

**EKSPRESI PHOSPHATASE REGENERATING LIVER-3 DAN E-CADHERIN PADA
KANKER SERVIKS STADIUM AWAL DAN LANJUT LOKOREGIONAL**

Sharvianty Arifuddin¹, Brahmana Askandar², Upik Anderiani Miskad³

¹Divisi Onkologi Ginekologi, Departemen Obstetridan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin,
Makassar

²Divisi Onkologi Ginekologi, Departemen Obstetridan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

ABSTRACT

Purpose: To investigate the relationship between the expression of PRL-3 and E-cadherin to the stages, histopathological types and tumor grades of cervical cancer. **Material and Methods:** Analytic study with cross-sectional approach in several hospitals at the Department of Obstetrics and Gynecology, Makassar from January to June 2011. Expression of PRL-3 and E-cadherin was detected by immunohistochemistry in 16 early-stage and 15 locally advanced stage of cervical cancer cases. The relationship between the expression of PRL-3 and E-cadherin to several clinicopathologic factors were analyzed. **Result:** PRL-3 expression was not significantly different between early stage and locally advanced stage, histopathological types and tumor grades ($p>0.05$). E-Cadherin expression also showed no significant difference between stages, types and grades ($p>0.05$). There were no significant correlations between the expression of PRL-3 and E-Cadherin. **Conclusion:** There was no relation between PRL-3 and E-cadherin expression to the stages, histopathological types and tumor grades of cervical cancer.

Keywords: Early-stage cervical cancer, locally advanced stage cervical cancer, adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, tumor grade, PRL-3, E-cadherin.

ABSTRAK

Tujuan: Untuk menyelidiki hubungan antara ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin dengan stadium, jenis histopatologi dan derajat differensiasi kanker serviks. **Metode:** Penelitian ini merupakan studi analitik dengan

pendekatan potong lintang di beberapa rumah sakit pendidikan Bagian Obstetri dan Ginekologi, Makassar mulai bulan Januari hingga Juni 2011. Ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin diperiksa dengan pengecatan immunohistokimia pada 16 kanker serviks stadium awal dan 15 stadium lanjut lokoregional. **Hasil:** Ekspresi PRL-3 tidak berbeda bermakna antara kanker serviks stadium awal dengan stadium lanjut lokoregional, antara berbagai jenis histopatologik dan derajat differensiasi ($p>0,05$). Ekspresi E-Cadherin juga menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara berbagai stadium, jenis histopatologi dan derajat differensiasi ($p>0,05$). Tidak didapatkan korelasi bermakna antara ekspresi PRL-3 dengan E-Cadherin pada penelitian ini. **Kesimpulan:** Tidak ada hubungan antara ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin dengan stadium, jenis histopatologi dan derajat differensiasi kanker serviks.

Kata Kunci: Kanker serviks stadium awal, kanker serviks stadium lanjutlokoregional, adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, derajat differensiasi, PRL-3, E-Cadherin.

PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan kanker pada traktus genitalia perempuan yang tersering dan merupakan penyebab kematian akibat kanker tertinggi pada populasi perempuan di seluruh dunia.¹ Berdasarkan laporan *World Health Organization (WHO)*, pada tahun 2005, terdapat lebih dari 500.000 kasus kanker serviks baru dan lebih 90% diantaranya ditemukan di negara-negara berkembang.² Amiruddin, dkk melaporkan 234 kasus baru kanker serviks (50,9%) dari 460 kasus baru kanker ginekologi yang ditemukan dari periode Mei 1999 hingga November 2001 di beberapa rumah sakit di Makassar dan sebagian besar datang pada stadium lanjut.³

Kanker serviks umumnya merupakan penyakit lokoregional. Penyebaran ke kelenjar limfe cenderung terjadi secara berurutan yang pertama melibatkan kelenjar limfe, parametrium, obturator, parailiaka interna, eksterna dan komunis sebelum akhirnya menyebar ke kelenjar limfe paraaorta. Penyebaran ke paraaorta biasanya berhubungan dengan kegagalan terapi tumor pelvik.⁴

Kanker serviks stadium awal memiliki angka kesembuhan yang tinggi, tetapi pada kasus-kasus yang sudah metastasis, pilihan terapi sudah terbatas dan memiliki prognosis yang jelek. Akan tetapi, perubahan molekular spesifik pada kanker serviks yang memacu progressifitas dan metastasis belum diketahui secara luas.¹

Phosphatase Regenerating Liver-3 (PRL-3) pertama kali dihubungkan dengan metastasis pada kanker kolon. Ekspresi *messenger Ribonucleic Acid (mRNA)* PRL-3 meningkat secara konsisten pada seluruh kanker kolorektal metastasis yang diteliti. PRL-3 banyak mendapat perhatian karena diduga sebagai faktor prognostik dan target terapi pada tumor metastatik.⁵ Akhir-akhir ini, PRL-3 dilaporkan memiliki peranan dalam invasi dan metastasis beberapa kanker seperti kanker kolorektal,⁶ lambung,⁷ ovarium,^{8,9,10,11} payudara,¹² serviks¹ dan myeloma multipel.¹³

Ma Y,dkk melaporkan ekspresi PRL-3 pada karsinoma sel skuamosa serviks stadium awal lebih tinggi dibanding pada *Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)* II-III, dan ekspresi pada CIN II-III lebih tinggi dibanding pada serviks normal.¹

PRL-3 juga dapat menginisiasi angiogenesis untuk memfasilitasi metastasis sel kanker dengan merekrut sel-sel endotel yang ditunjukkan baik pada penelitian *in vitro* maupun *in vivo*.¹⁴ Akhir-akhir ini penelitian menunjukkan bahwa PRL-3 memacu *Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT)*. EMT, ditunjukkan dengan hilangnya adhesi sel, ekspresi E-Cadherin (molekul kunci dalam adhesi sel-sel epitel) menurun dan peningkatan mobilitas sel yang merupakan langkah kunci terjadinya metastasis. Liu Y, dkk pertama kali menemukan bahwa PRL-3 memicu EMT pada sel kanker kolorektal model SW480 baik *in vitro* maupun *in vivo*. Untuk mengidentifikasi efek langsung PRL-3 terhadap sel SW480, Liu Y, dkk mengisolasi dan mengidentifikasi CDH22, salah satu anggota famili Cadherin, dan menemukan bahwa PRL-3 memicu *downregulation* CDH22 dan E-Cadherin.⁵

Hingga saat ini, belum ada data mengenai ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin pada kanker serviks stadium lanjut. Berdasarkan hal tersebut di atas, akan dilakukan penelitian untuk melihat ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin pada berbagai stadium kanker serviks yang akan dihubungkan dengan parameter klinik dan patologi dari tumor.

METODE PENELITIAN

Sampel

Pada penelitian ini, sampel jaringan serviks diperoleh dari 16 penderita kanker serviks stadium awal (stadium IA – IIA) dan 15 stadium lanjut lokoregional (stadium IIB – IVA). Seluruh penderita didiagnosa antara bulan Januari hingga Juni 2011 di beberapa Rumah Sakit Pendidikan di Makassar. dengan kriteria inklusi: histopatologi anatomi positif kanker serviks, belum pernah mendapatkan kemoterapi maupun

radioterapi, tidak sedang menderita keganasan lain seperti kanker kolon, hati, lambung, dan payudara serta bersedia menjadi subyek penelitian.

Pemeriksaan Immunohistokimia

PRL-3

Pewarnaan immunohistokimia dilakukan dengan menggunakan metode streptavidin-biotin-peroksidase yang dilabel dengan streptavidin biotin (Dako, Carpinteria, USA). Sebelum proses pewarnaan, setiap sediaan preparat dideparafinisasi dengan xylene selama 15 menit dan direhidrasi dengan alkohol 100% dan alkohol yang konsentrasinya diencerkan menjadi 90%, 80%, 70% dan 60% selama masing-masing 10 menit. Sediaan kemudian dicuci dengan dH₂O sebanyak 2 kali selama 5 menit dan diinkubasi dengan larutan PBS selama 5 menit. Selanjutnya, sediaan preparat diletakkan ke dalam *glass box* yang berisi citrate buffer kemudian dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit untuk dioptimalkan antigenicity-nya. Sediaan didinginkan pada suhu ruangan selama 1 jam, dan setelah dikeringkan sebentar, jaringan diberi batas dengan menggunakan pap pen. Sediaan dicuci dengan dH₂O selama 5 menit dan PBS selama 5 menit sebelum diinkubasi dengan hydrogen peroksidase 0,3% selama 15 menit. Setelah endogenous peroksidasinya diblok, sediaan diinkubasi dengan *blocking solution* selama 30 menit untuk memblok avidin yang terdapat pada jaringan. Kemudian, sediaan diinkubasi overnight pada suhu -4°C dengan primer PRL-3 antibody (Attogen) yang diencerkan 1:100. Sediaan dicuci lagi sebanyak 3 kali dengan dH₂O sebelum diinkubasi dengan secondary antibody dan streptavidin selama masing-masing 30 menit. Untuk pewarnaan digunakan 3,3 diamino benzidine tetrahydrochloride kurang lebih 10 menit sampai didapatkan reaksi pewarnaan yang dapat dideteksi dengan pemeriksaan mikroskopis. Setelah itu diwarnai lagi dengan hematoksilin untuk memperjelas inti sel selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Sediaan didehidrasi dengan menggunakan alkohol yang konsentrasinya dinaikkan secara bertahap dari 70%, 80%, 90% sampai 100% selama masing-masing 2 menit. Setelah itu sediaan dicelupkan ke dalam xylene selama 5 menit. Terakhir, sediaan diberi malinol sebelum ditutup dengan kaca penutup.

E-Cadherin

Sebelum dilakukan pembuatan imunohistokimia, terlebih dahulu dilakukan deparafinisasi jaringan dengan melakukan inkubasi ke dalam larutan berturut-turut: xylene 3 x 15 menit, etanol 100% 3 x 5 menit, etanol 90% 5 menit, etanol 80% 5 menit, akuades 5 menit, *Antigen Retrieval masking* (Novocastral®) 100°C

15 menit, 1 x PBS (Sigma®) 2 x 5 menit, H2O2 3% dalam methanol 10 menit, dan 1 x PBS (Sigma®) 2 x 5 menit. Jaringan kemudian diinkubasi dalam blocking solution serum (Novocastral® Prediluted normal horse serum) selama 10 menit, lalu diinkubasi dengan antibody primer (Novocastral® Mouse monoclonal antibody) selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan 1 x PBS (Sigma®) 2 x 5 menit. Kemudian, jaringan diinkubasi dengan *link antibody* (antibody sekunder yang dilabel dengan biotin) (Novocastral® Biotinylated Universal secondary antibody p53) selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci lagi dengan 1 x PBS (Sigma®)

Jaringan kemudian diinkubasi dengan Streptavidin (Novocastral®) selama 10 menit pada suhu kamar kemudian dicuci dengan 1 x PBS (Sigma®). Untuk pewarnaan, jaringan diinkubasi dengan DAB/AEC kromogen (Novocastral®) yang dilarutkan dalam H2O2 3% selama 25 menit. Setelah preparat dicuci dengan akuades mengalir selama 2 -3 menit, dilakukan *counter staining* (mewarnai sel negatif). Jaringan diinkubasi dengan larutan Meyer Hematoxylin selama 2-5 menit pada suhu kamar. Setelah dibilas dengan akuades mengalir, dilakukan dehidrasi dengan memakai alkohol bertingkat (70%,80%,90%) masing-masing 1 menit dan dijernihkan dengan xylene 2 menit. Jaringan kemudian ditetesi malinol lalu ditutup dengan kaca penutup.

Interpretasi hasil imunohistokimia

Derajat ekspresi pewarnaan PRL-3 dan E-Cadherin dilihat dari persentase kelompok sel yang terwarna dan intensitas pewarnaan. Persentase didapatkan dari hasil penjumlahan sel yang positif pada seluruh lapangan pandang sediaan tumor yang diperiksa dengan memakai mikroskop cahaya. Saat ini tidak terdapat sistem *scoring* yang baku, namun berdasarkan berbagai referensi, sistem *scoring* yang lazim digunakan adalah sebagai berikut: - (skor 0) bila sel positif <5%; positif 1 (skor 1) bila sel positif berjumlah 5-25%; positif 2 (skor 2) bila sel positif 26-75%; dan positif 3 (skor 3) bila sel positif >75%.¹

Analisis Data

Uji statistik untuk menganalisa hubungan antara ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin dengan stadium kanker serviks serta beberapa faktor klinikopatologik adalah uji Kruskal Wallis atau Wilcoxon - Mann Whitney.

Uji statistik untuk menganalisa korelasi antara ekspresi PRL-3 dengan E-Cadherin pada kanker serviks adalah uji korelasi Spearman.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara *cross-sectional* analitik pada 31 sampel yaitu 16 sampel kanker serviks stadium awal dan 15 sampel kanker serviks *locally advanced*. Subyek penelitian ini diambil dari bulan Januari hingga Juni 2011 dengan mengambil jaringan biopsi serviks uteri. Pemeriksaan dilakukan di bagian Patologi Anatomi untuk menilai jenis histopatologi, derajat differensiasi serta level ekspresi PRL-3 dan E-Cadherin dengan menggunakan metode immunohistokimia.

Karakteristik Sampel

Tabel 1 menyajikan profil klinikopatologik penderita. Karakteristik yang dievaluasi adalah umur, stadium, jenis histopatologi dan derajat differensiasi kanker serviks.

Sampel penelitian sebanyak 31 orang dengan data rerata umur penderita 48,23 tahun ($SD \pm 9,99$), umur termuda 25 tahun dan tertua 68 tahun, paling banyak ditemukan pada umur lebih dari 51 tahun yaitu 11/31 (35,45%). Pada penelitian didapatkan penderita kanker serviks stadium awal sebanyak 16/31 (51,61%) dan stadium lanjut lokoregional sebanyak 15/31 (48,39%). Berdasarkan jenis histopatologi, terbanyak adalah jenis karsinoma sel skuamosa yaitu 24/31 (77,42%). Derajat differensiasi sedang dan buruk dijumpai pada penderita dengan jumlah yang sama yaitu masing-masing 14/31 (45,16%).

Penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara ekspresi PRL-3 pada kanker serviks stadium awal dibanding stadium lanjut lokoregional, antara karsinoma sel skuamosa dengan adenokarsinoma dan antara berbagai derajat differensiasi (Tabel 2).

Penelitian ini juga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara ekspresi E-Cadherin pada kanker serviks stadium awal dibanding stadium lanjut lokoregional, antara karsinoma sel skuamosa dengan adenokarsinoma dan antara berbagai derajat differensiasi (Tabel 3).

DISKUSI

Meluasnya perhatian terhadap PRL-3 dan perannya dalam kanker dan metastasis dipicu oleh penemuan dari laboratorium Vogelstein yang menunjukkan bahwa ekspresi PRL-3 meningkat secara dramatis pada kanker kolorektal (CRC) metastatik. Dengan menggunakan *SAGE, library-based gene expression profiling*, Saha dkk. mengungkapkan bahwa, PRL-3 adalah satu-satunya gen yang meningkat secara konsisten pada semua sampel metastasis.¹⁵ Selain pada sel metastasis hati, peningkatan ekspresi PRL-3 juga didapatkan pada lesi metastasis CRC lainnya seperti paru, otak, ovarium, peritoneum dan kelenjar

limfe.^{16,17,18,19} Selain pada kanker kolorektal, ekspresi PRL-3 sudah diteliti pada kanker payudara, lambung, hati, ovarium,²⁰ paru,²¹ dan serviks.1 Ma dkk.1 meneliti ekspresi PRL-3 pada kanker serviks stadium awal dan menemukan bahwa ekspresi PRL-3 lebih tinggi secara bermakna pada kanker serviks dibanding pada displasia sedang-berat (CIN II-III), dan ekspresi PRL-3 pada CIN II-III lebih tinggi dibanding pada serviks normal. Pada penelitian tersebut didapatkan 28 kasus dengan metastasis pada kelenjar limfe dan ekspresi PRL-3 lebih tinggi pada tumor dengan metastasis kelenjar limfe dibanding pada yang tidak metastasis. Selanjutnya, ekspresi PRL-3 pada lesi metastasis kelenjar limfe lebih tinggi dibanding pada tumor primer.

Pada penelitian ini, kami dapatkan peningkatan ekspresi PRL-3 baik pada kanker serviks stadium awal maupun stadium *locally advanced*, akan tetapi tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kedua kelompok tersebut. Berbeda dengan kanker ovarium dimana ekspresi PRL-3 berhubungan dengan progressifitas penyakit, ditunjukkan dengan semakin meningkatnya ekspresi PRL-3 pada stadium lanjut (stadium III) dibanding pada stadium dini (stadium I).⁸ Hal ini dapat menjelaskan perilaku kanker serviks yang cenderung lokoregional. Hasil temuan ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan fundamental yang mungkin terjadi dalam regulasi ekspresi PRL-3 pada kanker serviks, khususnya stadium *locally advanced*.

Pada penelitian ini, ekspresi PRL-3 juga tidak berbeda secara bermakna antara sel tumor differensiasi baik, sedang dan jelek. Hasil yang sama didapatkan pada penelitian oleh Ma dkk. pada kanker serviks stadium dini.1 Demikian pula dengan jenis histopatologi, dimana tidak ada perbedaan bermakna antara jenis karsinoma sel skuamosa dengan adenokarsinoma. Hal yang sama dilaporkan oleh Polato dkk. pada kanker ovarium, dimana ekspresi PRL-3 tidak berbeda secara bermakna antara jenis histopatologi *serous*, *mucinous*, *clear cells*, *endometrioid* dan *undifferentiated* ovarium.⁸

Penelitian yang dilakukan oleh Yamashita dkk. juga menunjukkan hasil yang berbeda dibanding penelitian-penelitian pada kanker lainnya, dimana ekspresi PRL-3 menurun pada lesi metastasis paru dibanding jaringan normal.²¹ Sehingga masih perlu dilakukan penelitian lanjut untuk menentukan peran ekspresi gen PRL-3 pada kanker serviks dan paru, dalam jumlah sampel yang lebih besar.

PRL-3, selain berperan dalam progressifitas dan metastasis kanker, juga dapat memicu terjadinya transisi epitel mesenkim (*EMT*) dengan menekan (*downregulating*) ekspresi E-Cadherin, baik *in vivo* maupun *in vitro*.⁵ Pada penelitian ini, kami menilai ekspresi E-Cadherin pada berbagai stadium kanker serviks melalui pemeriksaan immunohistokimia. Data dari penelitian ini menunjukkan adanya kecenderungan penurunan ekspresi E-Cadherin pada stadium *locally advanced*, akan tetapi analisa statistik menunjukkan bahwa tidak

terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi E-Cadherin pada stadium awal dibanding *locally advanced*. Hal ini mungkin saja disebabkan oleh jumlah sampel yang kecil.

Goyal dkk., melaporkan hal yang sama dimana tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi E-Cadherin pada berbagai stadium TNM dari kanker payudara.²²

Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa ekspresi E-Cadherin pada karsinoma sel skuamosa tidak berbeda secara bermakna dibanding adenokarsinoma. Selanjutnya, ekspresi E-Cadherin tidak berbeda secara bermakna diantara berbagai derajat differensiasi. Hal yang sama dilaporkan pada kanker payudara oleh Goyal, dkk. dimana ekspresi E-Cadherin tidak berhubungan dengan derajat differensiasi.²²

Penelitian ini juga menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi PRL-3 dengan E-Cadherin. Hal ini dapat dijelaskan karena ekspresi PRL-3 tidak mengalami peningkatan secara bermakna pada berbagai stadium sehingga tidak berhubungan dengan ekspresi E-Cadherin pada kanker serviks. Pada penelitian ini, ekspresi E-Cadherin cenderung menurun pada stadium lanjut, akan tetapi tidak bermakna secara statistik yang mungkin disebabkan oleh jumlah sampel yang kecil. Ekspresi E-Cadherin sendiri, selain dipengaruhi oleh PRL-3, juga diatur oleh berbagai jalur sinyal yang tidak diteliti pada penelitian ini. Oleh karena itu, masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme biomolekuler dalam mempelajari perilaku kanker serviks, khususnya untuk mempelajari mekanisme regulasi gen PRL-3 dan E-Cadherin pada kanker serviks.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ma Y, Li B. Expression of Phosphatase of Regenerating Liver-3 in Squamous Cell Carcinoma of the Cervix. *Med Oncol* 2010;DOI 10.1007/s12032-010-9514-3.
2. World Health Organization. *Comprehensive Cervical Cancer Control: a Guide to Essential Practice*. Switzerland: WHO; 2006.p.16-23.
3. Amiruddin, Rauf S, Rimba P, Djuanna A. Karakteristik Kanker Ginekologi Beberapa Rumah Sakit di Makassar Periode Mei 1999 – November 2001. Dalam: *Kumpulan Makalah Lengkap Pertemuan Ilmiah Tahunan XIII Malang Tanggal 1-4 Juli 2002*. Makassar: Bagian Obstetri dan Ginekologi FKUH, 2002.
4. Adams M, Jasani B. Cancer Metastasis: Biological and Clinical Aspects, *Gynaecological Cancer*. In: Jiang WG, Mansel RE, editors. *Cancer Metastasis, Molecular and Cellular Mechanisms and Clinical Intervention*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2004.p.381-420.

5. Liu Y, Zhou J, Chen J, Gao W, Le Y, Ding Y, et al. PRL-3 Promotes Epithelial Mesenchymal Transition by Regulating Cadherin Directly. *Cancer Biol and Therapy* 2009;8(14):1352-59.
6. Mollevi' DG, Aytes A, Padulle's L, Martı́nez-Iniesta M, Baixeras N, Salazar R, et al. PRL-3 is essentially overexpressed in primary colorectal tumours and associates with tumour aggressiveness. *Br J Cancer* 2008;99:1718–25.
7. Miskad UA, Semba S, Kato H, Yokozaki H. Expression of PRL-3 Phosphatase in Human Gastric Carcinomas: Close Correlation with Invasion and Metastasis. *Pathobiology* 2004;71:176–84.
8. Polato F, Codegoni A, Fruscio R, Perego P, Mangioni C, Saha S, et al. PRL-3 phosphatase is implicated in ovarian cancer growth. *Clin Cancer Res* 2005;11:6835–9.
9. Hayat MA. Ovarian Carcinoma: an Introduction. In: *Handbook of Immunohistochemistry and Insitu Hybridization of Human Carcinoma*. New Jersey: Elsevier; 2006. p. 285-300.
10. Saggara R, Andrade L, Martinez. P53 dan bcl-2 as Prognostic Predictorsin Epithelial Ovarian Cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12:720-27.
11. Russell PA, Pharoah P, Foy KD. Frequent Loss of BRCA1 mRNA and Protein Expression in Sporadic Ovarian Cancers. *Int J Cancer* 2000;87:317-21.
12. Radke I, Go'tte M, Kersting C, Mattsson B, Kiesel L, Wu'lfing P. Expression and prognostic impact of the protein tyrosine phosphatases PRL-1, PRL-2, and PRL-3 in breast cancer. *Br J Cancer* 2006;95:347–54.
13. Fagerli UM, Holt RU, Holien T, Vaatsveen TK, Zhan F, Egeberg KW, et al. Overexpression and involvement in migration by the metastasis-associated phosphatase PRL-3 in human myeloma cells. *Blood* 2008;111:806–15.
14. Guo, K., Li, J., Wang, H., Osato, M., Tang, J.P., Quah, S.Y., Gan, B.Q., and Zeng, Q. PRL-3 initiates tumor angiogenesis by recruiting endothelial cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2006;66: 9625–9635.
15. Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, Velculescu VE, Rago C, Croix BS, et al. A Phosphatase Associated with Metastasis of Colorectal Cancer. *Science* 2001;294:1343-46.
16. Kato H, Semba S, Miskad UA, Seo Y, Kasuga M, Yokozaki H. High Expression of PRL-3 Promotes Cancer Cell Motility and Liver Metastasis in Human Colorectal Cancer: A Predictive Molecular Marker of Metachronous Liver and Lung Metastases. *Clin Cancer Res* 2004;10(21):7318-28.

17. Peng L, Xing X, Li W, Qu L, Meng L, Lian S, Jiang B, Wu J, Shou C. PRL-3 promotes the motility, invasion, and metastasis of LoVo colon cancer cells through PRL-3-integrin beta1-ERK1/2 and-MMP2 signaling. *Mol Cancer* 2009;8:110.
18. Wang Y, Li ZF, He J, Li YL, Zhu GB, Zhang LH, Li YL. Expression of the human phosphatases of regenerating liver (PRLs) in colonic adenocarcinoma and its correlation with lymph node metastasis. *Int J Colorectal Dis* 2007;22:1179-84.
19. Bardelli A, Saha S, Sager JA, Romans KE, Xin B, Markowitz SD, et al. PRL-3 expression in metastatic cancers. *Clinical Cancer Research* 2003;9:5607–15.
20. Bessette DC, Qiu D, Pallen CJ. PRL PTPs: mediators and markers of cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2008;27:231-52.
21. Yamashita S, Masuda Y, Matsumoto K, Okumura Y, Matsuzaki H, Kurizaki T, et al. Down-regulation of the human PRL-3 gene is associated with the metastasis of primary non-small cell lung cancer. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2007;13:236–9.
22. Goyal A, Martin TA, Mansel RE, Jiang WG. Real time PCR analyses of expression of E-Cadherin, alpha-, beta-, and gamma-catenin in human breast cancer for predicting clinical outcome. *World J Surg Oncol* 2008;6:56.