

16 - 10 がんの早期診断および予後診断に役立つ腫瘍マーカーの開発

主任研究者 国立病院機構大阪医療センター 中森 正二

研究成果の要旨

新しい遺伝子解析法の一つである網羅的遺伝子発現解析の技術を利用した腫瘍マーカー選別法を確立し、肝細胞がんの新たな腫瘍マーカー候補遺伝子を同定した。新技術の応用として、質量分析装置を利用した網羅的蛋白解析や網羅的ペプチド解析技術を確立し、新たな腫瘍マーカー選別法としての可能性を明らかにした。スキルス胃がんにおいて、heat shock protein (HSP47)がスキルス胃がんの腫瘍マーカーになり得る可能性を示した。また、網羅的遺伝子発現解析法により、肝細胞癌における肝繊維化の程度や多中心発生の危険性の予測スコア式を作製し、肝細胞がん治療後の治療方針決定に利用できる可能性を示した。個別化治療に役立つマーカーとして、網羅的遺伝子発現解析法にて抗がん剤感受性に関与する遺伝子群を同定し、肝細胞がんに対するインターフェロン併用化学療法や抗がん剤 5-FU を用いた化学療法の効果予測式を確立した。血管新生モデルやマウス移植モデルの解析から、膜結合型蛋白分解酵素 MT1-MMT を標的とした治療は、がん浸潤早期において重要であることを明らかにした。

研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
中 森 正 二	* ¹ 大阪大学大学院医学系研究科 助教授 * ² 国立病院機構大阪医療センター 部長	がんの早期診断および予後診断に役立つ腫瘍マーカーの開発
渡 邊 昌 彦	北里大学医学部 教授	癌と細胞外マトリックスの相互作用を担う新しい生体内物質の同定とその臨床的意義
井 上 裕	九州大学生体防御医学研究所 助教授	消化器がんの術前遺伝子診断法の開発
西 山 正 彦	広島大学原爆放射線医科学研究所 教授	がん化学療法の個別化に資する治療応答予測マーカー
山 本 博 幸	札幌医科大学医学部 助手	消化器がんの早期および予後診断に役立つ遺伝子診断の開発
梁 幾 勇	東京大学医科学研究所 講師	がんの転移浸潤に関わる分子の解析およびそれを利用した予後予測マーカーの開発

* 1：平成16年4月1日～平成16年8月31日

* 2：平成16年9月1日～平成17年3月31日

総括研究報告

1 研究目的

腫瘍マーカーの意義は、非侵襲的に採取された生体材料から検出される物質で、がんの早期発見や治療方針の決定に寄与する事にある。本研究班では、がん患者の体液（血液、尿等）や生検組織や切除組織などの生体材料の解析から得られたがん特異的あるいは病態特異的な遺伝子やその産物、酵素、糖鎖抗原、生理活性物質から腫瘍マーカーとして有用な分子を新たに見だし、それらを新たながん治療体系の構築に反映させることを目的としている。さらに、近年、分子生物学的解析により、発生・進展といったがんの生物学的特性に関連する分子が数多く見だされており、それに付随して、さまざまな解析技術の進歩が見られる。本研究班では、このような新たな解析技術を腫瘍マーカー開発への手法として確立することも目的としている。新たに開発した腫瘍マーカーが早期診断、治療効果の予測因子として機能すれば、個別化したがん治療が可能となり、治療成績の向上が期待できるものと考えられる。

2 研究成果

新しい腫瘍マーカー開発のための新技術の応用：

がんは様々な遺伝子変異の結果生じていることは明らかであり、その遺伝子異常が、がんの発生だけでなく、浸潤や転移と言ったがんの予後に影響を及ぼしていることは確実である。本研究班では、このようながんの遺伝子異常に着目し、新たな消化器がんの予後の推測や治療効果の推測のための腫瘍マーカーとして利用可能かを検討した。なお、がんの遺伝子異常には、遺伝子自体の変化、と遺伝子発現の異常が挙げられる。しかしながら、特定のがん腫において特異的な遺伝子変化は一部の例外を除いてそれ程明らかになっておらず、また、遺伝子変異を臨床例で調べることは技術的に困難なために、技術的に容易な遺伝子発現性の異常に着目した。さらに、個々のがんの特性は多数の遺伝子異常が複雑に影響を及ぼしあって規定されると考えられるため、がんの個性を解明するためにはこれまでのように単に個々の因子を追求するだけではなく、癌の発生・進展に関わる多数の遺伝子を同時に解析することが必須と考えられる。そこで、まず、新技術である網羅的遺伝子解析法を新たな腫瘍マーカーの開発に利用する事を計画した。

肝切除を行った肝細胞がん 120 症例および慢性肝炎・肝硬変を伴わない転移性肝がん等の切除 32 例を対象と

して、がん部組織 120 検体と非がん部組織 86 検体、非癌正常肝 32 検体から RNA 採取した。独自に作製した肝特異的 cDNA ライブラリーより得られた 3072 遺伝子に対して網羅的遺伝子発現解析法の一つである ATAC-PCR 用いた PCR-array による発現量の測定を行った。候補遺伝子の選別は、網羅的遺伝子発現検索法で用いられてきたがん部と非がん部で大きく発現量が異なる遺伝子を選別する手法を採らず、従来発現量が低く見逃されていた遺伝子も選別に加えるように、非癌部および正常肝で欠測値となる（発現していない or 発現量がかなり低い）割合が高く、がん部では逆に欠測値となる割合が低い順に全遺伝子選別する手法を用いた（Missing Value Approach）。その上位から約 20 個遺伝子を選択し、その遺伝子から、分泌あるいは細胞外マトリックス、膜受容体に関わる推測される遺伝子を選び出し、肝細胞がんでの発現性を免疫染色にて確認した。また、肝細胞がん患者 20 例および健常人 20 例から、末梢血を採取し、その単核球成分から RNA を採取し、選択された遺伝子の発現性を検討した。Missing Value Approach によって選出された上位 20 遺伝子中、データベースからの検索では、ほとんどが肝特異的でなく、機能不明のものであったが、第 3 位に MMP12(matrix metalloproteinase 12)、4 位に既知の肝細胞がんの腫瘍マーカーである AFP が認められ、肝細胞がんでの発現も確認された。また、選択された上位 20 遺伝子のうち MMP12 および AFP を除くほとんどが健常人末梢血単核球で発現が認められた。これらのことから、MMP12 が肝細胞がんの新たな腫瘍マーカーとなる可能性を見いだした。

さらに、網羅的遺伝子解析法とは異なり、質量分析装置を利用した網羅的蛋白解析装置やペプチド解析装置を用いて、新たな腫瘍マーカーの開発に取り組んだ。班長協力者の矢守らは、網羅的蛋白発現解析装置を(SELDI)によってがん細胞抽出液を迅速に解析する手法を確立し、8 臓器、39 系のがん細胞株の発現プロファイリング解析を行った。その結果、大腸がんにおいて特異的に発現の認められる 12Kd の蛋白を見だし、大腸がんの新たな腫瘍マーカーの候補と成り得ることを示した。また、班長協力者の高尾らは、生体材料として採取が最も容易な尿を利用した新たな腫瘍マーカー開発の基礎的検討を行い、大量の代謝産物や塩など複雑な混合物が存在する中から、微量の蛋白質およびペプチドの網羅的解析を迅速におこなえる方法を確立し、早期診断の困難な膵臓がんにおいて、がん特異的ペプチドが検出する事ができた。今後、量的な変動解析を効率的に行える方法を確立し、より詳細な

解析を行う予定であり、これらの新技術を用いて新たな腫瘍マーカーが開発される可能性が高い。

治療方針の決定に関わる腫瘍マーカー：

がんの生物学的な特徴、浸潤や転移の程度、再発の可能性や再発形式を予測することは、治療方針決定において必須である。渡邊班員らは、難治がんの一つであるスキルス胃がんにおいて、その特徴を捉えるために、びまん性浸潤と著しい間質の繊維化に着目した。繊維化に関与すると考えられるコラーゲン産生に特異的な分子シャペロンである heat shock protein 47 (HSP47)について胃がん細胞株および胃がん組織を用いて免疫組織学的に検討を行い、スキルス胃がん患者での HSP47 血中濃度を測定した。その結果、HSP47 の発現は、がん細胞、線維芽細胞の細胞質内（小胞体）に認められ、スキルス胃がん培養モデルおよび臨床検体においては、細胞外での発現が認められた。さらに、スキルス胃がん患者の HSP47 血中濃度は、健常者、非スキルス胃がん患者に比べ有意に高値であることを明らかにし、HSP47 がスキルス胃がんの腫瘍マーカーになり得る可能性を示した。

井上班員らは、肝細胞がんの治療方針決定や異時性肝発がんにおいて重要となる非がん部肝組織の肝障害程度に着目した。網羅的遺伝子発現解析の手法を用いて、ラット肝硬変モデルと肝切除時の非がん部肝組織における繊維化関連遺伝子の同定を行った。その結果、ラットモデルにおいてもヒト臨床材料においても、肝繊維化の程度に関わる重要な遺伝子群を選択する事ができ、それらの遺伝子発現をスコア化する事によって、肝繊維化の程度を定量化する事が可能であることを明らかにした。さらに、この評価が肝生検材料で得られた微量のサンプルでも可能であることを明らかにし、臨床応用の可能性を示した。また、肝切除時の非がん部肝組織の網羅的遺伝子発現解析により、肝細胞がんの多中心発生に関わる遺伝子群を選別し、それらを用いて、残肝再発リスクの予測スコア式を作製し、肝細胞がん治療後の治療方針決定に利用できる可能性を示した。

山本班員らは、治療方針の決定の上で、外科的切除か内視鏡的切除かの判断が困難な大腸腺腫と粘膜下層浸潤大腸がんについて増殖シグナル系である insulin-like growth factor (IGF) に着目して検討した。その結果、網羅的遺伝子発現解析によって、IGF-II の発現は、大腸腺腫に比較して粘膜下層浸潤大腸がんを高頻度に検出し、IGF-II が、腺腫からがんへの進展において重要な役割を担っていることを示した。これは、IGF-II 過剰発現の腫瘍細胞は、粘膜下層浸潤前から既に悪性度のポテンシ

ルが高いことを示唆し、内視鏡的に採取した大腸腺腫の生検組織を用いた IGF-II 発現検索が、腺腫の悪性度のマーカーとして有用性が高い可能性を明らかにした。

治療の個別化のための腫瘍マーカー：

がん治療において、抗がん剤を利用した治療は重要な部分を占めるが、副作用や感受性の点から、個別化した治療が今後重要となる。高度進行肝細胞がんに対して、現在最も有効な治療と考えられるインターフェロン α 併用 5-fluorouracil (5-FU) 動注療法施行例において、その感受性を規定する約 20 個の遺伝子群を網羅的遺伝子発現解析法にて選別し、そのスコア化によって、本治療法の感受性予測を行う方法を確立した。

西山班員らは、ヒト腫瘍細胞株 60 株を用い、網羅的遺伝子発現解析を行い、対象細胞株における全遺伝子の発現量と抗がん剤感受性との順位相関によって抗がん剤 8 種の感受性に関連する遺伝子群を求め、そのなかから機能の証明された遺伝子群を抽出、個々の遺伝子の発現量の再現性確認を経て、効果予測に有用な遺伝子を絞込んだ。これら遺伝子の遺伝子発現の相関構造を多変量回帰分析によって理解し、その様々なパリエーションに対応しうる予測式、すなわちそれら遺伝子の発現量を代入すると効果が定量的に算出される効果予測系を作成した。さらに、このように *in vitro* 実験系で選出された遺伝子を用い、臨床照合研究によって高度進行胃がんを対象とした 5-FU 化学療法の効果予測式を確立し、抗がん剤治療の個別化の可能性を示した。また、これとは別に、5-FU 代謝酵素である Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) に着目して、DPD 遺伝子活性制御メカニズムを検討した。その結果、発現調節にプロモーター領域のメチル化が深く関与しており、+8 塩基を主とする同領域のメチル化が各細胞の 5-FU 感受性に大きな影響を与えることを初めて示し、癌細胞の DPD 遺伝子プロモーター領域のメチル化の存在診断が 5-FU 反応性を投与前に予測する指標となる可能性を示した。

梁班員らは、がん細胞の浸潤とそれに伴う血管新生に着目し、浸潤や血管新生に関与する細胞膜酵素：MT1-MMP の発現制御メカニズムと、その酵素活性の意義について検討した。その結果、*in vitro* 3 次元血管新生系において、MT1-MMP はがん細胞の浸潤突起部に相当する先端細胞に特異的に誘導され、この細胞が細胞浸潤、増殖等の血管新生に必要な事象の担い手となることを明らかにした。さらに、動物実験において、がんの進展する早期に一過的 MT1-MMP 発現を伴う脈管新生が生じ、その後局所の循環系の構築と共にその発現は消失することを明らか

にし、MT1-MMP ターゲットにした抗腫瘍療法を展開する場合、がん浸潤早期における使用が重要であることを明らかにした。

3 倫理面への配慮

本研究における患者材料を用いた検討は、すべて各研究者の所属施設の倫理委員会の審査を経たものである。

研究成果の刊行発表

外国語論文

- Hayashi H, Nakamori S, *et al.*: Antitumor effects of peroxisome proliferator activate receptor γ ligands on anaplastic thyroid carcinoma. *Int J Oncol* 24: 89-95, 2004.
- Yamamoto S, Nakamori S, *et al.*: Expression of UDP-N-acetyl- β -D-galactosamine: Polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase-3 (GalNAc-T3) in adenocarcinoma of the pancreas. *Pathobiology* 71: 12-18, 2004.
- Hayashi H, Nakamori S, *et al.*: The association with expression levels of CA19-9 and *N-acetylglucosamine- β 1,3-galactosyltransferase 5* (β 3Gal-T5) gene in human pancreatic cancer tissue. *Pathobiology* 71: 26-34, 2004.
- Aoki T, Nakamori S, *et al.*: Clinical value of alterations in p73 gene, related to p53 at 1p36, in human hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 24: 441-446, 2004.
- Takahashi Y, Nakamori S, *et al.*: Expression profiles of 39 HOX genes in normal human adult organs and anaplastic thyroid cancer cell lines by quantitative real-time RT-PCR system. *Exp Cell Res* 293: 144-153, 2004.
- Yamamoto S, Nakamori S, *et al.*: Increased Expression of Valosin-Containing Protein (p97) is Associated With Lymph Node Metastasis and Prognosis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 11: 165-172, 2004.
- Yamamoto S, Nakamori S, *et al.*: Expression of valosin-containing protein in colorectal carcinomas as a predictor for disease recurrence and prognosis. *Clin Cancer Res* 10: 651-657, 2004.
- Ogawa M, Nakamori S, *et al.*: Hepatic expression of ANG2 RNA in metastatic colorectal cancer. *Hepatology* 39: 528-539, 2004.
- Yamamoto S, Nakamori S, *et al.*: Prognostic significance of activated akt expression in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 10: 2846-2850, 2004
- Kobayashi S, Nakamori S, *et al.*: In vivo real-time microangiography of the liver in mice using synchrotron radiation.. *J Hepatol* 40: 405-408. 2004.
- Oji Y, Nakamori S, *et al.*: Overexpression of the Wilms' tumor gene WT1 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci* 95: 583-587, 2004 .
- Kurokawa Y, Nakamori S, *et al.*: PCR-array gene expression profiling of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 23: 135-141, 2004
- Yamamoto S, Nakamori S, *et al.*: Expression level of valosin-containing protein (p97) is associated with prognosis of esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res*, 10: 5558-5565, 2004.
- Yamamoto S, Nakamori S, *et al.*: Valosin-containing protein (p97) and Ki-67 expression is a useful marker in detecting malignant behavior of pancreatic endocrine neoplasms. *Oncology* 66: 468-475, 2004.
- Kurokawa Y, Nakamori S, *et al.*: Molecular prediction of response to 5-fluorouracil and interferon-alpha combination chemotherapy in advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 10: 6029-6038, 2004.
- Yamamoto T, Nakamori S, *et al.*: Partial contribution of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/TRAIL receptor pathway to antitumor effects of interferon-alpha/5-fluorouracil against Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res* 10:7884-7895, 2004.
- Komori T, Nakamori S, *et al.*: Identification of differentially expressed genes involved in colorectal carcinogenesis using a cDNA microarray. *J Exp Clin Cancer Res* 23: 521-527, 2004.
- Damdinsuren B, Nakamori S, *et al.*: Expression of Id proteins in human hepatocellular carcinoma: Relevance to tumor dedifferentiation. *Int J Oncol* 26: 319-327, 2005.
- Hashiguchi N., Watanabe M, *et al.*: ZT-1027 elucidates antitumor activity through direct cytotoxicity and selective blockade of blood supply. *Anticancer Res* 24: 2201-2208, 2004
- Matsuda J, Watanabe M, *et al.*: Significance of

- metastasis detected by molecular techniques in sentinel nodes of patients with gastrointestinal cancer. *Ann Surg Oncol* 11: 250S-254S, 2004.
21. Watanabe M, *et al.*: Randomized controlled trial of the efficacy of adjuvant immunochemotherapy and adjuvant chem.otherapy for colorectal cancer, using different combinations of the intracutaneous streptococcal preparation OK-432 and the oral purimidines 1-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil and uracil/tegafur. *Int J Clin Oncol* 9: 98-106, 2004.
 22. Toriumi F, Watanabe M, *et al.*: Thymidylate synthetase (TS) genotype and TS/dihydropyrimidine dehydrogenase mRNA level as an indicator in determining chem.osensitivity to 5-fluorouracil in advanced gastric carcinoma. *Anticancer Res* 24: 2455-2463, 2004.
 23. Noguchi T, Nishiyama M, *et al.*: Aberrant methylation of *DPYD* promoter, *DPYD* expression, and cellular sensitivity to 5-fluorouracil in cancer cells. *Clin Cancer Res* 10: 7100-7107, 2004.
 24. Tanaka T, Nishiyama M, *et al.*: Concise prediction models of anticancer efficacy of 8 drugs using expression data from 12 selected genes. *Int J Cancer* 111: 617-626, 2004.
 25. Kumazaki T, Nishiyama M, *et al.*: Differential gene expressions during immortalization of normal human fibroblasts and endothelial cells transfected with human telomerase reverse transcriptase gene. *Int J Oncol* 24: 1435-1442, 2004.
 26. Kuwai T, Nishiyama M, *et al.*: Single nucleotide polymorphism in the hypoxiainducible factor-1 alpha gene in colorectal carcinoma. *Oncol Rep*, 12, 1033-1037, 2004.
 27. Ukon K, Nishiyama M, *et al.*: Activation protein accelerates dihydropyrimidine dehydrogenase gene transcription in cancer cells. *Cancer Res* 65: 1055-1062, 2005.
 28. Nishiyama M. Cancer pharmacogenomics: progresss and obstacles toward the goal. *Int J Clin Oncol*. 10: 3-4, 2005.
 29. Utsunomiya T, Inoue H, *et al.*: Expression of cancer-testis antigen (CTA) genes in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 11: 934-940, 2004
 30. Sagara Y, Inoue H, *et al.*: Clinical significance of Caveolin-1, Caveolin-2 and HER2/neu mRNA expression in human breast cancer. *Br J Cancer* 91: 959-965, 2004.
 31. Haraguchi N, Inoue H, *et al.*: Analysis of gastric cancer with cDNA microarray. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004.
 32. Yoshinaga, K, Inoue H, *et al.*: N-cadherin is regulated by activin A and associated with tumor aggressiveness in esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res* 10: 5702-5707, 2004.
 33. Mimori K, Inoue H, *et al.*: Clinical significance of the overexpression of the candidate oncogene CYP24 in esophageal cancer. *Ann Oncol*, 15: 236-241, 2004.
 34. Ogawa K, Inoue H, *et al.*: Clinical significance of elongation factor-1 delta mRNA expression in oesophageal carcinoma. *Br J Cancer* 91: 282-286, 2004.
 35. Utsunomiya T, Inoue H, *et al.*: A gene-expression signature can quantify the degree of hepatic fibrosis in the rat. *J Hepatol* 41: 399-406, 2004.
 36. Yamaguchi H, Inoue H, *et al.*: Identification of HLA-A24-restricted CTL epitope from cancer-testis antigen, NY-ESO-1, and induction of a specific antitumor immune response. *Clin Cancer Res*, 10: 890-896, 2004.
 37. Yamashita K, Inoue H, *et al.*: Differential expression of MMP and uPA systems and prognostic relevance of their expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*, 110: 201-207, 2004.
 38. Utsunomiya T, Inoue H, *et al.*: Expression of cancer-testis antigen (CTA) genes in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 11: 934-940, 2004.
 39. Nishida K, Inoue H, *et al.*: Global analysis of altered gene expressions during the process of esophageal squamous cell carcinogenesis in the rat: A study combined with a laser microdissection and a cDNA microarray. *Cancer Res* 65: 401-409, 2005.
 40. Ohta M, Inoue H, *et al.*: The high expression of Fractalkine results in a better prognosis for colorectal cancer patients. *Int j Oncol* 26: 41-47, 2005.
 41. Mimori K, Inoue H, *et al.*: Coexpression of matrix metaloproteinase-7 (MMP7) and epidermal growth factor (EGF) receptor in colorectal cancer: an EGF

- receptor tyrosine kinase inhibitor is effective against MMP-70expressing cancer cells. Clin Cancer Res 10: 8243-8249, 2004.
42. Masuda TA, Inoue H, *et al.*: Detection of occult cancer cells in peripheral blood and bone marrow by quantitative RT-PCR assay for cytokeratin-7 in breast cancer patients. Int J Oncol 26: 721-730, 2005.
 43. Nagahara H, Inoue H, *et al.*: Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. Clin Cancer Res 11: 1368-1371, 2005.
 44. Domingo E, Yamamoto H, *et al.*: Activated BRAF targets proximal colon tumors with mismatch repair deficiency and MLH1 inactivation. Genes Chromosomes Cancer 39: 138-142, 2004.
 45. Yamamoto H, *et al.*: Expression of ets-related transcriptional factor E1AF is associated with tumor progression and overexpression of matrilysin in human gastric cancer. Carcinogenesis 25: 325-332, 2004.
 46. Domingo E, Yamamoto H, *et al.*: Braf screening as a low-cost effective strategy or simplifying HNPCC genetic testing. J Med Genet 41: 663-667, 2004.
 47. Oliveira C, Yamamoto H, *et al.*: Distinct patterns of KRAS mutations in colorectal carcinomas according to germline mismatch repair defects and hMLH1 methylation status. Hum Mol Genet 13: 2303-2311, 2004.
 48. Yamamoto H, *et al.*: Association of matrilysin-2 (MMP-26) expression with tumor progression and activation of MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma. Carcinogenesis 25: 2353-2360, 2004.
 49. Noshio K, Yamamoto H, *et al.*: Interplay of IGF-II, IGF-I, IGF-I receptor, COX-2, and MMP-7 plays key roles in the early stage of colorectal carcinogenesis. Clin Cancer Res 10: 7950-7957, 2004.
 50. Noshio K, Yamamoto H, *et al.*: Gene expression profiling of colorectal adenomas and early invasive carcinomas by cDNA array analysis. Br J Cancer 11: 1193-1200, 2005.
 51. Noshio K, Yamamoto H, *et al.*: Association of Ets-related transcriptional factor E1AF expression with overexpression of matrix metalloproteinases, COX-2 and iNOS in the early stage of colorectal carcinogenesis. Carcinogenesis 2005 Feb3; [Epub ahead of print].
 52. Domingo E, Yamamoto H, *et al.*: BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC patients with functional MLH1 and MSH2 genes. Oncogene 2005, Mar 21; [Epub ahead of print].
 53. Komori K, Yana I, *et al.*: Absence of mechanical allodynia and Abeta-fiber sprouting after sciatic nerve injury in mice lacking membrane-type 5 matrix metalloproteinase. FEBS Lett. 2004 557:125-128, 2004.