

전립선암의 호르몬 불응성과 PTEN, CD44 발현양상의 연관성 분석

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실, 비뇨의과학연구소

함원식 · 박재원 · 조강수 · 이창기 · 최영득 · 홍성준

The Analysis of Relationship between Refractoriness to Androgen Deprivation and PTEN, CD44 Expression in Prostate Cancer

Won Sik Ham, Jae Won Park, Kang Su Cho, Chang Kee Lee,
Young Deuk Choi, Sung Joon Hong

Department of Urology and Urological Science Institute,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Most prostate cancers (PCs) ultimately progress to castration resistant prostate cancer (CRPC) after androgen deprivation therapy (ADT). Because cancer stem cells survive ADT, which can lead to tumor recurrence and understanding the molecular changes that occur after ADT would be helpful for finding novel therapies targeting CRPC, we analyzed the expression of CD44, a stem cell marker in radical prostatectomy samples after ADT.

Materials and Methods: PTEN and CD44 expression profiles were determined by microarray or real-time PCR in 107 radical prostatectomy specimens from patients given neoadjuvant ADT. Pathological regressive changes and the correlation of postoperative biochemical failure with PTEN and CD44 expression were analyzed.

Results: As the PC tissues had minimal regression effects after ADT, they showed significantly advanced pathological stage ($p=0.001$), PTEN inactivation ($p<0.001$), and high CD44 expression ($p<0.001$). The PTEN inactivation group showed a significantly higher probability of positive CD44 expression compared to the non-PTEN inactivation group (OR 10.5, 95% CI 4.0 to 27.6, $p<0.001$). Cox regression analysis revealed that seminal vesicle invasion, biopsy Gleason score, and CD44 expression were significantly associated with the time to biochemical recurrence.

Conclusions: PC tissues refractory to ADT showed PTEN inactivation with high CD44 expression. The PTEN inactivation group showed a significantly high probability of positive CD44 expression. Our results support that the PTEN/PI3K/Akt pathways are necessary for prostate cancer stem cell maintenance. (Korean J Urol Oncol 2012;10:21-26)

Key Words: Prostate neoplasms, PTEN, PI3K/Akt, CD44

서론

논문접수일 : 2012년 3월 12일, 수정일 : 2012년 3월 29일,

채택일 : 2012년 4월 6일

교신저자 : 함원식, 세브란스병원 비뇨기과

서울시 서대문구 성산로 250, ☎ 120-752

Tel: 02-2228-2313, Fax: 02-312-2538

E-mail: uroham@yuhs.ac

본 연구는 연세대학교 의과대학 2009년도 신진교수 연구비에 의하여 이루어졌음 (6-2009-0129).

남성호르몬억제요법은 임상적으로 진행된 전립선암에서 표준적인 치료법이나, 대부분의 경우 일정 기간 경과 후 재발하여 결국 거세불응성 전립선암으로 진행한다. 이처럼 치료에 불응하는 단계로 진행되는 기전에 대해서는 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt 경로,^{1,2} 그리고 신경내분비분화 (neuroendocrine differentiation)^{3,4} 등을 포함한 다양한

기전에 대한 많은 연구들이 이루어졌지만, 아직까지 남성 호르몬 억제요법에 대해 전립선암이 불응성을 가지게 되는 분자학적 기전에 대해서는 아직까지 명확히 밝혀진 바가 없다.

종양억제 유전자인 phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN)의 변형 및 소실은 PI3K/Akt 경로의 기본적인 활성화를 유발하고, 활성화된 Akt는 전립선암의 자살 (suicide)를 억제하기 때문에, 남성호르몬이 억제되는 환경에서도 전립선암세포가 생존하게 되는 기전을 제공한다^{5,6} PTEN 소실에 따른 PI3K/Akt 경로의 기본적인 활성화는 전립선암에서 흔히 관찰되며, 이는 조절되지 않는 세포의 증식 및 세포자멸사의 감소를 유발한다.⁷ 신경내분비분화 또한 전립선암의 남성호르몬 비의존적인 성장에 기여하는 것으로 보고되어,^{3,4} 남성호르몬 억제요법은 신경내분비분화를 유발하고, 신경내분비 세포는 주위의 비신경내분비 세포들에 측분비 (paracrine)방식으로 활동하는 물질을 분비하여, 남성호르몬이 결핍된 환경에서도 남성호르몬에 의존하지 않는 전립선암의 성장에 기여한다고 연구되었다. 또한 Akt가 남성호르몬 억제요법 후 전립선암의 신경내분비분화에 주요하게 관여한다고 연구되기도 하였다.⁸ 최근에는 종양 줄기세포 이론에 대한 많은 연구가 이루어져, 이 이론에 따르면 추정적 전립선암 줄기세포가 남성호르몬 수용체가 음성이면서 비의존적이기 때문에, 전립선암 줄기세포는 남성호르몬 억제요법에도 생존하여 결국 거세불응성 전립선암으로 진행하게 된다고 예측하였다.⁹⁻¹¹

추정적 줄기세포 표지자인 CD44가 전립선암의 신경내분비세포에 선택적으로 발현한다는 보고가 있고,^{11,12} 본 연구진의 기존의 연구에서 PTEN의 소실 및 신경내분비분화가 남성호르몬 억제요법의 불응성과 연관된다는 결과를 바탕으로, 저자들은 근치적 전립선적출술 표본에서 술 전 남성호르몬 억제요법에 따른 병리적 퇴행 정도와, PTEN 및 CD44 발현 정도를 분석하였고, 이러한 변화들이 술 후 생화학적 재발에 영향을 주는지 분석하였다.

대상 및 방법

본원 생명윤리위원회의 승인 하에, 술 전 4개월 동안 bicalutamide 150mg을 복용하고 근치적 전립선적출술을 시행받은 107명의 전립선암환자를 대상으로 연구를 진행하였다. 술 후 PSA 수치가 0.2ng/ml 이상으로 지속적으로 검출되거나, 술 후 PSA수치가 최저치 또는 검출되지 않을 정도의 수준으로 떨어진 후 0.2ng/ml 이상으로 2회 이상 연속적으로 증가하는 경우를 생화학적 재발로 정의하였다. 구체

외부방사선요법은 술 후 지속된 PSA가 있는 경우에 한해 시행하였고, 보조 호르몬요법은 술 후 조기에 시행하지는 않았고, 일반적으로 술 후 생화학적 재발이 있을 경우 연기된 (deferred) 보조 호르몬 요법을 시행하였다. 환자군의 특성과 남성호르몬 억제요법 후 병리적 퇴행변화를 분석하고, 전립선조직 microarray를 제작하는 과정은 기존의 연구에서 자세히 기술되었다.¹³ 간단히 기술하면, 전립선의 꼭지 (apex)에서부터 정낭의 끝 (tip)까지 5mm간격으로 가로축으로 whole-mount step sections 절단을 시행하였고, H&E sections에서의 종양세포의 변성 정도를 바탕으로, 병리적 퇴행 정도를 경도 (minimal), 중등도 (moderate) 그리고 중증 (extensive)의 3단계로 구분하였다.¹⁴ 조직 microarray는 archival formation 고정 및 paraffin-embedded 전립선적출술 표본들을 대상으로, 종양의 이질성 (heterogeneity)으로 인한 왜곡을 최소화하기 위해, 각각 0.6mm직경의 3-4개의 core들을 채취하였다. 종양세포가 명확히 존재하는 3군데의 지역들을 포함하는 각각의 조직 microarray 및 그에 대응하는 정상 조직에 대해 초기 검사를 시행하였다.

Deparaffinization 시행 후, PTEN (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA, USA) 및 CD44 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)에 대한 일차 다클론항체 (primary polyclonal antibody)를 각각 이용하여, 면역조직화학염색을 시행하였다. 염색하는 과정은 기존의 연구들에서 자세히 기술되었다.^{13,15} PTEN 면역반응성 (immunoreactivity)은 기존의 공식¹⁶ (staining index=cytoplasmic staining intensity×proportion of immunopositive tumor area, ranged from 0 to 9)을 이용하여 계산하였고, PTEN index가 4이하인 경우 발현이 낮은 것으로 정의하였다. CD44 양성인 세포들은 강하게 세포막이 염색되는 형태를 나타내었다.

총 RNA는 TRIzol (Gibco, North Andover, MA, USA)를 이용하여, 조직에서 추출하여, 1 microgram의 RNA를 제조사의 프로토콜에 의해 ImProm-II Reverse Transcriptase (Invitrogen-고식적 polymerase chain reaction (PCR); Promega, Madison, WI, USA- 정량적 PCR)를 이용하여, cDNA로 역전사하였다. Glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase (GAPDH) 유전자에 대한 primer를 이용한 Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 결과를 internal control로 사용하여, 교정한 후, 역전사된 cDNA를 유전자 특이적 primer들을 이용하여 정량적 PCR을 시행하였다 (The primers (CD44: forward, TTTGCATTGCAGTCAACAGTC and reverse, GTTACACCCCAATCTTCATGTCCAC; GAPDH: forward, AAGGTGAAGGTCGGAGTCAA and reverse, AATGAAGGGGTCAT TGATGG) were constructed based upon GenBank accession number NM000610). Thermal cycler에 대한 프로토콜은 기존

에 기술된 방법대로 시행하였다.¹⁷ 대조 실험은 reverse transcriptase 및 template cDNA를 배제하였다. 각각의 반응은 2% agarose gel 위에 전기영동을 이용하여 발현시켰다. Real-time PCR는 LightCycler LC480 instrument (Roche, Basel, Switzerland)을 이용하여 시행하였다 (증폭 조건: 95°C에서 5분, 95°C에서 10초간 50 cycles, 이후, 60°C에서 20초, 그리고, 72°C에서 20초).

통계적인 분석은 Statistical Package for the Social Sciences, version 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 시행하였다. 연속변수들은 one-way ANOVA test를 이용하여 비교하였고, 명목변수들은 chi-square test (또는 Fisher's exact test)와 linear-by-linear association test를 이용하여 비교하였다. Log-rank test를 먼저 시행한 후에 유의한 변수를 확인하기 위해 Cox regression analysis를 시행하였다. p값이 0.05미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 임상병리적 특성

남성호르몬 억제요법에 의한 병리적 퇴행 정도는 각각 경도 퇴행 66예, 중등도 퇴행 33예, 그리고, 중증 퇴행 8예로 분석되었다 (Fig. 1A~C). 퇴행 정도에 따른 임상병리적인 특성들은 Table 1에 요약되어 있다. 생검 Gleason 점수, 병리적 병기, 피막외 침범, 정낭 침범, 그리고 양성 수술 절제면이 병리적 퇴행 정도와 연관되는 것으로 나타난 반면, 림프절 전이는 그렇지 않은 것으로 나타났다.

2. PTEN 및 CD44 발현

PTEN 불활성화 (low score: ≤4)는 조직 표본의 59.8% (64/107)에서 관찰되었다 (Fig. 1D). PTEN 불활성화군에서 병리적 퇴행 정도는 경도 퇴행 56예, 중등도 퇴행 8예, 그리고 중증 퇴행인 경우는 관찰되지 않았다. 명확하게 세포막이 염색되는 CD44양성인 경우 (Fig. 1E)는 경도 퇴행인 경

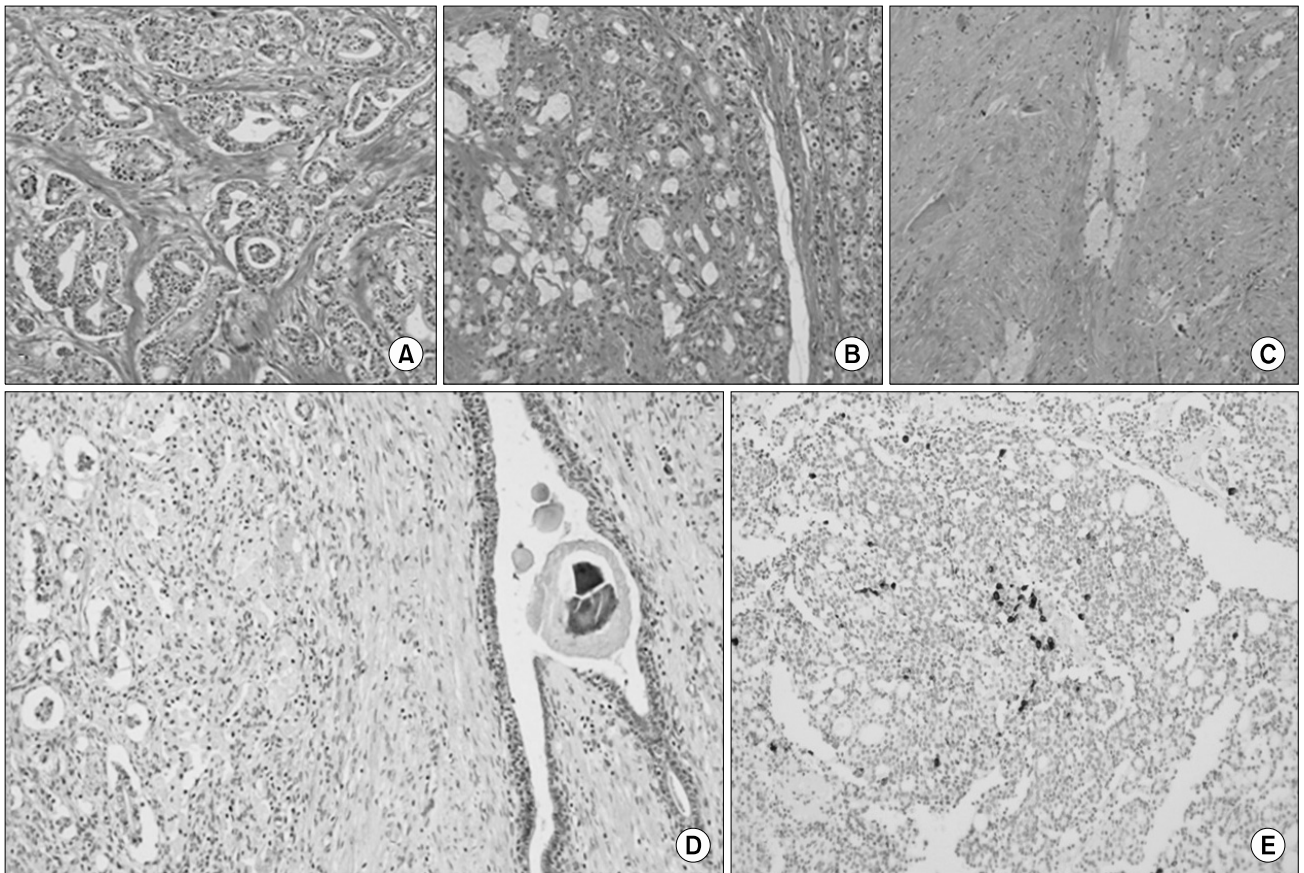


Fig. 1. Cases showing (A) minimal, (B) moderate, and (C) extensive regression effects (H&E, x100); (D) Immunohistochemistry in the prostatectomy specimens showing PTEN inactivation; and (E) CD44 expression after androgen deprivation therapy (ADT).

Table 1. Clinicopathologic characteristics and PTEN expression according to pathological regression effects

	Pathological regression effects			p-value
	Minimal (n=66)	Moderate (n=33)	Extensive (n=8)	
Median age (range)	64.7 (51-75)	68.3 (52-79)	67.0 (54-75)	0.016
PSA, mean (range)				
Before ADT	30.9 (4.2-203.0)	84.2 (4.1-1843.0)	23.8 (8.1-84.8)	0.760
Bx Gleason score (%)				0.017
≤6	14 (21.2)	14 (42.4)	4 (50.0)	
7	24 (36.4)	11 (33.3)	2 (25.0)	
≥8	28 (42.4)	8 (24.2)	2 (25.0)	
Pathologic stage (%)				0.001
pT0	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (50.0)	
pT2	28 (42.4)	15 (45.5)	4 (50.0)	
pT3	29 (43.9)	14 (42.4)	0 (0.0)	
pT4	9 (13.6)	4 (12.1)	0 (0.0)	
ECE (%)				<0.001
Negative	15 (22.7)	14 (42.4)	8 (100.0)	
Positive	51 (77.3)	19 (57.6)	0 (0)	
SV invasion (%)				0.047
Negative	42 (63.6)	24 (72.7)	8 (100.0)	
Positive	24 (36.4)	9 (27.3)	0 (0.0)	
Surgical margin (%)				0.009
Negative	28 (42.4)	20 (60.6)	7 (87.5)	
Positive	38 (57.6)	13 (39.4)	1 (12.5)	
LN invasion (%)				0.326
Negative	52 (78.8)	29 (89.7)	7 (87.5)	
Positive	14 (21.2)	4 (12.1)	1 (12.5)	

ADT: androgen deprivation therapy, Bx: biopsy, ECE: extracapsular extension, LN: lymph node, PTEN: phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, SV: seminal vesicle.

우에서 43예, 중등도 퇴행에서 7예, 그리고 중증 퇴행에서는 관찰되지 않았다. PTEN 불활성화군은 그렇지 않은 군에 비해 CD44양성일 가능성이 유의하게 높은 것으로 나타났다 (OR 10.5, 95% CI 4.0 to 27.6, $p < 0.001$). PTEN 불활성화 및 CD44양성 발현 정도는 병리적 퇴행 정도와 각각 통계적으로 유의하게 나타났다 ($p < 0.001$, respectively, Table 2).

조직 microarray를 이용하여, CD44 mRNA 발현 정도를 분석한 결과, CD44의 발현치는 각각 경도 퇴행군: 3.06 ± 0.48 , 중등도 퇴행군: 1.86 ± 0.46 , 그리고 중증 퇴행군: 1.04 ± 0.21 으로 나타났다. 남성호르몬 억제요법에 대해 경도 퇴행을 나타낼수록 CD44 mRNA 발현은 유의하게 증가하였다 ($p < 0.001$, Fig. 2).

3. 생화학적 재발과 임상 변수들과의 상관 관계

중위값 67.0개월 (range 42-121)의 추적관찰 기간동안, 59 (55.1%)명의 환자가 생화학적 재발을 나타내었고, 5년 무생화학적 재발률은 49.1%였다. 다변수 Cox regression analysis에 의하면 정낭 침범, 생검 Gleason 점수, 그리고 CD44 mRNA 발

Table 2. Relationship between pathological regression effects, PTEN, and CD44 expression

	Pathological regression effects			p-value
	Minimal	Moderate	Extensive	
PTEN (%)				<0.001
Low (≤ 4)	56 (84.8)	8 (24.2)	0 (0.0)	
High (≥ 5)	10 (15.2)	25 (75.8)	8 (100.0)	
CD44 (%)				<0.001
Negative	23 (34.8)	26 (78.8)	8 (100.0)	
Positive	43 (65.2)	7 (21.2)	0 (0.0)	

PTEN: phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10.

현이 생화학적 재발까지의 시간을 예측하는 유의한 인자들이었다 (각각, $p=0.025$, 0.016 , and <0.001) (Table 3).

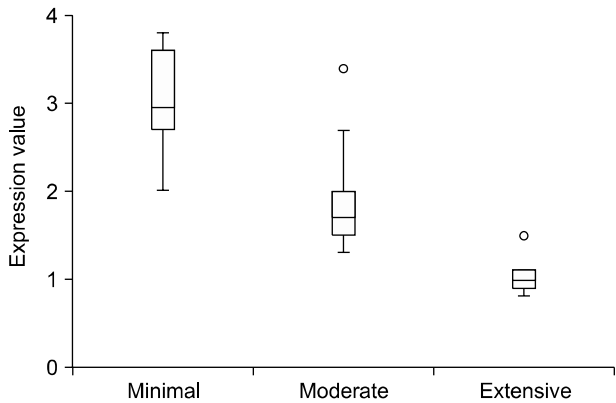


Fig. 2. mRNA expression of CD44 according to the pathological regression effects after androgen deprivation therapy (ADT).

고찰

내과적 혹은 외과적 거세에도 불구하고, 전립선암 세포가 거세불응성으로 진행되는 기전은 아직 밝혀지지 않은 채로 남아 있다. 선행 치료에 의해 유도되는 분자학적 변화에 대한 지식은 이후 이루어지는 치료의 선택 및 성공률을 예측하는데 도움이 되고, 이러한 분자학적 및 병리적인 변수들의 변화들을 고려하여, 향후 치료법을 결정할 수 있기 때문에, 저자들은 기존의 연구에서 술 전 남성호르몬 억제요법 후 근치적 전립선적출술을 시행받은 조직표본에서 PTEN, HER-2, 및 신경내분비분화의 발현을 분석하여, PTEN 불활성화 및 신경내분비분화는 남성호르몬 억제요법에 대한 불응성과 연관된다는 것을 보고하였다.¹³ 저자들은 PTEN 불활성화에 의해 유도되는 PI3K/Akt 경로의 활성화가 신경내분비분화를 유도하고, 이는 남성호르몬 억제요법에 대해 경도 퇴행효과를 나타낸다는 이론을 제시하였다.

전립선암 줄기세포는 남성호르몬 수용체 음성이고, 비의존적이기 때문에 이러한 전립선암 줄기세포에 의해 거세불응성 상태로 진행한다는 많은 증거들이 제시되고 있다.⁹⁻¹¹ 추정적 줄기세포 표지자인 CD44는 여러 종류의 종양들에서 발현되는 세포 표면 단백질로 종양의 종류에 따라 CD44의 기능적 효과들은 다양하게 나타난다.¹⁸ 전립선암의 신경내분비 세포들에서 CD44가 선택적으로 발현된다고 보고되었으나,¹¹ 남성호르몬 억제요법후의 병리적 퇴행효과 및 CD44발현에 대한 연구는 현재까지 거의 이루어지지 않아, 저자들은 술 전 남성호르몬 억제요법 후 근치적 전립선적출술 표본에서 발생하는 병리적 퇴행 변화 및 PTEN, CD44 발현을 비교 분석하였다. 남성호르몬 억제요법 후 경도 퇴행효과를 나타내는 전립선암 조직일수록 진행된 병리적 병기 및 PTEN 불활성화와 높은 CD44 발현을 나타내었고, 높

Table 3. Multivariate cox regression analysis evaluating predictors of time to biochemical failure after RP in patients who had neoadjuvant ADT

Variable	p-value	Hazards ratio	95% CI
SV invasion	0.025	2.652	1.525-6.612
Biopsy Gleason score			
≤ 6	0.016	Reference	Reference
7	0.943	1.064	0.354-2.823
≥ 8	0.051	2.652	1.216-7.458
Log PSA	0.082	1.785	0.798-4.312
LN invasion	0.836	1.126	0.431-2.474
CD44	< 0.001	3.495	2.102-6.645

ADT: androgen deprivation therapy, LN: lymph node, PSA: prostate-specific antigen, RP: radical prostatectomy, SV: seminal vesicle.

은 CD44 발현을 나타내는 환자일수록 빠른 생화학적 재발을 나타내었다. 또한 PTEN 불활성화군은 그렇지 않은 군에 비해 CD44양성일 가능성이 유의하게 높은 것으로 나타났다.

기존의 연구들에서 PTEN 불활성화는 PI3K/Akt 경로의 활성화를 조절할 수 있다고 보고되었고,⁶ 전립선암에서 PTEN 소실에 의한 PI3K/Akt 경로의 기본적인 활성화는 흔히 관찰되는 현상이다.⁷ 또한, 이번 연구에서 PTEN 불활성화군은 그렇지 않은 군에 비해 줄기세포 표지자인 CD44 양성의 가능성이 유의하게 높은 것으로 나타나, 이러한 결과는 PTEN/PI3K/Akt 경로가 전립선암 줄기세포 유지에 필요하고, 이러한 PI3K 경로를 차단하는 것이 전립선암 줄기세포를 제거함으로써 전립선암 치료에 효과적일 것이라는 주장을 지지한다.^{19,20}

그러나 CD44의 주요한 형태인 hematopoietic or standard (CD44s) form은 대장암과 같은 경우에는 증가하고, 공격적인 특성을 나타내나,²¹ 전립선암은 CD44의 발현감소 및 dysregulated splicing이 이상 (aberrant) variant isoforms의 증가를 나타낸다.¹⁸ 따라서 저자들은 남성호르몬 억제요법에 대한 불응성은 PTEN 불활성화에 의해 활성화되는 PI3K/Akt 경로의 downstream effectors와 CD44 variant isoforms간의 상호작용에 의해 발생할 것이라고 가설을 제시하였다.

PI3K/Akt 경로가 악성 변성 및 세포 증식에 중요하다는 발견 이후, 이러한 경로를 차단하기 위한 많은 연구가 이루어졌다.²² 이번 연구에서 저자들은 남성호르몬 억제요법에 대한 불응성은 PTEN 불활성화에 의해 활성화되는 PI3K/Akt 경로의 downstream effectors와 CD44 variant isoforms간의 상호작용에 의해 발생할 것이라고 가설을 제시하였다. 따라

서 활성화된 PI3K/Akt 경로의 downstream effectors와 연관되는 특정 CD44 variant isoforms를 규명하려는 향후 연구가 요구되며, 이러한 특정 CD44 variant isoforms 자체 및 그에 대한 리간드를 차단하려는 노력이 기존의 PI3K 경로를 차단하려는 노력 이외에 거세불응성 전립선암 환자 치료에 새로운 치료법일 될 수 있을 것으로 예상된다.

결 론

남성호르몬 억제요법에 대해 경도 퇴행을 나타내는 환자들은 진행된 병리적 병기 및 PTEN 불활성화와 높은 CD44 발현을 나타냈고, PTEN 불활성화군은 유의하게 CD44 양성의 가능성이 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 PTEN/PI3K/Akt 경로가 전립선암 줄기세포 유지에 필요하다는 주장을 지지한다.

REFERENCES

- Lee JT, Steelman LS, McCubrey JA. Phosphatidylinositol 3'-kinase activation leads to multidrug resistance protein-1 expression and subsequent chemoresistance in advanced prostate cancer cells. *Cancer Res* 2004;64:8397-404
- Chen ML, Xu PZ, Peng XD, Chen WS, Guzman G, Yang X, et al. The deficiency of Akt1 is sufficient to suppress tumor development in Pten mice. *Genes Dev* 2006;20:1569-74
- Vashchenko N, Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostate cancer: implications for new treatment modalities. *Eur Urol* 2005;47:147-55
- Evangelou AI, Winter SF, Huss WJ, Bok RA, Greenberg NM. Steroid hormones, polypeptide growth factors, hormone refractory prostate cancer, and the neuroendocrine phenotype. *J Cell Biochem* 2004;91:671-83
- Bertram J, Peacock JW, Fazli L, Mui AL, Chung SW, Cox ME, et al. Loss of PTEN is associated with progression to androgen independence. *Prostate* 2006;66:895-902
- Wu X, Senechal K, Neshat MS, Whang YE, Sawyers CL. The PTEN/MMAC1 tumor suppressor phosphatase functions as a negative regulator of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15587-91
- Moscattello DK, Holgado-Madruga M, Emler DR, Montgomery RB, Wong AJ. Constitutive activation of phosphatidylinositol 3-kinase by a naturally occurring mutant epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 1998;273:200-6
- Wu C, Huang J. Phosphatidylinositol 3-kinase-AKT-mammalian target of rapamycin pathway is essential for neuroendocrine differentiation of prostate cancer. *J Biol Chem* 2007;282:3571-83
- Nikitin AY, Matoso A, Roy Burman P. Prostate stem cells and cancer. *Histol Histopathol* 2007 2007;22:1043-9
- Tang DG, Patrawala L, Calhoun T, Bhatia B, Choy G, Schneider Broussard R, et al. Prostate cancer stem/progenitor cells: identification, characterization, and implications. *Mol Carcinog* 2007;46:1-14
- Palapattu GS, Wu C, Silvers CR, Martin HB, Williams K, Salamone L, et al. Selective expression of CD44, a putative prostate cancer stem cell marker, in neuroendocrine tumor cells of human prostate cancer. *Prostate* 2009;69:787-98
- Patrawala L, Calhoun T, Schneider Broussard R, Li H, Bhatia B, Tang S, et al. Highly purified CD44+ prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene* 2006;25:1696-708
- Ham WS, Cho NH, Kim WT, Ju HJ, Lee JS, Choi YD. Pathological effects of prostate cancer correlate with neuroendocrine differentiation and PTEN expression after bicalutamide monotherapy. *J Urol* 2009;182:1378-84
- Helpap B. Treated prostatic carcinoma. Histological, immunohistochemical and cell kinetic studies. *Appl Pathol* 1985;3:230-41
- Huang J, Yao JL, Zhang L, Bourne PA, Quinn AM, di Sant'Agnese PA, et al. Differential expression of interleukin-8 and its receptors in the neuroendocrine and non-neuroendocrine compartments of prostate cancer. *Am J Pathol* 2005;166:1807-15
- Festuccia C, Gravina GL, Muzi P, Pomante R, Ventura L, Vessella RL, et al. Bicalutamide increases phospho-Akt levels through Her2 in patients with prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2007;14:601-11
- Nakano I, Paucar A, Bajpai R, Dougherty JD, Zewail A, Kelly TK, et al. Maternal embryonic leucine zipper kinase (MELK) regulates multipotent neural progenitor proliferation. *J Cell Biol* 2005;170:413-27
- Iczkowski KA. Cell adhesion molecule CD44: its functional roles in prostate cancer. *Am J Transl Res* 2010;3:1-7
- Dubrovskaya A, Kim S, Salamone RJ, Walker JR, Maira S, Garca-Echeverra C, et al. The role of PTEN/Akt/PI3K signaling in the maintenance and viability of prostate cancer stem-like cell populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:268-73
- Wang S, Garcia AJ, Wu M, Lawson DA, Witte ON, Wu H. Pten deletion leads to the expansion of a prostatic stem/progenitor cell subpopulation and tumor initiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:1480-5
- Harada N, Mizoi T, Kinouchi M, Hoshi K, Ishii S, Shiiba K, et al. Introduction of antisense CD44S cDNA down-regulates expression of overall CD44 isoforms and inhibits tumor growth and metastasis in highly metastatic colon carcinoma cells. *Int J Cancer* 2001;91:67-75
- Majumder PK, Sellers WR. Akt-regulated pathways in prostate cancer. *Oncogene* 2005;24:7465-74