A syndecan-1 proteoglikán hatása a HT-1080 fibroszarkóma invazivitására

Péterfia Bálint¹, Hollósi Péter¹, Szilák László², Timár Ferenc¹, Paku Sándor¹, Jeney András¹, Kovalszky Ilona¹

¹Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest ²Szilák Labor Kft, Szeged

A syndecan-1 egy sejtfelszíni transzmembrán heparánszulfát proteoglikán, mely fontos szerepet játszik a sejt-sejt és sejt-extracelluláris mátrix kölcsönhatásokban. Nem egyértelmű, milyen szerepet játszik a fehérje a daganatok biológiai viselkedésének meghatározásában. Míg egyes tumorokban expressziója a differenciált fenotípus markere, más esetekben jelenléte a fokozott inváziós képességre utal. A kérdés vizsgálatára HT-1080 fibroszarkóma sejteket transzfektáltunk syndecan-1-gyel, vagy annak csonkolt – az intracelluláris és transzmembrán doménjét kifejező – konstrukciójával. Vizsgáltuk, hogyan változik meg a fibroszarkóma in vitro és in vivo szaporodása, valamint áttétképzése a syndecan-1 hatására. Adataink arra utalnak, hogy a syndecan-1 transzfektánsok növekedési üteme felgyorsul és áttétképző sajátsága is fokozódik. Lokálisan a teljes syndecan-1 molekulát kódoló konstrukciót hordozó daganatok nőttek a legyorsabban. Itt nem zárható ki a shedding szerepe, mivel a teljes molekulát tartalmazó transzfektánsnál négyszer annyi syndecan-1 ektodomén hasadt le a felszínről, mint a kontroll és a 78sig transzfektánsok között nem volt különbség. Ez arra utal, hogy az áttétképzés mechanizmusában az intracelluláris és/vagy transzmembrán domén vesz részt. *Magyar Onkológia 50:115–120, 2006*

Syndecan-1 is a transmembrane heparan sulfate proteoglycan which plays pivotal role in cell-cell and cell-extracellular matrix interactions. However, its implication in the establishment of malignant phenotype is still controversial. Its expression indicates differentiated phenotype in certain tumors, while it confers invasive nature for others. For the better understanding of the role of syndecan-1 in cancer we transfected HT-1080 fibrosarcoma cell line with the full and a truncated construct of syndecan-1 and established stable cell lines with them. We studied the in vitro and in vivo growth capacity and metastatic potential of the transfectants in comparison with the cell line bearing only the EGFP expression vector. Our results showed that the growth rate of syndecan transfectants increased and they developed more lung metastases than the control cells. As local growth of the full transfectant was faster than that of the 78sig we presume that the full protein and maybe the shedding is needed for the local development of the tumor, but the intracellular and transmembrane domain is sufficient to promote metastasis formation. *Péterfia B, Hollósi P, Szilák L, Timár F, Paku S, Jeney A, Kovalszky I. Role of syndecan-1 proteoglycan in the invasiveness of HT-1080 fibrosarcoma. Hungarian Oncology 50:115–120, 2006*

Bevezetés

A daganatok genetikai betegségek, a szövetek biológiai viselkedését, vagyis fenotípusát azonban nagymértékben befolyásolják epigenetikus, így mikrokörnyezeti hatások is. A daganatos fenotípus megismeréséhez tehát elengedhetetlen azoknak a változásoknak a vizsgálata, melyek a sejtfelszíni és extracelluláris molekulákat érintik. Irodalmi adatok szerint a mikrokörnyezet ké-

Levelezési cím: Dr. Kovalszky Ilona, Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26., Tel.: 1-459-1500/4449, e-mail: koval@korb1.sote.hu pes megváltoztatni a daganatsejtek invazív fenotípusát és fordítva, daganatos extracelluláris mátrixba ép hámsejteket ültetve azok immortalizációja volt megfigyelhető (3, 12, 17, 22).

Különös hangsúlyt kapnak a daganatos szöveti működés szabályozásában azok a mikrokörnyezeti molekulák, melyek részt vesznek a jelátvitel szabályozásában, illetve felelőssé tehetők a sejtek homo- és heterotípiás interakciójában. Ide sorolhatók a proteoglikánok, melyek újabban középpontba kerülő képviselői a syndecanok. Jelenleg négy syndecan molekulát ismerünk: syndecan-1 (CD138, 33 kDa), syndecan-2 (fibroglycan, 23 kDa), syndecan-3 (N-syndecan, 43 kDa) és syndecan-4 (amphiglycan, ryudocan, 22 kDa). A syndecanok az emlős szervezet összes adherens sejtjében előforduló sejtfelszíni proteogli-

Közlésre érkezett: 2006. június 1. Elfogadva: 2006. június 7.

kánok, egy fehérjevázból – core protein – állnak, melyhez kovalensen kötődnek lineáris szénhidrát polimerek, ún. glükózaminoglikánok (GAG), melyek molekulatömege kb. 10-100 kDa. A syndecanok az I-es típusú transzmembrán fehérjék közé tartoznak, tehát a molekula N-terminális vége a sejten kívül van. Szerkezetüket egy hosszabb

1. ábra. A syndecan-1 konstrukciók EGFP emlős expressziós vektorba klónozva. A full konstrukció a teljes syndecan-1 cDNS-t tartalmazza. A zöld fluoreszcens fehérje az intracellulás doménhez (C-terminális) kapcsolódik. A két csonkolt konstrukció annyiban különbözik egymástól, hogy a 78sig változat tartalmazza az extracelluláris domén 4 aminosavát, a DRKE motívumot. A csonkolt konstrukciókban az EGFP a molekula N-terminálisához kapcsolódik.



2. ábra. A transzfektált sejtek morfológiája. A bal felső sarokban az EGFP vektorral transzfektált sejt (kontroll), melyben a zöld fluoreszcencia diffúzan jelenik meg. Mellette fölül a 78sig transzfektáns képe, látható, hogy a szignálpeptid sikeresen a sejtfelszínre irányítja a csonkolt konstrukciót. Az alsó sorban a full konstrukcióval transzfektált sejtek láthatók. A zöld jel a sejtfelszínen és a Golgiban figyelhető meg.



extracelluláris doménre - mely számos GAG-kötő konszenzus szekvenciát tartalmaz -, egy transzmembrán doménre és egy rövidebb C-terminális citoplazmatikus doménre tagolhatjuk. Syndecan-1 és -3 esetén a GAG-kötőhelyek két külön álló klaszterben találhatók: az egyik az N-terminus közelében, a másik a membránhoz közelebb, egy prolin-treonin-gazdag spacer régióval elválasztva. A syndecan ektodoménnel ellentétben a transzmembrán és citoplazmatikus domén meglehetősen konzervált, nem csak egy fajon belül, hanem az egész állatvilágon át (Drosophila, Caenorhabditis, egér, patkány, ember). Utóbbi két domén szekvenciáinak összehasonlítása alapján a syndecan-1 és -3 illetve syndecan-2 és -4 mutat nagyobb hasonlóságot egymáshoz. A transzmembrán domének legsajátosabb tulajdonsága a kis oldalláncú aminosavak szabályosan ismétlődő mintázata. A citoplazmatikus domén membránproximális része magasan konzervált (C1 régió). A molekula C-terminális része szintén konstans szekvenciájú (C2 régió). A konstans régiót megszakító szegment (V régió) viszonylag variábilis aminosav-szekvenciát mutat (2, 5).

Nagy mennyiségű adat áll rendelkezésre a syndecan család tagjainak expressziójáról különböző daganatokban (21). Ezek szerint a syndecan-1 mennyisége mRNS- és fehérjeszinten egyaránt csökken különböző rosszindulatú daganatokban. A syndecan fehérje mennyisége és a daganat stádiuma között sok tumor esetén egyenes arányosságot írtak le (10, 11).

A vastagbélrákokban egyes szerzők a syndecan-1 megtartottságát független, jó prognosztikus tényezőként jelölték (8). Ugyanakkor hasnyálmirigy- és emlőrákokban a magas expresszió rossz prognózist jelent (6). Gyomor- és emlőrákok esetén a parenchymasejtek syndecanexpressziójának eltűnése mellett a kötőszöveti elemek syndecan-1-pozitivitása tovább erősítette a rossz prognózist (23).

A hámsejtekben a karcinogenezis során az Ecadherin és syndecan-1 expressziója párhuzamosan csökkent. Ugyanakkor egérben a Wnt jelátviteli út aktiválásával csak syndecan-1 jelenlétében lehet emlőrákot előidézni (1). Saját vizsgálataink szerint hepatokarcinogenezis során a syndecan-1 mRNS expressziója nem változik. Az emberi májrákokban a fehérje mennyisége csökken, vagy eltűnik, de csak akkor, ha a rák nem cirrhoticus májban alakul ki (14, 16). Cirrhoticus környezetű májrákokban a tumorsejtek felszínén jelentős mennyiségű syndecan-1 található. Szájüregi laphámrákok, méhnyakrákok és májrákok közös jellegzetességének tekinthető a syndecan-1 extracelluláris doménjének transzportzavara, a molekula citoplazmatikus felhalmozódása (15). Számos esetben a fehérje, illetve a heparánszulfát megjelenik a sejtmagban is (4, 7).

Látható tehát, hogy a syndecan-1 szerepe a szolid tumorok kialakulásában és progressziójában nem egyértelmű. Ezért tűztük ki célul, hogy kísérletes modellen vizsgáljuk, hogyan hat a syndecan-1 fehérje, valamint a csak az intracelluláris és transzmembrán domént tartalmazó csonkolt formája különböző daganatok biológiai viselkedésére.

Korábban, Jeney András professzor 70. születésnapja alkalmából beszámoltunk a hepatóma sejteken végzett vizsgálatokról. A jelen vizsgálat a HT-1080 fibroszarkóma sejtekkel végzett kísérletek eredményeit mutatja be, melyeket intézetünk korábbi igazgatójának, Lapis Károly profeszszornak ajánlunk.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz a HT-1080 fibroszarkóma sejtvonalat használtuk. A sejteket RPMI médiumban 5% borjúsavó jelenlétében növesztettük fel.

A rekombináns syndecan-1 fehérjéinket kódoló DNS-eket a pEGFP emlős expressziós vektorba klónoztuk be. Az egyes plazmidkonstrukciók által kódolt fehérjetermékek vázlatai az 1. ábrán láthatók. A transzfektálást követően a neomicin-rezisztencia gén segítségével, geneticin hozzáadásával stabilan transzfektált sejtvonalakat hoztunk létre, melyeket a bejuttatott konstrukcióknak megfelelően neveztük el. Az EGFP lokalizációját konfokális lézermikroszkóppal ellenőriztük. A syndecan-1 expresszióját és lehasadását (shedding) valós idejű RT-PCR, ELISA (Diaclone) és immunhisztokémia (Serotec BB4 ellenanyag) segítségével vizsgáltuk a sejtvonalakon. A transzfektánsok biológiai viselkedését in vitro SRB növekedési teszttel, valamint in vivo egérbeoltással tanulmányoztuk.

Csoportonként öt-öt egér talpába oltottunk 10⁵ tumorsejtet. Ezt követően az elsődleges daganatokat lábamputálással távolítottuk el, további egy hónap múlva az állatokat felboncoltuk és a tüdőáttétek mennyiségét morfometriával, HE metszetek alapján határoztuk meg, ehhez mindegyik egérnél három véletlenszerűen kiválasztott metszési síkot vizsgáltunk át. Az alapvektorral transzfektált, ezért csak EGFP-t kifejező sejteket használtuk kontrollnak.

Eredmények

A syndecan konstrukciók kifejeződése a HT-1080 sejtekbe

A konstrukciók bejuttatása a sejtekbe sikeres volt. A teljes méretű fehérjét termelő sejteknél a zöld fluoreszcencia a sejtfelszínen jelent meg. Gyengébb, de hasonló reakciót kaptunk a 78sig konstrukció esetében, míg a kontroll, csak EGFPt kódoló vektor esetén a zöld fluoreszcencia egyenletesen oszlott el a sejtekben (2. ábra). A stabil transzfekció esetén a zöld fluoreszcencia jól jelölte a syndecan-1 kifejeződésének helyét. Ez látható a 3. ábrán, ahol a stabil transzfektáns sejtek felszínén látható EGFP-jel teljesen egybeesik a syndecan-1 extracelluláris doménjét felismerő ellenanyag immunreakciójával.

A transzfekció sikerességét mRNS- és fehérjeszinten is ellenőriztük. A *4a. ábrán* a real-time PCR eredményei láthatók. A kontroll sejtekhez képest a full konstrukcióval transzfektált sejtekben mind az intra-, mind az extracelluláris domént kódoló mRNS mennyisége fokozódik. A csonkolt fehérjét termelő transzfektánsokban csak az intracelluláris és transzmembrán domén mRNS-e szaporodik fel.

ELISA-val meghatároztuk a syndecan-1 extracelluláris doménjének mennyiségét a sejtek lizátumában és a médiumban. Utóbbi ad információt arról, milyen mennyiségben hasítódik le és jut a médiumba a fehérje extracelluláris doménje (shedding). Látható, hogy az extracelluláris domén mennyisége csak a full transzfektánsban növekszik, és a többi sejtvonalhoz képest fokozódik a fehérje lehasadása is (4b.ábra).

A stabil transzfektánsok növekedési paraméterei in vitro

Az 5. *ábrán* látható, hogy a syndecan-1-et termelő vonalak növekedési üteme a kontrollhoz képest felgyorsult. A sejtek növekedése nem mutatott szérumfüggést.

3. ábra. A teljes syndecan-1 fehérjét kifejező stabil transzfektáns vonal képe immunhisztokémiával (a), az EGFP fehérje zöld fluoreszcenciájával (b), és a két kép egymásra vetítésével (c). Látható, hogy a sejtek felszínén levő zöld fluoreszcencia, mely a transzfektált syndecan-1 expresszióját jelzi, teljesen egybeesik az extracelluláris domént felismerő BB4 ellenanyag reakciójával.



4. ábra. A syndecan-1 expressziójának változása a transzfektánsokban mRNSszinten (a) és fehérjeszinten (b). Az mRNS mennyiségét real-time PCR-rel határoztuk meg, és az EGFP transzfektánsban mérthez viszonyítva fejeztük ki. Látható, hogy a full transzfektánsban az intra- és extracelluláris domént kódoló szekvenciák mennyisége egyaránt fokozódott, míg a 78sig transzfektánsnál csak az intracelluláris domén mennyisége szaporodott fel. A syndecan-1 extracelluláris doménjét felismerő ellenanyaggal vizsgálva a full transzfektáns tumorban a sejtlizátumban 2x, a médiumban 4x több syndecan-1 mutatható ki.



A syndecan transzfektáns HT-1080 vonalak viselkedése állatoltást követően

Transzfektáns sejtjeinket Scid egerek talpába oltottuk, egerenként 10⁵ tumorsejtet alkalmazva. Vizsgáltuk a talptumorok kialakulásához, valamint az áttétek megjelenéséhez szükséges időt. A talptumorok kialakulásához a kontroll (EGFP) sejtvonal esetén 64 napra, a full és 78sig transzfektánsok esetén 36 napra volt szükség. A 6a. ábra jól személteti az azonos időben történt oltást követően a tumorok eltérő növekedési ütemét. Látható, hogy a kontroll sejtvonallal oltott állatokban még alig alakult ki a tumor, amikor a teljes konstrukciót hordozó sejtek már jelentős nagyságú daganatokat képeztek. A csonkolt syndecan-konstrukciót tartalmazó daganat növekedési üteme a kontroll és a teljes fehérjét kifejező tumorok közé esett.

5. ábra. A syndecan-1 transzfektánsok in vitro növekedési ütemének vizsgálata in vitro, SRB teszttel. Kontrollként az EGFP-transzfektáns vonalat használtuk. Ehhez viszonyítva minden transzfektáns növekedési üteme fokozódott.



6. ábra. A syndecan-1-transzfektánsok viselkedése állatoltás során. A sejtvonalakat SCID egerek talpába oltottuk. a. Az ábrán a talptumorok mérete látható az oltást követő 36. napon. Az EGFP transzfektánsokhoz képest a tumorok mérete a 78sig és full transzfektánsokkal oltott állatokban 2-3x nagyobb. b. A tumorok amputációját követően 1 hónappal a tüdőkben található átlagos áttétarány. Mindkét syndecan-1-konstrukciót hordozó sejtvonal szignifikánsan több áttétet hozott létre a tüdőkben, mint a kontroll EGFP-transzfektáns.



118 MAGYAR ONKOLÓGIA 50. ÉVFOLYAM 2. SZÁM 2006

A talptumorok kialakulását követően a tumoros végtagokat amputáltuk, majd vizsgáltuk a tüdőáttétek mennyiségét. A tüdőben talált áttétek átlagos térfogatarányát a 6b. ábra mutatja be. A csak EGFP-konstrukcióval transzfektált tumor talpbaoltását követően nem alakultak ki tüdőáttétek. A teljes syndecan-1 fehérjét és a csonkolt fehérjét termelő daganatok esetén az 5-5 állatból 3-3-ban találtunk áttéteket. Amennyiben a tumorokat vénásan oltottuk be, akkor is a tüdőbe koloni-Ebben esetben záltak. az az EGFPtranszfektánsok is hoztak létre daganatokat, ezek száma és mérete azonban kisebb volt, mint a syndecan-1-transzfektánsoké (7. ábra).

A syndecan-1 extracelluláris doménjét felismerő ellenanyaggal vizsgálva az EGFP-konstruk-

7. ábra. A HT-1080 kolóniák szövettani képe a tüdőben HE-festéssel a transzfektánsok intravénás beadását követően. Ebben az esetben a kontroll transzfektáns (a) is képez tumort, de ezek száma és mérete elmarad a syndecan-transzfektánsokétól (b: full, c: 78sig). 10x-es nagyítás



ciót hordozó tumorsejtek felszínén alig lehetett kimutatni a fehérjét, míg a full és 78sig transzfektánsokból kialakult daganatokban jelentős syndecan-1-expressziót figyeltünk meg a talptumorokban (8. *ábra*).

Mivel a zöld fluoreszcenciát az állatba oltott daganatok megőrizték, megfigyelhető volt az, hogy hova lokalizálódik a syndecan-EGFP kiméra fehérje. Meglepő módon a tenyészetben sejtfelszíni lokalizációt mutató zöld jelzés a tüdőáttétben a magban is megfigyelhető volt (9. ábra). Mivel a full konstrukció esetén (lásd 1. ábra) az EGFP az intracelluláris doménhez kapcsolódik, nem dönthető el, hogy a teljes syndecan-1 molekula, vagy annak intracelluláris doménje van a sejtmagban.

Megbeszélés

A syndecan-1 szerepe a malignus fenotípus kialakításában nagyon ellentmondásos. A kezdeti vizsgálatok arra utaltak (8, 10), hogy a molekula a differenciált szöveti struktúra letéteményese. Ezt követően szaporodtak azok az adatok, melyek igazolták a molekula szerepét a daganat kialakulásában, az invázióban és az áttétek létrejöttében (19-21).

Saját vizsgálataink során két szövettenyészeti tumorvonalban, májrákban és fibroszarkómában tanulmányoztuk a syndecan-1 hatását. A teljes syndecan-1 valamint az intracelluláris és transzmembrán domént kódoló csonkolt konstrukció a két tumorféleségen teljesen eltérő változást idézett elő. Jelen közleményünk a fibroszarkómában megfigyelt változásokat mutatja be.

Míg a hepatómák esetében transzfekciót követően differrenciálódás indult meg (13), a fibroszarkóma növekedési üteme a syndecan-1-transzfektánsokban in vitro és in vivo egyaránt fokozódott. Számos elképzelés és kísérletes adat áll rendelkezésre, melyek azt elemzik, miképpen fokozza a syndecan a tumorsejtek agresszivitását. Jóllehet a fibroblasztok sejtfelszínén nem mutatható ki syndecan-1, a fibroszarkóma termeli ezt a fehérjét. Elképzelhető tehát, hogy ez az embrionális fibroblasztokra jellemző fenotípus önmagában is elősegíti a fibroszarkóma proliferációját. Nagy jelentőséget tulajdonítanak a fehérje cukorláncának is. A heparánszulfát glükuronsavból és Nacetil-glükózaminból felépülő diszacharid egységeinek eltérő szulfatációjával 23 különböző diszacharid hozható létre, melyek egymás utáni sorrendje milliós variációs lehetőséget nyújt. Ezért még azonos vázfehérje esetén sem lehetünk bizonyosak abban, hogy a kapcsolódó cukorlánc struktúrája két eltérő sejtvonal esetében egyezik. A növekedési faktorok kötése, mely az egyik legismertebb funkciója a heparánszulfátnak, sok esetben meghatározott struktúrát igényel (9, 18). Esetünkben azonban ez a lehetőség kizárható, mivel a fibroszarkóma transzfektánsainkban a progresszió fokozódása kisebb mértékben ugyan, de a cukorláncokat nem hordozó domének transzfekciójával is létrejött. A hepatómák esetében a 78sig csonkolt konstrukció

transzfektálásával megnőtt a teljes hosszúságú syndecan-1 sejtfelszíni mennyisége, melynek oka az endogén syndecan lehasadásának csökkenése volt. Ez a jelenség a 78sig fibroszarkóma transzfektánson nem volt megfigyelhető. A fibroszarkómában a teljes fehérjét kifejező sejtvonalban a syndecan fehérje lehasadása a kontroll sejtvonal 4x-esére fokozódott. A csonkolt molekulát tartalmazó transzfektánsban a fehérje mennyisége és eloszlása azonos volt a kontrollal.

Mivel az intracelluláris és transzmembrán domént kifejező és a teljes molekulát hordozó vonal áttétképzése nagyon hasonló volt, feltételezzük, hogy itt az intracelluláris és transzmembrán domének játszhatnak elsődleges szerepet. Ugyanakkor a teljes molekulát kifejező vonal lokális invazivitása nagyobb volt, mint a csonkolt fehérjét tartalmazó vonalé, ami arra utal, hogy a lokális invázióban vagy az ektodomén, vagy annak fokozott lehasadása érintett az eseményekben. Utóbbi fokozódása rendszerünkben igazolódott. További kérdés, milyen jelátviteli utakon jut érvényre a syndecan-1-transzfekció által indukált fokozott tumoragresszivitás? Nem zárható ki, hogy a fehérje intracelluláris doménje maga is transzlokálódik a sejtmagba, ahogy ezt kísérleti eredményeink sugallják. Saját vizsgálataink so-

8. ábra.

Syndecan-1 immunhisztokémia a talptumorokon. Az EGFP-vel transzféktált daganatban (a) a reakció a negatív kontrollhoz (d) hasonlít. A 78sig (b) és full (c) transzfektánsok felszínén számottevő immunpozitivitás látható.



9. ábra. A full transzfektáns in vivo mikroszkópos képe tenyészeti körülmények közt (a), és a tüdőbe kolonizált tumorban (b) az EGFP-fluoreszcenciával kimutatva. A tüdőtumorban az EGFP jel a sejtmagban is kimutatható.



rán már több ízben szembesültünk a ténnyel, hogy a syndecan-1, vagy annak intracelluláris doménje a sejtmagban ad immunpozitivitást. Tisztázásra vár azonban, milyen sejtmagi folyamatok részesévé válik itt a fehérje. A molekula szerkezetileg nagyon hasonló a sejtfelszíni növekedésifaktor-receptorokhoz. Hasonlóan azokhoz, a syndecan család tagjai oligomerizálódni is képesek (24). Lehetséges tehát az is, hogy a rendszerünkben megfigyelt változások a transzmembrán vagy az intracelluláris domének oligomerizációjával kapcsolatosak. Adataink megerősítik azokat az elképzeléseket, melyek szerint a cukorláncok mellett a syndecan-1 fehérjeváza is fontos szerepet játszik a molekula biológiai hatásaiban.

Irodalom

- Alexander CM, Reichsman F, Hinkes MT, et al. Syndecan-1 is required for Wnt-1-induced mammary tumorigenesis in mice. Nat Genet 25:329-332, 2000
- Bernfield M, Kokenyesi R, Kato M, et al. Biology of the syndecans: a family of transmembrane heparan sulfate proteoglycans. Annu Rev Cell Biol 8:365-393, 1992
- Boudreau N, Bissel M. Extracellular matrix signaling: integration of form and function in normal and malignant cells. Curr Opin Cell Biol 10:640-646, 1998
- Brockstedt U, Dobra K, Nurminen M, Hjerpe A. Immunoreactivity to cell surface syndecans in cytoplasm and nucleus: tubulin-dependent rearrangements. Exp Cell Res 274:235-245, 2002
- Carey DJ. Syndecans: multifunctional cell-surface coreceptors. Biochem J 327:1-16, 1997
- Conejo JR, Kleef J, Koliopanos A, et al. Syndecan-1 expression is up-regulated in pancreatic but not in other gastrointestinal cancers. Int J Cancer 88:12-20, 2000
- Dudas J, Ramadori G, Knittel T, et al. Effect of heparin and liver heparan sulphate on interaction of HepG2derived transcription factors and their cis-acting elements: altered potential of hepatocellular carcinoma heparan sulphate. Biochem J 350:245-251, 2000
- 8. Fujiya M, Watari J, Ashida T, et al. Reduced expression of syndecan-1 affects metastatic potential and clinical

outcome in patients with colorectal cancer. Jpn J Cancer Res 92:1074-1081, 2001

- Gallagher JT. Heparan sulfate: growth control with a restricted sequence menu. J Clin Invest 108:357-361, 2001
- Inki P, Jalkanen M. The role of syndecan-1 in malignancies. Ann Med 28:63-67, 1996
- Inki P, Stenback F, Talve L, Jalkanen M. Immunohistochemical localization of syndecan in mouse skin tumors induced by UV irradiation. Loss of expression associated with malignant transformation. Am J Pathol 139:1333-1340, 1991
- 12. Iozzo RV, Coheen I. Altered proteoglycan expression and the tumor stroma. Experientia 49:447-455, 1993
- Kovalszky I, Dudás J, Gallai M, et al. Proteoglikánok a májban. Magyar Onkológia 48:207-213, 2004
- Kovalszky I, Pogány G, Molnár G, et al. Altered glycosaminoglycan composition in reactive and neoplastic human liver. Biochem Biophys Res Commun 167:883-890, 1990
- Máthé M, Suba Z, Németh Z, et al. Stromal syndecan-1 expression is an adverse prognostic factor in oral carcinomas. Oral Oncol 42:493-500, 2006
- Matsumoto A, Ono M, Fujimoto Y, et al. Reduced expression of syndecan-1 in human hepatocellular carcinoma with high metastatic potential. Int J Cancer 74:482-491, 1997
- 17. Proia DA, Kuperwasser C. Stroma: tumor agonist or antagonist. Cell Cycle 4:1022-1025, 2005
- Rapraeger AC. Syndecan-regulated receptor signaling. J Cell Biol 149:995-998, 2000
- 19. Sanderson RD, Borset M. Syndecan-1 in B lymphoid malignancies. Ann Hematol 81:125-135, 2002
- Sanderson RD, Yang Y, Kelly T, et al. Enzymatic remodelling of heparan sulfate proteoglycans within the tumor microenvironment: Growth regulation and prospect of new cancer therapies. J Cell Biochem 96:897-905, 2005
- 21. Sanderson RD. Heparan sulfate proteoglycans in invasion and metastasis. Semin Cell Dev Biol 1:89-98, 2001
- 22. Tlsty TD, Hein PW. Know thy neighbor: stromal cells can contribute oncogenic signals. Curr Opin Genet Dev 11:54-59, 2001
- Wiksten JP, Lundin J, Nordling S, et al. Epithelial and stromal syndecan-1 expression as predictor of outcome in patients with gastric cancer. Int J Cancer 95:1-6, 2001
- Yi JY, Han I, Oh ES. Transmembrane domain-dependent oligomerization of syndecans. Scientific World Journal 6:457-459, 2006