

## Significance of Expression of CD44s and CD44v6 in Colorectal Cancer

Doo-Jin Kim, Ok-Suk Bae, Yong-Hoon Kim<sup>†</sup> and Sung-Dae Park

Department of General Surgery School of Medicine, Keimyung University

The expression of CD44v is known as a marker of cancer progression and its metastasis in colorectal cancer. It has been known that CD44 variant containing sequences encoded by exon 11 (v6) confer metastatic potential to human colorectal cancer cells. The role of CD44 standard (CD44s) and CD44v6 in colorectal cancer was investigated in this study by immunohistochemical staining of the primary tumors obtained from the colorectal cancer patients. Immunohistochemical staining was performed in 40 patients with colorectal cancer who underwent curative surgery at Keimyung University hospital. The expression of CD44s and CD44v6 was observed in 24/40 (60%) and 13/40 (32.5%) respectively. The expression of CD44v6 had correlation with TNM stage ( $P<0.05$ ), however CD44s had not any correlation with clinicopathological parameters. These results suggest that CD44v6 expression may give an information for tumor progression than decreased expression of CD44s in colorectal cancer cells.

**Key Words:** CD44s, CD44v6, Colorectal cancer

### 서 론

최근 세포와 기질, 세포와 세포간의 상호작용을 조절하는 여러 종류의 세포부착분자 (cell adhesion molecules)가 암의 전이에 관여하는 것으로 보고되고 있으며, 정상세포의 암세포로의 전환, 증식, 전이, 전이가 되는 모든 과정에서 이들의 역할에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 여기에는 integrin receptor family, cadherins, immunoglobulin superfamily, Lee-CAM, 67-kDa lamina binding protein, 그리고 CD (Cluster Differentiation) 44 등이 포함된다<sup>20</sup>.

CD44 유전자는 11번 염색체의 short arm에 위치해 있으며 20개의 exon으로 약 60 kb 길이로 구성되어 있고 hyaluronic acid를 인식하여 세포와 기질, 세포와 세포간의 상호작용에 관여하는 부착분자로서 다양한 종류의 정상 및 암세포의 세포막에 존재하는 당단백질이며 림프구의 homing, 세포의 응집 및 이동, 암의 전이 등 다양한 기능을 하는 것으로 보고되고 있다<sup>24</sup>. 주로 비호치킨림프종 (non-Hodgkins's lymphoma), 흑색종, 자궁내막암, 식도암, 위암, 췌장암, 유방암, 폐암, 및 직결장암 등에서 연구되어 왔다<sup>3,15</sup>. 또한 10개의 splice variants의 발현 증가에 의해 암 침습과 전이능을 가지는 것으로

연구되어 왔으며 splice variants 중에도 v6가 위장관계 고형암의 전이와 관계가 많은 것으로 알려져 왔다. 본 연구는 이 CD44s와 그 아형인 CD44v6의 대장암의 조직 내에서의 발현 양상을 조사하여 이들을 TNM (Primary Tumor, Nodal involvement, Distant Metastasis) 병기, 원격전이, 침윤 정도, 림프관 전이, 종양의 크기, 종양의 위치 등 일반적으로 대장암의 예후에 영향을 미친다고 알려진 임상병리학적 특성과의 상관관계를 분석하고 단순히 이 splice variants가 종양전이에 영향을 미치는지 아니면 CD44 standard의 발현 감소가 대장암의 진행과 전이에 대한 영향이 있는지 확인하고자 시작하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재 료

연구 대상 환자는 2000년 4월 1일부터 2001년 8월까지 계명대학교 동산병원 외과에서 대장암 및 직장암으로 진단받고 근치수술을 시행받은 40명의 환자를 대상으로, 절제된 종양조직을 검체로 사용하였다. 절제된 대장조직은 파라핀 절편을 만들어 보관하여 두었다.

판독의 주관적인 견해를 제거하기 위하여 모든 slide를 일련 번호로 기록해 두고 환자의 정보는 별도로 보관하여 두었다.

#### 2. 방 법

##### 1) 면역조직화학적 염색 방법

CD44s에 대한 단일클론항체 (MedSystems Diagnostics Gm

\*는 문 접수: 2002년 7월 30일

수정재접수: 2002년 9월 27일

<sup>†</sup>별책 요청 저자: 김용훈, (우) 700-712 대구광역시 중구 동산동 194, 소속:

Tel: 053-250-7322, Fax: 053-250-7322

e-mail: brhoon@hananet.net

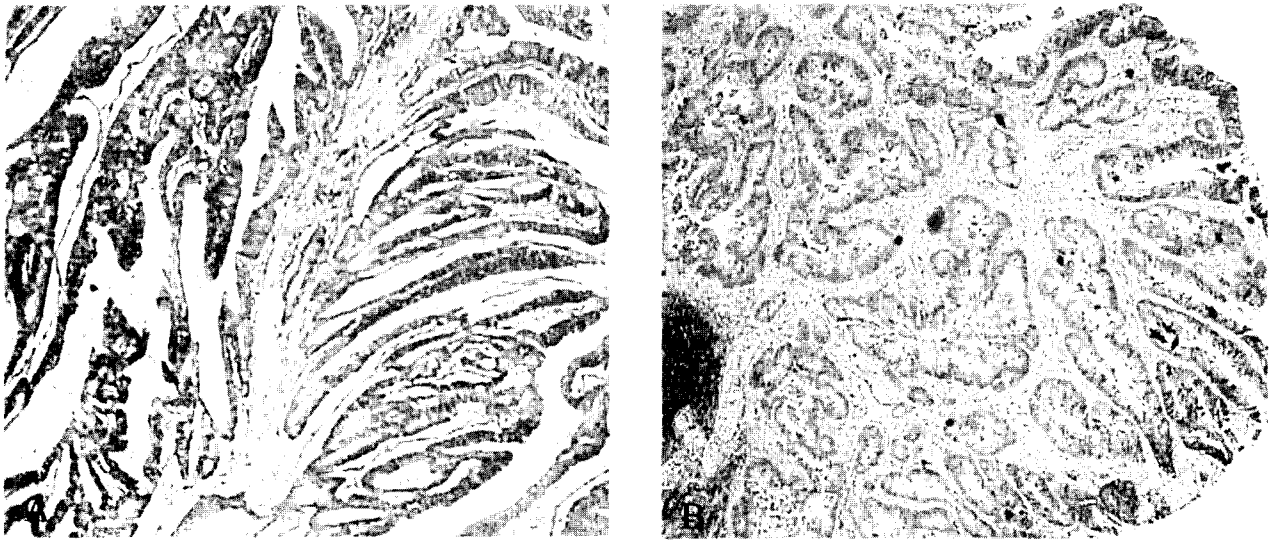


Fig. 1. Immunoreactive CD44 expression in colon. A. Cells in cancerous epithelial tissue, strongly expressed CD44v on cell -cell boundaries. B. (colon cancer) CD44s was observed to be located in tumor cell cytoplasm original magnification was  $\times 100$ . The carcinoma cells exhibited the diffuse pattern of immunohistochemical staining.

bH. Rennweg 95b.A.1030 Vienna Austria, BMS113) 농도 2  $\mu\text{g/ml}$ , CD44v6에 대한 단일클론항체 (MedSystems Diagnostics GmbH. Rennweg 95b.A.1030 Vienna Austria, BMS125) 농도 1~2  $\mu\text{g/ml}$ 로 면역조직학적 염색의 일차 항체로 500:1로 희석하여 사용하였으며, LSAB kit (DAKO)를 이용하여 labelled streptavidin-biotin법으로 다음과 같이 염색하였다. 즉 슬라이드를 59°C에서 30분간 처리 후 xylene에 각각 5분씩 3번 처리하고, 100%, 95%, 80%, 70%의 에틸알콜에 각각 5분씩 처리하였다. 단, 95%에서는 3회에 걸쳐서 처리하였다.

3%의 과산화수소에 간간히 흔들며 주면서 20분간 처리한 후 증류수로 3회 세척하고 pH 6.0 citrate buffer에 10분간 진탕한 후 약 20분간 상온에서 식히고 PBS buffer로 3회 각 5분씩 세척한 후 1차 항체를 조직에 떨어뜨려 coverslip한 다음 humid chamber에 넣어 37°C oven에서 1시간 반응시켰다. PBS buffer로 3회 각 5분씩 세척한 후 2차 항체를 조직에 떨어뜨려 20분간 실온에서 반응시켰다. 다시 PBS buffer로 3회 각각 5분씩 세척하고 Avidin-Peroxide를 처리하여 20분간 실온에서 반응시킨 후 PBS buffer로 3회 각 5분씩 세척하였다. DAB를 조직에 떨어뜨려 현미경으로 발색 상태를 확인 (1~5분 정도)한 다음 물에서 발색을 정지시켰다. Hematoxyline으로 대조염색을 1분 정도하고 1% acid alcohol에 감별한 후 암모니아수에서 2~3회 중화시켰다. 80%, 95%, 100%의 에틸알콜에 각 2~3분씩 탈수한 후 xylene에 3번 각각 5분씩 처리한 후 봉입제를 사용하여 coverglass를 덮은 후 판독하였다.

## 2) 결과의 판독

Stromal cell의 염색은 제외하고 종양세포가 염색되는 정도

에 따라 강약을 구분하였다.

즉, 다음과 같이 종양조직의 염색 발현이 높은 군과 낮은 군으로 구분하였다.

염색률 0.5~25%가 1, 25~50%가 2, 50~75%가 3, 그리고 75~100%를 4로 나타내었다 (염색 강도: 약한 발현 1, 중등도 발현 2, 강한 발현 3). 두 값의 곱이 5 이하인 군을 음성 또는 약한 발현군, 5 이상인 군을 강한 발현군으로 나누었다. 판독은 환자의 정보를 모르는 상태에서 일련 번호만 보고 기록하고 후에 컴퓨터에 저장하였다 (Fig. 1).

## 3) 결과의 평가

CD44s와 CD44v6의 면역조직학적 염색 결과는 종양조직에서 염색된 범위를 기준으로 하였다. 대장암 조직의 CD44s, CD44v6의 면역조직학적 염색 결과와 환자의 나이, 병변의 위치, 병변의 크기, 종양의 조직학적 분화도, 종양에서의 뮤신 (mucin) 생성 유무, 대장에서 종양 이외에 용종의 유무, 수술 전 CEA 측정치, 주위 혈관 침윤, 신경 침윤, 림프절 전이, 원격전이 유무, TNM 병기 등 임상병리학적 소견과의 연관성을 비교 분석하였다. 통계적 방법은 student t-test, chi-square test 방법으로 SAS 통계 program을 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

## 결 과

환자의 평균 연령은 65세였으며, 남녀 비는 1:0.6이었다. 각각의 임상병리학적 인자와 CD44s 및 CD44v6의 발현율은 Table 1과 같이 나타났다.

**Table 1.** Correlation between clinicopathologic parameters and CD44s and CD44v6 (N=40)

Variable		N	CD44s (+) (%)	P-value	CD44v6 (+) (%)	P-value
Sex	Male	25	12 (48.0)	0.0455	9 (36.0)	0.4301
	Female	15	12 (80.0)		4 (26.6)	
Age	<60	17	8 (47.0)	0.1509	3 (17.6)	0.0847
	≥60	23	16 (69.5)		10 (43.4)	
Site	Rectum	17	9 (52.9)	0.4334	8 (47.0)	0.0910
	Colon	23	15 (65.2)		5 (21.7)	
TNM <sup>a)</sup> stage	I	6	4 (66.6)	0.9220	5 (83.3)	0.0388
	II	15	8 (53.3)		4 (26.6)	
	III	16	10 (62.5)		3 (18.7)	
	IV	3	2 (66.6)		1 (33.3)	
M-stage	(+)	3	2 (66.6)	0.6831	1 (33.3)	0.3712
	(-)	37	27 (73.0)		12 (32.4)	
LN <sup>b)</sup>	(+)	19	12 (63.2)	0.6982	4 (21.0)	0.1415
	(-)	21	12 (57.1)		9 (42.8)	
Metastasis Size	≤5	19	11 (57.8)	0.7960	5 (26.3)	0.4270
	>5	21	13 (61.9)		8 (38.1)	
Diff <sup>c)</sup>	m	32	17 (53.1)	0.2821	8 (25.0)	0.1417
	w	5	4 (80.0)		3 (60.0)	
	p	3	3 (100.0)		2 (66.6)	
Mucin	(+)	5	4 (80.0)	0.3094	2 (40.0)	0.7060
	(-)	35	20 (57.1)		11 (31.4)	
Vi <sup>d)</sup>	(+)	20	12 (60.0)	1.000	6 (30.0)	0.7357
	(-)	20	12 (60.0)		7 (35.0)	
Ni <sup>e)</sup>	(+)	13	9 (69.2)	0.4033	3 (23.0)	0.3816
	(-)	27	15 (55.5)		10 (37.0)	
Polyp	(+)	9	5 (55.5)	0.7581	3 (33.3)	0.9517
	(-)	31	9 (61.2)		10 (32.2)	
Preop	≤5	15	8 (53.3)	0.8702	3 (20.0)	0.2783
CEA <sup>f)</sup> (ng/mL)	>5	10	5 (50.0)		4 (40.0)	

a) T = Primary Tumor, N = Nodal involvement, M = Distant metastasis. b) = Lymph Node. c) = differentiation m = moderate, w = well, p = poorly. d) = vessel invasion. e) = neural invasion. f) Carcinoembryonic Antigen

### 1. CD44의 발현과 TNM 병기 및 원격전이와의 관계

전체 40명의 환자 중 TNM stage I: 6예, stage II: 15예, stage III: 16예, stage IV: 3예이었으며 원격전이는 3예로 모두 간으로 전이된 경우였다. CD44s는 TNM 병기와의 통계학적 연관성은 찾아볼 수 없었고, CD44v6에서는 TNM 병기상 stage I 5/6 (83.3%), stage II 4/15 (26.7%), stage III 3/16 (18.7%), stage IV 1/3 (33.3%)로 통계적으로 유의한 상관관계가 있었다 ( $P < 0.05$ ). 전이와 CD44v6의 발현율과의 관계에서는 CD44s의 전

이된 군의 발현율이 2/3 (66.6%), 전이되지 않은 군이 27/37 (73.0%)로 나타났고, CD44v6에서는 전이된 경우 CD44v6의 발현율이 1/3 (33.3%) 전이되지 않은 군이 12/37 (32.4%)로 모두 전이된 군에서 CD44s 및 CD44v6의 발현이 높은 것으로 나타났지만 통계적인 의미는 없었다.

### 2. CD44의 발현과 림프절 전이와의 관계

전체 40례 중 림프절 전이가 있는 군은 19례였으며 CD44s에서 림프절 전이된 군의 발현율은 12/19 (63.2%), 전이되지

많은 군의 발현율은 12/21 (57.1%)로 림프절 전이된 군에서 높은 발현율을 보였으나 통계학적인 의의는 없었다. 림프절 전이된 군에서 CD44v6의 발현율은 4/19 (21.0%)로 전이되지 않은 군에서의 발현율 9/21 (42.8%)의 결과가 나왔으나 통계학적인 유의성은 없었다.

### 3. CD44의 발현과 종양의 크기와의 관계

종양의 크기가 5 cm 미만인 19예와 5 cm 이상인 21예를 두 군으로 나누어 CD44s와 CD44v6의 발현율을 조사한 결과 CD44s는 5 cm 미만인 군은 11/19 (57.8%), 5 cm 이상은 13/21 (61.9%), CD44v6는 5 cm 미만은 5/19 (26.3%), 5 cm 이상은 8/21 (38.1%)으로 종양의 크기가 큰 군에서 CD44s 및 CD44v6 발현율이 높게 나왔으나 CD44의 발현과 종양의 크기와의 통계학적인 유의성은 없었다.

### 4. CD44의 발현과 종양의 위치와의 관계

대장암을 결장 및 직장암으로 위치에 따라 구분하여 CD44s와 CD44v6의 발현율을 비교하였는데, CD44s는 결장에서 15/23 (65.2%) 직장암에서 9/17 (52.9%) 결장에서 더 발현되는 결과를 보였으나 통계적인 유의성은 없었으며, CD44v6는 결장에서 5/23 (21.7%), 직장암에서 8/17 (47.0%)로 직장암에서 더 높은 발현율을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.

## 고 찰

종양세포는 비정상적인 세포의 성장과 세포의 이동에 의한 종양세포의 전이에 의하여 환자에게 치명적인 결과를 가져오게 되며 일단 형성된 종양세포가 전이되기 위해서는 종양세포가 대장의 장관벽을 관통하여 나와서 림프절, 혈관 등으로 전이가 되고 새로운 환경에서 적응하고 생존해야 전이가 가능하게 된다. CD44는 세포와 세포간의 유착인자로 작용하는 세포막에 존재하는 당단백질로 11p13에 위치해 있고, 림프구가 림프계의 내피세포와 결합하여 림프구를 재순환이나 활성화시키는 기전에 관여하는 귀소성 수용체인 세포막 당단백질의 일종으로 알려져 있으며 조혈세포, 적혈구, 내피세포와 신경세포 등에서도 발견된다<sup>6)</sup>. 또한 종양세포에서도 발견되는데 세포막 당단백질로서 hyaluronate, fibronectin과 collagen에도 결합하며, hyaluronate와 결합하여 세포의 성장을 촉진시키고 종양의 발육을 조절하는 것이라고도 알려져 있다<sup>2)</sup>. CD44s는 exon 1~5, 16~20으로 구성되어 있고, 85~95 kD 크기이며 20개의 exon 중 6~15 부위에 10개의 splice variant가 종양 진행 전이에 영향이 있는 것으로 연구되어 왔으나 그 기능에 대하여는 확실하게 밝혀져 있지 않다.

CD44v6는 위암 및 유방암의 예후와도 관련이 있는 것으로 보고되고 있으며 발현이 되는 경우에 예후가 좋지 않은

것으로 보고되고 있다<sup>4)</sup>. CD44v6는 대장암의 림프절 전이, 원격전이, 근치적 절제술 후의 재발과 예후 등과 관련이 있다고 보고되고 있으나<sup>5,10,21)</sup>, 본 연구에서 림프절 전이와의 관계는 확인이 되지 못하였다. 그러나 PCR (polymerase chain reaction)에 의한 저자들의 다른 연구에서는 종양조직 및 전이조직에서의 발현 증가를 보고한 적이 있다<sup>4,22)</sup>.

Yamanue 등<sup>19)</sup>은 대장암 환자 44명의 조직에서 CD44v6의 발현과 임상병리학적 연관관계와 예후를 조사한 결과 림프절에 전이된 군에서 CD44v6의 발현율이 11/19 (57.9%)로 전이되지 않은 군의 발현율 8/25 (32%  $P<0.05$ )로 림프절 전이 시 CD44v6의 발현이 통계학적으로 유의하게 높으며 예후도 더 나쁜 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 림프절에 전이된 군에서 CD44v6의 발현율은 4/19 (21.5%)로, 전이되지 않은 군에서의 발현율은 9/21 (42.8%)로 결과가 나왔으나 통계학적인 유의성은 없었으며 일반적으로 암이 진행할수록 CD44v6의 발현율이 높다는 여러 보고들과 비교할 때 더 많은 예에서 연구가 필요할 것으로 사료된다.

대장암에서 여러 종류의 CD44 아형들이 대장암의 발생, 진행, 전이, 예후 등과 밀접한 관계가 있다는 여러 보고가 있으나 이들의 역할에 대해서는 아직 많은 연구가 필요하다. 또한 CD44 아형들은, 세포와 간질 사이의 결합에 관여하여 종양세포의 전이에 관계하는 것으로 보고되어 왔다<sup>16,23)</sup>. CD44v6는 활성화된 림프구에서도 과발현되어 정상적인 면역기능을 나타내며 활성화된 림프구와 전이 암세포는 조직 침습, 부착능력의 조절, 림프조직에서의 성장, 순환계로의 침투 등 많은 공통점이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>11)</sup>. Heider 등<sup>10)</sup>은 전이와 관련된 이들 variants는 선종성 용종, 이형성 등에서 발현이 되므로 대장암의 종양화 과정의 초기 단계에도 연관성이 있다고 주장하였다. Gorham 등<sup>7)</sup>은 CD44v 뿐 아니라 CD44s가 정상조직 및 대장암 조직에서 발현되지만 CD44v의 발현이 종양조직에서 더 많이 발현되는 것을 보고하였고 Wielenga 등<sup>27)</sup>은 정상 대장 점막과 대장암에 대한 면역조직화학적 분석에서 정상 대장 점막보다 종양세포에서 CD44v에 대한 발현이 증가한다고 보고하였다. Gunther 등<sup>3)</sup>이 전이능력이 없는 쥐의 췌장암 세포주에 CD44v6를 transfection하여 전이능을 획득하게 한 것을 보고한 후 CD44v6가 대장암을 비롯한 여러 암에서의 전이와의 관계에 대한 더욱 활발한 보고가 있었다. Guo 등<sup>9)</sup>은 대장암 환자의 혈청에서 검출된 CD44v의 수치가 암의 진행 및 전이와 연관성이 있으며, 근치수술 후 그 수치가 떨어지는 결과를 보고 CD44v가 암의 전이 가능성을 예측하고 재발을 조기에 진단할 수 있는 좋은 도구가 될 수 있다고 보고한 바 있다.

Jan-Willem 등<sup>12,20)</sup>은 대장암의 전이는 주된 사망원인이며 암의 전이능력을 효과적으로 파악하는 것이 대장암 치료에서 매우 중요하며 CD44v6는 대장암이 진행함에 따라 발현이

증가하고 특히 Duke's B 및 C 환자에서 CD44v6의 표현은 전이 정도 및 예후를 예측할 수 있는 매우 유용한 인자임을 보고하였다. 본 연구 결과는 CD44v6의 발현율과 전이 정도에서 전이된 경우 CD44v6의 발현율이 1/3 (33.3%), 전이되지 않은 군이 12/37 (32.4%), CD44s에서는 전이된 군의 발현율이 2/3 (66.6%), 전이되지 않은 군이 22/37 (59.1%)로 통계적인 의의는 찾을 수 없었으나 전이된 군에서 CD44v6의 발현이 증가한다고 생각되며 또 TNM stage에서는 CD44v6의 발현율이 상관관계가 있음을 보였다. 종양의 크기 역시 예후와 관련있는 인자로 Robert 등<sup>29)</sup>은 종양의 크기를 5 cm 미만과 이를 초과한 군으로 나누어 CD44의 발현율을 연구한 결과 이들 사이에 통계학적인 의의가 있음을 보고하였다. 본 연구에서도 종양의 크기를 5 cm 이하인 군과 5 cm 이상인 군으로 나누어 CD44s와 CD44v6의 발현율을 조사한 결과 CD44s는 5 cm 이하인 군은 11/19 (57.8%), 5 cm 이상은 13/21 (61%), CD44v6는 5 cm 이하가 5/19 (26.3%), 5 cm 이상이 8/21 (38%)로 CD44의 발현과 종양의 크기와의 통계학적인 연관성은 증명할 수 없었으나 종양의 크기와의 CD44 발현율과의 관련성이 있음을 시사하였다.

Mulder 등<sup>6,13)</sup>은 대장암에서 종양의 위치에 따른 CD44v5와 CD44v6에 발현율을 조사한 결과 상부대장암 (상행결장, 횡행결장, 하행결장)에서 하부대장암 (S자결장, 직장) 보다 CD44v5 (96% vs 87%  $P<0.05$ )와 CD44v6 (83% vs 61%  $P<0.05$ )의 발현율이 높음을 보고하였는데 이것은 일반적으로 CD44v5 및 CD44v6의 발현이 종양의 진행성 및 공격성을 나타내는 지표로 볼 때, 하부대장암이 더 공격적으로 진행한다는 일반적인 학설과는 반대되는 결과로 생각된다.

본 연구에서도 대장암을 결장암과 직장암으로 위치에 따라 구분하여 CD44s와 CD44v6의 발현율을 비교하였는데, CD44s는 결장암에서 15/23 (65.2%), 직장암에서 9/17 (52.9%) 결장암에서 더 발현되는 결과를 보였으나 통계적인 유의성은 없었다. CD44v6는 결장암에서 5/23 (21.7%), 직장암에서 8/17 (47.0%)로 직장암에서 더 높은 발현율을 보였으며 통계적인 유의성은 없었으나, CD44v6가 종양의 공격성을 더 잘 반영하는 지표라 볼 때 연관성을 시사한다고 생각되며 향후 더 많은 수의 환자에서 조사가 필요할 것으로 생각된다. 대장암 환자의 재발률을 감소시키기 위하여 슬루 항암화학요법을 하는데 Duke B 환자에게 항암약물치료를 해야 할지는 술자마다 견해가 다르나 이때 CD44의 발현을 검사는 이러한 결정에 도움을 줄 수가 있다. Mulder 등<sup>18)</sup>은 CD44의 여러 epitope 중 variant6에 대한 연구에서 Duke's 분류법과는 독립적인 예후인자로서 전이와 관련이 있음을 밝히고 이런 환자에 있어서는 보조요법을 시행해야 할 것으로 보고하였다. 지금까지 연구되어 온 CD44v6와 CD44v 전체가 전이에 주로 영향을 미치는지 아니면 CD44s의 발현 감소가 종양진행과 전

이에 영향을 주는지에 대하여 관심을 가지고 본 연구를 한 결과, 저자들의 연구에서는 영향이 없는 것으로 나타났지만 차후 CD44s의 exon별로 구체적인 연구가 더 필요하리라 사료된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Under Hill CB and Seed B (1990): CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell*, **61**: 1303-1313.
- 2) Bartolazzi A, Peach R and Aruffo A (1994): Interaction between CD44 and hyaluronate if directly implicated in regulation of tumor development. *J Exp Med*, **180**: 53-57.
- 3) Christian K, Clements T, Petra K, Seline J, Heinz K, Gerald G and Gerhard B (1996): Immunohistochemical detection of adhesion molecule CD44 splicing variants in lymph node metastasis of cervical cancer. *Int J Cancer*, **69**: 170-173.
- 4) Chun SY, Bae OS and Kim JB (2000): The significance of CD44 variants expression in colorectal cancer and its regional lymph nodes. *J Korean Med Sci*, **15**: 696-700.
- 5) Cooper DL, Dougherty G, Harn HJ, Jackson S, Baptiste W, Byer J, Datta A, Phillips G and Isoa NR (1992): The complex CD44 transcriptional unit: Alternative splicing of three internal exons generates the epithelial form of CD44. *Biochem Biophys Res Commun*, **182**: 569-578.
- 6) Eisenberg B, Decosse JJ, Harford F and Michalek J (1982): Carcinoma of the colon and rectum. The natural history reviewed in 1704 patients. *Cancer*, **49**: 1131-1134.
- 7) Gorham H, Sugino T, Woodman AC and Tarin D (1996): Cellular distribution of CD44 gene transcripts in colorectal carcinomas and in normal colonic mucosa. *J Clin Pathol*, **49**: 482-488.
- 8) Gunther U, Hofmann M and Zoller M (1991): A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell*, **65**: 13-24.
- 9) Guo YJ, Liu G, Wang X, Jin D, Wu M, Ma J and Sy MS (1994): Potential use of soluble CD44 in serum as indicator of tumor burden and metastasis in patients with gastric or colon cancer. *Cancer Res*, **54**: 422-426.
- 10) Heider KH, Kaufmann M, Hors E, berg F, Phonta H, Herrlich P and Pals S (1993): A human homologue of the rat metastasis-associated variant of CD44 is expressed in colorectal carcinoma and adenomatous polyps. *J Cell Biol*, **120**: 227-233.
- 11) Herrlich P, Zoller M, Pals ST and Ponta H (1993): CD44, lymphocytes meet metastasis. *Immunol Today*, **14**: 359-399.

- 12) Jan-Willem R Mulder, Philp M kruyt, Miguel Sewnath and Johan Oosting (1994): Colorectal cancer prognosis and expression of exon-v6-containing CD44 proteins. *Lancet*, **344**: 1470-1472.
- 13) JWR Mulder, PM Kruyt, M Sewnath, CA Seldenrijk, WF Weidema, ST Pals and GJA Offerhaus (1995): Difference in expression of CD44 splice variants between proximal and distal adenocarcinoma of large bowel. *Br J Surg*, **82**: 1468-1470.
- 14) Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, Minckwitz G, Ponta H and Herrlich P (1995): CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival. *Lancet*, **345**: 615-619.
- 15) Kojama S, Maruyama T and Adachi S (1999): Expression of growth factor receptor and CD44 splicing variants sharing exon 6 and 9 on gastric and esophageal carcinomas: a two-color flow-cytometric analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*, **125**: 47-54.
- 16) Koopman G, Heider K, Horst E, Adolf GR, van der Berg F, Ponta H, Herrlich P and Pals ST (1993): Activated human lymphocytes and aggressive non-Hodgkin's lymphoma express a homologue of the rat metastasis-associated bariant of CD44. *J Exp Med*, **177**: 897-904.
- 17) Leslie A, Goldstein and Eugene C (1990): Identification of mRNA that encodes an alternative form of H-CAM (CD44) in lymphoid and nonlymphoid tissue. *Immunogenetics*, **32**: 389-394.
- 18) Mulder JWR, Kruyt PM, Sewnath M, Oosting J, Seldenrijk CA, Weidema WF, Offerhaus GJA and Pals ST (1994): Colorectal cancer prognosis and expression of exon-v6-containing CD44 proteins. *Lancet*, **344**: 1470-1472.
- 19) Nariyuki Yamane, Shunichi Tsujitani, Masato Makino, Michio Maeta and Nobuaki Kaiba (1999): Soluble CD44 variant6 as a prognostic indicator in patient with colorectal cancer. *Oncology*, **56**: 232-238.
- 20) NIH consensus conference (1990): adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer. *JAMA*, **264**: 1444-1450.
- 21) Nihei Z, Ichikwa W, Kojima K, Togo S, Miyanaga T, Hirayama R and Myshima Y (1996): The positive relationship between the expression of CD44 variant 6 and prognosis in colorectal cancer. *Surg Today*, **26**: 760-761.
- 22) Ok Suk Bae, So Young Chun and Seong Il Suh (1998): Expression of Tumor Metastasis Related Genes in Korean Colorectal Cancers and Cell lines. *J Korean Society of Coloproctology*, **14**: 11-20.
- 23) Seiter S, Arch R and Reber (1993): prevention of tumor formation by anti-variant CD44. *J Exp Med*, **177**: 433-436.
- 24) Shimizu Y, Van Seventer GA, Siraganian R, Whal L and Shaw S (1989): Dual role of the CD44 molecule in T-cell adhesion and activation. *J Immunol*, **43**: 2457-2463.
- 25) Sporn MB and Robert AB (1985): Autocrine growth factor and cancer. *Nature*, **313**: 745-747.
- 26) Streit M, Schmidt R, Hilgenfeld RU, Thiel E and Kreuser ED (1996): Adhesion receptors in malignant transformation and dissemination of gastrointestinal tumors. *Recent Result Cancer Res*, **142**: 19-50.
- 27) Wielenga VJM, Heider KH and Offerhaus GJH (1993): Expression of CD44 variant protein in human colorectal cancer is related to tumor progression. *Cancer Research*, **53**: 4754.