

결장-직장암 환자에서 PTEN 발현의 임상적 의의

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실, ¹상쾌한 아침 외과

강원경 · 천준성 · 안창혁 · 성관수 · 이상철 · 이광렬¹ · 김정수 · 오승택

Clinical Significance of PTEN Expression in Colorectal Cancer

Won Kyung Kang, M.D., Joon Sung Choen, M.D., Chang Hyeok An, M.D., Kwan Su Sung, M.D., Sang Chul Lee, M.D., Kwang Real Lee, M.D.¹, Jeong Su Kim, M.D., Seong Taek Oh, M.D.

Department of Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, and ¹Good-morning Colorectal Clinic, Seoul, Korea

Purpose: Tumor suppressor gene called PTEN has been localized to 10q23 in 1997 and its mutation has been implicated in some malignancies. Loss of the PTEN gene has been clinically associated with unfavorable histology and influencing tumor staging and recurrence in the determination of a prognosis in patients suffering from other cancers, its role in colorectal cancers is inconclusive as of yet. The purpose of this study is shed light on PTEN expression in colorectal cancer and its significance associated with pathological findings and clinical findings.

Methods: A total of 217 patients who had been diagnosed with colorectal cancer, had undergone radical colectomy from October of 1993 to December of 2000, and for whom follow-up was possible were selected for this study. Their clinical records were analyzed and specimens were stained immunohistochemically

Results: In comparing the PTEN positive group (48 patients, 22.1%) with the negative group (171 patients, 77.9%), there was a significantly ($P=0.021$) higher frequency of recurrence in the negative group (29.0%) than in the positive group (12.5%), and an especially higher frequency of distant metastasis in the negative group (18.3%) than in the positive group (4.2%), with $P=0.010$. Although there was no meaningful difference in the overall five year survival rate, the five year disease free survival rate was significantly ($P=0.029$) higher in the positive group.

Conclusions: The results of this study reveal the possibility of using PTEN as a prognostic indicator in colorectal cancer. *J Korean Soc Coloproctol* 2004;20:145-150

Key Words: Colorectal Neoplasms, PTEN

결장-직장암, PTEN

서 론

결장-직장암은 우리나라에서 발생하는 악성종양 중 사망원인의 4위를 차지하는 질환으로서 최근 식생활의 서구화로 인해 점차 증가하는 추세이다. 암 발생은 다발성 유전자 변화가 체세포에 단계적으로 축적되어 세포의 성장조절능력이 상실되어 일어나는 것으로 알려져 있으며,¹ 암유전자 활성화, 유전자 이전, 암억제 유전자 비활성화 등의 기전이 규명되었다.

PTEN (Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10)은 종양억제유전자로 염색체 10q23에 위치하고 있으며, MMAC1 (Mutated in multiple advanced cancers)으로도 명명된다.^{2,3} PTEN 유전자는 9개의 엑손(exon)으로 구성되어 있으며,⁵ 엑손에 핵심 인산효소 영역(core phosphatase domain)이 위치하고, 엑손 7, 8, 9에 3곳의 잠재적 타이로신 인산화 영역(potential tyrosine phosphorylation sites)과 2곳의 잠재적 세린 인산화 영역(potential serine phosphorylation sites)이 위치한다. PTEN 유전자 단백질은 403개의 아미노산으로 구성되며 이 단백질의 N-말단 부위는 세포골격단백인 chicken tensin과 bovine auxilin 및 인산 효소와 상동성을 가진다.^{2,4}

세포주기 정지와 세포자살을 유발하는 데 있어서 PTEN의 인산효소기능이 가장 중요한데 2가지 특이적 인산효소(dual specific phosphatase)의 역할을 하여 단백질과 지질을 탈인산화시키며 특히 세린-트레오닌(serine- threonine)기와 인산화된 타이로신을 가진 단백질(tyrosine phosphorylated protein)을 탈인산화시킴으로써 종양억제 기전을 나타낸다.⁵

PTEN 유전자의 변이가 많은 종양에서 발견되고 있는데 교모세포종,⁶⁻⁸ 유방암,⁹⁻¹² 자궁내막암,^{13,14} 전립선암^{15,16} 등에서 보고되고 있다.

책임저자: 오승택, 서울시 서초구 반포동 505번지
가톨릭대학교 강남성모병원 외과(우편번호: 137-701)
Tel: 02-590-1436, Fax: 02-595-2992
E-mail: stoh@catholic.ac.kr

이 논문은 2003년 아시아암학회(ACOS)에서 구연되었으며 가톨릭 중앙의료원의 연구비에 의해서 수행되었음.

PTEN의 소실은 임상적으로 다른 암 환자에서 병기에 영향을 끼치며 그 예후에서도 재발과 생존율에 영향을 미치는 것으로 보고되었으나 결장-직장암 환자에서의 연구에서는 아직 결론이 나지 않은 상태이다. 이에 본 저자들은 우리나라 결장-직장암 환자에서의 PTEN 단백질 발현소실 빈도를 알아보고 임상적 인자로서 환자의 성별, 나이, 종양의 분화도, 위치, 병기에 따른 발현의 차이와 발현에 따른 재발이나 생존율에 어떤 영향을 미치는지를 조사하여 통계학적 의미를 확인하고자 하였다.

방 법

1) 대 상

가톨릭대학교 부속 성모병원에서 1993년 10월부터 2000년 12월까지 결장-직장의 선암으로 확진되고, 절제 수술을 시행 받았던 환자 중에서 조직의 고정 및 보관상태가 양호하며 최근까지 추적관찰이 가능했던 217명을 대상으로 하였다. 총 217명의 환자 중 남자는 129명, 여자는 88명이었으며, 평균 나이는 61세(28~85세)였다. 추적 기간은 환자가 생존할 경우에는 수술일부 2002년 9월까지 조사하였고 사망하였던 경우는 사망 때까지의 기간으로 하였으며 평균 추적 기간은 31.6개월(2~110개월)이었다. 추적은 외래에서 대장내시경, 전산화단층촬영, 암태아성항원(carcinoembryonic antigen) 등을 수술 후 정기적으로 시행하였다.

대상 환자의 연령, 성별, 종양의 위치, 조직의 병리학 소견, 수정된 듀크스병기(Astler and Collier's modification of Dukes' stage), 재발여부, 생존율 등을 조사하였고, PTEN 발현의 유무는 면역조직화학염색을 통해 시행하였다.

2) 면역조직화학 염색방법

환자로부터 수술 시 얻은 조직을 중성 포르말린 용액에 고정하여 파라핀에 포매하고 4mm 두께로 잘라 probe on plus 슬라이드에 부착시키고 Xylene으로 3분간 3회 담가서 파라핀을 제거한 후, 100%, 85%, 70%, 50% 알코올에 3분씩 처리 후 증류수에 넣어 흡수화하였다. 10 mM Citrate 용액에 넣어 121°C에서 10분간 가압멸균한 후 조직 표본 위에 PBS (Peroxidase-Blocking Solution)을 떨어뜨려 실온에서 10분간 반응시킨 후 1 : 50으로 희석한 PTEN/MMAC1 항체-2 (Neomarkers, Fremont, CA, USA) 일차항체와 4°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. PBS 용액으로 씻은 후 2차항체인 biotinylated polyvalent 항체 (Histostain-Plus, Zymed, San Francisco, CA)를 실온에서 10

분간 반응시켜 PBS용액으로 씻고 streptavidine peroxidase 와 10분간 반응시켰다. 발색시약인 DAB (Diaminobenzidine)로 5분간 반응시킨 후 Hematoxylin으로 15초간 대조 염색하고 알코올과 Xylene으로 탈수시켜 Canada balsam 으로 봉입하여 현미경으로 검경하였다.

3) 면역조직화학 염색의 판독

염색된 조직의 판독은 환자의 병기 상태 등을 모르는 해부병리 의사를 포함한 3명이 광학현미경(×100)으로 관찰하였으며, 양성대조군으로 전립선암에서 염색된 것을 +++로 하였고, 단백질 발현에 대한 평가는 면역조직화학염색의 강도(intensity)와 범위(extent or distribution)로 얻어진 염색 지수를 구하여 판정하였다. 즉, 염색된 정도(intensity)를 0 (안 됨), 1 (약함), 2 (중등도), 3 (강함)으로 구분하고, 염색 범위를 0 (염색 안 됨), 1 (10% 이내), 2 (10~50%), 3 (50% 이상)으로 구분하여 각각에 대해 이들 두 수치의 합인 염색 지수를 구하여 염색 지수가 5 이상인 경우를 양성군, 4 이하인 경우를 음성군으로 분류하였다(Fig. 1).

4) 통계분석

PTEN 단백질 발현 양상과 임상자료를 Chi-square test와 Log-rank test로 유의성을 검정하였고 통계학적 유의수준은 P<0.05를 의의 있는 것으로 하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였으며, 통계적 검정은 가톨릭대학교 의학통계학교실에 의뢰하여 실시하였다.

결 과

PTEN 음성이 169명(77.9%), 양성이 48명(22.1%)이었으며, 음성군에서의 평균나이는 60.3±11.5세였고, 양성군에서는 62.3±13.1세로 두 군 간의 차이는 없었다(P=0.367). 두 군 간의 성비에서 음성군은 남자 95명(56.2%), 여자 74명(43.8%)이었고, 양성군은 각각 34명(70.8%), 14명(29.2%)으로 통계학적 차이는 없었다(P=0.061)(Table 1).

종양의 분화도에 따른 차이를 보면 PTEN 음성군에서 고분화형이 27명(15.8%), 중분화형이 112명(65.5%), 저분화형이 24명(14.0%), 점액성이 6명(3.5%), 편평상피형이 2명(1.2%)이었고, PTEN양성군에서는 고분화형이 11명(22.9%), 중분화형이 28명(58.3%), 저분화형이 9명(18.8%)으로 두 군 간의 통계학적 차이는 없었다(P=0.380)(Table 2).

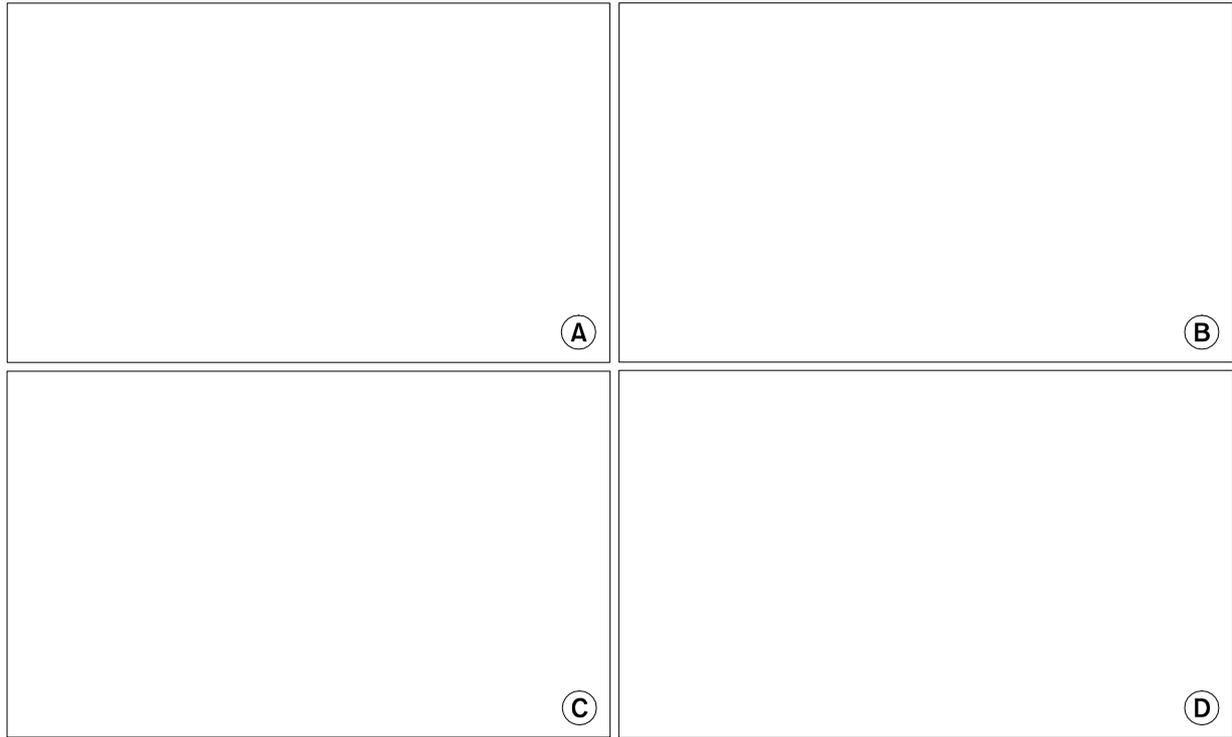


Fig. 1. PTEN immunohistochemical staining patterns of the colorectal cancer tissue (×100). (A) No expression (0). (B) <10% expression (+). (C) 10~50% expression (++) . (D) =>50% expression (+++).

Table 1. Characteristics of the colorectal cancer patients

	PTEN negative	PTEN positive	P value
Cases	169 (77.9%)	48 (22.1%)	
Median age	60.3±11.5	62.3±13.1	0.367
Sex ratio (male : female)	1.28 : 1	2.43 : 1	
Sex			
Male	95 (56.2%)	34 (70.8%)	
Female	74 (43.8%)	14 (29.2%)	0.061

병기에 따라 두 군을 비교해 보았을 때, PTEN 음성군에서 수정된 듀크스 병기 A가 4명(2.3%), B1, B2가 76명(4.05%), C1, C2가 73명(43.2%), D가 16명(9.5%)이었고, PTEN 양성군에서는 각각 3명(6.3%), 25명(52.1%), 17명(35.4%), 3명(6.3%)으로 두 군 간의 차이는 없었다(P=0.117) (Table 2). 그러나 병기를 림프절 전이가 있는 군(병기 C1, C2, D)과 없는 군(병기 A, B1, B2)으로 구분하였을 경우 PTEN 음성군이 각각 52.7%, 47.3%, 양성군이 41.7%, 58.3%로 림프절 전이가 있는 군에서 PTEN의 소실률이 의미 있게 높았다(P=0.038).

Table 2. PTEN expression according to histologic differentiation, location and stage

	PTEN negative	PTEN positive	P value
Cases	169	48	
Differentiation			
Well	27 (15.8%)	11 (22.9%)	
Moderate	112 (65.5%)	28 (58.3%)	
Poorly	24 (14.0%)	9 (18.8%)	
Mucinous	6 (3.5%)	0 (0.0%)	0.380
Location			
Rectum	73 (43.2%)	19 (39.6%)	
Sigmoid	42 (24.9%)	13 (27.1%)	
Left	10 (5.9%)	3 (6.3%)	
Right	37 (21.9%)	12 (25.0%)	
Transverse	7 (4.1%)	1 (2.1%)	0.954
Stage			
A	4 (2.3%)	3 (6.3%)	
B	76 (45.0%)	25 (52.1%)	
C	73 (43.2%)	17 (35.4%)	
D	16 (9.5%)	3 (6.3%)	0.117

Table 3. PTEN expression according to recurrence patterns

	PTEN Negative	PTEN Positive	P value
Cases	169	48	
No-recur	120 (71.0%)	42 (87.5%)	
Recurrence	49 (29.0%)	6 (12.5%)	0.021
Local	18 (10.7%)	4 (8.3%)	0.085
Distant	31 (18.3%)	2 (4.2%)	0.010

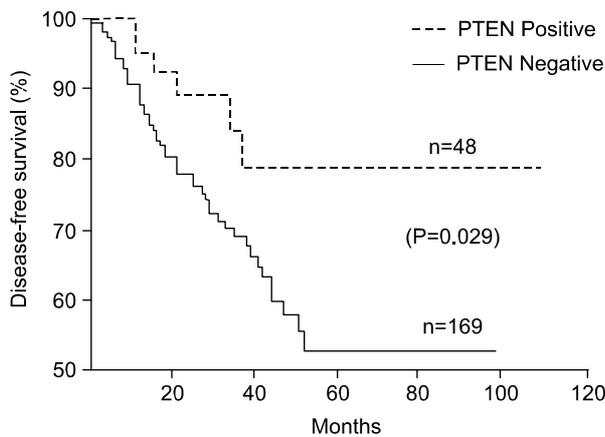


Fig. 2. Kaplan-Meier estimate of the disease free survival rate according to PTEN expression status. The disease-free survival rate of PTEN positive group is significantly higher than that of PTEN negative group (P=0.029).

종양의 위치에 따른 두 군 간의 비교에서 PTEN 음성군에서 직장암 73명(43.2%), 에스결장암 42명(24.9%), 좌측결장암 10명(5.9%), 우측결장암 37명(21.9%), 횡행결장에 7명(4.1%)으로 나타났고, PTEN 양성군에서는 각각 19명(39.6%), 13명(27.1%), 3명(6.3%), 12명(25.0%), 1명(2.1%)으로 나타나 두 군 간의 통계학적 차이는 없었다(P=0.953)(Table 2).

재발유무에 따른 두 군의 비교에서 PTEN 음성군에서는 추적기간까지 재발이 없었던 경우가 120명(71.0%), 재발이 있었던 경우가 49명(29.0%)이었고, 양성군에서는 각각 42명(87.5%), 6명(12.5%)로 통계학적으로 유의하게 PTEN 양성군에서 재발률이 낮았다(P=0.021). 특히 재발된 예들을 국소재발과 원격재발로 나눠 보았을 때 PTEN 음성군에서는 각각 18명(10.7%), 31명(18.3%)이었고, 양성군에서는 각각 4명(8.3%), 2명(4.2%)으로 재발률의 차이가 원격전이의 차이에서 기인한 것을 알 수 있었다(P=0.010)(Table 3).

Log-rank test를 이용한 두 군 간의 생존율 비교에서 무

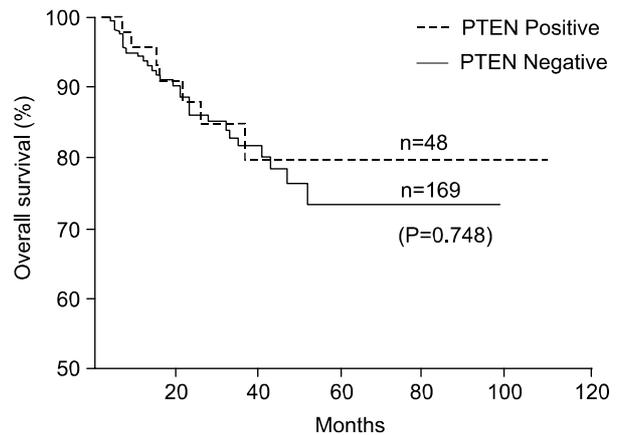


Fig. 3. Kaplan-Meier estimate of overall survival rate according to PTEN expression status. The overall survival rates of patients show no significant difference between PTEN positive and negative group (P=0.748).

병생존율이 PTEN 음성군에서 유의하게 낮음을 알 수 있었으나(P=0.029)(Fig. 2), 전체생존율은 두 군 간에 차이는 없었다(P=0.747)(Fig. 3).

고 찰

PTEN은 1997년 유방암, 전립선암, 신경섬유종 등에서 10q23의 변이를 발견하면서 종양억제유전자로 알려졌다.^{2,3} 지금까지 알려진 억제기전으로는 2차 전달물질인 PIP3 (Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate)를 탈인산화시킴으로써 세포생존경로(cell survival pathway)인 PI3K/Akt kinase를 억제하여 세포자살을 유발하며,^{17,18} FAK (Focal adhesion kinase)를 탈인산화시킴으로써 암세포의 이동과 침범을 억제하는 것으로 알려져 있다.^{17,19} 또한 세포주기 관여인자(cell cycle kinase inhibitor)인 p27^{KIP1}을 증가시킴으로써 세포주기를 G1기에서 정지시키는 것으로 알려져 있다.^{20,21}

이후 많은 암종에서 이 유전자의 변이와 단백질 발현 소실이 보고되었다. 유전자 변이는 주로 소실(deletion)에 의한 격자이동 변이(frameshift mutation)와 난센스 변이(nonsense mutation) 등에 의해 엑손 5, 7, 8 등에서 많이 일어나고, 이로 인해 인산효소 활성의 장애로 종양억제 유전자의 기능을 상실하여 암종으로 발전한다. 지금까지 보고된 유전자 변이율을 보면 교모세포종은 20~44%,^{6,7} 자궁내막암은 30~50%,^{13,14} 전립선암은 10%,¹⁵ 유방암은 5% 이내인 것으로 알려졌다.^{9,10} 결장-직장암이 경우 유전자 변이가 드문 것으로 알려졌는데 Wang 등²²은 72명의 결장-직장암 중에서 1예에서 변이가 있음을 보고했고,

Dicuonzo 등²³은 17%의 변이를 보고했다.

PTEN 단백질 발현 소실과 그에 따른 임상양상이나 예후와의 상관관계를 보았을 때, 전립선암의 경우 단백질 발현 소실이 20%에서 나타나고, 발현 소실이 있는 경우 원격 전이가 많았고 진행된 병기를 보이면서 예후에 안 좋은 영향을 끼친다는 보고가 있다.^{15,16} 교모세포종의 경우 단백질 발현 소실이 66%에서 나타났고, 암종의 진행에 중요한 역할을 한다.⁸ 유방암의 경우도 30~50% 정도의 발현 소실을 보이고 있으며 발현 소실군에서 좀더 진행된 병기를 보이며 림프절 전이가 많고, 생존율도 낮음을 볼 수 있었다.^{11,12} 이렇듯 PTEN 발현 소실은 다른 암종에서 종양의 진행과 병기, 림프절 전이, 생존율 등에 영향을 미치는 것을 볼 수 있다. 결장-직장암의 경우 Zhou 등²⁴은 30% 정도의 발현소실을 보고하였고, Taniyama 등²⁵은 발현소실은 없고, 또한 발현정도가 낮더라도 조직학적 분화도와 병기와의 연관이 없다고 보고하였다. 반면 유전자 변이가 있는 군에서 림프절이나 원격전이가 더 높다는 보고도 있다.²³

본 연구결과에서 PTEN 단백질 발현 소실률은 77.9%로 전에 보고된 결과와 비교해 보았을 때 비교적 높은 수치를 보이고 있다. 이는 결장-직장암에서의 PTEN 단백질 발현에 대한 연구결과가 부족하여 정확한 원인은 알 수 없으나, 본 기관에서 기초 실험으로 시행했던 위, 갑상선, 전립선, 유방 조직의 PTEN 염색에서는 기존의 보고들과 유사한 결과를 보여 면역조직화학염색과정이나 결과 판정에 의한 차이로 생각되지는 않으며 그 자료들을 그대로 통계자료로 사용하였다.

Yang 등²⁶은 위암에서 정상 점막에서 암종으로 진행할수록 PTEN 단백질 발현 소실이 증가하는 것을 발견하였고, 악성종양에서 소실률은 52%로 보고하였다. 또한 진행성 위암에서 조기 위암보다 단백질 발현소실이 의의 있게 증가했으며 림프절 전이가 소실군에서 더 높은 것을 발견하였다. 이와는 달리 결장-직장암에서 시행한 본 연구결과에서는 단백질 발현에 따른 성별, 연령, 조직학적 분화도, 병소의 위치에 두 군에서의 차이는 없었고, 병기에 따른 두 군 간의 비교에서 병기가 진행할수록 단백질 발현 소실군의 소실률이 높음(Dukes' C1, C2 : 43.2% vs. 35.4%, Dukes' D : 9.5% vs. 6.3%)을 확인할 수 있었지만 통계학적 유의성은 없었다 ($P=0.117$). 그러나 전체 환자를 림프절 전이 여부에 따라 양성군과 음성군으로 구분했을 경우에는 림프절 전이가 양성인 경우 의의 있게 소실률이 증가되어 다른 보고들^{11,12} 일치하는 결과를 보였다. 한편 단백질 발현이 소실된 군에서 통계학적으로 의의 있게 재발이 더 호발하며 (29.0% vs 12.5%, $P=0.021$), 특히 원격전이가 많음을 확인

할 수 있었는데(18.3% vs. 4.2%, $P=0.010$), 이는 PTEN의 종양억제기전의 하나인 FAK 탈인산화로 세포의 이동과 침범을 억제하는 기전에 장애로 인한 결과라 생각한다.^{17,18}

간암의 경우 PTEN 발현 소실군에서 통계학적으로 의의 있게 전체 생존율이 낮았고 재발이 증가함을 알 수 있었으며, 전체 생존율에 대한 다변량 분석에서 PTEN 발현이 하나의 독립적인 인자로 알려져 있다.²⁷ 본 연구에서는 결장-직장암에 있어서 전체 생존율에는 차이가 없지만 ($P=0.747$), 무병생존율이 낮게 나타났는데($P=0.029$) 이는 재발된 환자가 사망까지 이르기까지의 추적 기간이 짧았던 점과 재발이 안 된 증례에서 추적 검사가 짧았을 가능성이 원인으로 생각되며 추후의 추가 연구로 보완될 수 있으리라 본다. 한편 PTEN 음성군에서 무병 생존율이 낮았던 점은 PTEN 발현소실이 결장-직장암의 수술 후 예후에 나쁜 영향을 미칠 수 있다는 가능성을 제시해준다.

결 론

결장-직장암 환자에서 새로운 종양억제 유전자로 알려진 PTEN에 대한 본 연구결과, 77.9%의 단백질 발현 소실률을 보였고 연령이나 성별, 조직학적 분화도, 위치 및 병기에서 단백질 발현에 따른 차이는 없었지만, 단백질 발현 소실군에서 재발, 특히 원격전이가 많았다. 또한 전체 생존율에는 차이를 보이지 않았지만, 무병 생존율은 발현 소실군에서 통계학적으로 의의 있게 낮았다. 따라서 다른 암종과 마찬가지로 추가적인 연구가 뒤따라야 하겠지만 본 연구로 PTEN의 발현유무가 결장-직장암 환자에서 임상적 예후를 예측할 수 있는 하나의 인자로 사용될 수 있는 가능성을 제시하였다.

REFERENCES

- Weinberg RA. Oncogenes, antioncogenes, and the molecular bases of multistep carcinogenesis. *Cancer Res* 1989; 49:3713-21.
- Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997;275:1943-7.
- Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997;15:356-62.
- Lee JO, Yang H, Georgescu MM, Di Cristofano A, Mae-

- hama T, Shi Y, et al. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: Implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 1999;99:323-34.
5. Myers MP, Stolarov JP, Eng C, Li J, Wang SI, Wigler MH, et al. PTEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:9052-7.
 6. Liu W, James CD, Frederick L, Alderete BE, Jenkins RB. PTEN/MMAC1 mutations and EGFR amplification in glioblastomas. *Cancer Res* 1997;57:5254-7.
 7. Wang SI, Puc J, Li J, Bruce JN, Cairns P, Sidransky D, et al. Somatic mutations of PTEN in glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 1997;57:4183-6.
 8. Sano T, Lin H, Chen X, Langford LA, Koul D, Bondy ML, et al. Differential expression of MMAC/PTEN in glioblastoma multiforme: Relationship to localization and prognosis. *Cancer Res* 1999;59:1820-4.
 9. Rhei E, Kang L, Bogomolny F, Federici MG, Borgen PI, Boyd J. Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in primary breast carcinomas. *Cancer Res* 1997;57:3657-9.
 10. Feilolter HE, Coulon V, McVeigh JL, Boag AH, Dorio-Bonnet F, Duboue B, et al. Analysis of the 10q23 chromosomal region and the PTEN gene in human sporadic breast carcinoma. *Br J Cancer* 1999;79:718-23.
 11. 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;14:672-6.
 12. Bose S, Crane A, Hibshoosh H, Mansukhani M, Sandweis L, Parsons R. Reduced expression of PTEN correlates with breast cancer progression. *Hum Pathol* 2002;33:405-9.
 13. Risinger JI, Hayes AK, Berchuck A, Barrett JC. PTEN/MMAC1 mutations in endometrial cancers. *Cancer Res* 1997;57:4736-8.
 14. Tashiro H, Blazes MS, Wu R, Cho KR, Bose S, Wang SI, et al. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res* 1997;57:3935-40.
 15. Cairns P, Okami K, Halachmi S, Halachmi N, Esteller M, Herman JG, et al. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res* 1997;57:4997-5000.
 16. McMenamin ME, Soung P, Perera S, Kaplan I, Loda M, Sellers WR. Loss of PTEN expression in paraffin-embedded primary prostate cancer correlates with high gleason score and advanced stage. *Cancer Res* 1999;59:4291-6.
 17. Tamura M, Gu J, Danen EH, Takino T, Miyamoto S, Yamada KM. PTEN interactions with focal adhesion kinase and suppression of the extracellular matrix-dependent phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway. *J Biol Chem* 1999;274:20693-703.
 18. Manning BD, Tee AR, Logsdon MN, Blenis J, Cantley LC. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Mol Cell* 2002;10:151-62.
 19. Haier J, Nocolson GL. PTEN regulates tumor cell adhesion of colon carcinoma cells under dynamic conditions of fluid flow. *Oncogene* 2002;21:1450-60.
 20. Li DM, Sun H. PTEN/MMAC1/TEP1 suppresses the tumorigenicity and induces G1 cell cycle arrest in human glioblastoma cells. *Cell Biol* 1998;95:15406-11.
 21. Weng LP, Smith WM, Dahia PLM, Ziebold U, Gil E, Lees JA, et al. PTEN suppresses breast cancer cell growth by phosphatase activity-dependent G1 arrest followed by cell death. *Cancer Res* 1999;59:5808-14.
 22. Wang ZJ, Taylor F, Churchman M, Norbury G, Tomlinson I. Genetic pathways of colorectal carcinogenesis rarely involve the PTEN and LKB1 genes outside the inherited hamartoma syndromes. *Am J Pathol* 1998;153:363-6.
 23. Dicuonzo G, Angeletti S, Garcia-Foncillas J, Brugarolas A, Okrouzhnov Y, Santini D, et al. Colorectal carcinomas and PTEN/MMAC1 gene mutations. *Clin Cancer Res* 2001;7:4049-53.
 24. Zhou XP, Loukola A, Salovaara R, Nystrom-Lahti M, Peltomaki P, de la Chapelle A, et al. PTEN mutational spectra, expression levels and subcellular localization in microsatellite stable and unstable colorectal cancers. *Am J Pathol* 2002;161:439-47.
 25. Taniyama K, Goodison S, Ito R, Bookstein R, Miyoshi N, Tahara E, et al. PTEN expression is maintained in sporadic colorectal tumours. *J Pathol* 2001;194:341-8.
 26. Yang L, Kuang LG, Zheng HC, Li JY, Wu DY, Zhang SM, et al. PTEN encoding product: a marker for tumorigenesis and progression of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:35-9.
 27. Hu TH, Huang CC, Lin PR, Chang HW, Ger LP, Lin YW, et al. Expression and prognostic role of tumor suppressor gene PTEN/MMAC1/TEP1 in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003;97:1929-40.