



Title	髄膜腫におけるCD44発現に関する研究
Author(s)	澤谷, 亮佑
Description	配架番号 : 2874
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16150号
Issue Date	2024-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16150
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93544
Type	doctoral thesis
File Information	SAWAYA_Ryosuke.pdf



学位論文

髄膜腫における CD44 発現に関する研究

(A study on the increased CD44 expression in primary
meningioma)

2024 年 9 月

北海道大学

澤谷 亮佑

学位論文

髄膜腫における CD44 発現に関する研究

(A study on the increased CD44 expression in primary
meningioma)

2024 年 9 月

北海道大学

澤谷 亮佑

目次

発表論文目録および学会発表目録	1
要旨	2
略語表	4
諸言	5
方法	7
結果	11
考察	17
結論	20
謝辞	21
利益相反	22
引用文献	23

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Sawaya R, Yamaguchi S, Ishi Y, Okamoto M, Echizenya S, Motegi H, Fujima N, Fujimura M.
Increased CD44 expression in primary meningioma: its clinical significance and association with peritumoral brain edema.
J Neurosurg. 2024. (Publish Before Print) doi: 10.3171/2023.11.JNS231884.

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. 澤谷 亮佑, 山口 秀, 岡本 迪成, 越前谷 すみれ, 茂木 洋晃, 藤村 幹
髄膜腫における CD44 の発現についての検討
第 40 回日本脳腫瘍学会学術集会, 2022 年 12 月・千葉
2. 澤谷 亮佑, 山口 秀, 伊師 雪友, 岡本 迪成, 越前谷 すみれ, 茂木 洋晃, 藤間 憲幸, 藤村 幹
髄膜腫における CD44 の発現についての検討
第 23 回日本分子脳神経外科学会, 2023 年 8 月・宮崎
3. 澤谷 亮佑, 山口 秀, 伊師 雪友, 岡本 迪成, 越前谷 すみれ, 茂木 洋晃, 藤間 憲幸, 藤村 幹
髄膜腫における CD44 の発現についての検討
第 82 回日本脳神経外科学会学術総会, 2023 年 10 月・神奈川

要旨

【背景と目的】髄膜腫は原発性脳腫瘍のうち約30%を占める最も一般的な腫瘍である。髄膜腫の大部分は世界保健機関 (World Health Organization: 以下 WHO) グレード 1 の良性腫瘍であり、外科的切除によって治癒が可能であるが、ときに腫瘍周囲脳浮腫 (peritumoral brain edema; 以下 PTBE) を伴い、重篤な場合には神経脱落症状を呈したり、てんかん発作の原因となったりすることで治療に難渋することがある。

CD44 はヒアルロン酸や他の多くの細胞外マトリックス成分に対する細胞表面レセプターである。ほとんど全てのヒト細胞に発現しており、細胞接着、細胞移動、血管新生、増殖、炎症等に関与し、近年は特にがん幹細胞マーカーとみなされている。CD44 とヒアルロン酸の相互作用により、様々な癌において腫瘍の浸潤と移動を促進することが報告されている。

髄膜腫における CD44 発現を調べた研究はわずかであり、主に CD44 発現と増殖能または予後との関連にのみ焦点が当てられていた。しかし CD44 の発現は細胞増殖以外に細胞移動や炎症に関与しているため、その他の臨床因子にも影響を与えていることが考えられた。そこで本研究では、初発髄膜腫の凍結保存検体を用いて、初発髄膜腫における CD44 発現と臨床因子との相関について明らかにすることを目的に検証を行った。

【対象と方法】2003 年から 2022 年までに北海道大学病院脳神経外科で摘出術を受けた初発髄膜腫患者 106 症例を後方視的に評価した。保存腫瘍凍結標本より total RNA を抽出し、SYBR green 法による定量的逆転写 PCR 法を用いて CD44 mRNA 発現量を定量した。また免疫化学染色法を用いて、CD44 タンパクの発現と、炎症性マーカーである IL-6 の発現についての検証を行った。これらのデータと、年齢、性別、腫瘍の部位、腫瘍の大きさ、病理組織学的悪性度 (WHO グレード)、組織学的サブタイプ、予後、および PTBE を含む画像所見といった臨床因子との関係を解析した。PTBE は Steinhoff classification (0, I, II, III の 4 段階; 以下 SC) を用いた半定量的方法と、Edema Index を用いた定量的方法で評価した。

【結果】WHO グレード 2 および 3 の悪性髄膜腫における CD44 遺伝子発現は、グレード 1 の良性髄膜腫における発現よりも有意に高かった ($p=0.0044$)。さらに注目すべきは、PTBE の重症度に応じて CD44 発現が増加したことで、SC-II および SC-III の PTBE を伴う髄膜腫を伴う髄膜腫の CD44 発現値は、PTBE のない (SC-0) 髄膜腫と比較してそれぞれ有意に高かった (それぞれ $p=0.0037$ および $p=0.021$)。PTBE を定量的に評価した Edema index に対しても、CD44 の発現レベルは有意に相関していた ($r=0.413$, $p=0.000011$)。一方で、年齢、腫瘍の大きさ、腫瘍の部位、予後に関しては CD44 発現の程度で有意差は認められなかった。

またWHO分類によるグレード別、および腫瘍の大きさ別に、CD44発現とPTBEの関係について分析した。その結果WHOグレード1の髄膜腫においてSC-IIおよびSC-IIIのPTBEを伴う髄膜腫のCD44発現はPTBEを伴わない (SC-0)髄膜腫のそれよりもそれぞれ有意に高く(それぞれ $p = 0.040$ 、 $p = 0.022$)、43mm未満の小型腫瘍においては、SC-II/III群のCD44発現は、SC-0群のそれよりも有意に高かった ($p = 0.0034$)。

加えて組織学的サブタイプによる検証において、PTBEを高頻度に伴う血管腫型、微小嚢胞型、および分泌型髄膜腫の要素を含む症例では、これらを含まない症例よりもCD44の発現が有意に高かった ($p = 0.018$)。

さらに初発髄膜腫のPTBEにおけるCD44発現に他の臨床因子が影響するかどうかを評価するため多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、CD44の発現値は初発髄膜腫における重度PTBE (SC-II/III) 発症の独立したリスク因子であることが明らかにになった (OR 1.63, $p = 0.0050$)。

CD44は炎症との関連性が知られていることから、PTBEが炎症と関連していると考えた。CD44発現と炎症との相関を評価するため、高PTBE (SC-II/III) 4検体と低PTBE (SC-0/I) 6検体で、代表的炎症性マーカーであるIL-6の免疫染色を行った。高PTBE群ではCD44およびIL-6の発現は陽性となる傾向を示し、対照的に、低PTBE群ではCD44およびIL-6の染色は陰性の傾向を示した。

【考察】今回われわれの研究では、腫瘍の活動性・侵襲性に加えて、髄膜腫におけるCD44発現の程度とPTBEとの間に正の相関があることを新たに見出した。髄膜腫におけるPTBEの発生機序は完全には解明されておらず、腫瘍による脳実質や脳静脈洞の圧迫や腫瘍の悪性度では説明のつかないPTBEを経験することがある。本研究では、WHOグレード1の良性腫瘍や小型腫瘍において、よりCD44発現とPTBEの間に関連が見られたことから、CD44発現が髄膜腫におけるPTBEの発症を促進する分子因子である可能性が示された。この機序として、CD44の発現によって引き起こされる炎症反応によりPTBEが引き起こされていることが考えられ、われわれのIHCの結果はこの可能性を支持するものであった。

PTBEは、髄膜腫における周術期てんかん発症の因子の1つであり、これによって患者のQOLに悪影響を与えたり、認知機能低下をもたらしたりする。髄膜腫のPTBE発生におけるCD44の役割がさらに解明され、CD44の過剰発現が髄膜腫におけるPTBEの治療標的となりうれば、髄膜腫関連合併症の管理に役立つ可能性がある。

【結論】髄膜腫におけるCD44の発現は、PTBEの発生と関連していた。分子機序についてはさらなる研究によって明らかにする必要があるが、CD44は髄膜腫におけるPTBEの治療標的となる可能性がある。

略語表

本文および図中で使用した略語は以下の通りである。

CD44	cluster of differentiation 44
CDKN2A	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
CI	Confidence Interval
EI	Edema Index
FOXM1	Forkhead box M1
IHC	Immunohistochemistry
MRI	Magnetic Resonance Imaging
OS	Overall survival
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFS	Progression free survival
PTBE	Peritumoral brain edema
RT-qPCR	Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction
SC	Steinhoff Classification
T1WI	T1-weighted image
T2WI	T2-weighted image
TERT	Telomerase Reverse Transcriptase
VEGF-A	Vascular Endothelial Growth Factor A
WHO	World Health Organization

緒言

髄膜腫は原発性脳腫瘍の中で最も頻度の高いものであり、その約30%を占めている。髄膜腫は、世界保健機関 (World Health Organization: 以下 WHO)の基準を用いて、組織学的悪性度により3つのグレードに分類される (Louis et al, 2021)。グレード1のものが髄膜腫全体のうち80-90%と大部分を占め、緩徐に増大する良性腫瘍である。一方グレード2および3の髄膜腫では再発率が高く、全摘出後の再発率がそれぞれ9%、50%と報告されており、予後不良である (Chohan et al, 2018)。また、グレード1の髄膜腫の大半は外科的に完全切除することで治癒可能であるが、一部の髄膜腫では、完全切除後も再発を繰り返す、難治性のてんかんをひきおこす、あるいは広範な腫瘍周囲脳浮腫 (Peritumoral Brain Edema; 以下 PTBE)による神経症状をひきおこすなど、良性の組織像にもかかわらず治療に難渋する臨床的特徴を示すことがある (Boylan and McCunniff, 1988; Elbadry Ahmed et al, 2022; Osawa et al, 2013; Berhouma et al, 2019)。特に PTBE に関しては比較的高い頻度で観察されるものの、その機序については未だ完全には解明されておらず、脳実質や脳静脈洞の圧迫などの物理的要因から、血管内皮細胞増殖因子 A (Vascular Endothelial Growth Factor A: 以下 VEGF-A)の関与など分子生物学的要因まで、様々な報告がなされている。

髄膜腫の予後についての予測因子としては組織学的悪性度 (WHO グレード)、Ki-67 標識指数、およびリン酸化ヒストン H3 などが報告されているが、さらに最近の研究では、いくつかの重要な分子因子が同定されている。例えばテロメラーゼ逆転写酵素 (Telomerase Reverse Transcriptase: TERT)プロモーター変異は様々な癌腫で予後に関与することが報告されているが、髄膜腫においても変異を有する症例では全生存期間が有意に短かったことが報告されている (Spiegel-Kreinecker et al, 2018)。その他、サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 2A (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A: CDKN2A)のホモ接合体欠失 (Boström et al, 2001)や Forkhead box M1 (FOXM1)の過剰発現 (Yamazaki et al, 2021)などが挙げられる。さらに、cluster of differentiation 44 (以下 CD44)の過剰発現も髄膜腫の予後に関連する分子因子として報告されている (Kamamoto et al, 2018; Mostafa and Khairy, 2017)。

CD44 は複雑な膜貫通型糖タンパク質であり、ヒアルロン酸やその他の多くの細胞外マトリックス成分をリガンドとする、細胞表面レセプターである。胚性幹細胞、文化細胞、およびがん細胞を含むほとんど全てのヒト細胞に発現しており、細胞シグナル伝達、細胞接着、細胞移動、血管新生、増殖、炎症などに関与している (Mostafa and Khairy, 2017)。例えば白血球上の CD44 は、活性化した血管内皮の表面に発現しているヒアルロン酸と結合することにより、流動下でのローリングをサポートしている (DeGrendele et al, 1996)。CD44 はまた、炎症性腸疾患、関節炎、皮膚炎症などのい

くつかの炎症性疾患においても重要な役割を果たしており、抗 CD44 抗体の投与がさまざまな炎症性疾患のモデルマウスにおいて炎症を抑制したという研究がある。

(Camp et al, 1993; Günthert, 1999; Zeidler et al, 1995)。

これまでに髄膜腫における CD44 発現について検討した研究はわずかであり、主に CD44 発現と増殖能または予後との関連にのみ焦点が当てられていたため (Kamamoto et al, 2018; Mostafa and Khairy, 2017)、CD44 発現とその他の因子との関連については明らかになっていなかった。しかし、前述の通り CD44 発現は細胞増殖だけでなく腫瘍細胞の移動・接着や血管新生、炎症をも制御していることから、CD44 発現は髄膜腫のその他のさまざまな臨床因子にも影響を及ぼしている可能性があると考えられた。

このような背景を踏まえ、本研究では初発髄膜腫における CD44 発現と臨床因子との相関を明らかにするため、髄膜腫の凍結手術標本を用いた検討を行った。本研究によって、初発髄膜腫に関して新規治療へとつながる新しい知見を見出す可能性を有すると考えた。

方法

I. 対象症例

北海道大学病院において、2003年から2022年までに初発髄膜腫に対して手術加療が行われ、凍結検体が入手可能であった連続検体106例を対象とした。再発腫瘍は除外した。

II. 遺伝子発現の解析および臨床データの収集

初発髄膜腫におけるCD44発現と臨床因子との相関について解析することを目的とし、下記の手順で解析およびデータ収集を行った。

<CD44発現の解析：逆転写定量的リアルタイムPCR（Reverse Transcription Quantitative PCR: 以下RT-qPCR）>

市販のヒト髄膜total RNA (Cat.No.1405, ScienCell Research Laboratories社、カリフォルニア、アメリカ)を対照サンプルとして使用すべく入手した。TRIzol試薬 (Thermo Fisher Scientific社、ウォルサム、アメリカ)とQuickGene-AutoS RNA tissue Kit (倉敷紡績株式会社、東京、日本)を用いて、-80°Cで保存してあった初発髄膜腫凍結組織からtotal RNAを抽出した。抽出したtotal RNAはすべて分光光度計NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific社)を用いて収量および純度を確認し、純度に関しては吸光度比A260/A280が2.0以上であることを確認したうえで、これらは-80°Cで保存した。

抽出したtotal RNAより、PrimeScript TM II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (タカラバイオ株式会社、滋賀、日本)を用い、65°C・5分間の熱変性を行った後、30°C・10分間、42°C・30分間、95°C・5分間の設定で逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction: 以下PCR) 反応を行い、complementary DNA (以下cDNA)を合成した。PCRには以下のプライマーを用いた。

CD44 forward (5'-GATGGAGAAAGCTCTGAGCATC-3')

CD44 reverse (5'-TTGCTGCACAGATGGAGTTG-3')

β -アクチン forward (5'-GTGAAGGTGACAGCAGTCGGGTT-3')

β -アクチン reverse (5'-GAAGTGGGTGGCTTTTAGGAT-3')

次にcDNAより定量的PCR (quantitative PCR; 以下qPCR)を行った。qPCR分析は、FastStart Essential DNA Green Masterの試薬とLightCycler 96 (Roche Diagnostics社、バーゼル、スイス)を用いたSYBR green法で行った。PCR反応には上記のプライマーを用いた。すべてのqPCR実験は3連で行い、3値の平均値を表した。各サンプルにおける β -アクチンと比較した相対的なCD44 mRNA発現レベルを、ヒト髄膜total RNAを標準サンプルとして $\Delta\Delta CT$ 法を用いて、qPCRで測定した (Livak and Schmittgen,

2001)。

<CD44とIL-6の免疫組織化学染色 (Immunohistochemistry: 以下IHC)>

CD44タンパクの発現および炎症性マーカーであるIL-6の発現を確認するために、凍結検体とは別のホルマリン固定パラフィン包埋された腫瘍切片を用意した。パラフィンブロックより薄切した切片をキシレンに合計30分間浸して脱パラフィン化した後、熱誘導クエン酸ナトリウム緩衝液（CD44はpH9.0、IL-6はpH6.0）を圧力下に加熱沸騰させ、3分間の加熱による抗原賦活処理を行った。3%過酸化水素水で内因性ペルオキシダーゼ活性をブロッキングした後、一次抗体として1:1000に希釈したマウスモノクローナル抗CD44抗体（Cat.No.60224-1-Ig、Proteintech社、ロゼモン、アメリカ）および1:1000に希釈したウサギポリクローナル抗IL-6抗体（Cat.No.21865-1-AP、Proteintech社）を加え、4℃で一晩インキュベートした。二次抗体はペルオキシダーゼ標識ヤギポリクローナル抗ウサギ/マウスIgG抗体（Cat.No.424151、ニチレイバイオサイエンス、東京）を用い30分間室温で反応させた。ジアミノベンジジンによる発色を2-3分間行い、その後コントラスト増強のためにヘマトキシリンによる対比染色を行った。CD44およびIL-6の免疫染色については細胞質の染色の有無を評価した。CD44およびIL-6陽性染色細胞の割合が50%未満の場合を陰性、50%以上の場合を陽性と評価した。

<臨床データの収集>

年齢、性別、腫瘍の位置、腫瘍の大きさ、PTBE、病理組織学的悪性度（WHOグレード）、組織学的サブタイプ、予後（全生存期間 (Overall survival: 以下OS)および無増悪生存期間 (Progression free survival: 以下PFS)) の臨床データを、診療記録から入手した。

このうち腫瘍の位置、腫瘍の大きさ、PTBEについては、全106例の術前MRI (Magnetic Resonance Imaging)画像を後方視的に解析した。腫瘍の位置は、テント上またはテント下に分類した (Teranishi et al, 2022)。腫瘍の大きさ (最大腫瘍径)は造影後T1強調画像 (T1-weighted image: 以下T1WI) で評価し、PTBEは患者の臨床データを盲検化した放射線科医 (N. F.) が流体減衰性反転回復 (fluid attenuated inversion recovery: 以下FLAIR) 画像で評価した。PTBEはSteinhoff分類 (Steinhoff Classification: 以下SC)を用いて評価した (表1)。その分類は0からIIIまでの4段階で評価される。代表的な症例を図1に示す。

表1 Steinhoff classification

Steinhoff classification	定義
0	腫瘍周囲に浮腫なし
I	腫瘍周囲脳浮腫が腫瘍辺縁から2cmまで
II	腫瘍周囲脳浮腫が腫瘍辺縁から2cm以上、半球の半分まで
III	腫瘍周囲脳浮腫が半球の半分以上

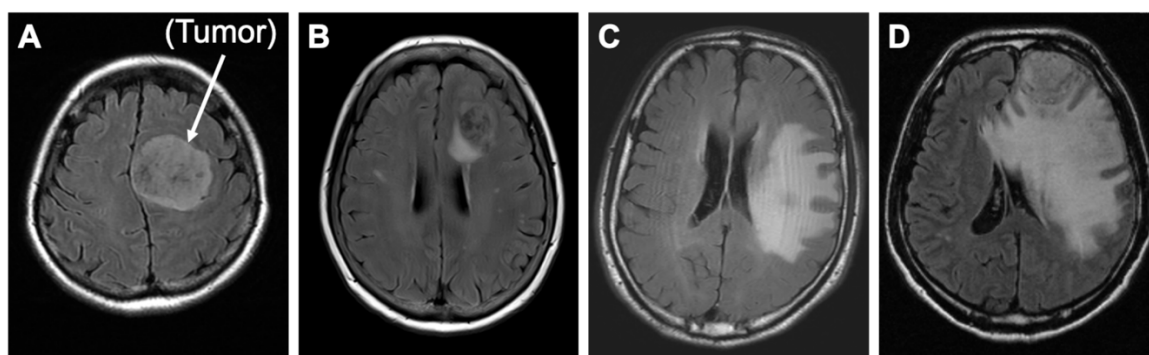


図1 代表的症例のMRI画像

腫瘍周囲脳浮腫 (PTBE)に関して、Steinhoff分類を用いて4段階に評価した。

PTBEはまた、Edema indexを用いることで定量的にも評価した。腫瘍の最大径 (a)とaに垂直な径 (b)を造影後T1WI水平断画像で測定し、冠状方向の径 (c)は冠状断または矢状断画像で評価した。腫瘍体積 (Vt)は以下の球体体積の公式を用いて算出した： $V = 4\pi/3 \times abc$ 。腫瘍とPTBEの合計体積 (VT)は、同じ方法でT2強調画像 (T2-weighted image: 以下T2WI)で測定した。腫瘍周囲の浮腫体積 (Ve)は以下のように計算した： $Ve = VT - Vt$ 。VeとVtの比を浮腫指数 (Edema Index: 以下EI)と定義した。

III. 検討項目

上記IIで得られたデータをもとに、初発髄膜腫におけるCD44発現と、その臨床因子（年齢、性別、腫瘍の位置、腫瘍の大きさ、PTBE、病理組織学的悪性度（WHOグレード）、組織学的サブタイプ、予後）との相関について解析を行った。

IV. 統計学的解析方法

CD44 mRNA発現量は、2群間ではMann-Whitney U検定、3群以上ではKruskal-Wallis

検定を用いて比較した。生存解析はKaplan-Meier法を用いて行い、群間差はlog-rank検定を用いて比較した。OSおよびPFSの推定値はKaplan-Meier曲線で示した。OSとPFSは初回手術時から算出した。CD44 mRNA発現量は中央値を用いて高発現群と低発現群に分類した。

PTBEに対する臨床因子およびCD44発現との関係を解析するために、多変量ロジスティック回帰分析を行い、PTBEのオッズ比を95%信頼区間 (Confidence Interval: 以下CI)とともに算出した。対象とした変数は、年齢、性別、組織学的悪性度、腫瘍部位、腫瘍最大径、およびCD44発現レベルであった。P値<0.05を統計的に有意と定義した。

統計解析はRソフトウェア (Ver. 4.0.4, The R Project for Statistical Computing)と、そのグラフィカルユーザーインターフェイスであるEZR (Ver. 1.54, 自治医科大学附属さいたま医療センター)を用いて行った。

V. 倫理的配慮

本研究で行われたすべての操作は、1964年のヘルシンキ宣言とその後の修正に従った。また本研究は、北海道大学病院倫理委員会の承認を得ており (承認申請番号015-0154)、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して実施した。本研究は後方視的研究であるため、同倫理委員会によりインフォームド・コンセントの要件は免除された。

結果

<患者背景>

106例の患者の特徴を表2に示す。診断時の年齢中央値は60歳（20-84歳）であった。85例の腫瘍がWHOグレード1、21例がグレード2または3と診断された。腫瘍の最大径の中央値は43mmであった。PTBEは69例の腫瘍で観察され、そのうち27例がSC-I、30例がSC-II、12例がSC-IIIであった。37例の腫瘍ではPTBEを認めなかった（SC-0）。

表2 患者背景

背景		症例数 (%)
全症例		106
性別	男性	35 (33.0%)
	女性	71 (67.0%)
年齢 (中央値、歳) [範囲]		60 [20–84]
WHO グレード	1	85 (80.2%)
	2	20 (18.9%)
	3	1 (0.9%)
腫瘍の位置	テント上	83 (78.3%)
	テント下	23 (21.7%)
PTBE (SC)	0	37 (34.9%)
	I	27 (25.5%)
	II	30 (28.3%)
	III	12 (11.3%)
腫瘍最大径 (中央値、mm) [範囲]		43 [14–93]

WHO, World Health Organization; PTBE, Peritumoral Brain Edema; SC, Steinhoff classification.

<CD44 発現と臨床因子との関係>

WHO グレード 2 または 3 の髄膜腫における CD44 発現は、グレード 1 の髄膜腫よりも有意に高かった ($p=0.0044$; 図 2A)。女性患者の腫瘍における CD44 発現もまた、男性患者のものよりも有意に高かった ($p=0.026$; 図 2B)。そして最も注目すべきこととして、PTBE の重症度とともに CD44 発現が有意に増加した。PTBE のない髄膜腫 (SC-0) と比較して、重度の PTBE を伴う、すなわち SC-II および SC-III の髄膜腫において CD44 発現レベルは有意に高かった (それぞれ $p=0.0037$ および $p=0.021$; 図 2C)。

対称的に、年齢、腫瘍径、腫瘍部位、および予後 (OS、PFS) に関しては CD44 発

現の程度で有意差は認められなかった (図 2D-2H)。

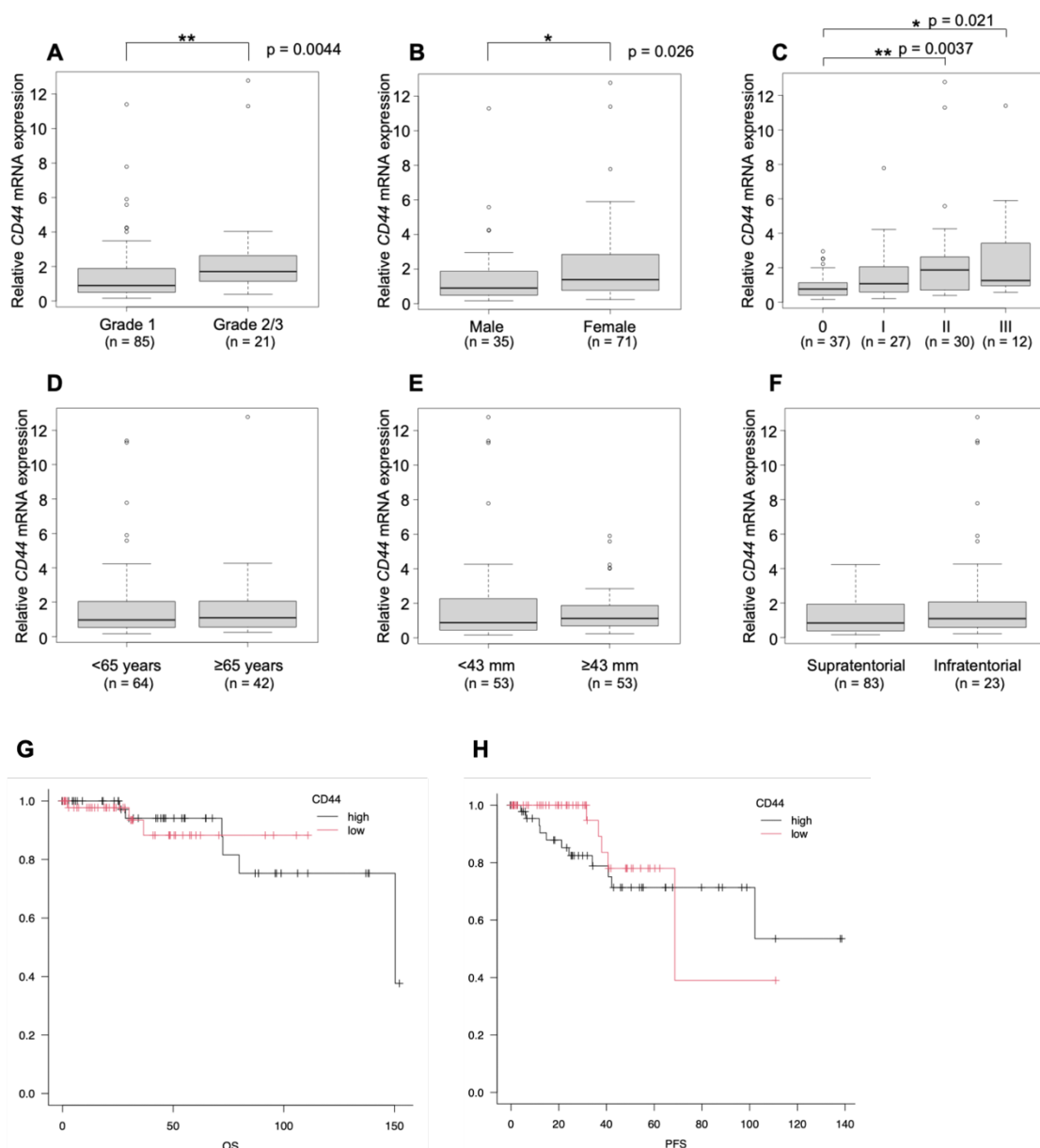


図2 各臨床因子とCD44発現レベルと各臨床因子との関係

A: WHOグレード、B: 性別、C: Steinhoff分類を用いて評価した腫瘍周囲脳浮腫、D: 年齢、E: 腫瘍最大径、F: 腫瘍の位置、G: 全生存期間、H: 無増悪生存期間。* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

<CD44発現と腫瘍周囲脳浮腫 (PTBE)との相関についての解析>

さらに、CD44 発現と PTBE の相関について詳細な解析を行った。PTBEを定量的に評価したEIに対しても、CD44の発現レベルは有意に相関していた ($r = 0.413$, $p =$

0.000011；図3A）。

WHO分類による悪性度別に、CD44発現とPTBEの関係について分析した。WHOグレード2および3の悪性髄膜腫（n=21）では、PTBE分類によるCD44発現に有意差は認められなかった。しかしながら、WHOグレード1髄膜腫（n=85）においては、SC-IIおよびSC-IIIにおけるCD44発現は、SC-0のそれと比較して有意に高かった（それぞれ $p=0.040$ 、 $p=0.022$ 、図3B）。

腫瘍の大きさはPTBEに影響を与える可能性があるため (Maiuri et al, 1987)、腫瘍の大きさ毎にCD44発現とPTBEの相関も分析した。腫瘍の最大径の中央値が43mmであったため、最大径43mm以上の腫瘍を大型腫瘍、43mm未満の腫瘍を小型腫瘍と分類した。大型腫瘍（n=53）では、SC分類による群間でCD44発現に有意差は認められなかった。その一方で小型腫瘍（n=53）では、SC-II/IIIのPTBEを伴う髄膜腫のCD44発現は、PTBEを伴わない (SC-0)髄膜腫のそれよりも有意に高かった（ $p=0.0034$ ）（図3C）。

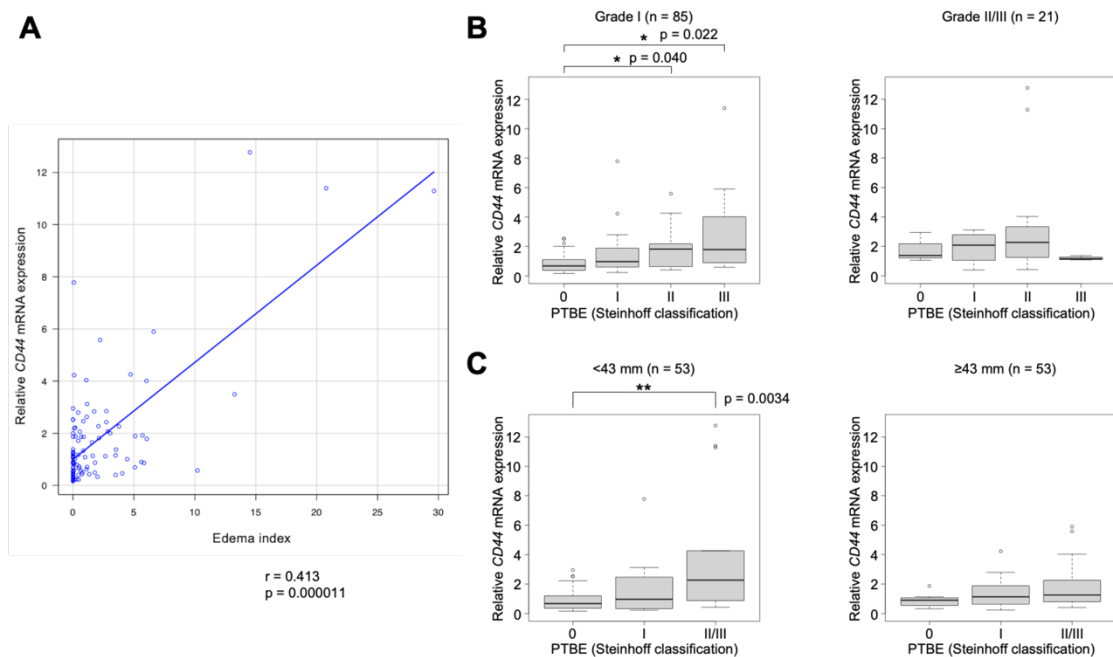


図3 CD44発現とPTBEとの関係

A: 全症例（n=106）におけるEdema indexとCD44発現との相関。B: WHOグレード別の、CD44発現とPTBEとの関係（左: グレード1、右: グレード2または3）。C: 腫瘍の大きさ別の、CD44発現とPTBEとの関係（左: 小型腫瘍—腫瘍径43mm未満、右: 大型腫瘍—43mm以上）。* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

さらにWHOグレード1の髄膜腫における組織学的サブタイプとCD44発現の関係に

についても解析を加えた。サブタイプはグレード1の髄膜腫85例中、57例で診断されていた。血管腫型、微小嚢胞型、および分泌型髄膜腫はPTBEを高頻度に伴うことが知られているため (Osawa et al, 2013; Paek et al, 2005)、これらの組織学的サブタイプとCD44発現の関連を解析した。その結果、これらの3つの組織学的構成要素を有する症例 (n=7)のCD44発現は、これらの構成要素を有さない症例 (n=50)よりも有意に高かった (図4、 $p=0.018$)。

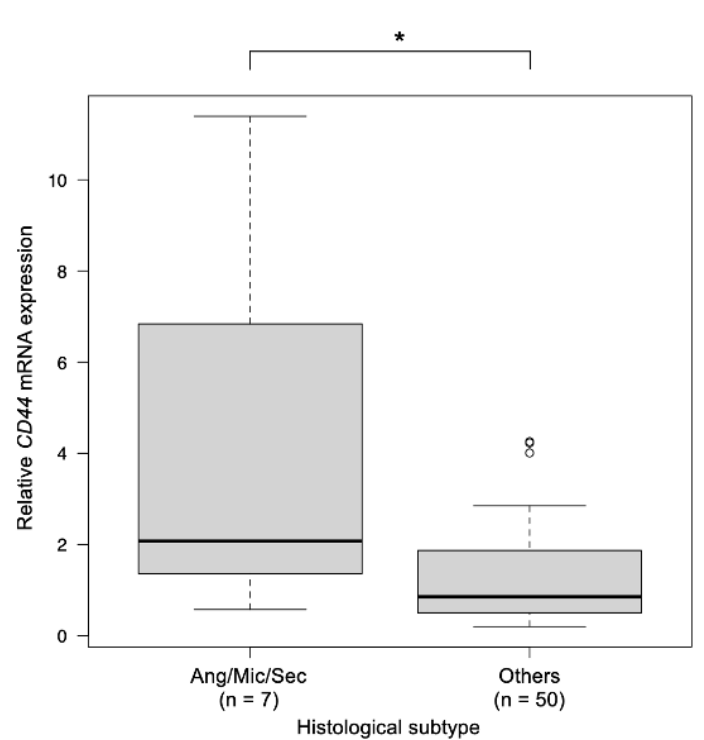


図4 CD44発現とWHOグレード1髄膜腫の組織学的サブタイプとの関係
血管腫性、微小嚢胞性、または分泌性の成分を含む腫瘍 (Ang/Mic/Sec)と、これらの成分を含まない腫瘍 (Others)におけるCD44発現の比較。Ang；血管腫性、Mic；微小嚢胞性、Sec；分泌性。* $p < 0.05$

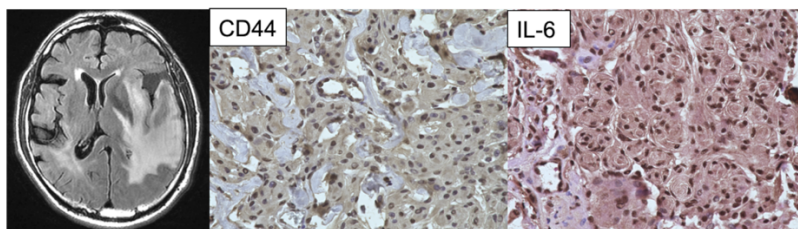
<CD44とIL-6のIHC>

CD44は炎症と関連しているという報告があることから (Govindaraju et al, 2019; Naor et al, 2007; Turley et al, 2002)、PTBE発生には炎症が関与していると推測した。CD44の発現と炎症との相関を評価するため、PTBEが高度 (SC-II/III、高PTBE群) の4検体と、PTBEがないもしくは軽度 (SC-0/I、低PTBE群) の6検体を用いて、CD44と、代表的な炎症マーカーであるIL-6のIHCを行った (Park et al, 2010)。高PTBE群では、4検体中4検体ともに、CD44およびIL-6の陽性が観察された (図4A)。対照的に、低PTBE群ではCD44、IL-6の陰性が観察された (図4B)。CD44の発現は腫瘍細胞の細胞質で

観察された。

A

PTBE-high group (n = 4)		
	IL-6 (+)	IL-6 (-)
CD44 (+)	4	0
CD44 (-)	0	0



B

PTBE-low group (n = 6)		
	IL-6 (+)	IL-6 (-)
CD44 (+)	0	0
CD44 (-)	0	6

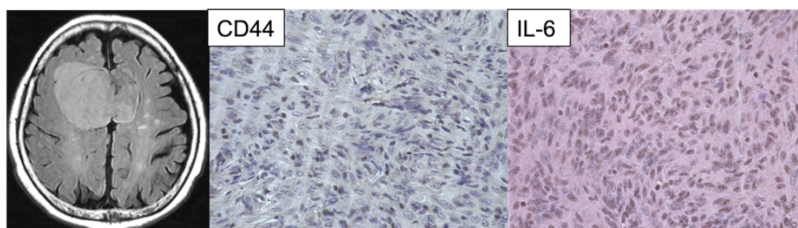


図5 高PTBE群と低PTBE における、CD44およびIL-6のIHC所見の比較

A: 高PTBE群、B: 低PTBE群

<腫瘍周囲脳浮腫 (PTBE)発生因子についての分析>

初発髄膜腫のPTBEにおけるCD44発現に、他の臨床因子が影響するかどうかを評価した。表2に単変量および多変量ロジスティック回帰分析の結果を示す。重度PTBE (SC-II/III) の発症のオッズ比 (OR) を算出した。患者の年齢 (OR 1.05、 $p = 0.0056$) および腫瘍の大きさ (OR 1.04、 $p = 0.026$) に加えて、CD44発現は他の臨床因子を調整した後、重症PTBEの独立した危険因子であった (OR 1.63、 $p = 0.0050$)。

表 2 重度腫瘍周囲脳浮腫発生についての単変量および多変量ロジスティック回帰分析

		Univariate analysis			Multivariate analysis		
		Odds ratio	95% CI	p values	Odds ratio	95% CI	p values
年齢		1.04	1.01-1.07	0.0066*	1.05	1.01-1.08	0.0056*
性別	女性	1					
	男性	2.07	0.91-4.73	0.083			
WHO グレード	1	1					
	2-3	4.07	1.48-11.2	0.0066*	1.55	0.47-5.14	0.48
腫瘍の位置	テント上	1					
	テント下	5.91	1.63-21.4	0.0067*	2.61	0.63-10.8	0.18
腫瘍の大きさ		1.03	1.01-1.06	0.019*	1.04	1.00-1.07	0.026*
CD44 発現		1.52	1.11-2.08	0.0092*	1.63	1.16-2.30	0.0050*

CI, confidence interval; WHO, World Health Organization. *p < 0.05

考察

CD44は主に細胞外マトリックスであるヒアルロン酸に対する多機能性細胞表面接着レセプターであり、近年は特にがん幹細胞マーカーとみなされている (Xu et al, 2020; Yan et al, 2015)。CD44とヒアルロン酸の相互作用により、様々な癌において腫瘍の浸潤と移動を促進することが報告されている(Liu et al, 2019; Rooprai et al, 1999; Wang et al, 2019)。さらに、CD44にはオステオポンチンやマトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix Metalloproteinase: 以下MMP)を含む他のリガンドがある。オステオポンチンとCD44の相互作用は、腫瘍のリンパ行性転移を促進する可能性が示されている (Yu and Stamenkovic, 1999)。

現在までに、髄膜腫におけるCD44発現と臨床因子との関連を調べた研究はわずかであり、いずれもその予後や悪性度に関するものが中心であった。Mostafaらは、CD44がWHOグレード2または3の髄膜腫で高発現し、Ki-67増殖指標の高値と相関していることを報告した(Mostafa and Khairy, 2017)。彼らは、CD44は髄膜腫における活動性・侵攻性のマーカーであると結論づけた。Kamamotoらは、CD44の高発現がWHOグレード2または3の髄膜腫におけるPFSの短縮傾向を示すことを見出した(Kamamoto et al, 2018)。本研究においても先行研究の結果と同様に、WHOグレード2または3の髄膜腫におけるCD44の発現が、グレード1の髄膜腫における発現よりも有意に高いことが示された。さらに、CD44のリガンドの一つであるオステオポンチンの発現も、WHOグレード1の髄膜腫における腫瘍再発の強力な予測因子である (Tseng et al, 2010)。これらの研究は、CD44の過剰発現、そしておそらくCD44とリガンドとの相互作用が髄膜腫の腫瘍増殖活性を促進することを示している。

腫瘍の活動性・侵攻性に加えて、我々の研究では髄膜腫におけるCD44発現の程度とPTBEの重症度との間に正の相関があることを新たに見出した。髄膜腫は、良性のものであっても、しばしばPTBEを伴う。これまでの報告では、PTBEは髄膜腫症例の38%~67%に認められる(Lee et al, 2008; Osawa et al, 2013)。PTBEは、正常脳組織への圧迫と頭蓋内圧の上昇を引き起こすことにより、臨床症状、罹患率、死亡率と関連している (Alaywan and Sindou, 1993; Marmarou et al, 1980)。髄膜腫におけるPTBE発生の機序は単純ではなく、様々な因子が関与している可能性がある。腫瘍の圧迫による脳虚血または静脈還流の障害は、PTBEの原因として比較的単純かつ理解しやすいものである (Lobato et al, 1996; Maiuri et al, 1987)。しかしながら、脳や脳静脈洞の圧迫を引き起こさない小さな髄膜腫でさえ、予期せぬ重篤なPTBEを伴うこともしばしば経験される (Azar et al, 2019)。このように髄膜腫におけるPTBEの発症機序は依然として完全には解明されておらず、さまざまな説が報告されている。これまでの研究で、PTBEの発症はVEFG-A (Reszec et al, 2015)、アクアポリン4 (Gawlitza et al, 2017)、およ

びMMP-9 (Reszec et al, 2015)と関連することが示されていた。

本研究では、重症のPTBEを伴う髄膜腫におけるCD44 発現は、WHOグレード1の悪性度や小型腫瘍であっても、PTBEを伴わないか軽度の髄膜腫より高かったことから、CD44発現が髄膜腫におけるPTBEの発症を促進する分子因子である可能性が示された。考えられる機序の一つは、CD44の発現によって引き起こされる炎症反応である。いくつかの研究で、細胞内プロセスにおけるCD44とヒアルロン酸の相互作用が組織の炎症反応に関与していることが確認されている (Govindaraju et al, 2019; Naor et al, 2007; Turley et al, 2002) 22-24。Häggらは、アテローム性動脈硬化症患者において、CD44発現の増加が炎症性マーカーであるIL-6の分泌増加と相関していることを報告した (Hägg et al, 2007)。Parkらは、髄膜腫におけるIL-6発現とPTBE重症度との間に有意な相関を見出し、IL-6発現が髄膜腫に伴う脳浮腫の発生に寄与している可能性がある」と結論づけた (Park et al, 2010)。本研究では、PTBEの状態に応じて、免疫染色によるCD44発現とIL-6発現との間に正の相関の傾向が観察された。上記の既報の結果と合わせて、本研究の結果は、髄膜腫のPTBEが、CD44が誘発する炎症によって引き起こされる可能性を示した。

PTBE発生機序のもう一つの可能性は、CD44とMMP-9の相互作用である。MMP-9は細胞外マトリックスの分解に関与するタンパク質分解酵素であり、PTBEとも相関している (Jung et al, 2007; Reszec et al, 2015)。Iwadoらは、髄膜腫におけるMMP-9の発現がVEGFの発現および軟膜血流と関連し、くも膜の破壊によりPTBEを誘導することを報告している (Iwado et al, 2012)。MMP-9はCD44のもう一つのリガンドであり、CD44に関連する細胞表面のMMP-9は腫瘍細胞の浸潤と転移を媒介する (Peng et al, 2007; Yu and Stamenkovic, 1999)。これらは、CD44への結合によって誘導されるMMP-9の活性化が、髄膜腫におけるPTBEを促進することを示唆している。

一方で本研究の結果では、腫瘍最大径が43mmを超える大型腫瘍においては、CD44の発現レベルとPTBEの重症度との間に有意な関連は認められなかった。前述の通りPTBEの発症はさまざまな機序と関連しており、腫瘍が実質や静脈を圧迫することによる実質虚血や静脈不全が、その一因として考えられる (Lobato et al, 1996)。大きな腫瘍は脳実質を圧迫し、静脈を巻き込み、PTBEと関連する可能性が高い (Simis et al, 2008)。したがって大型腫瘍においては、PTBEの発症におけるCD44発現の関連性が減弱したものと考えられる。

またPTBEは、髄膜腫における術前および術後のてんかんの重要な臨床因子の1つである (Englot et al, 2016; Simis et al, 2008)。難治性てんかんは、髄膜腫患者のQOLに悪影響を与えたり、認知機能を損なったりする (Elbadry Ahmed et al, 2022)。さらに、van Nieuwenhuizenらは最近、術前のPTBEの容積と術後の認知機能の低下との間に有意な関連を見出し、PTBEの発症は髄膜腫患者における長期的な認知機能障害のリス

クであるかもしれないと結論づけた (van Nieuwenhuizen et al, 2019)。髄膜腫のPTBE発生におけるCD44の機序がさらに解明されれば、CD44の過剰発現が髄膜腫におけるPTBEの治療標的となり、髄膜腫関連合併症の管理に役立つ可能性がある。

本研究にはいくつかの限界がある。まず本研究が単一施設で行われた後方視的研究であることであり、このためデータの収集にバイアスがかかっている可能性があり、結果の一般化可能性は高くない。さらに、このコホートには手術症例しか含まれていないため、手術を受けなかった軽度のPTBE症例を解析することができなかった。髄膜腫におけるCD44発現とPTBEの相関を確認するためには、多施設共同研究による多くの症例を含むデータセットと、臨床因子の十分な解析による検証研究が必要であろう。さらに、CD44が髄膜腫におけるPTBEの原因物質であることを確認するためには、動物実験および遺伝子ノックダウン実験を含む、さらなるin vivo研究が必要不可欠である。

結論

① 本研究全体から得られた新知見

- ・ 髄膜腫において、CD44 の発現は腫瘍周囲脳浮腫 (PTBE) の発症と関連していた。
- ・ 特にその関連性は、WHO グレード 1 の良性腫瘍や、小型腫瘍において強くみられた。
- ・ PTBE を高頻度に伴うサブタイプである血管腫型、微小嚢胞型、および分泌型髄膜腫における CD44 発現はその他のサブタイプと比較して高値であった。
- ・ 単変量および多変量ロジスティック回帰分析の結果、CD44 発現は重症 PTBE の独立した危険因子であった。

② 新知見の意義

以上の新知見より、これまで完全には解明されていない髄膜腫における PTBE の発生メカニズムのうち、CD44 の発現が一定の役割を果たしている可能性が考えられた。

③ 今後の展望

PTBE は、髄膜腫における周術期てんかんや認知機能低下などの周術期合併症との関連が指摘されている。CD44 の過剰発現が髄膜腫における PTBE の治療標的となれば、これら周術期合併症の管理への貢献となることが期待される。

④ 今後の課題

- ・ 髄膜腫における CD44 発現と PTBE の相関を確認するためには、より多くの症例を含むデータセットと、臨床因子の十分な解析による検証研究が必要である。
- ・ さらに、CD44 が髄膜腫における PTBE の原因物質であることを確認するためには、動物実験および遺伝子ノックダウン実験を含む、さらなる機能的 *in vivo* 研究が必要不可欠である。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、本研究の機会を与えてくださり、御指導・御助言を賜りました北海道大学大学院医学研究院脳神経外科分野教授 藤村 幹 先生に深く感謝申し上げます。

併せて、研究計画から論文作成まで直接の御指導・御鞭撻をいただきました北海道大学大学院医学研究院脳神経外科学分野講師 山口 秀 先生に厚く御礼申し上げます。

また本研究のMRI画像評価について快く御協力いただきました、北海道大学大学院医学研究院画像診断学教室講師 藤間 憲幸 先生に心より感謝申し上げます。

最後に、本研究の終始にわたり御協力いただきました長島 理香 前実験助手、千葉 真由美 実験助手、並びに御助言・御協力いただきました北海道大学大学院医学研究院脳神経外科分野の皆様にも厚く御礼申し上げます。

利益相反

本研究において開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

- Alaywan M and Sindou M (1993) [Prognostic factors in the surgery for intracranial meningioma. Role of the tumoral size and arterial vascularization originating from the pia mater. Study of 150 cases]. *Neurochirurgie*, 39, 337-47.
- Azar M, Fattahi A, Tabibkhoeei A and Taheri M (2019) A Small Meningioma with Extensive Peritumoral Brain Edema: A Case Report. *Iran J Med Sci*, 44, 265-269.
- Berhouma M, Jacquesson T, Jouanneau E and Cotton F (2019) Pathogenesis of peri-tumoral edema in intracranial meningiomas. *Neurosurg Rev*, 42, 59-71.
- Boström J, Meyer-Puttlitz B, Wolter M, Blaschke B, Weber R G, Lichter P, Ichimura K, Collins V P and Reifenberger G (2001) Alterations of the tumor suppressor genes CDKN2A (p16(INK4a)), p14(ARF), CDKN2B (p15(INK4b)), and CDKN2C (p18(INK4c)) in atypical and anaplastic meningiomas. *Am J Pathol*, 159, 661-9.
- Boylan S E and McCunniff A J (1988) Recurrent meningioma. *Cancer*, 61, 1447-52.
- Camp R L, Scheynius A, Johansson C and Puré E (1993) CD44 is necessary for optimal contact allergic responses but is not required for normal leukocyte extravasation. *J Exp Med*, 178, 497-507.
- Chohan M O, Ryan C T, Singh R, Lanning R M, Reiner A S, Rosenblum M K, Tabar V and Gutin P H (2018) Predictors of Treatment Response and Survival Outcomes in Meningioma Recurrence with Atypical or Anaplastic Histology. *Neurosurgery*, 82, 824-832.
- DeGrendele H C, Estess P, Picker L J and Siegelman M H (1996) CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *J Exp Med*, 183, 1119-30.
- Elbadry Ahmed R, Tang H, Asemota A, Huang L, Boling W and Bannout F (2022) Meningioma Related Epilepsy- Pathophysiology, Pre/postoperative Seizures Predicators and Treatment. *Front Oncol*, 12, 905976.
- Englot D J, Magill S T, Han S J, Chang E F, Berger M S and McDermott M W (2016) Seizures in supratentorial meningioma: a systematic review and meta-analysis. *J Neurosurg*, 124, 1552-61.
- Gawlitza M, Fiedler E, Schob S, Hoffmann K T and Surov A (2017) Peritumoral Brain Edema in Meningiomas Depends on Aquaporin-4 Expression and Not on Tumor Grade, Tumor Volume, Cell Count, or Ki-67 Labeling Index. *Mol Imaging Biol*, 19, 298-304.
- Govindaraju P, Todd L, Shetye S, Monslow J and Pure E (2019) CD44-dependent inflammation, fibrogenesis, and collagenolysis regulates extracellular matrix remodeling and tensile strength during cutaneous wound healing. *Matrix Biol*, 75-76, 314-330.

Günthert U (1999) Importance of CD44 variant isoforms in mouse models for inflammatory bowel disease. *Curr Top Microbiol Immunol*, 246, 307-12; discussion 313.

Hägg D, Sjöberg S, Hultén L M, Fagerberg B, Wiklund O, Rosengren A, Carlsson L M, Borén J, Svensson P A and Krettek A (2007) Augmented levels of CD44 in macrophages from atherosclerotic subjects: a possible IL-6-CD44 feedback loop? *Atherosclerosis*, 190, 291-7.

Iwado E, Ichikawa T, Kosaka H, Otsuka S, Kambara H, Tamiya T, Kondo S and Date I (2012) Role of VEGF and matrix metalloproteinase-9 in peritumoral brain edema associated with supratentorial benign meningiomas. *Neuropathology*, 32, 638-46.

Jung S, Moon K S, Kim S T, Ryu H H, Lee Y H, Jeong Y I, Jung T Y, Kim I Y, Kim K K and Kang S S (2007) Increased expression of intracystic matrix metalloproteinases in brain tumors: relationship to the pathogenesis of brain tumor-associated cysts and peritumoral edema. *J Clin Neurosci*, 14, 1192-8.

Kamamoto D, Saga I, Ohara K, Yoshida K and Sasaki H (2018) Association Between CD133, CD44, and Nestin Expression and Prognostic Factors in High-Grade Meningioma. *World Neurosurg*.

Lee K J, Joo W I, Rha H K, Park H K, Chough J K, Hong Y K and Park C K (2008) Peritumoral brain edema in meningiomas: correlations between magnetic resonance imaging, angiography, and pathology. *Surg Neurol*, 69, 350-5; discussion 355.

Liu X, Taftaf R, Kawaguchi M, Chang Y F, Chen W, Entenberg D, Zhang Y, Gerratana L, Huang S, Patel D B, et al. (2019) Homophilic CD44 Interactions Mediate Tumor Cell Aggregation and Polyclonal Metastasis in Patient-Derived Breast Cancer Models. *Cancer Discov*, 9, 96-113.

Livak K J and Schmittgen T D (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods*, 25, 402-8.

Lobato R D, Alday R, Gómez P A, Rivas J J, Domínguez J, Cabrera A, Madero S and Ayerbe J (1996) Brain oedema in patients with intracranial meningioma. Correlation between clinical, radiological, and histological factors and the presence and intensity of oedema. *Acta Neurochir (Wien)*, 138, 485-93; discussion 493-4.

Louis D N, Perry A, Wesseling P, Brat D J, Cree I A, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng H K, Pfister S M, Reifenberger G, et al. (2021) The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol*, 23, 1231-1251.

Maiuri F, Gangemi M, Cirillo S, Delehay L, Gallicchio B, Carandente M and Giamundo A (1987) Cerebral edema associated with meningiomas. *Surg Neurol*, 27, 64-8.

Marmarou A, Takagi H and Shulman K (1980) Biomechanics of brain edema and effects on local cerebral blood flow. *Adv Neurol*, 28, 345-58.

Mostafa R R and Khairy R A (2017) CD44 Expression in Meningioma and its Correlation with Proliferation Indices. *J Clin Diagn Res*, 11, EC12-EC15.

Naor D, Nedvetzki S, Walmsley M, Yayon A, Turley E A, Golan I, Caspi D, Sebban L E, Zick Y, Garin T, et al. (2007) CD44 involvement in autoimmune inflammations: the lesson to be learned from CD44-targeting by antibody or from knockout mice. *Ann N Y Acad Sci*, 1110, 233-47.

Osawa T, Tosaka M, Nagaishi M and Yoshimoto Y (2013) Factors affecting peritumoral brain edema in meningioma: special histological subtypes with prominently extensive edema. *J Neurooncol*, 111, 49-57.

Paek S H, Kim S H, Chang K H, Park C K, Kim J E, Kim D G, Park S H and Jung H W (2005) Microcystic meningiomas: radiological characteristics of 16 cases. *Acta Neurochir (Wien)*, 147, 965-72; discussion 972.

Park K J, Kang S H, Chae Y S, Yu M O, Cho T H, Suh J K, Lee H K and Chung Y G (2010) Influence of interleukin-6 on the development of peritumoral brain edema in meningiomas. *J Neurosurg*, 112, 73-80.

Peng S T, Su C H, Kuo C C, Shaw C F and Wang H S (2007) CD44 crosslinking-mediated matrix metalloproteinase-9 relocation in breast tumor cells leads to enhanced metastasis. *Int J Oncol*, 31, 1119-26.

Reszec J, Hermanowicz A, Rutkowski R, Turek G, Mariak Z and Chyczewski L (2015) Expression of MMP-9 and VEGF in meningiomas and their correlation with peritumoral brain edema. *Biomed Res Int*, 2015, 646853.

Rooprai H K, Liyanage K, King A, Davies D, Martin K and Pilkington G J (1999) CD44 expression in human meningiomas: An immunocytochemical, immunohistochemical and flow cytometric analysis. *Int J Oncol*, 14, 855-60.

Simis A, Pires de Aguiar P H, Leite C C, Santana P A, Jr., Rosemberg S and Teixeira M J (2008) Peritumoral brain edema in benign meningiomas: correlation with clinical, radiologic, and surgical factors and possible role on recurrence. *Surg Neurol*, 70, 471-7; discussion 477.

Spiegl-Kreinecker S, Lotsch D, Neumayer K, Kastler L, Gojo J, Pirker C, Pichler J, Weis S, Kumar R, Webersinke G, et al. (2018) TERT promoter mutations are associated with poor prognosis and cell immortalization in meningioma. *Neuro Oncol*, 20, 1584-1593.

Teranishi Y, Okano A, Miyawaki S, Ohara K, Ishigami D, Hongo H, Dofuku S, Takami H, Mitsui J, Ikemura M, et al. (2022) Clinical significance of NF2 alteration in grade I meningiomas revisited; prognostic impact integrated with extent of resection, tumour location, and Ki-67 index. *Acta Neuropathol Commun*, 10, 76.

Tseng K Y, Chung M H, Sytwu H K, Lee H M, Chen K Y, Chang C, Lin C K, Yen C H, Chen J

H, Lin G J, et al. (2010) Osteopontin expression is a valuable marker for prediction of short-term recurrence in WHO grade I benign meningiomas. *J Neurooncol*, 100, 217-23.

Turley E A, Noble P W and Bourguignon L Y (2002) Signaling properties of hyaluronan receptors. *J Biol Chem*, 277, 4589-92.

van Nieuwenhuizen D, Slot K M, Klein M, Verbaan D, Aliaga E S, Heimans J J, Vandertop W P, Peerdeman S M and Reijneveld J C (2019) The association between preoperative edema and postoperative cognitive functioning and health-related quality of life in WHO grade I meningioma patients. *Acta Neurochir (Wien)*, 161, 579-588.

Wang C Y, Huang C S, Yang Y P, Liu C Y, Liu Y Y, Wu W W, Lu K H, Chen K H, Chang Y L, Lee S D, et al. (2019) The subpopulation of CD44-positive cells promoted tumorigenicity and metastatic ability in lung adenocarcinoma. *J Chin Med Assoc*, 82, 196-201.

Xu H, Niu M, Yuan X, Wu K and Liu A (2020) CD44 as a tumor biomarker and therapeutic target. *Exp Hematol Oncol*, 9, 36.

Yamazaki S, Ohka F, Hirano M, Shiraki Y, Motomura K, Tanahashi K, Tsujiuchi T, Motomura A, Aoki K, Shinjo K, et al. (2021) Newly established patient-derived organoid model of intracranial meningioma. *Neuro Oncol*, 23, 1936-1948.

Yan Y, Zuo X and Wei D (2015) Concise Review: Emerging Role of CD44 in Cancer Stem Cells: A Promising Biomarker and Therapeutic Target. *Stem Cells Transl Med*, 4, 1033-43.

Yu Q and Stamenkovic I (1999) Localization of matrix metalloproteinase 9 to the cell surface provides a mechanism for CD44-mediated tumor invasion. *Genes Dev*, 13, 35-48.

Zeidler A, Bräuer R, Thoss K, Bahnsen J, Heinrichs V, Jablonski-Westrich D, Wroblewski M, Rebstock S and Hamann A (1995) Therapeutic effects of antibodies against adhesion molecules in murine collagen type II-induced arthritis. *Autoimmunity*, 21, 245-52.