

Leczenie celowane u chorych na raka pęcherza moczowego

Dominika Hempel^{1,2}, Ewa Sierko^{1,2}, Marek Z. Wojtukiewicz^{1,2}

Rak pęcherza moczowego jest dziewiątym co do częstości występowania nowotworem złośliwym i trzynastą przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie [1]. Przeżycia 5-letnie u chorych z miejscowo zaawansowanym nowotworem wynoszą nawet 94% i spadają do 6% w przypadku rozpoznania przerzutów odległych [2]. Niezadowolające wyniki leczenia chorych na uogólnionego raka pęcherza moczowego skłaniają do poszukiwań szlaków molekularnych istotnych w powstawaniu raka pęcherza moczowego i terapii ukierunkowanych na cele molekularne. Poniżej przedstawiono przegląd mechanizmów molekularnych odgrywających rolę w karcinogenezie raka pęcherza moczowego, jak również przegląd leków interferujących z tymi procesami.

Targeted therapy in bladder cancer patients

Bladder cancer is the ninth most common malignancy and thirteenth leading cause of cancer related deaths in the world. The five-year survival rate for localized disease is 94% and decreases for patients with distant metastases to 6%. Better knowledge on molecular biology of the tumors may lead to the discovery of new potential therapeutic targets for this illness. This article is a review of published data related to targeted therapy in bladder cancer patients.

NOWOTWORY Journal of Oncology 2012; 62, 6: 464–468

Słowa kluczowe: rak pęcherza moczowego, leczenie celowane

Key words: bladder cancer, targeted therapy

Wstęp

Rak pęcherza moczowego jest dziewiątym co do częstości występowania nowotworem złośliwym i trzynastą przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie [1]. Radykalna cystektomia pozostaje metodą z wyboru w guzach naciekających mięśniówkę pęcherza moczowego. Z kolei w bardziej zaawansowanych zmianach stosuje się radio- lub radiochemioterapię. Przeżycia 5-letnie u chorych z miejscowo zaawansowanym nowotworem wynoszą nawet 94%, ale nie przekraczają 6% w przypadku rozpoznania przerzutów odległych [2]. Niezadowolające wyniki leczenia chorych na uogólnionego raka pęcherza moczowego skłaniają do poszukiwań szlaków molekularnych istotnych w powstawaniu tego nowotworu i terapii ukierunkowanych na cele molekularne. Wiadomo, iż w rozwoju nowotworów o niższej złośliwości odgrywają rolę szlaki zależne od receptora kinazy

tyrozynowej RAS, szczególnie mutacje w genie *HRAS* oraz *FGFR3* (*fibroblast growth factor receptor 3*). W guzach mniej zróżnicowanych ważne są zaburzenia funkcjonowania szlaków białka p53 i Rb (retinoblastomy) [3]. W powstawaniu raka pęcherza moczowego ogromną rolę odgrywa również proces angiogenezy oraz szlaki aktywowane przez rodzinę receptorów naskórkowego czynnika wzrostu — EGFR (*epidermal growth factor receptor*) [4, 5]. Poniżej przedstawiono przegląd mechanizmów molekularnych odgrywających rolę w karcinogenezie raka pęcherza moczowego oraz przegląd leków interferujących z tymi procesami.

Leczenie antyangiogenne

Proces angiogenezy odgrywa istotną rolę w rozwoju i progresji raka pęcherza moczowego, gdyż wykazano zależność między gęstością naczyń krwionośnych a cza-

¹ Klinika Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

² Białostockie Centrum Onkologii

sem wolnym od choroby (DFS — *disease free survival*) oraz przeżyciami całkowitymi u chorych na ten nowotwór [6]. Głównym czynnikiem proangiogennym w raku pęcherza moczowego jest czynnik wzrostu śródbłonna naczyń, VEGF (*vascular endothelial growth factor*), którego ekspresję stwierdza się zarówno w komórkach powierzchniowego, jak i inwazyjnego raka pęcherza moczowego [4, 7]. Silna ekspresja białka VEGF oraz mRNA odpowiedzialnego za syntezę tego czynnika w komórkach raka pęcherza moczowego wiąże się z wczesnym nawrotem choroby po leczeniu i jest wyższa u chorych z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych [5, 7]. Wysokie stężenie VEGF w surowicy krwi chorych na ten nowotwór korelowało z wyższym zaawansowaniem klinicznym choroby, niższym stopniem zróżnicowania (*G-grading*), oraz wiązało się z gorszym DFS [8]. U chorych na raka pęcherza moczowego stwierdza się wyższe stężenie VEGF w moczu w porównaniu z osobami zdrowymi. Im wyższe stężenie VEGF w moczu chorych na raka pęcherza moczowego, tym większe ryzyko nawrotu choroby [9]. Tworzenie nowych naczyń w raku pęcherza moczowego pobudzają również interleukina-8 (IL-8) oraz metaloproteiny, głównie MMP-2 i MMP-9, których zwiększona ekspresja koreluje z wyższym zaawansowaniem klinicznym choroby i niższym zróżnicowaniem komórek raka pęcherza moczowego [2, 10]. Proangiogennie w tym nowotworze działa także czynnik wzrostu fibroblastów, FGF (*fibroblast growth factor*), którego stężenie w moczu koreluje z zaawansowaniem klinicznym choroby, a wysoka ekspresja mRNA odpowiedzialnego za syntezę tego białka związana jest z większym ryzykiem nawrotu choroby [przegląd piśm. 2]. Ponadto zaburzenia funkcjonowania białka p53 powodują zmniejszenie ekspresji trombospondyny-1, inhibitora angiogenezy, co skutkuje nasileniem tworzenia nowych naczyń krwionośnych, a więc większą ich gęstością w raku pęcherza moczowego [11, 12].

W badaniach na liniach komórkowych raka pęcherza moczowego oraz modelach zwierzęcych obserwowano zmniejszenie objętości guza pod wpływem związków antyangiogennych (TNP-470, AGM-1470), a także terapii genowych polegających na transferze antysensownego genu *bFGF* (*antisense bFGF gene transfer*) [2, 13, 14]. Jak dotąd brak jest przekonujących dowodów uwzględniających wyniki badań klinicznych III fazy co do zasadności stosowania leków antyangiogennych u chorych na raka pęcherza moczowego. We wczesnych etapach badań klinicznych ocenia się obecnie następujące leki ukierunkowane na proces angiogenezy (www.clinicaltrials.gov):

— **bewacyzumab**, humanizowane przeciwciało monoklonalne hamujące wiązanie wszystkich izoform VEGF do jego receptora [15]. Trwają badania II fazy oceniające skuteczność bewacyzumabu w skojarzeniu z różnymi chemioterapeutykami: cisplatyną, gemcytabiną, paklitakselem u chorych na raka pęcherza moczowego z obecnością przerzutów odległych, jak i w leczeniu

neoadiuwantowym i uzupełniającym tych chorych, w skojarzeniu z chemioterapią wg programu M-VAC (metotreksat, winblastyna, adriamycyna i cisplatyna) [15, 16].

— **Inhibitory kinazy tyrozynowej:**

- **sorafenib**, inhibitor wielu typów kinazy tyrozynowej, m.in. kinazy RAF oraz receptora VEGFR, o działaniu wielokierunkowym (m.in. hamuje angiogenezę, a także zmniejsza proliferację komórek guza) [17, 18],
- **sunitynib**, inhibitor kinazy tyrozynowej, m.in. receptorów VEGFR i PDGFR — receptor czynnika wzrostu pochodzenia płytkowego, *platelet derived growth factor receptor* [19, 20],
- **pazopanib**, inhibitor II generacji wielu typów kinaz tyrozynowych, m.in. receptora VEGFR, PDGFR oraz receptora C-kit [3],
- **aflibercept** (*VEGF-trap*), zbudowany z łańcucha Fc IgG1 oraz domen wiążących ligand receptorów VEGF-1 i -2 [3, 21].

Niestety, wyniki dotychczasowych badań klinicznych wykazały skuteczność jedynie schematów zawierających bewacyzumab (odsetek odpowiedzi > 50%) [15, 16]. Pozostałe leki nie były zadawalająco efektywne u chorych na zaawansowanego raka pęcherza moczowego [17–21].

Leczenie interferujące z rodziną receptorów dla czynnika wzrostu naskórka

Do receptorów o aktywności kinaz tyrozynowych, mających znaczenie w biologii raka pęcherza moczowego, należy rodzina receptorów czynnika wzrostu naskórka, tj. EGFR (*epidermal growth factor receptor*, HER1, erbB1) oraz HER-2 (*c-erb-2*) [2, 22]. Nasiloną ekspresję receptora EGFR w komórkach raka pęcherza moczowego stwierdza się u 30% chorych na ten nowotwór, natomiast HER-2, w zależności od badania, u około 10–80% chorych [23–26]. Mimo sprzecznych wyników badań wydaje się, iż ekspresja tych receptorów wzrasta wraz z zaawansowaniem choroby i stopniem złośliwości komórek nowotworowych, posiadając zarazem wartość prognostyczną [25–28]. 5-letnie przeżycia związane z chorobą (*5-year cause-specific survival rate*) u chorych na nowotwory wykazujące nasiloną ekspresję HER-2 są gorsze w porównaniu do chorych na nowotwory nie wykazujące ekspresji tego receptora, odpowiednio — 51,4% vs 83,4% [26]. U chorych na miejscowo zaawansowanego raka pęcherza moczowego, u których stosowano radiochemioterapię, ekspresja HER-2 korelowała ze zmniejszonym odsetkiem odpowiedzi całkowitych (51% vs 80%), a ekspresja EGFR — z większym ryzykiem progresji choroby [28, 29]. Istnieją jednakże badania, które nie wykazały ani korelacji między ekspresją receptorów rodziny EGFR a zaawansowaniem choroby i stopniem złośliwości komórek nowotworowych, ani jej znaczenia prognostycznego [22]. Złożoność procesów regulowanych przez receptory rodziny EGFR w ko-

mórkach raka pęcherza moczowego i różne wyniki badań mogą wynikać z faktu, iż podobnie jak w innych rakach, w tym nowotworze również występuje polimorfizm genu receptora EGFR [30].

Leki interferujące z funkcją HER-2

W związku z wciąż nie do końca poznaną rolą receptora HER-2 w biologii raka pęcherza moczowego i sprzecznymi danymi dotyczącymi jego ekspresji u chorych na ten nowotwór liczba badań klinicznych z zastosowaniem inhibitorów tego receptora w porównaniu z innymi nowotworami jest niewielka (ocenia się zasadność stosowania trastuzumabu u tych chorych w monoterapii, jak i w skojarzeniu z paklitaksemem i karboplatyną) [31, 32].

Leki interferujące z funkcją EGFR:

- **cetuksymab**, chimeryczne przeciwciało monoklonalne klasy IgG skierowane przeciwko domenie zewnątrzkomórkowej receptora EGFR, aktywował apoptozę komórek wzrastających w hodowlach komórkowych raka pęcherza moczowego oraz hamował wzrost guza w badaniach *in vitro* i *in vivo* [33, 34]. Obecnie trwają badania II fazy z wykorzystaniem cetuksymabu w skojarzeniu z paklitaksemem oraz cisplatyną i gemcytabiną u chorych na zaawansowanego raka wywodzącego się z nabłonka moczowego (www.clinicaltrials.gov);
- **panitumumab**, ludzkie przeciwciało monoklonalne IgG2 skierowane przeciwko EGFR (w badaniach klinicznych obiektywną odpowiedź uzyskiwano u pojedynczych chorych) [35];
- **erlotynib** jest inhibitorem kinazy tyrozynowej EGFR [3]. Obecnie trwa rekrutacja do badania II fazy oceniającego skuteczność tego leku w terapii neoadiuwantowej chorych na raka wywodzącego się z nabłonka moczowego (www.clinicaltrials.gov). Zakończyło się natomiast badanie oceniające skuteczność erlotynibu skojarzonego z ekstraktem zielonej herbaty (polifenolem A) w prewencji wznowy u palaczy papierosów, chorujących na raka pęcherza moczowego, poddanych radykalnej operacji. Wyniki tego badania nie zostały jeszcze opublikowane;
- **gefitynib** jest selektywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej EGFR, blokującym wewnątrzkomórkową domenę wiążącą ATP [3]. W badaniach na hodowlach komórkowych raka pęcherza moczowego lek ten hamował angiogenezę, a w niektórych liniach (np. 253JB-V, RT112, RT4) również indukował apoptozę komórek [36, 37]. Aktywność przeciwnowotworową gefitynibu stwierdzono także w badaniach na modelach zwierzęcych [38]. Villares i wsp. [39] wykazali ponadto, iż w nowotworach wywodzących się z nabłonka moczowego wariant III mutacji EGFR (EGFRVIII), który wymaga eskalacji dawki gefitynibu, występuje bardzo rzadko. W badaniach klinicznych stosowano gefitynib w monoterapii oraz

w skojarzeniu z gemcytabiną i cisplatyną u chorych na zaawansowanego raka wywodzącego się z nabłonka moczowego (uzyskano pojedyncze przypadki obiektywnych odpowiedzi) [40, 41];

- **wandetanib** jest inhibitorem kinaz tyrozynowych, który hamuje VEGFR2, VEGFR3 oraz EGFR. W badaniach *in vitro* lek ten prowadził do apoptozy komórek raka pęcherza moczowego i zwiększał wrażliwość tych komórek na cisplatynę [42]. Trwa rekrutacja do badania oceniającego skuteczność wandetanibu w skojarzeniu z gemcytabiną i karboplatyną u chorych z nowotworem złośliwym dróg moczowych (www.clinicaltrials.gov);
- **lapatynib** jest inhibitorem zarówno receptora EGF, jak i HER2, których ekspresja może współwystępować w komórkach raka pęcherza moczowego. W warunkach *in vitro* zahamowanie funkcji obu powyższych receptorów w komórkach RT112 raka pęcherza moczowego przez lapatynib prowadziło do apoptozy tych komórek [43]. W badaniu klinicznym II fazy tylko u jednego chorego stwierdzono obiektywną odpowiedź [44].

Obecnie trwa kilka badań klinicznych nad skutecznością trastuzumabu i lapatynibu w monoterapii i w leczeniu skojarzonym u chorych na raka wywodzącego się z nabłonka moczowego (www.clinicaltrials.gov).

Leki interferujące ze szlakiem PI3K/AKT/mTOR

Zwiększona aktywacja szlaku przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego PI3K/AKT/mTOR (*mammalian target of rapamycin*) może odgrywać rolę w rozwoju raka pęcherza moczowego, gdyż zastosowanie inhibitorów tego szlaku (celekoksyb, everolimus, sirolimus, rapamycyna) powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego oraz aktywację apoptozy w komórkach różnych hodowli raka pęcherza moczowego i zahamowanie wzrostu guza w modelach zwierzęcych tego nowotworu [45–50]. Wyniki badań *in vitro* i *in vivo* uzasadniają więc przeprowadzenie badań klinicznych z różnymi inhibitorami szlaku PI3K/AKT/mTOR.

Terapia genowa

Zaburzenia w przebiegu cyklu komórkowego nabłonka moczowego, w tym nieprawidłowe funkcjonowanie białka supresorowego nowotworów p53 oraz białka Rb może prowadzić do rozwoju nowotworów złośliwych wywodzących się ze struktur układu moczowego [3]. Mutacje w genie *TP53* są powszechne w inwazyjnym raku wywodzącym się z nabłonka przejściowego dróg moczowych, dlatego też przywrócenie prawidłowej funkcji tego genu wydaje się interesującą opcją leczenia chorych na nowotwory układu moczowego, w tym raka pęcherza moczowego [2]. W badaniach przeprowadzonych na hodowlach komórkowych i modelach zwierzęcych tego nowotworu wykazano, iż wprowadzenie do komórek powszechnie występującej odmiany genu *TP53* przy pomocy wektora wirusowego (Ad-

CMV-TP53 — adenoviral vectors bearing the wild-type TP53) prowadzi do hamowania proliferacji komórek, zmniejszenia masy guza i zwiększenia wrażliwości komórek na cisplatynę [51, 52]. Trwają badania I fazy oceniające skuteczność tego typu leczenia u chorych z rakiem pęcherza moczowego, zdyskwalifikowanych od cystektomii [53].

Inhibitory receptora PDGFR

Nasilenie ekspresji receptora PDGFR i jego znaczenie w komórkach raka pęcherza moczowego wciąż nie jest wystarczająco zbadane. Na uwagę zasługuje jednakże najnowsze doniesienie Blacka i wsp. [54], którzy wykazali, iż współwystępowanie ekspresji tego receptora i receptora EGFR w komórkach raka pęcherza moczowego przyczynia się do mniejszej skuteczności inhibitorów tego ostatniego. Dlatego też wydaje się zasadne przeprowadzenie badań z zastosowaniem inhibitorów obu receptorów.

Inhibitory proteasomu

Hamowanie aktywności proteasomów może być kolejną opcją terapeutyczną u chorych na raka pęcherza moczowego. W badaniach *in vitro* i *in vivo* inhibitory proteasomów, poprzez zmniejszenie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, prowadziły do apoptozy komórek i zmniejszenia masy tego nowotworu [55, 56]. Niestety, dotychczas przeprowadzone badania kliniczne nie potwierdziły skuteczności inhibitora proteasomów, bortezomibu, u chorych na zaawansowanego raka wywodzącego się z nabłonka moczowego [57, 58].

Immunoterapia

Warto wspomnieć również o szczepionkach aktywujących układ immunologiczny chorych na raka pęcherza moczowego [59]. W badaniu I fazy podawano dożylnie szczepionkę peptydową 1 raz w tygodniu chorym na zaawansowanego raka pęcherza moczowego, u których stosowano wcześniej chemioterapię MVAC. U pojedynczych chorych uzyskano odpowiedź całkowitą, częściową lub stabilizację choroby. Tolerancja leczenia była dość dobra.

Podsumowanie

W ostatnim czasie prowadzone są liczne badania kliniczne mające na celu zidentyfikowanie krytycznych etapów przebiegu wewnątrzkomórkowego odpowiedzialnych za progresję raka pęcherza moczowego. Jednakże pomimo zachęcających wyników badań *in vitro* i *in vivo* wyniki większości badań klinicznych, jak dotąd, nie dostarczają przełomowych informacji. Największe nadzieje budzą leki antyangiogenne, głównie bewacyzumab, który na drodze zahamowania aktywności VEGF w badaniach II fazy umożliwił uzyskanie ponad 50% odsetka odpowiedzi u chorych na raka wywodzącego się z nabłonka moczowego (UC

— urothelial carcinoma), u których stwierdzono obecność przerzutów odległych.

Prof. dr hab. Marek Z. Wojtukiewicz

Klinika Onkologii

Uniwersytet Medyczny

Białostockie Centrum Onkologii

ul. Ogrodowa 12, 15-027 Białystok

e-mail: mzwojtukiewicz@gmail.com

Otrzymano: 20 lutego 2012 r.

Przyjęto do druku: 21 maja 2012 r.

Piśmiennictwo

1. Parkin DM. The global burden of urinary bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2008; 218: 12–20.
2. Mitra AP, Datar RH, Cote RJ. Molecular pathways in invasive bladder cancer: new insights into mechanisms, progression, and target identification. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5552–5564.
3. Youssef RF, Mitra AP, Bartsch G Jr i wsp. Molecular targets and targeted therapies in bladder cancer management. *World J Urol* 2009; 27: 9–20.
4. Crew JP. Vascular endothelial growth factor: an important angiogenic mediator in bladder cancer. *Eur Urol* 1999; 35: 2–8.
5. Jaeger TM, Weidner N, Chew K i wsp. Tumor angiogenesis correlates with lymph node metastases in invasive bladder cancer. *J Urol* 1995; 154: 69–71.
6. Bochner BH, Cote RJ, Weidner N i wsp. Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1603–1612.
7. Crew JP, O'Brien T, Bradburn M i wsp. Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 5281–5285.
8. Bernardini S, Fauconnet S, Chabannes E i wsp. Serum levels of vascular endothelial growth factor as a prognostic factor in bladder cancer. *J Urol* 2001; 166: 1275–1279.
9. Crew JP, O'Brien T, Bicknell R i wsp. Urinary vascular endothelial growth factor and its correlation with bladder cancer recurrence rates. *J Urol* 1999; 161: 799–804.
10. Papatoma AS, Petraki C, Grigorakis A i wsp. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in bladder cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 2009–2013.
11. Bochner BH, Esrig D, Groshen S i wsp. Relationship of tumor angiogenesis and nuclear p53 accumulation in invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1615–1622.
12. Grossfeld GD, Ginsberg DA, Stein JP i wsp. Thrombospondin-1 expression in bladder cancer: association with p53 alterations, tumor angiogenesis, and tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 219–227.
13. Inoue K, Chikazawa M, Fukata S i wsp. Frequent administration of angiogenesis inhibitor TNP-470 (AGM-1470) at an optimal biological dose inhibits tumor growth and metastasis of metastatic human transitional cell carcinoma in the urinary bladder. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2389–2398.
14. Sejima T, Itoyama T, Miyagawa I. Comparative study of apoptotic antitumor effect between angiogenesis inhibitor AGM-1470 and MVAC chemotherapy on rat urinary bladder cancer. *Urol Int* 2004; 73: 226–233.
15. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333: 328–335.
16. Hahn NM, Stadler WM, Zon RT i wsp. Phase II trial of cisplatin, gemcitabine, and bevacizumab as first-line therapy for metastatic urothelial carcinoma: Hoosier Oncology Group GU 04-75. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1525–1530.
17. Sridhar SS, Winquist E, Eisen A i wsp. A phase II trial of sorafenib in first-line metastatic urothelial cancer: a study of the PMH Phase II Consortium. *Invest New Drugs* 2011; 29: 1045–1049.
18. Dreicer R, Li H, Stein M i wsp. Phase 2 trial of sorafenib in patients with advanced urothelial cancer: a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Cancer* 2009; 115: 4090–4095.
19. Gallagher DJ, Milowsky MJ, Gerst SR i wsp. Phase II study of sunitinib in patients with metastatic urothelial cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1373–1379.

20. Bellmunt J, González-Larriba JL, Prior C i wsp. Phase II study of sunitinib as first-line treatment of urothelial cancer patients ineligible to receive cisplatin-based chemotherapy: baseline interleukin-8 and tumor contrast enhancement as potential predictive factors of activity. *Ann Oncol* 2011; 22: 2646–2453.
21. Twardowski P, Stadler WM, Frankel P i wsp. Phase II study of Afibercept (VEGF-Trap) in patients with recurrent or metastatic urothelial cancer, a California Cancer Consortium Trial. *Urology* 2010; 76: 923–926.
22. Marin AP, Arranz EE, Sánchez AR i wsp. Role of anti-Her-2 therapy in bladder carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1915–1920.
23. Lipponen P, Eskelinen M. Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br J Cancer* 1994; 69: 1120–1125.
24. Laé M, Couturier J, Oudard S i wsp. Assessing HER2 gene amplification as a potential target for therapy in invasive urothelial bladder cancer with a standardized methodology: results in 1005 patients. *Ann Oncol* 2010; 21: 815–819.
25. Yamada Y, Naruse K, Nakamura K i wsp. Potential for molecular-targeted therapy targeting human epidermal growth factor receptor-2 for invasive bladder cancer. *Oncol Rep* 2007; 18: 3–7.
26. Naruse K, Yamada Y, Nakamura K i wsp. Potential of molecular targeted therapy of HER-2 and Cox-2 for invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Oncol Rep* 2010; 23: 1577–1583.
27. Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Res* 1990; 50: 2530–2537.
28. Popov Z, Gil-Diez-De-Medina S, Ravery V i wsp. Prognostic value of EGF receptor and tumor cell proliferation in bladder cancer: therapeutic implications. *Urol Oncol* 2004; 22: 93–101.
29. Chakravarti A, Winter K, Wu CL i wsp. Expression of the epidermal growth factor receptor and Her-2 are predictors of favorable outcome and reduced complete response rates, respectively, in patients with muscle-invasive bladder cancers treated by concurrent radiation and cisplatin-based chemotherapy: a report from the Radiation Therapy Oncology Group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 309–317.
30. Mason RA, Morlock EV, Karagas MR i wsp. EGFR pathway polymorphisms and bladder cancer susceptibility and prognosis. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1155–1160.
31. Peyromaure M, Scotté F, Amsellem-Ouazana D i wsp. Trastuzumab (Herceptin) in metastatic transitional cell carcinoma of the urinary tract: report on six patients. *Eur Urol* 2005; 48: 771–778.
32. Hussain MH, MacVicar GR, Petrylak DP i wsp. National Cancer Institute. Trastuzumab, paclitaxel, carboplatin, and gemcitabine in advanced human epidermal growth factor receptor-2/neu-positive urothelial carcinoma: results of a multicenter phase II National Cancer Institute trial. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2218–2224.
33. Inoue K, Slaton JW, Perrotte P i wsp. Paclitaxel enhances the effects of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody ImClone C225 in mice with metastatic human bladder transitional cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4874–4884.
34. Perrotte P, Matsumoto T, Inoue K i wsp. Anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits angiogenesis in human transitional cell carcinoma growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 257–265.
35. Stephenson JJ, Gregory C, Burris H. An open-label clinical trial evaluating safety and pharmacokinetics of two dosing schedules of panitumumab in patients with solid tumors. *Clin Colorectal Cancer* 2009; 8: 29–37.
36. Kassouf W, Brown GA, Black PC i wsp. Is vascular endothelial growth factor modulation a predictor of the therapeutic efficacy of gefitinib for bladder cancer? *J Urol* 2008; 180: 1146–1153.
37. Nutt JE, Lazarowicz HP, Mellon JK i wsp. Gefitinib (Iressa, ZD1839) inhibits the growth response of bladder tumour cell lines to epidermal growth factor and induces TIMP2. *Br J Cancer* 2004; 90: 1679–1685.
38. Dominguez-Escrig JL, Kelly JD, Neal DE i wsp. Evaluation of the therapeutic potential of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor gefitinib in preclinical models of bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4874–4884.
39. Villares GJ, Zigler M, Blehm K i wsp. Targeting EGFR in bladder cancer. *World J Urol* 2007; 25: 573–579.
40. Petrylak DP, Tangen CM, Van Veldhuizen PJ i wsp. Results of the Southwest Oncology Group phase II evaluation (study S0031) of ZD1839 for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. *BJU Int* 2010; 105: 317–321.
41. Philips GK, Halabi S, Sanford BL i wsp. A phase II trial of cisplatin (C), gemcitabine (G) and gefitinib for advanced urothelial tract carcinoma: results of Cancer and Leukemia Group B (CALGB) 90102. *Ann Oncol* 2009; 20: 1074–79.
42. Flaig TW, Su LJ, McCoach C i wsp. Dual epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor inhibition with vandetanib sensitizes bladder cancer cells to cisplatin in a dose- and sequence-dependent manner. *BJU Int* 2009; 103: 1729–1737.
43. McHugh LA, Kriajevska M, Mellon JK i wsp. Combined treatment of bladder cancer cell lines with lapatinib and varying chemotherapy regimens-evidence of schedule-dependent synergy. *Urology* 2007; 69: 390–394.
44. Wülfing C, Machiels JP, Richel DJ i wsp. A single-arm, multicenter, open-label phase 2 study of lapatinib as the second-line treatment of patients with locally advanced or metastatic transitional cell carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 2881–90.
45. Gee JR, Burmeister CB, Havighurst TC i wsp. Cyclin-mediated G1 arrest by celecoxib differs in low-versus high-grade bladder cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 3769–3775.
46. Dovedi SJ, Kirby JA, Davies BR i wsp. Celecoxib has potent antitumour effects as a single agent and in combination with BCG immunotherapy in a model of urothelial cell carcinoma. *Eur Urol* 2008; 54: 621–630.
47. Mansure JJ, Nassim R, Chevalier S i wsp. Inhibition of mammalian target of rapamycin as a therapeutic strategy in the management of bladder cancer. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 2339–2347.
48. Ching CB, Hansel DE. Expanding therapeutic targets in bladder cancer: the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Lab Invest* 2010; 90: 1406–1414.
49. Makhlin I, Zhang J, Long CJ i wsp. The mTOR pathway affects proliferation and chemosensitivity of urothelial carcinoma cells and is upregulated in a subset of human bladder cancers. *BJU Int* 2011; 108: 84–90.
50. Parada B, Reis F, Figueiredo A i wsp. Inhibition of bladder tumour growth by sirolimus in an experimental carcinogenesis model. *BJU Int* 2011; 107: 135–143.
51. Pagliaro LC. Gene therapy for bladder cancer. *World J Urol* 2000; 18: 148–151.
52. Pagliaro LC, Keyhani A, Liu B i wsp. Adenoviral p53 gene transfer in human bladder cancer cell lines: cytotoxicity and synergy with cisplatin. *Urol Oncol* 2003; 21: 456–462.
53. Pagliaro LC, Keyhani A, Williams D i wsp. Repeated intravesical instillations of an adenoviral vector in patients with locally advanced bladder cancer: a phase I study of p53 gene therapy. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2247–2253.
54. Black PC, Brown GA, Dinney CP i wsp. Receptor heterodimerization: a new mechanism for platelet-derived growth factor induced resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy for bladder cancer. *J Urol* 2011; 185: 693–700.
55. Kamat AM, Karashima T, Davis DW i wsp. The proteasome inhibitor bortezomib synergizes with gemcitabine to block the growth of human 253JB-V bladder tumors in vivo. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 279–290.
56. Kamat AM, Tharakan ST, Sung B i wsp. Curcumin potentiates the antitumor effects of Bacillus Calmette-Guerin against bladder cancer through the downregulation of NF-kappaB and upregulation of TRAIL receptors. *Cancer Res* 2009; 69: 8958–8966.
57. Gomez-Abuin G, Winquist E, Stadler WM i wsp. A phase II study of PS-341 (Bortezomib) in advanced or metastatic urothelial cancer. A trial of the Princess Margaret Hospital and University of Chicago chase II consortia. *Invest New Drugs* 2007; 25: 181–185.
58. Rosenberg JE, Halabi S, Sanford BL i wsp. Phase II study of bortezomib in patients with previously treated advanced urothelial tract transitional cell carcinoma: CALGB 90207. *Ann Oncol* 2008; 19: 946–950.
59. Matsumoto K, Noguchi M, Satoh T i wsp. A phase I study of personalized peptide vaccination for advanced urothelial carcinoma patients who failed treatment with methotrexate, vinblastine, adriamycin and cisplatin. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1525–1530.