

Роль макрофагов, ассоциированных с опухолью, в патогенезе почечно-клеточного рака

О.В. Ковалева¹, Г.Д. Ефремов², Д.С. Михайленко², Б.Я. Алексеев², А.Н. Грачев¹

¹Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 3

Контакты: Алексей Николаевич Грачев alexei.grachev@gmail.com

Роль опухолевой стромы в патогенезе злокачественных опухолей не подвергается сомнению. Макрофаги — одни из ключевых элементов опухолевой стромы. Макрофаги, ассоциированные с опухолью (МАО), являются макрофагами 2-го типа активации (M2), которые впервые были описаны в 1992 г. К их маркерам относятся CD206, CD163, FXIIIa, β IG-H3, стабилин 1, YKL-39, SI-CLP, тенасцин С, LOX-1, MARCO, фибронектин, антагонист рецептора интерлейкина 1 (ИЛ-1RA) и др. В отличие от провоспалительных макрофагов (M1) M2 обладают выраженной противовоспалительной активностью и отвечают за подавление воспалительной реакции и восстановление ткани в очаге воспаления. МАО вносят значительный вклад в прогрессию опухолей за счет стимуляции пролиферации клеток, ангиогенеза и подавления противоопухолевого иммунного ответа. Для выявления макрофагов в опухолях почки используют ограниченное количество маркеров, не позволяющих сделать однозначного вывода относительно их функции. Однако несмотря на это, ассоциацию количества МАО с плохим прогнозом заболевания можно считать доказанной. Исследования фенотипа M1 и M2 с использованием их различных маркеров показали, что в опухолях почки присутствует большое количество МАО, имеющих смешанный M1/M2-фенотип. МАО в опухолях почки обладают выраженными проангиогенными и иммуносупрессорными свойствами. Хотя плотность МАО может быть использована в качестве прогностического маркера, необходимы систематические исследования с применением широкой панели маркеров M1 и M2 для разработки эффективной стратегии лечения, направленной на нейтрализацию проопухолевой активности МАО.

Ключевые слова: макрофаг, цитокин, почечно-клеточный рак, макрофаги, ассоциированные с опухолью, ангиогенез, внеклеточный матрикс

DOI: 10.17650/1726-9776-2017-13-1-20-26

Role of tumor-associated macrophages in renal cell carcinoma pathogenesis

O.V. Kovaleva¹, G.D. Efremov², D.S. Mikhaylenko², B.Ya. Alekseev², A.N. Grachev¹

¹Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinskiy Proezd, Moscow 125284, Russia

The role of tumor stroma in malignant tumor pathogenesis cannot be disputed. Macrophages are one of the crucial elements of tumor stroma. Tumor-associated macrophages (TAMs) are type 2-activated macrophages (M2). They were first described in 1992. They carry CD206, CD163, FXIIIa, β IG-H3, stabilin 1, YKL-39, SI-CLP, tenascin C, LOX-1, fibronectin, MARCO, interleukin 1 receptor antagonist (IL-1RA) and other markers. Unlike proinflammatory macrophages (M1), M2 display high anti-inflammatory activity and are responsible for inflammation reaction suppression and tissue recovery in inflamed area. TAMs significantly contribute to tumor progression by stimulating cell proliferation, angiogenesis, and suppression of antitumor immune response. Identification of macrophages in renal tumors involves a limited number of markers, which doesn't allow making a conclusive answer about their function. However, a correlation between TAMs content and a negative disease prognosis can be considered proven. Studies of M1 and M2 using different markers have shown that renal tumors contain high levels of TAMs with mixed M1/M2 phenotype. TAMs in renal tumors are highly proangiogenic and immunosuppressive. TAMs density can be used as a prognostic marker, but development of an effective treatment strategy aimed at inhibition of TAMs antitumor activity requires systemic research involving a wide panel of M1 and M2 macrophage markers.

Key words: macrophage, cytokine, renal cell carcinoma, tumor-associated macrophages, angiogenesis, extracellular matrix

Введение

Способность к инвазивному росту солидные опухоли приобретают не только в процессе трансформа-

ции, но и в результате межклеточного взаимодействия опухолевых клеток с поддерживающим их стромальным компонентом. Строма опухоли состоит из фибро-

бластов, эндотелиальных клеток, а также воспалительного инфильтрата, включающего различные типы клеток иммунной системы (нейтрофилы, моноциты, макрофаги и др.). Все перечисленные типы клеток создают особое опухолевое микроокружение, обеспечивающее возможность благоприятного роста и способствующее распространению опухоли. Анализ стромальных клеток опухоли с помощью различных гистологических и иммунологических методов подтверждает их значимость в развитии и прогрессировании опухолевого процесса. Описан ряд молекулярных маркеров стромальных клеток опухолей, которые имеют хорошую диагностическую и прогностическую значимость. За последние 3 десятилетия, с момента открытия альтернативных путей активации макрофагов (концепция макрофагальной дихотомии), особое внимание уделяется макрофагам, ассоциированным с опухолью (МАО) [1–3]. Как и другие солидные опухоли, опухоли почки представляют собой гетерогенную популяцию клеток, включающую в себя как непосредственно опухолевые клетки, так и все вышеупомянутые стромальные компоненты с большим количеством макрофагов [4].

Светлоклеточный рак почки составляет до 85 % случаев опухолей данного органа. В целом рак почки занимает 10-е место по частоте встречаемости среди онкологических заболеваний и 2-е место по уровню прироста после рака предстательной железы [5]. Пик заболеваемости приходится на возраст 70 лет, в 2 раза чаще встречаясь у мужчин, чем у женщин [6]. За последние 2 десятилетия заболеваемость раком почки возросла по всему миру. Опухоли почки отличаются быстрым метастазированием и в 25 % случаев диагностируются на поздних стадиях [5]. К сожалению, прогноз метастатического рака почки крайне неблагоприятен. Без лечения при наличии метастазов выживаемость составляет 10–13 мес [5]. К факторам риска рака почки относят курение, ожирение, злоупотребление обезболивающими препаратами, гипертензию и некоторые генетические заболевания [5, 6]. Современная классификация почечно-клеточного рака основана на морфологических, генетических и молекулярных особенностях и выделяет 5 основных типов: светлоклеточная карцинома (60–85 %), папиллярная карцинома (7–14 %), хромофобный рак (4–10 %), онкоцитомы (2–5 %) и рак из протоков Беллини (1–2 %), происходящий из интеркалирующих клеток собирательных протоков почки [7].

Макрофаги, ассоциированные с опухолью: происхождение и функции

МАО являются макрофагами так называемого 2-го типа активации (M2). Впервые они были описаны в 1992 г. М. Stein и соавт. как альтернативно активированные. Авторы продемонстрировали активацию

макрофагов с помощью интерлейкина 4 (ИЛ-4), в качестве маркера данного типа активации предложен CD206 (маннозный рецептор) [8]. Последующие исследования способствовали накоплению данных о маркерах M2 и факторах, вовлеченных в их появление. Популяция M2 очень гетерогенна [9, 10]. Основными функциями, которые выполняет данный тип клеток в канцерогенезе, являются подавление иммунного ответа, ремоделирование внеклеточного матрикса и стимуляция ангиогенеза [3]. Несмотря на то, что концепция макрофагальной дихотомии (M1/M2) сейчас пересматривается, большая часть имеющихся данных о МАО была получена в рамках классической концепции, поэтому данную номенклатуру мы будем использовать в нашем обзоре [11].

Концепция 2 различных типов активации макрофагов, аналогично субпопуляциям Т-клеток, возникла в конце XX века [12–14]. M1, также называемые классически активированными макрофагами, характеризуются экспрессией бактерицидных молекул и рецепторов (FcR типов I, II и III) [15]. M1-фенотип макрофаги приобретают в ответ на эндогенные воспалительные стимулы, такие как Th1 ассоциированный цитокин интерферон гамма, или экзогенные воспалительные стимулы, например липополисахарид и другие бактериальные продукты. M1 стимулируют воспалительные реакции посредством секреции провоспалительных цитокинов. M2, или альтернативно активированные макрофаги, характеризуются экспрессией специфических рецепторов, например макрофагального маннозного рецептора [8], CD163 [16] и hMARCO [17, 18], регулируются экспрессией Th2-ассоциированных цитокинов и хемокинов, например антагониста рецептора ИЛ-1 (ИЛ-1RA) [19, 20] или АМАС-1 [21], и продукцией компонентов внеклеточного матрикса и ферментов для его перестройки (фибронектин, тенасцин С, матриксная металлопротеаза 12 (ММП-12)) [18]. Маркеры и функции M2 близки к таковым МАО [22].

Некоторые функции M2 вносят свой вклад в прогрессию опухолей, например стимуляция ангиогенеза, достигающаяся экспрессией ангиогенных факторов, таких как цитокины и ММП. Для успешного ангиогенеза необходима деградация внеклеточного матрикса, пролиферация и миграция эндотелиальных клеток с последующей их дифференцировкой. Вновь сформированные сосуды обеспечивают опухоль достаточным количеством питательных веществ и кислорода, а также создают пути выхода опухолевых клеток в циркуляцию для последующего метастазирования [22]. ММП играют важную роль в инвазии клеток. Семейство ММП состоит более чем из 20 ферментов, способных разрушать различные компоненты внеклеточного матрикса [23]. ММП принимают участие не только в процессах, связанных с метастазированием опухолей, но и в норме, например при заживлении ран, физио-

логическом ангиогенезе или миграции нормальных клеток. Стоит отметить, что в случае опухолевой инвазии основными продуцентами ММП служат стромальные клетки, а непосредственно опухолевые клетки только стимулируют данный процесс посредством экспрессии различных хемокинов и цитокинов. ММП способны не только к деградации внеклеточного матрикса, но и к активации некоторых закрепленных на нем ростовых и ангиогенных факторов. В частности, показано, что ММП-2 и ММП-9 принимают участие в протеолитической активации трансформирующего ростового фактора бета. Аналогичным образом могут быть активированы некоторые ангиогенные (семейство фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF)) и антиангиогенные (ангиостатин, тромбоспондин) факторы [23]. В большинстве типов опухолей повышенная экспрессия ММП коррелирует с повышенной инвазивностью и неблагоприятным прогнозом заболевания. Недавние исследования показали, что повышенная экспрессия ММП в опухолях почки имеет прогностическую значимость. Например, экспрессия ММП-2 ассоциирована со степенью дифференцировки опухоли, ее размером и метастазами в лимфатические узлы при светлоклеточном раке почки, что делает исследуемый белок потенциальным маркером прогноза данной патологии [24].

Другим важным компонентом системы перестройки внеклеточного матрикса служит система активации плазминогена. Накапливается все больше клинических и экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что урокиназаподобный активатор плазминогена (uPA) и его регуляторы участвуют в формировании метастатического фенотипа многих типов опухолей. uPA – растворимая сериновая протеаза, которая может связываться со своим мембранным рецептором uPAR, что приводит к ее активации. Основной функцией uPA является протеолитическое расщепление плазминогена с образованием пламина. Плазмин, в свою очередь, имеет широкую субстратную специфичность и может расщеплять такие белки внеклеточного матрикса, как фибронектин, витронектин, ламинин и фибрин. Кроме этого, плазмин способен активировать проколлагеназы. Плазмин и uPA стимулируют опухолевый рост, так как они могут протеолитически активировать латентные формы некоторых факторов роста, например SF/HGF, bFGF и TGF- β . Все вышеперечисленные факторы вносят вклад в опухолевую прогрессию [25]. Усиление экспрессии белков, участвующих в системе активации uPA, показано для многих типов опухолей [26], а увеличение активности uPA коррелирует с инвазивностью образования и плохим прогнозом. В экспериментальных опухолевых моделях инвазия и метастазирование могут быть подавлены с помощью ингибирования активности uPA [26]. Экспрессия uPA и uPAR в MAO показана в опухолях молочной железы

[27] и некоторых других типов. Экспрессия uPAR коррелирует с плотностью сосудов в опухоли и плохим прогнозом заболевания [28, 29]. При раке почки повышенное содержание uPA и uPAR в образцах опухолей достоверно ассоциировано с меньшим периодом выживаемости [30]. Все вышеперечисленные факты свидетельствуют в пользу значимости uPA, экспрессирующей MAO, в васкуляризации опухоли.

Макрофаги, ассоциированные с опухолью, при раке почки

Для исследования MAO часто используется общий маркер макрофагов CD68. CD68⁺-макрофаги выявляются в различных опухолях почки и демонстрируют неравномерность распределения (рис. 1).

В 2011 г. Y. Komohara и соавт. показали наличие MAO в опухолях, а также корреляцию их количества и экспрессируемых ими маркеров с прогнозом светлоклеточного рака почки [31]. В данной работе в качестве основного макрофагального маркера использовали CD68, а CD163 и CD204 были выбраны для идентификации непосредственно фенотипа макрофагов. Авторы продемонстрировали, что большинство CD68⁺ MAO в исследуемых опухолях почки также экспрессируют CD204, что относит их к M2-макрофагам. В дополнение к этому CD68⁺-макрофаги также экспрессировали CD163. В своей работе авторы также показали, что прямое кокультивирование макрофагов с клетками рака почки индуцирует их дифференцировку в M2. Это объясняется экспрессией мембранной формы M-CSF на поверхности опухолевых клеток [31]. Другое исследование, описывающее популяцию MAO, изолированную из опухолей почки, выделяет экспрессию CD68 и CD163, но не CD206 на поверхности макрофагов [32]. Далее в своем исследовании авторы показали, что MAO, изолированные из опухоли, продуцируют значительное количество CCL-2 – CC-хемокина, который привлекает новые моноциты в опухоль. В то же время эти макрофаги продуцируют большое количество ИЛ-10. В частности, авторы продемонстрировали, что MAO из более крупных опухолей продуцируют большее количество ИЛ-10 [32]. В своем исследовании I. Daurkin и соавт. показали, что макрофаги, изолированные из опухолей светлоклеточного рака почки, продуцируют большое количество эйкозаноидов посредством активации зависимого сигнального пути 15-липоксигеназы-2 [32], что типично для макрофагов при активации их TGF- β 1 (transforming growth factor β 1) [10]. Неожиданным является тот факт, что MAO из опухолей почки экспрессируют CCR8 посредством активации Stat3-зависимого сигнального пути, что более характерно для воспалительного фенотипа макрофагов. Считается, что эти клетки способны стимулировать экспрессию FoxP3 T-клетками и обладают проангиогенной активностью [33].

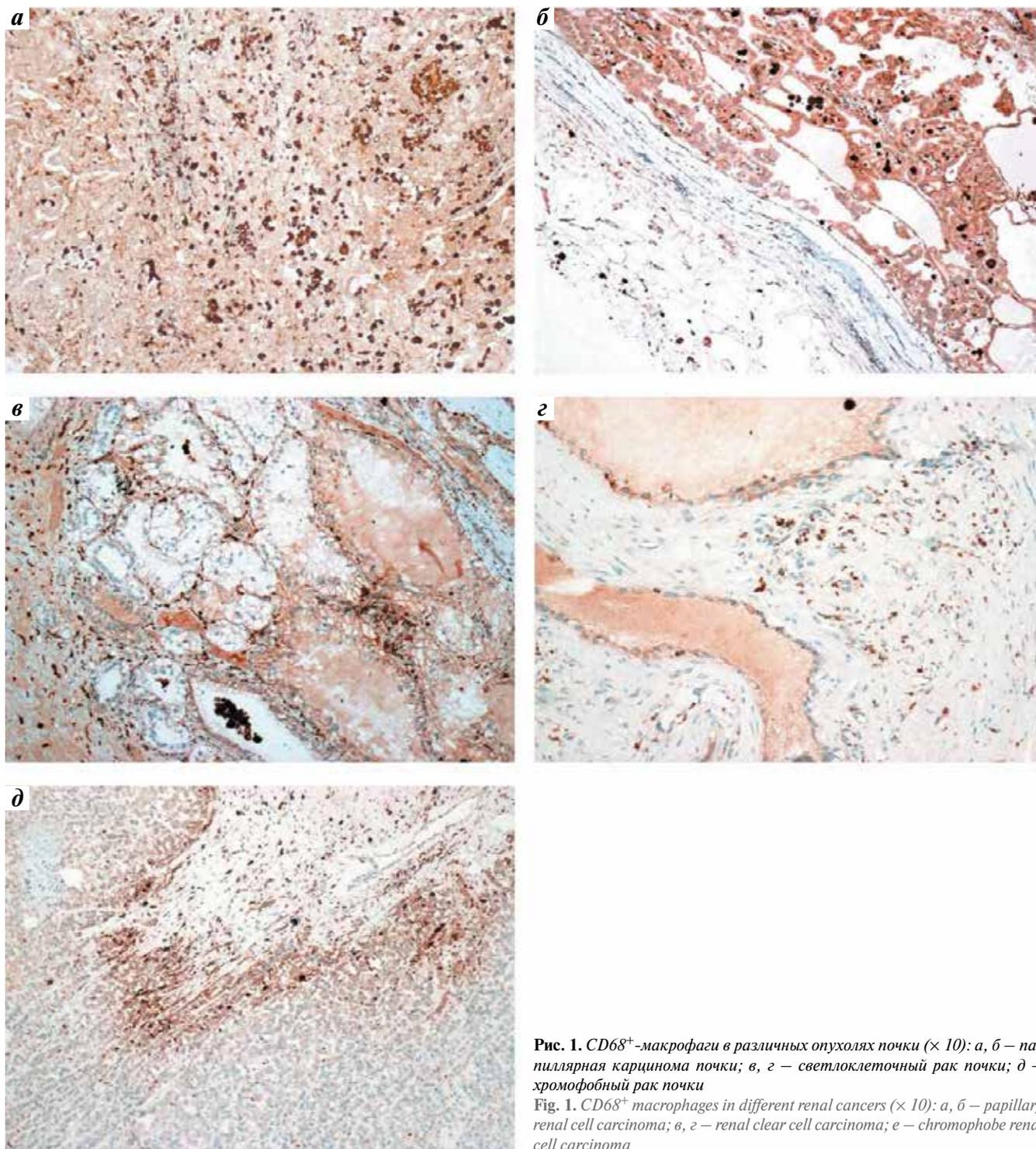


Рис. 1. $CD68^+$ -макрофаги в различных опухолях почки ($\times 10$): а, б – папиллярная карцинома почки; в, г – светлоклеточный рак почки; д – хромофобный рак почки
Fig. 1. $CD68^+$ macrophages in different renal cancers ($\times 10$): а, б – papillary renal cell carcinoma; в, г – renal clear cell carcinoma; д – chromophobe renal cell carcinoma

Провоспалительные свойства MAO при раке почки были продемонстрированы и в культуре макрофагов, изолированных из первичных опухолей. Для них характерна продукция большого количества ИЛ-1 β , ИЛ-6 и фактора некроза опухоли. Однако макрофаги, полученные из первичных моноцитов тех же пациентов, не продуцируют вышеперечисленные цитокины без стимуляции липополисахарида. Также было по-

казано, что MAO стимулируют пролиферацию опухолевых клеток рака почки в культуре [34]. Одним из важных факторов опухолевого ангиогенеза и стимуляции инвазивности является ИЛ-1 β . Он способен индуцировать ММП-1, ММП-3, ММП-10 и ММП мембранного типа 1 в клеточных линиях рака почки, тем самым повышая их инвазивность, что продемонстрировано на мышинной модели [35]. ИЛ-1R-зави-

симый механизм важен для развития популяции про-опухолевых макрофагов, что также показано на мышинной модели [36]. Еще один провоспалительный цитокин, производимый макрофагами – фактор некроза опухоли. Он важен для гиперэкспрессии маркера стволовых клеток опухоли CD44 опухолевыми клетками светлоклеточного рака почки [37]. В то же время количество макрофагов, экспрессирующих маркер M2 CD163, может быть тесно связано с экспрессией CD44 опухолевыми клетками [37]. Существует ряд маркеров M2, которые однозначно не относятся к M1- или M2-фенотипу. Одним из таких маркеров является TIM-3 (Т-клеточный иммуноглобулин-муцин 3). Большое количество MAO TIM-3⁺ в опухолях светлоклеточного рака почки ассоциировано с неблагоприятным прогнозом заболевания [38].

Все собранные и вышеупомянутые нами данные позволяют утверждать, что макрофаги, инфильтрирующие опухоли почки, имеют смешанный M1/M2-фенотип. L. Ху и соавт. выполнили анализ баланса между M1 и M2 в 185 образцах опухолей почки иммуногистохимическим методом. Основным макрофагальным маркером авторы исследования выбрали CD68; CD11c был взят в качестве маркера M1, CD206 – маркера M2. Проведенный статистический анализ показал, что CD68 является фактором плохого прогноза заболевания. В то же время совместно CD11c и CD206 могут служить фактором хорошего прогноза. А именно пациенты, у которых опухоли содержали большое количество CD11c⁺-макрофагов и малое количество CD206⁺-макрофагов, имели лучшие показатели выживаемости [39]. Это исследование может быть хорошим примером необходимости комплексного подхода к изучению фенотипа макрофагов в опухолях с использованием как M1-, так и M2-маркеров. Представляется крайне интересным понять, наблюдаются ли в опухоли 2 независимые популяции макрофагов, или это одни и те же клетки смешанного фенотипа.

Одно из важнейших свойств MAO – способность к стимуляции ангиогенеза. Считается, что MAO являются основными клетками, продуцирующими VEGF, что приводит к повышению плотности сосудов в опухоли. Рак почки не исключение. Одно из исследований, проведенное на 51 образце опухолей рака почки, показало положительную корреляцию между количеством CD68⁺-макрофагов и плотностью сосудов. Уровень VEGF, определенный с помощью иммуноферментного анализа, был выше в опухолях почки по сравнению с нормальной тканью. Уровень VEGF коррелировал с наличием симптомов, типом роста, ангиографическими данными и размером опухоли (≥ 7 см) [4]. Эти результаты также подтверждает исследование, показывающее, что нокдаун рецептора

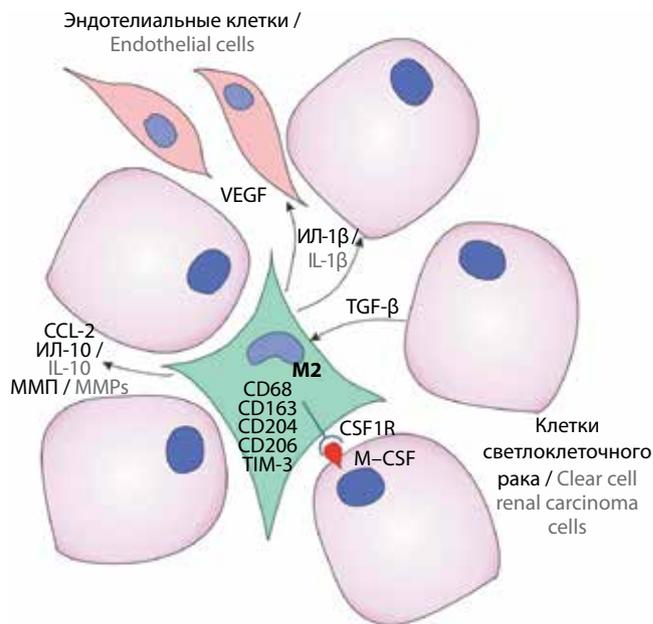


Рис. 2. Взаимодействие опухолевых клеток, макрофагов, ассоциированных с опухолью, и эндотелиальных клеток при раке почки. VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; ИЛ – интерлейкин; ММП – матриксная металлопротеаза

Fig. 2. Interactions between tumor cells, tumor-associated macrophages, and endothelial cells in kidney cancer. VEGF – vascular endothelial growth factor; IL – interleukin; MMPs – matrix metalloprotease

VEGF 1 приводит к снижению инфильтрации опухоли макрофагами [40].

Если принимать во внимание все данные, можно предположить модель функционирования MAO при раке почки, представленную на рис. 2.

Макрофаги, инфильтрирующие опухоль, представляют собой гетерогенную популяцию клеток, обладающих свойствами как M1, так и M2. Эти клетки продуцируют хемокин CCL-2, который привлекает новые моноциты, для поддержания и обновления популяции MAO и ингибирующий цитокин ИЛ-10 для подавления их антиопухолевой активности. Клетки рака почки поддерживают инфильтрацию опухоли моноцитами посредством экспрессии ММП и помогают им дифференцироваться с помощью M-CSF. Провоспалительный цитокин ИЛ-1 и VEGF, продуцируемые MAO, стимулируют продукцию ММП опухолевыми клетками и ангиогенез соответственно.

Важная роль MAO показана не только для светлоклеточного, но и для папиллярного рака почки. Согласно современным гистологическим критериям папиллярный рак может быть разделен на 2 типа (I и II тип). Тип II ассоциирован с худшим прогнозом. Несмотря на то, что количество CD68⁺-макрофагов одинаково в 2 гистологических типах, все же имеются некоторые отличия. Так, для опухолей II типа практически все MAO экспрессируют CD163,

а в опухолях I типа MAO CD163⁺ составляют менее 30 %. Большое число MAO CD163⁺ коррелировало с большей плотностью сосудов, что подтверждали окрашивание на CD31. Эти данные свидетельствуют о прогностической значимости MAO для папиллярного рака почки II типа [41].

Заключение

Роль MAO при раке почки достаточно хорошо известна. Но на сегодняшний день возникает острая необходимость поиска новых, более эффективных маркеров диагностики и мишеней для терапии данной патологии. Сейчас для анализа количества и фенотипа макрофагов при раке почки используют либо основные традиционные маркеры M2 (CD206, CD163), либо общий макрофагальный маркер CD68. Однако данных маркеров недостаточно даже для эффективного прогнозирования течения заболевания. Также нельзя не учитывать неполную специфичность этих маркеров, а именно существуют работы, показывающие экспрессию CD68 не только

макрофагами, но и опухолевыми клетками рака почки [31]. Помимо общепринятых существует большое количество других маркеров M2 (FXIIIa, фибронектин, β IG-H3, стабиллин 1, YKL-39, SI-CLP, тенасцин C, LOX-1, MARCO), которым стоит уделить внимание в дальнейших исследованиях [9, 18, 42–44]. Использование новых различных комбинаций маркеров позволит выработать диагностические и прогностические критерии рака почки. Также необходимо учитывать гетерогенную гистологическую структуру опухоли и проводить анализ макрофагов в зависимости от места их расположения. Известно, что в зависимости от того, в какой части опухоли располагаются макрофаги, они могут экспрессировать различные маркеры и иметь отличающуюся прогностическую ценность [45]. Только принимая во внимание все вышеперечисленные особенности опухолевого микроокружения можно разработать новые стратегии терапии, направленные на репрограммирование или уничтожение популяции MAO.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00396).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Mantovani A., Allavena P., Sica A. Tumour-associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population: role in tumour progression. *Eur J Cancer* 2004;40(11):1660–7. DOI: 10.1016/j.ejca.2004.03.016. PMID: 15251154.
- Mantovani A., Bottazzi B., Colotta F. et al. The origin and function of tumor-associated macrophages. *Immunol Today* 1992;13(7):265–70. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90008-U. PMID: 1388654.
- Mantovani A., Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33(7):1478–83. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.300168. PMID: 23766387.
- Toge H., Inagaki T., Kojimoto Y. et al. Angiogenesis in renal cell carcinoma: the role of tumor-associated macrophages. *Int J Urol* 2009;16(10):801–7. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2009.02377.x. PMID: 19811548.
- Garcia J.A., Cowey C.L., Godley P.A. Renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2009;21(3):266–71. DOI: 10.1097/CCO.0b013e32832a05c8. PMID: 19339887.
- Yu M.C., Mack T.M., Hanisch R. et al. Cigarette smoking, obesity, diuretic use, and coffee consumption as risk factors for renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1986;77(2):351–6. PMID: 3461197.
- Rathmell W.K., Godley P.A. Recent updates in renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2010;22(3):250–6. DOI: 10.1097/CCO.0b013e328337a5d2. PMID: 20154618.
- Stein M., Keshav S., Harris N., Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med* 1992;176(1):287–92. PMID: 1613462.
- Gratchev A., Guillot P., Hakiy N. et al. Alternatively activated macrophages differentially express fibronectin and its splice variants and the extracellular matrix protein beta1G-H3. *Scand J Immunol* 2001;53(4):386–92. PMID: 11285119.
- Gratchev A., Kzhyshkowska J., Kannokadan S. et al. Activation of a TGF-beta-specific multistep gene expression program in mature macrophages requires glucocorticoid-mediated surface expression of TGF-beta receptor II. *J Immunol* 2008;180(10):6553–65. PMID: 18453574.
- Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K. et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity* 2014;41(1):14–20. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008. PMID: 25035950.
- Goerd S., Orfanos C.E. Other functions, other genes: alternative activation of antigen-presenting cells. *Immunity* 1999;10(2):137–42. PMID: 10072066.
- Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003;3(1):23–35. DOI: 10.1038/nri978. PMID: 12511873.
- Gratchev A., Schledzewski K., Guillot P., Goerd S. Alternatively activated antigen-presenting cells: molecular repertoire, immune regulation, and healing. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14(5):272–9. DOI: 56357. PMID: 11586068.
- Goerd S., Politz O., Schledzewski K. et al. Alternative versus classical activation of macrophages. *Pathobiology* 1999;67(5–6):222–6. DOI: 28096. PMID: 10725788.
- Schaer D.J., Boretti F.S., Hongegger A. et al. Molecular cloning and characterization of the mouse CD163 homologue, a highly glucocorticoid-inducible member of the scavenger receptor cysteine-rich family. *Immunogenetics* 2001;53(2):170–7. PMID: 11345593.
- Elshourbagy N.A., Li X., Terrett J. et al. Molecular characterization of a human scavenger receptor, human MARCO. *Eur J Biochem* 2000;267(3):919–26. PMID: 10651831.

18. Gratchev A., Kzhyshkowska J., Utikal J., Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counterregulate extracellular matrix remodeling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand J Immunol* 2005;61(1):10–7. DOI: 10.1111/j.0300-9475.2005.01524.x. PMID: 15644118.

19. Vannier E., Miller L.C., Dinarello C.A. Coordinated antiinflammatory effects of interleukin 4: interleukin 4 suppresses interleukin 1 production but up-regulates gene expression and synthesis of interleukin 1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(9):4076–80. PMID: 1533284.

20. Vannier E., de Waal M.R., Salazar-Montes A. et al. Interleukin-13 (IL-13) induces IL-1 receptor antagonist gene expression and protein synthesis in peripheral blood mononuclear cells: inhibition by an IL-4 mutant protein. *Blood* 1996;87(8):3307–15. PMID: 8605347.

21. Kodelja V., Muller C., Politz O. et al. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern. *J Immunol* 1998;160(3):1411–8. PMID: 9570561.

22. Van Ginderachter J.A., Movahedi K., Hassanzadeh Ghassabeh G. et al. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: picking the best of both worlds for tumor promotion. *Immunobiology* 2006;211(6–8):487–501. DOI: 10.1016/j.imbio.2006.06.002. PMID: 16920488.

23. Chang C., Werb Z. The many faces of metalloproteinases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol* 2001;11(11):S37–43. PMID: 11684441.

24. Liu Q., Zhang G.W., Zhu C.Y. et al. Clinicopathological significance of matrix metalloproteinase 2 protein expression in patients with renal cell carcinoma: A case-control study and meta-analysis. *Cancer Biomark* 2016;16(2): 281–9. DOI: 10.3233/CBM-150566. PMID: 26756619.

25. Duffy M.J. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem* 2002;48(8): 1194–7. PMID: 12142372.

26. Andreasen P.A., Kjoller L., Christensen L., Duffy M.J. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer* 1997;72(1):1–22. PMID: 9212216.

27. Hildenbrand R., Dilger I., Horlin A., Stutte H.J. Urokinase and macrophages in tumour angiogenesis. *Br J Cancer* 1995;72(4):818–23. PMID: 7547226.

28. Hildenbrand R., Glienke W., Magdolen V. et al. Urokinase receptor localization in breast cancer and benign lesions assessed by in situ hybridization and immunohistochemistry. *Histochem Cell Biol* 1998;110(1):27–32. PMID: 9681686.

29. Foekens J.A., Peters H.A., Look M.P. et al. The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. *Cancer Res* 2000;60(3):636–43. PMID: 10676647.

30. Fuessel S., Erdmann K., Taubert H. et al. Prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator system components in clear cell renal cell carcinoma patients without distant metastasis. *BMC Cancer* 2014;14:974. DOI: 10.1186/1471-2407-14-974. PMID: 25519168.

31. Komohara Y., Hasita H., Ohnishi K. et al. Macrophage infiltration and its prognostic relevance in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Sci* 2011;102(7):1424–31. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01945.x. PMID: 21453387.

32. Daurkin I., Eruslanov E., Stoffs T. et al. Tumor-associated macrophages mediate immunosuppression in the renal cancer microenvironment by activating the 15-lipoxygenase-2 pathway. *Cancer Res* 2011;71(20):6400–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1261. PMID: 21900394.

33. Eruslanov E., Stoffs T., Kim W.J. et al. Expansion of CCR8(+) inflammatory myeloid cells in cancer patients with urothelial and renal carcinomas. *Clin Cancer Res* 2013;19(7):1670–80. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2091. PMID: 23363815.

34. Ikemoto S., Yoshida N., Narita K. et al. Role of tumor-associated macrophages in renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 2003;10(6):1843–9. PMID: 14534706.

35. Petrella B.L., Vincenti M.P. Interleukin-1beta mediates metalloproteinase-dependent renal cell carcinoma tumor cell invasion through the activation of CCAAT enhancer binding protein beta. *Cancer Med* 2012;1(1):17–27. DOI: 10.1002/cam4.7. PMID: 23342250.

36. Chittiezath M., Dhillon M.K., Lim J.Y. et al. Molecular profiling reveals a tumor-promoting phenotype of monocytes and macrophages in human cancer progression. *Immunity* 2014;41(5):815–29. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.09.014. PMID: 25453823.

37. Ma C., Komohara Y., Ohnishi K. et al. Infiltration of tumor-associated macrophages is involved in CD44 expression in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Sci* 2016;107(5):700–7. DOI: 10.1111/cas.12917. PMID: 26918621.

38. Komohara Y., Morita T., Annan D.A. et al. The coordinated actions of TIM-3 on cancer and myeloid cells in the regulation of tumorigenicity and clinical prognosis in clear cell renal cell carcinomas. *Cancer Immunol Res* 2015;3(9):999–1007. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0156. PMID: 25783986.

39. Xu L., Zhu Y., Chen L. et al. Prognostic value of diametrically polarized tumor-associated macrophages in renal cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2014;21(9):3142–50. DOI: 10.1245/s10434-014-3601-1. PMID: 24615178.

40. Li C., Liu B., Dai Z., Tao Y. Knockdown of VEGF receptor-1 (VEGFR-1) impairs macrophage infiltration, angiogenesis and growth of clear cell renal cell carcinoma (CRCC). *Cancer Biol Ther* 2011;12(10):872–80. DOI: 10.4161/cbt.12.10.17672. PMID: 21989163.

41. Behnes C.L., Bremmer F., Hemmerlein B. et al. Tumor-associated macrophages are involved in tumor progression in papillary renal cell carcinoma. *Virchows Arch* 2014;464(2):191–6. DOI: 10.1007/s00428-013-1523-0. PMID: 24327306.

42. Politz O., Gratchev A., McCourt P.A. et al. Stabilin-1 and -2 constitute a novel family of fasciclin-like hyaluronan receptor homologues. *Biochem J* 2002;362(Pt 1):155–64. PMID: 11829752.

43. Gratchev A., Schmutzmaier C., Mamidi S. et al. Expression of osteoarthritis marker YKL-39 is stimulated by transforming growth factor beta (TGF-beta) and IL-4 in differentiating macrophages. *Biomark Insights* 2008;3:39–44. PMID: 19578492.

44. Kzhyshkowska J., Mamidi S., Gratchev A. et al. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway. *Blood* 2006;107(8):3221–8. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2843. PMID: 16357325.

45. Buldakov M., Zavyalova M., Krakhmal N. et al. CD68+, but not stabilin-1+ tumor associated macrophages in gaps of ductal tumor structures negatively correlate with the lymphatic metastasis in human breast cancer. *Immunobiology* 2015. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.09.011.