

림프절 전이 양성 및 음성 유방암종의 CD44 변이형들의 발현 차이에 관한 비교 연구

박인애 · 이호창 · 조수연

서울대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2004년 11월 22일

게재승인 : 2005년 4월 16일

책임저자 : 박 인 애

우 110-799 서울시 종로구 연건동 28

서울대학교 의과대학 병리학교실

전화: 02-2072-2930

Fax: 02-743-5530

E-mail: iapark@plaza.snu.ac.kr

*본 연구는 서울대학교병원 임상연구비(05-1996-006-0)의 지원으로 이루어졌음.

Comparison of the Expression of Variants of CD44 between Node-positive and Node-negative Breast Carcinomas

In Ae Park, Ho-chang Lee and Soo Youn Cho

Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The purpose of this study is to determine the value of CD44 and its splice variants as markers for the metastatic potential of infiltrating ductal carcinomas of the breast. **Methods :** Tissue samples of infiltrating ductal carcinoma of the breast were examined for the expression of standard CD44 (CD44H) and s CD44 isoforms, v3, v4-5 and v6 in 41 node-positive and 31 node-negative cases. The immunohistochemistry results were correlated with other clinicopathologic parameters, and these results were correlated with accompanying high grade and non-high grade DCIS areas of the tumors in both node-positive and node-negative cases.

Results : The expression of CD44 in the invasive tumor areas and in the metastatic foci of the lymph nodes showed a statistically significant correlation. The expression of CD44H in the invasive tumor areas and the DCIS area showed a statistically significant correlation in the lymph node (-) group. There was statistical significance between the CD44 H and CD44v3 expressions and the histologic grade of the invasive tumor in the cases with positive lymph nodes. There was no statistical significance between CD44 expression and lymph node metastasis, tumor size and type of tumor margin. **Conclusions :** We conclude that changes in the CD44 expression in breast cancer occur early in breast carcinogenesis, and this is involved in tumor differentiation, but we could not establish any correlation between the expression of the CD44 variant isoforms and the metastasis of breast cancer.

Key Words : Infiltrating ductal carcinoma; CD44H; CD44v3; CD44v6

최근 같은 종류의 세포들이나 다른 종류의 세포들 사이에서 혹은 세포와 세포 외 기질들 사이에서 친화력을 높이고, 세포와 세포 또는 세포와 세포 외 기질 사이에서 신호를 전달하는 역할을 하는 '세포표면 부착분자'라고 불리는 물질들이 밝혀지고 있다. 이들은 정상적인 세포들 사이에서 행동을 조절하고 신호를 전달하는 역할을 한다. 뿐만 아니라 세포주나 동물실험 등으로 알려진 바에 의하면 악성종양세포의 침윤 또는 전이와 깊은 관련이 있는 것으로 밝혀져, 이러한 측면에서 많은 연구가 진행되고 있다.

세포표면 부착분자 가운데 하나인 CD44는 세포표면에 존재하는 경막성 당단백으로, 20개의 유전자로 이루어진 exon으로 구성되어 있다. 그리고 한 개의 세포는 같은 CD44 유전자로부터 동시에 두 개 이상의 mRNA 아형을 갖고 있다.^{1,2} RNA 접합 과정에서는 이들 중 최소 10개의 exon이 다르게 접합하므로 15

가지 이상의 다양한 변이체 단백질 생성된다.²⁻⁴ 이것은 크기가 85 kd에서 160 kd에 이르는 여러 가지 형태의 이형으로 존재한다. 이들 접합 이형들은 구조적으로는 연관성이 있으나 기능에는 차이가 있을 수 있는 단백질들을 형성한다.⁵

CD44는 Hermes 항원이라고 알려졌던 것과 같은 것으로 밝혀졌다.⁶ 이 중 삽입되는 exon이 없는 형태인 단백질은, 표준형인 CD44s 혹은 증배엽에서 기원하는 세포에서 잘 발현되어 조혈형이라고 불리는 CD44H로, 림프구 등 혈구세포와 상피세포 등에 분포한다.⁵ CD44는 hyaluronate의 수용체로 작용하여 세포 외 기질과 부착하게 하고 림프구를 림프절의 고내피정맥에 붙게 하는 역할을 하여 림프구의 회귀에 중요한 역할을 하며 세포의 성장과 분화에 중요한 영향을 미친다고 알려져 있다.⁶

CD44와 종양의 관련성에 관한 연구에 따르면, CD44의 변이형 단백질이 쥐의 체장암종 종양세포주 전이형에서 관찰되거나 비전

이형 종양세포주에서는 관찰되지 않으며, 쥐의 채장암종 세포주의 비전이형이 전이형으로 전환될 때 CD44의 접합 변이형이 발현되는 것으로 나타났다.⁷ 쥐 전이형 채장암종 세포주에서 발현되는 이형 CD44와 같은 종류의 물질이 여러 종류의 인체암종 세포주에서도 발견되었다.³ 쥐 전이 동물 모델에서 CD44의 exon6를 포함하는 이형들이 폐로 전이하는 종양들과 관련이 있는 것으로 알려졌다.⁸ 특히, v6-v10 exon이 있는 CD44의 이형들이 인체암종 및 동물암종에서 과발현되는 것으로 알려져 있다.⁹ 이들 변이형 CD44가 여러 종류의 인체암종에서 발현되는 것으로 보고되고 있으며,¹⁰⁻¹³ 이들 변이형 CD44의 발현은 종양의 전이 및 환자의 예후와 관련이 있을 것으로 여겨지고 있다.¹⁴

CD44의 아형 발현이 비호지킨림프종, 위암종, 신장암종, 대장암종 등에서 악성 예후와 관련이 있는 것으로 알려졌으나, 유방암종에서는 CD44의 발현과 환자의 생존이나 예후인자의 관련성이 잘 확립되어 있지 않다.⁸ 이들 세포표면 부착분자와 암종의 침윤과 전이의 관련성을 밝혀낸 연구는 그리 많지 않으며, 소수의 시행된 연구들에서도 장기 및 종양의 종류에 따라 그 결과가 상충되는 점이 많아 이에 대한 좀더 광범위한 연구가 필요한 실정이다.¹⁵ 세포표면 부착분자는 정상세포에서도 발현될 수 있으므로, 면역조직화학검사는 형태학적으로 종양과 정상 조직을 감별하면서 종양조직 내에서 이 물질들의 관련성을 오류 없이 해석할 수 있는 좋은 방법이다. 악성종양의 가장 중요한 특성의 하나인 전이가 일어나느냐 그렇지 않느냐는 이 종양의 생물학적 양상을 구분하는 가장 중요한 예후인자라 짐작할 수 있다. 실제로 림프절 전이가 없는 군과 림프절 전이가 있는 군은 예후에 현저한 차이가 있어, 유방암종에서 액외림프절 전이 유무는 가장 중요한 예후 관련인자로 취급된다. 본 연구에서는 종양의 간질 내 침윤 또는 전이와 관련 있는 것으로 알려진 세포표면 부착분자들인 CD44H 및 접합 변이형 CD44인 CD44v3, CD44v4/5, CD44v6 등이 유방암종의 전이 및 다른 예후 관련인자들과 관련이 있는지 알아보기 위해, 유방암종을 림프절 전이 유무에 따라 나누어 면역조직화학검사를 시행하였다.

재료와 방법

연구 대상

1991년 한 해 동안 변형 근치유방절제술이 시행된 후 병리과에 검역 의뢰가 들어온 환자들 중 침윤성 관암종 진단을 받은 환자 가운데 림프절 전이가 없었던 31예와 림프절 전이가 있었던 41예를 연구대상으로 하였다. 보관된 절편을 재검색하고 대표적 종양부위와, 림프절 전이가 있는 군에서는 대표적인 림프절 전이 부위가 있는 파라핀 절편을 골라 재박절하였다.

림프절 전이가 없는 군에서는 침윤된 종양 외에, Van Nuys 관내암종 분류로 비고등급(Non-high grade) 관내암종이 14예,

고등급(High grade) 관내암종을 1예 동반하고 있었다. 림프절 전이가 있는 군에 동반된 관내암종은 비고등급 관내암종이 17예, 고등급 관내암종이 10예로, 관내암종을 동반하는 비율이 림프절 전이가 없는 군보다 높았으며, 또 고등급 관내암종이 동반되는 비율이 림프절 전이가 없는 군보다 높았다. CD44H 및 CD44 변이형들의 항체들로 면역조직화학검사를 시행하였다.

연구 방법

광학현미경적 관찰: 병리조직학적 검색을 위해 10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거쳐, 통상의 조직처리 방법으로 H-E 염색을 시행한 슬라이드를 관독하여 조직학적으로 분류하고, 동반된 관내암종의 존재 유무 및 조직학적 분류, 종양의 핵등급 및 분화도, 림프절 전이 유무 등을 관찰하였다. 종양의 조직학적 분화도는 Ellis와 Elston의 분류에 따라 등급 I, II, III으로 분류하였다. 종양의 크기는 T1 (2 cm 이하), T2 (2-5 cm), T3 (5 cm 이상), T4로 나누었다. 종양의 성장 형태는 종양 가장자리의 형태 및 종양 내에 굳은 기질의 존재 유무에 따라 분류하였다. 보관된 파라핀 블록의 박편으로 면역조직화학 염색을 시행하였다. 림프절 전이가 있는 예들은 전이된 림프절의 박편으로도 면역조직화학 염색을 시행하였다.

면역조직화학적 검색 방법

일차 항체의 종류

CD44H (Anti-human mouse CD44H, monoclonal antibody, R&D systems)

CD44v3 (Anti-human mouse CD44 variant 3, monoclonal antibody, R&D systems)

CD44v4-5 (Anti-human mouse CD44 variant 4-5, monoclonal antibody, R&D systems)

CD44v6 (Anti-human mouse CD44 variant 6, monoclonal antibody, R&D systems)

면역조직화학적 염색 방법

통상적인 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 5 μ m 두께의 절편으로 만들어 xylene에 3-5분간씩 4번 거쳐 파라핀을 제거하였다. 그런 다음 100%, 95%, 75%의 에탄올에 차례대로 처리하고 증류수에 넣어 적신 후 citrate 완충용액에 담겨 극초단파 오븐 처리를 하였다. 그 후 TBS 완충용액에 담근 후 반응을 진행하였다.

1차, 2차 항체의 비특이적 결합을 억제하기 위해 절편에 정상 염소혈청을 가하여 10분간 반응시킨 후 1차 항체를 써서 1시간 반응시켰다. 그런 다음 TBS로 3번 씻은 후 비오틴과 결합된 2차 항체(biotinylated rabbit anti-mouse immunoglobulin, Dako,

E413, 1:400)에 30분간 반응시켰다. 그 후 다시 TBS로 3번 씻은 후 streptavidine-alkaline phosphatase (1:300; D396, DAKO) 용액에 30분간 반응시킨 다음 TBS로 3번 씻고 Fast Red로 30분간 발색시켰다. 그런 다음 증류수에 수세한 후 헤마톡실린으로 3분간 대조 염색하고 봉입하였다.

면역조직화학적 염색의 판정

CD44H 및 그 변이형들의 발현 유무는 세포막을 따라 염색되는 경우만을 양성으로 판정하였다. CD44H는 림프구 및 간질조직 및 정상유관의 근상피세포에서는 양성 반응을 보였으나, 정상관상피세포와 소엽상피세포에서는 음성 반응을 보였다. CD44v3, CD44v4/5와 CD44v6는 모두 정상 관상피세포에서는 음성 반응을 보였고, CD44v3는 유관의 근상피세포와 평활근 조직에서, CD44v6와 CD44v4/5는 유관의 근상피세포에서 양성 반응을 보였다.

종양세포에서 양성 반응을 보이는 예들은 정상 관상피세포에서 더 진하게 염색되었다. 종양의 전 부위를 관찰하여 전 종양 부위의 90% 이상에서 미만성으로 발현한 것을 미만성 양성, 중

양과 기질, 종양과 림프질의 정상부위의 접합부위에서만 부분적으로 염색된 것을 변연부 초점성 양성, 부분적으로만 염색된 것을 초점성 양성, 발현하지 않은 것을 음성으로 분류하였다.

통계학적 분석

인자들 상호간의 통계분석: Chi-square² test 및 Fisher's Exact Test를 이용하여 검정하였다. 통계결과가 유의성이 있는 것은 $p < 0.05$ 인 경우로 하였다.

결 과

CD44H와 변이형 CD44 모두 종양세포에서 주로 세포막을 따라 염색되었다(Fig. 1). 관내암종을 동반하는 침윤성 관암종의 관내암종 부분과 침윤성 관암종 부위, 그리고 림프질의 전이병소가 동일한 CD44 단백 발현 양상을 보이지는 않았다.

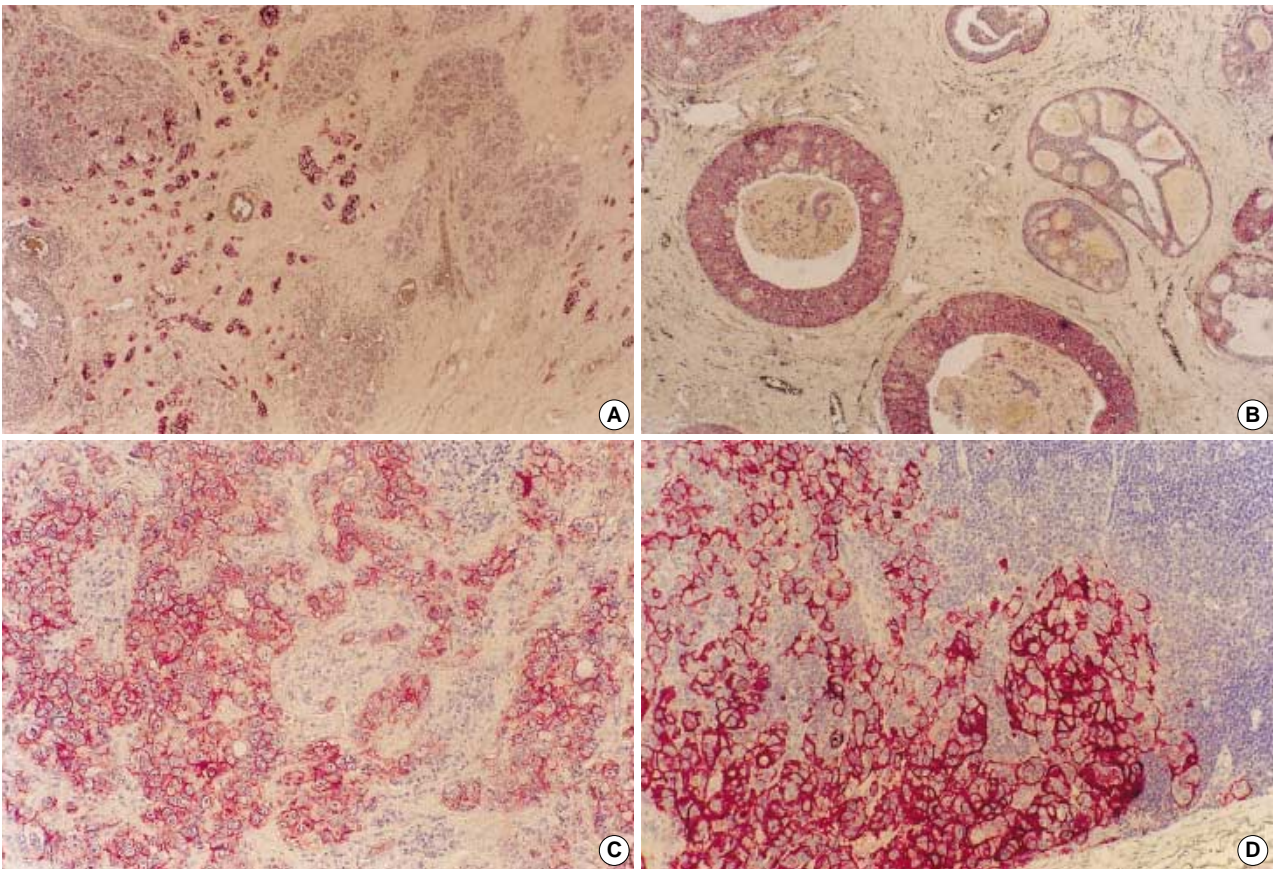


Fig. 1. (A) Normal breast lobules show no staining and infiltrating ductal carcinoma are positive for CD44H. (B) Immunostaining for CD44 V6 shows positivity in ductal carcinoma in situ area. (C) Immunostaining for CD44 V6 shows positivity in infiltrating ductal carcinoma area. (D) Immunostaining for CD44 V3 shows positivity in metastatic tumor in a lymph node.

CD44 단백질 발현

CD44H 단백질 발현 (Table 1)

침윤된 종양 자체에서 CD44H의 발현율은 림프절 전이가 없는 군과 림프절 전이가 있는 군에서 각각 25.8%, 26.9%로 별 차이가 없었고 통계학적 유의성도 없었다. 림프절 전이가 없는 군에서는 침윤암종 부위의 발현율이 동반된 관내 상피암종 부위의 발현율보다 높았다. 림프절 전이가 없는 종양 군에 동반된 비고등급 관내암종 14예에서의 발현율이 14.2%로 고등급 관내암종에서의 발현율(0%)보다 높았다. 림프절 전이가 있는 군에 동반된 관내 상피암종은 17예의 비고등급 관내암종에서 발현율이 58.8%, 10예의 고등급 관내암종에서 발현율이 40%로 역시 비고등급 관내암종에서의 발현율이 높았다. 림프절 전이가 있는 군에서는 원발 침윤암종 부위보다 관내 상피암종이나 림프절 전이소에서 발현율이 높았다.

CD44 변이체 v3 단백질 발현 (Table 2)

CD44H에서보다 양성률이 높았다. 림프절 전이가 없는 군의 발현과 림프절 전이가 있는 군의 침윤된 종양 자체에서의 발현율은 각각 38.7%, 43.9%로 림프절 전이가 있는 군에서 약간 높은 듯하였으나 현저한 차이는 없었으며, 미만성 양성은 림프절 전이가 없는 군에서 더 많이 관찰되었다.

침윤암종 부위의 발현율은 림프절 전이가 없는 군과 림프절

Table 1. Expression of CD 44H

Expression	LN (-) group			LN (+) group			
	Non-high grade DCIS	High grade DCIS	Invasive tumor	Non-high grade DCIS	High grade DCIS	Invasive tumor	Metastatic LN
	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
Positive	2 (14.2)	0 (0.0)	8 (25.8)	10 (58.8)	4 (40.0)	11 (26.9)	17 (41.5)
Negative	12 (85.8)	1 (100)	23 (74.2)	7 (41.2)	6 (60.0)	30 (73.1)	24 (58.5)
Total	14	1	31	17	10	41	41

Table 2. Expression of CD44v3

Expression	LN (-) group			LN (+) group			
	Non-high grade DCIS	High grade DCIS	Invasive tumor	Non-high grade DCIS	High grade DCIS	Invasive tumor	Metastatic LN
	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
Positive	6 (42.8)	0 (0)	12 (38.7)	8 (47.1)	5 (50.0)	18 (43.9)	23 (56.1)
Negative	8 (57.2)	1 (100)	19 (61.3)	9 (52.9)	5 (50.0)	23 (56.1)	18 (43.9)
Total	14	1	31	17	10	41	41

전이가 있는 군 사이에 통계학적 유의성이 없었다. 림프절 전이가 없는 군과 림프절 전이가 있는 군 모두 관내암종 부위와 침윤성 종양부위의 발현율에 별 차이가 없었다. 림프절 전이가 없는 군에서는 비고등급 관내암종 부위의 발현율이 고등급 부위의 발현율보다 높았다. 림프절 전이가 있는 군에서는 비고등급 관내암종 부위와 고등급 관내암종 부위의 발현율에 별 차이가 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서 CD44v3의 발현율은 림프절 전이소에서 56.1%, 원발 침윤암종 부위에서 43.9%로 전이소에서 발현율이 높았다. 그러나 전이소에서는 초점성 양성을 보인 경우가 많았다.

CD44 변이체 v4/5 단백질 발현

모든 종양에서 발현되지 않았다.

CD44 변이체 v6 단백질 발현 (Table 3)

침윤된 종양에서의 양성률은 CD44H보다 높았으나 CD44v3 보다는 낮았다. 림프절 전이소에서의 발현율(65.9%)은 CD44H (41.5%) 및 CD44v3 (56.1%)보다 높았다. 침윤된 종양 자체에서의 발현율은 림프절 전이가 없는 군과 림프절 전이가 있는 군에서 각각 25.8%와 39%로 림프절 전이가 있는 군에서 높았으나, 많은 예가 초점성 양성 소견을 보였다.

침윤암종 부위의 발현율은 림프절 전이가 없는 군과 림프절 전이가 있는 군 사이에 통계학적 유의성은 없었다. 림프절 전이가 없는 군에 동반된 관내암종은 비고등급 관내암종 부위에서 발현율이 높았다. 림프절 전이가 있는 군에서는 비고등급 관내암종

Table 3. Expression of CD44v6

Expression	LN (-) group			LN (+) group			
	Non-high grade DCIS	High grade DCIS	Invasive tumor	Non-high grade DCIS	High grade DCIS	Invasive tumor	Metastatic LN
	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
Positive	8 (57.1)	0 (0)	8 (25.8)	7 (41.2)	5 (50.0)	16 (39.0)	27 (65.9)
Negative	6 (42.9)	1 (100)	23 (74.2)	10 (58.8)	5 (50.0)	25 (61.0)	14 (34.1)
Total	14	1	31	17	10	41	41

Table 4. Expression of Variants of CD44 in Invasive Carcinoma Area

Expression	CD44H		CD44v3		CD44v6	
	LN (+)	LN (-)	LN (+)	LN (-)	LN (+)	LN (-)
	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
Positive	11 (26.9)	8 (25.8)	18 (43.9)	12 (38.7)	16 (39.0)	8 (25.8)
Negative	30 (73.1)	23 (74.2)	23 (56.1)	19 (61.3)	25 (61.0)	23 (74.2)
Total	41	3	41	31	41	31
p-value	0.922		0.658		0.239	

부위와 고등급 관내암종 부위 사이에 별 차이가 없었으나, 비고등급 관내암종 부위에서 미만성 발현율이 더 높았다. 림프절 전이가 없는 군에서 비고등급 관내암종 부위가 침윤된 종양부위보다 발현율이 높았고, 림프절 전이가 있는 군에서도 비고등급 관내암종 부위가 침윤된 종양부위보다 미만성 발현율이 높았다. CD44v6도 림프절 전이가 있는 군에서 원발 침윤암종 부위보다 동반된 관내 상피암종 부위나 림프절 전이소에서 발현율이 높았다.

종양의 각각의 부위에서 림프절 전이 유무에 따른 CD44 단백질 발현 양상

침윤성 암종 부위에서 각각의 CD44 단백질 발현 양상을 비교해보면 다음과 같다(Table 4). CD44v3와 CD44v6는 림프절 전이가 있는 군에서 발현율이 더 높았으나, 림프절 전이 유무 여부와 CD44H, CD44v3, CD44v6 등의 CD44 단백질 발현은 통계학적 관련성이 없었다($p>0.05$). 고등급 관내암종 부위의 발현율을 비교해보면, CD44H, CD44v3, CD44v6 모두 림프절 전이가 있는 군에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 비고등급 관내암종 부위의 발현율을 비교해보면, CD44H와 CD44v3는 림프절 전이가 있는 군에서, CD44v6는 림프절 전이가 없는 군에서 더 높았다. CD44H가 림프절 전이가 있는 군의 비고등급 관내암종 부위에서 통계학적으로 유의하게 많이 발현하였으나($p=0.011$) 다른 CD44 유형의 발현은 림프절 전이 여부와 연관성이 없었다.

종양의 조직학적 분화도와 CD44 단백질 발현의 관련성

조직학적 분화도 I등급에 속하는 침윤성 관암종의 수가 너무 적어 조직분화도 II등급에 속하는 침윤성 관암종을 한데 묶어 고분화 종양, 조직분화도 III등급에 속하는 침윤성 관암종을 저분화 종양으로 분류하고 단백질 발현을 비교하였다. 림프절 전이가 없는 군에서는 고분화 종양과 저분화 종양에서 CD44H의 발현율이 각각 14.3%와 35.3%, CD44v3의 발현율이 21.4%와 41.2%, CD44v6의 발현율이 28.6%와 23.5%로, CD44H와 CD44v3는 저분화 종양에서 발현율이 높았고 CD44v6는 고분화 종양에서 발현율이 약간 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

림프절 전이가 있는 군에서는 고분화 종양과 저분화 종양에서 CD44H의 발현율이 각각 47.4%와 13.6%, CD44v3의 발현율이 63.2%와 31.8%, CD44v6의 발현율이 52.6%와 27.3%로 CD44H, CD44v3, CD44v6 모두 고분화 종양에서 발현율이 높았다. 그러나 CD44H와 CD44v3는 통계학적 유의성이 있었고 CD44v6는 통계학적 유의성이 없었다. 림프절 전이 유무에 관계없이 모든 종양에서 CD44 단백질 발현을 비교하면 고분화 종양과 저분화 종양에서 CD44H의 발현율이 각각 39.4%와 23.1%, CD44v3의 발현율이 45.5%와 35.9%, CD44v6의 발현율이 42.4%와 25.6%로 고분화 종양에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

종양 크기에 따른 발현율

CD44H는 림프절 전이가 없는 군에서는 종양의 크기가 클수록

미만성 발현율이 높았고, 초점성 양성까지를 고려하면 T1 군에서 발현율이 높았다. 그러나 T1 군과 T2 이상인 경우를 합친 군으로 나누어 통계 처리를 해보면 통계학적 유의성은 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서는 T2인 예들에서 발현율이 높아(35.7%), T2 이상인 군(29.7%)이 T1 군(0%)에 비해 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 전체 예들을 통합하여 림프절 전이 유무와 관계없이 종양 크기와 CD44H의 발현율 사이의 상관관계를 살펴보면, T1 군에서의 발현율은 18.8%, T2 이상인 군에서의 발현율은 28.6%로 종양의 크기가 큰 경우 발현율이 높았다.

CD44V3는 림프절 전이가 없는 군에서는 T1인 경우 발현율이 50%로, T2인 경우의 26.7%에 비해 높았다. T1 군과 T2 이상인 군(31.6%)을 비교한 경우에도 T1 군에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서는 T1이 25%, T2가 46.4%로 T2인 경우에 발현율이 높았다. T1 군과 T2 이상인 군의 발현율(45.9%)을 비교해 보면 T2 이상인 군이 T1 군에 비해 발현율이 높았으나, 통계학적 유의성은 없었다. 전체 예들을 통합하여 림프절 전이 유무와 관계없이 종양 크기와 CD44v3의 발현율 사이의 상관관계를 살펴보면, T1 군의 발현율은 43.8%, T2 이상인 군의 발현율은 24.3%로 종양의 크기가 작은 경우 발현율이 높았다.

CD44v6는 림프절 전이가 없는 군에서는 T1인 경우 발현율이 25%였으나 대부분 초점성 발현을 보였고, T2 이상인 경우도 26.3%의 발현율을 보여 발현율에는 별 차이가 없었으나, 미만성 양성의 비율이 높았다. 림프절 전이가 있는 군에서는 T1의 발현율이 50%, T2의 발현율이 35.7%, T2 이상인 군의 발현율이 37.8%로 T1인 경우가 발현율이 높았다. 전체 예들을 통합하여 림프절 전이 유무와 관계없이 종양 크기와 CD44v6의 발현율 사이의 상관관계를 살펴보면 T1 군의 발현율은 25%, T2 이상인 군의 발현율은 39.3%로 종양의 크기가 큰 경우 발현율이 높았다.

종합해보면 CD44H와 CD44v6는 종양의 크기가 큰 경우 발현율이 높았고 CD44v3는 종양의 크기가 작은 경우 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

종양의 가장자리 모양과 CD44 단백질 발현 양상 비교

종양 가장자리의 모양을 미는 형(pushing type)과 침윤형(infiltrating type)으로 나누어 CD44 단백질 발현 양상을 비교하였다. 림프절 전이가 없는 군의 경우 미는형과 침윤형에서 CD44H의 발현율은 각각 0%, 28.6%, CD44v3의 발현율은 33.3%, 39.3%, CD44v6의 발현율은 0%, 28.6%로 CD44H, CD44v3와 CD44v6 모두 침윤형에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서도 미는형과 침윤형에서 CD44H의 발현율은 각각 18.2%, 30%, CD44v3의 발현율은 27.3%, 53.3%, CD44v6의 발현율은 27.3%, 43.3%로 CD44H, CD44v3와 CD44v6 모두 침윤형에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

림프절 전이가 있는 군과 림프절 전이가 없는 군을 합하여, 종양의 가장자리 형태와 CD44 단백 발현 관계를 알아본 경우에도 CD44H, CD44v3와 CD44v6 모두 침윤형에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

종양 내 굳은 암종 기질(Scirrhous stroma) 유무에 따른 CD44 단백질 발현 양상 비교

종양을 굳은 암종 기질(Scirrhous stroma) 유무에 따라 나누어 CD44 단백질의 발현 양상을 비교하였다. 림프절 전이가 없는 군에서는 굳은 암종 기질이 있는 형과 없는 형에서 CD44H의 발현율은 각각 13.3%, 37.5%, CD44v3는 20%, 56.3%, CD44v6가 13.3%, 37.5%로 모두 굳은 암종 기질이 없는 종양에서 발현율이 높았다. 그러나 CD44v3 군(p=0.038)을 제외한 다른 군에서는 통계학적 유의성이 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서는 굳은 암종 기질이 있는 형과 없는 형에서 CD44H의 발현율은 각각 30%, 23.8%, CD44v3의 발현율은 50%, 38.1% CD44v6의 발현율은 45%, 33.3%로 모두 굳은 암종 기질이 있는 종양에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

림프절 전이가 있는 군과 없는 군을 합쳐서 CD44 단백질 발현과 굳은 암종 기질의 관련성을 살펴보면 CD44H, CD44v3, CD44v6 모두 굳은 암종 기질이 없는 예들에서 발현율이 높았으나 역시 통계학적 유의성은 없었다.

원발 종양과 전이병소의 CD44 단백질 발현의 동일성 비교

유방의 원발암종 부위와 림프절 전이병소에서 CD44 단백질 발

Table 5. Correlation of Expression of Variants of CD44 in Invasive Tumor and Metastatic Tumor in Lymph Node

Tumor in Breast	Metastatic Tumor in Lymph Node	CD44H		CD44v3		CD44v6	
		No.	%	No.	%	No.	%
+	+	9	21.9	14	34.1	14	34.1
+	-	2	4.9	5	12.2	2	4.9
-	+	8	19.5	9	22.0	13	31.7
-	-	22	53.7	13	31.7	12	29.3
Total		41	100	41	100	41	100
p value		0.003		0.035		0.019	

현을 비교해 보면(Table 5) 전이병소의 염색 강도는 원발병소와 차이가 없었다. 림프절 전이가 있는 군 41예 중, 림프절 전이 병소에서 CD44H 단백질이 발현한 예는 17예였고(41.5%), CD44v3는 23예 (56.1%)에서 발현하였으며, CD44v6는 27예(65.9%)에서 발현하여 전이소에서의 발현율은 CD44v6가 가장 높았다. 10예(24.4%)에서 원발암종과 전이소 간에 CD44H 단백질 발현에 불일치를 보였다. 14예(34.2%)에서 원발암종과 전이소 간에 CD44v3 단백질 발현에 불일치를 보였다. 15예(36.6%)에서 원발암종과 전이소 간에 CD44v6 단백질 발현에 불일치를 보여 CD44v6가 불일치율이 가장 높았다. 원발암종과 전이소 간에 CD44 단백질 발현의 연관성을 알아보면, 원발암종에서의 단백질 발현과 전이소에서의 단백질 발현은 CD44H, CD44v3, CD44v6 모두에서 연관성을 보였다(p<0.05).

관내암종 부위와 침윤성 종양 부위에서 각 CD44 단백질 발현의 동일성 비교

침윤성 종양 부위와 관내암종 부위에서 CD44 단백질 발현을 비교해 보면(Table 6), 관내암종 부위와 침윤성 암종 부위의 단백질 발현이 일치하여 통계학적 연관성이 있는 것은 림프절 전이가 없는 군의 CD44H였고(p=0.022), CD44v3와 CD44v6은 통계학적 연관성이 없었다.

관내암종 부위에서는 발현하나 침윤성 암종 부위에서는 발현하지 않는 종양들은, 림프절 전이가 없는 군과 있는 군 각각에서 CD44H는 13.3%와 3.7%, CD44v3는 20.0%와 25.9%, CD44v6는 6.7%와 18.5%로, CD44H는 림프절 전이가 있는 군에서 관내암종에 비해 침윤성 암종 부위의 CD44 단백질 발현이 감소하는 예들의 수가 적었고, CD44v3의 경우는 20.0%와 25.9%로 양군 사이에 큰 차이가 없었다. CD44v6은 6.7%와 18.5%로, 림프절 전이가 있는 군에서 관내암종에 비해 침윤성 암종 부위의 CD44 단백질 발현이 감소하는 예가 증가하였다.

CD44 단백질이 관내암종 부위에서는 발현하지 않고 침윤성 암종 부위에서만 발현하는 예들을 살펴보면, 림프절 전이가 없는 군과 있는 군 각각에서 CD44H는 0%와 29.6%, CD44v3의 경우는 13.3%와 25.9%, CD44v6는 26.7%와 25.9%로, CD44H와 CD44v3의 경우 림프절 전이가 있는 군에서 증가하였고, CD44v6는 별 차이가 없었다.

Table 6. Correlation of Expression of Variants of CD44 in DCIS and Invasive Tumor in LN (+) and LN (-) Group

DCIS	Invasive tumor	CD44H				CD44v3				CD44v6			
		LN (-)		LN (+)		LN (-)		LN (+)		LN (-)		LN (+)	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
+	+	3	20.0	6	22.2	4	26.7	6	22.2	4	26.7	5	18.5
+	-	2	13.3	1	3.7	3	20.0	7	25.9	1	6.7	5	18.5
-	+	0	0.0	8	29.6	2	13.3	7	25.9	4	26.7	7	25.9
-	-	10	66.7	12	44.4	6	40.0	7	25.9	6	40.0	10	37.1
Total		15	100	27	100	15	100	27	100	15	100	27	100
p value		0.022		0.077		0.315		0.842		0.282		0.706	

Table 7. Correlation of Expression of Variants of CD44 in DCIS, Invasive Tumor and Metastatic Foci in in LN (+) Group

DCIS	Invasive Tumor	Metastatic Tumor	CD44H		CD44v3		CD44v6	
			No.	%	No.	%	No.	%
+	+	+	4	14.8	6	22.2	5	18.5
+	+	-	2	7.4	0	0.0	0	0.0
+	-	+	1	3.7	4	14.8	4	14.8
+	-	-	0	0.0	3	11.1	1	3.7
-	+	+	3	1.1	5	18.5	6	22.2
-	+	-	5	18.5	2	7.4	1	3.7
-	-	+	3	11.1	1	3.7	3	11.1
-	-	-	9	33.3	6	22.2	7	25.9
Total			27	100	27	100	27	100

림프절 전이가 있는 군에서 종양의 단계별 CD44 단백 발현의 동일성 비교

림프절 전이가 있는 군의 각 예들에서 관내암종, 침윤암종 부위와 림프절 전이 병소 간의 CD44 단백 발현이 동일할지를 비교하여 보았다(Table. 7). 관내암종, 침윤암종 부위와 림프절 전이 병소가 모두 CD44 단백 발현을 보인 예는 CD44H, CD44v3, CD44v6, 각각에서 14.8%, 22.2%, 18.5%였고, 세 부위에서 모두 CD44 단백 발현이 없었던 예는 CD44H, CD44v3, CD44v6 각각에서 33.3%, 22.2%, 25.9%였다. 관내암종 부위와 전이소의 단백 발현 간에는 CD44H, CD44v3, CD44v6 모두에서 통계학적 연관성을 찾을 수 없었다. CD44 단백 발현이 세 부위에서 동일하지 않았던 예들은 CD44H, CD44v3, CD44v6 각각에서 51.9%, 55.6%, 55.6%였다.

통계학적 유의성

원발암종과 전이소에서 CD44 단백 발현 여부는 통계적으로 유의하게 동일성을 보였다. CD44H는 림프절 전이가 있는 군의 비교등급 관내암종 부위가 림프절 전이가 없는 군의 비교등급 관내암종 부위에 비해 통계학적으로 유의하게 발현율이 높았다.

CD44H의 발현은 관내암종 부위와 침윤성 암종의 발현 유무가 림프절 전이가 없는 군에서 통계학적으로 유의하게 연관성이 있었고, 침윤성 암종의 분화도와 통계학적 유의성이 있었다.

CD44v3 발현은 림프절 전이가 없는 군에서 침윤성 암종 내 굳은 암종 기질이 있는 것과 통계학적 유의성이 있었고, 림프절 전이가 있는 군의 침윤성 암종의 분화도와 통계학적 유의성이 있었다. CD44v6의 발현 유무는 여러 변수들 모두에서 통계학적 유의성이 없었다.

CD44 단백질의 발현과 림프절 전이 유무, 종양의 크기 및 종양의 가장자리 성장형태는 통계학적 유의성이 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서 관내암종 부위와 림프절 전이소의 CD44 단백 발현도 통계학적 유의성이 없었다.

고찰

CD44는 종양세포의 분화, 종양의 침윤 및 전이에 관여하는 것으로 알려져 있다. 유방암종과 CD44의 관련성은 림프절 전이,^{13,16-20} 유방암종 종양발생과의 관련성,^{19,29} 종양의 분화도와와의 관련성,^{13,19-24} 스테로이드 호르몬 수용체 여부나 생존율 등의 예 후 관련인자로서의 역할^{19,22,25-28} 등에서 연구된바 있다.

CD44 이형과 유방암종의 전이능과의 관련성 여부는 확실하지 않고 이견이 있어 왔다. Joensuu 등¹⁶은 유방암종에서 CD44/Hermes의 발현을 연구하여 이것이 50% 이상의 종양세포에서 발현되는 유방암종은 조직학적 분화가 나쁘고 유사분열지수가 높았으며, 에스트로겐 수용체나 종양의 크기, 액와림프절 전이 여부와는 연관성이 없었고, CD44의 발현이 전이능을 증가시키는 지 여부는 확실하지 않다고 보고하였다.

Sinn 등¹³은 이형 CD44가 정상이거나 증식성인 유방상피에서는 발현하지 않고, 유방암종에서만 발현하며, CD44v5에서 v7까지를 encode하는 이형 CD44 단백질이 원발성 유방암종 보다는 전이된 림프절에서 더 흔히 발견되어 종양의 전이와 관련이 있다고 보고하였다. Yahyaoui 등¹⁷은 CD44H가 림프절 전이가 있는 유방암종에서 림프절 전이가 없는 유방암종에서 보다 의미있게 높은 발현율을 보인다고 보고하였다. Kalish 등¹⁸은 CD44v3 이형이 정상 유방조직에서는 발현하지 않으나, 유방암종과 액와림프절 전이소에서 발현하는 것으로 CD44v3가 유방암종 전이에 관여하리라고 보고하였다. Bankfalvi 등¹⁹ 침윤성 유방암종에서 CD44 단백 발현이 액와 림프절 전이유무와 관련성이 있다고 보고하였으며, 특히CD44v7과 CD44v4의 발현이 림프절 전이와 관련이 있다고 하였다.²⁰

CD44 단백질과 유방암종의 종양발생 사이의 관련성에 대해 연구한 바를 살펴보면, Bankfalvi 등¹⁹은 CD44v3과 v4가 다른 형의 CD44 이형과는 달리 양성증식성 병변에서는 발현하지 않고 관내암종 이상의 악성 병변에서 발현하는 점으로 미루어, 이 유형의 CD44가 유방암종 발생의 초기 단계에서 유방암종의 종양화에 관여할 것이라고 주장하였다.²⁰

본 연구에서도 유방의 정상 상피에서는 CD44 단백질이 발현하지 않다가 관내암종에서는 발현한 점으로 미루어, CD44 단백질이 유방암종의 침윤과 전이뿐만 아니라 초기 종양화 과정에 관여하리라 생각된다. Bankfalvi 등²⁰은 같은 종양 내 관내암종 부위와 침윤성 부위에서 CD44 단백 발현에 차이가 없다고 하였으나, 본 연구에서는 같은 종양 내 관내암종 부위와 침윤성 부위와 전이소 간에 CD44 단백 발현에 차이가 있는 예들이 많았다.

CD44 단백 발현이 종양 내에 동반된 관내암종 부위, 침윤암종 부위, 전이소 등 세 부위에서 동일하지 않았던 예들은 CD44H, CD44v3, CD44v6 각각에서 51.9%, 55.6%, 55.6%로 같은 종양 내에서도 발현되는 부위에 차이가 있는 예가 많았다. 또 전 종양에서 발현되지 않고 부분적으로 발현되는 예들이 많아 CD44 단백질 발현이 유방암종의 종양화 과정에서 소실되거나 획득될 수 있

을 것으로 추정된다. 또한 이들 물질의 발현은 세포들의 생물학적 활성에 따른 일시적 현상으로, 이들을 종양의 예후인자나 전이능을 평가하는 지표로 사용하기에는 미흡할 것으로 사료된다.

CD44와 종양의 분화도 사이의 관련성에 대한 연구를 살펴보면, Bankfalvi 등²⁰은 CD44v3과 CD44v6은 종양의 분화가 나빠질수록 적게 발현되고, CD44v4는 종양의 분화가 나빠질수록 많이 발현된다고 보고하면서, CD44가 유방암종의 분화에 관여한다고 하였다. 또한 CD44 단백질 발현이 종양의 분화도, 스테로이드 호르몬 수용체 존재 유무와 관련성이 있다고 보고하였다.¹⁹ Sinn 등¹³도 CD44v3/v4가 종양의 분화도와 상관관계가 있다고 보고하였다. 관내암종에서 CD44 단백질 발현을 연구한 Perin 등²¹의 연구에서도 저악성 세포등급의 종양에서 고악성 세포등급의 종양에서보다 발현율이 높았다. Friedrichs 등²²도 CD44S 단백질 발현은 종양의 크기나 조직학적 등급과 관련이 있고 무병생존율(disease-free survival)과는 관련이 없으며, CD44v6 단백질 발현은 에스트로겐 수용체 발현과 관련이 있고 환자의 생존율과는 의미 있는 관련성이 없어, CD44 단백질 발현이 환자의 예후보다는 종양세포의 분화와 관련이 있다고 하였다.

반면 Charpin 등²³은 유방암종 환자의 동결절편으로 CD44S와 CD44v6의 발현을 연구한 결과 환자의 연령, 종양의 크기, 조직형 및 분화도, 림프절 전이 유무, p53 발현 c-erbB2 단백질 발현, 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 등 어느것과도 관련성을 발견하지 못하였다. 그리고 exon-specific RT-PCR 방법을 이용하여 유방암종과 정상조직에서 CD44의 발현을 비교한 또 다른 연구에서도 환자의 나이나 종양의 크기, 호르몬 수용체 여부, 조직학적 분화도 등과 명확한 상관관계를 발견하지 못했다.²⁴

CD44 단백질과 유방암종의 예후 관련 인자 사이의 관련성에 대한 연구를 살펴보면 Berner 등²⁵도 유방암종에서 CD44S, v5, v6, v7과 v3-10의 면역조직화학검사의 발현과 유방암종의 조직학적 유형, 림프절 전이 유무, 스테로이드 수용체 유무, 종양의 크기나 환자의 연령, 생존율이나 무병생존율 등은 상관관계가 없다고 보고하였다.

반면, RT-PCR법을 이용한 검사에서는 유방암종에서 CD44v6 발현과 환자의 생존율이나 무병생존율의 관련성을 발견하여, 전이 추정인자로 유용하게 사용할 수 있으리라는 점을 시사하였다.²⁶ Berner 등²⁵도 면역조직화학검사에서 나타난 결과와는 다르게, RT-PCR 방법을 이용한 검사에서 나타난 CD44S, CD44v6 mRNA의 발현은 유방암종의 조직학적 등급과 관련성이 있고 CD44S mRNA 발현이 환자의 무병생존율이나 생존율과 관련이 있다고 보고하였다.

Bankfalvi 등¹⁹은 CD44v6이 발현되는 종양 환자들의 생존율이 높아 CD44v6 발현이 덜 악성인 유방암종과 관련이 있으나, v3, v4, v7, v9 등은 환자의 생존율과는 관련이 없었다고 보고하였다. Foekens 등²⁷도 림프절 전이가 없는 유방암종에서 CD44v6 단백질 발현을 연구하여 CD44v6 단백질 발현이 예후가 좋은 종양들과 관련이 있다고 하였다. 그러나 림프절 전이가 있는 종양에서

는 연구를 시행하지 않아 림프절 전이가 있는 종양과 비교해 보거나 전체 유방암종에서 CD44v6 단백질 발현의 의미를 알아보는 데는 어려움이 있다.

CD44v5 단백질 발현이 유방암종에서 프로게스테론 수용체 유무와 관련이 있다는 보고가 있으나,²⁸ 본 연구에서는 거의 발현하지 않았다.

본 연구에서는 결론적으로 CD44v3, CD44v6, CD44H 모두 침윤암종 부위의 발현율은 림프절 전이가 없는 군과 림프절 전이가 있는 군에서 통계학적 유의성이 없었다. 조직학적 분화도와 CD44 단백질 발현 간에는, 림프절 전이가 없는 군에서는 통계학적 유의성이 없었다. 림프절 전이가 있는 군에서는 CD44H, CD44v3, CD44v5 모두 고분화 종양에서 발현율이 높았으나, CD44H와 CD44v3는 통계학적 유의성이 있었고 CD44v6는 통계학적 유의성이 없었다.

림프절 전이 유무에 관계없이 모든 종양에서 CD44 단백질 발현을 비교하면 고분화 종양에서 발현율이 높았으나, 통계학적 유의성은 없었다. CD44 단백질 발현과 종양 크기, 종양의 가장자리 모양, 종양 내 군은 암종기질 유무와도 통계학적 유의성이 없었다. CD44 단백질 발현이 종양 내에 동반된 관내암종 부위, 침윤암종 부위, 전이소 등, 세 부위에서 동일하지 않았던 예들이 많아, CD44 단백질 발현이 유방암종의 종양화 과정에서 소실되거나 혹은 획득될 수 있을 것으로 추정되었다. 또한 이들 물질의 발현이 세포들의 생물학적 활성에 따른 일시적 현상으로, 이들을 종양의 예후인자나 전이능을 평가하는 지표로 사용하기에는 미흡할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Gunthert U. CD44: a multitude of isoforms with diverse functions. *Curr Top Microbiol Immunol* 1993; 184: 47-63.
2. Screaton GR, Bell MV, Jackson DG, Cornelis FB, Gerth U, Bell JI. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 12160-4.
3. Hofmann M, Rudy W, Zoller M, et al. CD44 splice variants confer metastatic behavior in rats: homologous sequences are expressed in human tumor cell lines. *Cancer Res* 1991; 51: 5292-7.
4. Jackson DG, Buckley J, Bell JI. Multiple variants of the human lymphocyte homing receptor CD44 generated by insertions at a single site in the extracellular domain. *J Biol Chem* 1992; 267: 4732-9.
5. Stamenkovic I, Aruffo A, Amiot M, Seed B. The hematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells. *EMBO J* 1991; 10: 343-8.
6. Jalkanen ST, Bargatze RF, Herron LR, Butcher EC. A lymphoid cell

- surface glycoprotein involved in endothelial cell recognition and lymphocyte homing in man. *Eur J Immunol* 1986; 16: 1195-202. PMID: 2429846
7. Gunthert U, Hofmann M, Rudy W, *et al.* A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell* 1991; 65: 13-24.
 8. Gunthert U, Stauder R, Mayer B, Terpe HJ, Finke L, Friedrichs K. Are CD44 variant isoforms involved in human tumour progression? *Cancer Surv* 1995; 24: 19-42.
 9. Rudzki Z, Jothy S. CD44 and the adhesion of neoplastic cells. *Mol Pathol* 1997; 50: 57-71.
 10. Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992; 340: 1053-8.
 11. Tanabe KK, Ellis LM, Saya H. Expression of CD44R1 adhesion molecule in colon carcinomas and metastases. *Lancet* 1993; 341: 725-6.
 12. Iida N, Bourguignon LY. New CD44 splice variants associated with human breast cancers. *J Cell Physiol* 1995; 162: 127-33.
 13. Sinn HP, Heider KH, Skroch-Angel P, *et al.* Human mammary carcinomas express homologues of rat metastasis-associated variants of CD44. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36: 307-13.
 14. Heider KH, Hofmann M, Hors E, *et al.* A human homologue of the rat metastasis associated variant of CD44 is expressed in colorectal carcinomas and adenomatous polyps. *J Cell Biol* 1993; 120: 227-33. PMID:8416989
 15. Shimoyama Y, Hirohashi S, Hirano S, *et al.* Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Res* 1989; 49: 2128-33.
 16. Joensuu H, Klemi PJ, Toikkanen S, Jalkanen S. Glycoprotein CD44 expression and its association with survival in breast cancer. *Am J Pathol* 1993; 143: 867-74.
 17. Yahyaoui O, Guerbaoui M, Oudghiri M. Relationship between lymphatic metastasis in breast and cervix cancers and the level of CD44-H expression evaluated by an immunohistochemical method. *Gynecol Obstet Fertil* 2001; 29: 422-6.
 18. Kalish ED, Iida N, Moffat FL, Bourguignon LY. A new CD44V3-containing isoform is involved in tumor cell growth and migration during human breast carcinoma progression. *Front Biosci* 1999; 4: A1-8.
 19. Bãnkfalvi À, Terpe HJ, Breukelmann D, *et al.* Gains and losses of CD44 expression during breast carcinogenesis and tumour progression. *Histopathology* 1998; 33: 107-16.
 20. Bãnkfalvi À, Terpe HJ, Breukelmann D, *et al.* Immunophenotypic and prognostic analysis of E-cadherin and beta-catenin expression during breast carcinogenesis and tumour progression: a comparative study with CD44. *Histopathology* 1999; 34: 25-34.
 21. Perin T, Canzonieri V, Massarut S, *et al.* Immunohistochemical evaluation of multiple biological markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Eur J Cancer* 1996; 32A: 1148-55.
 22. Friedrichs K, Franke F, Lisboa BW, *et al.* CD44 isoforms correlate with cellular differentiation but not with prognosis in human breast cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 5424-33.
 23. Charpin C, Garcia S, Bouvier C, *et al.* Automated and quantitative immunocytochemical assays of CD44v6 in breast carcinomas. *Hum Pathol* 1997; 28: 289-96.
 24. Sanchez Lockhart M, Hajos SE, Basilio FM, Mongini C, Alvarez E. Splice variant expression of CD44 in patients with breast and ovarian cancer. *Oncol Rep* 2001; 8: 145-51.
 25. Berner HS, Suo Z, Risberg B, Villman K, Karlsson MG, Nesland JM. Clinicopathological associations of CD44 mRNA and protein expression in primary breast carcinomas. *Histopathology* 2003; 42: 546-54.
 26. Guriec N, Marcellin L, Gairard B, *et al.* CD44 exon 6 expression as a possible early prognostic factor in primary node negative breast carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 1996; 14: 434-9.
 27. Foekens JA, Dall P, Klijn JG, *et al.* Prognostic value of CD44 variant expression in primary breast cancer. *Int J Cancer* 1999; 84: 209-15.
 28. Nunez MI, Arias JI, Del Rio MC, *et al.* Cell surface CD44v5 levels correlate with progesterone receptors and a tumor size > 2 cm in infiltrating ductal carcinomas of the breast. *Int J Biol Markers* 1996; 11: 220-2.