

## ВЫСОКАЯ ЭКСПРЕССИЯ CD8+ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИТУМОРОЗНОЙ ЗОНЕ РАКА ПОЧКИ: ВЗАИМОСВЯЗИ С КЛИНИКО - ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ КАРЦИНОМ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Бобров И.П.<sup>1</sup>, Черданцева Т.М.<sup>2</sup>, Долгатова Е.С.<sup>1</sup>, Долгатов А.Ю.<sup>1</sup>, Лепилов А.В.<sup>1</sup>, Корсиков Н.А.<sup>1</sup>, Лушникова Е.Л.<sup>3</sup>, Бакарев М.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России, Барнаул, e-mail: nikkor94knaagmu@yandex.ru;

<sup>2</sup>Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Рязань; <sup>3</sup>Институт молекулярной патологии и патоморфологии «Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск

Целью исследования являлась оценка прогностического значения количественного подсчета CD8+ Т-лимфоцитов в перитуморозной зоне почечно-клеточного рака. Ретроспективно был проанализирован материал 74 пациентов после оперативного лечения по поводу почечно-клеточной карциномы с полным 5-летним наблюдением. Из 74 пациентов 56 к 5-летнему сроку наблюдения были живы, а 18 умерли от рака. После иммуногистохимического окрашивания определяли плотность распределения CD8+ Т-лимфоцитов в перитуморозной зоне карцином в 3-х репрезентативных полях зрения при увеличении x 400 и проводили сопоставления с клинико-патологическими характеристиками новообразований и общей 5-летней выживаемостью пациентов. Высокий уровень инфильтрации перитуморозной зоны карцином CD8+ Т-лимфоцитами был при III-IV стадиях заболевания ( $p = 0,0000001$ ), в опухолях >7 см ( $p = 0,0000001$ ), при III-IV степенях анаплазии по Fuhrman ( $p = 0,001$ ), при наличии метастазов ( $p = 0,0000001$ ) и при более короткой общей выживаемости пациентов ( $p = 0,0003$ ). Так же отмечали высокое содержание CD8+ Т-лимфоцитов у мужчин ( $p = 0,001$ ) и в случаях неклассифицируемого рака. В свете необходимости поиска новых прогностических критериев при раке почки заключаем, что высокий уровень инфильтрации перитуморозной зоны CD8+ Т-лимфоцитами является неблагоприятным фактором прогноза. Оценка инфильтрации перитуморозной зоны рака почки CD8+ Т-лимфоцитами может служить дополнительным прогностическим фактором, который на дооперационном уровне может прогнозировать течение заболевания.

Ключевые слова: рак почки, околоопухолевая зона, CD8+ Т-лимфоциты, факторы прогноза, анализ общей выживаемости.

## HIGH EXPRESSION OF CD8+ T-LYMPHOCYTES IN THE PERITUMORAL ZONE OF RENAL CANCER: RELATIONSHIPS WITH CLINICAL AND PATHOLOGICAL PARAMETERS OF CARCINOMA AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE

Bobrov I.P.<sup>1</sup>, Cherdantseva T.M.<sup>2</sup>, Dolgatova E.S.<sup>1</sup>, Dolgатов A.Yu.<sup>1</sup>, Lepilov A.V.<sup>1</sup>, Korsikov N.A.<sup>1</sup>, Lushnikova E. L.<sup>3</sup>, Bakarev M. A. <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul, e-mail: nikkor94knaagmu@yandex.ru;

<sup>2</sup>Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, Ryazan;

<sup>3</sup>Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk

The aim of the study was to assess the prognostic value of quantitative CD8+ T-lymphocyte counts in the peritumorotic zone of renal cell cancer. Materials and Methods. We retrospectively analyzed the material of 74 patients after surgical treatment for renal cell carcinoma with full 5-year follow-up. Of the 74 patients, 56 were alive by the 5-year follow-up and 18 had died of cancer. After immunohistochemical staining, we determined CD8+ T-lymphocyte distribution density in the peritumoral zone of carcinomas in 3 representative fields of view at x 400 magnification and made comparisons with the clinicopathological characteristics of neoplasms and the overall 5-year survival rate of patients. Results. The high level of CD8+ T-lymphocyte infiltration in the peritumoral zone of carcinomas was seen in stages III-IV of the disease ( $p = 0,0000001$ ), in tumors >7 cm ( $p = 0,0000001$ ), in Fuhrman grade III-IV anaplasia ( $p = 0,001$ ), in metastases ( $p = 0,0000001$ ) and in the shorter total survival rate of patients ( $p = 0,0003$ ). High CD8+ T-lymphocyte counts were also observed in men ( $p = 0,001$ ) and in cases of unclassified cancer. Conclusion. In the light of the need to search for new prognostic criteria in kidney cancer we conclude that high level of peritumorotic zone infiltration by CD8+ T-lymphocytes is an unfavorable prognostic factor.

**Assessment of peritumorous zone infiltration by CD8+ T-lymphocytes may serve as an additional prognostic factor that can predict the course of the disease at preoperative level.**

Keywords: kidney cancer, peritumoral zone, CD8+ T-lymphocytes, prognostic factors, overall survival analysis.

Клетки воспалительного инфильтрата перитуморозной зоны (ПЗ) злокачественного новообразования все более привлекает внимание исследователей [1, 2, 3]. По современным представлениям воспалительный инфильтрат в прилегающей к опухоли морфологически неизменной ткани участвует в процессе малигнизации [4], так как опухолевые клетки имеют способность распространяться намного дальше инвазивного края опухоли. В ПЗ малигнизированные клетки способны ремоделировать строму путем взаимодействия с тучными клетками, макрофагами, фибробластами и лимфоцитами. Основной путь активации CD8+ лимфоцитов в ПЗ – это презентация опухолевых антигенов дендритными клетками через связывание Т-клеточного рецептора (TCR) с доменами молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС-II) дендритной клетки с формированием иммунокомпетентных клонов [5]. Так же известен путь активации CD8+ Т-лимфоцитов через CD4+ Т-лимфоциты: именно активированные CD4+ Т-хелперы ПЗ путем секреции эффекторных цитокинов стимулируют миграцию и активность CD8+ Т-лимфоцитов [6]. Также, имеются данные, что CD4+ и CD+ Т-лимфоциты ПЗ могут участвовать в процессе эпителиально-мезенхимального перехода, в процессах инвазии и метастазирования карцином путем активации матриксных металлопротеиназ [7, 8].

Цитотоксические CD8+ Т-лимфоциты являются неотъемлемыми участниками перитуморозного воспалительного инфильтрата. В то же время прогностическое значение подсчета CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ карцином не однозначно.

Данилова Н.В. и соавт. (2021) показали, что при раке желудка высокая плотность CD8+ Т- лимфоцитов в ПЗ была ассоциирована с большой глубиной инвазии, более продвинутой стадией заболевания, наличием опухолевых эмболов в сосудах и короткой общей 5-летней выживаемостью [6]. При раке молочной железы по данным Soforoulos M. и соавт. (2019) пациенты с высоким содержанием перитуморозных CD8+ Т-лимфоцитов показывали плохую послеоперационную выживаемость [9].

Однако данные Hu W.H. и соавт. (2015) показали, что при плоскоклеточном раке анального канала имелись сильные положительные корреляции между высоким уровнем перитуморозных CD8+ Т-лимфоцитов, хорошей дифференцировкой опухоли, ранней патологической стадией и лучшим прогнозом [10]. Аналогичные данные получены при раке печени [11]. Не выявлено взаимосвязей содержания перитуморозных CD8+ Т-лимфоцитов с клинико-морфологическими параметрами карцином и прогнозом при раке поджелудочной железы [12].

В научной литературе по данному вопросу имеются отдельные работы, показывающие, что стромальная инфильтрация опухолевых клеток CD8+ Т-лимфоцитами являлась неблагоприятным фактором прогноза при почечно-клеточном раке (ПКР). Так, Nakano O. и соавт. (2001) показали, что большое число стромальных CD8+ Т-лимфоцитов было ассоциировано с более коротким послеоперационным выживанием пациентов. При этом данные авторы заключают, что важен не сам факт увеличения количества CD8+ Т-лимфоцитов, а необходимо учитывать уровень пролиферации иммунных клеток, при неблагоприятном прогнозе индекс пролиферации лимфоцитов был низким [13]. Данные исследований значения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ ПКР немногочисленны и неоднозначны.

Цель исследования – изучить экспрессию и определить прогностическую значимость плотности распределения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ при ПКР.

**Материалы и методы исследования.** Ретроспективно проанализирован операционный материал 74 пациентов после оперативного лечения по поводу ПКР с полным 5-летним наблюдением. Из 74 пациентов 56 к 5-летнему сроку наблюдения были живы, а 18 умерли от рака. Базовые клинико-патологические характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Клинико-патологическая характеристика пациентов

Клинико-патологический параметр	Число пациентов	%
Пол: мужской	37	50
женский	37	50
Возраст, годы:	57,05±1,1; 34-74	
30 – 39	3	4,05
40 – 49	10	13,5
50 – 59	20	27
60 – 69	36	48,65
70 – 79	5	6,8
Гистологический вариант опухоли:		
светлоклеточный	48	64,9
папиллярный	10	13,5
хромофобный	9	12,2
неклассифицируемый	7	9,4
TNM стадия: I-II	52	70,3
III-IV	22	29,7
Градация по Fuhrman: G I-II	47	63,5
G III-IV	27	36,5
Размер карциномы см: < 7	41	55,4
≥ 7	33	44,6
Локализованные карциномы (N0):	59	79,7
Местнораспространенные (N+):	15	20,3

*Иммуногистохимия и методы подсчета.* Резецированные образцы опухолевой ткани фиксировались в нейтральном формалине 24 часа и помещались в парафин для последующего приготовления гистологических препаратов. CD8+ Т-лимфоциты окрашивали иммуногистохимическим методом с использованием системы детекции VENTANA ultraView Universal DAB. В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные античеловеческие CD8 (клон SP57, VENTANA, USA; разведение 1:50). Препараты исследовали при помощи микроскопа Leica DM 750 (Германия) и фотографировали цифровой видеокамерой Leica EC3 (Германия) при увеличении x 400. Высчитывали методом случайной выборки среднее количество CD8+ Т-лимфоцитов в 3 полях зрения ПЗ карцином при помощи компьютерной морфометрической программы Image Tool 3.0. За ПЗ принимали ткань, непосредственно прилегающую к новообразованию, и ткань до условно не измененной почки.

*Статистический анализ.* Все статистические анализы были проведены с помощью программы Statistica 10.0 для Windows. Данные были представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка. Для статистических анализов использовали t-тест Стьюдента. Корреляции между числом CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ и клинико-патологическими параметрами анализировались с помощью теста Спирмена. Связь переменных с прогнозом оценивали с помощью метода Каплана-Мейера. Значение  $p < 0,05$  считали статистически значимым.

**Результаты исследования и обсуждение.** При подсчете плотности распределения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ ПКР (без учета клинико-патологических особенностей) выявлено, что число CD8+ Т-лимфоцитов в 3 полях зрения при увеличении x 400 в среднем составило  $74,1 \pm 5,6$ .

При корреляционном анализе с плотностью распределения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ коррелировали клиническая стадия заболевания, размер карцином, степень анаплазии по Fuhrman, наличие локальных и отдаленных метастазов и общая послеоперационной выживаемость пациентов. Пол, возраст пациентов и гистологический тип опухолей с плотностью распределения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ взаимосвязаны не были (таблица 2).

Таблица 2

Корреляционные взаимосвязи плотности распределения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ с клинико-патологическими особенностями карцином

Клинико-патологические параметры	Коэффициент корреляции (r)	p
Пол больных	0,21	0,08
Возраст больных	0,03	0,80
Гистологический вариант карцином	0,06	0,60
Стадия TNM	0,54	0,0001
Размер опухоли	0,54	0,0001
Степень злокачественности по Fuhrman	0,80	0,0001

Наличие метастазов (N+)	0,56	0,0001
Общая послеоперационная выживаемость	0,50	0,0001

Нами был проведен подсчет плотности распределения CD8+ Т-лимфоцитов в зависимости от клинико-патологических параметров ПКР. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

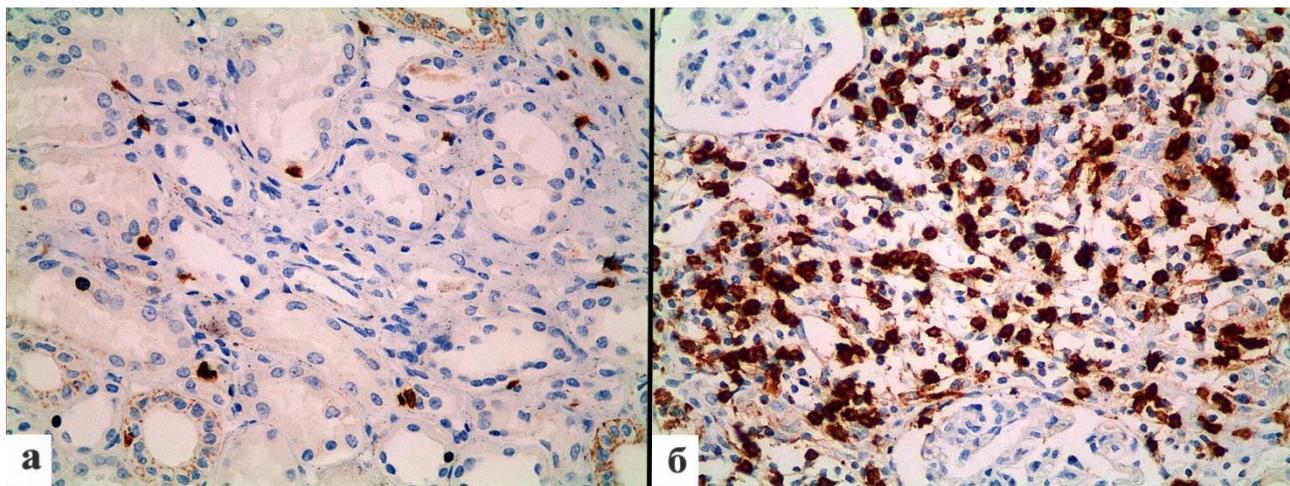
Плотность распределения CD8+ Т-лимфоцитов в перитуморозной в зависимости от клинико-патологических особенностей карцином

Клинико-патологический параметр	Плотность распределения CD8+ Т-лимфоцитов в перитуморозной зоне	Р
Пол: муж. жен.	90±9,6 56,1±11,2	P = 0,001
Возраст, годы: 30 – 39 (1) 40 – 49 (2) 50 – 59 (3) 60 – 69 (4) 70 – 79 (5)	8,3±1,2 121,1±24,3 82,8±9,8 58,1±6,3 75,2±15,4	P <sub>2-4</sub> = 0,0004
Гистологический вариант карцином: папиллярный (1) хромофобный (2) светлоклеточный (3) неклассифицируемый (4)	19,±2,6 59,2±15,7 78,8±6,7 158,2±15,7	P <sub>1-4</sub> = 0,007 P <sub>2-4</sub> = 0,0000001 P <sub>3-4</sub> = 0,0000001
TNM стадия: I-II III-IV	43,2±4,8 138,5±10,7	P = 0,0000001
Градация злокачественности по Fuhrman: G I-II G III-IV	24,4±1,7 160,6±9,3	P = 0,001
Размер карциномы, см: < 7 ≥ 7	43,6±5,2 111,9±9,5	P = 0,0000001
Локализованные карциномы (N0): Местнораспространенные (N+):	53,5±4,9 162,2±14,4	P = 0,0000001

Как видно из представленной таблицы 3 у мужчин среднее число CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ было достоверно выше, чем у женщин. В возрастной группе от 40 до 49 лет отмечали наибольшее содержание CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ, а в группе от 30 до 39 лет наименьшее. При неклассифицируемом раке число CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ было наиболее высокое, а наиболее низкое было при папиллярной карциноме. У больных с III-IV клинической стадией заболевания число CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ было увеличено в 3,2 раза по сравнению I-II стадиями. При степени анаплазии карцином GIII-GIV содержание CD8+ Т-лимфоцитов возрастало в 6,6 раз по сравнению с GI-GII степенями (рис. 1). В опухолях с размером ≥ 7,0 см

количество CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ увеличивалось в 2,6 раз. У пациентов с локализованными новообразованиями по сравнению местнораспространенными число CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ достоверно возрастало в 3 раза.

Проведение анализа общей 5-летней послеоперационной выживаемости пациентов позволило выявить неблагоприятный прогноз высокой плотности CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ ПКР. Различия между кривыми выживания оказались достоверны (log rang:  $p = 0,0005$ ) (рис. 1).



*Рис. 1. Плотность распределения CD8+Т-лимфоцитов в ПЗ в зависимости от степени атипии по Fuhrman: а – при I степени анаплазии отмечается небольшое количество CD8+ Т-лимфоцитов, увеличение  $\times 400$ ; б – значительное количество CD8+ Т-лимфоцитов при IV степени, увеличение  $\times 400$ . Иммуногистохимическая окраска на CD8*

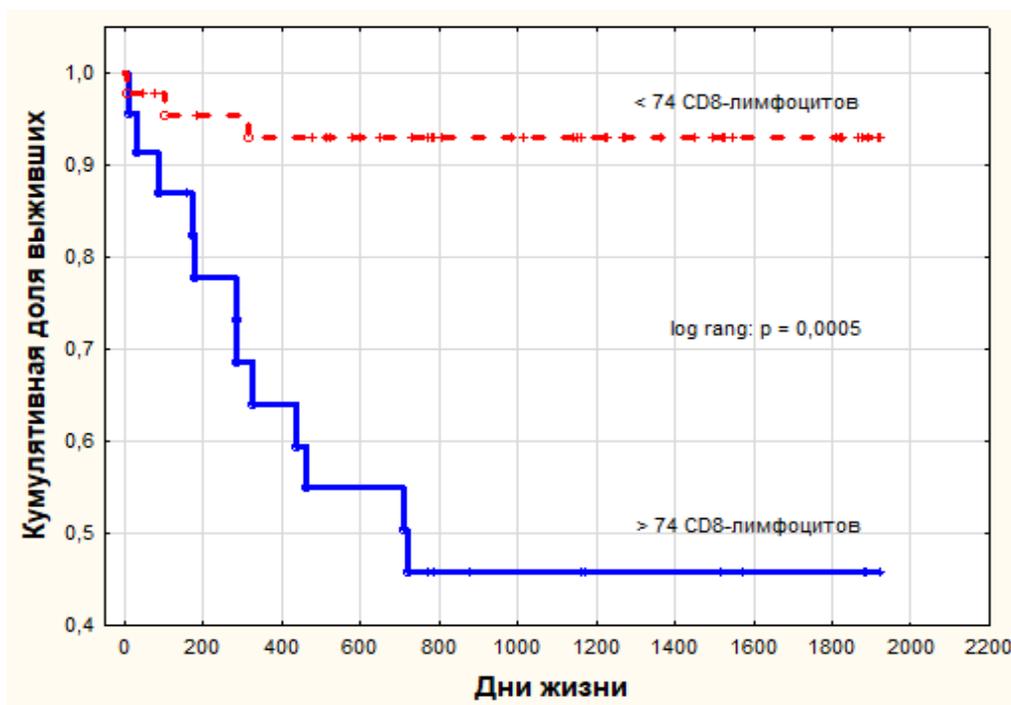


Рис. 2. Кривые выживаемости в зависимости от плотности распределения CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ ПКР

**Заключение.** В подавляющем большинстве работ, где проводилось изучение лимфоидного инфильтрата опухолей различных локализаций инфильтрация цитотоксическими CD8+ Т-лимфоцитами ассоциировалась с хорошим клиническим результатом. Однако в последние годы появились исследования, данные которых ставят под сомнение концепцию однозначной связи инфильтрации CD8+ Т-лимфоцитами с хорошим клиническим исходом. Так, например, при диффузной крупноклеточной В-лимфоме и лимфоме Ходжкина инфильтрация опухоли этими клетками была взаимосвязана с плохим прогнозом. По словам Giraldo N.A. [14] рак почки и в частности светлоклеточная карцинома, является загадкой в плане изучения микроокружения опухоли, поскольку, по данным литературы, в отличие от большинства злокачественных новообразований, высокая плотность CD8+ Т-лимфоцитов в карциноме коррелирует с плохим клиническим исходом. Так же, в публикации Remark R. и соавторов [15] показано, что инфильтрация CD8+ Т-лимфоцитами метастазов в легкие из светлоклеточного рака почки была взаимосвязана с короткой общей выживаемостью пациентов, в то время как при метастатических поражениях легких из колоректальной карциномы CD8+ Т-лимфоциты являлись фактором хорошего прогноза, что подтверждает актуальность изучения иммунного микроокружения при раке почки.

Рак почки в большинстве случаев представляет собой группу солидных карцином, у которых внутриопухолевый стромальный компонент развит слабо, но у этого заболевания очень хорошо выражена ПЗ, которую обычно называют капсулой. Именно эта зона является

той ареной, где происходят важнейшие иммунные события и перестройки. Интересно отметить, что в наших предыдущих работах высокое содержание CD117+ тучных клеток, CD68+ макрофагов и CD97α+ В-лимфоцитов в ПЗ, также, как и число CD8+ Т-лимфоцитов в этой работе достоверно возрастало при продвинутых стадиях заболевания, высокой степени анаплазии, большом размере опухолевого узла, наличии метастазов и при более короткой общей 5-летней послеоперационной выживаемости пациентов. При этом в ПЗ отмечали увеличение ПЗ, активацию ангиогенеза, в эпителии почечных канальцев находили высокую экспрессию Ki-67, AgNORs, p53, bcl-2, нарастали площадь и полиплоидия ядра, что свидетельствует о проявлениях интраэпителиальной ренальной неоплазии. По-видимому, в ПЗ, иммунные клетки воспалительного инфильтрата взаимодействуют друг с другом и оказывают свои иммунные эффекты в едином комплексе. Однако неясно, является ли инфильтрация иммунными клетками ПЗ при ПКР признаком активного иммунного ответа или это их пассивное перераспределение в ответ на выделения цитокинов опухолевыми клетками.

Результаты проведенного исследования совпадают с данными тех авторов, которые указывают на неблагоприятный прогноз течения рака почки при обильной инфильтрации ПЗ CD8+ Т-лимфоцитами. Высокое содержание CD8+ Т-лимфоцитов в ПЗ ПКР имеет прогностическое значение. В свете необходимости поиска новых прогностических критериев ПКР заключаем, что высокий уровень инфильтрации ПЗ CD8+ Т-лимфоцитами может служить фактором прогноза при раке почки.

### Список литературы

1. Бобров И.П., Лазарев А.Ф., Черданцева Т.М., Климачев И.В., Климачев В.В., Мяделец М.Н., Лепилов А.В., Долгатов А.Ю., Корсииков Н.А., Долгатова Е.С., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А. Прогностическое значение количественной оценки содержания макрофагов (CD68+) в перитуморозной зоне светлоклеточного рака почки // Российский онкологический журнал. 2021. №2. С. 49-56. DOI: 10.17816/1028-9984-2021-26-2-49-56.
2. Бобров И.П., Черданцева Т.М., Долгатова Е.С., Долгатов А.Ю., Лепилов А.В., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А. Прогностическое значение количественной оценки В-лимфоцитов в перитуморозной зоне рака почки // Современные проблемы науки и образования. 2021. №2. [Электронный ресурс] URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30739> (дата обращения: 10.01.2023). DOI: 10.17513/spno.30739.
3. Бобров И.П., Климачев И.В., Мяделец М.Н., Климачев В.В., Лепилов А.В., Долгатов А.Ю., Черданцева Т.М., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А., Молодых О.П.

Прогностическое значение количественной оценки числа тучных клеток (CD117+) в перитуморозной зоне светлоклеточного рака почки // Вестник научных конференций. 2020. № 4-2. С. 20-22.

4. Черданцева Т.М., Бобров И.П., Авдалян А.М., Климачев В.В., Казарцев А.В., Крючкова Н.Г., Климачев И.В., Мяделец М.Н., Лепилов А.В., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучные клетки при раке почки: клинико-морфологические взаимосвязи и прогноз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т.163. №6. С. 768-773. DOI: 10.1007/s10517-017-3907-7.

5. Kumar V., Abbas A.K., Aster K.C. Robbins and cotran pathologic basis of disease. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2015.

6. Данилова Н.В., Хомяков В.М., Чайка А.В., Михайлов И.А., Олейников Н.А., Мальков П.Г. Характеристики иммунного микроокружения нормальной слизистой оболочке перитуморозной области – дополнительный прогностический фактор при раке желудка // Сибирский онкологический журнал. 2021. №1. С. 74-86. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-74-86.

7. Ma H.Y., Liu X.Z., Liang C.M. Inflammatory microenvironment contributes to epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. World Journal of Gastroenterology. 2016. V. 22. P. 6619-6628. DOI: 10.3748/wjg.v22.i29.6619.

8. Sawayama H., Ishimoto T., Baba H. Microenvironment in the pathogenesis of gastric cancer metastasis. Journal Cancer Metastasis Treatment. 2018. V. 10. P. 30-35. DOI: 10.20517/2394-4722.2017.79.

9. Sofopoulos M., Fortis S.P., Vaxevanis Ch.K., Sotiriadou N.N., Arnogiannaki N., Ardavanis A., Vlachodimitropoulos D., Perez S.A, Baxevanis C.N. The prognostic significance of peritumoral tertiary lymphoid structures in breast cancer. Cancer Immunology, Immunotherapy. 2019. V. 68. P. 1733-1745. DOI: 10.1007/s00262-019-02407-8.

10. Hu W.H., Miyai K., Cajas-Monson L.C., Luo L., Liu L., Ramamoorthy S.L. Tumor-infiltrating CD8(+) T lymphocytes associated with clinical outcome in anal squamous cell carcinoma. Journal of Surgical Oncology. 2015. V. 112. P. 421-426. DOI: 10.1002/jso.23998.

11. Giușcă S.E., Wierzbicki P.M., Amălinei C., Căruntu I.D., Avădănei E.R. Comparative analysis of CD4 and CD8 lymphocytes - evidences for different distribution in primary and secondary liver tumors. Folia Histochemica et Cytobiologica. 2015. V. 53. P. 272-281. DOI:10.5603/fhc.a2015.0027.

12. Pyo J.S., Kwan S.B., Young L.H., Hwan O.I., Hyun Ch.K. Prognostic implications of Intratumoral and peritumoral infiltrating lymphocytes in pancreatic ductal adenocarcinoma. Current Oncology. 2021. V. 28. P. 4367-4376. DOI: 10.3390/currenocol28060371.

13. Nakano O, Sato M, Naito Y, Suzuki K, Orikasa S, Aizawa M, Suzuki Y, Shintaku I, Nagura H, Ohtani H. Proliferative activity of intratumoral CD8(+) T-lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell carcinoma: clinicopathologic demonstration of antitumor immunity // *Cancer Research*. 2001 Vol.61. P. 5132-5136.
14. Giraldo N.A., Becht E., Pages F., Skliris G., Verkarre V., Vano Y., Mejean A., Saint-Aubert N., Lacroix L., Natario I., Lupo A, Alifano A., Damotte D., Cazes A., Triebel F., Freeman G.J., Dieu-Nosjean M.C., Oudard S., Fridman W.H., Sautes-Fridman C. Orchestration and prognostic significance of immune checkpoints in the microenvironment of primary and metastatic renal cell cancer. *Clinical Cancer Research*. 2015. V. 21. №13. P. 3031-3040. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-2926.
15. Remark R., Alifano M., Cremer I., Lupo A, Dieu-Nosjean M.C., Riquet M, Crozet L., Ouakrim H., Goc J., Cazes A., Flejou J.F., Gibault L., Verkarre V., Regnard J.F., Pages O.N., Oudard S., Mlecnik B., Sautes-Fridman C., Fridman W.H., Damotte D. Characteristics and clinical impacts of the immune environments in colorectal and renal cell carcinoma lung metastases: influence of tumor origin. *Clinical Cancer Research*. 2013. V. 19. №15. P. 4079-4091. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3847.