

406250

分子生物学的特徴を加味した表面型早期大腸癌の 内視鏡治療体系のシステム化と適応拡大

(研究課題番号 10670443)

平成10年度～平成11年度文部省科学研究費補助金
(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成12年3月

研究代表者 蘆田知史

旭川医科大学医学部助手

はしがき

研究組織

研究代表者：蘆田知史 (旭川医科大学 助手)

研究分担者：高後 裕 (旭川医科大学教授)

渡 二郎 (旭川医科大学医員)

研究経費

平成 10 年度 2595 千円

平成 11 年度 1980 千円

計 4575 千円

研究発表

(1) 論文

1. Y. Saitoh, T. Obara, J. Watari, M. Nomura, M. Taruishi, Y Orie, M. Taniguchi, T. Ayabe, T. Ashida and Y. Kohgo. Invasion depth diagnosis of depressed type early colorectal cancers by combined use of videoendoscopy and chromoendoscopy. *Gastrointest Endosc.* 1998; 48:362-70
2. Tnanbe H, Yokota K and Kohgo Y: localization of ssyndecan-1 in human gastric mucosa associated with ulceration. *J Pathol* 187: 338-344, 1999
3. Nomura M, Watari J, Yokota K, Saitoh Y, Obara T, Kohgo Y. Morphogenesis of nonpolypoid colorectal adenomas and early carcinomas assessed by cell proliferation and apoptosis. *Virchows Archiv* . in press

(2) 学会発表

- 1 藤谷幹浩, 渡 二郎, 高後 裕: 大腸癌における予後マーカーとしての syndecan-1 発現低下の意義 (発表予定). 第 86 回日本消化器病学会総会, 2000.4.22 (新潟)
2. Yusuke Saitoh M.D., Jiro Watari M.D., Takeshi Obara M.D. and Yutaka Kohgo M.D. High-Frequency Ultrasound Probe Sonography (HFUPS) in the Evaluation of Colorectal Neoplasia. 5 th. Harvard EUS course. 1999.11.13, Boston, USA
3. M. Fujiya, J. Watari, T. Ashida, M. Honda, A. Maemoto, T. Fujiki, A. Sasaki, F. Orie, Y. Fujimoto, Y. saito, and T. Ashida and Y. Kohgo. Suppressed Expression of Transmembrane Proteoglycan Syndecan-1 is Associated with Malignant Behavior in Colorectal Cancer. *DDW 1999*, 1999.5.19, Orlando, U.S.A.
4. I. Waxman, Y. Saitoh, J. Watari, K. Yokota, Y. Kohgo and P. J. Pasricha. Efficacy and safety of high frequency ultrasound probe sonography-assisted endoscopic mucosal resection for submucosal tumors of the gastrointestinal tract. *DDW1999*, 1999.5.18, Orlando, U.S.A.
5. J. Watari, Y. Saitoh, K. Yokota, M. Honda, A. Maemoto, A. Sasaki, T. Fujiki, T. Ohta, M. Fujiya, T. Ayabe, T. Ashida, Y. Orie, T. Obara, and Y. Kohgo. Prospective follow-up study of flat and depressed colorectal adenomas assessed by cell kinetics. *DDW*, 1999, 1999.5.17, Orlando, U.S.A.
6. Y. Saitoh, J. Watari and Y. Kohgo. Indications and limitations of endoscopic treatment for early colorectal carcinomas. IX International course on diagnostic and therapeutic digestive endoscopy of the Sao Paulo Medical School. 1998.8.11, Sao Paulo, Brazil

研究成果

はじめに

がん細胞の浸潤・転移課程では、細胞外基質（細胞外マトリックス, extracellular matrix : ECM) への接着と移動に加えて、酵素によるECMの分解が必須である¹⁾。すなわち、粘膜内で発生した癌がIV型コラーゲンがその骨格をなす基底膜を越え、ECMを破壊し浸潤していくにはECMを分解するmatrix metalloproteinases (MMPs) が重要な役割を演じており、特にMMP-2は基底膜を構成するIV型コラーゲンの分解酵素のひとつとして注目されている^{2), 3)}。さらに、そのMMPsに対する特異的なインヒビターのひとつとして tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) の存在も明らかにされている⁴⁾。また、syndecan-1は細胞-細胞間、細胞-ECM間接着に関与する膜貫通型のプロテオグリカンであり子宮頸癌や頭頸部癌において、細胞の悪性変化に伴いその発現が低下することが報告されている^{5), 6)}。すでにわれわれは肝癌において syndecan-1の発現低下が組織学的分化度や転移に関係することを報告した⁷⁾。そこで、早期大腸癌を対象にMMP-2, TIMP-2の蛋白発現, syndecan-1の発現と臨床病理所見との比較検討を行った。

方法

1. MMP-2, TIMP-2の発現

ホルマリン包埋切片を3 μ mに薄切し、1次抗体としてMonoclonal anti-human MMP-2, TIMP-2 mouse IgG抗体 (Fuji Pharm. Japan) を使用し、ABC法にて染色した。判定は腫瘍細胞が正常大腸上皮細胞よりも強く染色されたものを陽性とした。

2. syndecan-1の発現

1と同様に1次抗体として抗syndecan-1抗体(B-B4, Serotec Ltd.)を使用し、ABC法にて染色した。腫瘍細胞が全く染色されないものを-、25%未満を±、25~75%を+、75%以上を++とし、+以上を陽性とした⁸⁾。また、mRNAの発現は既報のごとく⁹⁾、syndecan-1 cDNAを用い template DNA を作製後、Digoxigenin-RNA labelling kit (Boehringer Mannheim, Germany)を用い SP6, T7 RNA polymerase によりセンスおよびアンチセンス鎖RNAプローブを作製し、in situ hybridization を行った。

結果

1. MMP-2, TIMP-2の発現

腺腫55病変、早期癌60病変(m癌29, sm癌31)で検討を行った。早期癌の内訳は隆起型(Ip, Isp, Is)23病変、表面隆起型(IIa)17病変、表面陥凹型(IIc, IIa+IIc)は20病変で、平均腫瘍径はそれぞれ12.8 \pm 8.0mm, 14.3 \pm 9.1mm, 8.1 \pm 5.0mmであり、表面陥凹型癌は他の形態より有意に小さかった(それぞれ p<0.05, p<0.01)。

MMP-2とTIMP-2は細胞質に染色された。MMP-2の発現は腺腫の10.9%(6/55)、癌の25.0%(15/60)に認め、癌でその発現は高い傾向にあった。TIMP-2の発現は腺腫で16.4%(9/55)、癌で51.7%(31/60)に認め、癌でその発現は有意に高かった($p<0.001$)。

早期大腸癌60病変について肉眼形態別にMMP-2とTIMP-2の発現をみると、MMP-2の発現は表面陥凹型が隆起型、表面隆起型に比べて有意に高く(それぞれ $p<0.05$, $p<0.01$)、TIMP-2は隆起型で最も高く表面隆起型との間に有意差を認めた($p<0.05$)(図1-(1))。MMP-2/TIMP-2発現陽性率比は隆起型、表面隆起型、表面陥凹型の順に高くなっており、表面陥凹型癌が他の肉眼型よりもMMP-2の発現がTIMP-2の発現に比し相対的に高い結果であった(図1-(2)、図2:表面陥凹型癌、図3:隆起型癌)。

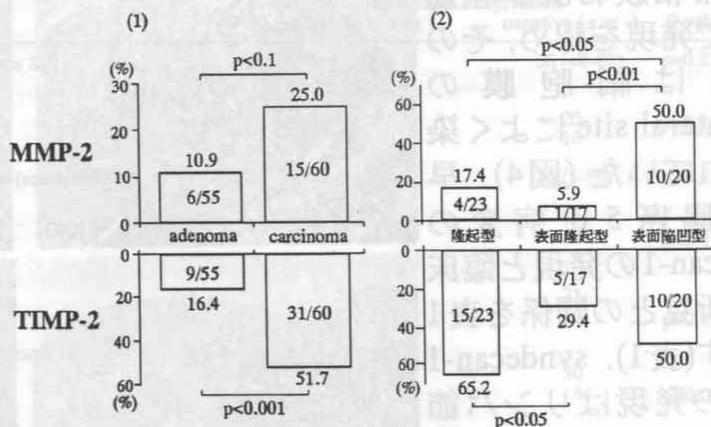


図1 MMP-2とTIMP-2蛋白の発現 - (1)組織異型度別, (2)肉眼形態別

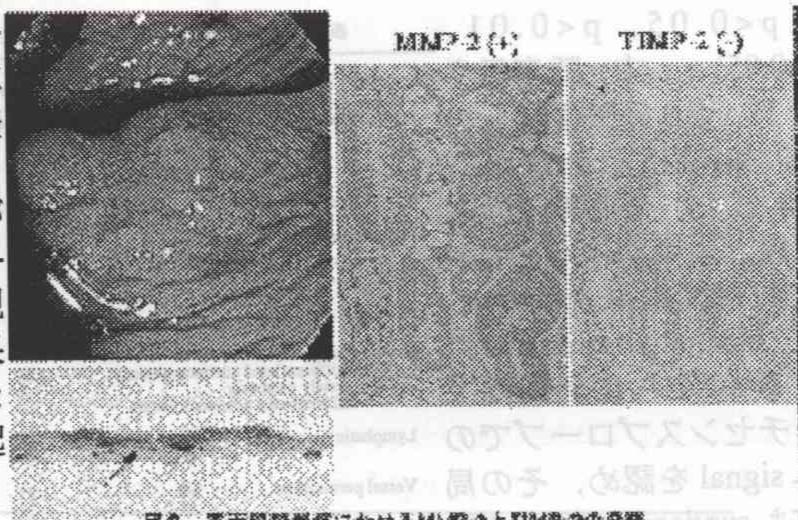


図2 表面陥凹型癌におけるMMP-2とTIMP-2の発現

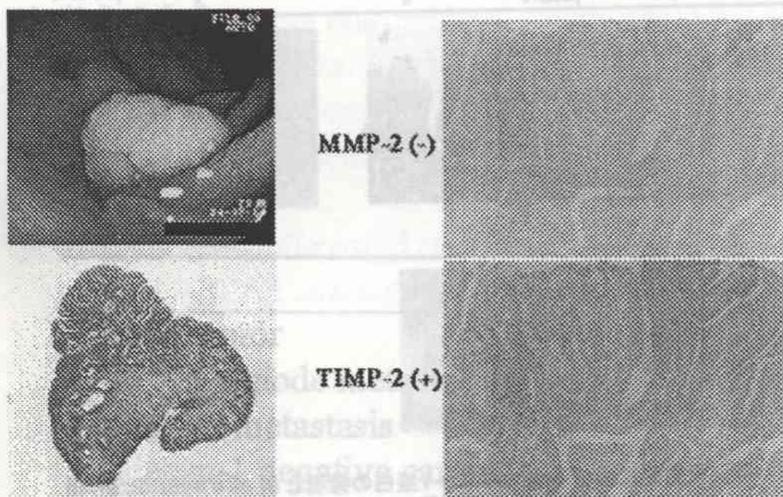


図3 隆起型癌におけるMMP-2とTIMP-2の発現

2. syndecan-1 の発現

syndecan-1は形質細胞と正常粘膜および腫瘍細胞で発現を認め、その発現は細胞膜のbasolateral siteによく染色されていた(図4). 早期大腸癌50病変のsyndecan-1の発現と臨床病理所見との関係を表1に示す(表1). syndecan-1蛋白の発現はリンパ節転移例、高分化型腺癌より低・中分化型腺癌、簇出を認める病変で有意に低下していた(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$). 一方、腫瘍径やリンパ管・静脈侵襲との間に相関は認めなかった. また、肉眼型(隆起型癌と表面型癌)の間にも相関は認めなかった. *in situ hybridization*によるmRNAの発現はアンチセンスプローブでのみsignalを認め、その局在もsyndecan-1蛋白の発現とよく一致していた(図5).

進行大腸癌55病変を含めた大腸癌105病変の検討では、リンパ節転移例、肝転移例、低・中分化型腺癌で有意にその発現は低下していたが(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.005$), N因子との間に相関は認めなかった(表2). さらに、syndecan-

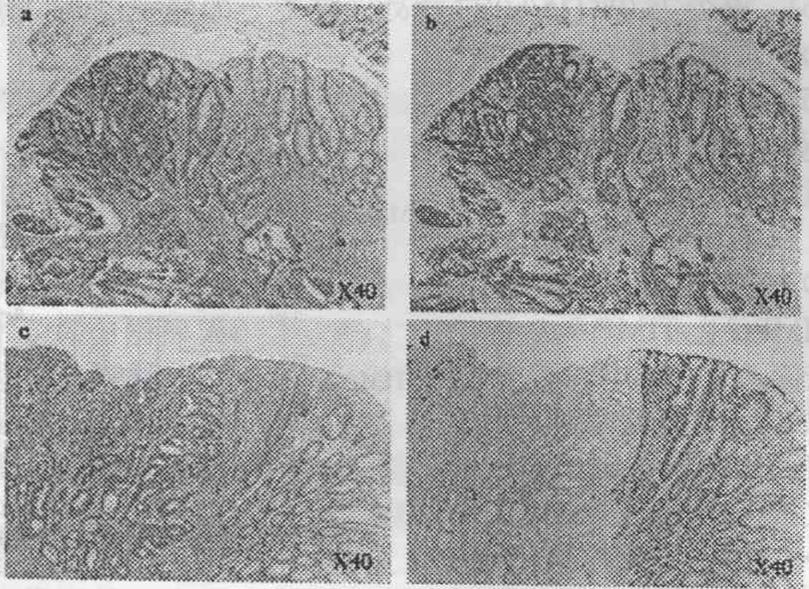


図4 早期大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現
a, c: H-E染色, b: syndecan-1陽性, d: syndecan-1陰性

表1 早期大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と臨床病理所見の関係

	Syndecan-1 expression		P-value
	positive (++) or +	negative (± or -)	
Age (median, range)	65 (35-81)	68 (56-73)	$p=0.5604$
Sex			
M	22	9	$p=0.3332$
F	13	6	
Tumor size (median, range)	15 (5-32)	20 (5-40)	$p=0.1857$
Macroscopic type			
Polypoid growth	17	22	$p=0.6805$
Nonpolypoid growth	8	13	
N factor			
N0	31	9	$p=0.0479$
N1-3	4	6	
Histological grade			
Well differentiated adenocarcinoma	26	5	$p=0.0063$
Moderately or poorly differentiated adenocarcinoma	9	10	
Lymphatic permeation			
ly0	18	5	$p=0.2394$
ly1-3	17	10	
Vessel permeation			
v0	21	10	$p=0.6563$
v1-3	14	5	
budding			
negative	27	7	$p=0.0343$
positive	8	8	

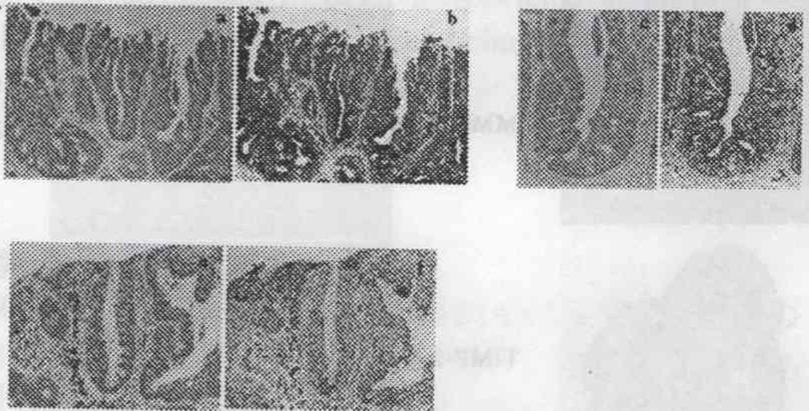


図5 早期大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と*in situ hybridization*
a, c: syndecan-1蛋白発現陽性, e: syndecan-1蛋白発現陰性
b, d: syndecan-1 mRNA陽性, f: syndecan-1 mRNA陰性

1の発現と予後との関連をみると、蛋白発現陰性例は陽性例に比べて有意に予後が悪かった

(Kaplan-Meier法, $p < 0.005$) (表3). また、比例ハザードモデルによる多変量解析を行うと、syndecan-1蛋白の発現は独立した予後因子であることが明らかとなった (Hazard比 2.9, 95%CI 1.28-6.64) (表4).

表2 大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と臨床病理所見の関係

	Syndecan-1 expression		P-value
	positive (++) or (+)	negative (± or -)	
Age (mean ± SE)	64 (35-81)	68 (40-82)	$p=0.2154$
Sex			$p=0.3332$
M	45	20	
F	24	16	
Tumor size (mean ± SE)	25 (5-120)	25 (5-90)	$p=0.4576$
T factor			$p=0.3719$
T1-2	37	16	
T3-4	32	20	
N factor			$p=0.0319$
N0	54	21	
N1-3	15	15	
Liver metastasis			$p=0.0116$
-	67	30	
+	2	6	
Histological grade			$p=0.0020$
Well differentiated adenocarcinoma	37	8	
Moderately or poorly differentiated adenocarcinoma	32	28	

以上の結果から、大腸癌におけるsyndecan-1の発現低下は、転写前に制御されていると考えられ、その発現低下は大腸癌の悪性化や転移に関与していることが推測できる。さらにsyndecan-1の発現低下は大腸癌の予後マーカーとしても有用であると考えられた。

表3 大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と予後 (Kaplan-Meier法)

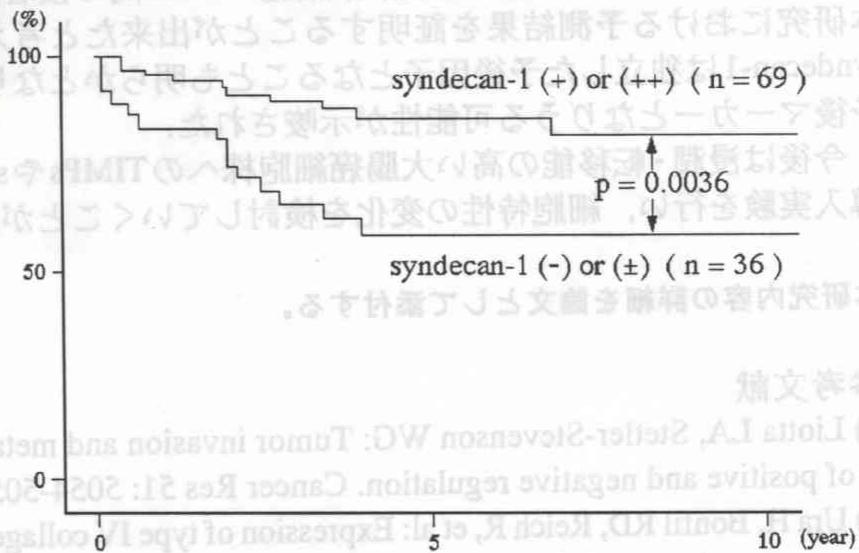


表4 大腸癌における予後因子の解析 (比例ハザードモデルによる多変量解析)

	hazard ratio	95% C.I.
T3 or 4 tumor	25.98	3.49-193.64
With lymphnode metastasis	2.35	1.04-5.30
With liver metastasis	3.24	1.26-8.36
Syndecan-1 negative carcinoma	2.91	1.28-6.64

考察・今後の展望

MMP-2, TIMP-2の発現の結果から, がん細胞では腺腫に比べてMMP-2蛋白の発現が強くみられるものの同時にTIMP-2の発現も腺腫より強く引き起こされていることがわかった. しかし, 肉眼型別にみると, MMP-2/TIMP-2蛋白の発現陽性率比は腫瘍径が最も小さい表面陥凹型で最も高いという結果であった. すなわち, 表面陥凹型癌では他の形態と比べてMMP-2の発現に比し, その特異的inhibitorであるTIMP-2の発現が相対的に低いことを意味し, 腫瘍径が最も小さな内に浸潤を来すという本腫瘍の生物学的特徴をうまく説明できる可能性がある. 今後はin situ hybridizationによるmRNA発現の確認が必要であるが, 最近TIMP-2は活性型MMPだけではなく潜在型MMPとも結合し, MMPの働きを阻害することが解明されてきており, 今後はzymographyによる活性型の検討も必要である.

syndecan-1は早期大腸癌においては肉眼形態間での発現の差は認めなかったが, リンパ節転移, 癌の低分化, 細胞の簇出と有意な相関を認めた. すなわち, 今回の研究結果で証明されたsyndecan-1の発現低下は, がん細胞が転移能の獲得に必要な細胞-細胞間, 細胞-ECM間の接着能の低下を意味し, 本研究における予測結果を証明することが出来たと考えられる. さらに, syndecan-1は独立した予後因子となることも明らかとなり, 大腸癌の新たな予後マーカーとなりうる可能性が示唆された.

今後は浸潤・転移能の高い大腸癌細胞株へのTIMPsやsyndecan-1の遺伝子導入実験を行い, 細胞特性の変化を検討していくことが課題である.

本研究内容の詳細を論文として添付する。

参考文献

- 1) Liotta LA, Stetler-Stevenson WG: Tumor invasion and metastasis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Res* 51: 5054-5059, 1991
- 2) Ura H, Bonfil RD, Reich R, et al: Expression of type IV collagenase and procollagen genes and its correlation with the tumorigenic, invasive, and metastatic abilities of oncogene-transformed human bronchial cells. *Cancer Res* 49: 4615-4621, 1989
- 3) Paulsom R, Pignatelli M, Stetler-Stevenson WG, et al: Stromal expression of 72 kda type IV collagenase (MMP-2) and TIMP-2 mRNAs in colorectal neoplasia. *Am J Pathol* 141: 389-396, 1992
- 4) Stetler-Stevenson WG, Liotta LA and Kleiner DF Jr: Extracellular matrix 6: Role of matrix metaroproteinases in tumor invasion and matastasis. *FASEB J* 7: 1434-1441, 1993
- 5) Inki P, Stenback F, Grenman S, et al: Immunohistochemical localization of syndecan-1 in normal and pathological human uterine cervix. *J Pathol* 172 : 349-355, 1994

- 6) Inki P, Joensuu H, Grenman R, et al: Association between syndecan-1 expression and clinical outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Br J Cancer* 70 : 319-323, 1994
- 7) Matsumoto A, Ono M, Fujimoto Y, Gallo RL, Bernfield M and Kohgo Y: Reduced expression of syndecan-1 in human hepatocellular carcinoma with high metastatic potential. *Int J Cancer* 74: 482-491, 1997
- 8) Nackaerts K, Verbeken D, Vanderschuren B, et al: Heparan sulfate proteoglycan expression in human lung-cancer cells. *Int J Cancer* 74: 335-345, 1997
- 9) Tnabe H, Yokota K and Kohgo Y: localization of syndecan-1 in human gastric mucosa associated with ulceration. *J Pathol* 187: 338-344, 1999

MMP-2とTIMP-2は細胞質に染色された。MMP-2の発現は腺腫の10.9%(6/55)、癌の25.0%(15/60)に認め、癌でその発現は高い傾向にあった。TIMP-2の発現は腺腫で16.4%(9/55)、癌で51.7%(31/60)に認め、癌でその発現は有意に高かった($p<0.001$)。

早期大腸癌60病変について肉眼形態別にMMP-2とTIMP-2の発現をみると、MMP-2の発現は表面陥凹型が隆起型、表面隆起型に比べて有意に高く(それぞれ $p<0.05$, $p<0.01$)、TIMP-2は隆起型で最も高く表面隆起型との間に有意差を認めた($p<0.05$)(図1-(1))。MMP-2/TIMP-2発現陽性率比は隆起型、表面隆起型、表面陥凹型の順に高くなっており、表面陥凹型癌が他の肉眼型よりもMMP-2の発現がTIMP-2の発現に比し相対的に高い結果であった(図1-(2)、図2:表面陥凹型癌、図3:隆起型癌)。

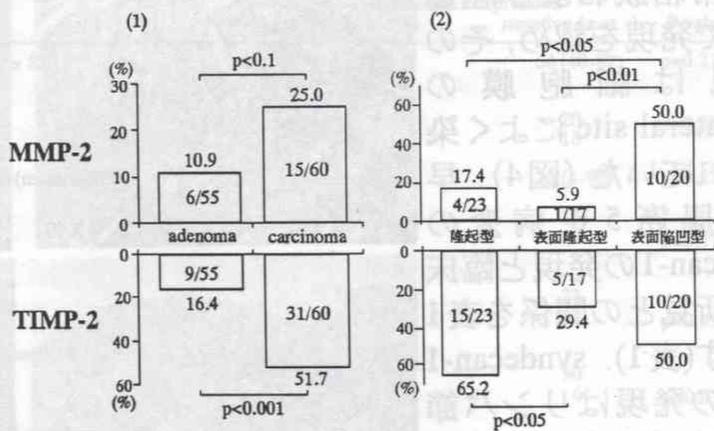


図1 MMP-2とTIMP-2蛋白の発現 - (1)組織異型度別, (2)肉眼形態別

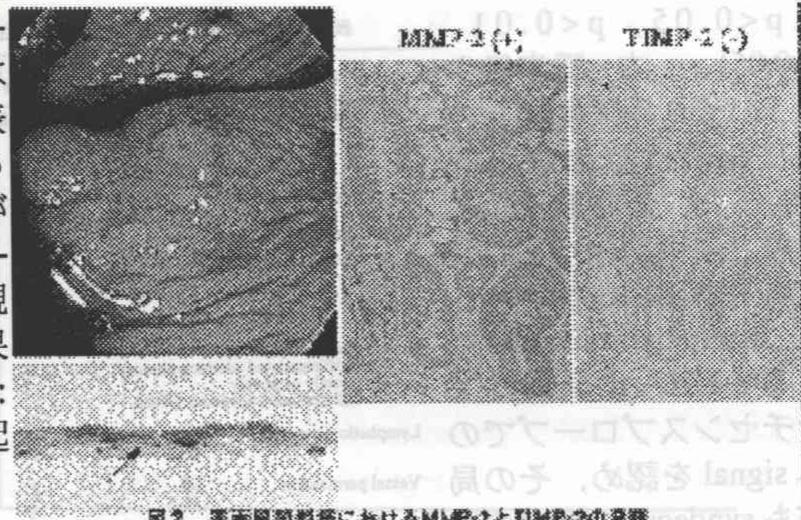


図2 表面陥凹型癌におけるMMP-2とTIMP-2の発現

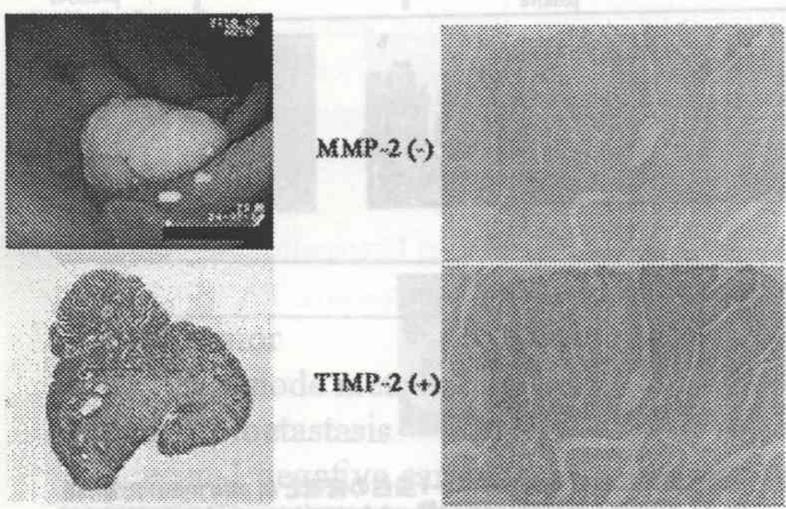


図3 隆起型癌におけるMMP-2とTIMP-2の発現

2. syndecan-1 の発現

syndecan-1は形質細胞と正常粘膜および腫瘍細胞で発現を認め、その発現は細胞膜のbasolateral siteによく染色されていた(図4). 早期大腸癌50病変のsyndecan-1の発現と臨床病理所見との関係を表1に示す(表1). syndecan-1蛋白の発現はリンパ節転移例, 高分化型腺癌より低・中分化型腺癌, 簇出を認める病変で有意に低下していた(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$). 一方, 腫瘍径やリンパ管・静脈侵襲との間に相関は認めなかった. また, 肉眼型(隆起型癌と表面型癌)の間にも相関は認めなかった. *in situ hybridization*によるmRNAの発現はアンチセンスプローブでのみsignalを認め, その局在もsyndecan-1蛋白の発現とよく一致していた(図5).

進行大腸癌55病変を含めた大腸癌105病変の検討では, リンパ節転移例, 肝転移例, 低・中分化型腺癌で有意にその発現は低下していたが(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.005$), N因子との間に相関は認めなかった(表2). さらに, syndecan-

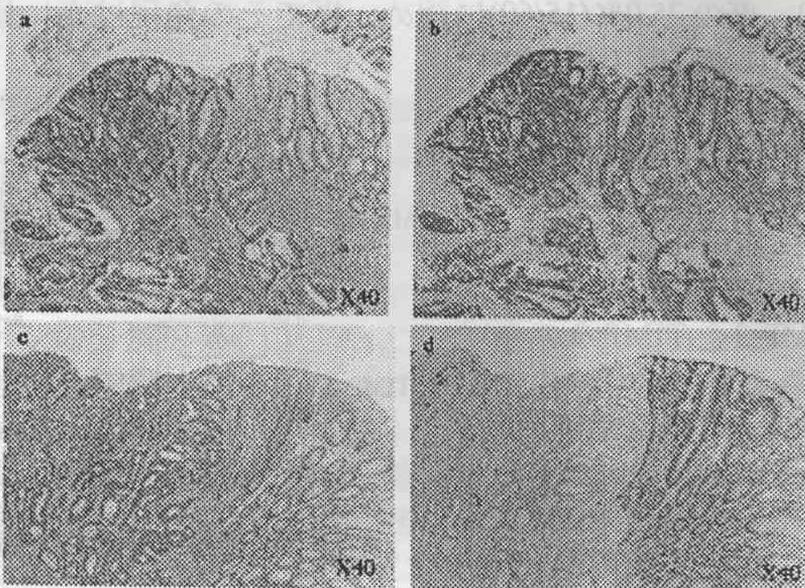


図4 早期大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現
a, c: H-E染色, b: syndecan-1陽性, d: syndecan-1陰性

表1 早期大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と臨床病理所見の関係

	Syndecan-1 expression		P-value
	positive (++) or (+)	negative (± or -)	
Age (median, range)	65 (35-81)	68 (56-73)	$p=0.5604$
Sex			
M	22	9	$p=0.3332$
F	13	6	
Tumor size (median, range)	15 (5-32)	20 (5-40)	$p=0.1857$
Macroscopic type			
Polypoid growth	17	22	$p=0.6805$
Nonpolypoid growth	8	13	
N factor			
N0	31	9	$p=0.0479$
N1-3	4	6	
Histological grade			
Well differentiated adenocarcinoma	26	5	$p=0.0063$
Moderately or poorly differentiated adenocarcinoma	9	10	
Lymphatic permeation			
ly0	18	5	$p=0.2394$
ly1-3	17	10	
Vessel permeation			
v0	21	10	$p=0.6563$
v1-3	14	5	
budding			
negative	27	7	$p=0.0343$
positive	8	8	

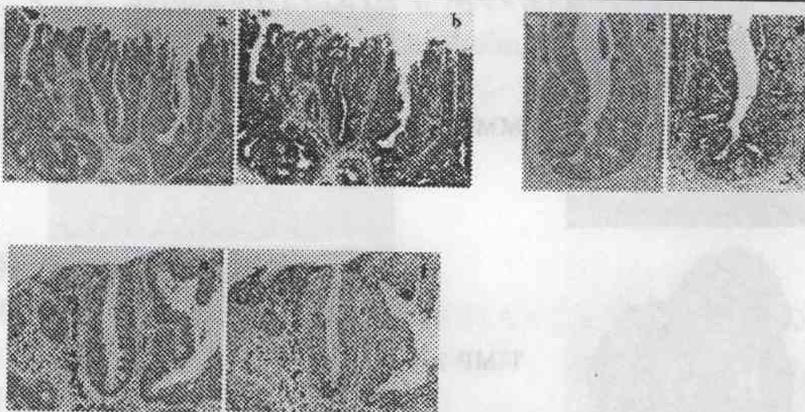


図5 早期大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と*in situ hybridization*
a, c: syndecan-1蛋白発現陽性, e: syndecan-1蛋白発現陰性
b, e: syndecan-1 mRNA陽性, f: syndecan-1 mRNA陰性

1の発現と予後との関連をみると、蛋白発現陰性例は陽性例に比べて有意に予後が悪かった

(Kaplan-Meier法, $p < 0.005$) (表3)。また、比例ハザードモデルによる多変量解析を行うと、syndecan-1蛋白の発現は独立した予後因子であることが明らかとなった (Hazard比 2.9, 95%CI 1.28-6.64) (表4)。

表2 大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と臨床病理所見の関係

	Syndecan-1 expression		P-value
	positive (++) or (+)	negative (± or -)	
Age (mean ± SE)	64 (35-81)	68 (40-82)	$p=0.2154$
Sex			
M	45	20	$p=0.3332$
F	24	16	
Tumor size (mean ± SE)	25 (5-120)	25 (5-90)	$p=0.4576$
T factor			
T1-2	37	16	$p=0.3719$
T3-4	32	20	
N factor			
N0	54	21	$p=0.0319$
N1-3	15	15	
Liver metastasis			
-	67	30	$p=0.0116$
+	2	6	
Histological grade			
Well differentiated adenocarcinoma	37	8	$p=0.0020$
Moderately or poorly differentiated adenocarcinoma	32	28	

以上の結果から、大腸癌におけるsyndecan-1の発現低下は、転写前に制御されていると考えられ、その発現低下は大腸癌の悪性化や転移に関与していることが推測できる。さらにsyndecan-1の発現低下は大腸癌の予後マーカーとしても有用であると考えられた。

表3 大腸癌におけるsyndecan-1蛋白の発現と予後 (Kaplan-Meier法)

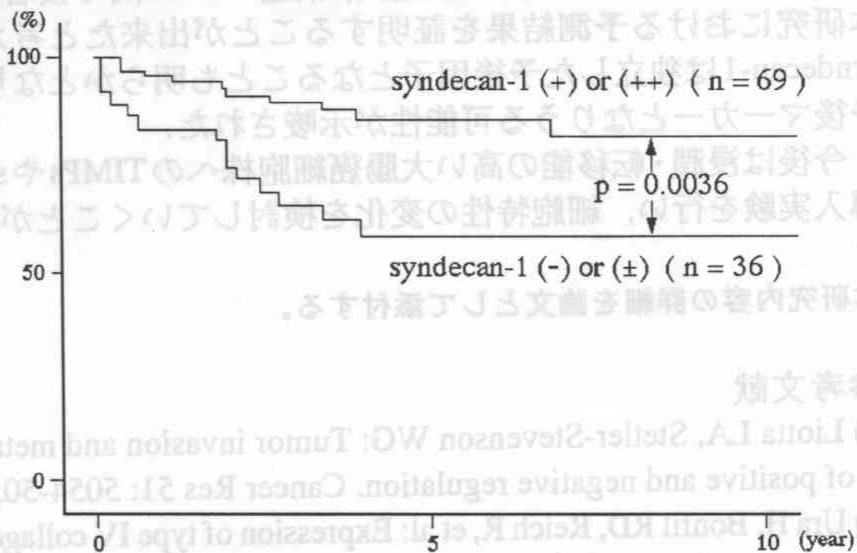


表4 大腸癌における予後因子の解析 (比例ハザードモデルによる多変量解析)

	hazard ratio	95% C.I.
T3 or 4 tumor	25.98	3.49-193.64
With lymphnode metastasis	2.35	1.04-5.30
With liver metastasis	3.24	1.26-8.36
Syndecan-1 negative carcinoma	2.91	1.28-6.64

考察・今後の展望

MMP-2, TIMP-2の発現の結果から, がん細胞では腺腫に比べてMMP-2蛋白の発現が強くみられるものの同時にTIMP-2の発現も腺腫より強く引き起こされていることがわかった. しかし, 肉眼型別にみると, MMP-2/TIMP-2蛋白の発現陽性率比は腫瘍径が最も小さい表面陥凹型で最も高いという結果であった. すなわち, 表面陥凹型癌では他の形態と比べてMMP-2の発現に比し, その特異的inhibitorであるTIMP-2の発現が相対的に低いことを意味し, 腫瘍径が最も小さな内に浸潤を来すという本腫瘍の生物学的特徴をうまく説明できる可能性がある. 今後はin situ hybridizationによるmRNA発現の確認が必要であるが, 最近TIMP-2は活性型MMPだけではなく潜在型MMPとも結合し, MMPの働きを阻害することが解明されてきており, 今後はzymographyによる活性型の検討も必要である.

syndecan-1は早期大腸癌においては肉眼形態間での発現の差は認めなかったが, リンパ節転移, 癌の低分化, 細胞の簇出と有意な相関を認めた. すなわち, 今回の研究結果で証明されたsyndecan-1の発現低下は, がん細胞が転移能の獲得に必要な細胞-細胞間, 細胞-ECM間の接着能の低下を意味し, 本研究における予測結果を証明することが出来たと考えられる. さらに, syndecan-1は独立した予後因子となることも明らかとなり, 大腸癌の新たな予後マーカーとなりうる可能性が示唆された.

今後は浸潤・転移能の高い大腸癌細胞株へのTIMPsやsyndecan-1の遺伝子導入実験を行い, 細胞特性の変化を検討していくことが課題である.

本研究内容の詳細を論文として添付する.

参考文献

- 1) Liotta LA, Stetler-Stevenson WG: Tumor invasion and metastasis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Res* 51: 5054-5059, 1991
- 2) Ura H, Bonfil RD, Reich R, et al: Expression of type IV collagenase and procollagen genes and its correlation with the tumorigenic, invasive, and metastatic abilities of oncogene-transformed human bronchial cells. *Cancer Res* 49: 4615-4621, 1989
- 3) Paulsom R, Pignatelli M, Stetler-Stevenson WG, et al: Stromal expression of 72 kda type IV collagenase (MMP-2) and TIMP-2 mRNAs in colorectal neoplasia. *Am J Pathol* 141: 389-396, 1992
- 4) Stetler-Stevenson WG, Liotta LA and Kleiner DF Jr: Extracellular matrix 6: Role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *FASEB J* 7: 1434-1441, 1993
- 5) Inki P, Stenback F, Grenman S, et al: Immunohistochemical localization of syndecan-1 in normal and pathological human uterine cervix. *J Pathol* 172: 349-355, 1994

- 6) Inki P, Joensuu H, Grenman R, et al: Association between syndecan-1 expression and clinical outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Br J Cancer* 70 : 319-323, 1994
- 7) Matsumoto A, Ono M, Fujimoto Y, Gallo RL, Bernfield M and Kohgo Y: Reduced expression of syndecan-1 in human hepatocellular carcinoma with high metastatic potential. *Int J Cancer* 74: 482-491, 1997
- 8) Nackaerts K, Verbeken D, Vanderschuren B, et al: Heparan sulfate proteoglycan expression in human lung-cancer cells. *Int J Cancer* 74: 335-345, 1997
- 9) Tnabe H, Yokota K and Kohgo Y: localization of syndecan-1 in human gastric mucosa associated with ulceration. *J Pathol* 187: 338-344, 1999