

폐암 조직에서의 PTEN 발현 정도와 Gefitinib의 반응율과의 관계

¹고려대학교 의과대학 내과학교실, ²고려대학교 의과대학 병리학교실

이승룡¹, 이주한², 정진웅¹, 이경주¹, 이승현¹, 김세중¹, 이은주¹, 허규영¹, 정기환¹, 정혜철¹, 이상엽¹, 김제형¹, 신 철¹, 심재정¹, 인광호¹, 강경호¹, 유세화¹

Immunohistochemical Study of Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome Ten in Gefitinib Treated Nonsmall Cell Lung Cancer Patients

Sung Yong Lee, M.D.¹, Ju Han Lee, M.D.², Jin Yong Jung, M.D.¹, Kyoung Ju Lee, M.D.¹, Seung Hyeun Lee, M.D.¹, Se Joong Kim, M.D.¹, Eun Joo Lee, M.D.¹, Gyu Young Hur, M.D.¹, Ki Hwan Jung, M.D.¹, Hye Cheol Jung, M.D.¹, Sang Yeub Lee, M.D.¹, Je Hyeong Kim, M.D.¹, Chol Shin, M.D.¹, Jae Jeong Shim, M.D.¹, Kwang Ho In, M.D.¹, Kyung Ho Kang, M.D.¹, Se Hwa Yoo, M.D.¹

¹Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University*, Seoul, Korea, ²Department of Pathology, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Background : Gefitinib targets the epidermal growth factor receptor (EGFR), and Gefitinib has antitumor activity in patient with non-small cell lung cancer (NSCLC). However, only 10 to 20 percent of patients show a clinical response to this drug, and the molecular mechanisms underlying patient sensitivity to gefitinib are unknown. PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome Ten) plays a role for the modulation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway (PI3K), which is involved in cell proliferation and survival, so that it can inhibit cell cycle progression and induce G1 arrest. Therefore, we analyzed the relationship between PTEN expression and gefitinib's responsiveness in patients having advanced non small cell lung cancer that had progressed after previous chemotherapy.

Methods : The expression of PTEN was studied by immunohistochemistry in paraffin-embedded tumor blocks that were obtained from 22 patients who had been treated with gefitinib from JAN, 2001 to AUG. 2004. For the evaluation of the relationships between the PTEN expression, the clinical stage and the basal characteristics, those cases that showed the respective antigen expression in >50% of the tumor cells were considered positive.

Results : The positive rate of PTEN staining was 55% of the total of 22 patients. There was a significant relationship between the increased expression of PTEN and the response group (p=0.039). However, there was no significant relationship between the expression of PTEN and other clinicopathologic characteristics.

Conclusion: The expression of PTEN in patients with advanced non small cell lung cancer that has progressed after previous chemotherapy may play a role in gefitinib's responsiveness. (*Tuberc Respir Dis 2005; 58: 473-479*)

Key words : EGFR, Gefitinib, PTEN

서 론

폐암은 전세계적으로 남녀 암사망율이 가장 높은 질환으로 현재 수술적인 치료, 항암 약물 치료, 방사선 치료 등의 여러 방법들이 있지만 초기 병변을 제외하

곤 다시 재발하거나 원격 전이 등의 질병 악화로 사망하는 사망률이 높은 질환이다. 국내 2004년 통계청 보고에 의하면 2003년도 폐암 발생율은 전체 암 발생율에서 남자는 2위, 여자는 6위이며, 암 사망률로는 전체 암사망율의 20%로 1위를 차지하고 있다¹. 수 십년간 폐암 치료에 대해 지속적인 연구 결과 발표가 있었으나 아직까지 폐암 환자의 5년 생존율은 약 15% 정도로 아주 낮다². 그러나 지난 10년간 성장인자(growth factor) 및 성장인자 수용체(growth factor receptor)에 대한 생리학적인 기전들이 많이 밝혀지면서 악성 종양에서의 병태생리학적인 역할들에 대해 많이 알려졌으며 이러한 사실들을 바탕으로 최근에는 생물학적

Address for correspondence : **Kyung Ho Kang, M.D.**

Department of Internal Medicine, Guro Hospital, #80, guro-dong, guro-gu, Seoul, Republic of Korea (152-703).

Phone : +82-2-818-6638 Fax : +82-2-865-9670

E-mail : kkhches@kumc.ac.kr

Received : Jan. 26. 2005

Accepted : Apr. 22. 2005

인 표적치료(targeted biological therapy)의 개념이 도입되었다. 그러한 개념들을 바탕으로 하는 대표적인 약제가 상피세포 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)를 항암치료의 표적으로 하는 gefitinib(Iressa[®])이다^{3,4}. Gefitinib은 경구용 약제로 상피세포 성장인자 수용체에 특이적으로 작용하는 anilinoquinazoline 계통의 약제이다. 이 약제는 암세포 성장 및 분화에 관여하는 세포의 신호전달 체계를 억제시킴으로써 암세포의 성장을 억제한다⁵. 초기 임상 연구에 의하면 표준 항암화학요법에 실패한 진행성 비소세포 폐암 환자들의 약 10-19%에서 약제 반응이 있는 것으로 보고되었으며^{6,7}, 대개 동양인, 비흡연자, 여성, 선암 세포형의 폐암 환자에서 약제 반응율이 좋을 것으로 되어 있으나 아직 정확히 그 기전에 대해 밝혀진 것은 없다. 다만 최근의 몇몇 연구들에 의하면, gefitinib 약제 반응이 좋은 환자군에서 gefitinib이 작용하는 EGF 수용체의 ATP binding 위치에 유전자적 변이가 있다는 보고⁸가 있다. 그리고 그것 이외에 PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome Ten) 발현이 억제되어 있는 폐암 세포에서 gefitinib의 약제 반응이 감소되었다가 다시 PTEN 발현이 증가된 경우에 gefitinib에 대한 약제 반응이 증가되었다는 보고 등이 있다⁹.

이에 저자들은 본원에서 비소세포 폐암으로 진단받고 표준 항암화학요법에 실패한 이후 gefitinib으로 치료받은 환자군의 폐조직에서 PTEN의 발현 정도를 조사하였으며, PTEN의 발현정도와 임상 병기, 치료 반응율과의 상관관계에 대해 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대상

고려대학교 의료원에서 원발성 비소세포성 폐암 진단 후 2002년 1월부터 2004년 8월까지 gefitinib을 복용한 환자 38명 중 2개월 이상을 투여 받아 반응 정도를 평가가 가능한 환자로서 폐조직에 대해 PTEN 면역조직화학 염색 및 정량화를 시행할 수 있었던 22명의 환자들에 대해 환자들의 약제 반응율과 PTEN의

Table 1. Clinical characteristics (ED note: use the word Gender instead of Sex. I can't access this figure to change it

Age (mean)	62 ± 9
Sex (male / female)	19 / 3
Smoking history (mean)	26 pack · year
Histology (%)	
Squamous cell carcinoma	7 (32%)
Adenocarcinoma	13 (59%)
Others(Large cell carcinoma)	2 (9%)
TNM Stage	
I	1
II	1
III	9
IV	11

발현양상과의 관계에 대해 후향적으로 조사하였다. 평균 연령은 62세, 남녀의 비는 6.3:1이었으며, 조직병리학적 분류는 편평상피암 32%, 선암 59%, 대세포암 등 기타가 9%였다. 병기는 TNM 방법(1997년 개정)으로 I 병기 1례, II 병기 1례, III 병기 9례, IV 병기가 11례였다. ECOG performance status는 grade 0-1이 9명, 2가 11명, 3이 2명이었다(Table 1).

2. 연구 방법

1) 형태학적 고찰

실험 대상군의 폐 조직을 4μm의 두께로 절단한 후, 파라핀을 제거하고, H/E 염색 (hamatoxylin and eosin stain)을 시행한 후 기본적인 형태학적 관찰을 시행하였다.

2) PTEN에 대한 면역 조직 화학 염색

미리 준비된 4μm의 파라핀 절편으로부터 파라핀을 제거하고, 재수화 시킨 후, 메틸알콜에서 0.3%의 과산화수소수 (H₂O₂)로 조직내의 페록시다제 (peroxidase)를 억제하고, phosphate-buffered saline (PBS) + 1% bovine serum albumin + 0.05% Tween 20을 희석 용매(buffer solution)로 이용하였다. 1차 항체로 rabbit polyclonal PTEN IgG (dilution 1:50, Neomarker, CA, USA)를 실온에서 1시간 동안 결합시킨 후 PBS로 세척하였다. 2차 항체는 실온에서 1시간 동안 biotinylated horse anti-mouse antibody (dilution, 1:250; Vector labo-

ratories, Burlingame, California, USA)와 반응시켰으며, 결합된 항체는 avidin-biotin-peroxidase complex method (Elite ABC kit, Vector laboratories, Burlingame, California, USA)를 이용하였고, DAB시약 (CAT NO SK-4100, Vector laboratories, Burlingame, California, USA)으로 염색하여 관찰 하였으며, hematoxylin으로 대조 염색을 시행하였다.

3) PTEN 염색 부위의 정량화

PTEN의 발현은 1명의 숙련된 병리과 의사가 PTEN이 염색된 슬라이드를 광학현미경 100배와 400 배 하에서 여러 필드를 관찰하여 이중 가장 암세포가 많고 염색이 잘된 부위를 찾아 전체 암세포 중 세포질에서 과립상으로 염색이 확인된 암세포의 비율이 50% 이상인 경우는 2+(Grade 2), 0에서 50% 사이는 1+(Grade 1), 염색 부위가 없는 경우는 0(Grade 0)으로 구분하였다(Fig. 1). 염색 음성군과 양성군으로 구분하여 보기 위해서, 인위적으로 Grade 0 과 Grade 1 을 염색 음성군으로 분류하고, Grade 2는 염색 양성군

으로 분류 하였으며, 각 병기와의 연관성을 관찰하기 위해서 수술 병기는 TNM 병기로 분류 하였다.

4) 통계적 분석

결과 분석은 SPSS® for Windows Release 10.0 (SPSS Inc. USA)을 사용하여, 환자의 임상적 특성을 평균 ± 표준편차 (mean ± standard deviation)로 나타내었다. 각 항목의 점유율은 백분율로 나타낸 후 비교하였고, 그룹화된 변수들 간의 상관성을 서술하였다. 폐암의 병리 조직형, TNM 병기에 따른 각 생물학적 표지자의 염색 양성률의 비교는 Chi-square test로 하였다.

2. 결과

1) 비소세포 폐암 조직에서 조직 병리학적 분류와 남·녀 성별과 흡연력에 따른 PTEN의 발현 정도 총 22례 중 PTEN 양성군이 55%(12/22례), 음성군이 45%(10/22례)였다(Table 2). 남·녀 성별에 따른

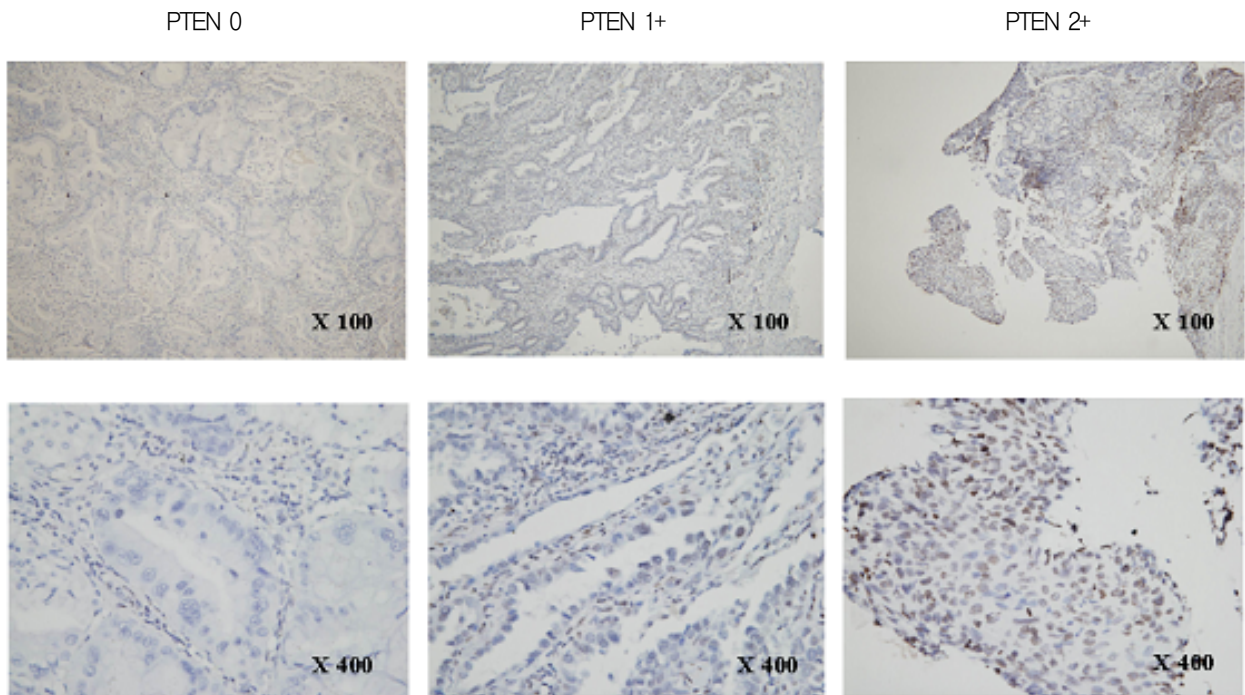


Figure 1. PTEN immunohistochemistry staining. The left column is the negative intensity of the PTEN immunostaining in the malignant epithelium. The middle column is grade 1 intensity of the PTEN immuno-staining. The right column is grade 2 intensity of the PTEN immunostaining (Hematoxylin counterstain, x 100 and x400, respectively).

Table 2. Comparison of the clinicopathologic findings between the positive and negative PTEN expressions. Use Gender here too.

Clinicopathological characteristics	No. of case	PTEN		P value
		Positive(%) n=12	Negative(%) n=10	
Histological type				NS
Squamous cell carcinoma	7	5 (71.4)	2 (28.6)	
Adenocarcinoma	13	5 (38.5)	8 (61.5)	
Others	2	2 (100)	0 (0)	
Sex				NS
Male	19	9 (47)	10 (52.6)	
Female	3	3 (100)	0 (0)	
Smoking				NS
+	13	6 (46.2)	7 (53.8)	
-	9	6 (66.7)	3 (33.3)	

PTEN 양성율은 각각 47%(9/19례), 100%(3/3례)로 통계적인 유의성은 없었으며, 흡연력과의 상관관계에 있어서도 통계적인 유의성은 없었다. 조직 병리학적 분류에 있어 PTEN은 편평상피 세포암에서 양성군이 71%(5/7례), 선암은 38.5%(5/13례), 기타 세포암에서는 100%(2/2례)이었다. 조직 병리학적 분류에 따른 PTEN 발현의 유의한 차이는 없었다.

2) TNM 병기에 따른 PTEN의 발현 정도

TNM 병기에 따른 PTEN의 양성군이 I병기 0% (0/1례), II 병기 100%(1/1례), III 병기 55.6%(5/9례), IV 병기 54.5%(6/11례)로 TNM 병기 상승에 따른 PTEN 발현율과는 서로 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (p=0.39).

3) Gefitinib 약제 반응율과 PTEN의 발현 정도

부분 관해 이상의 약제 반응을 보인 환자군과 약제 반응을 보이지 않은 군을 서로 나누어 PTEN의 발현율과의 상관관계에 대해 조사한 결과 약제 반응군에서 80%(4/5례), 약제 반응을 보이지 않은 군에서 47% (8/17례)의 PTEN 발현율을 보였으며 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p=0.039).

고 찰

본 연구에서는 원발성 비소세포성 폐암 환자에서 표준 항암 화학요법에 실패한 환자 중 EGFR tyrosine kinase 억제제인 gefitinib(Iressa®)를 2개월 이상 복용

한 환자들의 폐암 조직에 대해 PTEN 면역 조직화학 염색을 하여 PTEN의 발현율과 gefitinib 약제의 반응율과의 상관관계에 대해 조사하였다. PTEN의 발현율과 몇몇 임상적인 특성과는 특별히 상관관계를 찾을 수 없었으나 gefitinib 약제 반응이 있었던 군에서 PTEN의 발현율이 증가되어 있음을 관찰할 수 있었다.

PTEN은 MIM-1(mutated in multiple advanced cancers) 혹은 TEP-1(TGF-β regulated and epithelial cell enriched phosphatase)라고 불리워지는 종양 억제 유전자로서 1997년에 처음 보고되었다. PTEN은 암세포의 성장을 억제할 뿐만 아니라 배아(embryo)의 성숙과 세포의 이동, 세포 자멸사(apoptosis)에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 상피세포 성장 인자 수용체의 신호전달 경로를 조절하는 지질 인산 분해효소로 작용을 한다¹⁰. 즉, 세포의 성장 및 생존에 관련된 phosphatidylinositol 3-kinase(PI3-kinase)/Akt 경로를 조절하는 역할을 함으로써 세포 분화 주기의 진행을 억제하여 G1 정지를 유발함으로써 세포의 성장을 억제하는 작용이 있다¹¹. 또한 PTEN은 focal adhesion kinase(FAK)을 탈인산화 시켜 세포의 이동과 분포, 그리고 국소적인 유착 형성을 초래한다¹². 이러한 PTEN의 유전적 변이가 원발성 중추 신경계 종양¹³을 포함하여 유방암¹⁴, 전립선암¹⁵, 신장암¹⁶, 자궁 내막암¹⁷, 갑상선암¹⁸, 방광암¹⁹, 흑색종²⁰, 비호지킨성 림프종²¹ 등에서 보고되고 있으며 폐암과의 연관성에 대해서도 최근 많은 연구가 진행되고 있다²²⁻²⁴. 폐암 세포에서는 주로 PTEN 유전자의 결손이 관찰되는데, 소세포 폐암에서는 75%, 편평세포 폐암에서는 33.3%,

비편평세포 폐암에서는 27.3%의 PTEN 결손이 관찰된다²⁴. 또한 폐암 환자의 폐조직에서 PTEN의 소실이 종양 진행과 전이와 상관 관계가 있다는 보고가 있으며²², 특히 Bianco 등은 EGFR를 발현하는 중앙세포에서 PTNE이 소실된 경우 EGFR tyrosine kinase inhibitor인 gefitinib의 세포 성장 억제 작용이 억제됨을 보고하였다²⁵. 본 실험 결과에서는 비록 PTEN의 발현과 폐암 병기의 관계에서 병기 진행과 PTEN의 발현율과는 서로 통계적으로 유의한 상관 관계는 없었지만, gefitinib에 반응을 보였던 환자군에서 PTEN의 발현율이 높게 나왔다. 즉 PTEN의 발현이 증가되어 있는 폐암 환자에서 EGFR tyrosine kinase 억제제인 gefitinib에 반응이 좋다는 결과를 보였다. 본 연구에서 PTEN 발현율과 폐암 병기와 서로 통계적인 유의성이 없는 것으로 나왔는데, 이는 아마도 본 실험 대상 환자군 중에서 I기와 II기 병기 환자의 수가 적었기 때문으로 생각된다.

Gefitinib약제가 10~20% 정도의 일부 환자군에서 부분 관해 정도의 좋은 반응을 보이는 반면 나머지 환자들에서는 그다지 좋은 반응을 보이지 않는 것에 대해 이 약제가 작용하는 EGFR의 하부 신호전달 체계 이외의 다른 신호전달 체계가 존재할 가능성과 EGFR 하부 신호전달 체계 중 특정부위에서 신호전달 체계가 억제되지 못하고 재활성화 된다는 가설들이 제시되고 있다. 따라서 EGFR의 하부 신호전달 체계에 대한 여러 논문이 많이 발표되고 있는데, 그 중 She 등은 PTEN의 발현율이 감소되어 있는 폐암 세포에서 gefitinib의 반응율이 감소되어 있는 것을 관찰하였고, 또한 PTEN의 발현이 감소되어 있는 폐암 세포주에 PTEN의 expression을 회복시킨 결과 gefitinib에 대한 세포 성장 억제효과가 증가하는 것을 보고하였다⁹. 따라서 이런 연구들의 결과들을 종합해 보면 gefitinib과 같은 EGFR tyrosine inhibitor 약제가 중앙 세포에 작용하는 과정에 세포 성장을 억제하는 PTEN이 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다. 본 연구에서도 PTEN의 발현이 높은 환자군에서 PTEN의 발현이 낮은 환자군보다 gefitinib 약제의 반응율이 높게 나와 중앙 세포에서 PTEN의 발현 유무가 폐암 환자의 gefitinib 약제에 대한 반응율에 영향을 미침을 알 수 있다.

그러나 본 연구에서 몇몇 제한점이 있는데, 첫째 대상 환자의 수가 22명으로 많지 않은 환자군을 대상으로 조사가 진행되었으며, 둘째 대상 환자 중 여성에 비해 남성의 비가 훨씬 높았던 점, 셋째 면역 조직 화학 염색의 정도를 숙련된 병리과 의사가 판독을 하였지만 이 또한 바이어스로 작용될 수 있었다는 제한점이 있다. 그리고 상피 세포 성장인자 수용체의 신호전달 체계 중 PI3K/Akt 경로 이외에 Ras/Raf/MAPK 경로, STAT 경로, PKC 경로 등이 있는데 PI3K/Akt 경로와 이러한 경로들과의 상관관계에 대해 어떠한 상호 작용들이 있는지 확인하지 못했다는 제한점이 있다²⁶. 그러나 이러한 제한점들은 점차 연구 대상 환자를 늘어가면서 연구를 진행하거나 PTEN 발현 정도의 grade를 정하는 것에 대해서는 향후 진행되는 연구에서 SigmaScan Pro program과 같은 이미지 분석 프로그램을 이용하여 좀더 객관화할 수 있는 방법들을 적용하면 이러한 제한점들이 어느 정도 해결이 되리라 사료된다.

결론적으로 비소세포성 폐암 조직에서 PTEN 발현과 gefitinib의 반응율과의 상관관계에 대한 본 연구에서 gefitinib 약제에 반응이 있었던 환자군에서 PTEN의 발현율이 증가되어 있었다. 따라서 폐암 세포에서 PTEN의 발현이 환자의 약제 반응과의 서로 상관관계가 있으며 향후 더 많은 수의 환자들을 대상으로 연구를 진행하여 폐암 환자에서 PTEN의 발현율과 생존율과의 관계에 대해 조사해 볼 필요가 있으며, 또한 PTEN의 발현을 증가시키는 약제를 동시 투여하였을 때 gefitinib 약제 반응율에 어떠한 영향을 미치는가에 대해 조사해 볼 필요가 있으리라 사료된다.

요 약

연구 배경 :

Gefitinib은 경구용 상피세포 성장인자 수용체 억제제로서 주로 동양인, 여성, 비흡연자, 선암 세포형의 폐암 환자에서 반응율이 좋은 것으로 되어 있으나 그 정확한 기전에 대해 밝혀진 것을 없다. 최근 몇몇 보고에 의하면 병기가 진행된 폐암 세포에서 PTEN 발현이 감소되어 있었으며, 또한 PTEN 발현이 감소된

폐암 세포주에서 EGFR tyrosine kinase inhibitor의 반응율이 감소되었음을 보고한 논문들이 있다. 이에 저자들은 본원에서 비소세포 폐암으로 진단받고 표준 항암화학요법에 실패한 이후 gefitinib으로 치료받은 환자군의 폐조직을 대상으로 PTEN의 발현 정도를 조사하였으며, PTEN의 발현 정도와 임상병기, 치료 반응율과의 상관관계에 대해 분석하였다.

대상 및 방법 :

2002년 1월부터 2004년 8월까지 본원에 내원하여 원발성 비소세포성 폐암 진단 받은 후 표준 항암 화학요법에 실패하고 gefitinib을 복용한 환자 38명 중 2개월 이상을 투여 받아 반응 정도를 평가가 가능한 환자로서 폐조직에 대해 PTEN 면역조직화학 염색 및 정량화를 시행할 수 있었던 22명의 환자들에 대해 환자들의 약제 반응율과 PTEN의 발현양상과의 관계에 대해 후향적으로 조사하였다.

결 과 :

평균 연령은 62세, 남녀의 비는 6.3:1이었으며, 조직 병리학적 분류는 편평상피암 32%, 선암 59%, 대세포암 등 기타가 9%였다. 병기는 I 병기 1례, II 병기 1례, III 병기 9례, IV 병기가 11례였다. ECOG performance status는 grade 0-1이 9명, 2가 11명, 3이 2명이었다. 조직 병리학적 분류에 따른 PTEN 발현의 유의한 차이는 없었다. 또한 TNM 병기 상승에 따른 PTEN 발현율과는 서로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나, 약제 반응을 보인 군에서 약제 반응을 보이지 않은 군보다 PTEN 발현율이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다(p=0.039).

결 론 :

표준 항암 화학요법에 실패하고 gefitinib을 복용한 비소세포 폐암 환자의 약제 반응율과 종양 억제 단백질인 PTEN의 발현율과 서로 상관관계가 있다.

참 고 문 헌

1. The Cause of Death Statistics in 2003. Korea National Statiscal Office. 2004.
2. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. *Cancer statistics, 1999. CA Cancer J Clin* 1999;49:8-31.
3. Ciardiello F, Tortora G. *A novel approach in the*

treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. Clin Cancer Res 2001;7:2958-70.

4. Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, Damiano V, Fontanini G, Cuccato S, et al. *Inhibition of growth factor production and angiogenesis in human cancer cells by ZD1839 (Iressa), a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. Clin Cancer Res* 2001;7:1459-65.
5. Wakeling AE, Guy SP, Woodburn JR, Ashton SE, Curry BJ, Barker AJ, et al. *ZD1839 (Iressa): an orally active inhibitor of epidermal growth factor signaling with potential for cancer therapy. Cancer Res* 2002;62:5749-54.
6. Kris MG, Natale RB, Herbst RS, Lynch TJ Jr, Prager D, Belani CP, et al. *Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. JAMA* 2003;290:2149-58.
7. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, et al. *Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial) [corrected]. J Clin Oncol* 2003; 21:2237-46.
8. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. *Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med* 2004; 350:2129-39.
9. She QB, Solit D, Basso A, Moasser MM. *Resistance to gefitinib in PTEN-null HER-overexpressing tumor cells can be overcome through restoration of PTEN function or pharmacologic modulation of constitutive phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway signaling. Clin Cancer Res* 2003;9:4340-6.
10. Yamada KM, Araki M. *Tumor suppressor PTEN: modulator of cell signaling, growth, migration and apoptosis. J Cell Sci* 2001;114:2375-82.
11. Weng LP, Smith WM, Dahia PL, 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.
12. Tamura M, Gu J, Takino T, Yamada KM. *Tumor suppressor PTEN inhibition of cell invasion, migration, and growth: differential involvement of focal adhesion kinase and p130Cas. Cancer Res* 1999;59:442-9.
13. 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.
14. Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. *Loss of ex-*

- pression of the *PTEN* gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. *Mod Pathol* 2001;14:672-6.
15. 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.
 16. Brenner W, Farber G, Herget T, Lehr HA, Hengstler JG, Thuroff JW. Loss of tumor suppressor protein *PTEN* during renal carcinogenesis. *Int J Cancer* 2002;99:53-7.
 17. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, Shaw H, Bentley RC, Barrett JC, et al. Mutation of the *PTEN* tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res* 1998;58:2500-3.
 18. Dahia PL, Marsh DJ, Zheng Z, Zedenius J, Komminoth P, Frisk T, et al. Somatic deletions and mutations in the Cowden disease gene, *PTEN*, in sporadic thyroid tumors. *Cancer Res* 1997;57:4710-3.
 19. Cairns P, Evron E, Okami K, Halachmi N, Esteller M, Herman JG, et al. Point mutation and homozygous deletion of *PTEN/MMAC1* in primary bladder cancers. *Oncogene* 1998;16:3215-8.
 20. Tsao H, Zhang X, Benoit E, Haluska FG. Identification of *PTEN/MMAC1* alterations in uncultured melanomas and melanoma cell lines. *Oncogene* 1998;16:3397-402.
 21. Nakahara Y, Nagai H, Kinoshita T, Uchida T, Hatano S, Murate T, et al. Mutational analysis of the *PTEN/MMAC1* gene in non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1998;12:1277-80.
 22. Petersen S, Wolf G, Bockmuhl U, Gellert K, Dietel M, Petersen I. Allelic loss on chromosome 10q in human lung cancer: association with tumour progression and metastatic phenotype. *Br J Cancer* 1998;77:270-6.
 23. Forgacs E, Biesterveld EJ, Sekido Y, Fong K, Muneer S, Wistuba II, et al. Mutation analysis of the *PTEN/MMAC1* gene in lung cancer. *Oncogene* 1998;17:1557-65.
 24. Hosoya Y, Gemma A, Seike M, Kurimoto F, Uematsu K, Hibino S, et al. Alteration of the *PTEN/MMAC1* gene locus in primary lung cancer with distant metastasis. *Lung Cancer* 1999;25:87-93.
 25. Bianco R, Shin I, Ritter CA, Yakes FM, Basso A, Rosen N, et al. Loss of *PTEN/MMAC1/TEP* in *EGF* receptor-expressing tumor cells counteracts the antitumor action of *EGFR* tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 2003;22:2812-22.
 26. Bogdan S, Klambt C. Epidermal growth factor receptor signaling. *Curr Biol* 2001;11:R292-5.
-