

상피성 난소종양에서 PTEN의 발현과 single nucleotide polymorphism 분석

경북대학교 의과대학 산부인과학교실

황진석 · 박일수 · 이윤순

목적 : 난소 종양을 대상으로 양성 종양, 경계성 종양 및 악성 종양에서 종양억제 유전자인 PTEN 유전자의 발현을 비교 조사하여 난소의 발암기전에서 PTEN의 연관성을 알아보고 Single nucleotide polymorphism (SNPs)을 이용하여 PTEN 유전자의 다양성을 보고자 하였다.

연구 방법 : 본원에서 수술로 절제된 난소 조직 중 장액성 종양 47예, 점액성 종양 44예, 총 91예를 실험대상으로 선정하였으며, 조직학적 유형상 양성 종양 20예, 경계성 종양 22예, 악성 종양은 49예였다. 핵과 세포질내에 분명히 갈색의 과립상으로 염색된 경우를 양성으로 하여 PTEN에 대한 면역조직화학적 평가를 시행하였고, 조직 파라핀 블록을 탈파라핀 후 추출한 DNA를 template로 하여 PCR을 수행하고 그 산물로 SNPs를 분석하였다.

결과 : 면역조직화학적 염색을 통한 PTEN의 발현양상은 양성 종양 20예에서는 18예(90%)에서 염색반응 2와 3 정도의 강한 양성 반응을 보였으며 경계성 종양 22예에서는 15예(68%)에서 강한 양성 염색반응을 보였다. 악성 종양 49예에서는 16예(33%)에서 PTEN 염색반응이 완전히 소실되었고 21예(43%)에서 염색강도 1의 약한 염색반응을 보였다. PTEN의 발현도의 평균치는 양성 종양에서 2.30, 경계성 종양에서 1.86, 악성 종양에서 0.96으로 양성 종양, 경계성 종양보다 악성 종양에서 PTEN의 발현 소실이 현저히 증가하였다. 양성 종양, 경계성 종양, 악성 종양에서 각각의 장액성 종양과 점액성 종양에 따른 PTEN 발현의 유의한 차이는 없었다. SNP를 이용한 단일염기변이 검사에서 rs1234213의 경우 A/A allele의 빈도가 0.143, G/G allele이 0.129로 낮았으며 heterozygote인 A/G allele의 frequency는 0.729의 높은 비율로 관찰되었다. rs701848의 경우 C/C allele이 0.227, C/T allele은 0.515로 높은 비율을 보였으며 T/T allele은 0.258의 비율로 관찰되었다. rs9651492는 모두 G/G allele이었으며, polymorphism이 발견되지 않았다.

결론 : 이상의 결과에 의하면 PTEN의 발현소실은 난소상피종양의 진행에 깊은 연관이 있는 것으로 생각되고 이 유전자의 발현소실과정에는 단일염기변이가 일부 관여할 것으로 생각된다.

중심 단어 : PTEN, 단일뉴클레오타이드 다형성, 난소상피성 종양

서론

난소 종양은 여성에서 발생하는 비교적 흔한 종양으로 우리나라에서도 점차 증가하고 있는 추세이다. 상피성 난소 종양은 전체 난소암종의 약 2/3를 차지하며 악성 종양은 전체 난소 암종의 약 90%를 차지한다. 조직학적으로 장액성 종양, 점액성 종양, 자궁내막양 종양, 투명 세포 종양, 이행성 세포 및 혼재세포 종양 등 여러 종류의 형태가 있으나, 그 중 장액성 종양과 점액성 종양이

가장 많다.¹ 난소의 상피성 종양은 조직학적으로 양성 종양, 경계성 종양 및 악성 종양으로 분류하며,² 경계성 종양은 상피세포의 증식이 양성 종양보다는 심하지만 간질내로의 침윤이 없는 경우를 말하며 악성 종양과는 많은 예후 차이를 보인다.

난소암에서는 지금까지 다양한 종류의 유전자 변형이 알려져 있다. HER-2/neu, k-ras, c-myc 등 종양 유전자의 증폭, p53 종양억제 유전자의 변이, BRCA1과 BRCA2의 변이 등이 보고되어 있다.³⁻⁵ 그러나 난소암의 발암기전은 여러 단계의 복잡한 과정을 거치며⁶ 따라서 아직 알려지지 않은 다양한 종류의 유전자가 종양형성 과정에 관여할 것으로 추측된다.

Phosphate and tensin homolog deleted on chromosome

논문접수일 : 2007년 8월 8일 채택일 : 2007년 9월 4일
교신저자 : 박일수, 700-721 대구시 중구 삼덕동 2가 50
경북대학교 의과대학 산부인과학교실
전화 : (053) 420-5731 · 전송 : (053) 423-7905
E-mail : parkis@knu.ac.kr

10 (PTEN) 유전자는 10번 염색체 (10q23.3)에 위치한 종양억제 유전자로 알려져 있으며⁷ 세포골격 단백질인 tensin과 분비소포 단백질인 auxilin과 상동성을 가진 유전자이다.⁸ PTEN 유전자의 변이는 처음에 과오종 증후군인 Cowden 병과 Bannayan-Zonana 증후군에서 처음 발견되었으며^{9,10} 그 후 중추신경계, 유방, 전립선, 신장, 방광 등의 종양과 흑색종과 비호즈킨 림프종에서 PTEN 유전자의 변이가 보고되고 있다.¹¹⁻¹⁷ 난소암의 유전자변이에 대한 초기의 연구는 10번 염색체의 이형접합성의 소실에 대하여 연구가 이루어 졌으며^{18,19} 최근에 좀 더 특이적인 10번 염색체 10q23.3에 위치한 유전자에 대한 이형접합성의 소실이 보고되고 있다.^{20,21} 그러나 난소암의 발암기전에서 PTEN 유전자의 역할은 아직 잘 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 난소의 장액성 종양과 점액성 종양을 대상으로 양성 종양, 경계성 종양 및 악성 종양에서 PTEN의 발현을 비교 조사하여 난소의 발암기전에서 PTEN의 연관성을 알아보고 Single nucleotide polymorphism (SNPs)을 이용하여 PTEN 유전자의 다양성을 보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 재료

연구 재료는 2002년 2월부터 2005년 12월까지 본원에서 수술로 절제된 난소 조직 중 장액성 및 점액성 상피성 종양으로 진단된 종례 중 비교적 보존 상태가 양호한 파라핀 포매된 91예를 실험대상으로 선정하였다. 연구 대상 환자들의 임상기록 및 병리 보고서를 검토하여 환자의 연령, 종양의 크기를 조사하였고 병기는 FIGO 분류법²에 따라 병기 I에서 병기 IV까지 분류하였다. 조직학적 유형상 91예의 난소 종양 중 장액성 종양이 47예, 점액성 종양이 44예였다. 또 양성 종양 20예, 경계성 종양 22예, 악성 종양은 49예였다.

2. 광학현미경 관찰

절제된 난소종양 조직을 10% 중성 포르말린에 고정하고, 파라핀에 포매한 후, 통상의 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 광학현미경 관찰에서 종양의 형태학적 분

류를 하여 장액성과 점액성 종양으로 나누고, 각각의 종양을 양성 종양, 경계성 종양, 악성 종양으로 분류하였다.

3. 면역조직화학적 염색

파라핀에 포매된 조직을 4 μ m의 두께로 박절하여 organosaline을 부착한 슬라이드(probe-on plus slide, Fisher Scientific, USA)에 부착시켜 탈파라핀과 함수과정을 거쳐 증류수로 세척하였다. Microwave 전자렌지를 이용하여 10 mM citrate buffer (pH 6.0)를 750 watt 전자렌지로 5분간 먼저 가온 후에 슬라이드를 넣고 5분간 2회 가온 처리하여 항원 표출 후 20분간 실온에 방치하여 온도를 서서히 낮추었으며 이어서 tris buffered saline (이하 TBS, 50 mM, pH 7.4)으로 세척한 후 0.3% 과산화수소용액으로 처리 후 TBS로 세 차례 세척하였다. 조직내 비특이 항원을 차단하기 위해 normal horse serum에 30분간 반응시켰다. 단클론 일차항체인 PTEN (Novocastra, UK, 1:200)을 반응시킨 후 chamber에 두고 4°C 수조에서 하룻밤동안 반응을 시킨 후 TBS로 세 차례 세척하고 이차항체(Vector Elite kit, Vector Laboratories, USA)를 30분간 반응시킨 후 ABC (avidin-biotin conjugate) reagent를 사용하여 실온에서 45분간 반응시켰다. TBS에 세척 후 Tris-HCl (pH 7.6) 완충용액에 세척한 후 diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB, Sigma Chemicals, USA)로 발색하였다. 증류수에 수세한 후 Mayer hematoxylin으로 20초간 대조 염색한 후 봉입하여 슬라이드를 완성하였다.

4. 면역조직화학 염색의 평가

PTEN에 대한 면역조직화학적 염색의 평가는 종양세포의 일부분에서라도 핵과 세포질내에 분명히 갈색의 과립상으로 염색된 경우 양성으로 판정하였다. 종양세포내에서 완전한 음성 반응을 0, 10% 미만의 종양세포에 약한 양성 반응을 보일 때 1, 10-50% 사이의 양성 반응을 2, 50% 이상의 양성 반응을 3으로 하였다. 단, 탐식세포에 의한 양성반응은 조직학적 형태로 구별하였으며 종양의 괴사가 있는 부위는 판독하지 않았다. 면역조직화학적 염색의 평가는 두 명의 병리전문의가 판독하였다.

5. Single nucleotide polymorphism, SNPs

1) DNA 추출

조직 파라핀 블록을 5 μ m의 두께로 10장 잘라서 1.5 ml tube에 옮긴 후 1 ml의 xylene을 첨가해 파라핀을 제거하였다. 탈파라핀 후 ethanol로 xylene 제거과정을 거쳤으며 xylene과 ethanol을 거치는 과정을 세 번 반복한 후 proteinase K (50 μ g/ml)가 함유된 lysis buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 100 mM NaCl, 10 mM EDTA)로 조직을 처리해 DNA가 유리될 수 있도록 하였다. 50°C에서 하룻밤 동안 반응시킨 후 QiaAmp DNA mini kit (Qiagen, Germany)을 이용해 genomic DNA를 분리하였다. 분리한 DNA는 260 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였으며 50 ng을 template로 사용하여 PCR을 수행하였다.

2) 중합효소연쇄반응(PCR)

추출한 DNA를 template로 하여 PCR을 수행하였다. Primer는 웹의 Primer3 software를 사용하여 design하였다. Primer는 Genotech (Daejeon, Korea)에서 합성하여 사

용하였다(Table 1).

Genomic DNA 50 ng과 primer 10 pmol을 Accupower PCR premix (Bioneer, Korea)에 첨가하고 전체 반응부피를 20 μ l가 되도록 하여 PCR을 수행하였다. 95°C에서 5분간 초기변성을 한 다음, 95°C에서 30초간 변성, 53°C에서 30초간 소환, 72°C에서 30초간 연장 반응을 40회 반복하였으며 72°C에서 5분간 연장 반응을 수행하는 것으로 PCR 과정을 마무리하였다. PCR이 끝난 다음 2% agarose gel에서 전기영동하였으며 UV transilluminator를 이용해 결과를 확인하였다.

3) SNP 선정

PTEN의 SNP 선정은 기존에 발표된 논문과 HapMap database를 참고로 하였다.²² SNP rs1234213은 Zhang 등²²이 발표한 논문에서 nicotine dependence와 연관성이 있는 것으로 보고된 SNP marker 중 한국인의 heterozygosity가 높은 것을 선별하였다. 또 HapMap database에 보고된 PTEN의 SNP 중 non-synonymous SNP인

Table 1. PTEN primer sequence

SNP		Sequence (5'→3')	Product size (bp)
rs1234213 A/G	Foward Reverse	GACTGTCTTGTTCAGTCCTCTTT CAAGCTTTTCCTTTTGTAGTACA	240
rs9651492 C/G	Foward Reverse	CGAACTGGTGTAAATGATATGTG TAAATTCTCAGATCCAGGAAGA	157
rs701848 C/T	Foward Reverse	AATCATTTCTTCATAGTGCTCC CCTTTTAAATAATATCTTCACATTAGC	179

Table 2. Summary of PTEN SNP

Region	Contig position (NT_030059)	mRNA position	dbSNP rs#	Heterozygosity	Function	dbSNP allele	HapMap-HCB HapMap-JPT or AFD CHN panel(rs701848)		
Intron 3	8437837		rs1234213	0.492	Intron	A/G	A/A 0.222 0.295	A/G 0.600 0.500	G/G 0.178 0.205
Exon 5	8441489	1489	rs9651492	N.D N.D	Non-synonymous Contig reference	CHis[H]153:1 GAsp[D]153:1	C/C — —	C/G — —	G/G — —
3' UTR	8475261		rs701848	0.435	Untranslated	C/T	C/C 0.125	C/T 0.417	T/T 0.458

Table 3. Relation between histologic type and PTEN expression in ovarian epithelial tumor

Histologic type	No	PTEN expression	
		Grade 0 and 1 (%)	Grade 2 and 3 (%)
Serous tumor	47	28 (59.6)	19 (40.4)
Adenoma	10	1 (10)	9 (90)
Borderline	3	1 (33)	2 (67)
Adenocarcinoma	34	26 (76)	8 (24)
Mucinous tumor	44	18 (40.9)	26 (59.1)
Adenoma	10	1 (10)	9 (90)
Borderline	19	6 (32)	13 (68)
Adenocarcinoma	15	11 (73)	4 (27)

rs9651492와 3' UTR 부위의 rs701848을 선정하여 본 실험에 적용하였다. 이 실험에서 선정한 SNP는 Table 2에 정리하였다.

6. 통계분석

PTEN에 대한 면역조직화학적 발현과 각각의 종양을 양성 종양, 경계성 종양, 악성 종양 및 병기와 상관관계 및 차이를 비교하기 위해서 통계 프로그램인 SPSS 11.0 for windows를 이용하여 분산분석(Analysis of Variance)을 사용하였고, 유의성은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결 과

1. PTEN 면역조직화학적 염색의 발현

PTEN에 대한 면역조직화학적 염색에서 PTEN은 종양의 기질에 있는 혈관내피세포의 핵에 강하게 염색되었고 섬유세포의 세포질과 핵에 불규칙적으로 염색되었다. 난소 종양에서는 종양세포의 핵에 양성 반응을 보였다.

90예의 난소 종양 중 양성 종양 20예 중 18예 (90%)에서 염색반응 2와 3 정도의 강한 양성 반응을 보였으며 2예 (10%)에서 약한 염색 반응을 보였고 음성반응은 없었다. 경계성 종양 22예에서는 15예 (68%)에서 강한 양성 염색반응을 보였으며 7예 (32%)에서 약한 반응을 보였다. 악성 종양 49예에서는 16예 (33%)에서 PTEN 염색반응이 완전히 소실되었고 21예 (43%)에서 염색강도 1의 약한 염색반응을 보였다. 12예 (24%)에서는 종양세포의 핵에서 강한 양성 반응을 보였다. PTEN의 발현도의 평균치는 양성 종양에서 2.30 ± 0.66 , 경계성 종양에서

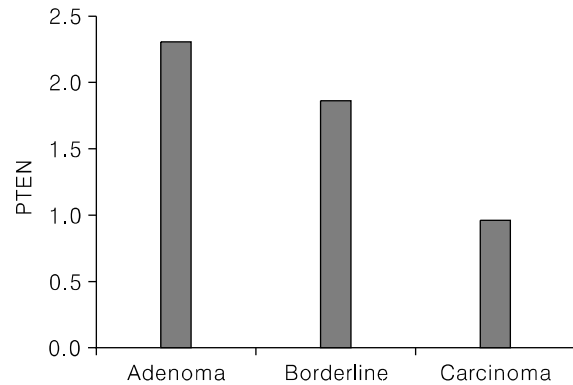


Fig. 1. Intensity of immunohistochemical stain for PTEN in ovarian epithelial tumors (in adenoma : 2.30 ± 0.66 , in borderline : 1.86 ± 0.71 , in adenocarcinoma : 0.96 ± 0.84 , $p < 0.0001$)

1.86 ± 0.71 , 악성 종양에서 0.96 ± 0.84 로 분산분석(Analysis of Variance) 결과 양성 종양, 경계성 종양보다 악성 종양에서 PTEN의 발현 소실이 현저히 증가하였다 ($p < 0.0001$)(Fig. 1, 2).

양성 종양, 경계성 종양, 악성 종양군 각각에서 장액성 종양과 점액성 종양의 조직형에 따른 PTEN 발현의 유의한 차이는 없었다($p = 0.3774$).

2. SNP 분석

조직에서 추출한 genomic DNA를 template로 사용하여 PCR을 시행한 다음 전기영동으로 결과를 확인하였으며, PCR산물은 염기서열 분석을 위하여 정제과정을 거쳤다(Fig. 3, 4).

염기서열 분석을 통해 얻은 결과는 다음과 같다. rs1234213의 경우 HapMap-JPT에 보고된 결과와 비교할 때 A/A allele의 frequency가 0.143, G/G allele의 frequency가 0.129로 낮았으며 반면에 heterozygote인 A/G allele의 frequency는 0.729의 높은 비율로 관찰되었다. rs701848의 경우 HapMap에 보고된 결과와 비교할 때 C/C allele의 frequency는 0.227, C/T allele의 frequency는 0.515로 높은 비율을 보였으며 T/T allele의 frequency는 보고된 것보다 낮은 0.258의 비율로 관찰되었다. rs9651492의 분석결과 염기서열은 모두 G/G allele이었으며, 따라서 rs9651492는 한국인에서 polymorphism이 발견되지 않는다는 것을 알 수가 있었다(Fig. 5, 6, 7).

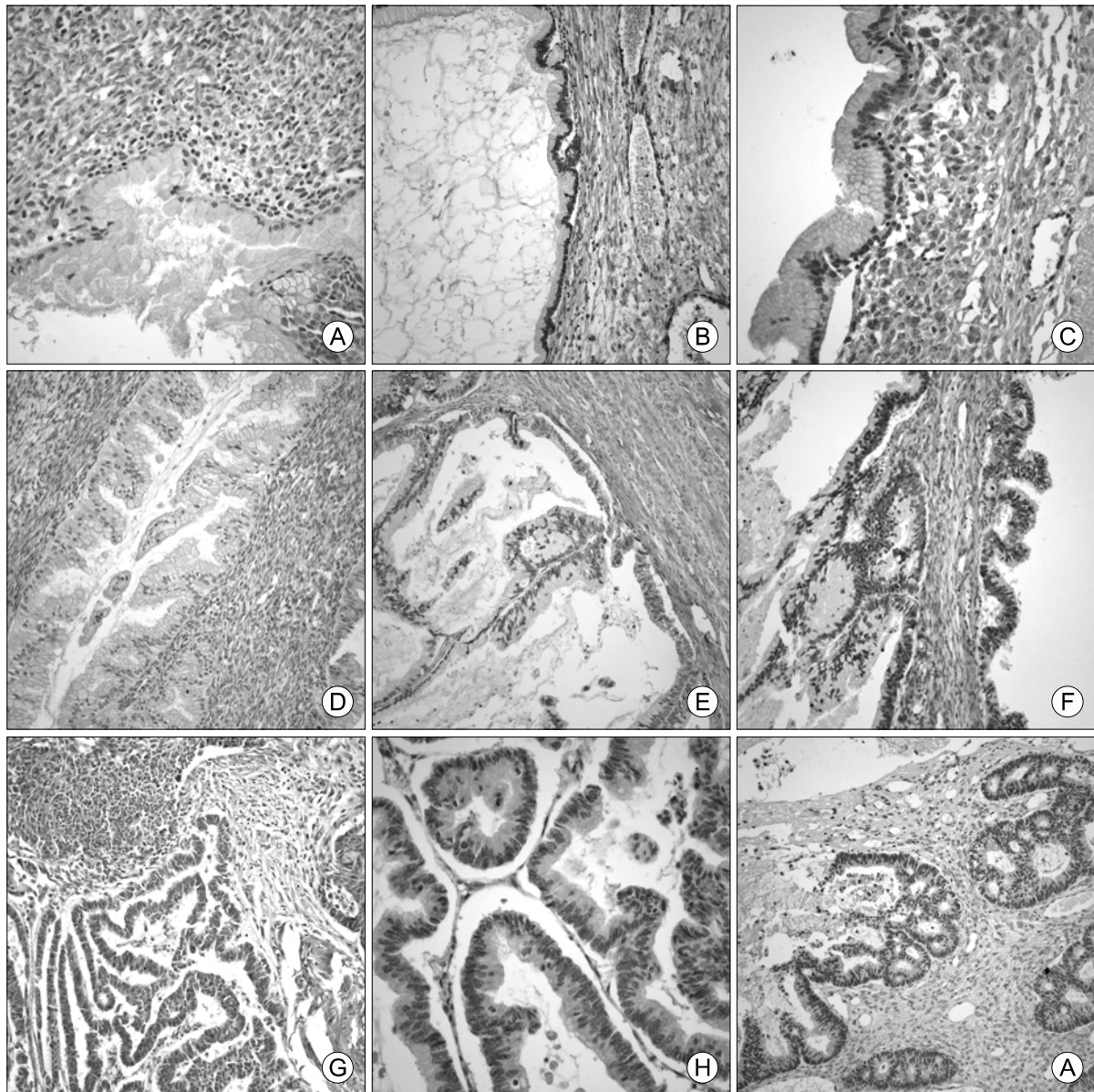


Fig. 2. Immunohistochemical stains for PTEN. (A) Weak positive reaction, G1, in mucinous cystadenoma; (B) strong positive reaction, G2, in mucinous cystadenoma; (C) strong positive reaction, G3, in mucinous cystadenoma; (D) negative reaction, G0, in borderline ovarian tumor; (E) weak positive reaction, G1, in borderline ovarian tumor; (F) strong positive reaction, G3, in borderline ovarian tumor; (G) negative reaction, G0, in adenocarcinoma; (H) weak positive reaction, G1, in adenocarcinoma; (I) strong positive reaction, G3, in adenocarcinoma

고 찰

난소암의 발암기전에는 여러 단계의 복잡한 과정이 있으며 지금까지 다양한 종류의 유전자 변형이 알려져 있다. HER-2/neu, k-ras, c-myc 등 종양 유전자의 증폭, p53 종양억제 유전자의 변이, BRCA1과 BRCA2의 변이 등이 보고되어 있다.³⁻⁵ 난소암의 유전자변이에 대한 초

기의 연구는 10번 염색체의 이형접합성의 소실에 대하여 연구가 이루어 졌으며^{18,19} 최근에는 좀 더 특이적인 10번 염색체 10q23.3에 위치한 유전자에 대한 이형접합성의 소실이 보고되고 있다.^{20,21} Saito 등은 난소암에서 10q23.3에 위치한 PTEN 유전자가 조직학적인 유형에 따라 10-25%로 다양한 정도의 변이를 보인다고 보고하였다.²³

상피성 난소종양에서 PTEN의 발현과 single nucleotide polymorphism 분석

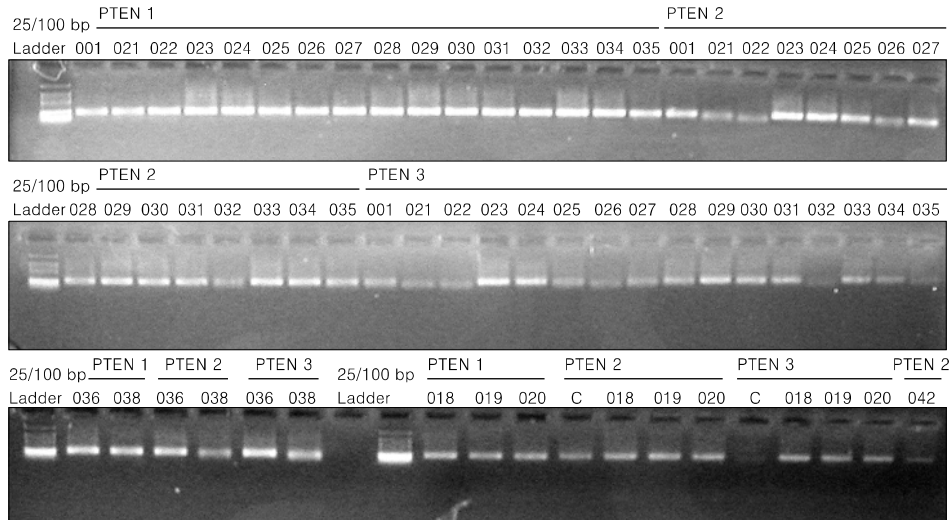


Fig. 3. Validation of the results of PCR by electrophoresis.

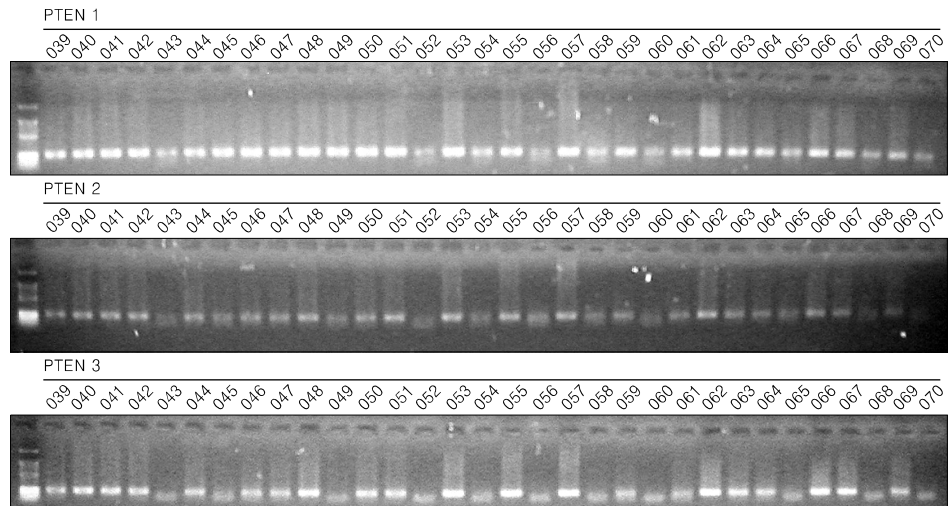


Fig. 4. Confirmation of the results of PCR for DNA sequencing.

Genotype	Numbers	Frequency	Sequencing result (ex)
C/C	15	0.227	
C/T	34	0.515	
T/T (Contig allele)	17	0.258	

Fig. 5. Sequencing result (allele frequency) of rs1234213.

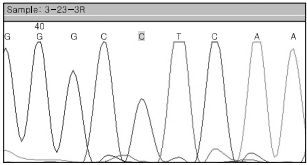
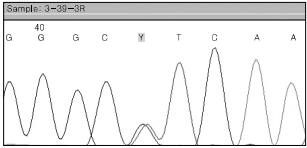
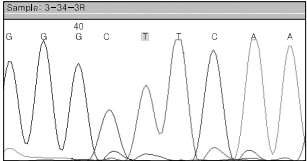
Genotype	Numbers	Frequency	Sequencing result (ex)
C/C	15	0.227	
C/T	34	0.515	
T/T (Contig allele)	17	0.258	

Fig. 6. Sequencing result (allele frequency) of rs701848.

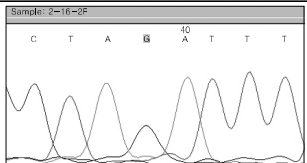
Genotype	Numbers	Frequency	Sequencing result (ex)
C/C	0	0	
C/G	0	0	
G/G (Contig allele)	65	1.000	

Fig. 7. Sequencing result (allele frequency) of rs9651492.

PTEN은 종양억제 유전자 역할을 하는 55 kDa 크기의 단백질로 1-phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway를 조절하여 세포증식에 관여하며 세포주기의 진행을 정지시켜 세포가 G1 주기에 머물도록 하는 역할을 한다.²⁴ 또 focal adhesion kinase (FAK)를 탈인산화하여 세포의 이동, 침윤 및 부착을 방해하는 역할도 한다.²⁵ 이와 같이 PTEN은 세포의 증식과 침윤을 방해하는 종양억제 유전자로 알려지면서 다양한 종양에서의 역할이 연구되고 있다. PTEN이 위치한 10번 염색체 10q23에 체세포돌연변이 또는 이형접합성 소실(loss of heterozygosity, LOH)은 아교모세포종, 자궁내막암, 전립선암, 악성 흑색종 및 두경부의 편평상피세포암종 등의 발생과 연관이 있다.^{11,26-29}

본 연구에서는 양성 종양, 경계성 종양 및 악성 종양에서 면역조직화학 염색을 통하여 PTEN의 발현양상을 조사하였다. 연구결과를 보면 양성 종양이나 경계성 종양보다 악성 종양에서 현저한 PTEN의 발현 소실을 보였다. 이러한 결과는 PTEN의 FAK 탈인산화과정을 통한

세포의 이동, 침윤 및 부착을 방해하는 역할을 뒷받침할 수 있는 자료로 생각되고, 난소암에서도 양성 종양이나 기저막의 파괴가 없는 경계성 종양에서는 PTEN의 발현이 높고 기저막의 침윤이 있는 악성 종양에서 발현이 현저히 소실되는 것으로 PTEN의 발현 소실이 종양의 침윤과 깊은 관련이 있는 것으로 생각된다. 악성 종양에서 PTEN 발현 소실은 병기에 따라 큰 차이가 있을 것으로 추측하였으나 본 연구에서는 악성 종양에서 병기에 따른 PTEN 발현 소실이 유의한 차이가 없었다. 이는 본 연구에 사용된 재료가 병기 I에 치중되어 있어 다양한 병기를 고루 반영하지 못한 결과로 생각되며 좀 더 많은 증례에서 다양한 병기에 대한 연구가 추가되어야 할 것으로 생각된다. 그 외 환자의 연령, 종양의 크기는 PTEN의 발현정도와 연관성은 없었다.

정상 단백질의 활성화에 영향을 줄 수 있는 DNA repair 유전자나 세포주기에 관여하는 유전자의 변이에서 단일염기서열의 변화는 정상 단백질 활성화에 큰 영향을 미치며 유전불안정을 초래하여 암 발생의 위험을 증가시킬 수도

있다. 이러한 단일염기변이를 SNP assay를 통해 분석함으로써 다양한 질환에서 다양한 종류의 유전자에 대한 연구를 시행 중이다. 인간게놈프로젝트에 의해 대략의 인간 유전체의 서열은 밝혀지고 있지만 개인별 차이를 비교하는 SNP 연구는 아직 시작단계이다. SNP는 대략 1,000개의 서열 당 하나 꼴로 발견되는 것으로 알려져 있는데, 개인별 유전정보의 차이는 0.1% 정도이고, 99.9%는 동일하다. 이는 기존의 microsatellite에 비해 질병 유전자에 대한 유전학적 표지자로서 매우 유용하다는 의미이기도 하다. 인간게놈프로젝트의 일차분석결과로는 인간 유전체 전체에 SNP 자리가 약 140만개 정도 존재하는 것으로 추정되고 있다. SNP에 의해 염기 서열이 다르면, 생성되는 단백질의 해당 자리 아미노산이 달라져 단백질의 기능에 변화를 초래하는 것이다. SNP 혹은 haplotype은 개인별, 가족별, 인종별 특성을 결정짓고, 나아가 각종 유전병의 원인 및 치료방법을 밝히는 중요한 단서가 될 것으로 기대된다. 한 개인이 특정 질병에 대한 감수성 여부와 같은 병에 걸린 환자들 간에도 어떤 치료제를 써야 할 것인지를 결정하는 데도 중요한 정보를 줄 수 있다.³⁰⁻³² 본 연구에서는 난소 상피성 종양에 대한 SNP를 이용한 단일염기변이 검사에서 rs1234213의 경우 A/A allele의 frequency가 0.143, G/G allele의 빈도가 0.129로 낮았으며 반면에 heterozygote인 A/G allele의 빈도는 0.729의 높은 비율로 관찰되었다. rs701848의 경우 HapMap에 보고된 결과와 비교할 때 C/C allele의 frequency는 0.227, C/T allele의 frequency는 0.515로 높은 비율을 보였으며 T/T allele의 frequency는 보고된 것보다 낮은 0.258의 비율로 관찰되었다. rs9651492의 분석결과 염기서열은 모두 G/G allele이었으며, 따라서 rs9651492는 한국인에서 polymorphism이 발견되지 않는다는 것을 알 수가 있었다. 본 연구를 통해 한국인의 PTEN의 SNP (rs1234213, rs701848, rs9651492) frequency를 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Scully RE, Young RH, Clement PB. Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube, and broad ligament. Armed forces institute of pathology Washington, D.C. Third Series Fascicle 23. p.27-50.
2. Pettersson F. Annual report of the results of treatment in gynecological cancer. Stockholm: International Federation of Gynecology and Obstetrics;1991.
3. Piver MS, Baker TR, Piedmonte M, Sandecki AM. Epidemiology and etiology of ovarian cancer. Semin Oncol 1991; 18: 177-85.
4. Pejovic T: Genetic changes in ovarian cancer. Ann Med 1995; 27: 73-8.
5. Berchuck A, Carney M, Lancaster JM, Marks J, Futreal AP: Familial breast-ovarian cancer syndromes: BRCA1 and BRCA2. Clin Obstet Gynecol 1998; 41: 157-66.
6. Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990; 61: 759-67.
7. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Identification of a candidate tumor suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. Nat Genet 1998; 15: 356-62.
8. Myers MP, Stolarov J, End 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.
9. Liaw D, Marsh DJ, Li J, Dahia PL, 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.
10. Marsh DJ, Dahia PL, Zheng Z, Liaw D, Parsons R, Gorlin RJ, et al. Germline mutations in PTEN are present in Bannayan-Zonana syndrome. Nat Genet 1997; 16: 333-4.
11. 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.
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: 672-6.
13. 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.
14. Brenner W, Färber G, Herget T, Lehr HA, Hengstler JG, Thüroff JW. Loss of tumor suppressor protein PTEN during renal carcinogenesis. Int J Cancer 2002; 99: 53-7.
15. Cairns P, Evron E, Okami K. Point mutation and homozygous deletion of PTEN/MMAC1 in primary bladder cancers. Oncogene 1998; 16: 3215-8.
16. 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.
17. 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.
18. Sato T, Saito H, Morita R, Koi S, Lee JH, Nakamura Y. Allelotype of human ovarian cancer. Cancer Res 1991; 51:5118-22.
19. Cliby W, Ritland S, Hartmann L, Dodson M, Halling KC, Keeney G, et al. Human epithelial ovarian cancer

- allelotype. *Cancer Res* 1993; 53: 2393-8.
20. Teng DH, Hu R, Lin H, Davis T, Iliev D, Frye C, et al. MMAC1/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57: 5221-5.
21. Obata K, Morland SJ, Watson RH, Hitchcock A, Chenevix-Trench G, Thomas EJ, et al. Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors. *Cancer Res* 1998; 58: 2095-7.
22. Zhang L, Kendler KS, Chen X. Association of the phosphatase and tensin homolog gene (PTEN) with smoking initiation and nicotine dependence. *American Journal of Medical Genetics Part B*, 2006; 141: 10-4.
23. Saito M, Okamoto A, Kohno T, Takakura S, Shinozaki H, Isonishi S, et al. Allelic imbalance and mutations of the PTEN gene in ovarian cancer. *Int J Cancer* 2000; 85: 160-5.
24. Weng LP, Smith WM, Dahia PLM. PTEN suppresses breast cancer cell growth by phosphatase activity-dependent G1 arrest followed by cell death. *Cancer Res* 1999; 59: 5808-14.
25. Tamura M, Gu J, Takino T. Tumor suppressor PTEN inhibition of cell invasion, migration, and growth: differential involvement of local adhesion kinase and p130Cas. *Cancer Res* 1999; 59: 442-9.
26. Risinger JI, Hayes AK, Berchuck A, Barrett JC. PTEN/MMAC1 mutations in endometrial cancers. *Cancer Res* 1997; 57: 4736-8.
27. 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.
28. Guldberg P, Thor Straten P, Birck A, Ahrenkiel V, Kirkin AF, Zeuthen J. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. *Cancer Res* 1997; 57: 3660-3.
29. Shao X, Tandon R, Samara G, Kanki H, Yano H, Close LG, et al. Mutational analysis of the PTEN gene in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 1998; 77: 684-8.
30. Zhang X, Miao X, Liang G. Polymorphisms in DNA base excision repair genes ADPRT and XRCC1 and risk of lung cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 722-6.
31. Shen M, Berndt SI, Rothman N. Polymorphisms in the DNA nucleotide excision repair genes and lung cancer risk in Xuan Wei, China. *Int J Cancer* 2005; 116: 768-73.
32. Hu Z, Ma H, Chen F, Wei Q, Shen H. XRCC1 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 38 case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1810-8.

PTEN expression and single nucleotide polymorphisms in epithelial tumors of the ovary

Jin Suk Hwang, Il Soo Park, Yoon Soon Lee

Department of Obstetrics and Gynecology, KyungPook National University School of Medicine, Daegu, Korea

Objective : Phosphate and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN) is a potent tumor suppressor gene, localized to chromosome 10q23, and shows extensive homology with auxilin and tension. PTEN has variety roles involved in cell proliferation, invasion, and migration in tumorigenesis of solid tumors. In this study, the expression of the PTEN in the ovarian epithelial tumors, including benign, borderline malignancy, and adenocarcinomas was investigated.

Methods : Immunohistochemical expression of PTEN were analyzed in formalin fixed tumor tissues of 20 benign cystadenomas, 22 borderline tumors, and 49 malignant ovarian cancer. In the same tissue extracts, single nucleotide polymorphism were studied.

Results : Most of benign and borderline ovarian tumors revealed strong positive reaction, but a few cases showed negative reaction or weak positive reaction. In adenocarcinomas, 33% of cases was negative, and 43% was focal weakly staining, grade 1. The remainder of adenocarcinomas showed strong nuclear staining. In SNP assay, A/A allele of rs1234213 shows low frequency, but A/G allele reveals high frequency. C/C allele of rs701848 shows high frequency, and rs9651492 is not detected polymorphism.

Conclusion : These results suggest that loss of PTEN expression is associated with tumorigenesis of ovarian epithelial tumors, and is related with single nucleotide polymorphism.

Key Words : PTEN, SNP, Ovarian epithelial tumor
