

Oligodendrogliomlarda osteopontin ekspresyon düzeylerinin histolojik derece ve sağ kalım ile ilişkisi

The relationship of osteopontin experssion levels with histological grade and survial in oligodendogliomas

Hüseyin Bozkurt*, Evrim Önder, Bora Gürer, Muhammet Taha Eser, Hayri Kertmen, Zeki Şekerci

Beyin Cerrahi Kliniği (Dr. H. Bozkurt), Çankırı Devlet Hastanesi, TR-18000 Çankırı, Patoloji Kliniği (Dr. E. Önder), Beyin Cerrahi Kliniği (Dr. M. T. Eser, Dr. H. Kertmen, Dr. Z. Şekerci), Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, TR-06200 Ankara, Beyin Cerrahi Kliniği (Dr. B. Gürer), Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi, TR-34752 İstanbul

Özet

Oligodendrogliom erişkin dönemin yaygın infiltratif bir gliomudur. DSÖ 2007 sınıflaması oligodendrogliomları iyi differensiyeli tümörler (Derece II) ve anaplastik tümörler (Derece III) olmak üzere iki derecede sınıflandırır. Osteopontin ekstrasellüler matriks ilişkili sialik asitten zengin fosfoglikoprotein yapısında integrin bağlayan bir protein olup, farklı tümörlerde derece ve rekürens gibi parametreler ile ilişkili olduğu yönünde veriler ortaya konmuş olan bir immün belirteçtir. Bu çalışmamızda Oligodendrogliomlarda Osteopontin ekspresyon oranlarını immünohistokimyasal olarak değerlendirerek histolojik derece, rekürens ve sağ kalım ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. S.B Ankara Dışkapı Eğitim Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahisi Kliniği tarafından 2008- 2011 yılları arasında ameliyat edilen ve hastanemiz patoloji kliniğinde tanı konulmuş olan toplam 27 oligodendrogliom olgusu çalışma kapsamına alındı. Bu değerlendirmede olguların 14 tanesi düşük dereceli (Derece 2, DSÖ 2007), 12 tanesi yüksek dereceli (Anaplastik, Derece 3, DSÖ 2007) oligodendrogliom olarak tanı alırken, 1 olgu Oligodendrogliom componentli Glioblastom (Derece 4, DSÖ 2007) olarak değerlendirildi. Olguların 10 tanesinde Osteopontin ile boyanma yaygınlığı %25'in altında izlendi. Bu 10 olgunun 9 tanesi düşük dereceli oligodendrogliom, 1 tanesi yüksek dereceli oligodendrogliomdu. Düşük dereceli olgulardan geri kalan 5 tanesinde %25'in altında immün boyanma izlendi. Histolojik derece ve Osteopontin ekspresyonları göz önüne alındığında yüksek dereceli tümörlerde boyanma yaygınlığı ve boyanma yoğunluğu düşük dereceli tümörlerle karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek düzeyde saptandı ($p<0,01$). Yüksek dereceli tümörlerde osteopontin ekspresyon skorlarının, düşük dereceli tümörlere oranla anlamlı olarak yüksek seyrettiği saptandı ($p<0,05$). Boyanma yüzdesi ile boyanma şiddeti arasında aynı yönlü istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,790$ ve $p<0,001$). Çalışmamızın sonucunda osteopontin ekspresyon oranlarının oligodendrogliomların histolojik derecelendirme, rekürens ve sağ kalım ile ilişkili olduğunu ve belirleyici bir değer olarak kullanılabileceğini gösterdik.

Anahtar sözcükler: Sağ kalım, oligodendrogliom, osteopontin

Abstract

Oligodendrogliomas are diffuse infiltrating gliomas of adulthood. The WHO 2007 classification criteria classifies oligodendrogliomas as well-differentiated tumors (Grade 2) and anaplastic tumors (Grade 3). Osteopontin is a sialic acid-rich phosphoglycoprotein extracellular matrix component and it is an immune marker shown to be associated with parameters such as grade and recurrence in different tumors. The purpose of this study was to investigate the relationship between osteopontin and histological grades, recurrence and survival in the oligodendroglioma cases by analyzing its expression rates. Twenty-seven cases of oligodendroglioma operated at the Turkish Ministry of Health Ankara Dışkapı Education and Research Hospital, Brain Surgery Clinic between 2008 and 2011 and diagnosed at our hospitals' pathology clinic were included in the study. Fourteen cases were diagnosed as low-grade (Grade 2, WHO 2007) oligodendroglioma and 12 as high-grade (anaplastic, Grade 3, WHO 2007), and one case was evaluated as

glioblastoma with oligodendrogliomal component (Grade 4, WHO 2007). Osteopontin staining density was below the 25% in 10 cases. Nine out of those 10 cases were low-grade oligodendroglioma and one was high-grade. Immunostaining below the 25% was observed in the remaining five low-grade cases. On the basis of histological grade and expressions of osteopontin, density of staining was significantly higher in the high-grade tumors ($p<0.01$). Osteopontin expression scores were significantly high in high-grade tumors ($p<0.05$). A significant correlation in the same direction was determined between staining percentage and intensity of staining ($r=0.790$ and $p<0.001$). In conclusion, osteopontin expression rates could be associated with histological grades, recurrence and survival of oligodendriomas and could be used as a predictive value.

Keywords: Survival, oligodendroglioma, osteopontin

Geliş tarihi/Received: 09 Aralık 2014; **Kabul tarihi/Accepted:** 16 Aralık 2014

***İletişim adresi:**

Dr. Hüseyin Bozkurt, Beyin Cerrahisi Kliniği, Çankırı Devlet Hastanesi, TR-18000 Çankırı. E-posta: bozkurthuseyin@gmail.com

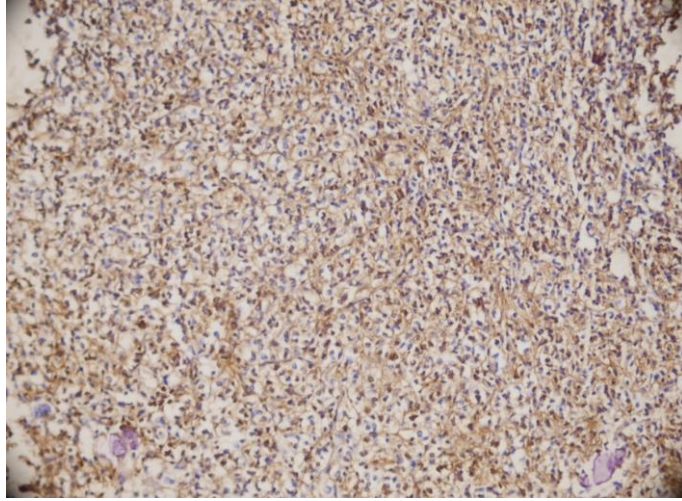
Giriş

Oligodendrogliom erişkin dönemin yaygın infiltratif bir gliomudur. Tipik olarak serebral hemisferlerde yerleşir. En sık görüldüğü yaşlar 40-45 arası olup çocukluk çağında oldukça nadir görülen bir tümördür [1]. Oligodendrogliomlar genellikle Derece II (DSÖ 2007) tümörler olmakla beraber histolojik olarak oligodendroglial tümörlerin iyi differansiye tümörlerden belirgin malign özellikler taşıyan tümörlere uzanan geniş bir spektrumu içerdikleri bilinmektedir. DSÖ sınıflaması oligodendrogliomlar için iki derece tanımlamaktadır: İyi differansiye tümörler için Derece II, anaplastik tümörler için ise Derece III (Resim 1, 2). Yakın zamanlı çok sayıdaki çalışmaya göre bu derecelendirme oligodendrogliomlarda sağ kalım sürelerini tahmin etmede en önemli belirleyicidir [1, 2].

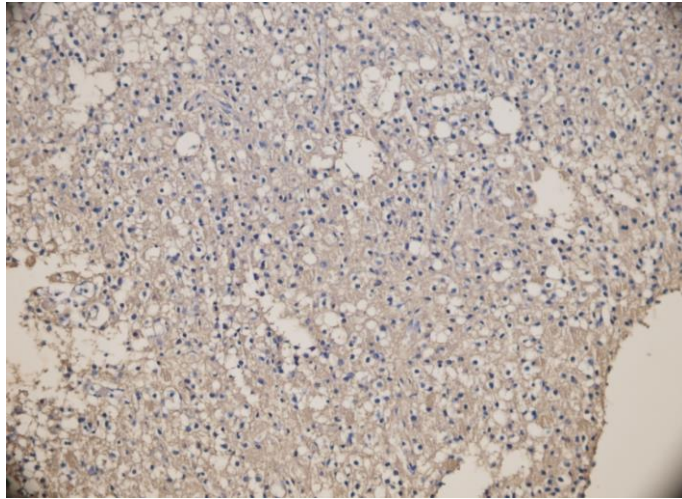
Oligodendrogliomlarda Ki67 proliferasyon indeksinin de prognostik önemini araştıran çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalarda genel olarak %5'in üzerindeki Ki67 indekslerinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Sağ kalım süreleri açısından önemli olduğu gösterilmiş diğer bir parametre de 1p/19q kromozom kaybıdır. Birçok çalışmada 1p/19q kaybı uzun sağ kalım süresi ile ilişkilendirilmiştir [1].

Osteopontin ekstrasellüler matrix ilişkili sialik asitten zengin fosfoglikoprotein yapısında integrin bağlayan bir protein olup kemik resorpsiyonu, yara iyileşmesi, doku yenilenmesi, immunolojik yanıtlar, vaskülarizasyon gibi normal fizyolojik süreçleri düzenler [3, 4, 5, 6]. Aynı zamanda apoptoz, proliferasyon, adezyon, invazyon, metastazda da rol aldığı bilinmektedir. Son bulgular osteopontinin tümör ilişkili stromal hücrelerde de ifade edildiğini göstermiştir [6, 7, 8]. Buna bağlı olarak osteopontin ekspresyonu çeşitli kanserlerde araştırılmış; mesane, kolon, böbrek, larinks, tükürük bezi tümörlerini içeren bir çalışmada osteopontin ekspresyon düzeylerinin tümör evresi ile ilişkili olduğu yönünde bulgular ortaya konmuştur. Meningiomlar ile yapılan çalışmalarda osteopontin ekspresyonunun Derece I meningiomların erken dönem rekürrenslerini öngörebildiği bildirilmiştir. [6, 10-12].

Çalışmamızda oligodendrogliomlarda osteopontin ekspresyon oranlarını immünohistokimyasal olarak değerlendirerek histolojik derece, tümör yinelemesi ve sağ kalım ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.



Resim 1. Yüksek dereceli oligodendrogliom olgusunda şiddetli Osteopontin boyanması (Osteopontin x 100).



Resim 2. Düşük dereceli oligodendrogliom olgusunda hafif şiddette Osteopontin boyanması (Osteopontin x 200).

Gereç ve yöntem

Sağlık Bakanlığı Ankara Dışkapı Eğitim Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahisi Kliniği tarafından 2008-2011 yılları arasında ameliyat edilen ve hastanemiz patoloji kliniğinde tanı konulmuş olan toplam 27 oligodendrogliom olgusu çalışma kapsamına alındı. Olguların 11 tanesi kadın, 16 tanesi erkek olup yaş dağılımı 31 ila 63 arasındaydı.

Prognoz yönünde veri toplayabilmek için her hasta ameliyattan sonraki 1 yıl süresince yineleyen tümör ve sağ kalım açısından araştırıldı. Tüm olgulara ait preparatlar patoloji arşivinden çıkarılarak uzman patolog tarafından yeniden değerlendirildi. Bu değerlendirmede olguların 14 tanesi düşük dereceli (Derece II, DSÖ 2007) (%51,8), 12 tanesi yüksek dereceli (Anaplastik, Derece III, DSÖ 2007) (%44,4) oligodendrogliom olarak tanı alırken, 1 olgu Oligodendroglial komponentli Glioblastom (Derece IV, DSÖ 2007) (%3,8) olarak değerlendirildi. Histolojik derecelendirme DSÖ 2007 klasifikasyonuna göre mitoz, nekroz ve mikrovasküler proliferasyon varlığı dikkate alınarak yapıldı.

İmmünohistokimya

İmmünohistokimyasal çalışma için olgulara ait %10'luk tamponlu formalin ile fiksasyon sonrası rutin takip ile hazırlanmış bloklardan 3-5 µm kalınlığında kesitler poly-lysine ile kaplı lamlara alındı. Her olgu için üçer kesit hazırlandı. Kesitler bir gece boyu 37 derecelik etüvde bekletildi. Ardından iki ayrı ksilen banyosunda beşer dakika süre ile deparafinize edildi. Dehidratasyon işlemi absolu alkolde iki kez beşer dakika bekletilerek yapıldı. Distile suda yıkanan kesitler daha sonra 1/1'lik sitrat-EDTA solüsyonunda 20 dakika süre ile kaynatıldı. Fosfat Buffer Saline (PBS) solüsyonu ile muamele edilen kesitler oda ısısında soğumaya bırakıldı. Nem kabına alınan kesitler %0,3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonunda 15 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkamanın ardından Ultra V Blok solüsyonu damlatılıp beş dakika bekletildi. Tekrar PBS ile yıkanan kesitler primer antikor ile (Osteopontin; Neomarker, monoclonal) ile inkübe edildi. Primer antikor PBS ile yıkandıktan sonra sekonder antikor biotinli goat anti-polivalent ile 20 dakika inkübasyon uygulandı. Yine 20 dakika süre ile streptavidin peroksidaz ile muamele edilen kesitlere PBS ile yıkamanın ardından kromojen uygulaması için Diaminobenzidine (DAB) damlatılıp 10 dakika bekletildi. Distile suda yıkama ve Mayer Hematoksilin ile yapılan zıt boyamanın ardından kesitler immunomount ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal değerlendirme

Her preparatta osteopontin ekspresyon oranı boyanma yüzdesi ve yoğunluğu üzerinden ayrı ayrı değerlendirildikten sonra her olgu için bu iki veriyi içeren tek bir ekspresyon skoru oluşturuldu. Boyanma yüzdesi 4, yoğunluğu ise 3 aşamada skorlandı. Boyanma yüzdesi hiç boyanma göstermeyen veya %25 ve altında bir alanda boyanma gösteren olgular için 1, %25-%50 'lik bir alanda boyanma gösteren olgular için 2, %50-%75 arasında boyananlarda 3 ve %75'ten daha yaygın boyanma gösteren olgular için 4 olarak skorlandı.

Benzer şekilde bir skora boyanma yoğunluğu için de uygulandı. Boyanma olmayan ya da hafif yoğunlukta boyanma gösteren olgular Skor 1, orta düzeyde boyanma gösteren olgular Skor 2, şiddetli boyanma gösteren olgular Skor 3 kategorisine dâhil edildi. Boyanma yüzdesi ve şiddetini birlikte hesaplayan ekspresyon skoru ise her olguda boyanma yüzdesi ve şiddetini çarpımı ile elde edildi. Bu çarpım sonucu 1 ile 12 arasında değişen ekspresyon skorlarına ulaşıldı.

Çalışma grubundaki olgu sayısı göz önüne alınarak, istatistiksel anlam analizi yapabilmek amacı ile olgular ekspresyon skoru 6'dan düşük ile 6 ve üzeri olanlar şeklinde iki gruba ayrıldı. Buna göre düşük dereceli olguların tümü ilk gruba dâhil olurken, yüksek dereceli olguların 1 tanesi 6'dan düşük, diğerleri ise 6'dan yüksek skora sahip oldu.

İstatistiksel analiz

Verilerin analizi SPSS for Windows 11,5 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama ± standart sapma olarak sıralanabilir değişkenler ortanca (minimum-maksimum) şeklinde, kategorik değişkenler ise olgu sayısı ve (%) biçiminde gösterildi. Gruplar arasında ortanca değerler yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testi ile incelendi. Kategorik değişkenler Fisher'in Kesin Sonuçlu Ki-Kare testiyle değerlendirildi. Sıralanabilir değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olup olmadığı ise Spearman'ın Korelasyon testiyle araştırıldı. Sonuçlar, p<0,05 için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Olgulardan 2 tanesinde (%7,4) yineleyen tümör mevcuttu. İki yıllık sağ kalım süresi dikkate alındığında, 3 olgu (%11,1) ex grubunda istatistiksel değerlendirmeye alındı.

Olguların 10 tanesinde osteopontin ile boyanma yaygınlığı %25'in altında izlendi. Bu 10 olgunun 9 tanesi düşük dereceli oligodendrogliom, 1 tanesi yüksek dereceli oligodendrogliomdu. Düşük dereceli olgulardan geri kalan 5 tanesinde %25'in altında immün boyanma izlendi. Bu 5 olgunun 3 tanesinde boyanma orta yoğunlukta iken, 2

olguda hafif yoğunlukta idi. Yüksek dereceli olguların 8 tanesinde boyanma yaygınlığı %50'nin üzerindeydi. Boyanma yoğunluğu dikkate alındığında yoğun düzeyde boyanma gösteren olgu sayısı da 8 adet olup bu olgulardan 1 tanesi %50'nin üstünde boyanma gösteren gruba ait değildi. Benzer şekilde %50 üzerinden yaygın boyanma gösteren olgulardan 1 tanesinde boyanma orta yoğunlukta skorlanmıştı.

Ekspresyon skorları tüm olgularda hesaplandı. Düşük dereceli oligodendrogliomlarda en yüksek ekspresyon skoru olan 4 olup, 3 olguda belirlendi. Yüksek dereceli oligodendrogliomlardan ise 4 olguda ekspresyon skoru 12 olarak hesaplandı. İstatistiksel analiz amacıyla iki gruba ayrılan ekspresyon skorlarına göre olgu dağılımı hesaplandığında ise düşük dereceli olguların tümü düşük skor gösterirken, yüksek dereceli oligodendrogliom olgularının ise 2 tanesinde ekspresyon skoru 6'nın altındaydı (Tablo 1). Histolojik derece ve osteopontin ekspresyonları göz önüne alındığında, yüksek dereceli tümörlerde boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu belirgin olarak yüksek düzeyde saptandı ($p<0,01$) (Resim 1). Düşük dereceli tümörlerde boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük düzeylerdeydi ($p<0,05$) (Resim 2).

Ekspresyon skorları ile yapılan istatistiksel değerlendirmede yüksek dereceli tümörlerin %83'ünde ekspresyon skoru 6'nın üzerinde saptandı ve yüksek dereceli tümörlerde osteopontin ekspresyon skorlarının anlamlı olarak yüksek seyrettiği saptandı ($p<0,05$). Boyanma yüzdesi ile boyanma yoğunluğu arasında aynı yönlü istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,790$ ve $p<0,001$).

Tablo 1. Düşük dereceli ve yüksek dereceli oligodendrogliomlarda boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı.

Özellikler	Boyanma yaygınlığı			Tümör proliferasyonu	
	Hafif	Hafif	Yoğun		
Düşük dereceli oligodendrogliomalar	%40	%40	%0	%25	Yok
Yüksek dereceli Oligodendrogliomalar	%0	%0	%100	%50	Var

Tartışma

DSÖ 2007 sınıflaması ile tanımlanan histolojik derecelendirmenin oligodendrogliomlarda prognoz açısından en önemli parametre olduğu bilinmektedir. Bunun dışında Ki67 proliferasyon indeksi ve 1p/19q korelasyonunun prognostik önem taşıdığı da kabul görmektedir. Ancak yeni gündeme gelen ve başka organ tümörlerinde anlamlı sonuçlar ortaya koymuş olan immün belirteçler bu noktada yeni alternatifler olarak araştırılmaktadır [13-15]. Bu belirteçler prognostik değerlerinin yanı sıra özellikle küçük ve hatta kırıntı halindeki biyopsi örneklerinde mikroskopik derecelendirme aşamasında önem taşımaktadır. Osteopontin de farklı tümörlerde derece ve rekürens gibi parametreler ile ilişkili olduğu yönünde veriler ortaya konmuş olan bir immün belirteçtir. Osteopontin apoptoz, proliferasyon, adezyon, invazyon, metastaz ve angiogenezde rol aldığı bilinen integrin bağlayan bir proteindir. Özellikle hücrel invazyon ve anjiogenezdeki rolü nedeni ile osteopontinin meningeal ve glial tümörlerdeki düzeyleri ve bu düzeylerin diğer prognostik parametreler ile olan ilişkisi birçok biyokimyasal ve histopatolojik çalışmada araştırılmaya başlanmıştır. Tseng ve ark. [16-18]'in meningiomlar ile yaptığı bir çalışmada Derece I olgularda osteopontin aşırı ekspresyonunun yakın dönem rekürens ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca yine aynı çalışmada osteopontin, insülin benzeri büyüme hormonu-2 (IGF-2) ve siklin D2'yi kodlayan genlerin, dereceden bağımsız olmak üzere, meningiomların sırasıyla %13-75, %26-89 ve %35-75 kadarında overekspresyon gösterdiği saptanmıştır.

Glial tümör hücre kültürleri ile yapılan bir başka çalışmada ise osteopontin overekspresyonunun tümör büyümesi ve hücrel invazyon ile korele olduğu gösterilmiştir.

Aynı çalışmada glial tümörlerdeki invazyon kapasitesindeki farklılıkların osteopontin düzeyleri ile yakından ilişkili olduğu yönünde görüş belirtilmiştir [3, 6, 7].

Chih-Kung Lin ve ark.'nın [3] atipik meningiomlar ile yaptığı immünohistokimyasal çalışmada atipik ve malign meningiomlarda benign (Derece I) meningiomlara kıyasla Osteopontin boyanma yüzdesi, boyanma yoğunluğu ve immünohistokimya skoru (bizim çalışmamızda ekspresyon skoru) belirgin düzeyde yüksek bulunmuştur. Yetmişbeş meningiom olgusu ile yapılan bu çalışmaya benzer şekilde bu çalışmamızda da yüksek dereceli oligodendrogliomlarda osteopontin boyanma yaygınlığı ($p<0,01$), boyanma yoğunluğu ($p<0,01$) ve ekspresyon skoru ($p<0,01$) anlamlı olarak yüksektir. Özellikle düşük dereceli oligodendrogliomların hiç birinde yüksek ekspresyon skoru izlenmemiş olması dikkat çekici bir sonuç olarak göze çarpmaktadır. Ayrıca yüksek dereceli oligodendrogliomlardan sadece 1 tanesinde osteopontin boyanması izlenmemiştir. Bu olgu istatistiksel değerlendirmeye alınmış olmakla beraber antijenite kaybı açısından şüpheli olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda osteopontin ekspresyon oranlarının histolojik derece ile ilişkisi yanı sıra yineleyen tümör ve sağ kalım açısından da önemini araştırmak üzere istatistiksel analiz yapılmıştır. Olgulardan 1 tanesinde yineleyen tümör gelişmiş, 3 olgu ex olmuştur. Çalışma grubumuzdaki olguların bazılarında ameliyat tarihinin yakın olması nedeni ile en fazla 2 yıl süreli takip yapılabildiği için yineleyen tümör saptanan olgu sayısının gerçek yineleme oranlarını yansıtamadığı düşüncesindeyiz. Osteopontin ekspresyonu ile yineleyen tümör arasında korelasyon açısından yapılan istatistiksel analiz de bu anlamda bir fikir ortaya koymamıştır.

Bu çalışma, İngilizce literatürde oligodendrogliomlarda osteopontin ekspresyon oranlarını immünohistokimyasal olarak araştıran bilginimiz dâhilindeki ilk çalışmadır. Histolojik derece ve osteopontin ekspresyonları arasındaki ilişki dikkate alındığında çalışmamız diğer tümörlere ait literatür verileri ile uyumlu sonuçlar ortaya koymuştur. Yineleyen tümör ve sağ kalım süreleri açısından ise istatistiksel anlama ulaşılamamış olmasının çalışma grubundaki olgu sayısı ve takip süresine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bu nedenle daha uzun süreli takip sağlayan geniş grupta benzer çalışmalar ile osteopontinin oligodendrogliomlar ve diğer glial tümörlerde tanı, prognostik değerlendirme ve hatta tedavi açısından değerli bir immun belirteç olmaya aday olduğu fikrindeyiz.

Sonuç olarak; osteopontin ekspresyon oranlarının oligodendrogliomların histolojik derecelendirme, yineleyen tümör ve sağ kalım ile ilişkili olduğunu ve prediktif bir değer olarak kullanılabileceğini gösterdik.

Kaynaklar

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD. WHO Classification of tumours of the central nervous system, 4th edn. IARC Press, Lyon 2007.
2. Practical Differential Diagnosis in Surgical Neuropathology. Humano Pres, New Jersey 2000.
3. Hsun-Jin Jan, Chin-Cheng Lee, Yung-Luen Shih. Osteopontin Regulates Human Glioma cell Invasiveness and Growth in mice, Neuro-Oncology 2010; 12: 58-70.
4. Joseph W, Margaret W, Elizabeth B. Claus. Epidemiology and etiology of Meningioma, J Neurooncology 2010, 99; 307-14.
5. Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM. Meningioma Grading. An analysis of histological parameters, Am J Surg Pathol 1997; 21; 1455-65.
6. Chih-Kung Lin, Wen-Chiuan Tsai, Yu-Chun Lin, Dueng-Yuan Hueng. Osteopontin predicts the behaviour of atypical meningioma. Histopathology 2012; 60; 320-5.
7. Mansoor A, Reeti B, Goutam C, Shalini J, Vinit K, Priyanka S, Anuradha B. A potentially important therapeutic target in cancer. Expert opin Ther Targets 2011; 15; 1113-26.

8. Ritting SR, Chambers AF, Role of osteopontin in tumour progression. *British Journal of Cancer* 2004; 90; 1877-81.
9. Osterreicher CH, Osterreicher MP, Greivennikov SI. Fibroblast-specific protein 1 identifies an inflammatory subpopulation of macrophages in the liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108; 308-13.
10. J Dai, L Peng, K. OPN induces angiogenesis through activation of PI3K/Akt and ERK1/2 in endothelial cells. *Oncogene* 2009; 28; 3412-22.
11. Behera R, Kumar V, Lohite K. Activation of JAK2/STAT 3 signaling by osteopontin promotes tumor growth in human breast cancer cells. *Carcinogenesis* 2010; 31; 192-200.
12. Subha P, Anuradha B, Gopal C, Kundu. Osteopontin stimulates tumor growth and activation of promatrix metalloproteinase-2 through nuclear factor-kappa B-mediated induction of membrane type 1 matrix metalloproteinase in murine melanoma cells. *J Biol Chem* 2001; 276; 44926-35.
13. Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, Harris JF, Tonkin KS, Kerkvliet N, Saad Z, Doig GS, Chambers AF. Osteopontin expression in a group of lymph node negative breast cancer patients. *Int J Cancer* 1998; 79; 1198-205.
14. Forootan SS, Foster CS, Aachi VR, Adamson J, Smith PH, K Lin, Y Ke. Prognostic significance of osteopontin expression in human prostate cancer. *Int J Cancer* 2006; 118; 2255-61.
15. Agrawal D, Chen T, Irby R, Quackenbush J, Chambers AF, Szabo M, Cantor A. Osteopontin identified as lead marker of colon cancer progression, using pooled sample expression profiling. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94; 513-21.
16. Pan HW, Ou YH, Peng SY, Liu SH, Lai PL, Lee PH. Overexpression of osteopontin is associated with intrahepatic metastasis, early recurrence, and poorer prognosis of surgically resected hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003; 98; 119-27.
17. Coppola D, Szabo M, Boulware D, Schickor FK, Muraca P, Alsarraj M. Correlation of OPN protein expression and pathologic stage across a wide variety of tumor histologies widespread detection of osteopontin protein expression in human tumors from different anatomical sites using the tissue array technique. *Clin Cancer Res* 2004; 10; 184-90.
18. Kuan-Yin Tseng, Min Huey Chung, Huey Kang Sytwu. Osteopontin expression is a valuable marker for prediction of short-term recurrence in WHO grade 1 benign meningiomas. *J Neurooncol* 2010; 100; 217-23.