

## 별세포종에서 CD44와 MMP14의 발현과 WHO 등급과의 연관성 및 이들이 환자의 생존에 미치는 영향 연구

명재경<sup>1</sup> · 장보근<sup>1</sup> · 박혜성<sup>1</sup>  
윤운재<sup>1</sup> · 이현주<sup>1</sup> · 박성혜<sup>1,2</sup>

서울대학교 의과대학 병리학교실 및  
<sup>2</sup>뇌신경연구소

접 수 : 2009년 6월 4일  
게재승인 : 2009년 9월 24일

책임저자 : 박 성 혜  
우 110-422 서울시 중로구 대학로 103  
서울대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 02-740-8278  
Fax: 02-765-5600  
E-mail: shparknp@snu.ac.kr

### CD44 and MMP14 Expression Associated with WHO Grade of the Astrocytoma and the Prognostic Implications

Jaekyung Myung<sup>1</sup> · Bogun Jang<sup>1</sup> · Heae Surng Park<sup>1</sup> · Woongjae Yon<sup>1</sup>  
Hyun Ju Lee<sup>1</sup> · Sung-Hye Park<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, Seoul National University Hospital; <sup>2</sup>Institute of Neuroscience, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background :** CD44 is a cell surface receptor that has been implicated in tumor cell invasion and metastasis in a range of tumors of various organs, including breast, ovary, colon, lung, and brain. CD44 stimulates the invasive ability by interacting with matrix metalloproteinase 14 (MMP14). The expression of MMP14 on the cell surface is thought to trigger multiple protease cascades and to stimulate cell migration. **Methods :** A total 54 astrocytoma patients were eligible for this study. We performed a retrospective clinicopathological review and CD44 and MMP14 immunohistochemistry. **Results :** The expressions of CD44 and MMP14 were significantly correlated with the World Health Organization (WHO) grade. On univariate analysis, the WHO grade and the expression of CD44 were the significant prognostic factors affecting overall survival (OS) and disease progression free survival (DPFS). On the multivariate analysis by the Cox regression model, the only WHO grade was shown to be a significant independent prognostic factor for predicting the DPFS and OS. **Conclusions :** In this study, the CD44 and MMP14 expressions were related to the WHO grade of astrocytoma. The CD44 expression status was a prognostic factor for DPFS and OS on univariate analysis, but it was not an independent prognostic factor on the multivariate analysis.

**Key Words :** Astrocytoma; Antigens, CD44; Matrix metalloproteinase 14; Prognosis

별세포종(astrocytoma)은 뇌종양 중 가장 흔한 종양으로<sup>1</sup> 예후는 환자의 나이와 종양의 등급 및 종류 등과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다.<sup>2</sup> 별세포종은 다른 종양과는 달리 중추신경계 밖으로 거의 전이되지 않으나, 주변의 뇌조직으로 침습하는 특징을 가지고 있다.<sup>3</sup> 이러한 특징으로 인해 저 등급의 별세포종이라도 완전한 수술적 절제가 불가능할 뿐만 아니라 치료 후에도 재발할 가능성이 높은 것으로 보고되고 있다.<sup>4</sup> 별세포종의 이러한 침습적인 능력은 다양한 기전을 통해 이루어지는데, 특히 세포외기질(extracellular matrix)의 단백질 분해에 의한 변형(proteolytic modification)이 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, 이는 종양세포로 하여금 변경된 기질 주변 조직으로 침습하는 능력을 갖게 한다.<sup>5</sup>

뇌실질은 프로테오글리칸(proteoglycan)과 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan) 등과 같은 지질들로 구성되어 있는데,

뇌실질에 주요한 글리코사미노글리칸은 hyaluronan (HA)이다.<sup>6</sup> HA는 매우 큰 수화물(hydrate molecule)로 조직의 재생이나 발생 과정 중에 세포의 이동을 촉진시키며 종양에서는 종양세포의 이동을 활성화시키는 것으로 알려져 있다.<sup>7</sup> 별세포종의 침습적 특성과 HA와의 관련성은 별세포종 세포에 HA와 함께 세포외기질을 추가할 경우 침습 능력이 향상되는 *in vitro* invasion assay 결과를 통해 밝혀졌다.<sup>8</sup>

한편 HA와 관련해서 주목할 수 있는 것은 CD44이다. CD44는 HA에 대한 주요한 표면 수용체(surface receptor)로서 HA와의 작용을 통해 유방, 난소, 대장, 폐 및 뇌 조직에서 종양세포의 침습과 전이를 촉진시키는 것으로 밝혀졌다.<sup>9</sup> 뇌종양 중 별세포종에서 CD44의 역할은 *in vitro*나 *in vivo* 실험으로 밝혀졌는데, 이 실험을 통해 종양세포의 표면에서 CD44가 발현됨이 확인되었으며, 이를 억제할 때 종양세포의 침습 능력이 저하되는

것으로 알려졌다.<sup>10</sup> 또한 CD44는 단백 분해 작용( proteolytic process)에 의해 세포 표면으로부터 분리되는데 이러한 과정이 종양세포의 이동에 중요한 영향을 미친다고 보고되었으며,<sup>11,12</sup> 금속단백분해효소를 억제( inhibition)시켰을 경우 CD44 발현에 의한 종양세포의 이동이 저하되는 것으로 알려져, 금속단백분해효소가 CD44의 발현을 촉진하는 기전으로 작용할 것으로 추측되었다.<sup>11</sup>

금속단백분해효소는 현재 MMP1부터 MMP28까지 발견되어 있는데, 이 중 metalloproteinase (MMP) 14는 collagen type I, II, III와 fibronectin, laminin, vitronectin, aggrecan과 같은 세포외기질을 분해하여 세포의 이동을 돕는다고 알려져 있다.<sup>13,14</sup> 또한 MMP14는 proMMP2 (gelatinase A)와 proMMP13 (pro-collagenase 3)을 활성화 시키며, 다양한 단백분해효소 연쇄작용( proteinase cascade)을 유발시킨다.<sup>15,16</sup>

이러한 내용들을 모두 종합하면 다음과 같은 가설을 설정해 볼 수 있다. 즉 별세포종에 있어서 CD44 및 MMP14의 발현은 World Health Organization (WHO) 등급과 관련이 높을 것이며, 예후 예측 인자로서 사용될 수 있다는 것이다. 따라서 이를 검증하기 위해 면역조직화학염색을 시행하고 발현 정도를 비교함으로써 이들의 발현 정도와 WHO 등급 및 환자의 예후와

의 관련성을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 연구 대상

1991년 1월 1일부터 2008년 3월 31일까지 서울대학교병원에서 뇌종양으로 수술한 증례 중 개두술과 종양제거술 및 생검을 통해 별세포종으로 진단받고 파라핀 블록을 확보할 수 있었던 54예를 선정하였다. 전산상의 의무 기록을 조사하여 성별, 연령, 종양의 위치, 수술 방법과 수술 후 치료 방법들을 알아보았고, 각종 예후 인자들을 후향적으로 분석하였다. 이때 대상 환자들의 생존 여부는 2008년 3월까지의 추적을 기준으로 하였다.

### 면역 조직 화학 염색

대상 증례의 슬라이드를 재 검색하여 2 mm 지름으로 조직 미세배열(tissue microarray, TMA) 파라핀 블록을 제작하였다. 면역조직화학염색은 제작된 TMA의 파라핀 블록을 4  $\mu$ m

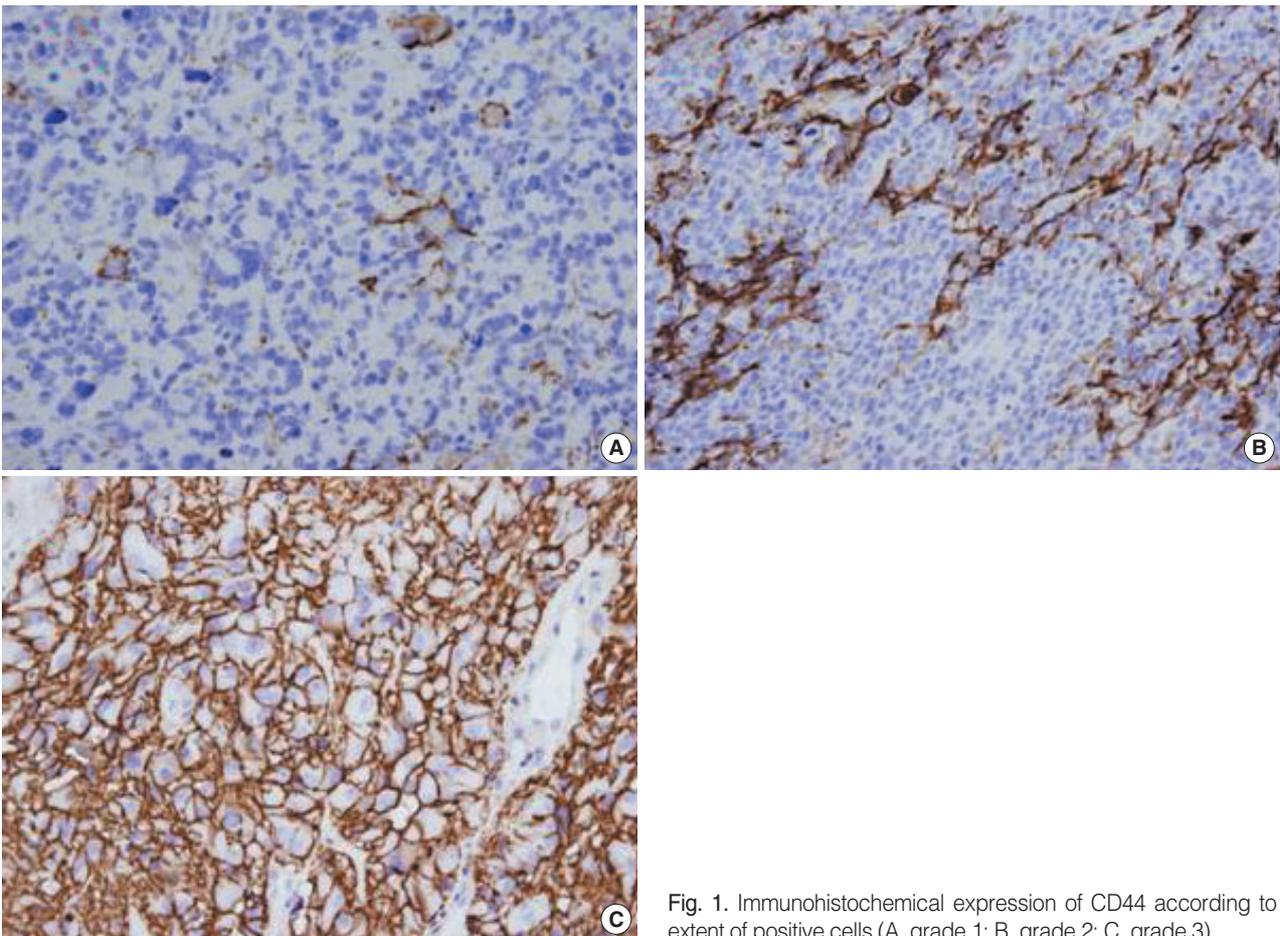


Fig. 1. Immunohistochemical expression of CD44 according to extent of positive cells (A, grade 1; B, grade 2; C, grade 3).

두께의 절편으로 박절하여 슬라이드에 부착한 후, 크실렌에 5분씩 3회 탈 파라핀 시켰다. 그 다음에 합수 과정을 거친 후 5분간 증류수로 세척하였으며, 항원성 회복을 위해 슬라이드를 citrate 완충 용액(10 mM, pH 6.0)에 담그고 전자렌지를 이용하여 65°C에서 5분씩 3회 가열하였다. 이후 증류수로 세척한 후 내인성 과산화효소를 불활성화시키기 위해 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에서 15분간 처리하였다. 이때 일차 항체로 CD 44 (1:200, Thermo Fisher scientific, Fremont, CA, USA), MMP14 (1:400, Chemicon international, Billerica, MA, USA)를 사용하였으며, 실온에서 60분간 반응시킨 후 biotin이 부착된 이차 항체(biotinylated anti-mouse immunoglobulin antibody, Dako, Kyoto, Japan)를 25분 동안 반응시켰다. 그 다음 세척 완충액으로 5분씩 3회 씻어내고 streptavidin peroxidase detection system (Zymed, San Francisco, CA, USA)으로 실온에서 25분 동안 방치하여 biotin-avidin 특이 결합을 유도하였다. 그리고 다시 세척 완충액으로 씻어낸 후 diaminobenzidine으로 5분간 발색시켰으며, 증류수로 세척하고 Meyer's hematoxylin으로 3분간 대조염색한 후 다시 증류수로 5분간 씻어내고 탈수와 청명화 과정을 거친 후 봉입하였다.

**면역 조직 화학 염색 결과 판독**

CD44 및 MMP14의 염색 결과 판독은 CD44의 경우 세포막을 따라 염색되는 경우를 양성으로 보았으며, MMP14는 세포질 및 세포막을 통해 염색되는 경우를 양성으로 판단하였다. 그 결과 전체 종양세포 중 양성을 보이는 종양세포의 비율을 세 등급으로 나누었다(1 등급, 0-10%; 2등급, 11-50%; 3등급, 51-100%) (Figs. 1, 2). 이때 양성 세포의 수는 종양세포의 밀도가 높은 부분을 4개 이상의 고배율 시야(×400)에서 1,000개의 종양 세포 중 양성인 세포의 수를 세어 백분율을 구하였다. 이때 면역 강도는 양성인 경우 비슷한 강도를 보여 따로 측정하지 않았다. 양성 대조군은 유방 조직을 이용하였으며, 음성 대조군에서는 1차 항체를 빼고 염색을 시행하였다.

**통계학적 분석**

WHO 등급 및 각각의 임상적 변수와 CD44, MMP14 염색 여부와의 비교는 Pearson's chi-square test를 이용하였다. 무병 생존율(disease progression free survival)은 수술을 받은 시점부터 자기공명영상을 통해 종양의 성장이 확인되거나 재발을 확

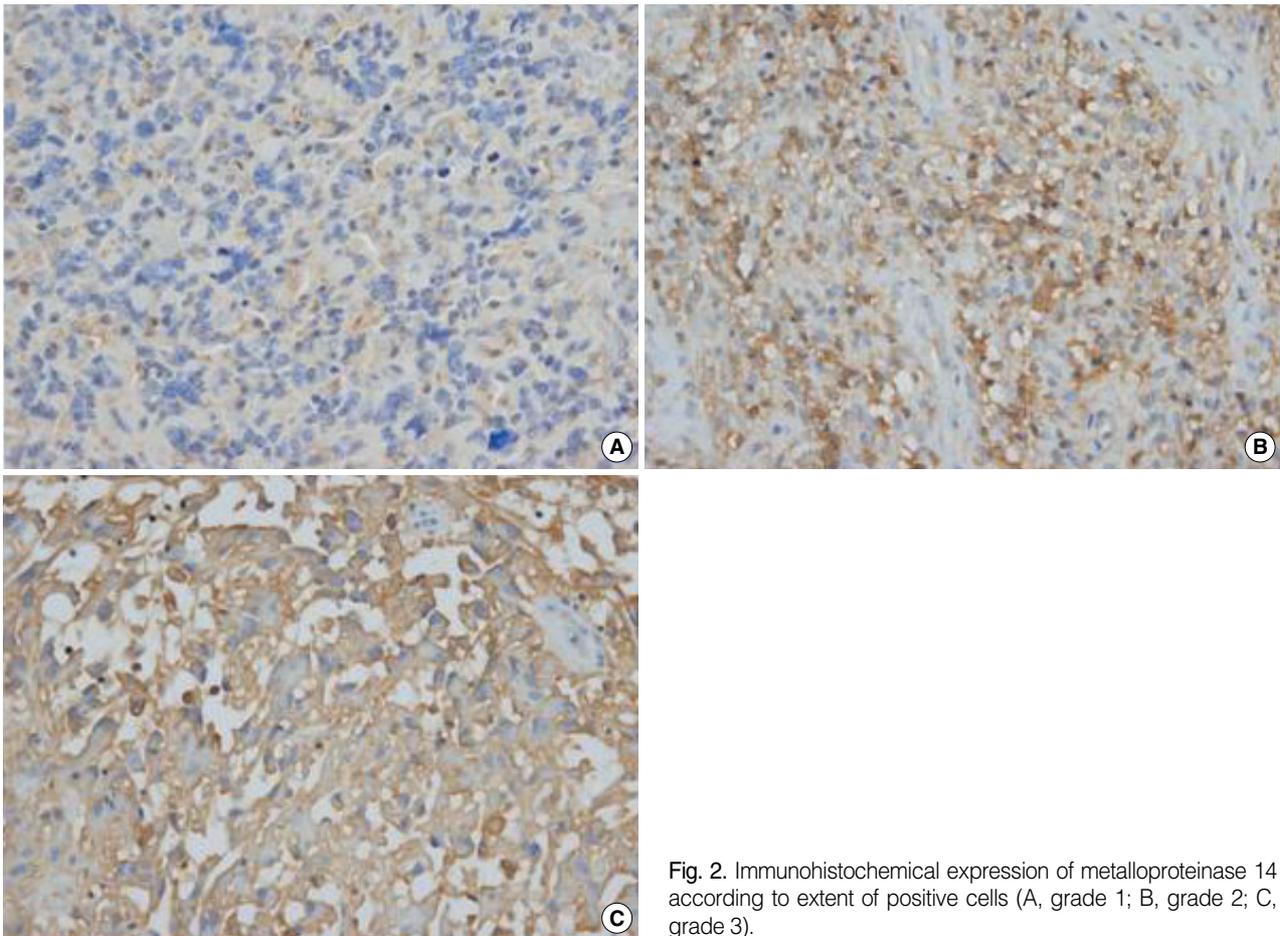


Fig. 2. Immunohistochemical expression of metalloproteinase 14 according to extent of positive cells (A, grade 1; B, grade 2; C, grade 3).

인한 시간까지의 기간이거나 최종 추적 관찰까지의 기간으로 정의하였고, 총 생존율(overall survival)은 수술을 받은 시점부터 2008년 3월까지의 최종 추적 관찰 또는 뇌종양으로 사망한 시점까지의 기간으로 정의하였다. CD44, MMP14의 발현에 따른 환자들의 무병 생존율 혹은 총 생존율의 차이는 Kaplan-Meier test를 이용하여 분석하였으며, Log-rank test를 이용하여 유의성을 평가하였고, 무병 생존 및 총 생존에 영향을 미치는 다양한 인자들의 상대적인 기여도를 평가하기 위해 Cox-regression model을 사용하였다. 통계분석에 사용한 프로그램은 윈도우용 SPSS ver. 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)이며, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

## 결 과

### 임상 및 병리학적 소견

54명의 진단 당시 연령은 1세부터 74세까지 분포하였으며, 평균 연령은 36.1세였다. 환자 중 남자는 34명, 여자는 20명으로 남녀 성비는 1.7:1이었고 추적 관찰 기간의 분포는 2개월에서 102개월까지였으며, 평균 추적 관찰 기간은 25.6개월이었다. 수술 방식은 종양의 완전 절제술을 18예에서 시행하였고, 31예에서 부분 절제술을 시행하였으며, 4예에서는 생검만을 시행하였고 1예는 추적이 불가능하였다. 수술 이후 치료는 29예에서 항암 치료와 방사선 치료를 병행하였으며, 4예에서 항암 치료만 시행하였고 7예에서는 방사선 치료만을 시행하였다. 방사선 치료와 항암 치료 모두를 시행하지 않은 경우는 13예였으며, 1예

**Table 1.** WHO grade of patients according to the CD44 expression

WHO grade	No.	CD44			p-value
		Grade 1	Grade 2	Grade 3	
Grade 1	10	8	2	0	0.007
Grade 2	9	5	3	1	
Grade 3	10	4	4	2	
Grade 4	25	3	11	11	

WHO, World Health Organization.

**Table 2.** WHO grade of patients according to the MMP14 expression

WHO grade	No.	MMP14			p-value
		Grade 1	Grade 2	Grade 3	
Grade 1	10	3	7	0	0.001
Grade 2	9	6	3	0	
Grade 3	10	2	5	3	
Grade 4	25	2	7	16	

WHO, World Health Organization; MMP14, metalloproteinase 14.

는 추적이 불가능하였다.

환자의 조직학적 분류를 보면 털모양 별세포종(pilocytic astrocytoma)이 10명, 광범위 별세포종(diffuse astrocytoma)이 9명, 역형성 별세포종(anaplastic astrocytoma)이 10명 그리고 교모세포종이 25명이었는데, 교모세포종 환자 25명 모두는 처음부터 교모세포종으로 진단 받은 일차교모세포종 환자였다.

### CD44 및 MMP14 단백 발현과 WHO 등급과의 관계

면역염색을 시행한 54명 중 CD44의 발현이 등급 1을 보인 경우는 37.0% (20/54)였으며, 등급 2를 보인 경우가 37.0% (20/54) 그리고 등급 3을 보인 경우가 26.0% (14/54)였다. 이렇듯 WHO 등급이 높아질수록 CD44의 발현이 높아지는 경향을 보였는데 이는 통계학적으로도 유의하였다( $p=0.007$ ) (Table 1). 한편 MMP14의 발현이 등급 1을 보이는 경우는 24.0% (13/54), 등급 2를 보이는 경우는 40.7% (22/54), 등급 3을 보이는 경우는 35.3% (19/54)였는데, MMP14의 발현도 WHO 등급이 높을수록 높게 나타났으며 이 또한 통계학적으로도 유의하였다( $p=0.001$ ) (Table 2).

### CD44 및 MMP14 단백질의 발현과 총 생존율 및 무병 생존율과의 연관성

별세포종에 있어 CD44의 발현 양상과 총 생존율을 비교해 보았을 때, CD44의 발현이 높을수록 생존율이 감소하였으며 이는

**Table 3.** Overall survival: multivariate analysis, Cox regression mode

Variables	Relative hazard	95% confidence interval	p-value
WHO grade	4.796	2.073-11.097	0.000
CD44	0.899	0.439-1.842	0.771
MMP14	0.910	0.449-1.844	0.793
Sex	0.319	0.099-1.025	0.055
Extent of surgery	0.549	0.194-1.552	0.549
Treatment	1.626	0.966-2.737	0.067

WHO, World Health Organization; MMP14, metalloproteinase 14.

**Table 4.** Disease progression free survival: multivariate analysis, Cox regression model

Variables	Relative hazard	95% confidence interval	p-value
WHO grade	7.399	2.255-24.283	0.001
CD44	0.963	0.457-2.028	0.921
MMP14	0.723	0.353-1.478	0.374
Sex	0.523	0.172-1.589	0.253
Extent of surgery	0.512	0.143-1.841	0.306
Treatment	1.228	0.681-2.217	0.495

WHO, World Health Organization; MMP14, metalloproteinase 14.

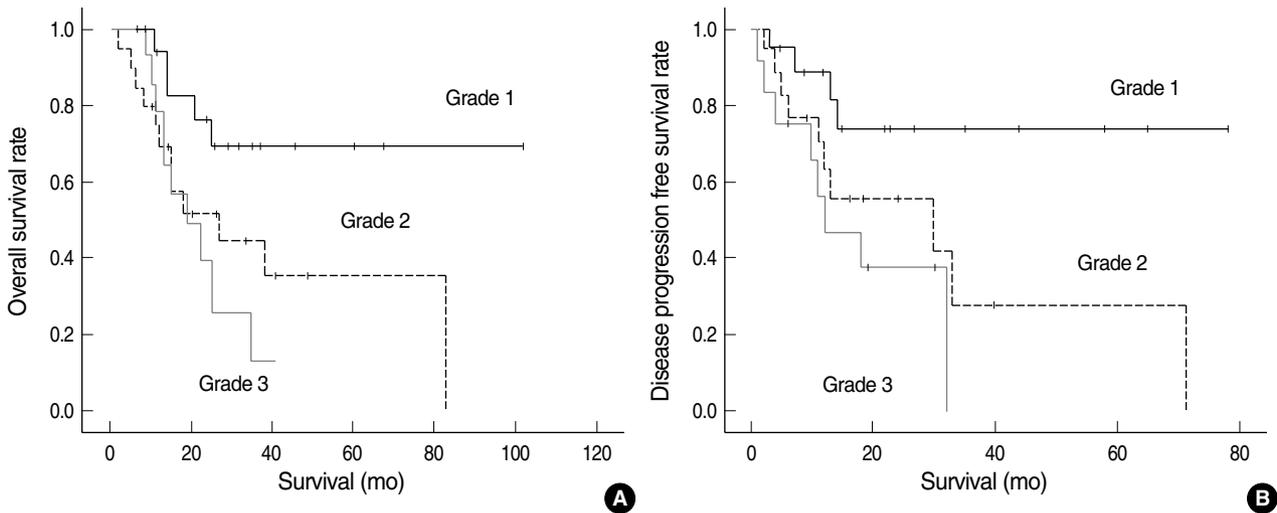


Fig. 3. Overall survival curve (A) and disease progression free survival curve (B) according to the expression of CD44 protein expression was a negative prognostic factor in astrocytomas ( $p = 0.030$  and  $0.024$ , respectively).

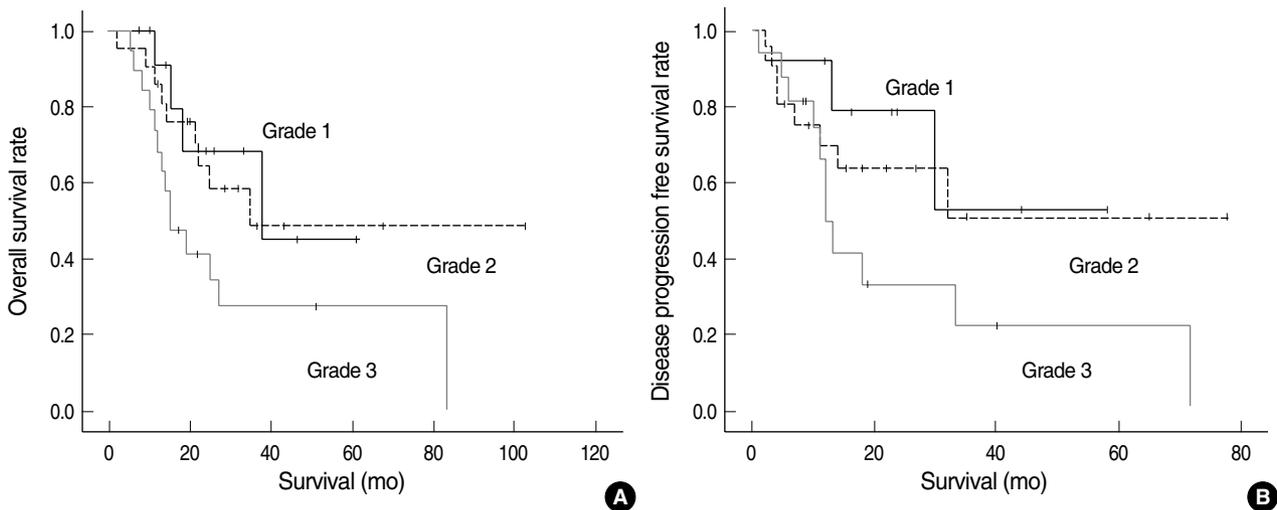


Fig. 4. Overall survival curve (A) and disease progression free survival curve (B) according to the expression of metalloproteinase 14 (MMP-14). Grade 3 expression of MMP14 showed worse prognosis than grade 1 and grade 2 in overall survival as well as in disease progression free survival; however, there was no statistically significant differences among the three grades ( $p = 0.091$  and  $0.146$ , respectively).

통계학적으로 유의하였다( $p=0.030$ ) (Fig. 3A). 또한 무병 생존율과 비교하여 보았을 때는 CD44의 발현이 높아질수록 생존율이 감소하였는데 이 역시 통계학적으로 유의하였다( $p=0.024$ ) (Fig. 3B).

한편 MMP14의 발현 정도와 총 생존율을 비교해 보면 고등급(3등급)의 MMP14 발현 그룹은 저등급(1등급) 및 중등급(2등급)에 비해 현저하게 낮은 환자의 생존율을 보여주었으나(Fig. 4A), 3개 등급 간의 통계학적 유의성은 없었다( $p=0.091$ ). 무병 생존율에 관해서도 고등급의 MMP14 발현 그룹은 저등급 및 중등급에 비해 현저하게 낮은 환자의 생존율을 보여주었으나(Fig. 4B), 3개 등급 간의 통계학적 유의성은 없었다( $p=0.146$ ). Cox

regression model을 사용한 다변량 분석에서는 WHO 등급만이 총 생존율(Table 3) 및 무병 생존율(Table 4)과 유의한 상관관계를 보였으며, CD44, MMP14 모두 통계학적 유의성은 없었다.

### 고 찰

CD44의 과발현과 별세포종의 조직학적 등급과의 관련성은 여러 연구들에 의해 다양하게 보고되고 있다. Kuppner 등<sup>17</sup>은 별세포종이 고등급일수록 CD44의 발현이 증가한다고 보고하였

지만, Frank 등<sup>18</sup>은 CD44의 발현과 별세포종의 등급과는 관련성이 없다는 반대되는 결과를 보고하였다. 세포주(cell line)를 이용한 실험에서는 별세포종에서 CD44의 발현이 종양세포의 침습을 촉진시킨다는 결과가 일관되게 발표되고 있지만, 면역염색을 통해서는 일치되는 결과들이 나오지 않았다. 이러한 다양한 결과는 아마도 CD44 항체의 차이성에 기인할 것으로 생각된다.

본 연구에서 CD44의 발현은 별세포종의 조직학적 등급과 유효한 상관관계가 있음을 보여주었으며, 단변량 분석에서는 생존율 및 무병 생존율과 통계학적 유의성을 보이는 예후 인자로 판정되었으나, 다변량 분석에서는 독립 예후 인자로서의 유의성은 없었다. 이는 본 연구에서 사용한 조직미세배열 방법에 기인한 결과일 수도 있는데, 조직미세배열법은 하나의 종양의 대표적인 부분에서만 검사가 이루어지므로 전체적인 결과라고 하기에는 한계점을 가질 수 밖에 없다. 또한 증례수가 충분하지 못한 점과 별세포종이 등급별로 정확하게 증례수가 일치하지 않는 점들도 결과에 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 이러한 요소들이 예후와의 관련성에 영향을 미쳤을 것으로 생각된다. 따라서 비록 CD44가 다변량 분석에서 환자의 예후와 관련성을 보여주지는 못해 독립적인 예후 인자로서 사용할 수는 없겠지만, 환자의 예후를 어느 정도는 반영한다고 할 수는 있겠다.

MMP14의 경우도 CD44와 마찬가지로 고등급의 별세포종으로 갈수록 발현이 높아지는 결과를 나타냈는데, 비록 MMP14가 환자의 생존율과 유의한 상관관계를 보여주지는 않아 환자의 예후 예측 인자로 이용될 수는 없지만, CD44와 마찬가지로 고등급의 별세포종으로 갈수록 발현이 증가되는 현상으로 볼 때 CD44의 발현과 기능에 있어 MMP14가 관련되어 있음을 짐작할 수 있었다. MMP14와 CD44와의 직접적인 관련성은 세포주를 이용한 추가 실험을 통해 직접적으로 밝힐 수 있다.

본 연구는 별세포종의 독특한 특징인 타 장기로의 전이보다는 주변 조직으로 광범위하게 침습하는 능력에 관련된 요소인 CD44 및 MMP14를 연구 단백으로 선정하여 고등급의 별세포종으로 갈수록 이 두 가지 단백 발현이 높다는 것을 보여주었다. 또한 고등급의 별세포종이 저등급의 별세포종에 비해 현저하게 침습력이 높다는 이미 알려진 사실을 근거로 별세포종의 침습적 특성에 이 두 가지 단백이 관여할 것이라는 것을 간접적으로 추정해 볼 수 있다. 하지만 단백 면역조직화학염색만으로는 이 두 가지 단백이 별세포종세포의 침습력에 관련되어 있다는 직접적인 증거를 제시하지 못한다. 따라서 직접적인 관련성은 추후 살아 있는 세포주를 이용한 침습 능력 검사 등을 통해 증명해야 할 것이다.

본 연구를 요약하면 별세포종에서 CD44 및 MMP14 단백 발현이 고등급의 별세포종으로 갈수록 높아진다는 것을 면역조직화학염색을 통해서 증명하였고, 이 중 CD44 단백의 발현이 별세포종 환자의 예후와 연관성이 있다는 것을 통계학적 분석을 통해 알 수 있었다. 이러한 연관성에 관련된 분자유전학적 기전 등은 추후 연구를 통해 증명해야 할 부분들이다.

## 참고문헌

- Ranuncolo SM, Ladeda V, Specterman S, *et al.* CD44 expression in human gliomas. *J Surg Oncol* 2002; 79: 30-5.
- Wisoff JH, Boyett JM, Berger MS, *et al.* Current neurosurgical management and the impact of the extent of resection in the treatment of malignant gliomas of childhood: a report of the Children's Cancer Group trial no. CCG-945. *J Neurosurg* 1998; 89: 52-9.
- VandenBerg SR. Current diagnostic concepts of astrocytic tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 644-57.
- Monaghan M, Mulligan KA, Gillespie H, *et al.* Epidermal growth factor up-regulates CD44-dependent astrocytoma invasion in vitro. *J Pathol* 2000; 192: 519-25.
- Liotta LA. Tumor invasion and metastases: role of the extracellular matrix: Rhoads Memorial Award lecture. *Cancer Res* 1986; 46: 1-7.
- Bignami A, Hosley M, Dahl D. Hyaluronic acid and hyaluronic acid-binding proteins in brain extracellular matrix. *Anat Embryol (Berl)* 1993; 188: 419-33.
- Knudson W. Tumor-associated hyaluronan. Providing an extracellular matrix that facilitates invasion. *Am J Pathol* 1996; 148: 1721-6.
- Radotra B, McCormick D. Glioma invasion in vitro is mediated by CD44-hyaluronan interactions. *J Pathol* 1997; 181: 434-8.
- Goodison S, Tarin D. Clinical implications of anomalous CD44 gene expression in neoplasia. *Front Biosci* 1998; 3: e89-109.
- Merzak A, Koocheckpour S, Pilkington GJ. CD44 mediates human glioma cell adhesion and invasion in vitro. *Cancer Res* 1994; 54: 3988-92.
- Okamoto I, Kawano Y, Tsuiki H, *et al.* CD44 cleavage induced by a membrane-associated metalloprotease plays a critical role in tumor cell migration. *Oncogene* 1999; 18: 1435-46.
- Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 1997; 71: 241-319.
- d'Ortho MP, Will H, Atkinson S, *et al.* Membrane-type matrix metalloproteinases 1 and 2 exhibit broad-spectrum proteolytic capacities comparable to many matrix metalloproteinases. *Eur J Biochem* 1997; 250: 751-7.
- Ohuchi E, Imai K, Fujii Y, Sato H, Seiki M, Okada Y. Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix macromolecules. *J Biol Chem* 1997; 272: 2446-51.
- Sato H, Takino T, Okada Y, *et al.* A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature* 1994; 370: 61-5.
- Knäuper V, Will H, López-Otin C, *et al.* Cellular mechanisms for human procollagenase-3 (MMP-13) activation. Evidence that MT1-MMP (MMP-14) and gelatinase a (MMP-2) are able to generate active enzyme. *J Biol Chem* 1996; 271: 17124-31.

17. Kuppner MC, Van Meir E, Gauthier T, Hamou MF, de Tribolet N. Differential expression of the CD44 molecule in human brain tumours. *Int J Cancer* 1992; 50: 572-7.
18. Frank S, Rihs HP, Stöcker W, *et al.* Combined detection of CD44 isoforms by exon-specific RT-PCR and immunohistochemistry in primary human brain tumors and brain metastases. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222: 794-801.