>. PMID: 17294242.
11. Sirica A.E., Nathanson M.H., Gores G.J., Larusso N.F. Pathobiology of biliary epithelia and cholangiocarcinoma: proceedings of the Henry M. and Lillian Stratton Basic Research Single-Topic-Conference. *Hepatology* 2008;48(6):2040–6. DOI: 10.1002/hep.22623. PMID: 18855901.
  12. Boulter L., Guest R.V., Kendall T.J. et al. WNT signaling drives cholangiocarcinoma growth and can be pharmacologically inhibited. *J Clin Invest* 2015;125(3):1269–85. DOI: 10.1172/JCI76452. PMID: 25689248.
  13. Kiguchi K., Carbajal S., Chan K. et al. Constitutive expression of ErbB-2 in gallbladder epithelium results in development of adenocarcinoma. *Cancer Res* 2001;61(19):6971–6. PMID:11585718.
  14. Chen M.H., Chiang K.C., Cheng C.T. et al. Antitumor activity of the combination of an HSP90 inhibitor and a PI3K/mTOR dual inhibitor against cholangiocarcinoma. *Oncotarget* 2014;5(9):2372–89. DOI: 10.18632/oncotarget.1706. PMID: 24796583.
  15. Ghouri Y.A., Mian I., Blechacz B. Cancer review: cholangiocarcinoma. *J Carcinog* 2015;14:1. DOI: 10.4103/1477-3163.151940. PMID: 25788866.
  16. Sia D., Tovar V., Moeini A., Llovet J.M. Intrahepatic cholangiocarcinoma: pathogenesis and rationale for molecular therapies. *Oncogene* 2013;32(41):4861–70. DOI: 10.1038/onc.2012.617. PMID: 23318457.
  17. Xu R.F., Sun J.P., Zhang S.R. et al. KRAS and PIK3CA but not BRAF genes are frequently mutated in Chinese cholangiocarcinoma patients. *Biomed Pharmacother* 2011;65(1):22–6. DOI: 10.1016/j.biopha.2010.06.009. PMID: 21051183.
  18. Borger D.R., Tanabe K.K., Fan K.C. et al. Frequent mutation of isocitrate dehydrogenase (IDH)1 and IDH2 in cholangiocarcinoma identified through broad based tumor genotyping. *Oncologist* 2012;17:72–9. DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0386. PMID: 22180306.
  19. Kipp B.R., Voss J.S., Kerr S.E. et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cholangiocarcinoma. *Hum Pathol* 2012;43:1552–8. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.12.007. PMID: 22503487.
  20. Oishi N., Kumar M.R., Roessler S. et al. Transcriptomic profiling reveals hepatic stem-like gene signatures and interplay of miR-200c and epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatology* 2012;56(5):1792–803. DOI: 10.1002/hep.25890. PMID: 22707408.
  21. Nakaoka T., Saito Y., Saito H. Aberrant DNA methylation as a biomarker and therapeutic target of cholangiocarcinoma. *Int J Mol Sci* 2017;18(6):1111. DOI: 10.3390/ijms18061111. PMID: 28545228.
  22. Limpiboon T., Khaenam, P., Chinnasri P. et al. Promoter hypermethylation is a major event of hMLH1 gene inactivation in liver fluke related cholangiocarcinoma. *Cancer Lett* 2005;217:213–9. DOI: 10.1016/j.canlet.2004.06.020. PMID: 15617839.
  23. Liu X.F., Kong F.M., Xu Z. et al. Promoter hypermethylation of death-associated protein kinase gene in cholangiocarcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007;6:407–11. PMID: 17690039.
  24. Meng F., Wehbe-Janeck H., Henson R. et al. Epigenetic regulation of microRNA-370 by interleukin-6 in malignant human cholangiocytes. *Oncogene* 2008;27:378–86. DOI: 10.1038/sj.onc.1210648. PMID: 17621267.
  25. Pan X.P., Huang L.H., Wang X. MiR-370 functions as prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017;21(16):3581–5. PMID: 28925487.
  26. Hibino S., Saito Y., Muramatsu T. et al. Inhibitors of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) activate tumor-suppressor microRNAs in human cancer cells. *Oncogenesis* 2014;3:104. DOI: 10.1038/onsis.2014.17. PMID: 24861464.
  27. Uhm K.O., Lee E.S., Lee Y.M. et al. Aberrant promoter CpG islands methylation of tumor suppressor genes in cholangiocarcinoma. *Oncol Res* 2008;17(4):151–7. PMID:18773859.
  28. Sirica A.E. The role of cancer-associated myofibroblasts in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9(1):44–54. DOI: 10.1038/nrgastro.2011.222. PMID: 22143274.
  29. Sirica A.E. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008;14(46):7033–58. PMID: 19084911.
  30. Zhang Z., Oyesanya R.A., Campbell D.J. et al. Preclinical assessment of simultaneous targeting of epidermal growth factor receptor (ErbB1) and ErbB2 as a strategy for cholangiocarcinoma therapy. *Hepatology* 2010;52(3):975–86. DOI: 10.1002/hep.23773. PMID: 20607690.
  31. Gruenberger B., Schueller J., Heubrandtner U. et al. Cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with unresectable advanced or metastatic biliary tract cancer: a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2010;11(12):1142–8. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70247-3. PMID: 21071270.
  32. Lee J., Park S.H., Chang H.M. et al. Gemcitabine and oxaliplatin with or without erlotinib in advanced biliary-tract cancer: a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2012;13(2):181–8. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70301-1. PMID: 22192731.
  33. Moeini A., Sia D., Bardeesy N. et al. Molecular pathogenesis and targeted therapies for intrahepatic cholangiocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2016;22(2):291–300. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3296. PMID: 26405193.
  34. Rizvi S., Khan S.H., Hallemeier Ch.L. et al. Cholangiocarcinoma – evolving concepts and therapeutic strategies. *Nat Rev Clin Oncol* 2018;15(2):95–111. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.157. PMID: 28994423.
  35. Borad M.J., Champion M.D., Egan J.B. et al. Integrated genomic characterization reveals novel, therapeutically relevant drug targets in FGFR and EGFR pathways in sporadic intrahepatic cholangiocarcinoma. *PLoS Genet* 2014;10(2):e1004135. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004135. PMID: 24550739.
  36. Soria J.C., Ohe Y., Vansteenkiste J. et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2018;378:113–25. DOI: 10.1056/NEJMoa1713137. PMID: 29151359.
  37. Miyamoto M., Ojima H., Iwasaki M. et al. Prognostic significance of overexpression of c-Met oncoprotein in cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2011;105(1):131–8. DOI: 10.1038/bjc.2011.199. PMID: 21673683.
  38. Barat S., Bozko P., Chen X. et al. Targeting c-MET by LY2801653 for treatment of cholangiocarcinoma. *Mol Carcinog* 2016;55(12):2037–50. DOI: 10.1002/mc.22449. PMID: 26757360.
  39. Pant S., Saleh M., Bendell J. et al. A phase I dose escalation study of oral c-MET inhibitor tivantinib (ARQ 197) in combination with gemcitabine in patients with solid tumors. *Ann Oncol* 2014;25(7):1416–21. DOI: 10.1093/annonc/mdu157. PMID: 24737778.
  40. Wang P., Dong Q., Zhang C. et al. Mutations in isocitrate dehydrogenase 1 and 2 occur frequently in intrahepatic cholangiocarcinomas and share hypermethylation targets with glioblastomas. *Oncogene* 2013;32(25):3091–100. DOI: 10.1038/onc.2012.315. PMID: 22824796.
  41. Lim S.M., Yoo J.E., Lim K.H. et al. Rare Incidence of ROS1 Rearrangement in Cholangiocarcinoma.

- Cancer Res Treat 2016;49(1):185–92. DOI: <https://doi.org/10.4143/crt.2015.497>. PMID: 27121721.
42. Davare M.A., Saborowski A., Eide C.A. et al. Foretinib is a potent inhibitor of oncogenic ROS1 fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(48):19519–24. DOI: 10.1073/pnas.1319583110. PMID: 24218589.
43. Xie D., Ren Z., Fan J., Gao Q. Genetic profiling of intrahepatic cholangiocarcinoma and its clinical implication in targeted therapy. *Am J Cancer Res* 2016;6(3):577–86. PMID: 27152236.
44. Ewald F., Grabinski N., Grottko A. et al. Combined targeting of AKT and mTOR using MK-2206 and RAD001 is synergistic in the treatment of cholangiocarcinoma. *Int J Cancer* 2013;133(9):2065–76. DOI: 10.1002/ijc.28214. PMID: 23588885.
45. Costello B.A., Borad M.J., Qi Y. et al. Phase I trial of everolimus, gemcitabine and cisplatin in patients with solid tumors. *Invest New Drugs* 2014;32(4):710–6. DOI: 10.1007/s10637-014-0096-3. PMID: 24740268.
46. Marcus K., Mattos C. Direct Attack on RAS: intramolecular communication and mutation-specific effects. *Clin Cancer Res* 2015;21(8):1810–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2148. PMID: 25878362.
47. Sia D., Hoshida Y., Villanueva A. et al. Integrative molecular analysis of intrahepatic cholangiocarcinoma reveals 2 classes that have different outcomes. *Gastroenterology* 2013;144(4):829–40. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.01.001. PMID: 23295441.
48. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind Ch. *TNM classification of malignant tumours. Eighth Edition.* 2017. Available at: <http://www.hoofdhalskanker.info/wpavl/wp-content/uploads/TNM-Classification-of-Malignant-Tumours-8th-edition.pdf>.

#### Вклад авторов

Б. Н. Гурмиков: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;  
 Ю. А. Коваленко: обзор публикаций по теме статьи;  
 В. А. Вишневецкий: обзор публикации по теме статьи, редактирование текста рукописи;  
 А. В. Чжао: разработка дизайна исследования, редактирование текста рукописи.

#### Authors' contributions

B.N. Gurmikov: reviewing of publications of the article's theme, article writing;  
 Yu.A. Kovalenko: reviewing of publications of the article's theme;  
 V.A. Vishnevsky: reviewing of publications of the article's theme, article editing;  
 A.V. Chzhao: developing the research design, article editing.

#### ORCID авторов/ORCID of authors

Б. Н. Гурмиков/B.N. Gurmikov: <https://orcid.org/0000-0001-5958-3608>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Статья поступила:** 30.07.2018. **Принята к публикации:** 12.03.2019.

**Article received:** 30.07.2018. **Accepted for publication:** 12.03.2019.