

บทบาทของ PTEN กับมะเร็งเต้านม

อดิศร เจษฎ์ปิยะวงศ์

อนันท์นุช ศักดิ์อภิภูณันท์

ภูวศิษฐ์ วรารัฐเรืองวุฒิ

บทคัดย่อ โปรตีน PTEN (Phosphatase and tensin homolog on chromosome 10) เป็น tumor suppressor ที่มีการทำงานของ phosphatase การทำงานเป็น tumor suppressor ของ PTEN นั้น เกิดจากคุณสมบัติ lipid phosphatase ซึ่งทำงานร่วมกับ PI(3,4,5)P₃ (PIP₃) โดย PIP₃ เป็นฟอสโฟไลปิด ที่ได้จาก phosphoinositide-3-kinase (PI3K) ซึ่ง PI3K เป็น signal transduction pathway ที่สำคัญ สำหรับกระบวนการทางชีววิทยา PTEN เป็นตัวยับยั้งที่สำคัญของ PI3K และ AKT pathway โดย PTEN จะดึงฟอสเฟตออกจาก PIP₃ ได้เป็น PIP₂ ซึ่งเป็นการทำงานที่กลับกันกับการทำงานของ PI3K PTEN มีบทบาทสำคัญโดยเฉพาะในการควบคุมกระบวนการทางชีววิทยารวมทั้งการเจริญเติบโต, adhesion, migration, invasion, apoptosis, โรคมะเร็งและโรคอื่น ๆ ระดับและหน้าที่ของ PTEN ถูกควบคุมที่ขั้นตอน transcription, หลัง-transcription และ หลัง-translation PTEN ยังถูกควบคุมโดยการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนอื่น ๆ และตำแหน่งที่อยู่ของ PTEN ด้วย นอกจาก PTEN จะเป็น tumor suppressor แล้ว ยังเป็นผู้พิทักษ์คุ้มครองรหัสพันธุกรรม มักพบมีการกลายพันธุ์และการขาดหายไปของยีน PTEN ในโรคมะเร็งที่เกิดในมนุษย์รวมทั้งมะเร็งเต้านม ความบกพร่องของ PTEN จะทำลายกระบวนการพื้นฐานของการส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรม เซลล์ที่ไม่มี PTEN จะมีวัฏจักรเซลล์ที่ผิดปกติและมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาการของเซลล์รวมทั้งการตายของเซลล์ (cell fate reprogram) ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่สูญเสีย PTEN จะตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา trastuzumab ได้น้อยกว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี PTEN ปกติอย่างมีนัยสำคัญ การสูญเสีย PTEN สามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์ที่สำคัญต่อการดื้อต่อยา trastuzumab ดังนั้นการรักษาด้วยวิธี PI3K-targeting สามารถใช้ช่วยชีวิตผู้ป่วยที่สูญเสีย PTEN ที่ดื้อต่อยา trastuzumab ได้ การเข้าใจบทบาททางชีววิทยาของ PTEN การแสดงออกของ PTEN การควบคุมการทำงานของ PTEN และความผิดปกติของ PTEN ในโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นในมนุษย์รวมทั้งมะเร็งเต้านมจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับความรู้ทางชีววิทยาของโรคมะเร็งซึ่งทำให้สามารถหากลยุทธ์ใหม่สำหรับการรักษาโรคมะเร็งต่อไป (วารสารโรคมะเร็ง 2565;42:57-70)

คำสำคัญ: PTEN มะเร็งเต้านม วัฏจักรเซลล์ trastuzumab

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

วันที่รับบทความ 27/12/2564, วันที่แก้ไข 22/4/2565, วันที่ตอบรับบทความ 26/4/2565

The role of PTEN on breast cancer

by Adisorn Jedpiyawongse, Anantnuch Sakapiboonnan, Phuwasit Wararatrueangwut
National Cancer Institute, Bangkok, Thailand

Abstract Phosphatase and tensin homolog on chromosome 10 (PTEN) are tumor suppressors with phosphatase activity against phospholipids and proteins. The tumor suppressor activity of PTEN is attributed to its lipid phosphatase activity against PI (3,4,5) P3 (PIP3). The PIP3 is the phospholipid product of phosphoinositide-3-kinase (PI3K), the crucial signal transduction pathway. The PTEN is the essential negative regulator of PI3K and AKT pathway. The PTEN dephosphorylates PIP3 to PIP2, PTEN reverses the action of PI3K. PTEN plays significant roles in regulating biological processes, including growth, adhesion, migration, invasion, apoptosis, cancer and other diseases. Therefore, level and function of PTEN are tightly regulated at transcription, post-transcription and post-translation levels. Protein-protein interactions and their locations also regulate PTEN. Besides a tumor suppressor, PTEN is also a guardian of the genome frequently mutated and deleted in human cancer including breast cancer. PTEN deficiency disrupts the fundamental processes of genetic transmission. Cells lacking PTEN have cell cycle deregulation and cell fate reprogramming. Breast cancer patients with PTEN loss had significantly poorer responses to trastuzumab-based therapy than those with normal PTEN. Thus PTEN loss is a powerful predictor of trastuzumab resistance. In addition, that PI3K-targeting therapies rescued PTEN loss-induced trastuzumab resistance. The understanding of the biological role of PTEN, the PTEN expression and activity are regulated, and PTEN dysregulation in human cancer, including breast cancer, could provide new strategies for cancer therapies. (*Thai Cancer J* 2022;42:57-70)

Keywords : PTEN, breast cancer, cell cycle , trastuzumab

บทนำ

จากรายงานทะเบียนมะเร็งในประเทศไทยปี พ.ศ. 2559-2561 พบว่ามีผู้ป่วยโรคมะเร็งรายใหม่ทั้งหมด 67,061 ราย มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งในผู้ป่วยมะเร็งหญิงไทย ถึง 17,043 ราย จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากการศึกษาในต่างประเทศพบผู้ที่มีความผิดปกติของยีน BRCA มีความเสี่ยงมากต่อการเป็นมะเร็งเต้านม มะเร็งรังไข่ และโรคมะเร็งอื่น ๆ และพบว่าประมาณร้อยละ 5 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมมีประวัติคนในครอบครัวมีการกลายพันธุ์ของยีน BRCA1 และยีน BRCA2 ซึ่งยีนทั้งสองนี้เป็น tumor suppressor gene ในปี ค.ศ. 1997 ได้มีการค้นพบยีน Phosphatase and tensin homolog on chromosome 10 (PTEN) ซึ่งเป็น tumor suppressor gene เช่นกัน การ

กลายพันธุ์ของยีน PTEN นี้ สามารถพบได้ในมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งเต้านมด้วย การศึกษากลไกระดับโมเลกุลของการเกิดโรคมะเร็งและการดำเนินไปของโรคมะเร็ง เป็นแนวทางเบื้องต้นที่สำคัญในการพยากรณ์โรคและการพัฒนายาต้านมะเร็งเพื่อการรักษาที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

โครงสร้างของ PTEN

Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 (PTEN) gene (mutated in multiple advanced cancers 1 (MMAC1) หรือ TGF β -regulated and epithelial cell-enriched phosphatase 1 (TEP1) เป็นยีนที่อยู่บน chromosome 10q23.3¹ เปลี่ยนเป็นรหัส phosphatase มีการทำงานของ lipid phosphatases และ protein tyrosine และ serine/threonine phosphatases ทำให้มีฤทธิ์การทำงานกับ phospholipids และ proteins โปรตีน PTEN ประกอบด้วย 403 amino acids (aa) มีโครงสร้างประกอบด้วย PI(4,5)P2 (PIP2) binding domain (aa 1–13), catalytic tensin-type phosphatase domain (aa 14–185), C2 tensin-type domain ซึ่งจะจับกับ phospholipids (aa 190–350), carboxy-terminal tail of the protein (aa 350–400) (C-Tail), และ PDZ-domain binding (aa 401–403) โปรตีน PTEN พบอยู่ระหว่าง cytosol และ plasma membrane และพบอยู่ในนิวเคลียส ซึ่ง PTEN ที่อยู่ในนิวเคลียสมีบทบาทในการรักษา stability of genome (เสถียรภาพของสารพันธุกรรม) PTEN ยังพบที่ extracellular และพบใน cytoplasmic organelles เช่น endoplasmic reticular, mitochondria-associated membrane และ mitochondria² การดัดแปลง amino acid แต่ละตัวในแต่ละ domain จะมีผลต่อการทำงาน เสถียรภาพของโปรตีน การทำปฏิกิริยาหรือทำงานร่วมกับโปรตีนอื่น (protein-protein interaction) จนถึงมีผลต่อตำแหน่งที่อยู่ของ PTEN โปรตีน PTEN มีบทบาทควบคุมวิถีสัญญาณส่งทอดได้ทั้งแบบขึ้นกับ phosphatase และไม่ขึ้นกับ phosphatase

การที่ PTEN มีคุณสมบัติเป็น tumor suppressor เกิดจากคุณสมบัติที่ PTEN มีฤทธิ์การทำงานของ lipid phosphatase³ PTEN เป็น negative regulator ของ phosphoinositide-3-kinase (PI3Ks) และ AKT protein kinase B pathway เมื่อ PI3Ks ถูกกระตุ้นด้วยสัญญาณส่งทอดหลายชนิดรวมทั้ง growth factors และ G-protein-coupled receptors⁴ จะมีการเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylate) ที่ 3-position ของ inosital ring ของ phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) ได้ second messenger คือ phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3)⁵ PI3K complex ที่ได้ นี้ จะมารวมอยู่ที่ plasma membrane แล้วกระตุ้นการทำงานของ pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1) และ AKT⁶ ทำให้มีการส่งสัญญาณไปควบคุมการทำงานต่างๆของเซลล์ PI3K ควบคุมกระบวนการภายในเซลล์หลายกระบวนการรวมทั้งการแบ่งตัวและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (cell proliferation) และการมีชีวิต (survival) ระดับของ PIP3 ที่สูงขึ้นในเซลล์มะเร็งเป็นตัวยับยั้ง apoptosis และทำให้มีการแบ่งตัวและเจริญเติบโตที่ควบคุมไม่ได้ทำให้เกิดโรคมะเร็ง⁷ การทำงานของ lipid phosphatase ของ PTEN จะสลาย PIP3 เป็น PIP2 โดยดึงหมู่ฟอสเฟต (phosphorylate) ออกจาก 3-position ของ inosital ring ของ phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3) ดังนั้น PTEN จึงมีการทำงานที่ตรงข้าม (antagonizing) กับ PI3K signaling^{8,9}

ดังนั้น PTEN จึงเป็นตัวขัดขวางการส่งทอดสัญญาณที่ส่งทอดลงไปรวมทั้ง phosphatidylinositol 3-kinase pathway และ AKT protein kinase B pathway ที่ส่งสัญญาณไปควบคุมการทำงานต่าง ๆ ของ

เซลล์ เช่น การแบ่งตัวอย่างรวดเร็วของเซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การมีชีวิตรอด การลดกระบวนการ apoptosis การเพิ่มขึ้นของการส่งสัญญาณทาง mitogen signaling รวมทั้งการเกิดโรคมะเร็ง¹⁰⁻¹² PTEN จึงมีบทบาทยับยั้งการเจริญเติบโต การแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง การมีชีวิตรอด รวมทั้งชักนำให้เซลล์เข้าสู่กระบวนการตาย^{3,13}

การควบคุม PTEN

PTEN นอกจากจะมีบทบาทสำคัญคือเป็น tumor suppressor PTEN ยังควบคุมการพัฒนาของตัวอ่อน (embryonic development)¹³ lipid metabolism¹⁴ แล้วยังเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อโรคอื่น ๆ เช่น เบาหวาน¹⁵ การรักษาระดับและการแสดงออกของ PTEN จึงเป็นสิ่งสำคัญ การแสดงออกของ PTEN และการทำงานในฐานะของเอนไซม์ phosphatase ของ PTEN ถูกควบคุมในขั้นตอน transcription, post-transcription และ post-translation รวมทั้งถูกควบคุมจากการทำปฏิกิริยาของ PTEN กับโปรตีนอื่น (protein-protein interaction) นอกจากนั้นตำแหน่งที่ PTEN อยู่ยังเป็นตัวกำหนดหน้าที่ของ PTEN ด้วย

ในขั้นตอน transcription ยีน PTEN ถูกควบคุมโดย transcription factors หลาย ๆ ตัวทำให้มีการกระตุ้นการทำงานหรือยับยั้งการทำงานของ PTEN เช่น early growth response protein 1 (EGFR-1), peroxisome proliferation-activated receptor γ (PPAR- γ), p53 และ human spout homolog 2 (SPRY2) เป็น positive regulators ของการแสดงออกของยีน PTEN การทำงานของ P53 ซึ่งเป็น tumor suppressor สามารถเพิ่มการแสดงออกของ PTEN และลดการแสดงออกของ p110 catalytic subunit ของ PI3K ขณะที่ Ras/Raf/MEK/ERK pathway จะยับยั้งการ transcription ของยีน PTEN ผ่านทาง c-Jun นอกจากนี้ nuclear factor kappa B, mitogen-activated protein kinase kinase-4 (MKK4), transforming growth factor beta (TGF- β) และ polycomb group protein BMI1 ยังเป็น negative regulators ของ PTEN จะยับยั้งการแสดงออกของ PTEN²

นอกจากนั้น NOTCH signaling ยังทำหน้าที่เป็นได้ทั้ง negative regulator และ positive regulator ของ PTEN transcription โดย NOTCH signaling จะไปกระตุ้น transcription factor hairy and enhancer of split1 (HES1) ทำให้มีการยับยั้งการ transcription ของ PTEN ในขณะที่ NOTCH signaling จะยับยั้ง recombining binding protein suppressor of hairless (RBPJ หรือเรียกว่า CBF-1) ทำให้มีการกระตุ้นการ transcription ของ PTEN²

การเกิด epigenetic โดยเกิด hypermethylation ที่บริเวณ CpG island ของ PTEN promoter และการเกิด histone modification ทำให้มีการยับยั้งการ transcription ของ PTEN ดังนั้นการเกิด epigenetic จึงเป็นกลไกที่ยับยั้งการแสดงออกของ PTEN ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง และมะเร็งเต้านม¹⁶

ในช่วงของ post-transcription พบว่า miRNA มีบทบาทควบคุมการแสดงออกของ PTEN โดย miRNAs เป็น conserved non-coding single stranded RNAs สายสั้น ๆ เป็นตัวควบคุมแบบลดการแสดงออกของยีน (negatively regulate gene expression) โดยจับที่ 3'-untranslated region (3'-UTR) ของ target mRNAs ทำให้ mRNA สลายหรือยับยั้งการแปลรหัสสร้างโปรตีน (translational repression) PTEN¹⁷ พบว่า miRNAs เช่น miR-21, miR-21, miR-19 สามารถควบคุมการแสดงออกของ PTEN ช่วง post-transcription การทำงานที่ผิดปกติของ miRNA จะยับยั้ง PTEN ทำให้การแสดงออกของ PTEN

ลดลงและเพิ่มการเกิดมะเร็ง¹⁸ ทำให้เซลล์มะเร็งมีการลุกลามและแพร่กระจายเพิ่มขึ้น¹⁹ การแสดงออกของ PTEN ยังถูกควบคุมด้วย PTEN pseudogene ซึ่ง PTEN pseudogene1 (PTENP1) มีลำดับ (sequence) ที่เหมือนกับ PTEN mRNA ในส่วนของ miR target sites ซึ่ง PTENP1 ควบคุมการแสดงออกของ PTEN โดยการแยก PTEN-targeting miR ออก ทำให้ PTEN มีครึ่งชีวิต (half-life) ที่นานขึ้นและเพิ่มระดับของ PTEN ให้สูงขึ้น^{2,20}

ยีน PTEN เป็น tumor suppressor gene ที่มักพบมีการกลายพันธุ์ในโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นในมนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามมักพบมีการสูญเสียการแสดงออกของโปรตีน PTEN ทั้งที่ไม่พบมีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN ในโรคมะเร็งหลายชนิด อาจเนื่องจากมี post-translation modification โดยอาจเกิดปฏิกิริยา phosphorylation, dephosphorylation, oxidation, acetylation, ubiquitination ในส่วนของ phosphatase domain, C2 tensin-type domain, carboxy-terminal tail ของ PTEN ทำให้มีผลกระทบต่อหน้าที่ของโปรตีน PTEN การเกิดปฏิกิริยาเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) จะรบกวน localization, stability และการทำงานของโปรตีน PTEN การมีการเติมหมู่ฟอสเฟตที่ C-tail ของ PTEN (C-tail phosphorylated PTEN) ทำให้โครงสร้างของโปรตีน PTEN อัดแน่น ทำให้โปรตีน PTEN ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ membrane phospholipids² หรือกับ membrane anchored proteins อื่นที่สำคัญคือ PDZ-containing proteins เช่น MAGI-3¹³ การไม่มี PTEN membrane interactions ทำให้เอ็นไซม์ phosphatase ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ substrate PI(3,4,5)P₃ ที่อยู่ที่ membrane การกลายพันธุ์ของ PTEN มีผลต่อ PIP2 lipid binding domain ซึ่งทำให้หน้าที่ของโปรตีน PTEN ทั้งหมดหายไป^{2,13}

การเกิดปฏิกิริยาหรือการทำงานร่วมกัน (interactions) ของ PTEN กับส่วนประกอบโปรตีนอื่นสามารถทำให้เกิด post-translation modifications ซึ่งมีผลต่อการทำงานของ phosphatase อย่างมาก ในทางกลับกัน PTEN ก็มีผลต่อการทำงานของโปรตีนที่มาร่วมทำงานด้วย เช่น PTEN ขัดขวางมิให้ androgen receptor เคลื่อนย้ายจากไซโตพลาสซึมไปยังนิวเคลียส PTEN ยังทำให้ androgen receptor สลาย (degrade) ในไซโตพลาสซึม²¹

PTEN ควบคุมวัฏจักรเซลล์

ในขั้นตอนการแบ่งตัวของเซลล์ เซลล์จะเข้าสู่วัฏจักรเซลล์ (cell cycle) ซึ่งมีขั้นตอนและระยะเวลาที่ถูกต้องที่ประกอบด้วยระยะ (phase) 4 ระยะ ประกอบด้วยระยะ G1, S, G2 และ M เพื่อส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรม (genetic transmission) โดยระยะ G1 (Pre-synthetic phase) เป็นระยะที่เซลล์เตรียมความพร้อมที่จะเข้าสู่วัฏจักรเซลล์มีการสังเคราะห์โปรตีนและเอ็นไซม์ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ระยะ S (DNA synthetic phase) เป็นระยะที่มีการจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication) ระยะ G2 (Pre-mitotic phase) เป็นระยะก่อนเข้าสู่ระยะแบ่งตัว เป็นระยะที่มีการควบคุมคุณภาพของดีเอ็นเอ มีการตรวจสอบรหัส (proof reading) ของดีเอ็นเอที่เซลล์สังเคราะห์ขึ้นใหม่ให้มีความถูกต้องและซ่อมแซมดีเอ็นเอที่มีความบกพร่องให้สมบูรณ์ก่อนเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว ระยะ M (Mitotic phase) เป็นระยะที่มีการอัดแน่นของโครโมโซมมีการแบ่งตัวของโครโมโซมและนิวเคลียสและมีการแบ่งเซลล์ (cell division) ส่วนระยะ G0 เป็นระยะพักของเซลล์ซึ่งเซลล์จะออกจากวัฏจักรเซลล์ เมื่อมีสัญญาณมากระตุ้นให้เซลล์ปกติที่อยู่ระยะพัก (G0)

เซลล์ที่อยู่ในระยะพัก (G0) จะเข้าสู่วัฏจักรเซลล์ จะมีการควบคุมวัฏจักรเซลล์ให้ดำเนินไปตามลำดับจนครบทุกระยะของวงจรอย่างสมบูรณ์เพื่อป้องกันและกำจัดความผิดปกติที่เกิดขึ้น

PTEN เป็นผู้ปกป้องข้อมูลทางพันธุกรรม (guardian of the genome) โดยจะปกป้องโครงสร้างของสารพันธุกรรมและจำนวนโครโมโซมให้ถูกต้อง PTEN ควบคุมการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์ และการมีชีวิตของเซลล์ โดย PTEN ควบคุมการดำเนินไปของวัฏจักรเซลล์ ควบคุมทุกระยะของวัฏจักรเซลล์รวมทั้งควบคุม G1/S transition และ G2/M transition (การเปลี่ยนผ่านจากระยะ G1 เข้าสู่ระยะ S และการเปลี่ยนผ่านจากระยะ G2 เข้าสู่ระยะ M) การจำลองแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) ในระยะ S phase เป็นขั้นตอนที่มีการส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรม (genetic transmission) PTEN มีบทบาทสำคัญในการควบคุม DNA fork progression การสูญเสียโปรตีน PTEN (loss of PTEN) จะทำให้สารประกอบที่จำเป็นใน replisome ขาดหายไปและทำให้กลไกการจำลองแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) ผิดปกติไป เป็นผลทำให้เกิดการสะสมของดีเอ็นเอที่ไม่ถูกจำลองแบบ (unreplicated DNA) ทำให้เกิดภาวะเครียดของยีน (genetic toxicity) และมีการขัดขวาง phase transition ลำดับต่อไป ยิ่งไปกว่านั้น PTEN ยังเกี่ยวข้องกับขบวนการที่สำคัญภายในวัฏจักรเซลล์โดยการส่งเสริมให้มีการจำลองแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) และการแยกโครโมโซมออกจากกัน (chromosome segregation) ให้มีความถูกต้อง PTEN มีหน้าที่ควบคุมการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair) และควบคุม cell cycle checkpoints รวมทั้ง G1, S, G2 และ M checkpoints PTEN ทำหน้าที่หยุดการดำเนินไปของวัฏจักรเซลล์ โดย PTEN ทำหน้าที่เป็นสารประกอบของ checkpoints เพื่อป้องกันการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ไม่สามารถควบคุมได้ (uncontrolled proliferation) และป้องกันการเกิด CIN (chromosome instability)²² PTEN ควบคุมขนาดของเซลล์และยังควบคุมเซลล์ที่ออกจากวัฏจักรเซลล์อย่างถาวรไม่สามารถกลับสู่วัฏจักรเซลล์ได้ (senescence) เนื่องจากดีเอ็นเอเกิดความเสียหายอย่างรุนแรงหรือเซลล์ที่เติบโตเต็มที่แล้ว PTEN ควบคุมเซลล์ที่กลับไปสู่สถานะที่ไม่แบ่งตัวไม่เจริญเติบโต (Quiescence) เนื่องจากขาดสารอาหารหรือขาดการกระตุ้นให้เจริญเติบโต ซึ่ง Quiescence เป็นเซลล์ที่สามารถกลับเข้าสู่วัฏจักรเซลล์ได้ PTEN นอกจากนั้นยังควบคุมเซลล์ตาย (cell death)^{13,22} อีกด้วย

กระบวนการ apoptosis ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ที่มีความบกพร่องซึ่งจะมีวัฏจักรเซลล์ที่ผิดปกติและไม่สามารถส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรม PTEN จะกระตุ้น cell death program เพื่อกำจัดเซลล์ที่มีความเสียหายและให้มีการเริ่มต้น quiescence และ senescence อย่างเหมาะสม ดังนั้น PTEN ควบคุมการดำเนินไปของวัฏจักรเซลล์ (cell cycle progression) และการตัดสินใจในการเข้าหรือออกจากวัฏจักรเซลล์ ทำให้ PTEN ทำหน้าที่เป็น tumor suppression ซึ่งในโรคมะเร็งมักพบยีน PTEN มีการกลายพันธุ์หรือมีการขาดหายไป ยิ่งไปกว่านั้นมักพบความบกพร่องของ PTEN ทำให้มีการทำลายกระบวนการพื้นฐานของการส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรม เซลล์ที่ขาด PTEN จะมีวัฏจักรเซลล์ที่ผิดปกติ (cell cycle deregulation) และมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาการของเซลล์รวมทั้งการตายของเซลล์ (cell fate reprogram)²²

PTEN กับโรคมะเร็งเต้านม

PIP₃ ทำหน้าที่เป็น second messenger ส่งสัญญาณต่อไปที่ AKT pathway ทำให้มี AKT phosphorylation เพิ่มขึ้น²³ ส่งสัญญาณไปควบคุมการทำงานต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น การแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว

ของเซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การมีชีวิตรอด การลดกระบวนการ apoptosis การเพิ่มขึ้นของการส่งสัญญาณทาง mitogen signaling รวมทั้งการเกิดมะเร็ง^{10,11,12} ดังนั้น PTEN จึงเป็นตัวยับยั้งการส่งทอดสัญญาณ (negative regulator) ของ phosphatidylinositol 3-kinase pathway (PI3K) และ AKT protein kinase B pathway ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการมีชีวิตรอดของเซลล์^{3,24,25} จากการศึกษาใน breast cancer cell line พบว่า PTEN จะกีดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านมโดยลดการทำงานของ PI3K ชักนำให้เซลล์เข้าสู่ระยะ G1 และชักนำให้เซลล์เข้าสู่กระบวนการตาย²⁶ จากการศึกษาใน embryonic stem cells พบว่าเซลล์ที่มีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN จะมีการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะ S-phase²⁴ การลดลงหรือการสูญเสียการแสดงออกของ PTEN ทำให้มี second messenger (PIP₃) มากและส่งสัญญาณต่อไปที่ AKT pathway ไปควบคุมการทำงานต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น การแบ่งตัวอย่างรวดเร็วของเซลล์ การลดกระบวนการ apoptosis การเพิ่มขึ้นของการส่งสัญญาณทาง mitogen signaling^{12,13,24,25} การส่งสัญญาณผ่านทาง AKT มีผลทำให้เซลล์มะเร็งเต้านมตอบสนองต่อ tamoxifen ซึ่งเป็น anti-estrogen ในการนำให้เซลล์เข้าสู่กระบวนการ apoptosis การแสดงออกของ PTEN ที่ลดลง มีผลทำให้ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของ PI3K/AKT pathways และการแสดงออกของ PTEN ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้เซลล์มะเร็งเต้านมตอบสนองต่อ tamoxifen ได้ดีขึ้น จากการศึกษาของ Ghosh และคณะ²⁷ ชี้ให้เห็นว่า PTEN เป็น transcriptional repressor สามารถยับยั้งการส่งทอดสัญญาณ การอยู่รอดของเซลล์และลดการเจริญเติบโตของ human breast cancer แสดงให้เห็นว่า PTEN ควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ (cell cycle) และการมีชีวิตรอดของเซลล์

การทำงานของ P53 ซึ่งเป็น tumor suppressor สามารถเพิ่มการแสดงออกของ PTEN และลดการแสดงออกของ p110 catalytic subunit ของ PI3K ในโรคมะเร็ง PTEN มักจะสูญเสียการทำงานไป (loss of PTEN) หรืออาจเกิดการกลายพันธุ์ของยีน PTEN ทำให้มีผลต่อกระบวนการ apoptosis ทำให้การยึดเกาะ (adhesion) ของเซลล์ลดลง เกิดความผิดปกติของวงจรชีวิตของเซลล์ มีการส่งทอดสัญญาณที่ผิดปกติ²⁸ ทำให้ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัด²⁹ หรือฮอร์โมน เช่น การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา trastuzumab ที่ลดลงในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม³⁰

โรคมะเร็งที่เกิดขึ้นในมนุษย์หลายชนิดรวมทั้งมะเร็งเต้านมพบมีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN^{1,31} การที่ PTEN สูญเสียการทำงานมีผลต่อการควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ทำให้ไม่สามารถชักนำให้เซลล์เข้าสู่กระบวนการ apoptosis¹³ การกลายพันธุ์ของยีน PTEN มักพบในโรค autosomal dominant Cowden syndrome ซึ่งจะเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมและมะเร็งของต่อมไทรอยด์³² ผู้ป่วยโรค Cowden syndrome เพศหญิงที่มีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN มีความเสี่ยงเป็นมะเร็งเต้านมสูงกว่าผู้ป่วยโรค Cowden syndrome เพศหญิงที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN³³ อย่างไรก็ตามในมะเร็งเต้านมพบมีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN เพียงร้อยละ 2-5^{34,35} จากการศึกษา polymorphism ของยีน PTEN ด้วยวิธี Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) ไม่พบความผิดปกติของ single-strand conformation ในตัวอย่างชิ้นเนื้อปกติ แต่ในตัวอย่างที่เป็นมะเร็งเต้านมพบมีความผิดปกติของ single-strand conformation และจากการตรวจการกลายพันธุ์ของยีน PTEN ด้วยวิธี sequencing พบมีการกลายพันธุ์ที่ exon 2 ที่ codon 24 โดยเบส A เปลี่ยนเป็นเบส C (A→C) ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจาก

methionine เป็น leusine โดยมีอัตราการกลายพันธุ์คิดเป็นร้อยละ 2.2 การกลายพันธุ์ของยีน PTEN อาจเกิดที่ exon 5,7,8^{36,37} แต่ในตัวอย่างที่เป็นมะเร็งเต้านมบางตัวอย่างไม่พบมีการกลายพันธุ์ของยีน PTEN ดังนั้นการกลายพันธุ์ของยีน PTEN อาจไม่ใช่สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดมะเร็งเต้านม³⁷ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงในระดับ epigenetic เช่น การเกิด hypermethylation อาจทำให้มีการสร้างโปรตีน PTEN ลดลงหรือมีการทำลายโปรตีน PTEN เพิ่มขึ้น จากการศึกษา PTEN promoter methylation ด้วยวิธี methylation specific polymerase chain reaction (MSP) พบว่าร้อยละ 31.1 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมพบมี PTEN methylation โดยที่ร้อยละ 64.3 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่พบมี PTEN methylation จะมีการสูญเสียการแสดงออกของ PTEN และร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่ไม่พบมีการแสดงออกของ PTEN (PTEN-negative) พบมี PTEN promoter methylation ในขณะที่ร้อยละ 18.5 ของผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ PTEN (PTEN-positive) พบมี PTEN promoter methylation และพบว่าเนื้อเยื่อเต้านมปกติที่อยู่บริเวณข้างเคียงกับก้อนมะเร็งไม่มี PTEN promoter methylation³⁴ มีบางการศึกษา³⁸ พบว่าร้อยละ 34 ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด invasive ductal carcinoma พบมี PTEN promoter methylation และร้อยละ 60 ของผู้ป่วยกลุ่มนี้ไม่มีการแสดงออกของ PTEN และยังพบว่าทั้ง breast cancer cell lines และเนื้อเยื่อเต้านมปกติไม่มี PTEN promoter methylation ดังนั้น ในมะเร็งเต้านมการเกิด PTEN promoter methylation อาจเป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลทำให้ PTEN มีการทำงานที่ผิดปกติไปมากกว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน

จากการตรวจการแสดงออกของ PTEN ด้วยวิธี immunohistochemistry พบมีการแสดงออกของ PTEN ที่บริเวณ cytoplasm และ nuclei ของเซลล์มะเร็งเต้านมและที่บริเวณเซลล์เต้านมปกติ (normal duct epithelial cells) โดยในเซลล์เต้านมปกติที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกับเซลล์มะเร็งจะพบ PTEN positive ทุกเซลล์ แต่ในตัวอย่างที่เป็นมะเร็งจะพบเซลล์ที่มี PTEN positive แบบกระจาย โดยร้อยละ 57.5 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจะมีการแสดงออกของ PTEN (PTEN positive)³⁴ ในบางการศึกษาพบว่าร้อยละ 96 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการกลับเป็นซ้ำจะไม่มีการแสดงออกของ PTEN และร้อยละ 26.4 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของ PTEN จะมีการกลับเป็นซ้ำ³⁹ ผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ PTEN มีระยะเวลาปลอดการกลับเป็นซ้ำที่นานกว่า (longer relapse-free survival) โดยเฉพาะในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี estrogen receptor (ER)-positive และ PTEN-positive จะมีระยะเวลาปลอดการกลับเป็นซ้ำที่นาน³¹ ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี ER-negative และมี PTEN-negative จะมีอัตราปลอดการกลับเป็นซ้ำของโรค (relapse-free survival) สิ้นลง ในกรณีของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี ER-positive และได้รับการรักษาด้วยยา tamoxifen สามารถใช้การแสดงออกของ PTEN ที่ลดลงในการพยากรณ์ถึงมีระยะเวลาปลอดการกลับเป็นซ้ำของโรค (relapse-free survival) ที่สั้นลง⁴⁰ การแสดงออกของ PTEN ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้เซลล์มะเร็งเต้านมตอบสนองต่อยา tamoxifen ได้ดีขึ้น ดังนั้นผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่พบมีการแสดงออกทั้ง PTEN และ ER จะมีอัตราการรอดชีวิตที่นานขึ้น⁴¹ และยังพบว่าการแสดงออกของ PTEN จะมีทิศทางตรงกันข้ามกับขนาดก้อนมะเร็งและระยะของโรค (pathological stage)³⁴ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Bose S และคณะ⁴² ที่พบว่าก้อนมะเร็งที่มีขนาดใหญ่หรือ stage ของโรคในระยะท้าย ๆ จะมีการแสดงออกของ PTEN ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของ PTEN จะมีการแสดงออกในทิศทางเดียวกันกับการแสดงออกของ estrogen receptor (ER) และ progesterone receptor (PgR)^{42,43} แต่บางการศึกษาพบว่าการแสดงออกของ PTEN จะมีการแสดงออกในทิศทางเดียวกันกับการแสดงออกของ estrogen receptor เท่านั้น⁴⁴ อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์

ระหว่างการศึกษาของ PTEN กับอายุ, menopause, การกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองและ Her-2/neu³⁴ จากการศึกษาของ Tsutsui S และคณะ⁴⁵ พบมีการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมคิดเป็นร้อยละ 28 การลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN มีความสัมพันธ์กับการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง (lymph node metastasis) แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดก้อนมะเร็ง, nuclear grade, MIB-1 counts หรือ p53 protein และในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด invasive carcinoma expression พบมีการแสดงออกของ PTEN ลดลงเมื่อเทียบกับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด carcinoma *in situ* โดยพบว่าร้อยละ 38 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด invasive ductal carcinoma มีการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN⁴² จากการศึกษาของ Peter L และคณะ⁴⁴ พบร้อยละ 48 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด invasive ductal carcinoma มีการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN และร้อยละ 11 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด ductal carcinoma *in situ* มีการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN⁴² จากการศึกษาของ Gonzalez-Angulo AM และคณะ⁴⁶ พบว่าร้อยละ 30.4 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม (primary tumors) ไม่พบการแสดงออกของ PTEN ร้อยละ 25 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการแพร่กระจาย (metastases) ไม่มีการแสดงออกของ PTEN การลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN มักพบใน stage II และ stage III การลดลงของการแสดงออกของโปรตีน PTEN มีความสัมพันธ์กับ aneuploidy⁴² จากการทำการศึกษาทดลองในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่าการลดลงของ PTEN ในเซลล์มะเร็งเต้านมทำให้มีการต้านต่อ anti-HER2 antibody, trastuzumab และในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ Her-2 มากแต่มีการแสดงออกของ PTEN น้อยจะตอบสนองต่อการรักษาด้วย trastuzumab ได้ไม่ดี⁴⁷ บางการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการสูญเสียการแสดงออกของโปรตีน PTEN ระยะของโรค (stage) และ tumor grade มีความสัมพันธ์กับ disease-related death และการสูญเสียการแสดงออกของโปรตีน PTEN สามารถทำนายการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง (lymph node metastasis) และมีความสัมพันธ์กับ estrogen receptor negative อย่างไรก็ตามมีบางการศึกษาพบว่าในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมมี PTEN mRNA เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชิ้นเนื้อเต้านมปกติ และการมี PTEN mRNA ที่ลดลงไม่ได้บ่งชี้ถึงมีการแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง^{48,49} จากการศึกษาของ Gonzalez-Angulo AM และคณะ⁴⁶ พบมีความแตกต่างกันของลักษณะการกลายพันธุ์ของยีน PIK3CA การแสดงออกของ PTEN และการแสดงออกของ hormone receptor ในมะเร็งเต้านม (primary tumors) และมะเร็งเต้านมที่มีการแพร่กระจาย (metastases) ของผู้ป่วยรายเดียวกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Perrone F และคณะ⁵⁰ ที่พบความแตกต่างกันของลักษณะการกลายพันธุ์ของยีนผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง ใน primary tumors และที่มีการแพร่กระจาย (metastases) ของผู้ป่วยรายเดียวกัน ดังนั้นการใช้ผลการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการในการวินิจฉัยในกรณีที่เป็น primary tumor มาวิเคราะห์ผลของโรคในระยะแพร่กระจายอาจมีผลต่อการรักษาและการพยากรณ์โรคของผู้ป่วย

ใน breast cancer cell line ที่มี PTEN-negative จะตอบสนองต่อยับยั้งการทำงานของ PI3K/AKT pathways PI3K/AKT (LY294002) และต่อยับยั้งการทำงานของ mTOR (rapamycin, CCI-779, an ester of rapamycin) ได้ดีกว่า breast cancer cell line ที่มี PTEN-positive ซึ่ง mTOR จะเป็นตัวที่ได้รับสัญญาณส่งทอดต่อจาก PI3K/AKT pathways และยังคงพบว่าต่อยับยั้งการทำงานของ mTOR (CCI-779, an ester of rapamycin) สามารถใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี PTEN-negative²³ Trastuzumab (Herceptin) เป็น HER2-targeting antibody ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยที่ชิ้นเนื้อมะเร็งมีการ

แสดงออกของ HER2 จากการศึกษาของ Nagata Y และคณะ³⁰ พบว่าการทำงานของ PTEN ช่วยสนับสนุนการทำงานของ trastuzumab ในการต้านมะเร็ง และ trastuzumab จะเพิ่ม PTEN บน membrane และเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ phosphatase ของ PTEN จากการศึกษาทดลองใน in vitro และ in vivo พบว่าเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกของ PTEN ลดลงจะดีต่อยา trastuzumab และในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ไม่มีการแสดงออกของ PTEN จะตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา trastuzumab ได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของ PTEN ดังนั้นการไม่มีการแสดงออกของ PTEN สามารถใช้พยากรณ์การดีต่อการรักษาด้วยยา trastuzumab อย่างไรก็ตามสามารถใช้ PI3K inhibitors ในการรักษาผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงออกของ PTEN ซึ่งเป็นผลให้ดีต่อการรักษาด้วยยา trastuzumab แสดงว่าการรักษาโดยใช้ PI3K-targeting สามารถใช้รักษาผู้ป่วยที่ต่อการรักษาด้วยยา trastuzumab เนื่องจากไม่มีการแสดงออกของ PTEN³⁰

PTEN มีบทบาทสำคัญกับในฐานะที่เป็น tumor suppressor ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดและการลุกลามของโรคมะเร็ง การแสดงออกของ PTEN สามารถใช้ช่วยในการพยากรณ์โรคและพยากรณ์การรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านม การศึกษาทั่วโลกที่ควบคุมการแสดงออกของ PTEN การทำงานของ PTEN และบทบาทของ PTEN จึงมีความจำเป็นซึ่งสามารถใช้เป็นกลยุทธ์ใหม่ ๆ ในการรักษาโรคมะเร็งและโรคอื่น ๆ ได้

เอกสารอ้างอิง

1. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WKA, Lin H, Ligon AH, et al. Identification of a candidate tumor suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997;15:356–62.
2. Brito MB, Goulielmaki E and Papakonstanti EA. Focus on PTEN regulation. *Frontiers in Oncology* | www.frontiersin.org doi: 10.3389/fonc.2015.00166
3. Besson A, Robbins SW, Yong VW. PTEN/MMAC1/TEP1 in signal transduction and tumorigenesis. *Eur J Biochem* 1999;263:605–11.
4. Davies MA. Regulation, role, and targeting of Akt in cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:4715–7. doi:10.1200/JCO.2011.37.4751
5. Vanhaesebroeck B, Leever SJ, Ahmadi K, Timms J, Katso R, Driscoll PC, et al. Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids. *Annu Rev Biochem* 2001;70:535–602. doi:10.1146/annurev.biochem.70.1.535
6. Alessi DR, Deak M, Casamayor A, Caudwell FB, Morrice N, Norman DG, et al. 3-Phosphoinositide-dependent protein kinase-1 (PDK1): structural and functional homology with the *Drosophila* DSTPK61 kinase. *Curr Biol* 1997;7:776–89. doi:10.1016/S0960-9822(06)00336-8
7. Li DM, Sun H. PTEN/MMAC1/TEP1 suppresses the tumorigenicity and induces G1 cell cycle arrest in human glioblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15406–11. doi:10.1073/pnas.95.26.15406

8. 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–doi:10.1074/jbc.273.22.13375
9. Leever SJ, Vanhaesebroeck B, Waterfield MD. Signalling through phospho-inositide 3-kinases: the lipids take centre stage. *Curr Opin Cell Biol* 1999;11:219–25. doi:10.1016/S0955-0674(99)80029-5
10. Fruman DA, Meyers RE, Cantley LC. Phosphoinositide kinases. *Annu Rev Biochem* 1998;67:481-507.
11. Karakas B, Bachman KE and Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *BJC* 2006;94:455–9.
12. Stahl JM, Sharma A, Cheung M, Zimmerman M, Cheng JQ, Bosenberg MW, et al. Deregulated Akt3 activity promotes development of malignant melanoma. *Cancer Res* 2004;64:7002-10.
13. Yamada K M and Araki M. Tumor suppressor PTEN: modulator of cell signaling, growth, migration and apoptosis. *J Cell Sci* 2001;114:2375-82.
14. Gorbenko O, Panayotou G, Zhyvoloup A, Volkova D, Gout I, Filonenko V. Identification of novel PTEN-binding partners: PTEN interaction with fatty acid binding protein FABP4. *Mol Cell Biochem* 2010;337:299–305. doi:10.1007/s11010-009-0312-1
15. Birnbaum Y, Nanhwan MK, Ling S, Perez-Polo JR, Ye Y, Bajaj M. PTEN upregulation may explain the development of insulin resistance and type 2 diabetes with high dose statins. *Cardiovasc Drugs Ther* 2014;28:447–57. doi:10.1007/s10557-014-6546-5
16. Garcia JM, Silva J, Pena C, Garcia V, Rodriguez R, Cruz MA, et al. Promoter methylation of the PTEN gene is a common molecular change in breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2004;41:117–24. doi:10.1002/gcc.20062
17. He L. Posttranscriptional regulation of PTEN dosage by noncoding RNAs. *Sci Signal* 2010; 3:e39. doi:10.1126/scisignal.3146pe39
18. Huse JT, Brennan C, Hambardzumyan D, Wee B, Pena J, Rouhanifard SH, et al. The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis in vivo. *Genes Dev* 2009;23:1327–37.
19. Ma F, Zhang J, Zhong L, Wang L, Liu Y, Wang Y, et al. Upregulated microR-NA-301a in breast cancer promotes tumor metastasis by targeting PTEN and activating Wnt/beta-catenin signaling. *Gene* 2014;535:191–7. doi:10.1016/j. gene.2013.11.035
20. Milella M, Falcone I, Conciatori F, Incani UC, Curatolo AD, Inzerilli N, et al. *Frontiers in Oncology | Molecular and Cellular Oncology* 2015 | volume5 | Article24 | 1-14 www.frontiersin.org doi:10.3389/fonc.2015.00024

21. Lin HK, Hu YC, Lee DK, Chang C. Regulation of androgen receptor signaling by PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) tumor suppressor through distinct mechanisms in prostate cancer cells. *Mol Endocrinol* 2004;18:2409–23. doi:10.1210/me.2004-0117
22. Brandmaier A, Hou S-Q and Shen WH. Cell cycle control by PTEN. *J Mol Biol* 2017;429:2265-77.
23. Degraffenried LA, Fulcher L, Friedrichs WE, Grünwald V, Ray RB and Hidalgo M. Reduced PTEN expression in breast cancer cells confers susceptibility to inhibitors of the PI3 kinase/Akt pathway. *Ann Oncol* 2004;15:1510–6. doi:10.1093/annonc/mdh388
24. Sun H, Lesche R, Li DM, Ciliental J, Zhang H, Gao J, et al. PTEN modulates cell cycle progression and cell survival by regulating phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate and Akt/protein kinase B signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:6199–204.
25. Lian Z and Di Cristofano A: Class reunion: PTEN joins the nuclear crew. *Oncogene* 2005;24:7394-400.
26. 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.
27. Ghosh AK, Grigorieva I, Steele R, Hoover RG, Ray RB. PTEN transcriptionally modulates c-myc gene expression in human breast carcinoma cells and is involved in cell growth regulation. *Gene* 1999;235(1–2):85–91.
28. Di Cristofano A, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell* 2000; 100:387–90.
29. Tanaka M, Koul D, Davies MA, Liebert M, Steck PA, Grossman HB. MMAC1/PTEN inhibits cell growth and induces chemosensitivity to doxorubicin in human bladder cancer cells. *Oncogene* 2000;19:5406–12
30. Nagata Y, Lan KH, Zhou X, Tan M, Esteva FJ, Sahin AA, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 2004;6:117–27.
31. Tokunaga E, Oki E, Kimura Y, Yamanaka T, Egashira A, Nishida K, et al. Coexistence of the loss of heterozygosity at the PTEN locus and HER2 overexpression enhances the Akt activity thus leading to a negative progesterone receptor expression in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;101:249-57. doi:10.1007/s10549-006-9295-8.
32. Liaw D, Marsh DJ, Li J, Dahia PLM, Wang SI, Zheng Z, et al. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet* 1997;16:64–7.

33. Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z, et al. Mutation spectrum genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet* 1998;7:507-15.
34. Zhang HY, Liang F, Jia ZL, Song ST, Jiang ZF. PTEN mutation, methylation and expression in breast cancer patients. *Oncol Lett* 2013;6:161-8. doi:10.3892/ol.2013.1331.
35. Lu Y, Lin YZ, LaPushin R, Cuevas B, Fang X, Yu SX, et al. The PTEN/MMAC1/TEP tumor suppressor gene decreases cell growth and induces apoptosis and anoikis in breast cancer cells. *Oncogene* 1999;18:7034-45.
36. Tamguney T and Stokoe D: New insights into PTEN. *J Cell Sci* 2007;120:4071-79.
37. Freihoff D, Kempe A, Beste B, Wappenschmidt B, Kreyer E, Hayashi Y, et al. Exclusion of a major role for the PTEN tumour-suppressor gene in breast carcinomas. *Br J Cancer* 1999;79:754-8.
38. Khan S, Kumagai T, Vora J, Bose N, Sehgal I, Koeffler PH et al. PTEN promoter is methylated in a proportion of invasive breast cancers. *Int J Cancer* 2004;112:407-10.
39. Milovanovic Z, Dzodic R, Susnjar S, Plesinac-Karapandzic V, Juranic Z, Tatic S. PTEN protein expression in postmenopausal steroid receptor positive early breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *J BUON* 2011;16:46-51.
40. Shoman N, Klassen S, McFadden A, Bickis MG, Torlakovic E and Chibbar R. Reduced PTEN expression predicts relapse in patients with breast carcinoma treated by tamoxifen. *Mod Pathol* 2005;18:250-9.
41. Campbell RA, Bhat-Nakshatri P, Patel NM, Constantinidou D, Ali S and Nakshatri H. Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-mediated activation of estrogen receptor alpha: a new model for anti-estrogen resistance. *J Biol Chem* 2001;276:9817-24.
42. 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.
43. Perren A, Weng L, Boag A, Ziebold U, Thakore K, Dahia P, et al. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. *Am J Pathol* 1999;155:1253-60.
44. 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.
45. Tsutsui S, Inoue H, Yasuda K, Suzuki K, Higashi H, Era S, et al. Reduced expression of PTEN protein and its prognostic implications in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncology*. 2005;68:398-404.

46. Gonzalez-Angulo AM, Ferrer-Lozano J, Stemke-Hale K, Sahin A, Liu S, Barrera JA, et al. PI3K Pathway Mutations and PTEN Levels in Primary and Metastatic Breast Cancer. *Mol Cancer Ther* 2011;10:1093-101.
47. Faratian D, Goltsov A, Lebedeva G, Sorokin A, Moodie S, Mullen P, et al. Systems biology reveals new strategies for personalizing cancer medicine and confirms the role of PTEN in resistance to trastuzumab. *Cancer Res* 2009;69:6713–20.
48. Palimaru I, Brüggmann A, Wium-Andersen MK, Nexø E and Sorensen BS. Expression of PIK3CA, PTEN mRNA and PIK3CA mutations in primary breast cancer: association with lymph node metastases. *SpringerPlus* 2013;2:464.
49. Engin H, Baltali E, Guler N, Guler G, Tekuzman G, Uner A. Expression of PTEN, cyclin D1, P27/KIP1 in invasive ductal carcinomas of the breast and correlation with clinicopathological parameters. *Bull Cancer* 2006;93:E21–E26.
50. Perrone F, Lampis A, Orsenigo M, Di Bartolomeo M, Gevorgyan A, Losa M, et al. PI3KCA/PTEN deregulation contributes to impaired responses to cetuximab in metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2009;20:84–90. doi:10.1093/annonc/mdn541