A Clinical Analysis of PTEN Expressions in Breast Cancers

Hang Ju Cho, M.D.¹, Jeong Soo Kim, M.D.¹, Kee Hwan Kim, M.D.¹, Chang Hyeok Ahn, M.D.¹, Woo Chan Park, M.D.¹, Se Jeong Oh, M.D.¹, Sang Seol Jung, M.D.¹, Keun Woo Lim, M.D.¹ and Seock Ah Im, M.D.²

¹Department of Surgery, Uijongbu St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Uijongbu,

²Department of Medicine, Mockdong Hospital, College of Medicine, Ewha Women's University, Seoul, Korea

Purpose: The PTEN gene, a novel tumor suppressor, is localized to chromosome 10q23.3 and shares extensive homology with the cytoskeletal protein, tensin. A high frequency of mutations at the PTEN locus has been described in a variety of neoplasms including breast cancer and Cowden Disease. However, the role of PTEN alterations and its association with clinicopathological factors have not been well established. We investigated the relationship between the PTEN expression and clinicopathological factors.

Materials and Methods: Formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from 105 women with breast cancer were evaluated for the PTEN expression and were scored semi-quantitatively based on staining intensity and distribution. Results were statistically compared with clinicopathological factors.

Results: Forty-seven (45%) of the 105 breast cancers had a loss of the PTEN expression. In the recurrent group, 19 of 32 (59%) patients showed a loss of the PTEN expression,

whereas in the non-recurrent group, only 28 of 73 (38%) patients showed a loss of the PTEN expression. The loss of PTEN expression correlated with estrogen receptors (ER) ($p=0.027$), recurrence ($p=0.046$), HER-2/*neu* overexpression ($p=0.016$), disease-free survival ($p=0.0163$), and overall survival ($p=0.0357$). In particular, when HER-2/*neu* was overexpressed, the overall survival rate correlated with the loss of PTEN expression statistically ($p=0.0454$), whereas when HER-2/*neu* was negative, there was no correlation ($p=0.9808$). Progesterone receptor (PR) and disease stage had no relationship with the PTEN expression.

Conclusion: Our results support that PTEN plays a role as a tumor suppressor in breast cancer and is a prognostic factor in predicting recurrence. (*Cancer Research and Treatment* 2003;35:102-108)

Key Words: Breast neoplasm, PTEN, HER-2/*neu*, Prognostic factor

서론

2000년 보건복지부 암등록 보고에 의하면 유방암은 여성에서 발생하는 악성종양 중 위암다음으로 흔하며, 최근 국내보고에서도 그 발생률이 다른 암에 비하여 증가되는 추세이고 아직도 이환율과 사망률이 높은 질환이다. 최근 암의 성장과 전이에 관계되는 유전자에 관한 많은 연구에도 불구하고 유방암을 유발하는 분자 생물학적 기전의 이해는 아직 부족하다. 여러가지 분자생물학적 연구의 발전으로 암의 발생에 관여하는 많은 유전자들이 발견되고 있고, 그 중에서도 protein tyrosine kinases (PTK)가 암발생에 관련되어 있다는 보고가 있다(1). Tyrosine phosphorylation이 암발

생에 중요한 역할을 한다는 것은 많은 protein tyrosine phosphatases (PTP)가 종양억제자로 작용한다는 것을 의미한다. PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)이라는 유전자가 10q23.3에서 발견되었고 종양억제 유전자로서의 가능성이 보고되었다(2). PTEN은 PTP족(family)와 세포골격단백질인 tensin과 형태학적 동일성을 가지고 있으며, MMAC1 (mutated in multiple advanced cancers), TEP1 (TGFB-regulated and epithelial cell-enriched phosphatase)라고 불리기도 하며 403 아미노산을 암호화(encoding)한다(2~4).

이런 PTEN의 변이는 유방암뿐만 아니라 다른 악성종양이나 증후군에서도 발견이 되고 있다. 즉, 신경교아세포종, 간암, 악성흑색종, 신경교아세포종, 전립선암종, 갑상선암종, 비호츠킨림프종 등에서 보고되었으며, Cowden disease는 상염색체우성으로 유전되는 다발성 과오종 증후군으로서 유방암에 대한 25~50%의 평생유병률을 가지고 있으며 갑상선암, 자궁내막암, 위장관암 등의 위험성이 증가하는 증후군이며, Lhermitte-Duclos disease는 Cowden disease의 증

Correspondence: Jeong Soo Kim, Department of Surgery, Uijongbu St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea, 65-1 Kumoh-dong, Uijongbu 480-130, Korea. (Tel) 031-820-3048, (Fax) 031-847-2717, (E-mail) drbreast@cmc.cuk.ac.kr
Received December 20, 2002, Accepted March 20, 2003

상외에 증대한 신경학적 임상증상 등을 나타내고, Bannayan-Zonana syndrome은 Cowden disease의 대두증, 정신박약 외에 종양이 조기 생성한다는 특징이 있는 질환이며 이런 증후군의 약 80%에서 PTEN의 변이를 보이는 것으로 알려져 있다(3,5).

이런 PTEN의 종양억제인자로서의 분자생물학적기능은 이중특이적인 산화효소(dual-specific phosphatase)로서 p27^{kip1}의 증가를 통한 자연사멸과 세포주기 G1기 정지(4,6), Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway의 조절을 통한 세포 증식과 성장의 억제 및 Nuclear factor-kB (NF-kB)의 억제(7,8), FAK (focal adhesion kinase)의 탈인산화를 통한 세포의 이동, 확장, 초점성부착의 형성 억제(9), MAP kinase의 탈인산화를 통한 세포운동억제작용(10) 등 여러 가지 복합적인 종양억제 인자로서의 기능이 알려져 있다.

유방암에서 예후에 관한 인자로는 에스트로겐수용체(ER), 프로게스테론수용체(PR) 등의 호르몬 수용체와 HER-2/*neu* 등이 잘 알려져 있으며 ER 양성을 나타내는 유방암 환자의 예후가 양호한 것으로 알려져 있고 HER-2/*neu*는 전체 유방암의 약 30%에서 과발현되며, 이런 경우에는 예후가 불량한 것으로 보고되고 있다(11). PTEN의 소실은 조직학적으로 불량한 경우가 많다고 알려졌으며(12,13), 유방암에서 Intragenic somatic PTEN mutation은 5% 미만에서, PTEN의 발현소실은 약 30~40%에서 나타나고 예후에서도 병기나 재발에 영향을 미치는 것으로 보고되었으나(14,15) PTEN의 유방암에 대한 연구는 많지 않으며 더욱이 임상적인 유용성이나 기존의 알려진 예후인자와의 연관성에 관한 연구는 많지 않다.

이에 저자들은 유방암 환자에서의 PTEN의 발현소실 빈도와 예후인자로서 다른 임상적 예후인자와의 상관관계를 알아보고 재발군과 비재발군에서의 차이를 연구하여 유방암 환자의 재발 및 생존율에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1) 연구대상

1993년부터 2000년까지 가톨릭대학교 의과대학 의정부성모병원 외과에서 유방암으로 진단받고 수술을 받은 임상 자료를 확인할 수 있었던 105명의 환자를 대상으로 얻은 파라핀 포매조직을 이용하였다. 환자의 임상기록과 병리진단지 등을 재검색하여 환자의 나이, 병기, 재발여부 등을 확인하여 재발군(32명)과 비재발군(73명)으로 나누었고, 병기는 AJCC의 TNM stage(1998)에 근거하였다.

2) 연구방법

(1) 면역조직화학염색: 수술 시 얻은 조직을 중성 포르말린 용액에 고정하여 파라핀에 포매하고 4 um 두께로 잘라 probe on plus슬라이드에 부착시키고 Xylene으로 3분간 3회 담구어 파라핀을 제거한 후, 100%, 85%, 70%, 50% 알코올에 3분씩 처리 후 증류수에 넣어 흡수시켰다. 10mM Citrate 용액에 넣어 121°C에서 10분간 가압멸균한 후 조직 표본 위에 Peroxidase-Blocking solution을 떨어뜨려 10분간 두어 내인성 peroxidase를 정지시키고, TBS용액으로 씻어 non-immune serum과 실온에서 10분간 반응시킨 후, 1 : 50으로 희석한 PTEN/MMAC1 Ab-2 (NeoMarkers, Fremont, CA), c-erbB2 (Zymed, San Francisco, CA) 일차항체와 4°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. TBS용액으로 씻은 후 2차 항체인 biotinylated polyvalent antibody (Histostain-Plus, Zymed, San Francisco, CA)를 실온에서 10분간 반응시켜 TBS용액으로 씻고 streptavidine peroxylase와 10분간 반응시켰다. TBS용액으로 씻고 발색시약인 DAB로 5분간 반응시킨 후 물로 세척하고 Hematoxylin으로 대조염색한 후 알코올과 Xylene으로 탈수시켜 canada balsam으로 봉입하여 현미경으로 검정하였다.

(2) 면역조직화학염색 결과 판정: 각 PTEN단백질의 발현에 대한 판정은 염색된 강도와 범위를 기준으로 하였으며 강도의 경우 양성대조군으로서 전립선암 조직에서 염색된 정도를 3으로 하였고 중등도로 염색이 되면 2, 약하게 염색되면 1, 항체를 사용하지 않은 경우와 같이 음성이면 0으로 판정하였고, 염색범위의 경우 염색이 안 된 경우를 0, 10% 이내를 1, 10~50%를 2, 50% 이상을 3으로 판정하여 각각에 대해 이들 두 수치의 합인 염색지수를 구하여 염색지수가 5 이상인 경우를 양성으로 하고 4 이하의 경우를 발현소실로 판정하였다(Fig. 1).

(3) 통계처리: 통계는 SPSS 11.0 통계프로그램을 이용하여 각 단백질의 염색으로 나타난 결과를 대상환자의 임상적 자료와 함께 Chi Square test를 무병기간과 생존율은 log-rank test를 이용하여 통계처리하여 $p < 0.05$ 로 나타난 경우를 유의한 것으로 판정하여 그 통계학적 의의를 알아보았다.

결 과

1) 임상소견

환자들의 평균연령은 49세였으며 28세부터 73세까지 분포하였다. 재발은 32명(30.5%)에서 보였으며, 환자의 병기별로는 I기가 22명(21.0%), II기가 52명(49.5%), III기가 30명

Fig. 1. Intensity score of PTEN Immunohistochemical staining. A: 0 (PTEN loss), B: 1, C: 2, D: 3 (positive control) (DAB stain, $\times 100$).

Table 1. The comparison of patient characteristics between the recurrent and non-recurrent groups

	Non-recurrent group	Recurrent group	Total
Age (yrs)	49.9 (± 10.6)	49.1 (± 10.7)	49.6 (± 10.7)
Stage I	19 (26.0%)	3 (9.4%)	22 (21.0%)
II	44 (60.3%)	8 (25.0%)	52 (49.4%)
III	9 (13.7%)	20 (62.5%)	30 (28.6%)
IV	0 (0%)	1 (3.1%)	1 (1.0%)
ER* Positive	30 (41.1%)	16 (50.0%)	46 (43.8%)
Negative	43 (58.9%)	16 (50.0%)	59 (56.2%)
PR [†] Positive	34 (46.6%)	10 (31.3%)	44 (41.9%)
Negative	39 (53.4%)	22 (68.7%)	61 (58.1%)

*: estrogen receptor, [†]: progesteron receptor

(28.6%), IV기가 1명(1.0%)을 차지하였다(Table 1).

2) PTEN의 발현소실과 예후인자와의 상관관계

(1) PTEN의 발현소실과 병기와의 관계: Stage I에서

Table 2. The association between PTEN and disease stage

	PTEN loss	PTEN expression
Stage I	8 (36.4%)	14 (63.6%)
Stage II	23 (44.2%)	29 (55.8%)
Stage III	15 (50.0%)	15 (50.0%)
Stage IV	1 (100%)	0 (0%)
p-value	0.222	

PTEN의 발현소실은 8명(36.4%), Stage II에서 23명(44.2%), Stage III에서는 15명(50.0%), Stage IV에서는 1명(100%)로 병기와 PTEN loss와는 상관관계는 있었으나 통계학적 유의성은 없었다($p=0.222$)(Table 2).

(2) PTEN의 발현소실과 재발률과의 관계: 전체적으로 105명의 환자 중에서 PTEN 발현소실은 47명(44.8%)에서 있었다. 재발군($n=32$)에서 PTEN 발현소실은 19명(59.4%)에서, 비재발군에서는($n=70$) 28명(38.4%)에서 나타났다. PTEN 발현소실과 재발률과는 통계학적으로 유의성을 보였다

($p=0.046$)(Table 3).

(3) PTEN의 발현소실과 ER과의 관계: ER음성군에서 PTEN발현소실은 32명(54.2%), ER양성군에서는 15명(32.6%)으로 PTEN발현소실과 ER음성과는 통계학적 유의성이 있었다($p=0.027$)(Table 4).

(4) PTEN의 발현소실과 PR과의 관계: PR음성군에서 PTEN발현소실은 32명(52.5%), PR양성군에서는 15명(34.1%)으로 PTEN발현소실은 PR음성군에서 많았으나 통계학적 유의성은 없었다($p=0.062$)(Table 4).

(5) PTEN의 발현소실과 HER-2/*neu*와의 관계: HER-2/*neu* 과발현군에서는 PTEN발현소실이 19명(63.3%), HER-2/*neu* 음성군에서는 PTEN의 발현소실이 28명(37.3%)로 PTEN의 발현소실과 HER-2/*neu*과발현은 통계학적 유의성이 있었다($p=0.016$)(Table 4).

(6) PTEN의 발현소실과 무병생존율과의 관계: PTEN발현소실군에서 무병생존율이 통계학적 유의있게 낮았다($p=0.016$)(Fig. 2).

(7) PTEN의 발현소실과 생존율과의 관계: PTEN발현소실군에서 통계학적으로 유의하게 생존율이 낮았다($p=0.036$)(Fig. 3). 생존율을 다시 HER-2/*neu*과발현군과 음성군으로 나누었을 때 HER-2/*neu*과발현군에서는 통계학적 유의성이 있는 반면($p=0.045$), HER-2/*neu*음성군에서는 통계학적으로 상관관계가 없었다($p=0.981$)(Fig. 4).

Table 3. The association between PTEN loss and recurrence

	PTEN loss	PTEN expression
Recurrent group (n=32)	19 (59.4%)	13 (40.6)
Non-recurrent group (n=73)	28 (38.4%)	45 (61.6)
Total (n=105)	47 (44.8%)	58 (55.2%)
p-value	0.046	

Table 4. The correlation of PTEN with ER, PR, and Her-2/*neu*

	ER		PR		Her-2/ <i>neu</i>	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
PTEN loss	32 (54.2%)	15 (32.6%)	32 (52.5%)	15 (34.1%)	28 (37.3%)	19 (63.3%)
PTEN expression	27 (45.8%)	31 (67.4%)	29 (47.5%)	20 (65.9%)	47 (62.7%)	11 (36.7%)
p-value	0.027		0.062		0.016	

고찰

교모세포종(glioblastoma)에서 가장 흔한 유전자소실은

Fig. 2. Disease free survival according to loss of PTEN expression The loss of PTEN expression is related to poor disease-free survival ($p=0.016$).

Fig. 3. Overall survival according to loss of PTEN expression The loss of PTEN expression is related to poor overall survival ($p=0.036$).

Fig. 4. Overall survival rate according to loss of PTEN expression and HER-2/*neu* overexpression. The loss of PTEN expression is not related to overall survival in the HER-2/*neu* negative case (A) ($p=0.981$). But, with Her-2/*neu* overexpression, the loss of PTEN expression is strongly related to overall survival (B) ($p=0.045$).

10q22~23 근처에서 일어나며, 이 사실은 이 곳에 종양억제 유전자가 있다는 것을 의미한다(16). 이러한 사실로 10q22-23을 지도화한 결과 PTEN이 종양억제유전자로서 발견되었다. Li 등(2)은 전립선암에서 100%, 유방암에서 6%, 교모세포종에서 31%에서 PTEN의 소실을 보고하였고, Liaw 등(5)은 Cowden disease의 약 80% 이상에서 PTEN단백의 변이가 발견된다고 하였으며, 본 저자들(17)도 갑상선암에서 29%의 발현소실을 보고하였다. 유방암에서 PTEN발현소실은 여러 연구에서 30~40%를 보고하였고(12~15) 박승배 등(18)은 63%의 높은 소실률을 보고하였으며, 본 연구에서는 47예(44.8%)로 다른 연구들과 비슷한 결과를 보였다. 그러므로 PTEN의 발현소실은 유방암에서 비교적 흔하게 나타난다고 할 수 있다.

PTEN은 PTP족(family)과, 그리고 세포골격단백질인 ten-

sin과도 형태학적 동일성을 가지고 있다. Tyrosine phosphorylation이 암발생에 중요한 역할을 하면서 PTP는 종양 억제유전자로서의 작용을 하며, tensin은 초점성부착(focal adhesion)에서 actin filament와 상호작용하는 단백질이다. 그러므로 이런 형태학적 동일성은 PTEN이 PTK와 길항작용을 갖으며 초점성부착에서 암세포의 침습과 전이를 조절하는 역할을 하게 할 것이라는 추정을 할 수 있다(2). Myers 등(19)은 PTEN은 이중특이적 인산화효소로서 작용한다고 하였다. 이중특이적 인산화효소는 phospho-tyrosyl residue뿐만 아니라 phospho-seryl, phospho-threonyl residue를 탈인산화시킨다. 즉, PTEN단백질은 기본적으로 tyrosine-phosphatase로 여겨졌으나 사실상 lipid phosphatase이다. Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate (PIP)는 세포신호전달과 세포성장에 있어서 결정적인 신호전달물질이며 Phosphoinositol-3-kinase (PI3-kinase)에 의해서 PIP가 증가하게 되고, 이것은 serine/threonine kinase Akt/Protein kinase B를 활성화시키게 된다. Maehama와 Dixon(20)은 PTEN이 PIP에서 inositol ring의 3 위치에 있는 phosphate를 제거한다고 하였으며, Li와 Sun(4)은 PTEN이 PI3-kinase/Akt signaling pathway를 통하여 세포주기의 G1기 정지와 세포자연사멸에 관여한다고 하였으며, 이 신호전달체계의 중요한 중간물질은 $p27^{kip1}$ 이라고 하였고, Bruni 등(6)은 PTEN의 종양억제작용이 cyclin dependent kinase inhibitor인 $p27^{kip1}$ 의 활성화증가에 의한다고 하였다. 또한 PTEN은 FAK의 탈인산화를 통한 세포표면상호작용의 조절을 통해 세포의 이동, 확장, 초점성부착의 형성을 억제하고, MAP kinase를 통한 세포이동의 방향과 속도를 조절하며, Akt, p70S6 kinase, BAD, GSK3 등의 세포자연사멸 중간물질과 세포주기조절인자인 $p27^{kip1}$ 을 통해서 유방암에서 세포주기의 조절에 관여한다(9,10).

Bose 등(15)은 순수관내암종의 경우는 PTEN의 이형접합성 소실이 0%였으나, 침윤성관암종에서는 40%가 보인다고 하여 PTEN이 암의 진행에 중요한 역할을 한다고 하였다. Hlobilkova 등(21)은 외인성 wild-type PTEN이 G1기에 있는 유방암세포에 투여되었을 때 내인성 PTEN과 관계없이 세포주기를 G1기에 정지시킬 수 있다고 하였고 Weng 등(22)은 유방암세포 MCF-7에서 PTEN이 과발현되면 성장억제가 관찰되며, 처음의 성장억제는 G1 세포주기의 정지에 의한 것이며 G1 세포주기정지와 세포사가 같이 관여한다고 하였다. 이 사실은 PTEN이 치료적 인자로서 중요한 역할을 할 수 있다는 것을 의미한다.

HER-2/*neu*는 종양유전자로서 epidermal growth factor (EGF) receptor family에 속하며 PI3-kinase를 통해서 Akt/Protein kinase B pathway를 활성화시키며, 이 신호전달체계는 NF- κ B를 활성화시킨다. NF- κ B는 세포성장, 생존, 암성형질전

환(neoplastic transformation)과 전이에 관여하는 유전자를 조절하는 기능을 가지며(23), NF- κ B의 유도는 유방암, 전립선암, 방광암에서 TNF- α 유도의 세포사를 억제한다고 알려져 있다(24). 또한 Sovak 등(25)은 NF- κ B의 이상발현이 유방암과 연관되어 있으며, 세포생존에 관여하는 역할로 볼 때 암의 진행에 중요한 역할을 하며, 앞으로 유방암의 치료에서 주요한 표적이 될 것이라고 하였다. 이러한 NF- κ B의 활성화는 PI3-kinase의 억제인자인 wortmannin이나 PTEN의 발현에 의해 저하되며 calpain-mediated I κ B- α 에 의해서 억제된다고 하였다(8). 따라서 세포자연사멸과정에서 HER-2/neu와 PTEN의 발현은 서로 상관관계가 있다고 볼 수 있으며, 본 연구에서도 PTEN의 발현소실과 HER-2/neu의 과발현은 상관관계가 있었고, 특히, HER-2/neu 음성군에와 다르게 HER-2/neu 과발현군에서 PTEN의 소실여부에 따라 생존율에 통계학적으로 유의한 차이가 있어($p=0.045$), Pianetti 등(8)의 HER-2/neu의 과발현은 PTEN에 의해 억제될 수 있다는 보고와 일치한다.

Depowski 등(12)은 PTEN의 발현소실과 생존율, 림프관전이, ER음성과 통계학적 유의성이 있다고 하였으며, 병기, 재발, PR음성과는 관련성이 없다고 하였다. Perren 등(14)은 ER/PR의 소실만이 PTEN과 통계학적 관련성이 있다고 하였으며, 박승배 등(18)은 림프절전이 여부, 병기, PR 음성군에서 PTEN의 발현소실과 통계학적 유의성이 있다고 하였고, Garcia 등(13)은 PTEN의 발현소실과 환자의 연령, 액와 림프절전이, 높은 조직학적 등급, PR음성군과 통계학적 유의성이 있으며 예후에 악영향을 끼친다고 하였다.

본 연구에서는 PTEN 발현소실과 ER($p=0.027$), 재발($p=0.046$), 무병률($p=0.016$), 생존율($p=0.0357$), HER-2/neu 과발현($p=0.016$)과 통계학적 유의성이 있었다. 즉 PTEN의 발현소실군에서 재발률이 높았으며 생존율과 무병생존율이 모두 낮았고, 특히 HER-2/neu의 과발현된 군에서 PTEN의 발현이 유의하게 감소하였다. 그렇지만 병기($p=0.222$), PR ($p=0.062$)과는 통계학적 유의성은 없었다. PTEN의 발현소실은 앞으로 예후의 판정에 중요한 역할을 담당할 것으로 보이며 다른 예후인자와의 연관성에 대해서도 좀더 많은 연구가 필요하다고 생각한다.

결 론

유방암에서 PTEN의 발현소실이 유방암 발생의 중요한 인자로서 추정할 수 있었으며, 재발과 무병률과도 상관관계에 있고, 생존율과도 상관관계에 있어 예후인자로서 활용가능성이 있으며, 특히 HER-2/neu의 과발현 환자의 치료에도 중요한 지침이 될 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Rosen N, Mendelsohn V, Howley PM, Israel MA, Liota LA. Molecular bases of cancer philadelphia: Saunders, 1995: 105-140.
2. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliareis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovannella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. Science 1997;275:1943-1946.
3. Steck PA, Perhouse MA, Jasser SA, Yung WKA, Lim H, Lligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, Hu R, Swedlund B, Teng DH, Tavtigian SV. Identification of a candidate tumor suppressor gene. MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutation in multiple advanced cancer. Nat Genet 1997;15:358-362.
4. Li DM, Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta. Cancer Res 1997;57: 2124-2129.
5. Liaw D, Marsh DJ, Li J, Dahia PL, Wang SI, Zheng Z, Bose S, Call KM, Tsou HC, Peacocke M, Eng C, Parsons R. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. Nat Genet 1997; 16:64-77.
6. Bruni P, Boccia A, Baldassarre G, Trapasso F, Santoro M, Chiappetta G, Fusco A, Viglietto G. PTEN expression is reduced in a subset of sporadic thyroid carcinomas: evidence that PTEN-growth suppressing activity in thyroid cancer cells mediated by p27kip1. Oncogene 2000;19:3146-3155.
7. Sun H, Lesche R, Li DM, Liliental J, Zhang H, Gao J, Gavrilova N, Mueller B, Liu X, Wu H. PTEN modulates cell cycle progression and cell survival by regulating phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate and Akt/protein kinase B signaling pathway. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:6199-6204.
8. Pianetti S, Arsur M, Romieu-Mourez R, Coffey RJ, Sonnenschein GE. Her-2/neu overexpression induces NF- κ B via a PI3-kinase/Akt pathway involving calpain-mediated degradation of I κ B- α that can be inhibited by the tumor suppressor PTEN. Oncogene 2001;20:1287-1299.
9. Tamura M, Gu J, Matsumoto K, Aota S, Parsons R, Yamada KM. Inhibition of cell migration, spreading and focal adhesions by tumor suppressor PTEN. Science 1998;280:1614-1617.
10. Gu J, Tamura M, Pankov R, Danen EH, Takino T, Matsumoto K, Yamada KM. Shc and FAK differentially regulate cell motility and directionality modulated by PTEN. J Cell Biol 1999;146:389-403.
11. Hortobagyi GN, Hung MC, Buzdar AU. Recent developments in breast cancer therapy. Semin Oncol 1999;26:11-20.
12. Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. Mod Pathol 2001;14:672-676.
13. Garcia JM, Silva JM, Dominguez G, Gonzalez R, Navarro A, Carretero L, Provencio M, Espana P, Bonilla F. Allelic loss of the PTEN region (10q23) in breast carcinomas of poor pathophenotype. Breast Cancer Res Treat 1999;57:237-243.
14. Perren A, Weng LP, Boag AH, Ziebold U, Thakore K, Dahia PLM, Komminoth P, Lees JA, Mulligan LM, Mutter GL, Eng C. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. Am J Pathol

- 1999;155:1253-1260.
 15. Bose S, Wang SI, Terry MB, Hibshoosh H, Parsons R. Allelic loss of chromosome 10q23 is associated with tumor progression in breast carcinomas. *Oncogene* 1998;17:123-127.
 16. Steck PA, Ligon AH, Cheong P, Yung WK, Pershouse MA. Two tumor suppressive loci on chromosome 10 involved in human glioblastomas. *Genes Chromosomes Cancer* 1995;12:255-261.
 17. Kim JS, Bae JS, Kim KH, Ahn CH, Oh SJ, Jeon HM, Lim KW, Chun CS. Clinical analysis of PTEN, p53 and Her-2/*neu* expressions in thyroid cancers. *Cancer Res Treat* 2001;33:433-437.
 18. Park SB, Choi TY, Cha SJ, Lee TJ, Park SI, Lim HM, Park SJ, Chi KC. Loss of the PTEN gene product in the infiltrating ductal carcinoma of the breast and its relationship with clinicopathological factor. *J Korean Surg Soc* 2001;60:600-605.
 19. Myers MP, Stolarov JP, Eng C, Li J, Wang SI, Wigler MH, Parsons R, Tonks NK. PTEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:9052-9057.
 20. Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem* 1998;273:13375-13378.
 21. Hlobilkova A, Guldberg P, Thullberg M, Zeuthen J, Lukas J, Bartek J. Cell cycle arrest by the PTEN tumor suppressor is target cell specific and may require protein phosphatase activity. *Exp Cell Res* 2000;256:571-577.
 22. Weng LP, Smith WM, Dahia PL, Ziebold U, Gil E, Lees JA, Eng C. PTEN suppresses breast cancer cell growth by phosphatase activity-dependent G1 arrest followed by cell death. *Cancer Res* 1999;59:5808-5814.
 23. Kim DW, Sovak MA, Zanieski G, Nonet G, Romieu-Mourez R, Lau AW, Hafer LJ, Yaswen P, Stampfer M, Rogers AE, Russo J, Sonenshein GE. Activation of NF-kappaB/Rel occurs early during neoplastic transformation of mammary cells. *Carcinogenesis* 2000;21:871-879.
 24. Sumitomo M, Tachibana M, Nakashima J, Murai M, Miyajima A, Kimura F, Hayakawa M, Nakamura H. An essential role for nuclear factor kappa B in preventing TNF-alpha-induced cell death in prostate cancer cells. *J Urol* 1999;161:674-679.
 25. Sovak MA, Bellas RE, Kim DW, Zanieski GJ, Rogers AE, Traish AM, Sonenshein GE. Aberrant nuclear factor-kappaB/Rel expression and the pathogenesis of breast cancer. *J Clin Invest* 1997;100.
-