



Жерко И.Ю.¹✉, Гуленко О.В.¹, Рукша К.Г.², Давыдов Д.А.¹, Наumenко Л.В.¹,
Портянко А.С.¹

¹ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

² Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

Экспрессия FoxP3 как прогностический фактор течения меланомы хориоидеи

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Жерко И.Ю. – концепция исследования, сбор и обработка материала, написание текста статьи, редактирование; Гуленко О.В. – сбор и обработка материала; Рукша К.Г. – сбор и обработка материала; Давыдов Д.А. – написание текста статьи, редактирование; Наumenко Л.В. – редактирование; Портянко А.С. – концепция исследования, редактирование.

Подана: 30.05.2024

Принята: 12.07.2024

Контакты: zherko.irina@mail.ru

Резюме

Цель. Оценить прогностическое значение экспрессии FoxP3 в иммунном инфильтрате первичной меланомы хориоидеи.

Материалы и методы. Включено 50 пациентов с диагнозом «меланома хориоидеи». Выполнялось гистологическое исследование, а также иммуногистохимическое окрашивание образцов опухоли с антителами к FoxP3, CD3, CD68, CD34. Методом регрессионного анализа оценивалась взаимосвязь гистологических характеристик, характеристик опухолевого микроокружения, микрососудистого русла и показателей выживаемости.

Результаты. Выживаемость без прогрессирования статистически значимо связана с категорией pT (ОР 1,5 95% ДИ 1,1–3,3, $p=0,04$) соотношением CD3/CD68 >1 (ОР 7,9 95% ДИ 1,6–37,4, $p=0,009$) и соотношением FoxP3/CD3 $>0,5$ (ОР 6,9 95% ДИ 1,1–20,0, $p=0,04$). Медиана выживаемости в группе FoxP3/CD3 $>0,5$ составила 51 месяц, медиана выживаемости в группе FoxP3/CD3 $<0,5$ не достигнута.

Выводы. Высокое содержание FoxP3-позитивных Т-регуляторных клеток в составе иммунного инфильтрата является неблагоприятным прогностическим фактором при первичной меланоме хориоидеи. Риск прогрессирования заболевания при соотношении FoxP3/CD3 $\geq 0,5$ в 6,9 раза выше по сравнению с опухолями с низким содержанием Т-регуляторных лимфоцитов.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, иммунное микроокружение, прогноз, выживаемость без прогрессирования



Zherka I.¹, Gulenko O.¹, Ruksha K.², Davydov D.¹, Naumenko L.¹, Portyanko A.¹

¹ N.N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Belarus

² Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

FoxP3 Expression as a Prognostic Factor for Choroidal Melanoma

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Zherka I. – research concept, collection and processing of material, writing the text of the article, editing; Gulenko O. – collection and processing of material; Ruksha K. – collection and processing of material; Davydov D. – writing the text of the article, editing; Naumenko L. – editing; Portyanko A. – research concept, editing.

Submitted: 30.05.2024

Accepted: 12.07.2024

Contacts: zherko.irina@mail.ru

Abstract

Purpose. To evaluate the prognostic value of FoxP3 expression in the immune infiltrate of primary choroidal melanoma.

Materials and methods. Included 50 patients diagnosed with primary choroidal melanoma. Histological examination was performed, as well as immunohistochemical staining of tumor samples with antibodies to FoxP3, CD3, CD68, CD34. Regression analysis was used to evaluate the relationship between histological characteristics, characteristics of the tumor microenvironment, microvascular bed and survival rates.

Results. Progression-free survival was statistically significantly associated with the pT category (HR 1.5 95% CI 1.1–3.3, $p=0.04$) CD3/CD68 ratio more than 1 (HR 7.9 95% CI 1.6–37.4, $p=0.009$) and FoxP3/CD3 ratio more than 0.5 (RR 6.9 95% CI 1.1–20.0, $p=0.04$). The median progression free survival in the FoxP3/CD3 group greater than 0.5 was 51 months; the median progression free survival in the FoxP3/CD3 group less than 0.5 was not reached.

Conclusions. A high content of FoxP3-positive T-regulatory cells in the immune infiltrate is an unfavorable prognostic factor in primary choroidal melanoma. The risk of disease progression with a FoxP3/CD3 ratio ≥ 0.5 is 6.9 times was higher compared to tumors with a low content of T-regulatory lymphocytes in the tumor infiltrate.

Keywords: choroidal melanoma, immune microenvironment, prognosis, progression-free survival

■ ВВЕДЕНИЕ

Меланома хориоидеи является наиболее распространенной внутриглазной опухолью взрослых. Современные методы лучевой терапии позволяют эффективно достигать устойчивого локального контроля в 95% случаев впервые выявленного заболевания [1]. Тем не менее около 50% пациентов подвержено риску системного прогрессирования вне зависимости от метода лечения первичной опухоли [1]. В случае развития метастазов меланомы хориоидеи применяются как методы, направленные на локальную деструкцию поражений печени (радиочастотная абляция, резекция, хемоземболизация), так и системная терапия, включающая химио-, иммуно- и таргетную терапию [2]. Однако достаточно эффективной схемы лечения на сегодня

не существует. Медиана общей выживаемости пациентов с метастатической меланомой хориоидеи составляет 13 месяцев [3].

В отличие от кожной меланомы, эффективность иммунотерапии при меланоме хориоидеи ограничена. При этом ингибиторы контрольных точек являются наиболее эффективным методом лечения метастатической формы меланомы хориоидеи при невозможности применения методов локального лечения [4]. Также в 2022 году FDA и EMA одобрили назначение биспецифического антитела тебентафусп для лечения метастатической меланомы хориоидеи [5]. Таким образом, изучение иммунного инфильтрата опухоли представляет наибольший интерес с точки зрения разработки новых противоопухолевых молекул.

Нами ранее было установлено, что соотношение количества CD3- и CD68-позитивных клеток статистически значимо ассоциировано с показателями скорректированной выживаемости и выживаемости без прогрессирования пациентов с первичной меланомой хориоидеи [6].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить прогностическую значимость экспрессии FoxP3 в иммунном инфильтрате первичной меланомы хориоидеи. FoxP3 (скарфин) – транскрипционный фактор, являющийся ключевым маркером регуляторных Т-лимфоцитов, которые снижают активность противоопухолевого иммунного ответа [7]. При этом одним из важных параметров, характеризующих иммунный инфильтрат, является соотношение Т-клеток, участвующих в реализации противоопухолевого иммунного ответа, и регуляторных Т-лимфоцитов.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках ретроспективного исследования проводился анализ медицинской документации, данных канцер-регистра и биопсийного материала 50 пациентов с диагнозом «меланома хориоидеи», проходивших лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова с 2009 по 2014 г. Все пациенты были прооперированы в объеме энуклеации глазного яблока. Динамическое наблюдение осуществлялось также в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова согласно национальным стандартам [8].

Включение в исследование осуществлялось по следующим критериям: энуклеация как единственный метод лечения, доступность медицинской документации, надлежащее качество биопсийного материала (парафиновых блоков). Пациенты исключались из исследования при наличии первично множественного метакронного или синхронного заболевания, в случае применения комплексного или комбинированного метода лечения, а также в случае наличия отдаленных метастазов на момент хирургического лечения первичной опухоли.

Гистологическое исследование проводилось на фиксированном в формалине операционном материале после окраски срезов гематоксилином и эозином. Интенсивность пигментации и распространенность некроза оценивались полуколичественным методом тремя независимыми исследователями. Гистологический тип – веретенноклеточный, эпителиоидноклеточный или смешанноклеточный – определялся согласно 5-му изданию классификации опухолей ВОЗ. Опухоли классифицировались как веретенноклеточные при наличии более 90% веретеновидных клеток, как



Таблица 1
Характеристики антител, использованных в исследовании
Table 1
Characteristics of the antibodies used in the study

Антитело	Клон	Разведение
FoxP3	Polyclonal	1:100
CD3	LN10	1:200
CD68	PG-M1	1:600

эпителиоидноклеточные – в случае, если более 90% клеток имели эпителиоидную морфологию. В остальных случаях диагностировался смешанноклеточный тип.

Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования проводились после депигментации парафиновых срезов выдерживанием в 10% растворе H₂O₂. Использовались первичные антитела к FoxP3, CD3, CD68, CD34 с хромогеном диаминобензидином, гематоксилином Майера для контрокрашивания (табл. 1).

Подсчет количества позитивных клеток проводился в 5 непересекающихся полях зрения (объектив ×20) двумя независимыми исследователями.

Паттерны микрососудистого русла определялись в локусах наиболее высокой плотности сосудов согласно Folberg Retal. Существует 2 группы паттернов микрососудистого русла в первичной меланоме хориоидеи: линейные (прямые, параллельные, параллельные с пересечениями) и дугообразные (арки, арки с ветвлением, петли и сеть) [9].

Для оценки совместного влияния потенциальных факторов риска на выживаемость использовался регрессионный анализ. В анализе применялась непараметрическая модель пропорциональных рисков Кокса. Вычислялись величины относительного риска (ОР), их 95% доверительный интервал (ДИ) и статистические значимости. Переменные со значением $p < 0,1$ включались в многофакторный анализ. Переменные с коэффициентом корреляции $> 0,7$ по результатам корреляционного анализа Спирмена исключались из многофакторного регрессионного анализа.

Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработка данных и расчет статистических параметров проводились с использованием IBM SPSS Statistics 20.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включены 50 образцов меланомы хориоидеи с удовлетворительным качеством ИГХ-окрашивания. Клинико-демографическая характеристика данных пациентов приведена в табл. 2.

Медиана наблюдения составила 102,0 (95% ДИ 89,9–114,1) месяца.

Характеристики образцов по изученным гистологическим и ИГХ-параметрам приведены в табл. 3. Средняя толщина опухоли составила $7,8 \pm 2,9$ мм, средний базальный диаметр – $11,9 \pm 4,0$ мм.

Экспрессия FoxP3 характеризовалась выраженной вариабельностью. Маркер экспрессировался только в ядрах клеток иммунного инфильтрата. Не было зарегистрировано случаев цитоплазматической экспрессии. Скарфинпозитивные иммунные клетки присутствовали как среди опухолевых клеток, так и параваскулярно. Не было выявлено закономерностей в расположении скарфинпозитивных клеток относительно структур глаза и опухоли (см. рисунок).

Таблица 2
Клинико-демографическая характеристика пациентов, включенных в исследование
Table 2
Clinical and demographic characteristics of the patients included in the study

Признак	n (%)
Пол:	
мужской	13 (26,0%)
женский	37 (74,0%)
Средний возраст, лет	63,5 (10,7)
Категория pT:	
T1	2 (4,0%)
T2	18 (36,0%)
T3	19 (38,0%)
T4	11 (22,0%)
Метастазирование в течение периода наблюдения	15 (30,0%)
Смерть в течение периода наблюдения	16 (32,0%)

Таблица 3
Морфологическая характеристика изученных образцов
Table 3
Morphological characteristics of the studied samples

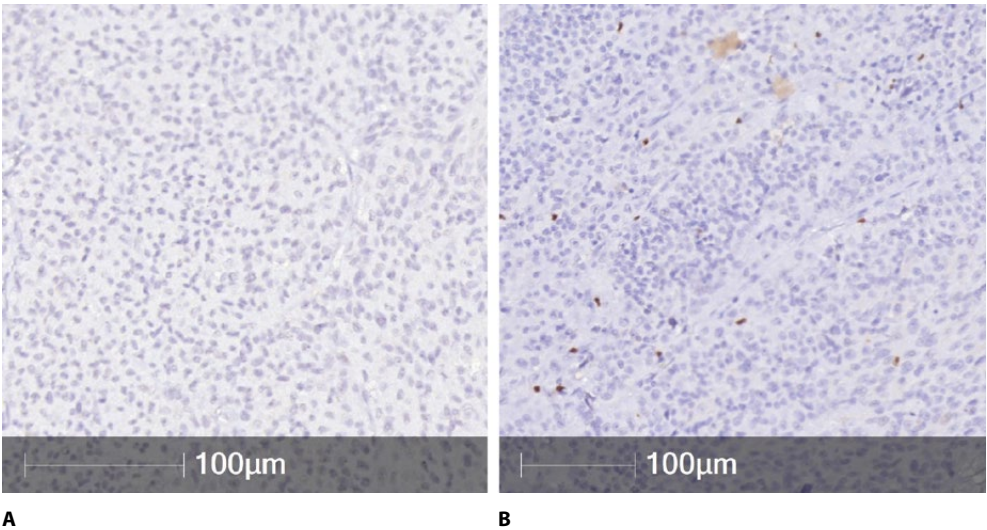
Признак	n (%)
Наличие пигмента	33 (66,0%)
Наличие эпителиоидных клеток	15 (30%)
Инвазия в зрительный нерв	5 (10,0%)
Инвазия в склеру	19 (38,0%)
Вовлечение ресничного тела	7 (14,0%)
Наличие сосудистых арок	15 (30%)
Варианты расположения CD68-позитивных клеток:*	
периваскулярный	17 (34,0%)
комбинированный	22 (44,0%)
диффузный	11 (22,0%)

Примечание: * ранее нами выделено 3 варианта расположения CD68-позитивных клеток относительно микрососудистого русла: 1) периваскулярный – клетки локализуются в основном возле сосудов опухоли; 2) комбинированный – клетки равномерно распределены между параваскулярным компартментом и компартментом опухолевых клеток; 3) диффузный – CD68-позитивные клетки расположены в основном среди опухолевых клеток [6].

В зависимости от содержания FoxP3-позитивных клеток в составе опухолевого инфильтрата все случаи были разделены на 2 группы: с наличием и отсутствием экспрессии FoxP3.

FoxP3-позитивные опухоли характеризовались периваскулярным паттерном расположения CD68-позитивных клеток. При этом не было выявлено статистически значимых корреляционных связей между количеством скарфинпозитивных и количеством CD3-позитивных клеток, количеством и паттерном расположения CD68-позитивных клеток, сосудистым паттерном.

В однофакторном регрессионном анализе наличие экспрессии FoxP3 было статистически значимо ассоциировано с худшими показателями выживаемости без прогрессирования (ОР 1,5 95% ДИ 1,4–3,5, $p=0,005$), но не скорректированной



A

B

Экспрессия FoxP3 в иммунном инфильтрате меланомы хориоидеи (ИГХ-окрашивание с АТ к скарфину, контрокрашивание гематоксилином Майера, увеличение ×200): А – случай с отсутствием скарфинпозитивных клеток; В – случай с наличием скарфинпозитивных клеток в составе опухолевого инфильтрата
FoxP3 expression in the immune infiltrate of choroidal melanoma (IHC staining with AT to scarfin, Mayer hematoxylin staining, magnification ×200): A – the case with the absence of scarfinpositive cells; B – the case with the presence of scarfinpositive cells in the tumor infiltrate

выживаемости (ОР 1,1 95% ДИ 0,39–3,0, $p=0,8$). Однако при соотношении количества скарфинпозитивных и CD3-позитивных клеток $>0,5$ риск прогрессирования был в 2 раза выше, чем при более низких значениях данного параметра (ОР 2,0 95% ДИ 1,05–9,0, $p=0,003$). Соотношение FoxP3/CD3 не оказывало влияния на показатели скорректированной выживаемости (ОР 1,4 95% ДИ 0,8–2,4, $p=0,2$) (табл. 4).

Таблица 4
Результаты однофакторного регрессионного анализа Кокса для оценки взаимосвязи морфологических признаков и показателей выживаемости без прогрессирования
Table 4
The results of a one-factor Cox regression analysis to assess the relationship between morphological features and progression-free survival rates

Фактор	Результаты однофакторного регрессионного анализа Кокса		
	ОР	95% ДИ	p
Наличие экспрессии FoxP3	1,5	1,4–3,5	0,005
Наличие эпителиоидных клеток	1,5	0,6–4,4	0,39
Категория pT (T3 против T1)	1,9	1,1–3,5	0,04
Наличие дугообразного паттерна микрососудистого русла	2,4	0,8–6,8	0,08
CD3/CD68 >1	5,1	1,6–16,2	0,005
FoxP3/CD3 $\geq 0,5$	2,0	1,05–9,0	0,003

Таблица 5
Независимые прогностические факторы в отношении выживаемости без прогрессирования по данным многофакторного регрессионного анализа
Table 5
Independent prognostic factors for progression-free survival according to multivariate regression analysis

Фактор	Результаты многофакторного регрессионного анализа Кокса		
	ОР	95% ДИ	p
Наличие экспрессии FoxP3	1,0	0,2–2,7	0,7
Категория pT (T3 против T1)	1,5	1,1–3,3	0,04
Наличие дугообразного паттерна микрососудистого русла	1,3	0,4–4,1	0,6
CD3/CD68 >1	7,9	1,6–37,4	0,009
FoxP3/CD3 ≥0,5	6,9	1,1–20,0	0,04

Таблица 6
Показатели выживаемости без прогрессирования в зависимости от количества скарфинпозитивных клеток в поле зрения
Table 6
Progression-free survival rates depending on the number of scarfing positive cells in the field of vision

Группа	Показатель выживаемости, %			p
	1-летняя	3-летняя	5-летняя	
FoxP3/CD3 ≥0,5	100	66,7±27,7	33,3±27,2	0,03
FoxP3/CD3 <0,5	93,5±3,6	72,6±6,8	70,0±7,1	

Независимыми прогностическими факторами в отношении выживаемости без прогрессирования были категория pT (ОР 1,5 95% ДИ 1,1–3,3, p=0,04), соотношение CD3/CD68 >1 (ОР 7,9 95% ДИ 1,6–37,4, p=0,009) и соотношение FoxP3/CD3 >0,5 (ОР 6,9 95% ДИ 1,1–20,0, p=0,04) (табл. 5).

Медиана выживаемости в группе FoxP3/CD3 >0,5 составила 51 месяц, медиана выживаемости в группе FoxP3/CD3 <0,5 не достигнута. Показатели выживаемости в группах с разным соотношением скарфин- и CD3-позитивных клеток приведены в табл. 6.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

FoxP3 является молекулой – регулятором иммунного ответа, маркером дифференцировки Т-лимфоцитов в регуляторный фенотип и традиционно считается ингибитором иммунного ответа [7]. Некоторые исследования также демонстрируют, что FoxP3 может экспрессироваться в некоторых нормальных тканях (в эпителии молочной железы, предстательной железы, яичников) и опухолях (аденокарциноме поджелудочной железы, меланоме, раке мочевого пузыря) [10, 11]. В отдельных публикациях установлена способность FoxP3 как потенцировать, так и подавлять опухолевый рост [12].

Количество публикаций о роли FoxP3 в течении меланомы хориоидеи ограничено. Имеющиеся сообщения посвящены в основном изучению метастазов заболевания [13]. Публикации о роли маркера в патогенезе и течении кожной меланомы



противоречивы. В одних исследованиях большое количество FoxP3-позитивных клеток коррелировало с худшими показателями выживаемости [14], в других исследованиях не было выявлено взаимосвязи между уровнем экспрессии маркера и показателями выживаемости [15, 16]. В одном исследовании также было показано, что высокое содержание FoxP3-позитивных клеток связано с лучшим прогнозом [17].

В случае инвазивного рака молочной железы наличие в опухолевом инфильтрате скарфинпозитивных клеток было статистически значимо ассоциировано с худшим прогнозом в отношении общей выживаемости [18]. При этом наличие ядерной экспрессии FoxP3 в опухолевых клетках было ассоциировано с лучшими показателями общей выживаемости, а цитоплазматическая экспрессия – с худшим прогнозом [18]. Механизмы, за счет которых реализуется разнонаправленное влияние экспрессии FoxP3 на течение опухолевого процесса, требуют дальнейшего изучения.

Прогностическое влияние соотношения регуляторных и эффекторных Т-лимфоцитов было показано при изучении резектабельного рака желудка. Высокое соотношение FoxP3+/CD8+ было независимым прогностическим фактором в отношении худшей общей выживаемости [19].

Метаанализ, включавший 76 публикаций, показал, что высокое содержание FoxP3-позитивных Т-лимфоцитов было ассоциировано с худшим прогнозом для рака шейки матки, почечноклеточного рака, рака молочной железы, меланомы и с лучшими показателями выживаемости для колоректального рака, опухолей головы и шеи, плоскоклеточного рака пищевода [20].

Вероятно, в течении опухолевого процесса играет роль не только наличие FoxP3-позитивных клеток, но и тип экспрессирующих клеток, их фракция относительно других клеток иммунного инфильтрата, а также расположение по отношению к опухолевым клеткам и клеткам опухолевого микроокружения.

В настоящем исследовании была выявлена исключительно ядерная экспрессия скарфина в клетках иммунного опухолевого инфильтрата. В случае, когда фракция FoxP3-позитивных клеток превышала 0,5 среди всех Т-лимфоцитов (CD3-позитивных клеток), показатели выживаемости без прогрессирования были статистически значимо хуже, чем в случае, когда фракция скарфинпозитивных клеток составляла менее 0,5.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании установлено, что фракция FoxP3-позитивных клеток среди всех CD3-позитивных клеток является независимым прогностическим фактором развития метастазов меланомы хориоидеи наряду с категорией pT и соотношением CD3- и CD68-позитивных клеток. При соотношении FoxP3/CD3 $\geq 0,5$ риск прогрессирования меланомы хориоидеи увеличивался в 6,9 раза, а показатель 5-летней выживаемости без прогрессирования составил $33,3 \pm 27,2\%$. При этом аналогичный показатель составил $70,0 \pm 7,1\%$ при соотношении FoxP3/CD3 менее 0,5.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Damato B, Eleuteri A, Taktak AF, et al. Estimating prognosis for survival after treatment of choroidal melanoma. *Prog Retin Eye Res.* 2011 Sep;30(5):285–95. doi: 10.1016/j.preteyeres.2011.05.003
2. Duh EJ, Schachat AP, Albert DM, et al. Long-term survival in a patient with uveal melanoma and liver metastasis. *Arch Ophthalmol.* 2004 Feb;122(2):285–7. doi: 10.1001/archophth.122.2.285

3. Algazi AP, et al. Clinical outcomes in metastatic uveal melanoma treated with PD-1 and PD-L1 antibodies. *Cancer*. 2016;122(21):3344–3353.
4. Heppt MV, et al. Immune checkpoint blockade for unresectable or metastatic uveal melanoma: a systematic review. *Cancer Treat. Rev*. 2017;60:44–52.
5. Dhillon S. Tebentafusp: First Approval. *Drugs*. 2022 Apr;82(6):703–710. doi: 10.1007/s40265-022-01704-4
6. Zharko IYu, Gulenko OV, Ruksha KG, et al. Analysis of correlation between the characteristics of tumor immune infiltration and survival rates of patients with choroidal melanoma. *Eurasian Journal of Oncology*. 2023;11(1):47–59. (In Russian)
7. Deng G, et al. FoxP3 Post-translational Modifications and Treg Suppressive Activity. *Front Immunol*. 2019;18(10):2486. doi: 10.3389/fimmu.2019.02486
8. The Ministry of Health of the Republic of Belarus. *Algorithms for the diagnosis and treatment of malignant neoplasms: a clinical protocol*. Minsk: Professional Editions;2019. (In Russian)
9. Folberg R, et al. Microcirculation patterns other than loops and networks in choroidal and ciliary body melanomas. *Ophthalmology*. 2001;108:996–1001.
10. Frattini V, et al. FOXP3, a novel glioblastoma oncosuppressor, affects proliferation and migration. *Oncotarget*. 2012;3(10):1146–1157.
11. Tan B, et al. FOXP3 is not mutated in human melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2012.
12. Kim M, et al. Expression of FoxP3 in colorectal cancer but not in Treg cells correlates with disease progression in patients with colorectal cancer. *PLoS One*. 2013;8(1):53630.
13. Tosi A, et al. The immune cell landscape of metastatic uveal melanoma correlates with overall survival. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021;40(1):154. doi: 10.1186/s13046-021-01947-1
14. Gerber AL, et al. High expression of FOXP3 in primary melanoma is associated with tumour progression. *Br J Dermatol*. 2014;170(1):103–109.
15. Melsted WN, et al. HLA class Ia and Ib molecules and FOXP3+ TILs in relation to the prognosis of malignant melanoma patients. *Clin Immunol*. 2017;183:191–197.
16. Sebestyén T, et al. Correlation with lymphocyte infiltration, but lack of prognostic significance of MECA-79-positive high endothelial venules in primary malignant melanoma. *Melanoma Res*. 2018;28(4):304–310.
17. Ladoire S, et al. Biomarkers of immunogenic stress in metastases from melanoma patients: correlations with the immune infiltrate. *Oncoimmunology*. 2016;5(6):1160193.
18. Takenaka M, Seki N, Toh U, et al. FOXP3 expression in tumor cells and tumor-infiltrating lymphocytes is associated with breast cancer prognosis. *Mol Clin Oncol*. 2013 Jul;1(4):625–632. doi: 10.3892/mco.2013.107
19. Shen Z, Zhou S, Wang Y, et al. Higher intratumoral infiltrated Foxp3+ Treg numbers and Foxp3+/CD8+ ratio are associated with adverse prognosis in resectable gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2010 Oct;136(10):1585–95. doi: 10.1007/s00432-010-0816-9
20. Shang B, Liu Y, Jiang SJ, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2015 Oct 14;5:15179. doi: 10.1038/srep15179