

Korelasi Ekspresi ezrin dan CD44 dengan Respons Kemoterapi pada Pasien Osteosarkoma

CHRISTIAN BAMBANG SULISTIO, SJAHJENNY MUSTOKOWENI, NILA KURNIASARI

Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

Diterima: 18 Juli 2017; Direview: 26 September 2017; Disetujui: 1 Oktober 2017

ABSTRACT

Osteosarcoma is the most common malignant bone tumor in children and young adults. The process of metastasis and recurrence involves several proteins, including ezrin, and CD44 that are shown to be involved in tumor growth, metastasis and recurrence.

To analyse the corelation of ezrin and CD44 expression with chemotherapy responsse in osteosarcoma patient. Cross sectional method on paraffin block of Osteosarcoma in Anatomic Pathology Laboratory of RSUD dr Soetomo, (January 1, 2010 - December 31, 2015). There were 17 out of 26 cases of amputated osteosarcoma which are met the inclusion criteria were performed immunohistochemical staining with ezrin and CD44 antibodies. The corellation of ezrin and CD44 expression with chemotherapy responsse was analyzed using Spearman's rho test. The coefficient correlation in this experiment $p < 0.05$, there was no corellation of ezrin expression with chemotherapy responsse of osteosarcoma. There was no correlation of CD44 expression with chemotherapy responsse in osteosarcoma. There was no correlation of ezrin and CD44 expression with chemotherapy responsse of osteosarcoma. There was no corellation of ezrin and CD44 expression with chemotherapy responsse of osteosarcoma.

Keywords: ezrin, CD44, osteosarcoma, chemotherapy responsse

ABSTRAK

Osteosarkoma merupakan tumor ganas tulang, sering terjadi pada anak-anak dan dewasa muda. Proses metastasis dan rekurensi melibatkan beberapa protein, di antaranya ezrin dan CD44 yang terbukti ikut serta dalam pertumbuhan tumor, metastasis, dan rekurensi. Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi.

Penelitian ini menggunakan metode *cross sectional* blok parafin osteosarkoma di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo (1 Januari 2010–31 Desember 2015). Sebanyak 17 kasus sesuai kriteria inklusi dari 26 kasus osteosarkoma yang telah diamputasi dilakukan seleksi serta pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi ezrin dan CD44. Hubungan ekspresi antara ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi dianalisis menggunakan uji *Spearman's rho*. Pada penelitian ini, nilai koefisien korelasi $p < 0,05$ sehingga tidak terdapat hubungan antara ekspresi ezrin dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma, di mana nilai $p = 0,868$ ($p > 0,05$). Tidak terdapat hubungan antara ekspresi CD44 dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma di mana nilai $p = 0,740$ ($p > 0,05$). Tidak terdapat korelasi antara ekspresi ezrin dengan CD44 dengan respons kemoterapi osteosarkoma, nilai $p = 0,113$ ($p > 0,05$). Tidak terdapat hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi pada pasien osteosarkoma.

Kata Kunci: ezrin, CD44, osteosarkoma, respons kemoterapi

KORESPONDENSI:
Christian Bambang Sulistio
Departemen Patologi
Anatomi Fakultas
Kedokteran Universitas
Airlangga, Surabaya.
Email:
christabidi@gmail.com

PENDAHULUAN

Osteosarkoma yang disebut juga osteogenik sarkoma adalah suatu neoplasma ganas yang berasal dari sel primitif (*poorly differentiated cells*) di daerah metafisis tulang panjang; umumnya terjadi pada anak-anak, remaja, dan dewasa muda; serta angka kejadian laki-laki lebih banyak daripada wanita.^{1,2} Angka kejadian berdasarkan usia sekitar 5:1000.000 per tahun.³ Di Amerika Serikat ditemukan sekitar 400 kasus baru setiap tahun.⁴

Penyebaran osteosarkoma melalui hematogen. Disebut osteogenik karena perkembangannya berasal dari seri osteoblastik sel mesenkim primitif. Meskipun sudah mendapatkan pengobatan multidisiplin yang baik, termasuk dengan tindakan bedah dan kemoterapi multiagen intensif dan radioterapi, pada kenyataannya 30% pasien osteosarkoma mengalami rekurensi lokal; 30% dengan metastasis, paling sering pada organ paru; dan sekitar 40% pasien osteosarkoma meninggal dengan metastasis paru. Penggunaan USG, CT Scan, MRI, dan marker tumor.

Dalam beberapa tahun terakhir, ekspresi molekul biologis tertentu diidentifikasi sebagai penanda prognostik untuk osteosarkoma, termasuk ekspresi CD44. CD44 merupakan reseptor Asam Hyaluronat (HA) dan CD44 terikat HA telah terbukti berpartisipasi dalam berbagai aktivitas biologis tumor, termasuk perkembangan tumor, metastasis, dan proliferasi.^{5,6} Ezrin juga dikenal sebagai cytovillin atau villin2 yang merupakan anggota keluarga ERM (ezrin-Radixin-Moesin), yang berperan dalam adhesi sel pada matriks ekstraselular yang berfungsi sebagai penghubung antara membrane plasma dan sitoskeleton.^{5,6} Penelitian ini bertujuan menjelaskan hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma untuk mengetahui prognosisnya.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode *cross sectional*, dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo menggunakan blok parafin yang telah didiagnosis secara histopatologik sebagai osteosarkoma di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, mulai Januari 2010 sampai Desember 2015. Data yang diperoleh diambil secara random sampling pada Januari sampai Maret 2016 dan dilakukan *total sampling* pada kelompok osteosarkoma yang sudah diamputasi dan sesuai dengan kriteria inklusi, meliputi:

a. Pemeriksaan histopatologik osteosarkoma dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya, dan dilakukan evaluasi respons

kemoterapi berdasarkan persentase area nekrosis dengan sistem HUVOS.

- b. Blok parafin dari bahan operasi dan bahan biopsi dari osteosarkoma masih memiliki jaringan tumor yang cukup representatif untuk pemeriksaan imunohistokimia.
- c. Pasien yang memiliki dokumen medik lengkap, meliputi nama, umur, jenis kelamin, dan lokasi tumor sehingga didapatkan sampel sebanyak 17 kasus dari 26 kasus. Untuk menentukan besar sampel digunakan rumus⁷ :

$$n = N \cdot Z\alpha^2 \cdot P(1-P) / d^2(N-1) + Z\alpha^2 \cdot P(1-P)$$

n = besar sampel minimum
 $Z\alpha$ = nilai distribusi normal baku = 1,96
d = kesalahan (absolut) yang dapat ditolerir = 0,1
n = besar populasi

Variabel yang diteliti meliputi variabel bebas (ekspresi CD44 dan ezrin) serta variabel tergantung (respons kemoterapi).

Penelitian ini menggunakan pulasan imunohistokimia ezrin dan CD44 pada blok parafin yang diambil dari tumor yang didiagnosis secara histopatologik sebagai osteosarkoma dan sudah diperiksa respons kemoterapinya berdasarkan kriteria HUVOS. Ezrin diperiksa dengan menggunakan antibodi *polyclonal ezrin (bioss)* dan dinyatakan positif jika terpulas pada membran, sitoplasma, serta inti sel tumor. Kemudian dihitung jumlah persentase sel yang positif dan intensitasnya secara visual menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan pembesaran 40 kali. CD44 yang diperiksa menggunakan *antibodi polyclonal CD44* dinyatakan positif jika terpulas pada membran dan/atau sitoplasma sel tumor. Kemudian dihitung jumlah persentase sel yang positif dan intensitasnya secara visual menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan pembesaran 400 kali.

Hubungan ekspresi ezrin, CD44, dan respons kemoterapi osteosarkoma dianalisis menggunakan uji statistik Spearman's rho. Hasil uji statistik dikatakan bermakna jika $p \leq 0,05$.

HASIL

Pada penelitian ini didapatkan sampel 17 kasus dari 26 kasus dengan diagnosis osteosarkoma yang sesuai dengan kriteria inklusi.

1. Distribusi usia, jenis kelamin, tipe osteosarkoma, lokasi tumor, dan grading HUVOS

Pada penelitian ini diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1: Distribusi usia, jenis kelamin, tipe osteosarkoma, lokasi tumor, dan grading HUVOS

No.	Distribusi	Frekuensi	Perentase (%)
1	Usia:		
	11–20	8	47,06
	21–30	4	23,54
	31–40	2	11,76
	41–50	2	11,76
2	Jenis kelamin:		
	Laki-laki	10	58,82
	Perempuan	7	41,18
3	Tipe osteosarkoma:		
	<i>Conventional</i>	11	64,71
	<i>Giant cell rich</i>	4	23,53
	<i>Telangiectatic</i>	1	5,88
4	Lokasi tumor:		
	Femur	8	47,06
	Tibia	5	29,42
	Humerus	2	11,76
	Ulna	1	5,88
5	Grading HUVOS :		
	<i>Grade 1</i>	1	5,88
	<i>Grade 2</i>	11	64,71
	<i>Grade 3</i>	5	29,41
	<i>Grade 4</i>	0	0

2. Distribusi persentase ezrin

Ekspresi positif ezrin pada osteosarkoma setelah mendapatkan kemoterapi menunjukkan gambaran persentase terbanyak pada 81–100%, dengan frekuensi = 9 (52,94%).

Tabel 2: Persentase ezrin

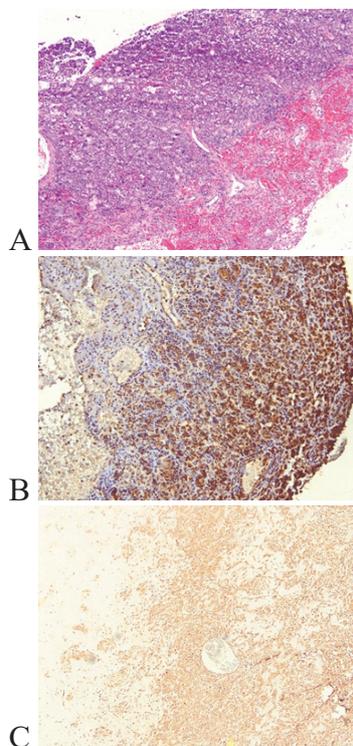
Persentase ezrin	Frekuensi	%
0–20	0	0
21–40	0	0
41–60	1	5,88
61–80	7	41,18
81–100	9	52,94
Total	17	100

Hasil analisis statistik dengan uji *Spearman’s rho* untuk mengetahui hubungan ekspresi ezrin pada area nekrosis osteosarkoma yang telah mendapat kemoterapi menunjukkan hasil yang tidak bermakna, di mana nilai $p=0,868$ ($p>0,05$).

Nonparametric Correlations

Correlations

		Area Nekrosis HUVOS Grade	
Spearman's rho ezrin	Correlation Coefficient	1.000	.044
	Sig. (2-tailed)	.	.868
	N	17	17
Area Nekrosis Huvos Grade	Correlation Coefficient	.044	1.000
	Sig. (2-tailed)	.868	.
	N	17	17



Gambar 1: A. Osteosarkoma dengan pulasan HE; B. Ekspresi ezrin terpusat positif kuat pada membran, sitoplasma, dan inti; C. ekspresi ezrin terpusat positif sebesar 80% pada membran, sitoplasma, dan inti.

3. Distribusi persentase CD44

Penilaian ekspresi CD44 pada sampel penelitian berdasarkan persentase, dengan melihat ekspresi positif pada pulasan IHC osteosarkoma setelah mendapatkan kemoterapi, menunjukkan gambaran persentase terbanyak pada 61–80 %, dengan frekuensi = 7 (41,18 %). Secara lengkap dapat dilihat p ada Tabel 3.

Tabel 3: Persentase CD44

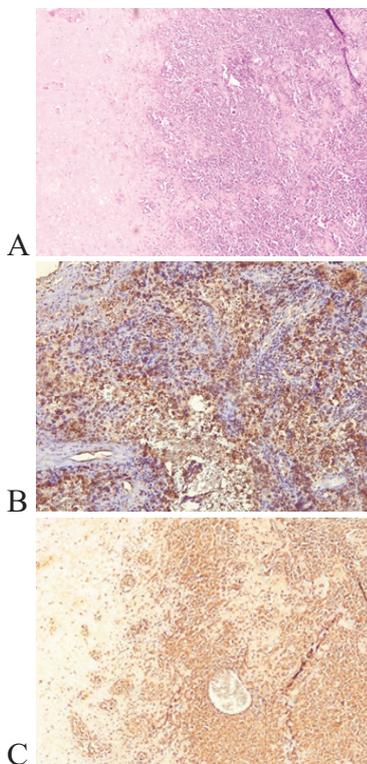
Persentase CD44	Frekuensi	%
0–20	0	0
21–40	1	5,88
41–60	3	17,65
61–80	7	41,18
81–100	6	35,29
Total	17	100

Analisis statistik dengan uji Spearman's rho untuk mengetahui hubungan ekspresi CD44 pada area nekrosis osteosarkoma yang telah mendapat kemoterapi menunjukkan hasil yang tidak bermakna, di mana nilai $p=0,740$ ($p>0,05$).

Nonparametric Correlations

Correlations

		Area Nekrosis HUVOS Grade	CD_44
Spearman's rho	Area Nekrosis Huvos Grade	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.087
		N	.740
CD_44		Correlation Coefficient	.087
		Sig. (2-tailed)	1.000
		N	.740



Gambar 2: A. Osteosarkoma dengan pulasan HE; B. Ekspresi CD44 terpulaskuat pada membran dan sitoplasma; C. Ekspresi CD44 terpulaskuat 90% pada membran dan sitoplasma.

Penilaian ekspresi CD44 pada sampel menggunakan semikuantitatif dengan hasil persentase ekspresi CD44 terhadap respons kemoterapi pada osteosarkoma.

4. Hubungan antara ekspresi ezrin dengan CD44 dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma berdasarkan grading HUVOS

Analisis hubungan antara ekspresi ezrin dengan CD44 pada penelitian ini menggunakan uji Spearman's rho memperoleh hasil tidak terdapat hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi osteosarkoma, di mana didapatkan nilai $p=0,740$ ($p>0,05$).

Nonparametric Correlations

Correlations

		ezrin	CD44	Area Nekrosis HUVOS Grade
Spearman's rho	ezrin	Correlation Coefficient	1.000	.398
		Sig. (2-tailed)	.044	.087
		N	.113	.868
CD_44		Correlation Coefficient	.398	1.000
		Sig. (2-tailed)	.087	.044
		N	.113	.740
Area Nekrosis Huvos Grade		Correlation Coefficient	.044	.087
		Sig. (2-tailed)	.868	.740
		N	.113	.740

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Data demografi yang tercatat pada penelitian ini adalah usia pasien yang sudah dikemoterapi dan dilakukan penilaian grading menurut HUVOS dengan ketentuan Grade I (area nekrosis 0-49%), Grade II (area nekrosis 50-89%), Grade III (area nekrosis 90-99%), Grade IV (area nekrosis 100%), dan kasus terbanyak pada pasien dengan jenis kelamin laki-laki, sedangkan karakteristik dari tumor dalam penelitian ini adalah ezrin dan CD44.

Pada penelitian ini, sampel diambil dari blok parafin yang tersimpan di Laboratorium Patologi Anatomi/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, selama Januari 2010–Desember 2015. Didapatkan 17 sampel kasus yang sesuai dengan kriteria inklusi dari 26 kasus yang didiagnosis secara histopatologik sesuai osteosarkoma serta telah dilakukan amputasi. Kemudian dilakukan pulasan dengan antibodi ezrin dan CD44. Pada penelitian sebelumnya, jumlah sampel sebanyak 25 kasus.⁸ Dengan jumlah sampel

yang kecil pada penelitian ini secara statistik dapat berpengaruh terhadap hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 pada respons kemoterapi.

Distribusi usia pada penelitian ini menunjukkan kasus terbanyak terdapat pada rentang usia 11–20 tahun, yaitu 8 kasus (61,54%). Pada penelitian sebelumnya, usia terbanyak 20 tahun, yaitu 21 kasus (84%).⁸ Pasien laki-laki lebih banyak dibanding perempuan, laki-laki 10 kasus (58,82%). Sedangkan pada penelitian sebelumnya laki-laki 17 kasus (68%).⁸ Hal ini bisa disebabkan masa pertumbuhan tulang pada pria lebih lama daripada wanita.⁹ Distribusi tipe osteosarkoma pada penelitian ini menggambarkan tipe yang terbanyak adalah tipe *conventional*, yaitu 11 dari 17 kasus (64,71%). Pada penelitian sebelumnya, tipe terbanyak adalah subtipe osteoblastik, yaitu 18 kasus (72%).⁸ Subtipe *osteoblastic*, *fibroblastic*, dan *chondroblastic*, memiliki prognosis yang baik, sedangkan subtipe *small cell osteosarcoma* prognosinya jelek. Distribusi *grading* pada penelitian ini didasarkan pada HUVOS, di mana *grading* yang terbanyak adalah *grade 2*, yaitu 11 kasus (64,71%). Sedangkan pada penelitian sebelumnya, *grading* didasarkan pada *low* dan *high*, terbanyak adalah *high grade*, yaitu 19 kasus (76%). Distribusi lokasi tumor pada penelitian ini yang terbanyak adalah pada femur, yaitu 8 kasus (47,06%). Sedangkan pada penelitian sebelumnya lokasi terbanyak pada femur, yaitu 13 kasus (52%).⁸ Hal ini bisa terjadi karena tumor biasanya tumbuh di area metafisis pada tulang panjang ekstremitas.

Ekspresi ezrin terhadap Respons Kemoterapi

Penilaian ekspresi ezrin pada sampel osteosarkoma yang sudah mendapatkan kemoterapi ini dinilai berdasarkan persentase dengan intensitas negatif, lemah, sedang, dan kuat; serta dengan melihat ekspresi positif pada pulasan IHC osteosarkoma setelah mendapatkan kemoterapi. Didapatkan gambaran persentase terbanyak ada pada persentase 81–100%, dengan frekuensi = 9 (52,94%). Dalam jurnal disebutkan bahwa ekspresi ezrin yang tinggi pada osteosarkoma menunjukkan gambaran kelangsungan hidup pasien yang buruk.¹⁰ Dari hasil uji statistik dengan menggunakan uji *Spearman's rho* didapatkan hasil yang tidak bermakna, di mana nilai $p=0,868$ ($p>0,05$). Ada berbagai faktor yang menyebabkan ezrin tidak terdapat hubungan dengan respons kemoterapi. Ezrin memiliki peran penting dalam proses seluler normal seperti perawatan membran, adhesi, motilitas, sitokinesis, fagositosis, dan integrasi transportasi membran dengan jalur pensinyalan.¹¹ Ezrin dapat berinteraksi dengan protein membran,

baik secara langsung maupun melalui protein adaptor. Ezrin mengikat protein adaptor seperti EBP50/NHE-RF dan E3KARP yang mengatur aktivitas transporter ion, endositosis protein membran plasma, dan Interaksi F-actin terhadap domain membran plasma spesifik.¹¹ Selain protein membran plasma, ezrin dengan protein sinyal sitoplasma terlibat dalam beberapa jalur pensinyalan, seperti jalur Rho dan PI3K/Akt.¹² Secara khusus, ligan yang mengikat integrin dapat menyebabkan hubungan dengan *focal adhesion kinase (FAK)* dan perekrutan filamen aktin yang diatur oleh enzim mikro RhoB GTPase, yang memainkan peran penting dalam perlawanan tumor terhadap kemoterapi sehingga sel tumor bisa menjadi kemoresisten.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Khanna *et al.*, ezrin lebih banyak berperan pada proses metastasis; penekanan ekspresi ezrin pada model eksperimen menghasilkan penurunan metastasis.¹³ Hal ini kemungkinan bisa menjadi salah satu faktor yang memengaruhi hubungan antara ekspresi ezrin dengan respons kemoterapi.¹³

Ekspresi CD44 terhadap Respons Kemoterapi

Penilaian ekspresi CD44 pada sampel penelitian ini dihitung menggunakan persentase sehingga dalam perhitungan yang dimasukkan persentase terbanyak pada angka 61–80%, dengan frekuensi sejumlah 7 (41,18%).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kuryu disebutkan bahwa ekspresi CD44 yang kuat pada osteosarkoma menggambarkan prognosis yang buruk dan lebih rentan untuk terjadinya metastasis.^{14,15} Persentase ekspresi CD44 pada osteosarkoma yang telah mendapatkan kemoterapi menunjukkan gambaran persentase terbanyak pada angka 81–90%, dengan frekuensi sejumlah 6 (46,16%). Dari hasil uji statistik menggunakan uji *Spearman's rho* didapatkan hasil yang tidak bermakna, di mana nilai $p=0,740$ ($p>0,05$). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Louvet-Vallee menjelaskan bahwa protein terkait adhesi dengan domain trans membran tunggal tidak hanya CD44, tetapi ada beberapa antigen lain yang memiliki fungsi sama, yaitu antigen CD43; CD95; ICAM-1, -2, -3; dan PA2.26 melalui ekor sitoplasma mereka.¹⁶ Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Gee *et al.*, disebutkan bahwa CD44 tidak hanya sebagai marker *cancer stem cell*, tetapi juga berperan pada reaksi inflamasi kronis dan disfungsi autoimun. Sedangkan CD44 *variant* telah dikaitkan dengan agresivitas limfoma non-hodgkin pada manusia.¹⁵ Sel-T sel limfosit dan sel dendritik

berkembang dengan ekspresi CD44. Hal ini kemungkinan juga bisa memengaruhi hubungan antara CD44 dengan respons kemoterapi.

Hubungan antara Ekspresi ezrin dengan CD44 pada Respons Kemoterapi Osteosarkoma

Hubungan antara ekspresi ezrin dengan CD44 pada penelitian ini setelah dianalisis menggunakan uji Spearman's rho hasilnya menunjukkan tidak terdapat hubungan antara CD44 dan ezrin pada osteosarkoma yang telah mendapatkan kemoterapi, di mana nilai $p = 0,113$ ($p > 0,05$). Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hongtao menunjukkan tidak ada hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi osteosarkoma. Hal ini bisa disebabkan oleh beberapa kemungkinan, salah satunya jumlah sampel yang kecil yang bisa menjadi salah satu faktor yang memengaruhi perhitungan statistik. Hal ini bisa memengaruhi hubungan antara ekspresi ezrin dan CD44 dengan respons kemoterapi osteosarkoma.¹⁷ Karakteristik pasien meliputi usia dan jenis kelamin; karakteristik tumor meliputi tipe tumor, ukuran tumor, lokasi tumor, dan *grading* (HUVOS); dapat memengaruhi prognosis tumor osteosarkoma.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan persentase antara ekspresi ezrin dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma. Tidak terdapat hubungan antara ekspresi CD44 dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma. Tidak terdapat hubungan persentase antara ekspresi ezrin dan ekspresi CD44 dengan respons kemoterapi pada osteosarkoma.

DAFTAR PUSTAKA

- Ozaki T, Flege S, Liljenqvist U, et al., Osteosarcoma of the spine: experience of the Cooperative Osteosarcoma Study Group. *Cancer* 2002;94:1069–77.
- Magishi K, Yoshida H, Izumi Y, et al., Primary osteosarcoma of the lung: report of a case. *Surg Today* 2004;34:150–2.
- Picci P, Vanel D, Briccoli A, et al., Computed tomography of pulmonary metastases from osteosarcoma: the less poor technique. A study of 51 patients with histological correlation. *Ann Oncol*. 2001;12:1601–4.
- Fehon RG, McClatchey AI, Bretscher A. Organizing the cell cortex: the role of ERM proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010;11:276–287.
- Lamontagne CA, Grandbois M. PKC-induced stiffening of hyaluronan/CD44 linkage; local force measurements on glioma cells. *Exp Cell Res* 2008;314:227–236.
- M Sopiudin Dahlan, 2011. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan, ed.5
- Wang X. S., Williams L. A., Krishnan S., Liao Z., Liu P., Mao L. Serum sTNF-R1, IL-6, and the development of fatigue in patients with gastrointestinal cancer undergoing chemoradiation therapy. *Brain Behav. Immun*. 2012;26:699–705
- Kamal Achmad Fauzi, Prabowo Yogi, Prayogo Nugroho, Ramli Irwan, 2007. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Osteosarkoma; 1
- Kim MS, Song WS, Cho WH, Lee SY, Jeon DG. Ezrin expression predict survival in stage IIB osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res*. 2007;459: 229-36.
- Gautreau A, Pouillet P, Louvard D, Arpin M. Ezrin a plasma membrane- microfilament linker, signals cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1999;96:7300-7305.
- Gautreau A, Pouillet P, Louvard D, Arpin M. Ezrin a plasma membrane- microfilament linker, signals cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase/ AKT pathway. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1999;96:7300-7305.
- Khanna C, Khan J, Nguyen P, Prehn J, Caylor J, Yeung C. Metastasis-associated differences in gene expression in a murine model of osteosarcoma. *Cancer Res May* 2004;1;61(9):3750-3759
- Kuryu M, Ozaki T, Nishida K, Shibahara M, Kawai A, Inoue H. Expression of CD44 variants in osteosarcoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999;125:646-52.
- Xu-dong S, Zan S, Zheng Shui-er, et al. Expression of Ezrin Correlates with lung metastasis in Chinese patients with osteosarkoma. *Clin Invest Med*. 2009;32 (2): E180-E188
- Louvet -Vallee S. ERM proteins: from cellular architecture to cell signaling. *Biol Cell*. 2000;92:305-316
- Gee K, Kryworuchko M, Kumar A. Recent advances in the regulation of CD44 expression and its role in inflammation and autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2004
- Hongtao Li, Daliu Min, Hui Zhao, Zhiyu Wang, Weixiang Qi, Lina Tang, Aina He, Yuanjue Sun, Yang Yao, Zan Shen, 2013, "The prognostic role of Ezrin immunoeexpression in Osteosarcoma