

Новые методы прогноза чувствительности рака почки к иммунотерапии на основе анализа молекулярно-генетических характеристик опухоли

М.Т. Айвазов, В.К. Боженко, А.Д. Каприн
ФГУ РНЦРР, Москва

Контакты: Андрей Дмитриевич Каприн kaprin@mail.ru

Приведен обзор литературы, посвященный проблеме лечения рака почки, главным образом проведению послеоперационной иммунотерапии. Освещается роль цитокинов во взаимодействии опухоли и иммунной системы, определена прогностическая ценность величины экспрессии каждого цитокина в отношении как выживаемости пациента, так и эффективности иммунотерапии, а также использования этой информации для разработки новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: рак почки, почечно-клеточный рак, интерлейкин, цитокин, иммунотерапия, Т-регуляторные клетки

New methods for predicting the sensitivity of renal cancer to immunotherapy on the basis of analysis of molecular genetic characteristics of a tumor

M.T. Aivazov, V.K. Bozhenko, A.D. Kaprin

Russian X-ray Radiology Research Center, Russian Agency for Medical Technologies, Moscow

The paper reviews the literature on the treatment of renal cancer, mainly on postoperative immunotherapy. It outlines a role of cytokines in tumor-immune system interaction, the prognostic value of the level of expression of each cytokine for both survival rates and the efficiency of immunotherapy, as well as the use of this information to develop new therapeutic approaches.

Key words: renal cancer, renal cell carcinoma, interleukin, cytokine, immunotherapy, regulatory T-cells

Одной из основных проблем онкоурологии являются злокачественные опухоли почки. Рак почки (РП) составляет 2,6% всех злокачественных образований у взрослых и по распространенности находится на 7-м месте среди мужчин и на 12-м — среди женщин. В 2006 г. в странах Евросоюза были выявлены 63 000 новых случаев РП, смертность составила 26 000 [1]. На долю почечно-клеточного рака (ПКР) приходится 85% всех злокачественных новообразований почки [2]. Заболеваемость в странах Европы колеблется от 4,4 до 11,1 на 100 000 населения. Риск развития РП существенно возрастает начиная с возраста 40 лет и достигает своего пика к 70 годам, причем мужчины заболевают в 3 раза чаще, чем женщины, и имеют более низкий процент выживаемости [3–5]. В структуре смертности населения России от онкологических заболеваний РП среди мужчин составляет 2,7%, среди женщин — 2,1% [6].

Хирургическое лечение локализованного РП, несмотря на новые взгляды на биологические и молекулярно-генетические характеристики опухоли, является основным методом борьбы с этим заболеванием. Целью хирургического вмешательства при наличии локализованного РП является уда-

ление опухолевого узла и обеспечение отсутствия рецидивов по краю резекции. В настоящее время, помимо традиционной радикальной нефрэктомии (РНЭ), все большее распространение получают органосохраняющие операции — ОСО (парциальная нефрэктомия), ставшие методом выбора для многих пациентов с локализованным РП.

В 1969 г. С.Л. Робсон и соавт. [7] было проведено исследование, в ходе которого установлено, что 5-летняя выживаемость пациентов с I и II стадией РП, перенесших РНЭ, составила 66 и 64% соответственно, после чего РНЭ была названа «золотым стандартом» хирургического лечения локализованного РП. На сегодняшний день эта операция показана пациентам с односторонним процессом и сохранной функцией контралатеральной почки [8].

Однако для осуществления РНЭ существуют определенные ограничения, обусловленные тем, что 5-летняя выживаемость после ее проведения статистически значимо коррелирует со степенью развития первичного опухолевого узла (показатель Т по классификации TNM) [9–14]. Например, в исследовании D.A. Levy и соавт. [10] у 68 (23,8%) из 286 пациентов, перенесших РНЭ, впоследствии на-

блюдалась генерализация процесса. Среди данных 68 пациентов в 7,1% случаев первично была диагностирована стадия T1N0M0, в 26,5% — T2N0M0, в 39,4% — T3N0M0, в 27% — T1–3N1M0. Наибольшим считается риск развития рецидива в первые 3 года после выполнения операции.

Применение ОСО при опухолях почки впервые было описано V. Czerny в 1890 г., однако в течение многих десятилетий выживаемость после таких операций была крайне низкой. Интерес к ОСО возрос после достижения высокого уровня лучевых методов визуализации почек и сосудистой хирургии, появления методов протекции почек на время ишемии [15].

Радиочастотная абляция (РЧА) и криотерапия (КТ) локализованного РП были разработаны в качестве малоинвазивных методов с короткими сроками восстановления пациентов после выполнения процедуры. Кандидатами на такие вмешательства являются пациенты в возрасте с сопутствующими заболеваниями, ограничивающими возможности использования у них традиционных способов хирургических вмешательств, а также больные с локальными рецидивами РП, развившимися после проведения парциальной нефрэктомии, либо с семейной формой РП, при которой он нередко проявляется мультифокально. Данная технология имеет ограничение в применении в виде размеров опухоли: при диаметре узла >3,5 см проведение РЧА и КТ не показано [16–20].

Изучением терапевтического потенциала использования иммунотерапии (ИТ) в лечении пациентов с РП занимаются около 30–40 лет. Обнаружение Т-клеточных инфильтратов в опухоли и клонов опухоль-специфичных CD8⁺-Т-лимфоцитов [21], а также открытие МНС-опосредованных специфических опухолевых антигенов [22] положили начало разработки концепции о специфическом противоопухолевом иммунном ответе при РП. В серии клинических испытаний была показана противоопухолевая активность цитокинов, таких как интерлейкин-2 (ИЛ-2) и интерферон (ИФН).

ИФН-α является членом плеiotропного семейства белков, обладающих антивирусным, иммуномодулирующим и антипролиферативным свойствами [23], связанными с изменением экспрессии генов восприимчивых клеток.

Основное иммуномодулирующее свойство ИЛ-2 состоит в активации цитотоксических Т-лимфоцитов при взаимодействии со специфическими рецепторами на их мембране [24]. Начиная с 1980 г. активно проводится исследование эффективности применения данных цитокинов по отдельности и в комбинации в терапии метастатического РП. В работе R.M. Bukowski и соавт. (1997) установлено, что частота достижения терапевтических отве-

тов для ИЛ-2, ИФН-α и использования их в сочетании составила 15, 12 и 20% соответственно. В других исследованиях показано, что проведение монотерапии ИФН-α увеличивает медиану выживаемости на 3,8 мес по сравнению с результатами контрольной группы и сопровождается частотой получения терапевтического ответа 12,5% [25].

Методика применения ИЛ-2 включает несколько путей введения препарата (внутривенные болюсные, внутривенные капельные и подкожные инъекции), использование различных дозировок, обеспечивающих поддержание необходимого баланса между терапевтическим эффектом и побочными действиями. Тяжелым осложнением терапии ИЛ-2 является синдром капиллярной утечки, состоящий из гипотензии, олигурии, отеков и гипоальбуминемии, ассоциированный с применением высоких доз препарата и требующий агрессивного лечения. В литературе имеются данные об оптимальном режиме проведения ИТ ИЛ-2. Так, в работе Baaten и соавт. (2004) оценены результаты различных способов введения ИЛ-2: 1108 больным, участвовавшим в исследовании, он вводился внутривенно болюсно, 1444 — внутривенно капельно и 2394 — подкожно. Большая частота терапевтического эффекта была достигнута у пациентов, получавших ИЛ-2 внутривенно капельно, однако более длительным эффект был при внутривенном болюсном введении.

Были предприняты попытки комбинирования ИЛ-2 и ИФН-α с другими цитокинами (гранулоцитарно-моноцитарный фактор роста, ИФН-γ, ИЛ-12), химиотерапевтическими препаратами (5-фторурацил, винбластин, капецитабин, гемцитабин) и другими веществами (цис-ретиноевая кислота, талидомид), однако исследования не показали различий в эффективности использования этих комбинаций по сравнению с результатами контрольных групп, получавших ИЛ-2 или ИФН-α [26–29].

По данным многочисленных исследований, был подтвержден тот факт, что злокачественные опухоли могут подавлять иммунный ответ через «переключение» на гуморальные Th2-зависимые иммунные реакции, что приводит к накоплению миелоидных иммуносупрессорных клеток и регуляторных Т-лимфоцитов (T_{reg}) [30–32]. Цитокины играют важную роль в балансе между Th1/Th2-ветвями иммунных реакций, следовательно, различные профили экспрессии и секреции цитокинов могут оказывать влияние на эффективность активации противоопухолевого иммунитета, на что и направлены в настоящее время основные терапевтические усилия при борьбе с метастатическим РП. Так, Callard и соавт. (1999) сообщают о связи плохого прогноза с повышением уровней провоспалительных цитокинов

у пациентов с распространенными онкологическими заболеваниями.

В исследовании Ромеги и соавт. (2009) проводилась оценка влияния концентрации ИЛ-10 на прогрессирование ПКР. Авторы выделили несколько вариантов гена ИЛ-10, ассоциированных с различным уровнем экспрессии цитокина. Так, генотип GG ассоциирован с высоким уровнем экспрессии, а генотип AA — с низким. ИЛ-10 может опосредовать противоопухолевый ответ с помощью следующих механизмов: подавление провоспалительной активности и цитотоксических реакций с участием Th1-клеток, а также ингибирование Th2-взаимодействий. ИЛ-10 может ингибировать процессы антиген-презентирования дендритными клетками в отношении к опухоли-ассоциированным антигенам. Тем не менее, известно, что высокие концентрации ИЛ-10 ингибируют активность эндотелиального сосудистого фактора роста (VEGF), что приводит к угнетению процесса ангиогенеза в опухоли и является элементом противоопухолевой активности ИЛ-10 [33–36].

Таким образом, действие ИЛ-10 в отношении прогрессирования РП является двунаправленным. Ромеги и соавт. (2009) установили, что гетерозиготный вариант гена ИЛ-10 (G/A), соответствующий промежуточному значению уровня экспрессии ИЛ-10, способствует развитию прогрессии опухоли (большой размер первичного узла, лимфаденопатия и распространенность), что объясняется тем, что в данных концентрациях ИЛ-10 происходит достижение иммуносупрессивного эффекта, но эффект ингибирования VEGF является недостаточным для торможения ангиогенеза.

Рецептор активатора фактора некроза- κ B (RANK) и его лиганд (RANKL), а также деактиватор RANK остеопротегерин играют большую роль в формировании костных метастазов рака и тем самым влияют на его прогрессию. Недавно появились сведения о том, что RANKL служит триггерным фактором для миграции опухолевых клеток, экспрессирующих RANK [37]. RANK и RANKL активно экспрессируются в костных метастазах РП, а также в метастатических узлах в других органах. Экспрессия RANK и RANKL является важным прогностическим элементом для развития рецидива РП, появления костных метастазов и ассоциирована с плохим прогнозом. S. Mikami и соавт. [38] в своем исследовании *in vitro* продемонстрировали, что RANKL стимулирует миграцию клеток РП, экспрессирующих RANKL, посредством использования иммуногистохимических методов анализа и полимеразной цепной реакции. При проведении анализа культуры клеток светлоклеточного РП, выделенных у пациентов после нефрэктомии, было определе-

но, что высокие значения отношений экспрессии RANK — остеопротегерин и RANKL — остеопротегерин статистически связаны с появлением костных метастазов в течение 2 лет после осуществления оперативного вмешательства.

C-реактивный белок служит индикатором воспалительного ответа и тесно связан с продукцией многих цитокинов. В литературе имеются сведения, свидетельствующие о связи C-реактивного белка и опухолевой прогрессии [39–41]. K. Fujikawa и соавт. [42] установили, что низкие уровни C-реактивного белка в сыворотке крови пациентов, перенесших циторедуктивную нефрэктомию и ИТ, являются благоприятным прогностическим фактором. Однако результаты последних исследований показывают, что роль C-реактивного белка как самостоятельного прогностического фактора мала, так как вероятнее всего он только отражает изменения концентрации ИЛ-6 в крови [43].

ИЛ-6 продуцируется клетками ПКР, поэтому повышенный его уровень коррелирует с плохим прогнозом у больных метастатическим РП [44–47]. Выявлено, что увеличение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови >35 пг/мл связано с существенным повышением летальности. Это может быть обусловлено как его провоспалительными свойствами (индукция лихорадки, снижение массы тела и другие патологические изменения при воспалительных реакциях), так и действием его в качестве фактора роста для злокачественных клеток [48–50]. Наконец, ИЛ-6 может вызывать угнетение дифференцировки дендритных клеток и тем самым снижать эффективность получения клеточного противоопухолевого ответа [51].

Уровень фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) у пациентов с РП возрастает с прогрессированием заболевания [52]. Считается, что ФНО- α является основным цитокином, опосредующим инвазию клеток опухоли РП в окружающие ткани, так как при его секреции усиливается воспалительная реакция вокруг и внутри опухоли, что активирует ангиогенез и способствует ускорению роста опухоли и инвазии злокачественных клеток в сосуды с последующим метастазированием [53]. По данным Basturk и соавт. (2005), генотип G/G гена ФНО- α встречается у больных РП чаще, чем в популяции (89,7% против 66%).

Одним из механизмов, с помощью которого клетки РП могут «уходить» от иммунной атаки, является привлечение к инфильтрации в опухоль особого типа Т-клеток — T_{per} . Эти лимфоциты были открыты в 70-х годах XX в., но реальный интерес к ним возник в середине 90-х годов, когда S. Sakaguchi и соавт. [54] показали, что небольшая популяция Т-клеток, экспрессирующих α -цепь рецептора ИЛ-2 (CD25), может контролировать пул аутореактивных $CD4^+$ -Т-клеток *in vivo*. Различают несколько разных

типов $T_{\text{рег}}$: естественные ($T_{\text{рег-1}}$) и индуцибельные ($iT_{\text{рег}}$). Образование $iT_{\text{рег}}$ происходит под влиянием различных факторов на периферии, например в регионарных лимфатических узлах, и они участвуют в регуляции иммунных реакций посредством выделения цитокинов (в частности, ИЛ-10) [55–57]. Специфическим маркером $T_{\text{рег}}$ является фактор транскрипции Foxp3 [58]. S.A. Siddiqui и соавт. [59] провели исследование, в котором было продемонстрировано, что у больных ПКР инфильтрация опухоли CD4+CD25+Foxp3-клетками ассоциирована с высоким уровнем смертности, тяжелыми стадиями TNM, большим размером опухоли и развитием внутри нее коагуляционного некроза, тогда как все эти признаки имеют независимое прогностическое значение для показателей смертности (Frank и соавт., 2002; Zisman и соавт., 2001). В то же время отмечено, что уровень CD4+CD25+Foxp3+ $T_{\text{рег}}$ в периферической крови у больных РП был выше такового у здоровых людей из контрольной группы, с чем может быть связан эффект блокирования иммунных реакций против опухоль-специфических антигенов в периферическом кровяном русле [60]. ПКР является опухолью с выраженными иммуногенными свойствами, что объясняет нарастание пула $T_{\text{рег}}$ вместе с другими клетками иммунной системы. В связи с тем что $T_{\text{рег}}$ активируются ИЛ-2 через CD-25, терапия данным цитокином может привести к увеличению доли $T_{\text{рег}}$ в составе лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL) и, следовательно, к ухудшению прогноза. Относительно TIL в литературе существуют сведения об увеличении выживаемости больных РП, имеющих меньшую степень инфильтрации опухоли мононуклеарами. В настоящее время разрабатываются препараты антител к CD-25, применение которых позволило бы повысить эффективность ИТ ИЛ-2 благодаря супрессии клеточного пула $T_{\text{рег}}$ [61].

S. Sözen и соавт. [62] установили, что уровень ИЛ-18 в сыворотке крови больных РП статистически значимо превышает его содержание в сыворотке крови здоровых людей. Кроме того, при III и IV стадиях заболевания уровень ИЛ-18 выше, чем при I и II.

Отмечено, что прогностическое значение имеют уровни ИЛ-5, 6 и 12, измеренные до начала проведения ИТ, и их повышенное значение ассоциировано с ухудшением прогноза заболевания и снижением общей выживаемости [63]. Предполагается, что важное значение в опосредовании негативного эффекта повышения ИЛ-5 имеет развитие эозинофилии.

ФНО- α считается довольно достоверным показателем, по которому можно ориентировочно предположить эффективность ИТ ФНО- α [64, 65]. Несмотря на наличие убедительных данных о связи повышенных концентраций ФНО- α с прогрессированием заболевания, Н. Matsuyama и соавт. [64] полагают, что повышение концентрации ФНО- α через 3 нед после начала терапии ассоциировано с благоприятным терапевтическим ответом. В то же время в исследовании С. Dosquet и соавт. [66] выявлено, что отсутствие повышения концентрации ФНО- α до лечения (<5 пг/мл) связано с хорошим прогнозом. В исследовании Guida и соавт. (2007) не отмечено наличия статистической корреляции между уровнями ряда цитокинов (ИЛ-1 β , 6, 8, 10, 12 и ФНО- α) и выраженностью терапевтического ответа на терапию ИЛ-2, хотя высокие уровни ИЛ-6 и ИЛ-8, ФНО- α , а также низкий уровень ИЛ-12 коррелировали с плохой выживаемостью.

Заключение

С учетом сказанного выше следует подчеркнуть, что оптимизация терапевтического подхода к лечению метастатического РП в настоящее время является одним из основных вопросов онкоурологии. РП обладает высоким метастатическим потенциалом, связанным с биологическими особенностями опухоли, и частота его первичного выявления в метастатической стадии по-прежнему велика.

ИТ на сегодняшний день является единственным методом системного лечения метастатического РП, который приводит к статистически значимому увеличению 5-летней выживаемости пациентов. Однако в случае цитокин-рефрактерных опухолей ИТ теряет свою эффективность, а качество жизни пациента будет иметь тенденцию к снижению из-за побочного действия препаратов.

В литературе, посвященной патогенезу РП, в последние годы значительное место отводится исследованию и обсуждению роли цитокинов во взаимодействии опухоли и иммунной системы. Установлено, что действие некоторых цитокинов, экспрессирующихся в злокачественных клетках РП, приводит к прогрессированию заболевания и метастазированию, в то время как другие обладают антипролиферативными свойствами. На основании этого в настоящее время стали актуальными исследования, направленные на изучение профиля экспрессии цитокинов при РП и определение прогностической ценности величины экспрессии каждого цитокина в отношении как выживаемости пациента, так и эффективности ИТ, а также на использование этой информации для разработки новых терапевтических подходов.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ferlay J., Autier P., Boniol M. et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007;18(3):581–92.
2. Jemal A., Siegel R., Ward E. et al. Cancer statistics, 2006. *Cancer J Clin* 2006;56(2):106–30.
3. Stafford H.S., Saltzstein S.L., Shimasaki S. et al. Racial/ethnic and gender disparities in renal cell carcinoma incidence and survival. *J Urol* 2008;179(5):1704–8.
4. Aron M., Nguyen M.M., Stein R.J., Gill I.S. Impact of gender in renal cell carcinoma: an analysis of the SEER database. *Eur Urol* 2008;54(1):133–40.
5. Лопаткин Н.А. Урология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
6. Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями мочевых и мужских половых органов в России в 2003 г. *Онкоурология* 2005; (1):6–9.
7. Robson C.J., Churchill B.M., Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol* 1969;101:297.
8. Lam J.S., Shvarts O., Pantuck A.J. Changing concepts in the surgical management of renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2004;45:692–705.
9. Sandock D.S., Seftel A.D., Resnick M.I. A new protocol for the follow-up of renal cell carcinoma based on pathological stage. *J Urol* 1995;154:28–31.
10. Levy D.A., Slaton J.W., Swanson D.A., Dinney C.P.N. Stage specific guidelines for surveillance after radical nephrectomy for local renal cell carcinoma. *J Urol* 1998;159:1163–7.
11. Eggner S., Reiher F.K., Campbell S.C. Surveillance for renal cell carcinoma after surgical management. *Am Urol* 2001;20:202–7.
12. Janzen N.K., Kim H.L., Figlin R.A. et al. Surveillance after radical or partial nephrectomy for localized renal cell carcinoma and management of recurrent disease. *Urol Clin North Am* 2003;30:843–52.
13. Stephenson A.J., Hakimi A., Snyder E. et al. Complications of radical and partial nephrectomy in a large contemporary cohort. *J Urol* 2004;171:130–4.
14. Theodorescu D., Rabbani F., Donat S.M. Follow up of genitourinary malignancies for the office urologist: A practical approach. Part 2: Kidney cancer and germ cell cancer of the testis. *Am Urol* 2004;23:310–5.
15. Uzzo R.G., Novick A.C. Nephron sparing surgery for renal tumors: Indications, techniques and outcomes. *J Urol* 2001;166:6–18.
16. Marshall F.F. Cryotherapy for small renal cell tumors: pro. *Urology* 1999;53:1077–8.
17. Murphy D.P., Gill I.S. Energy-based renal tumor ablation: A review. *Semin Urol Oncol* 2001;19:133–40.
18. Lowry P.S., Nakada S.Y. Renal cryotherapy: 2003 clinical status. *Curr Opin Urol* 2003;13:193–7.
19. Hinshaw J.L., Lee F.T. Image-guided ablation of renal cell carcinoma. *Magn Reson Imaging Clin North Am* 2004;12:429–47.
20. Majeesh N.J., Avidor Y., Haim M. Emerging nephron sparing treatments for kidney tumors: A continuum of modalities from energy ablation to laparoscopic partial nephrectomy. *J Urol* 2004;171:553–60.
21. Finke J.H., Rayman P., Hart L. et al. Characterization of tumor-infiltrating lymphocyte subsets from human renal cell carcinoma: Specific reactivity defined by cytotoxicity, interferon-gamma secretion and proliferation. *J Immunol Emphasis Tumor Immunol* 1994;15:91–104.
22. Tatsumi T., Kierstead L.S., Ranieri E. et al. Disease-associated bias in T helper type 1 (Th1)/Th2 CD4+ T cell responses against MAGE-6 in HLA-DRB10401+ patients with renal cell carcinoma or melanoma. *J Exp Med* 2002;196:619–28.
23. Vestal D.J., Yi T., Borden C. Pharmacology of interferons: Induced proteins, cell activation and antitumor activity. In: *Cancer chemotherapy and biotherapy*. Chabner B.A., Longo D.L. eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; p. 752–78.
24. Alatrash G., Bukowski R.M., Tannenbaum C.S. et al. Interleukin. In: *Cancer chemotherapy and biotherapy – principles and practice*. 4th ed. Chabner B.A., Longo D.L. eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. p. 767–808.
25. Coppin C., Porzolt F., Awa A. et al. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;CD001425.
26. Pyrhonen S., Salminen E., Ruutu M. et al. Prospective randomized trial of interferon alfa-2a plus vinblastine versus vinblastine alone in patients with advanced renal cell cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:2859–67.
27. Negrier S., Caty A., Lesimple T. et al; Groupe Français d'Immunothérapie, Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. Treatment of patients with metastatic renal carcinoma with a combination of subcutaneous interleukin-2 and interferon with or without fluorouracil. *J Clin Oncol* 2000;18:4009–15.
28. Motzer R.J., Murphy B., Bacik J. et al. Phase III trial of interferon alfa-2a with or without 13-cis-retinoic acid for patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2000;18:2972–80.
29. Fossa S.D., Mickisch G.H., De Mulder P.H.M. et al. Interferon-alfa with or without 13-cis retinoic acid in patients with progressive, measurable metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 2004;101:533–40.
30. Diaz-Montero C.M., Salem M.L., Nishimura M.I. et al. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:49–59.
31. Ochoa A.C., Zea A.H., Hernandez C., Rodriguez P.C. Arginase, prostaglandins, and myeloid-derived suppressor cells in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13:721–6.
32. Griffiths R.W., Elkord E., Gilham D.E. et al. Frequency of regulatory T cells in renal cell carcinoma patients and investigation of correlation with survival. *Cancer Immunol Immunother* 2007;56:1743–53.
33. Lin E.Y., Nguyen A.V., Russell R.G., Pollard J.W. Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy. *J Exp Med* 2001;193:27–40.
34. Di Carlo E., Coletti A., Modesti A. et al. Local release of interleukin-10 by transfected mouse adenocarcinoma cells exhibits pro- and anti-inflammatory activity and results in a delayed tumor rejection. *Eur Cytokine Netw* 1998;9:61–8.
35. Polverini P.J., Leibovich S.J. Induction of neovascularization and nonlymphoid mesenchymal cell proliferation by macrophage cell lines. *J Leukoc Biol* 1985;37:279–88.
36. Huang S., Xie K., Bucana C.D. et al. Interleukin 10 suppresses tumor growth and metastasis of human melanoma cells: Potential inhibition of angiogenesis. *Clin Cancer Res* 1996;2:1969–79.
37. Jones D.H., Nakashima T., Sanchez O.H. et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature* 2006;440:692–6.
38. Mikami S., Katsube K.-I., Oya M., Ishida M. Increased RANKL expression is related to tumour migration and metastasis of renal cell carcinomas. *J Pathol* 2009;218:530–9.
39. Casamassima A., Picciariello M., Quaranta M. et al. C-reactive protein: a biomarker of survival in patients with

- metastatic renal cell carcinoma treated with subcutaneous interleukin-2 based immunotherapy. *J Urol* 2005;173:52–5.
40. Masuda H., Kurita Y., Fukuta K. et al. Significant prognostic factors for 5-year survival after curative resection of renal cell carcinoma. *Int J Urol* 1998;5:418–22.
41. Zisman A., Pantuck A.J., Figlin R.A., Belldegrun A.S. Validation of the UCLA integrated staging system for patients with renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2001;19:3792–3.
42. Fujikawa K., Matsui Y., Oka H. et al. Serum C-reactive protein level and the impact of cytoreductive surgery in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 1999;162:1934–7.
43. Karakiewicz P.I., Hutterer G.C., Trinh Q.D. et al. C-reactive protein is an informative predictor of renal cell carcinoma-specific mortality: a European study of 313 patients. *Cancer* 2007;110(6):1241–7.
44. Blay J.Y., Négrier S., Combaret V. et al. Serum level of interleukin 6 as a prognosis factor in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1992;52:3317–22.
45. Stadler W.M., Richards J.M., Vogelzang N.J. Serum interleukin-6 levels in metastatic renal cell cancer: Correlation with survival but not an independent prognostic indicator. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1835–6.
46. Ljungberg B., Grankvist K., Rasmuson T. Serum interleukin-6 in relation to acute-phase reactants and survival in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1997;33:1794–8.
47. Yoshida N., Ikemoto S., Narita K. et al. Interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and interleukin-1beta in patients with renal cell cancer: Correlation with survival but not an independent prognostic indicator. *J Natl Cancer Instr* 1992;84:1835–6.
48. Miki S., Iwano M., Miki Y. et al. Interleukin-6 functions as an in vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. *FEBS Lett* 1989;250:607–10.
49. Takenawa J., Kaneko Y., Fukumoto M. et al. Enhanced expression of interleukin-6 in primary human renal cell carcinomas. *J Natl Cancer Instr* 1991;83:1668–72.
50. Koo A.S., Armstrong C., Bochner B. et al. Interleukin-6 and renal cell cancer: Production, regulation, and growth effects. *Cancer Immunol Immunother* 1992;35:97–105.
51. Monnier-Caux C., Montmain G., Dieu M.C. et al. Inhibition of the differentiation of dendritic cells from CD34-progenitors by tumor cells: Role of interleukin-6 and macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1998;92:4778–91.
52. Dosquet C., Schaetz A., Faucher C. et al. Tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β and interleukin-6 in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1994;30:162–7.
53. Chuang M.J., Sun K.H., Tang S.J. et al. Tumor-derived tumor necrosis factor- α promotes progression and epithelial-mesenchymal transition in renal cell carcinoma cells. *Cancer Sci* 2008;99(5):905–13.
54. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains CD25. Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155:1151–64.
55. Tang Q., Bluestone J.A. The Foxp3+ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat Immunol* 2008;9(3):239–44.
56. O'Garra A., Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med* 2004;10:801–5.
57. Fontenot J.D., Rudensky A.Y. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol* 2005;6:331–7.
58. Ziegler S.F. FOXP3: of mice and men. *Ann Rev Immunol* 2006;24:209–26.
59. Siddiqui S.A., Frigola X., Bonne-Annee S. et al. Tumor-infiltrating Foxp3-CD4+CD25+ T cells predict poor survival in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(7):2075.
60. Cesana G.C., DeRaffele G., Cohen S. et al. Characterization of CD4+CD25+ regulatory T cells in patients treated with high-dose interleukin-2 for metastatic melanoma or renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2006;24:1169–77.
61. Webster W.S., Thompson R.H., Dong H. et al. Mononuclear cell infiltration in clear-cell renal cell carcinoma independently predicts patient survival. *Cancer* 2006;107:46–53.
62. Sozen S., Coskun U., Sancak B. et al. Serum levels of interleukin-18 and nitrite + nitrate in renal cell carcinoma patients with different tumor stage and grade. *Neoplasma* 2004;51(1):25–9.
63. Montero A.J., Diaz-Montero C.M., Millikan R.E. et al. Cytokines and angiogenic factors in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with interferon: association of pretreatment serum levels with survival. *Ann Oncol* 2009;20:1682–7.
64. Matsuyama H., Yamamoto M., Yoshihiro S. et al. Efficacy of continuous subcutaneous infusion therapy using interferon alpha and the possible prognostic indicator of TNF-alpha in renal cell carcinoma. *Int J Urol* 1997;4(5):447–50.
65. Sonouchi K., Hamilton T.A., Tannenbaum C.S. et al. Chemokine gene expression in the murine renal cell carcinoma, RENCA, following treatment in vivo with interferon-alpha and interleukin-2. *Am J Pathol* 1994;144:747–55.
66. Dosquet C., Schaetz A., Faucher C. et al. Tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β and interleukin-6 in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1994;30:162–7.