

CD 44 の構造と癌浸潤転移における機能

張ヶ谷健一*

REVIEW ARTICLE

W'Waves

腫瘍は遺伝子変化を蓄積し、生体の調節を逸脱し自律性に増殖する細胞群である。したがって、一部の分子発現は母細胞のものと異なり、そのプログレッションに従って浸潤能や組織破壊能を獲得する。さらに、これらの腫瘍細胞はリンパ管や血管を介してリンパ節や遠隔臓器に到達し、その脈管内皮に着床、壁を破壊して実質に定着、増殖して新たな転移巣を形成する。CD 44 は複数の同位体をもつ1群のファミリーであり、正常生体内の広範な組織、細胞に発現しているI型膜貫通性の糖蛋白である。この分子は細胞外基質と結合して、細胞の運動や凝集にかかわることが知られている。

最近、この分子の発現異常が、腫瘍の浸潤や転移に重要な役割を果たすことが報告され注目を集めている。本稿では、CD 44 分子について概説し、腫瘍における最近の知見をまとめてみたい。

CD 44 の名称¹⁾

CD 44 はマウスでは Hughes らにより、ヒトでは Dalchau らによっではじめて報告されて以来、マウスでは Pgp-1 (phagocytic glycoprotein)、ヒトでは Hermes 抗原、ECMR III、H-CAM、IN (Lu)-related antigen などの名称でよばれてきた。現在では複数の同位体をもつ1群のファミリーとして、CD 44 とよばれている。

CD 44 の構造

ヒト CD 44 の遺伝子座は第 11 染色体 p 13 領域に位置し、その遺伝子構造は少なくとも 20 のエクソンから構成される (図 1)。一部のエクソンが選択的スプライシング (alternative splicing) を受けることにより多数の同位体 (isoform) を生じる^{2,3)}。現在までに 20 種類以上の組み合わせからなる同位体が報告されている。CD 44 遺伝子の上流域には、典型的な TATA box 配列は認められず、AP-1 結合部位、TRE (TPA responsive element)、ERE (EGF responsive element) があり、細胞内シグナルにより活性化される⁴⁾。この遺伝子産物は糖鎖の他にコンドロチン硫酸やヘパラン硫酸が付加され、最終的に細胞膜に局在する (図 2 a, 2 b)。これらの分子は二つの major form とバリエーションに分類されている。Major form の一つは分子量 80~90 kD で、standard form (CD 44 s) または最初に血液系細胞で見つかったことから hematopoietic form (CD 44 H) とよばれる。この型はもっともよく研究されており、特にヒアルロン酸との結合とこれによる細胞内ドメインでのアンキリンとの会合による細胞運動への役割が指摘されている。Major form の二つ目は分子量 110~160 kD で、最初に上皮系細胞で見つかったことから epithelial form (CD 44 E) とよばれている。現在では上皮に限らず他の多くの細胞系列でも発現していることが知られている。またこの二者以外の同位体を一括して、variant form (CD 44 v) とよんでいる。五つのよく保存された N-glycosylation site が N 端 120 アミノ酸領域

* 千葉大学医学部病理学第一講座

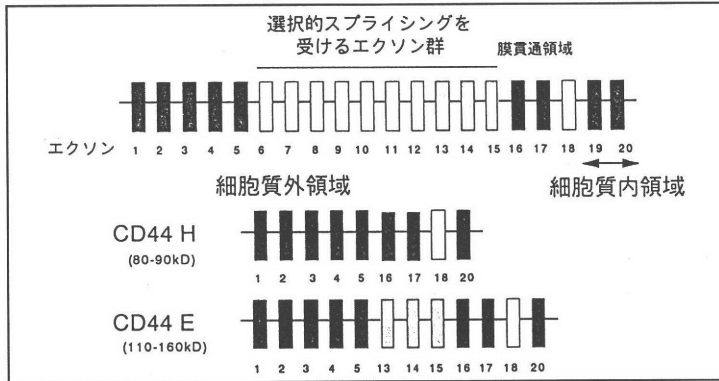


図 1 CD 44 の遺伝子構造

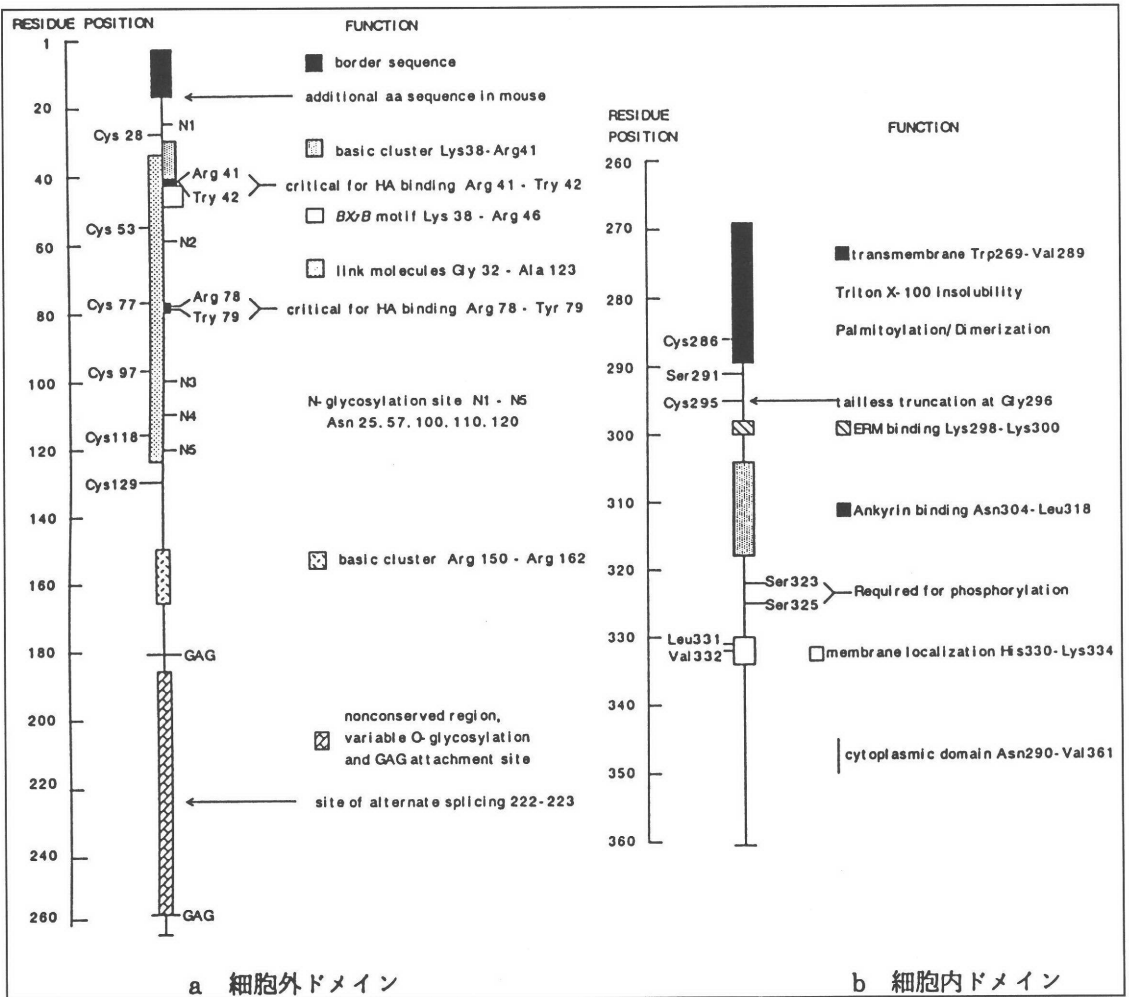


図 2 CD 44 の蛋白構造 (文献⁵⁰⁾ より)

に存在している。

CD 44 分子の細胞内領域は通常エクソン 20 が選択され long form とよばれる (CD 44-L)。exon 19 は選択されることはまれで、選択された場合の分子は short form CD 44 (CD 44-S) とよばれ、この同位体は 100~200 分の 1 程度の割合で存在することがわかっているが⁵⁾、その機能的役割は未だ不明である。細胞質内領域には ezrin, radixin, moesin (ERM family) 結合部位、アンキリン結合部位、二つの磷酸化部位 (Ser³²⁵, Se³²⁷) がある。

CD 44 の正常組織における分布

CD 44 は、血液系細胞、線維芽細胞、上皮細胞、血管内皮細胞、筋細胞、神経膠細胞など多種類の細胞系で発現している。またそれぞれの細胞系列でも分化、増殖の過程で発現したり、消失したり、ダイナミックに消長する。大腸粘膜や胃粘膜、また扁平上皮粘膜では、基底部の増殖の強い部分では CD 44 の発現が増強しているが、表層部分では発現が弱い、発現を認めない⁶⁾。T 細胞は抗原刺激などにより活性化を受けると、休止期にはみられない v6 を含む同位体の発現を認めるようになり、それが T 細胞の組織への遊走にかかわっているのではないかと考えられている⁷⁾。

CD 44 のリガンド

ヒアルロン酸は 2 糖の繰り返しからなる長鎖のグリコサミノグリカンであり⁸⁾、形態形成、創傷治癒、あるいは腫瘍進展において、細胞の移動に細胞外基質としてかかわる。細胞表面分子である CD 44 や RHAMM が、ヒアルロン酸をリガンドとして結合することにより細胞運動を媒介すると考えられている。CD 44 のヒアルロン酸への結合は、CD 44 の発現量のみならず、その分布密度、活性化状態によっても左右される。特に、ヒアルロン酸の高レベルの結合には膜貫通領域の cys 286 を介する CD 44 の covalent homodimerization が重要であることがわかっている。さらに、N 端 120 アミノ酸領域に存在する五つのよく保存された N-glycosylation site がこの結合に重要な役割

をしていることが示唆され、ヒアルロン酸結合能はこれらの N-glycosylation や、シアール酸付加により、減弱することが報告されている。このことが組織、細胞種の違いにおける CD 44 機能の多様性を説明する根拠にもなっている。さらに、ヒアルロン酸との結合には七つの非酸性アミノ酸が挿入された二つの塩基性アミノ酸からなる motif (B(7 X)B) の存在が重要で、wild type CD 44 ではこの motif が軟骨結合領域に一つ、細胞外ドメイン中央に二つ繰り返して存在する。細胞質内ドメインのリン酸化はヒアルロン酸との結合に影響しないとする報告が大勢を占めている。

最近、反町らが CD 44s の新しいリガンドを発見し、それはセルグリシン (serglycin) であった⁹⁾。セルグリシンは免疫造血系細胞より分泌されるプロテオグリカンで、免疫系細胞の活性化に関与すると考えられている。ヒアルロン酸は CD 44s と結合するが、CD 44 E についてはヒアルロン酸とは結合しないという報告と^{10,11)}、結合するという報告¹²⁻¹⁴⁾ とに分かれている。variant form のリガンド結合に関する報告は少ない。

オステオポンチンは、細胞外リン酸化蛋白質で、活性化 T 細胞、骨芽細胞、組織球などから分泌される。今までインテグリンと相互作用することが知られていたが、最近、CD 44 にも結合することが確かめられた¹⁵⁾。この実験で使われた CD 44 は v7~10 を含む同位体である。相互作用によって引き起こされる病態は、運動性 (motility) よりもむしろ走化性 (chemotaxis) であると述べられている。

その他に、フィブロネクチン、ラミニン、コラーゲン type VI などと結合することが以前より報告されているが¹⁶⁻¹⁹⁾、最近、この相互作用にかかわる報告はあまり見受けられない。

CD 44 と腫瘍浸潤転移の分子機構

1991 年 Gunthert ら²⁰⁾ が、ラット膀胱癌由来細胞株において v4~7 を含む同位体 (pMeta 1) を発現している細胞株は高率に転移を起こし、また発現していない細胞株に遺伝子導入すると転移能を獲得すると報告して以来、ヒトの腫瘍において

も CD 44 との関係が数多く報告されてきた。Guo ら²¹⁾ は同一患者から二つのメラノーマ細胞株を樹立し、CD 44 s を強発現しているものと、全く発現していないものを得た。強発現しているものでは、SCID マウスへ皮下接種すると、局所における腫瘍の増殖と多臓器への転移を認めた。また抗 CD 44 抗体投与によりこの増殖、転移が完全に抑制された。このことからメラノーマでは、CD 44 s が腫瘍の増殖、転移に重要な役割を果たしているだろうと述べている。また、筆者らは CD 44 s 陽性肺癌細胞株に anti-sense CD 44 s 遺伝子を導入し、*in vitro* の浸潤能を検討した結果、有意にアンチセンス導入により CD 44 s 陰性細胞ではベクターを導入した細胞株に比し著明な浸潤能の低下を示した²²⁾。Sy ら²³⁾ はパーキットリンパ腫由来細胞株に、CD 44 s、CD 44 E をそれぞれ遺伝子導入し、マウスの皮下および尾静脈へ接種した。CD 44 s 遺伝子を導入したものでは、親株に比べ局所における増殖速度が増し、転移を認めるようになった。しかし CD 44 E 遺伝子を導入したものでは腫瘍の増殖はみられなかった。

(1) CD 44 と matrix metalloproteinase (MMP)

細胞外基質 (ECM) を分解するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) は腫瘍の浸潤転移において重要な役割を果たすことが示されているが、この MMPs と CD 44 の関連についての検討は現在までに以下の 3 編しか文献的報告がない。Lilly ら²⁴⁾ は、転移性乳癌細胞株において、CD 44 v 3、v 8-10 と MMP-9 が結合し細胞表面に局在することで浸潤突起形成と細胞の遊走に寄与していると報告している。Yu ら²⁵⁾ はマウス乳癌細胞株、ヒトメラノーマ細胞株において、CD 44 は活性型 MMP-9 と結合し細胞膜上に局在し、ECM である collagen IV の分解を促進することで腫瘍浸潤に寄与していると報告している。また、この CD 44 と MMP-9 の結合は CD 44 のヒアルロン酸との結合能によるとしている。また、Okamoto ら²⁶⁾ は、CD 44 のリガンドであるヒアルロン酸を介した癌細胞の遊走能は、膜型のメタロプロテアーゼによる CD 44 の cleavage が関与することを報告

している。そして、筆者らは肺癌細胞株において、CD 44 の発現により membrane type 2-matrix metalloproteinase (MT 2-MMP) の発現が誘導・増強され、proMMP-2 の活性化を促進し周囲 ECM の分解に寄与し、腫瘍の浸潤にかかわっていることを見出した²⁷⁾。このように接着分子である CD 44 が関与する癌の浸潤・転移の分子機構の解明に、そのリガンド結合能のみならず、ECM 分解酵素である MMPs の関与を示唆する証拠が示されつつある。また、潜在型 MMP-2 の細胞膜上での活性化に、インテグリン $\alpha v \beta 3$ も相互作用することを Brooks ら²⁷⁾ は報告しており、他の接着分子でも MMPs との相互作用が癌細胞の浸潤機構に寄与している現象がとらえられている。今後のより詳細な分子機構解明が待たれる。

(2) 血管新生

1~2mm をこえる腫瘍の増殖には血管誘導と維持が必要とされ、腫瘍の転移は血管新生に依存している。血管新生は腫瘍から分泌される促進因子と抑制因子とのバランスによってコントロールされ、腫瘍内部において微小血管は腫瘍細胞の増殖、維持に必要な酸素や栄養を供給するし、また、腫瘍細胞が原発巣から離れた場所に移動するさいの通路となる²⁹⁻³¹⁾。この促進因子としてよく知られているものとして bFGF、VEGF や IL-8 などがあがるが、これらの成長因子やサイトカインの一部はヘパリンと親和性をもち、ヘパリン硫酸と結合する能力を有する。そしてこれらの成長因子は CD 44 のヘパリン硫酸鎖に結合しうる。CD 44 分子上に成長因子を提示している血管内皮細胞は腫瘍細胞の生存、増殖、血管外への移動に促進的に働き、逆に腫瘍細胞上の CD 44 のヘパリン硫酸鎖に結合している bFGF、VEGF、IL-8 などの血管新生因子は内皮細胞に働き、血管新生を刺激することが考えられる。

腫瘍中の血管内皮細胞では正常組織中の内皮細胞に比べ CD 44 の発現が増強しており、この内皮細胞での CD 44 の発現増強は bFGF や VEGF による刺激により誘導されたという報告がある³²⁾。また内皮細胞上で発現している CD 44 は抗 CD 44 モノクローナル抗体でブロックすることに

より、内皮細胞の増殖、移動、および管腔形成を抑制された³²⁾。線維芽細胞や肺泡マクロファージにおいては CD 44 はヒアルロン酸と結合し、これを細胞内に取り込み、ヒアルロニダーゼで分解する。そしてこのようなヒアルロン酸の分解産物は内皮細胞でのチロシンリン酸化に働き、内皮細胞の増殖を促すと報告されている^{34,35)}。

一方、腫瘍細胞膜上に発現した CD 44 が周囲の内皮細胞に働き、血管新生を誘導するという報告は今のところ少ないが、CD 44s を発現するヒト乳腺上皮細胞に v 10 を含む CD 44 の同位体の cDNA を導入したところ、bFGF と IL-8 の発現が増強したという報告があり、また筆者らの行った実験では、CD 44 陰性のヒト肺癌細胞に CD 44 E の cDNA を導入すると VEGF 産生が亢進し、*in vitro* と *in vivo* で血管新生を誘導した³⁶⁾。

(3) CD 44 と細胞骨格蛋白、細胞運動能との関連

これまで、ERM 蛋白質が microvilli, ruffling membrane, cleavage furrow や adherens junction などの原形質膜の直下に局在し、それらの形成や機能に関与することが示唆されている³⁷⁾。これらの部位は、actin filament が密に膜と結合している部分であり、ERM family が actin filament と原形質膜との相互作用を制御する分子メカニズムに、直接関係することが提唱されている^{37,38)}。Tsukita らは、この ERM 蛋白質が結合する主要な膜蛋白質のひとつが CD 44 であることを示している³⁹⁾。さらにこのグループは、生理的な KCl 濃度の条件下で、CD 44 と ERM 蛋白質が phosphoinositides (phosphatidylinositol <PI>, phosphatidylinositol 4-monophosphate <4-PIP>, phosphatidylinositol 4,5-bis-phosphate <4,5-PIP₂>) の存在下で強い親和性を示し、複合体を形成すること、CD 44/ERM complex を免疫沈降させるとこの複合体に Rho-GDP dissociation inhibitor (GDI) が含まれることを見出した。さらに、Rho の特異的な inhibitor である C3 toxin で、recombinant ERM 蛋白と CD 44 との結合が抑制され、運動能が減弱したことから先の結果とあわせ、Rho およびリン酸化が CD 44/

ERM 複合体の形成に重要な働きを果たし、運動能の調節にも関与することを示した⁴⁰⁾。

以上のことから、少なくとも ERM が CD 44 と細胞内 domain で結合し、膜や細胞内骨格にある actin filament に働いて形態の変化をもたらされること、CD 44 と ERM の複合体が Rho によって制御され、運動能の変化を起こすことがわかってきた。これらの事象は、癌細胞の浸潤、転移に直接つながる可能性があり、CD 44 と Rho との関わりが注目されているところである。

ヒト癌組織材料を用いた検索

検索方法は細胞株を用いた実験から、手術材料を直接検討したものまでさまざまである。手術材料を用いた検索では、免疫染色と PCR を用いた方法が一般に用いられている。

Matsumura ら⁴¹⁾は大腸癌および乳癌手術材料における CD 44 の発現を、RT-PCR/Southern blot 法を用いて同位体の発現を検討した。これによると転移性腫瘍では、転移のないものに比べ band の数、強さともに増強していた。このような band の発現の差が大腸癌、乳癌における転移能の評価に有用であると述べている。

Yokota ら⁴²⁾も、急性骨髄性白血病 (AML) における CD 44 の発現を RT-PCR/Southern blot 法を用いて検索し、v 6 発現 AML が予後不良因子として重要であることを示した。

Koopman, Wielenga ら^{43,44)}はそれぞれ悪性リンパ種、大腸癌における CD 44 の発現を、各 variant exon に対する抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。悪性リンパ種では、中等度から高悪性度群では v 6 の発現が認められたのに対し、低悪性度群ではみられなかった。大腸組織では v 5 の発現は非癌部では全くみられなかったが、腫瘍では早期の大腸腺腫から癌に至るまで高率に発現を認めた。v 6 の発現は、非癌部では全くみられず腺腫では一部において局所に認められるのみであったが、癌では Dukes 分類における stage の進行に従って発現率が高くなったと述べている。

Heider ら⁴⁵⁾は同じ抗体を用いて胃癌における CD 44 の発現を検討している。胃癌は二つの主要

な組織型（腸型とびまん型）に分けられ、腸型では v5, v6 とともに強く発現していたのに対し、びまん型では v5 のみ発現していた。このことはおのおのが異なった発生母地から生じているという理論を支持するものであり、それゆえ腫瘍の性格も異なるのであろうと推論している。このように CD 44 は腫瘍の progression に重要な役割を果たしているという証拠が蓄積されているが、その反面これらとはむしろ反対の結果を示しているデータもある。

Givehchian ら⁴⁶⁾ もまた肺癌において、同様の抗体で検索しているが、扁平上皮癌では v5, v6 が高発現し、v7, v10 が低発現していたが、腺癌および小細胞癌では varinat exon の発現はみられなかった。このことから CD 44 v の発現は上皮の特定の分化を反映し、腺癌や小細胞癌ではむしろ CD 44 の downregulation が転移に貢献しているのではないかと考察している。

Salami ら⁴⁷⁾ は皮膚の扁平上皮癌において、v6 に対する抗体を用いて免疫組織化学的検索を行い、腫瘍では非腫瘍部に比べ v6 の発現が downregulate されており、さらに分化度の高いもので発現が高い傾向にあったと述べている。

可溶性 CD 44 (sCD 44)

CD 44 は細胞内外のシグナルに反応してすばやく downregulate されうるが、それは主に細胞外領域の shedding (解離) によると考えられている。こうして放出された CD 44 は血清中に見出すことができるが、最近、悪性腫瘍患者の血清中でこの可溶性 CD 44 が上昇していることがわかった。Ristamaki ら⁴⁸⁾ は悪性リンパ腫患者の血清 CD 44 と CD 44 v6 を測定し、いずれも健康人に比べ増加しており、治療に反応してその値が減少したことから、治療効果のモニターとして使える可能性を示唆した。Guo ら⁴⁹⁾ は胃癌、大腸癌患者において血清 CD 44 を測定し同様の結果を得ている。さらに、可溶性 CD 44 s-Ig 融合蛋白が、*in vivo* における腫瘍増殖の研究に役立つだけでなく、CD 44 s を高発現しているリンパ球系悪性腫瘍の転移を抑制し、治療へも応用しうる可能性が

示唆された。

おわりに

CD 44 分子群は多細胞生物の広範な組織細胞に発現し、また、細胞系の発生・分化の過程でダイナミックに発現消長を示す。ここでは筆者らの検索も含めて、CD 44 の腫瘍進展における役割と意義に関して紹介した。多くの細胞系で CD 44 バリエーションの発現パターンの検索は腫瘍のプログレッションの程度を知るうえで有用と思われる。しかし、すべての腫瘍における CD 44 の役割が統一的に説明できず、同位体の機能とその細胞種による役割の違い、さらに腫瘍のプログレッションの程度によってもその意義が異なってくることも考えられる。現在のところ CD 44 の各同位体の正確な役割はほとんど不明のままである。バリエーションエクソン v6 の付加が CD 44 の機能にどう影響し、どのようなバリエーションの組み合わせが真に腫瘍の進展にかかわっているか、より詳細な検討が必要とされる。そして、この接着分子の発現制御機構と機能の検索は、単に腫瘍のプログレッションの程度と腫瘍における役割を理解することにとどまらず、生体の維持に重要な細胞間相互作用のきわめて基本的な分子機構の解析に連なり、今後、疾患の病態の理解とその治療にむけて大きく発展することが期待される。

謝辞

稿を終えるに当たり、教室員の中村祐之、岸 宏久、杉本克巳、矢形 寛、梅宮敏文君の協力に感謝する。

文 献

- 1) 中村祐之, 張ヶ谷健一. CD 44 と癌の浸潤. 現代化学増刊号, 29: 150-152, 1996.
- 2) Screamon GC, Bell MV, Bell JI, et al. Genomic structure of DNA coding the lymphocyte homing receptor CD 44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. Proc Natl Acad, 89: 12160-12164, 1992.
- 3) Screamon GC, Bell MV, Jackson DG et al. The identification of a new alternative exon with highly restricted tissue expression in transcripts encoding the mouse Pgp-1 (CD 44) homing receptor. J Biol Chem, 268: 12235-12238, 1993.

- 4) Lesly J, Hyman R, Kincadet PW. CD 44 and its interaction with extracellular matrix. *Adv Immunol*, 54 : 271-335, 1993.
- 5) Goldstein LA, Butcher EC. Identification of mRNA that encodes an alternative form of H-CAM(CD 44) in lymphoid and nonlymphoid tissues. *Immunogenetics*, 32 : 389-397, 1990.
- 6) Fox SB, Fawcett J, Simmons DL et al. Normal human tissues, in addition to some tumors, express multiple different CD 44 isoforms. *Cancer Res*, 54 : 4539-4546, 1994.
- 7) Arch R, Wirth K, Zoller M et al. Participation in normal immune responses of a metastasis-inducing splice variant of CD 44. *Science*, 257 : 682-685, 1992.
- 8) Laurent TC, Fraser JRE. Hyaluronan. *FSAB J*, 6 : 2397-2404, 1992.
- 9) Toyama-Sorimachi N, Sorimachi H, Miyasaka M et al. A novel ligand for CD 44 is serglycin, a hematopoietic cell lineage-specific proteoglycan. *J Biol Chem*, 270 : 7437-7444, 1995.
- 10) Sy MS, Guo Y-J, Stamenkovic I. Distinct effects of two CD 44 isoforms on tumor growth in vivo. *J Exp Med*, 174 : 859-866, 1991.
- 11) Thomas L, Byers HR, Stamenkovic I et al. CD 44 H regulates tumor cell migration on hyaluronate-coated substrate. *J Cell Biol*, 118 : 971-977, 1992.
- 12) Kundson W, Eckart B, Kunduson CB. Assembly of pericellular matrices by COS-7 cells transfected with CD 44 lymphocyte-homing receptor genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90 : 4003-4007, 1993.
- 13) He Q, Lesly J, Kincade PW et al. Molecular isoforms of murine CD 44 and evidence that the membrane proximal domain is not critical for hyaluronate recognition. *J Cell Biol*, 119 : 1711-1719, 1992.
- 14) Liao H-X, Levesque MC, Haynes BF, et al. Regulation of human CD 44 H and CD 44 E isoform binding to hyaluronan by phorbol myristate acetate and anti-CD 44 monoclonal and polyclonal antibodies. *J Immunol*, 151 : 6490-6499, 1993.
- 15) Weber GF, Ashkar S, Cantor H, et al. Receptor-ligand interaction between CD 44 and osteopontin (Eta-1). *Science*, 271 : 509-512, 1996.
- 16) Wayner EA, Carter WG. Identification of multiple cell adhesion receptors for collagen and fibronectin in human fibrosarcoma cells possessing unique α and common β subunits. *J Cell Biol*, 105 : 1873-1884, 1987.
- 17) Carter WG, Wayner EA. Characterization of the class III collagen receptor, a phosphorylated, transmembrane glycoprotein expressed in nucleated human cells. *J Biol Chem*, 263 : 4193-4201, 1988.
- 18) Jalkanen S, Jalkanen M. Lymphocyte CD 44 binds the COOH-terminal heparin-binding domain of fibronectin. *J Cell Biol*, 116 : 817-825, 1992.
- 19) Fassen AE, Schragar JA, McCarthy JB, et al. A cell surface chondroitin sulfate proteoglycan, immunologically related to CD 44, is involved in type collagen-mediated melanoma cell motility and invasion. *J Cell Biol*, 116 : 521-531, 1992.
- 20) Gunthert U, Hofmann M, Herrlich P, et al. A new variant of glycoprotein CD 44 confers Metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell*, 65 : 13-24, 1991.
- 21) Guo Y, Ma J, Sy MS, et al. Inhibition of human melanoma growth and metastasis in vivo by anti-CD 44 monoclonal antibody. *Cancer Res*, 54 : 1561-1565, 1994.
- 22) Nakamura S, et al. Transfection of anti-sense CD 44 s DNA inhibits the in vitro invasiveness of human CD 44 s-positive lung carcinoma cell line. Submitted to the journal
- 23) Sy MS, Guo Y-J, Stamenkovic I. Inhibition of tumor growth in vivo with a soluble CD44-immunoglobulin fusion protein. *J Exp Med*, 176 : 623-627, 1992.
- 24) Bourguignon LY, Gunja-Smith Z, Iida N, Zhu HB, Young LJ, Muller WJ, Cardiff RD. CD 44 v(3,8-10) is involved in cytoskeleton-mediated tumor cell migration and matrix metalloproteinase (MMP-9) association in metastatic breast cancer cells. *J Cell Physiology*, 176 : 206-215, 1998.
- 25) Yu Q, Stamenkovic I. Localization of matrix metalloproteinase 9 to the cell surface provides a mechanism for CD 44-mediated tumor invasion. *Gene and Development*, 13 : 35-48, 1999.
- 26) Okamoto I, Kawano Y, Tsuiki H, Sasaki J, Nakao M, Matsumoto M, Suga M, Ando M, Nakajima M, Saya H. CD 44 cleavage induced by a membrane-associated metalloprotease plays a critical role in tumor cell migration. *Oncogene*, 18 : 1435-1446, 1999.
- 27) Nakamura S, et al. The epithelial and standard forms of CD44 have graded potentials to produce invasive cancer cells by increased activation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) via expression of membrane - type 2 matrix metalloproteinase (MT2-MMP). Submitted to the journal.
- 28) Brooks P C, Stromblad S, Sanders LC, von Schalscha TL, Aimes RT, Stetler-Stevenson WG, Quigley JP, Cheresch DA. Localization of Matrix Metalloproteinase MMP-2 to the Surface of Invasive Cells by Interaction with Integrin $\alpha v \beta 3$. *Cell*, 85 : 683-693, 1996.
- 29) Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*, 267 : 10931 1992.
- 30) Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Medicine*, 1 : 27, 1995.
- 31) Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86 : 353, 1996.
- 32) Arjan W et al. CD 44 is involved in tumor angiogenesis; an activation antigen on human endothelial cells. *Blood*, 90(3) : 1150, 1997.
- 33) Trochon V, et al. Evidence of involvement of CD 44 in endoth Int. *J. Cancer*, 66, 664, 1996.
- 34) West DC, Hampson IN, Arnold F, Kumar S. *Science*, 228 : 1324 1985.
- 35) Slevin M, Kumar S, Gaffney J. Angiogenic oligosaccharides of hyaluronan induce protein

- tyrosine kinase activity in endothelial cells and activate a cytoplasmic signal transduction pathway resulting in proliferation. *Lab. Invest*, 78(8) : 987, 1998.
- 36) Kishi H, Nakamura S, Ishii G, Kumagai S, Higashi M, Terada N, Konno A, Kitagawa M, Harigaya K. Expression of CD 44 in a human cancer cell line promotes angiogenesis via up-regulation of VEGF. (submitted).
 - 37) Sato N, Funayama N, Nagafuchi, A et al. A gene family consisting of ezrin, radixin, and moesin. Its specific localization at actin filament/plasma membrane association sites. *J. Cell Biol*, 103 : 131-143, 1992.
 - 38) Tsukita Sh, Tsukita Sa, Nagafuchi A, et al. Molecular linkage between cadherins and actin filaments in cell-to-cell adherens junctions. *Curr Opin Cell Biol*, 4 : 834-839, 1992.
 - 39) Tsukita Sa, Oishi K, Sato N, et al. ERM family members as molecular linkers between the cell surface glycoprotein CD 44 and actin-based cytoskeletons. *J Cell Biol*, 126 : 391-401, 1994.
 - 40) Hirano M, Sato N, Kondo T, et al. Regulation mechanism of ERM (ezrin /radixin/ moesin) protein/plasma membrane association: Possible involvement of phosphatidylinositol turnover and Rho-dependent signaling pathway. *J Cell Biol*, 135 : 37-51, 1996.
 - 41) Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD 44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet*, 340 : 1053-1058, 1992.
 - 42) Yokota A, Harigaya K, Mikata A, et al. Expression of exon v6 containing CD 44 isoforms is related with poor prognosis of acute myelocytic leukemia. *Hematol Oncol* (in press)
 - 43) Koopman G, Heider K-H, Pals ST, et al. Activated human lymphocytes and aggressive non-Hodgkin's lymphomas express a homologue of the rat metastasis-associated variant of CD 44. *J Exp Med*, 177 : 897-904, 1993.
 - 44) Wielenga VJM, Heider K-H, Pals ST, et al. Expression of CD 44 variant proteins in human colorectal cancer is related to tumor progression. *Cancer Res*, 53 : 4754-4756, 1993.
 - 45) Heider K-H, Dammrich J, Ponta H, et al. Differential expression of CD 44 splice variants in intestinal- and diffuse-type human gastric carcinomas and normal gastric mucosa. *Cancer Res*, 53 : 4197-4203, 1993.
 - 46) Givehchian M, Woerner SM, Doeberitz K, et al. Expression of CD 44 splice variants in normal respiratory epithelium and bronchial carcinomas: no evidence for altered CD 44 splicing in metastasis. *Oncogene*, 12 : 1137-1144, 1996.
 - 47) Salmi M, Gron-Virta K, Jalkanen, et al. Regulated expression of exon v6 containing isoforms of CD 44 in man: downregulation during malignant transformation of tumors of squamocellular origin. *J Cell Biol*, 122 : 431-442, 1993.
 - 48) Ristamaki R, Joensuu H, Jalkanen S, et al. Serum CD 44 in malignant lymphoma: an association with treatment response. *Blood*, 84 : 238-243, 1994.
 - 49) Guo Y-J, Liu G, Sy M-S, et al. Potential use of soluble CD 44 in serum as indicator of tumor burden and metastasis in patients with gastric cancer. *Cancer Res*, 54 : 422-426, 1994.
 - 50) Lesley J, Hyman R. CD 44 and function. *Front Biosci*, 3 : 616-630, 1998.