

Renal hücreli karsinomda tümör belirleyicilerindeki gelişmeler

Dr. Murat Lekili¹, Dr. Oktay Üçer²

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Manisa

²Manisa Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği, Manisa

ABSTRACT

The incidence of renal cell carcinoma is in the third place after prostate and bladder cancer. Incidence has been gradually growing in the last two decade and it was reported that 2% of deaths occur due to RCC and 3% of all cancers are RCC. The better understanding of molecular biology caused improving treatment modalities. The most of clear cell ca has Von hippel-Lindau gene defect and this relationship has instructed to investigate new tumor markers. In this review, new tumor markers that have prognostic and predictive value in RCC, have been overviewed in the literature. Carbonic anhydrase IX, VEGF, ADAM10, chemochines, B7-H1, Ki-67, survivin, P-53, GLUT-1, calveolin-1, endoglin, ABCBI and ABCCI have been evaluated in detail.

In conclusion, CAIX and VEGF are the most important potential two biological marker in appropriate diagnosis and management of RCC. Although the validation of new markers have been done, the most widely-known pathway is the relationship between clear cell carcinoma and VHL gene expression. The combination of staging systems and new tumor markers may have provide to predict disease free survival.

ÖZET

Renal hücreli karsinom görülme sıklığı açısından prostat ve mesane kanserinden sonra üçüncü sırada gelmektedir. Görülme sıklığı son yirmi yılda giderek artmış ve günümüzde meydana gelen ölümlerin %2'si ve kansere bağlı ölümlerin %3'ünün nedeni olarak belirlenmiştir. Moleküler biyoloji üstündeki bilgilerimizin gelişmesi ile tedavi yöntemlerinde ilerleme sağlanmıştır. Bir çok berrak hücreli kanserde Von Hippel-Lindau genindeki bozukluğun saptanması ve bunun kanserle ilişkisinin ortaya konması diğer tümör belirteçlerinin bulunmasını sağlamıştır. Bu derlemede literatürdeki bilgiler eşliğinde, RHK'da yeni tümör belirteçlerinin prognoz ve öngörü değerleri ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu bağlamda Karbonik anhidraz IX, VEGF, ADAM10, kemokinler, B7-H1, Ki-67, survivin, P-53, GLUT-1, calveolin-1, endoglin, ve ABCCI ayrıntılı olarak işlenmiştir.

Sonuçta CAIX ve VEGF'in RHK'da doğru tanı ve tedavide en çok umut vaat eden iki biyolojik belirteç olarak görülmüştür. Bir çok yeni biyolojik belirtecin değerleri doğrulanmışsa da halen en fazla bilinen oluşum yolu berrak hücreli kanser ve VHL gen ekspresyonu arasındaki ilişkidir. Evreleme sitemleri ve yeni tümör belirteçlerinin birlikte kullanımı ile hastalısız yaşam süresinin öngörümü mümkün olabilecektir.

Giriş

Renal hücreli karsinom (RHK) genitoüriner kanserler içinde prostat ve mesaneden sonra sıklık yönünden üçüncü sırada yer alır (1). Geçtiğimiz iki dekatda görülme sıklığı giderek artmış ve kanserlerle ilgili ölümlerin %2'sini, tüm kanserlerin ise %3'ünü oluşturduğu bildirilmiştir (2). RHK agresif seyreden bir tümör olduğundan, üç hastadan biri tanı konulduğu anda metastatiktir (3) ve yaklaşık %40'ı da bu hastalıktan dolayı ölmektedir (4). Altta yatan moleküler biyolojinin aydınlatılması ile tedavide anlamlı bir ilerleme sağlanmasında RHK bir model olmuştur. Von Hippel-Lindau (VHL) geninin keşfedilmesi renal hücrenin moleküler biyolojisini daha hızlı anlamamızı sağlamıştır. Şeffaf hücreli RHK'da VHL geninin inaktivasyonu, hipoksi indüklenebilir faktörü (HIF) ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) proteini üretiminin aktivasyonuna neden olur. Bu biyolojik mekanizma, metastatik RHK'da spesifik moleküler değişiklikleri hedef alan tedavilerin başarılı bir şekilde uygulanmasını sağlamıştır (5). Moleküler yapının daha iyi anlaşılmasının yanı sıra, tümör biyolojisi, genetik ve hedefe yönelik tedavilerdeki araştırmalar RHK hastalarının prognozunu düzeltme ile ilgili çalışmalarda bir başlangıç olmuştur

(6). RHK spesmenlerinin DNA, RNA ve protein belirteçleri ekspresyonu açısından incelenmesinin hastalar için prognostik veya prediktif bilgi sağlayabileceği ve tedavi seçiminde rehberlik edebileceği rapor edilmiştir (5). Yukarıda bahsedilen çalışmalardaki ortak amaç RHK hastasının en iyi şekilde sınıflandırılması ve buna uygun algoritmaların oluşturulmasıdır. Moleküler biyolojik belirteçlerle oluşturulacak bu algoritmaların RHK'yı en iyi şekilde tedavi etmemizi sağlayacağı düşünülmektedir. Bu makalede, RHK'da prognostik ve prediktif değerleri olan yeni tümör belirteçleriyle ilgili yayınlanan makaleler gözden geçirilecektir.

Şeffaf hücreli RHK'ların çoğunda VHL tümör baskılayıcı genin defekti mevcuttur ve bu ilişki, RHK ile ilgili tümör belirteçlerinin araştırılmasında önemli bir bilgi olarak değerlendirilmiştir. VHL beyincik, retina, pankreas ve böbrek gibi çok sayıda organdaki hipervasküler tümörlerle ilişkidir (6). VHL gen alellerindeki kayıplar VHL hastalığı oluşmasında predispozan bir faktördür. VHL proteininin (pVHL) görevi hücre sitoplazması içindeki HIF-1α'nın regülasyonunu sağlamaktır. HIF-1α; VEGF, eritropoetin, glutathione-1 gibi hipoksida rol oynayan çok sayıda genin transkripsiyonunda en önemli rolü oynayan faktördür. RHK'daki hipervaskülarite ve agresif seyirden de pVHL'nin kaybı

“Gelecekte CAIX’e yönelik çalışmalarla; şüpheli vakalarda RHK tanısının işaretli antikörlerle desteklenmesi ve cerrahi tedavisi sonrası rekürrens takiplerinde bu antikörlerin kullanılması sağlanabilir.”

nın ve buna bağlı olarak HIF-1α regülasyon bozukluğunun sorumlu olduğu bildirilmiştir (6). Şeffaf hücreli RHK’nın çoğunda pVHL kaybı olması ile vaskülaritenin artması arasındaki ilişkiyi destekleyen bir diğer görüş de, papiller ve kromofob tip RHK’da şeffaf tipe oranla hipervaskülaritenin daha az olduğudur (7).

Karbonik Anhidraz IX

Karbonik anhidraz IX (CAIX; G250 olarak da adlandırılır), insan tümörlerinin çoğunda tümör büyümesiyle bağlantısı olan bir transmembran proteindir ve HIF-1α düzenleyicisidir. HIF tarafından eksprese edilen şeffaf hücreli RHK’ya da özgü bir enzimdir (8). CAIX’in, tümöral hipoksi ve ardından gelişen anaerobik metabolizmaya cevap olarak hücre içi ve dışı pH seviyesini düzenlediği düşünülmektedir. Hipoksiye neden olduğu için çoğu büyük tümörlerde artmış CAIX ekspresyonu birlikteliği görülür hipoksisi ile artan ekspresyonunun birlikte görüldüğü bir belirteçtir ve bu ekspresyon en fazla nekroz alanlarının hemen yanında bulunan tümör hücrelerinde görülür (9). Şeffaf hücreli RHK’da CAIX ekspresyonu çok yüksektir, çünkü VHL geni inaktivasyonu ve sonucunda CAIX için bir transkripsiyon faktör olan HIF-1α’nın yüksek ekspresyonu söz konusudur (10). Şeffaf hücreli RHK’nın tanısını kanıtlamada (11-13), prognozu belirlemede (14-17), tedaviye cevabı öngörmede (18-19) ve hedefe yönelik tedavi araştırmaları (20-22) için ideal bir biyolojik tümör belirteçidir.

CAIX’in RHK için önemli bir tümör belirteci olduğunu gösteren çalışmalarda; CAIX, RHK örneklerinde %86, normal böbrek dokusunda ise sadece %9 oranında belirlenmiştir (23). Ayrıca primer ve metastatik RHK’da bu oranın %80’den daha fazla olduğu rapor edilmiştir (24). Şeffaf hücreli RHK’da ise CAIX pozitif boyanma oranlarının %94-100’e kadar çıktığı, buna karşın onkositom gibi benin tümörlerde boyanmanın olmadığı gösterilmiş-

tir (15, 24). Daha önce yapılan çalışmalarda; şeffaf hücreli RHK’da yüksek CAIX ekspresyonunun (>%85) metastatik olan hastalarda uzun süreli hastalığa özgü sağkalımda (14, 15, 25), lokalize RHK hastalarında ise rekürrensiz sağkalımda (16, 17) iyileşmeyi gösteren bağımsız bir öngörücü faktör olduğu bildirilmiştir. Ancak yakın zamanda yapılan iki çalışma CAIX’in bağımsız bir faktör olduğunu desteklemede başarısız olmuştur (17, 26). Düşük CAIX boyanmasının; metastatik RHK hastalarda düşük sağkalımın bağımsız bir göstergesi olduğu, lokalize yüksek riskli RHK hastalarda ise kötü prognozu işaret ettiği (15) ve hastalık spesifik sağkalımı da azalttığı gösterilmiştir (27).

Tesadüfen saptanan böbrek kitlelerinin histolojik tiplerini perkütan biyopsiler yerine farklı yöntemlerle tahmin edebilmek biyopsi ihtiyacını, dolayısıyla komplikasyonlarını (kanaama %13, ölüm %0,1) (28) giderebileceği düşünülmektedir (6). Oosterwijk ve arkadaşlarının (29) yaptığı biyopsi ile ilgili ilk çalışmada; mAbG250 (monoklonal antikör G250) ile işaretleme yapılmış ve tümör dokusunda yüksek tutulum olduğu, mükemmel tümör görüntüsü sağladığı ve diğer normal dokularda tutulum olmadığı gösterilmiştir. Daha sonra Mulders ve arkadaşlarının (30) yaptıkları çalışmada; primer ve metastatik RHK’da CAIX’e karşı işaretli monoklonal antikörlerin hem selektif hem de spesifik olduğu rapor edilmiştir. Gelecekte CAIX’e yönelik çalışmalarla; şüpheli vakalarda RHK tanısının işaretli antikörlerle desteklenmesi ve cerrahi tedavisi sonrası rekürrens takiplerinde bu antikörlerin kullanılması sağlanabilir.

Vasküler endotel büyüme faktörü

VEGF gibi anjiogenetik faktörler RHK’nın invazyonunda ve anjiogenezinde anahtar mediyatörlerdir (31). Gen ekspresyon analizlerinde; RHK’da VEGF-A gibi anjiogenetik faktörlerin önemi gösterilmiştir (32-34). RHK’da meydana gelen hipoksik alana ilaveten pVHL kaybı, HIF-1α’nın regülasyon bozukluğuna ve bunun da VEGF mRNA reseptör artışına neden olduğu düşünülmektedir (35,36). VHL mutasyonu nadiren de olsa kromofob ve papiller tip RHK’da görülebilir, ancak bunlarda oluşan immünohistokimyasal VEGF ekspresyonu diğer yollarla meydana gelen VEGF alt tipleri ile farklılık göstermez (37). VEGF’in serumdaki konsantrasyonu tümörün evresi ve kötü sağkalım süresiyle ilişkilidir (27). VEGF’in ekspresyonu ve tümör evresi arasında da ilişki olduğu gösterilmiştir (38).

Tümör hücrelerindeki VEGF-A ve HIF-1α’nın fazla ekspresyonunun, daha agresif bir şeffaf hücreli RHK alt tipinin göstergesi olduğu ve lokalize veya metastatik RHK’daki

“Son yıllarda RHK’nın antianjiogenetik tedavisinde özellikle VEGF yollarının inhibitörlerinin kullanımı araştırılmış ve anlamlı ilerlemeler kaydedilmiştir (41).”

kötü prognozla birlikteliği rapor edilmiştir (39). VEGF-D ise VEGFR-2 ve VEGFR-3 ile bağlanır ve lenfanjiogenezis yolunda görev alır (40). Düşük VEGF-D ekspresyonu da RHK’dan ölüm riskini artırmaktadır (25).

Son yıllarda RHK’nın antianjiogenetik tedavisinde özellikle VEGF yollarının inhibitörlerinin kullanımı araştırılmış ve anlamlı ilerlemeler kaydedilmiştir (41). CD147 (42) ve koagülasyon faktörleri (43) ile VEGF’in birlikteliğinin RHK’daki anjiogeneziste önemli rol oynadığı ve prognostik faktör olabileceği de söylenmiştir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda tüm ilerlemelere rağmen, klinik kullanımda bir standart sağlanamaması VEGF’in RHK’da prognostik belirteç olarak kullanılmasını sınırlamaktadır ve bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Alternatif tümör belirteçleri

RHK için çok sayıda yeni tümör belirteci bulunmuştur. Yeni bulunan ve önemli olan tümör belirteçlerinden bazıları;

ADAM10: ADAM10 bir metalloproteazdır ve tümör evresi, lenf nodu ve metastaz durumu ile anlamlı olarak ilişkili olduğu, ayrıca papiller RHK’da belirgin şekilde bulunduğu gösterilmiştir (44). IL-15’in tümör içi ekspresyonu güçlü bir immünomodülatör faktördür ve tümör progresyonu ve kötü klinik sonuçlar ile ilişkilidir. Bu faktör ADAM17 ve ADAM10 tarafından hücre dışına bırakılır. Sonuçta IL-15 tümör progresyonunda kritik bir süreç olan epitelyum-mezenkimal transdiferansiyasyonu meydana getirir (45).

CXCL16: Kemokinler antitümör immünite regülasyonunda, anjiogeneziste ve metastazlarda gerekli olan bir protein ailesidir (46). CXCL16 lökosit ve T-lenfositlerin inflamasyon alanına gelmesinde önemli rol oynar (47). RHK’daki yüksek CXCL16 ekspresyonu ile artmış sağkalım oranları arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (44).

B7-H1: İmmünregülatör bir protein olup, ekspresyonu etkili antitümör immüniteyi bozar ve tümör progresyonuna yol açar. RHK’da B7-H1 ekspresyonunun kanser progresyonu

ve kansere bağlı ölüm ile anlamlı derecede ilişkisi olduğu bulunmuştur (48).

Ki-67: Proliferasyon faktörüdür ve bir hücre popülasyonunda az miktarda büyüme sağlamaktadır. Yüksek Ki-67 ekspresyonu RHK'daki yüksek nükleer grade ve kötü prognozla bağlantılıdır (49).

Survivin: Apoptozisi inhibe eden bir belirteçtir ve kanserin kemo-rezistan özelliğine yardımcı olmaktadır. Apoptozis inhibitör ailesinin bir üyesidir, ancak ilginç olan bu ailenin diğer üyelerinden farklı olarak survivin; fetal dokuda yüksek ekspresyona sahipken, normal erişkin dokusunda bulunmaz (50). Mide, kolon, meme, prostat ve non-hodgkin lenfoma gibi yaygın tümörlerde survivin tanımlanmıştır (51). Daha önce yapılan iki çalışmada; şeffaf hücreli RHK'da survivin ekspresyonunun hastalığın progresyonunda ve hastalığa bağlı ölüme rol oynayan bağımsız bir faktör olduğu gösterilmiştir (52, 53). Zamparase ve arkadaşlarının çalışmasında (54) ise; survivin ekspresyonu RHK'nın üç tipinde de (şeffaf, kromofob ve papiller) saptanmıştır. Ekspresyonun; ileri evre, kötü diferansiyasyon ve daha agresif şeffaf hücreli RHK ile bağlantılı olduğu da rapor edilmiştir. RHK'da sağkalım oranları; düşük survivin ekspresyonu olan hastalarda yüksek olanlara göre daha iyi bulunmuştur ($p < 0,05$) (54).

P-53: Yüksek P53 protein boyanması kötü prognoz ile ilişkilidir (25). P53 tümör süpresör geni hücre siklusunu düzenler ve DNA hasarlanması olduğu zaman apoptozisi meydana getirir. Mutant P53 genleri uzun yarı ömürlerinden dolayı immünohistokimyasal olarak belirlenebilir. Mutant P53 ekspresyonu renal tümörlerin %20-50'sinde bulunur ve histolojik tiplerine göre değişebilir (55, 56).

GLUT-1: GLUT-1 glikozun hücre membranından taşınmasını yardımcı olur ve fazla ekspresyonu birkaç malignansi de rapor edilmiştir (6). GLUT-1'in yüksek seviyesi HIF-1 α seviyesiyle koreledir ve şeffaf hücreli RHK'da papiller ve kromofob olanlara oranla ekspresyonu daha yüksektir (57).

“RHK'yı moleküler düzeyde çözümlene çabaları ve yeni belirteçlerin keşfedilmesi, hastalığın prognozunu göstermede yardımcı olacak evreleme sisteminin kullanımına olanak sağlayacaktır.”

Calveolin -1: Artan calveolin-1'in RHK'da kısa sağkalım süresiyle ve metastazlarla ilişkili olduğu bulunmasına rağmen, yapılan çokdeğişkenli analizlere göre bağımsız prognostik bir faktör değildir (58).

Endoglin: Şeffaf hücreli RHK'da endoglin ekspresyonu, tümörün grade ve evresi ile ters olarak ilişkilidir. Dolayısıyla yüksek ekspresyonla daha iyi prognoz birlikteliği mevcuttur. Çokdeğişkenli analizler endoglinin de bağımsız bir öngörücü faktör olmadığını göstermiştir (59).

ABCBI ve ABCCI: RHK oluşmasında bir rolü olup olmadığı kanıtlanmamasına rağmen, tümörün kemoterapiye direncinde yardımcı bir faktör olduğu bildirilmiştir (60).

Tümör belirteçleri ve evreleme sistemi

Lokalize hastalığı olan hastalarda nefrektomiye takiben yüksek relaps oranları cerrahi sırasında belirlenemeyen mikrometastazların varlığını gösterir (61). Esas olan hangi hastaların yüksek rekürrens riskine sahip olduğunu belirlemektir. Her evreden RHK hastalarında prognozu tahmin etmede birkaç sınıflandırma şeması vardır. Bu şemalar lokalize RHK'da ameliyattan sonraki sonuçları öngörmek için, metastatik hastalıkta genel sağkalımı tahmin etmek için kullanılır (5). RHK'yı moleküler düzeyde çözümlene

çabaları ve yeni belirteçlerin keşfedilmesi, hastalığın prognozunu göstermede yardımcı olacak evreleme sisteminin kullanımına olanak sağlayacaktır. Hastaliksız sağkalım ile bağımsız olarak ilişkili 5 belirteç vardır; Ki-67, P53, epitelyal ve endotelyal VEGFR-1 ve epitelyal VEGFD (25).

Yeni evreleme sistemleri tek başına kullanılan anatomik evreleme sistemi ile karşılaştırıldığında prognostik iyileşmeyi gösterebilme özelliği daha iyidir (62, 63). Bu evreleme sistemleri şunları içermektedir; UCLA integrated staging system (UISS) (64) (TNM evresi, Eastern Cooperative Oncology Group performans durumu ve tümörün Fuhrman grade'ini içermektedir), Kattan postoperatif nomogram (65), Biyoskor (66) ve SSIGN'dir (stage, size, grade ve necrosis) (67).

Hem UISS hem de SSIGN'nin geçerliliği geniş çok merkezli çalışmalarla valide edilmiştir ve gerçekten iyi öngörücü değerleri olduğu gösterilmiştir (64, 67). UISS ve SSIGN'yi karşılaştıran yeni bir çalışmada metastatik olan ve olmayan şeffaf hücreli RHK'da SSIGN'nin daha iyi olduğu yayınlanmıştır (68). Kattan nomogramı lokalize RHK için öngörücü değeri yüksek olarak belirtilmişti (65), ancak yeni yapılan bir çalışmadaki bulgular bu verileri desteklememiştir (69). Biyoskorlar ile ilgili yapılan çalışmada düşük skorlu RHK'lı hastalarla karşılaştırıldığında yüksek skorlu olanlarda ölüm riskinin 5 kat fazla olduğu rapor edilmiştir (66).

Sonuç

Günümüzde RHK'nın moleküler haritası mevcut verilerle çizilmeye başlanmıştır. RHK için doğru tanı ve tedavide potansiyeli olan en önemli iki biyolojik belirteç CAIX ve VEGF'dir. Yeni belirteçlerin validasyonlarının yapılmasına rağmen, hala en iyi bilinen yol şeffaf hücreli RHK ile VHL arasındaki ilişkidir. Tanımlanan evreleme sistemlerinin kombinasyonu hastaliksız sağkalımı öngörmemizi sağlayabilir. Özellikle yakın gelecekte bu konu devamlı olarak yeni bilgilerle güncellenecektir.

Kaynaklar

1. Garcia JA, Cowey CL, Godley PA. Renal Cell Carcinoma. Curr Opin Oncol 2009; 21: 266-71.
2. Ljungberg B, Hanbury DC, Kuczyk MA, et al. Renal cell carcinoma guideline. Eur Urol 2007; 51: 1502-10.
3. Lam JS, Shvarts O, Leppert JT, et al. Renal cell carcinoma 2005: new frontiers in staging, prognostication and targeted molecular therapy. J Urol 2005; 173:1853-62.
4. Janzen NK, Kim HL, Figlin RA, Beldegrun AS. Surveillance after radical or partial nephrectomy for localized renal cell carcinoma and management of recurrent disease. Urol Clin North Am 2003; 30: 843-52.
5. Rini BI. Current status and future directions of molecular markers in renal cell carcinoma. Curr Opin Urol 2006; 16: 332-6.
6. McGuiire BB, Fitzpatrick JM. Biomarkers in renal cell carcinoma. Curr Opin Urol 2009; 19: 441-6.
7. Strieter RM. Masters of angiogenesis. Nat Med 2005; 11: 925-7.
8. Grabmaier K, A de Weijert MC, Verhaegh GW, Schalken JA, Oosterwijk E. Strict regulation of CAIX(G250/MN) by HIF-1 α in clear cell renal cell carcinoma. Oncogene 2004; 23: 5624-31.
9. Beasley NJ, Wykoff CC, Watson PH, et al. Carbonic anhydrase IX, an endogenous hypoxia marker, expression in head and neck squamous cell carcinoma and its relationship to hypoxia, necrosis, and microvessel density. Cancer Res 2001; 61: 5262-7.

10. Gnarra JR, Tory K, Weng Y, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet* 1994; 7: 85–90.
11. Chen YT, Tu JJ, Kao J, et al. Messenger RNA expression ratios among four genes predict subtypes of renal cell carcinoma and distinguish oncocytoma from carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6558–66.
12. Liao SY, Aurelio ON, Jan K, et al. Identification of the MN/CA9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res* 1997; 57: 2827–31.
13. McKiernan JM, Buttyan R, Bander NH, et al. The detection of renal carcinoma cells in the peripheral blood with an enhanced reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for MN/CA9. *Cancer* 1999; 86: 492–7.
14. Kim HL, Seligson D, Liu X, et al. Using tumor markers to predict the survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 2005; 173:1496–501.
15. Bui MH, Seligson D, Han KR, et al. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 802–11.
16. Li G, Feng G, Gentil-Perret A, et al. CA9 gene expression in conventional renal cell carcinoma: a potential marker for prediction of early metastasis after nephrectomy. *Clin Exp Metastasis* 2007; 24: 149–55.
17. Sandlund J, Oosterwijk E, Grankvist K, et al. Prognostic impact of carbonic anhydrase IX expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2007; 100:556–60.
18. Bukowski RM. Cytokine combinations: therapeutic use in patients with advanced renal cell carcinoma. *Semin Oncol* 2000; 27: 204–12.
19. Atkins M, Regan M, McDermott D, et al. Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 3714–21.
20. Mukoyama H, Janzen NK, Hernandez JM, et al. Generation of kidney cancerspecific antitumor immune responses using peripheral blood monocytes transduced with a recombinant adenovirus encoding carbonic anhydrase 9. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1421–9.
21. Kim HL, Sun X, Subjeck JR, Wang XY. Evaluation of renal cell carcinoma vaccines targeting carbonic anhydrase IX using heat shock protein 110. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 1097–105.
22. Davis ID, Liu Z, Saunders W, et al. A pilot study of monoclonal antibody cG250 and low dose subcutaneous IL-2 in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer Immun* 2007; 7: 14.
23. Lam JS, Leppert JT, Figlin RA, Beldegrun AS. Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. *Urology* 2005; 66 (5 Suppl): 1–9.
24. Uemura H, Nakagawa Y, Yoshida K, et al. MN/CA IX/G250 as a potential target for immunotherapy of renal cell carcinomas. *Br J Cancer* 1999; 81: 741–6.
25. Klatter T, Seligson DB, LaRochelle J, et al. Molecular signatures of localized clear cell renal cell carcinoma to predict disease-free survival after nephrectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 894–900.
26. Leibovich BC, Sheinin Y, Lohse CM, et al. Carbonic anhydrase IX is not an independent predictor of outcome for patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4757–64.
27. Phuoc NB, Ehara H, Gotoh T, et al. Prognostic value of the co-expression of carbonic anhydrase IX and vascular endothelial growth factor in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 525–30.
28. Whittier WL, Korbet SM. Timing of complications in percutaneous renal biopsy. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 142–7.
29. Oosterwijk E, Bander NH, Divgi CR, et al. Antibody localization in human renal cell carcinoma: a phase I study of monoclonal antibody G250. *J Clin Oncol* 1993; 11: 738–50.
30. Mulders P, Bleumer I, Debruyne F, Oosterwijk E. Specific monoclonal antibody-based immunotherapy by targeting the RCC-associated antigen carbonic anhydrase-IX (G250/MN). *Urologe A* 2004; 43 (Suppl 3):146–7.
31. Rini BI, Rathmell WK. Biological aspects and binding strategies of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 741–6.
32. Skubitz KM, Skubitz AP. Differential gene expression in renal-cell cancer. *J Lab Clin Med* 2002; 140: 52–64.
33. Takahashi M, Rhodes DR, Furge KA, et al. Gene expression profiling of clear cell renal cell carcinoma: gene identification and prognostic classification. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 9754–9.
34. Young AN, Amin MB, Moreno CS, et al. Expression profiling of renal epithelial neoplasms: a method for tumor classification and discovery of diagnostic molecular markers. *Am J Pathol* 2001; 158: 1639–51.
35. Mizukami Y, Kohgo Y, Chung DC. Hypoxia inducible factor-1 independent pathways in tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5670–4.
36. Blancher C, Moore JW, Robertson N, Harris AL. Effects of ras and von Hippel-Lindau (VHL) gene mutations on hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha, HIF-2alpha, and vascular endothelial growth factor expression and their regulation by the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signaling pathway. *Cancer Res* 2001; 61: 7349–55.
37. Jacobsen J, Grankvist K, Rasmuson T, et al. Expression of vascular endothelial growth factor protein in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2004; 93: 297–302.
38. Zhang X, Yamashita M, Uetsuki H, Kakehi Y. Angiogenesis in renal cell carcinoma: evaluation of microvessel density, vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases. *Int J Urol* 2002; 9: 509–14.
39. Dordevic G, Matusan-Llijas K, Babarovic E, et al. Hypoxia inducible factor-1 alpha correlates with vascular endothelial growth factor A and C indicating worse prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 40.
40. Karkkainen MJ, Petrova TV. Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Oncogene* 2000; 19: 5598–605.
41. Zurita AJ, Jonasch E, Wu HK, et al. Circulating Biomarkers for Vascular Endothelial Growth Factor Inhibitors in Renal Cell Carcinoma. *Cancer* 2009; 115 (Suppl 10): 2346–54.
42. Liang YX, He HC, Han ZD, et al. CD147 and VEGF Expression in Advanced Renal Cell Carcinoma and Their Prognostic Value. *Cancer Inves* 2009; 27: 788–93.
43. Verheul HMW, van Erp K, Homs MYV, et al. The Relationship of Vascular Endothelial Growth Factor and Coagulation Factor (Fibrin and Fibrinogen) Expression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Urology* 2009; (article in press).
44. Gutwein P, Schramme A, Sinke N, et al. Tumoural CXCL16 expression is a novel prognostic marker of longer survival times in renal cell cancer patients. *Eur J Cancer* 2009; 45: 478–89.
45. Khawam K, Giron-Michel J, Gu Y, et al. Human renal cancer cells express a novel membrane-bound interleukin-15 that induces, in response to the soluble interleukin-15 receptor alpha chain, epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2009; 69: 1561–9.
46. Tanaka T, Bai Z, Srinoulprasert Y, et al. Chemokines in tumor progression and metastasis. *Cancer Sci* 2005; 96: 317–22.
47. Schramme A, Abdel-Bakky MS, Gutwein P, et al. Characterization of CXCL16 and ADAM10 in the normal and transplanted kidney. *Kidney Int* 2008; 74: 328–38.
48. Thompson RH, Kuntz SM, Leibovich BC, et al. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. *Cancer Res* 2006; 66: 3381–5.
49. Visapaa H, Bui M, Huang Y, et al. Correlation of Ki-67 and gelsolin expression to clinical outcome in renal clear cell carcinoma. *Urology* 2003; 61: 845–50.
50. Adida C, Crotty PL, McGrath J, et al. Developmentally regulated expression of the novel cancer antiapoptosis gene survivin in human and mouse differentiation. *Am J Pathol* 1998; 152: 43–9.
51. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel antiapoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3: 917–21.
52. Parker AS, Kosari F, Lohse CM, et al. High expression levels of survivin protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2006; 107: 37–45.
53. Byun SS, Yeo WG, Lee SE, Lee E. Expression of survivin in renal cell carcinomas: association with pathologic features and clinical outcome. *Urology* 2007; 69: 34–7.
54. Zamparese R, Pannone G, Santoro A, et al. Survivin expression in renal cell carcinoma. *Cancer Invest* 2008; 26: 929–35.
55. Shvarts O, Seligson D, Lam J, et al. p53 is an independent predictor of tumor recurrence and progression after nephrectomy in patients with localized renal cell carcinoma. *J Urol* 2005; 173: 725–8.
56. Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P, et al. Value of p53 as a prognostic marker in histologic subtypes of renal cell carcinoma: a systematic analysis of primary and metastatic tumor tissue. *Urology* 2004; 63: 651–5.
57. Lidgren A, Bergh A, Grankvist K, et al. Glucose transporter-1 expression in renal cell carcinoma and its correlation with hypoxia inducible factor-1 alpha. *BJU Int* 2008; 101: 480–4.
58. Joo HJ, Oh DK, Kim YS, et al. Increased expression of caveolin-1 and microvessel density correlates with metastasis and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *BJU Int* 2004; 93: 291–6.
59. Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A, et al. Endoglin (CD105) expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2006; 97: 706–10.

60. Walsh N, Larkin A, Kennedy S, et al. Expression of multidrug resistance markers ABCB1 (MDR-1/P-gp) and ABCC1 (MRP-1) in renal cell carcinoma. *BMC Urology* 2009; 9: 6.
61. Rodriguez A, Sexton WJ. Management of locally advanced renal cell carcinoma. *Cancer Control* 2006; 13: 199–210.
62. Patard JJ, Kim HL, Lam JS, et al. Use of the University of California Los Angeles integrated staging system to predict survival in renal cell carcinoma: an international multicenter study. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3316–22.
63. Cindolo L, Patard JJ, Chiodini P, et al. Comparison of predictive accuracy of four prognostic models for nonmetastatic renal cell carcinoma after nephrectomy: a multicenter European study. *Cancer* 2005; 104: 1362–71.
64. Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, et al. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1649–57.
65. Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, et al. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol* 2001; 166: 63–7.
66. Parker AS, Leibovich BC, Lohse CM, et al. Development and evaluation of BioScore: a biomarker panel to enhance prognostic algorithms for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 2092–103.
67. Ficarra V, Martignoni G, Lohse C, et al. External validation of the Mayo Clinic Stage, Size, Grade and Necrosis (SSIGN) score to predict cancer specific survival using a European series of conventional renal cell carcinoma. *J Urol* 2006; 175: 1235–9.
68. Ficarra V, Novara G, Galfano A, et al. The 'Stage, Size, Grade and Necrosis' score is more accurate than the University of California Los Angeles Integrated Staging System for predicting cancer-specific survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. *BJU Int* 2009; 103: 165–70.
69. Hupertan V, Roupret M, Poisson JF, et al. Low predictive accuracy of the Kattan postoperative nomogram for renal cell carcinoma recurrence in a population of French patients. *Cancer* 2006; 107: 2604–8.