

투명 신세포암에서 Carbonic Anhydrase IX의 발현과 예후 및 치료 효과와의 관계

계명대학교 의과대학 비뇨기과학교실, 병리과학교실¹

김형종·전채한·정원호·하지용·김병훈·김천일·최미선¹·정혜라¹·박철희

Association of Carbonic Anhydrase IX Expression on the Prognosis and Therapeutic Response in Clear Cell Renal Cell Carcinoma

Hyoung Jong Kim, M.D., Chae Han Jeon, M.D., Wonho Jung, M.D., Ji Yong Ha, M.D.,
Byung Hoon Kim, M.D., Chun Il Kim, M.D., Mi Sun Choe¹, M.D., Hye Ra Jung¹, M.D.,
Choal Hee Park, M.D.

*Department of Urology, Pathology¹, Keimyung University School of Medicine,
Daegu, Korea*

Abstract

Recent studies of Carbonic anhydrase IX (CAIX) expression and clinical significance in renal cell carcinoma (RCC) have given rise to disagreements in the usefulness of CAIX as a prognostic factor. The purpose of this study was to evaluate the association between CAIX expression and clinical factors in RCC. The medical record of 172 RCC patients in hospital (from January 1999 and December 2007) were reviewed retrospectively. Patients were divided into a high expression group (109 cases) and low expression group (63 cases) according to their degree of CAIX expression. We evaluated the association between CAIX expression and age, body mass index (BMI), type of renal neoplasm, tumor stage, nuclear grade, metastasis after surgery and tumor-specific survival rate. The mean age of the high expression group and the low expression group were 56 years and 54 years respectively. The mean BMI of the high expression group and the low expression group were 24.2 kg/m² and 24.5 kg/m² respectively. Comparing the difference between clear cell RCC and non clear cell RCC, CAIX was significantly more expressed in clear cell RCC. There was no significant differences between high expression clear cell RCC and low expression clear cell RCC

교신저자: 박철희, 700-712 대구광역시 중구 달성로 56, 계명대학교 의과대학 비뇨기과학교실

Choal Hee Park, M.D., Department of Urology, Keimyung University School of Medicine

56 Dalseong-ro, Jung-gu, Daegu 700-712, Korea

Tel : +82-53-250-7642 E-mail : chp@dsmc.or.kr

according to age, BMI, nuclear grade, metastasis after surgery and tumor-specific survival rate ($p=0.237$, $p=0.802$, $p=0.382$, $p=0.551$). However, in clear cell RCC, CAIX expression was significantly more expressed in patients with higher T or N stages ($p=0.015$, $p=0.033$). CAIX was significantly higher expressed in clear cell RCC and was significantly lower expressed in patients with higher T stage or N stage.

Key Words : Carbonic anhydrase IX, Clear cell renal cell carcinoma, Prognosis

서론

신세포암의 30%는 진단 당시 전이성암으로 발견되며 국소성 신세포암으로 신절제술을 받은 후 30-50%는 전이성 신세포암으로 진행하게 된다[1]. 이러한 전이성 신세포암은 항암치료나 방사선치료에 반응하지 않으며, 면역치료 혹은 표적치료를 하고 있지만 효과적인 치료방법이 없는 상태로 생존기간은 약 6-10개월, 2년 생존율은 10-20% 정도로 나쁜 예후를 보인다[2,3]. 신세포암 예후 예측에는 현재 종양의 병기와 분화도만이 이용되고 있으며 적절한 종양표지자는 없는 상태이다[4]. 이에 Lam 등[5]은 여러 임상적, 해부학적, 병리적, 면역조직화학 특징들을 신세포암 진행 및 생존 예측 인자로 제안하였다.

신세포암의 면역조직화학 지표에 대한 초기 연구는 신세포암 아형을 구분하는 것에 불과하였고, 아직까지 신세포암 아형 구분에 특성화된 지표를 밝혀 내지는 못하고 있는 실정이다[6-10]. 면역조직화학 지표 중 하나인 CAIX (Carbonic anhydrase IX)는 종양의 생성 및 진행에 관여하며 저산소 환경에서 세포를 조절하는 것으로 알려져 있다[11,12]. Liao 등[13]은 1997년 투명 신세포암에서 CAIX가 발현된다는 것을 처음 보고하였으며 유두상 신세포암 3례에서도 CAIX가 발현되었다고 보고하였다. 이후, Bui 등[14]은 투명 신세포암에서 CAIX가 과발현되며 진행성 투명 신세포암에서 CAIX 저발현이 불량한 예후의 독립적 인자라고 하였다. 또한, CAIX 발현 정도가 interleukin-2 (IL-2)의 치료 반응에 예측인자가 될 수 있다고 보고하였다. 이후 신세포암에서 표적 치료에 대한 반응과 영상적 지표로서의 CAIX에 대한 많은 연구가

진행되고 있다[15,16]. 그러나 지금까지 투명 신세포암에서 CAIX 발현이 표적치료에 대한 반응 및 예후 예측 인자로의 연관성은 명확히 밝혀지지 않은 상태이다.

이에 저자들은 신세포암 아형과 CAIX 발현과의 관계, 투명 신세포암에서 CAIX 발현과 예후 및 표적치료에 대한 반응 관계를 분석하였다.

재료 및 방법

1. 대상

1999년 1월부터 2007년 12월까지 본원에서 신절제술 이후 신세포암으로 진단받은 172명의 환자를 대상으로 하였다. 면역조직화학 염색을 하여 투명 신세포암과 비투명 신세포암에서 CAIX 발현을 비교하였고, 투명 신세포암에서 CAIX 발현 정도와 나이, 체지방지수(BMI), 수술 전 TNM 병기, 핵분화도, 수술 후 전이 여부, 종양 특이 생존율의 연관성 및 표적치료에 대한 반응을 분석하였다.

2. 면역조직화학 염색 및 분석

신세포암으로 진단된 대상의 모든 H&E 염색 슬라이드를 재검색, 각 레마다 가장 대표적인 부위의 파라핀 절편에서 3 mm 직경의 조직을 두 개씩 채취하여 Tissue microarray (TMA)를 제작하였다. TMA 파라핀 블록에서 3 μ m 두께로 조직절편을 박절하여 슬라이드에 부착한 후, 탈파라핀 및 합수과정을 거친

다음 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위해 citrate 완충용액(10 mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담근 후 전자 레인지를 이용하여 10분간 가열하였다. 조직절편에 있는 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 3% 과산화수소로 10분간 처리하였다. 일차항체는 다클론CAIX (NB 100-417, Novus Biologicals Inc., Littleton, CO, USA)를 사용하였다. 면역염색은 자동염색기(LV 360-2D; Lab Vision Corporation, Fremont, CA, USA)와 Vector ABC Elite Kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)를 이용하였고 3,3-diaminobenzidin으로 발색하였다. 염색결과의 판독은 임상정보를 모르는 두 명의 병리의사에 의해 각각의 샘플에서 염색된 세포들의 백분율에 기초하여 이루어졌다. Bui 등[14]이 제시한대로 85% 이상 염색되었을 때 CAIX 과발현으로, 85% 이하를 CAIX 저발현으로 분류하였다(Fig. 1).

3. 표적치료 방법 및 치료반응 평가

Sunitinib (Sutent, Pfizer)은 50 mg을 4주간 매일 복용하고 2주간 휴약하는 방식으로 6주 주기로 투약하였으며, 6주마다 환자의 병변 위치에 따라 흉부 단순 X-ray 검사, 복부 및 흉부 전산화 단층촬영, 동위원소 골주사 사진 등을 선택하여 시행하였다. 치료반응 판정은 Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)의 기준에 따라 평가하였다.

4. 통계 분석

Chi-square test와 선형 결합 교차분석을 이용하여 투명 신세포암에서 임상병리학적 인자와 CAIX 발현과의 관계를 분석하였고, CAIX에 따른 종양 특이 생존율을 구하기 위해 Kaplan-Meier 분석방법을 이용한 후 log-rank test를 사용하여 검증하였다. 통계분석은 SPSS 17.0.1 for Windows software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였으며, 모든 분석에서 $p < 0.05$ 인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

성적

1. 임상병리적 특징

전체 신세포암 172례 중 투명 신세포암은 141례, 비투명 신세포암은 31례였다. 비투명 신세포암은 협색소 신세포암종이 13례, 유두 신세포암종이 9례, 상세 불명의 신세포암종이 5례, 과립세포암종이 3례, Xp11.2 translocation암종이 1례였다. 투명 신세포암은 남자가 106례(75.1%), 여자는 35례(24.9%)였다. 환자들의 평균 나이는 56.8 ± 9.6 세였으며 평균 체지방지수는 24.3 ± 1.9 kg/m²였다. 신세포암에서 7례는 수술 전 전이가 있었고 수술 후 전이가 일어난 경우는 19례였으며 전이 부위는 폐, 간, 뼈였다. 수술

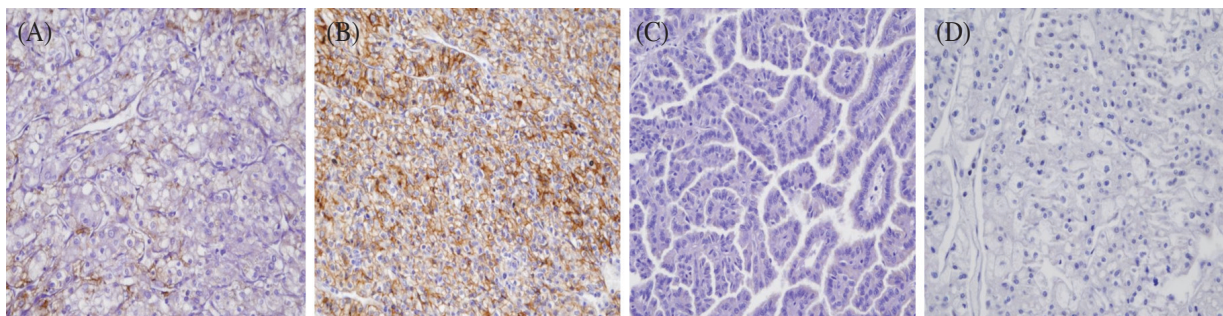


Fig. 1. CAIX expression in RCC (anti-CAIX antibody, $\times 200$). (A) low-level staining in clear cell RCC. (B) high-level staining in clear cell RCC. (C) Negative staining for CAIX in papillary RCC. (D) Negative staining for CAIX in chromophobe RCC.

후 전이된 19명의 환자들은 신절제술 이후 추가 치료를 하였으며, 이 중 4례는 II-2로 15례는 표적치료를 받았고 수술 전 전이가 있었던 7례는 보존적 치료를 받았다. 이들 7례 중 5례는 신세포암으로 사망하였다 (Table 1).

2. 투명 신세포암과 비투명 신세포암에서 CAIX 발현과의 연관성

투명 신세포암에서의 과발현율은 75.2%, 저발현율은 24.8%였고, 비투명 신세포암에서 과발현율은 9.7%, 저발현율은 90.3%였다 ($p < 0.001$) (Table 2).

3. 투명 신세포암에서 CAIX 발현 정도와 임상 인자와의 관계

나이, 체지방지수, 수술 전 M 병기, 핵분화도, 수술

후 전이 여부는 두 군간의 차이가 없었다 ($p=0.237$, $p=0.576$, $p=0.257$, $p=0.802$, $p=0.382$). 수술 전 T, N 병기가 높을 경우 CAIX 발현이 유의하게 낮았다 ($p=0.015$, $p=0.033$) (Table 3).

4. 투명 신세포암의 종양 특이 생존율

투명 신세포암에서 CAIX 과발현군과 저발현군 간에 종양 특이 생존율의 차이는 보이지 않았다 ($p=0.551$) (Fig. 2).

5. 표적치료에 대한 반응

전이성 투명 신세포암 15례에서 sunitinib을 사용한 치료 반응율은 CAIX 과발현군에서 55.5% (부분 관해 44.4%, 안정 병변 11.2%), 저발현군에서 50% (부분 관해 33.3%, 안정 병변 16.6%)였다 (Table 4).

Table 1. Characteristics of patients with clear cell RCC

Variable	n=141 (%)
Mean age (years)	56.8±9.6
Mean BMI (g/m ²)	24.3±1.9
Sex	
Male	106 (75.1)
Female	35 (24.9)
T stage	
T1-2	119 (84.3)
T3-4	22 (15.7)
N stage	
N0	135 (95.0)
N1-2	6 (5.0)
M stage	
M0	134 (97.2)
M1	7 (2.8)
Fuhrman nuclear grade	
I-II	63 (44.7)
III-IV	78 (55.3)
Post-operative distant metastasis	
Positive	19 (13.5)
Negative	122 (86.5)

고 찰

CAIX는 중탄산염-탄소이산화물 완충 체제의 반응을 촉진시키는 효소를 포함한 세포막 당단백이며 이들 효소는 세포 내부 및 외부의 수소이온농도지수 (pH)를 조절하여 세포가 저산소 상태의 환경에서 적응할 수 있도록 해주는 기능을 지니고 있다[17].

CAIX 발현은 과거 von Hippel Lindau protein (pVHL)의 변이에 의한 것으로 알려졌으나, 최근 연구에 따르면 hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α)에 의해 조절된다고 알려져 있다[18]. 정상 산소 환경에서 HIF-1 α 는 pVHL와의 결합을 통해 소멸되는 반면 저산소 상태의 환경에서 HIF-1 α 는 pVHL과 결합하지 못하고, hypoxia-inducible factor-1 β (HIF-1 β)와 연속적인 결합을 통해 세포 표면에 CAIX이 발현되게 된다[19]. Grabmaier 등[20]은 투명 신세포암에서 pVHL의 변이가 사라질 때 저산소 상태의 환경과 유사하여 CAIX 과발현을 나타낸다고 발표하였고, Shin 등[21]은 다른 종양들(자궁암, 자궁경부 암, 식도, 폐암, 유방암 등)에서 역시 저산소

상태의 환경에 의해 CAIX 발현이 일어난다고 보고하였다. 따라서, CAIX는 세포암 자체의 진단보다 종양에서 저산소 상태의 환경을 나타내는 지표일 것이라는 보고도 있다[22]. 반면 Intake 등[23]은 정상세포들(위 점막, 소장점막 등)에서 CAIX 발현은

산성 환경 및 포도당 결핍에 의해 조절된다고 보고한 바 있다.

최근 CAIX 발현과 전이성 신세포암에서 약물 치료 반응과의 관계에 대한 많은 연구가 보고되고 있다. 2005년 Atkins 등[24]은 IL-2치료를 받은 66명의

Table 2. Comparison of CAIX expression between Clear cell RCC and Non-Clear cell RCC

Tumor type	CAIX expression		p-value
	High	Low	
Clear cell RCC (n=141)	106 (75.2%)	35 (24.8%)	p<0.001 ^b
Non clear cell RCC (n=31) ^a	3 (9.7%)	28 (90.3%)	

^a : Papillary RCC (n=9), Chromophobe RCC (n=13), Granular RCC (n=3), Unclassified RCC (n=5), Xp11.2 translocation tumor (n=1), ^b : Chi-square test.

Table 3. Comparison of CAIX expression and clinicopathologic parameters in clear cell RCC

Variable	No. of patients (%)		p-value
	High expression (n=106)	Low expression (n=35)	
Age (years)	56.8	54.1	0.237 ^a
BMI (g/m ²)	24.21	24.52	0.576 ^a
Sex			0.565 ^b
Male	78 (73.5)	24 (68.5)	
Female	28 (26.5)	11 (31.5)	
T stage			0.015 ^b
T1-2	94 (88.7)	25 (71.4)	
T3-4	12 (11.3)	10 (28.6)	
N stage			0.033 ^b
N0	104 (98.1)	32 (88.6)	
N1-2	2 (1.9)	4 (11.4)	
M stage			0.257 ^b
M0	102 (96.2)	32 (91.4)	
M1	4 (3.8)	3 (8.6)	
Fuhrman nuclear grade			0.802 ^b
I-II	48 (45.3)	15 (42.9)	
III-IV	58 (54.7)	20 (57.1)	
Post-operative distant metastasis			0.382 ^b
Positive	13 (12.3)	6 (17.1)	
Negative	93 (87.7)	29 (82.9)	

^a : the Student's test was applied for comparison of continuous variables, ^b : the Pearson chi-square test and Fisher exact test were used to compare categorical variables.

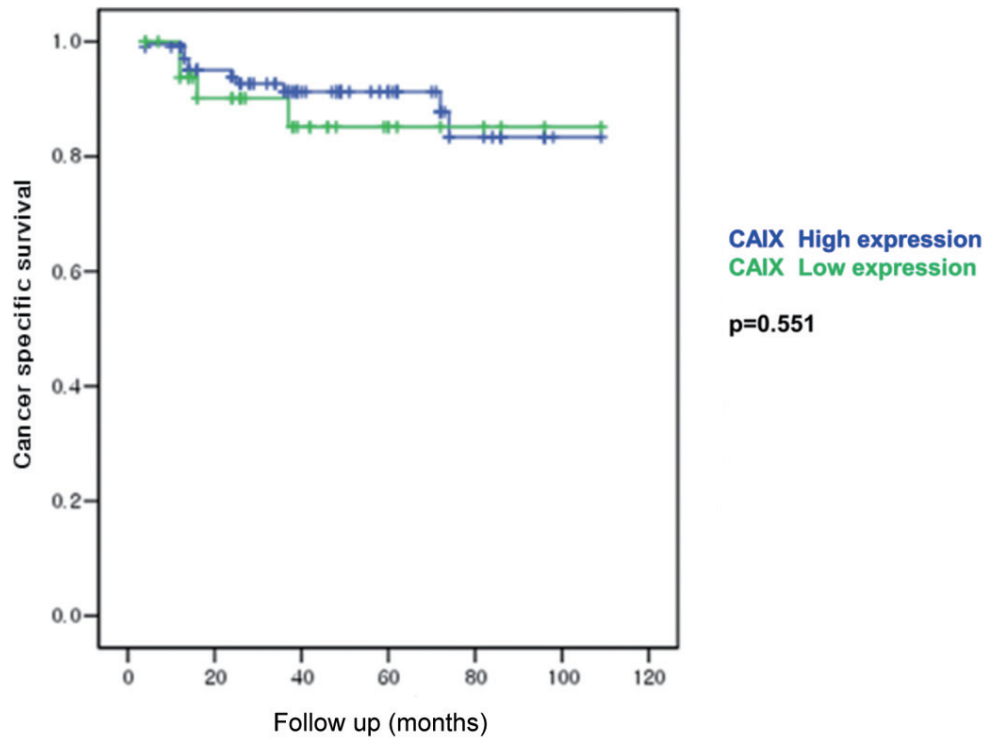


Fig. 2. Analysis of cancer specific survival by Kaplan-Meier.

Table 4. Response rate of sunitinib of treatment response in metastatic clear cell RCC with sunitinib in CAIX high expression and CAIX low expression group

Response	No. of patients (%)	
	High expression (n=9)	Low expression (n=6)
Complete response	0 (0%)	0 (0%)
Partial response	4 (44.4%)	2 (33.4%)
Stable disease	1 (11.2%)	1 (16.6%)
Progressive disease	4 (44.4%)	3 (50%)

전이성 신세포암 환자를 대상으로 CAIX 과발현 환자에서 저발현 환자보다 26% 높은 치료 반응이 나타났으며, 5년 생존율과 평균 생존율이 더 높았다고 보고하였다. 이 연구에서 IL-2를 사용한 환자 4명 중 CAIX 과발현은 100% (1/1), 저발현에서는 33% (1/3)의 부분 관해가 있었으나, CAIX 발현과 치료 반응의 관계를 확인할 수는 없었다. Choueiri 등[25]은 118명의 전이성 신세포암에서 수술 후 sunitinib 혹은

sorafenib으로 치료받은 환자들에서 CAIX 발현과 신세포암 아형에 따른 예후 및 치료 효과를 비교하였다. 두 약제 모두 다른 아형의 신세포암보다 투명 신세포암에서 높은 치료 반응과 종괴의 감소를 보였으며, sunitinib의 치료 반응과 CAIX 발현의 연관성은 뚜렷하지 않았으나 CAIX 과발현은 sorafenib 치료 반응의 예측 인자였다고 보고하였다. 이 연구에서도 sunitinib을 사용한 15명의 치료

반응율은 CAIX 과발현에서 55.5%(부분 관해 44.4%, 안정 병변 11.1%), 저발현에서 50%(부분 관해 33.4%, 안정 병변 16.6%)였다 (Table 4).

Liao 등[13]은 협색소 신세포암종 및 양성종양을 제외한 신세포암에서도 CAIX 발현을 확인하였으며, Uemura 등[26]은 187명의 신세포암 환자 중 CAIX 발현은 87%에서 나타났다고 보고하였다. 이 연구에서 172명의 신세포암 환자 중 CAIX 발현은 75%에서 관찰되었고 141명의 투명 신세포암 환자 중 87%에서 확인하였다. 신세포암의 아형에 따른 CAIX 발현을 비교에서 Bismar 등[27]은 투명 신세포암의 CAIX 과발현율이 95% 이상에서 나타난 반면 비투명 신세포암에서는 CAIX 과발현율이 낮았다고 보고하였는데, 이 연구에서도 투명 신세포암에서 CAIX 과발현율은 75.2%, 비투명 신세포암에서 과발현율은 9.7%로 투명 신세포암에서 CAIX 과발현율이 유의하게 높았다($p < 0.001$).

Bui 등[14]은 321명의 투명 신세포암 환자에서 CAIX 발현과 임상지표와의 관계를 평가하여 비전이성 투명 신세포암에서 수술 전 T, N 병기, 핵분화도, 종양 특이 생존율은 CAIX 발현 정도와 연관성이 없었으나, 전이성 투명 신세포암에서는 CAIX 발현이 낮을 때 높은 수술 전 T, N 병기, 높은 핵분화도, 낮은 종양 특이 생존율을 보고한 바 있다. 그러나 Leibovich 등[28]에 의하면 730명의 투명 신세포암 환자의 단별량 분석에서 낮은 CAIX의 발현 환자들이 높은 사망률을 보였지만 다변량 분석에서는 통계적 의미가 없었다고 보고하였다. 이 연구에서는 141명의 투명 신세포암 환자에서 CAIX 발현이 낮은 군에서 높은 수술 전 T, N 병기에 속하였으나($p=0.015$, $p=0.033$), 종양 특이 생존율에서는 통계적 유의성이 나타나지 않았다($p=0.551$). 이처럼 여러 연구결과가 서로 일치하지 않는 것은 Leibovich 등[28]의 연구, Bui 등[14]의 연구 및 이 연구에서 투명 신세포암 중 전이성 투명 신세포암의 비율이 각각 11.1% (81/730), 46.4% (149/321), 18.4% (26/141)로 차이가 있었기 때문으로 판단된다.

이 연구에서 전이성 신세포암 환자가 26명이었고, 이 중 표적치료를 받은 환자는 15명으로 CAIX 발현과 예후 예측인자로서 관계를 명확히 밝히는 데는 한계가

있었다. 하지만, 우리나라에서 처음으로 투명 신세포암에서 CAIX 발현과 예후 인자들과의 관계 및 표적치료 반응의 연관성을 연구한 점에서 그 의의가 있다고 본다.

요약

신세포암 중 투명 신세포암에서 CAIX의 과발현이 나타난 빈도가 많았고 CAIX 발현이 낮은 군에서 높은 수술 전 T, N 병기를 지닌 환자가 많았다. 표적치료에 대한 반응율과 CAIX 발현 정도의 연관성은 확인할 수 없었다. CAIX는 신세포암에서 투명 신세포암의 구분과 투명 신세포암의 예후 예측에 영향을 미칠 수 있으리라 여겨지나 환자의 치료 반응이나 예후와의 관계 여부 등은 추후 더 많은 환자를 대상으로 연구가 필요하리라 생각한다.

Conflicts of Interest

The authors have nothing to disclose.

참고문헌

1. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn GS. *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. Lyon: IARC Press; 2004.
2. Reuter VE. The pathology of renal epithelial neoplasms. *Semin Oncol* 2006;**33**:534-43.
3. Figlin RA. Renal cell carcinoma: management of advanced disease. *J Urol* 1999;**161**:381-6;discussion 6-7.
4. Ficarra V, Righetti R, Piloni S, D'Amico A, Maffei N, Novella G, *et al*. Prognostic factors in patients with renal cell carcinoma: retrospective analysis of 675 cases. *Eur Urol* 2002;**41**:190-8.
5. Lam JS, Pantuck AJ, Belldegrun AS, Figlin RA. Protein expression profiles in renal cell carcinoma:

- staging, prognosis, and patient selection for clinical trials. *Clin Cancer Res* 2007;**13**:703s-8s.
6. Skinnider BF, Amin MB. An immunohistochemical approach to the differential diagnosis of renal tumors. *Semin Diagn Pathol* 2005;**22**:51-68.
 7. Zhou M, Roma A, Magi-Galluzzi C. The usefulness of immunohistochemical markers in the differential diagnosis of renal neoplasms. *Clin Lab Med* 2005;**25**:247-57.
 8. Wang HY, Mills SE. KIT and RCC are useful in distinguishing chromophobe renal cell carcinoma from the granular variant of clear cell renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;**29**:640-6.
 9. Memeo L, Jhang J, Assaad AM, McKiernan JM, Murty VV, Hibshoosh H, *et al.* Immunohistochemical analysis for cytokeratin 7, KIT, and PAX2: value in the differential diagnosis of chromophobe cell carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2007;**127**:225-9.
 10. Gupta R, Balzer B, Picken M, Osunkoya AO, Shet T, Alsabeh R, *et al.* Diagnostic implications of transcription factor Pax 2 protein and transmembrane enzyme complex carbonic anhydrase IX immunoreactivity in adult renal epithelial neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2009;**33**:241-7.
 11. Pastorek J, Pastorekova S, Callebaut I, Mornon JP, Zelnik V, Opavsky R, *et al.* Cloning and characterization of MN, a human tumor-associated protein with a domain homologous to carbonic anhydrase and a putative helix-loop-helix DNA binding segment. *Oncogene* 1994;**9**:2877-88.
 12. Wykoff CC, Pugh CW, Maxwell PH, Harris AL, Ratcliffe PJ. Identification of novel hypoxia dependent and independent target genes of the von Hippel-Lindau (VHL) tumour suppressor by mRNA differential expression profiling. *Oncogene* 2000;**19**:6297-305.
 13. Liao SY, Aurelio ON, Jan K, Zavada J, Stanbridge EJ. Identification of the MN/CA9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res* 1997;**57**:2827-31.
 14. Bui MH, Seligson D, Han KR, Pantuck AJ, Dorey FJ, Huang Y, *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.
 15. Brouwers AH, Buijs WC, Mulders PF, de Mulder PH, van den Broek WJ, Mala C, *et al.* Radioimmuno-therapy with [¹³¹I]cG250 in patients with metastasized renal cell cancer: dosimetric analysis and immunologic response. *Clin Cancer Res* 2005;**11**:7178s-86s.
 16. Divgi CR, Bander NH, Scott AM, O'Donoghue JA, Sgouros G, Welt S, *et al.* Phase I/II radioimmuno-therapy trial with iodine-131-labeled monoclonal antibody G250 in metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1998;**4**:2729-39.
 17. Opavsky R, Pastorekova S, Zelnik V, Gibadulinova A, Stanbridge EJ, Zavada J, *et al.* Human MN/CA9 gene, a novel member of the carbonic anhydrase family: structure and exon to protein domain relationships. *Genomics* 1996;**33**:480-7.
 18. Kaluz S, Kaluzova M, Liao SY, Lerman M, Stanbridge EJ. Transcriptional control of the tumor- and hypoxia-marker carbonic anhydrase 9: A one transcription factor (HIF-1) show? *Biochim Biophys Acta* 2009;**1795**:162-72.
 19. Ivanov S, Liao SY, Ivanova A, Danilkovitch-Miagkova A, Tarasova N, Weirich G, *et al.* Expression of hypoxia-inducible cell-surface transmembrane carbonic anhydrases in human cancer. *Am J Pathol* 2001;**158**:905-19.
 20. Grabmaier K, MC AdW, Verhaegh GW, Schalken JA, Oosterwijk E. Strict regulation of CAIX (G250/MN) by HIF-1alpha in clear cell renal cell carcinoma. *Oncogene* 2004;**23**:5624-31.
 21. Shin KH, Diaz-Gonzalez JA, Russell J, Chen Q, Burgman P, Li XF, *et al.* Detecting changes in tumor hypoxia with carbonic anhydrase IX and pimonidazole. *Cancer Biol Ther* 2007;**6**:70-5.
 22. Thiry A, Dogne JM, Masereel B, Supuran CT. Targeting tumor-associated carbonic anhydrase IX in

- cancer therapy. *Trends Pharmacol Sci* 2006;**27**:566-73.
23. Ihnatko R, Kubes M, Takacova M, Sedlakova O, Sedlak J, Pastorek J, *et al.* Extracellular acidosis elevates carbonic anhydrase IX in human glioblastoma cells via transcriptional modulation that does not depend on hypoxia. *Int J Oncol* 2006;**29**:1025-33.
24. Atkins M, Regan M, McDermott D, Mier J, Stanbridge E, Youmans A, *et al.* Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;**11**:3714-21.
25. Choueiri TK, Regan MM, Rosenberg JE, Oh WK, Clement J, Amato AM, *et al.* Carbonic anhydrase IX and pathological features as predictors of outcome in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma receiving vascular endothelial growth factor-targeted therapy. *BJU Int* 2010;**106**:772-8.
26. Uemura H, Nakagawa Y, Yoshida K, Saga S, Yoshikawa K, Hirao Y, *et al.* MN/CA IX/G250 as a potential target for immunotherapy of renal cell carcinomas. *Br J Cancer* 1999;**81**:741-6.
27. Bismar TA, Bianco FJ, Zhang H, Li X, Sarkar FH, Sakr WA, *et al.* Quantification of G250 mRNA expression in renal epithelial neoplasms by real-time reverse transcription-PCR of dissected tissue from paraffin sections. *Pathology* 2003;**35**:513-7.
28. Leibovich BC, Sheinin Y, Lohse CM, Thompson RH, Cheville JC, Zavada J, *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.