[UCI]I804:24011-200000263567

2013년 2월

박사학위 논문

갑상선 유두암종에서 RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 및 p53 발현의 의미

조선대학교 대학원

의 학 과

한 윤 주

갑상선 유두암종에서 RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 및 p53 발현의 의미

Significance of Expression of RKIP, CK19, HBME1, NDRG1, and p53 in Thyroid Papillary Carcinoma

2013년 2월 25일

조선대학교 대학원

의 학 과

한 윤 주

갑상선 유두암종에서 RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 및 p53 발현의 의미

지도교수 서 재 홍

이 논문을 의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2012년 10월

조선대학교 대학원

의 학 과

한 윤 주

한윤주의 박사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교 교 수	양 정 렬 (인)
위 원	조선대학교 교 수	김 철 성 (인)
위 원	조선대학교 교 수	문 경 래 (인)
위 원	조선대학교 교 수	임 성 철 (인)
위 원	조선대학교 교 수	이 미 자 (인)

2012년 12월

조선대학교 대학원

목 차

표 목 차 ····· ii

도 목 차 ····· iii

Abstract ····· 1

Ⅰ. 서론 ····· 3

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 5

Ⅲ. 결과 ····· 9

Ⅳ. 고찰 ····· 12

Ⅴ. 결론 ····· 18

참고문헌 ····· 19

표 목 차

Table 1. Correlation between RKIP expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas
Table 2. Correlation between CK19 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas
Table 3. Correlation between HBME1 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas
Table 4. Correlation between NDRG1 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas
Table 5. Correlation between p53 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas
Table 6. Correlation between RKIP and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas
Table 7. Correlation between RKIP and p53 expression in thyroid papillary carcinomas
Table 8. Correlation between NDRG1 and CK19 expression in thyroid papillary carcinomas
Table 9. Correlation between CK19 and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas
Table 10. Correlation between NDRG1 and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas
Table 11. Correlation between p53 and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas

도 목 차

Fig. 1. Immunohistochemical result for RKIP shows cytoplasmic expression in thyroid papillary carcinoma.

Fig. 2. Immunohistochemical result for CK19 shows cytoplasmic expression in thyroid papillary carcinoma.

Fig. 3. Immunohistochemical result for HBME1 shows membranous expression in thyroid papillary carcinoma.

Fig. 4. Immunohistochemical result for NDRG1 shows membranous expression in thyroid papillary carcinoma.

Fig. 5. Immunohistochemical result for p53 tumor shows nuclear expression in thyroid papillary carcinoma.

ABSTRACT

Significance of Expression of RKIP, CK19, HBME1, NDRG1, and p53 in Thyroid Papillary Carcinoma

Yun-Ju Han
Advisor : Prof. Chae-Hong Suh, M.D. Ph.D
Department of Medicine,
Graduate School of Chosun University

Background : Raf-1 kinase inhibitory protein (RKIP) plays a role to determine tumor metastasis and it has been known as a prognostic marker in tumors. Cytokeretin 19 (CK19) has been identified to be useful to diagnose thyroid papillary carcinoma. HBME1, a marker in mesothelial cells, is helpful for diagnosis of malignant tumors. NDRG1 which is a member of the N-myc downstream regulated gene family. p53 has been reported to relate the clinical status or prognosis. This study aims to examine the significance between the expression of RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 and p53 protein and clinicopathologic parameters in thyroid papillary carcinoma and analyze the correlation between RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 and p53 expression.

Material and Methods : This study performed the immunohistochemical staining for RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 and p53 protein in 165 cases of thyroid papillary carcinoma. And this study examined the significance

between expression of above antibodies and several clinicopathologic factors including age, sex, extra-thyroid extension, tumor size, lymph node metastasis, T stage, and multicentricity. Moreover, we analyzed the correlation between each expression of RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 and p53 in thyroid papillary carcinoma.

Result : In thyroid papillary carcinoma p53 expression was significantly associated with tumor multicentricity (p=0.026). RKIP expression showed the correlation with T stage (p=0.001). However, CK19, HBME1, and NDRG1 were not correlated with any other clinicopathologic parameters. Expression of RKIP showed the correlation between p53 protein (p=0.002) and HBME1 (p=0.043) respectively. And NDRG1 showed correlation with CK19 (p=0.017).

Conclusions : These results demonstrated that the correlation between RKIP expression and T stage which suggest that may play some role tumor progression. Multicentricity in thyroid papillary carcinoma may be significant with p53 expression.

Ⅰ. 서 론

매년 급속히 증가하고 있는 갑상선암은 2011년 발표한 한국 중앙 암 등록본부 자료에서 인구 10만명당 갑상선암 증가율은 1999년 (3,225건)에서 2009년 (31,774건)으로 급증했으며, 전체 발생한 암종 중 16.6%를 차지하여 가장 빈발하는 암으로 나타났다. 갑상선암의 연령대별 발생 빈도는 여성, 남성 구분 없이 젊은 층(15~34세)에서 높게 발생했다. 갑상선암의 성별 분포도에서는 여성에서 1위, 남성에서는 5위로 나타났고, 발생한 갑상선암의 조직학적 형태로는 갑상선 암 31,771건 중 유두암종 (95.1%), 여포암종 (1.5%), 기타 (4.6%)로 현재 진단되고 있는 갑상선암의 95%를 갑상선 유두암종이 차지하는 것으로 나타났다.[1] 갑상선 유두암종은 갑상선에서 가장 흔히 발생하는 악성 종양으로 느리게 자라고 예후가 좋으나 일부는 반복적으로 재발을 하며 사망에도 이른다.[2] 후향적인 연구에 의해 알려진 갑상선 유두암종의 임상병리학적 예후 인자로는 나이, 성별, 종양의 크기, 주변조직의 침습, 다발성 종양, 림프절 전이 및 병기 등급 등이 알려져 있다.[3,4]

갑상선 유두암종에서 RKIP는 MAPK (mitogen-activated protein kinase) 경로, GPCR (G protein-cupled receptor) 경로 및 NF-kB (nuclear factor-kappa B) 경로 등과 관련되어 세포의 성장, 분화, 소멸과 이동을 제어하는 몇몇 핵심 신호 형질 도입 경로의 조절자로 알려졌으며, RKIP는 종양의 전이를 결정하는 예후인자로서의 가능성이 있다.[5-7]

CK (cytokeratin)는 상피조직에서 발견되는 중간 미세섬유 단백질로 상피세포의 구조적 안정을 유지하는 역할을 한다. 20종의 CK가 있으며 분자량과 등전압, pH에 따라 Ⅰ형과 Ⅱ형으로 나눈다.[8] 중성 혹은 알칼리성인 Ⅰ형에는 CK1~8이 있고, 산성인 Ⅱ형에는 CK9~20이 속하며, 각 세포에는 Ⅰ,Ⅱ형이 짝을 이루고 있다. 정상세포들이 암으로 변화하더라도 고유의 특이성을 간직하기 때문에 조직의 종류에 따라 또는 세포의 분화 및 성장에 따라 발현되는 종류가 특이하며, 원발 병소의 진단과 분화 및 성장 정도의 척도로서 유용한 가치를 지닌다.[9-11] CK19는 중간 필라멘트 그룹에서 분자량이 작은 사이토케라틴으로 종양상피에서 발현된다. 갑상선 악성 결절들 중 유두암종에서 특이적으로 과발현되며, 갑상선 유두암종의 표지자로도 알려져 있다.[12]

HMBE1 (human bone marrow endothelial cell 1) 은 중피세포에 대한 단세포군

의 항체로 중피세포의 미세 융모 표면 단백질과 반응하는 것으로 알려져 왔으며, 다른 표지자들보다 여포성 상피로부터 발생하는 악성 종양을 위한 유용한 표지자로 보여져왔다.[12,13]

NDRG1 (N-myc downstream-regulated gene 1)은 NDRG 유전자군의 하나로, 394개의 아미노산 가운데 43-kD 단백은 NDRG1을 암호화한다. Drg1이나 Cap43로도 알려진 NDRG1은 중간 섬유 단백질로 상피세포의 분화, 세포 성장 억제, 말기세포 분화와 관련되어 배(胚)발생 동안 NDRG1 발현은 세포 증식단계에서 N-myc와 c-Myc에 의해 억제된다.[14] NDRG1은 소화관과 호흡계, 간, 췌장, 신장, 생식기관, 태반, 골격근, 심장과 뇌 같은 인간의 조직 어디에서나 발현되며, 세포 분화와 p53의 활성화, 방추체의 체크포인트, 세포사멸 저항, 전이 그리고 저산소증과 관련되어 있다. 암 세포는 새로운 환경에 자리 잡을 때까지 산소 공급과 영양의 손실을 입는다. 따라서 저산소증에 의해 유도되는 유전자들은 암 세포 성장과 침습, 전이의 원인이 될 수 있다. 저산소증 관련 유전자인 NDRG1은 저산소증에서 수용체가 증가되므로 이것은 보통 악성과 전이 진행에서 중요한 역할을 한다. 또한 NDRG1의 발현의 증가는 분화가 나쁘고 전이가 된 악성 종양 및 나쁜 예후와 연관된다고 한다.[14]

p53은 세포주기의 조절, DNA수복, 세포사멸 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 갑상선 유두암종에서 면역조직화학염색에 의한 p53의 발현이 관찰되며 임상양상이나 예후와도 연관되어 있다는 보고가 있다.[15-18]

본 연구에서는 갑상선 유두암종에서 면역조직화학적 방법으로 RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 및 p53 단백의 발현양상을 알아보고, 이들의 발현양상과 여러 임상병리학적 인자들과의 상관성에 대해 알아보고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 증례선정

본 연구는 2009년 1월에서 2010년 12월까지 조선대학교 병원에서 갑상선암으로 외과적 절제술을 시행한 환자 중 갑상선 유두암종으로 진단 후 조직보관 상태가 양호한 165명의 병리조직을 대상으로 시행하였다. 진단 당시 나이는 23~81세였고 성별은 여자 136명, 남자 29명이었다.

2. 조직 병리학적 분석

1) 광학 현미경적 검사

환자의 임상기록과 병리조직 슬라이드 파일을 후향적으로 분석하여 각 종양을 재검토하고 나이, 성별, 종양의 크기 및 종양의 침습 깊이, 림프절 전이 여부를 확인하였다. 관찰 대상이 된 조직들은 10% 중성 포르말린으로 고정 후 제작한 파라핀 포매 조직을 4-5㎛ 두께로 박절하여 H&E 염색을 실시한 뒤 광학현미경으로 검경하여 연구 목적에 부합되는 면역조직학적 검사를 위한 슬라이드를 제작하였다.

American Joint committee on Cancer의 TNM staging system에 따라 T 병기를 정하였다.

T1: 종양의 크기가 2cm 미만이면서 갑상선에 국한된 경우

T2: 종양의 크기가 2-4cm이면서 갑상선에 국한된 경우

T3: 종양의 크기가 4cm 이상이면서 갑상선에 국한되었거나 크기에 관계없이 갑상선 밖으로 최소 침윤(minimal extrathyroid extension)한 경우

T4: 갑상선 주위 연부조직이나 인접한 장기로 침윤한 경우

2) 면역조직학적 검사

염색과정은 통상적인 streptavidin-biotin complex 방법을 사용하였으며, 염색의 질 향상과 균일화를 위하여 Ventana사의 자동면역염색기 (Bechmark® XT, Ventana Medical System, USA)를 이용하였다. 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거

친 조직을 4μm 두께로 연속된 세 개의 절편을 만들어 각 절편에 대하여 면역조직학적염색을 시행하였다. EZ Prep solution을 이용하여 탈파라핀한 후 CCI Standard (pH 8.4 buffered contained Tris/Borate/EDTA)를 이용하여 항원성을 회복하였다. 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위하여 DAB inhibitor (3% H_2O_2 Endogenous peroxidase)를 37℃에서 4분간 실시하였다. 1차 항체 RKIP (1:250, Epitomics, Callifornia, USA), CK19 (1:150, Novocastra, Newcastle, UK), HBME1 (1:150, Thermo Scientific, CA, USA), NDRG1 (1:200, Santa Cruz, Europe), p53 (1:100, Novocastra, UK)의 1차 항체를 항체 적용 기준에 맞게 희석한 후, 37℃에서 32분간 반응시켰다. 이차항체 Universal HRP Multimer를 37℃에서 8분간 시행하였다. DAB+H_2O_2 substrate로 8분간 발색시킨 후 대조 염색은 hematoxylin과 Bluing reagent로 37℃에서 4분간 시행하였다. Reaction buffered (pH 7.6 Tris buffer)를 사용하여 세척한 후 Tissue Tec SCA (Sakura, JP)을 이용하여 봉입하였다. 이때 항원재생(antigen retrieval)은 매뉴얼에 따른 자동염색기 내부에서의 가열방법을 사용하였다.

3) 면역조직화학적 염색의 판정

염색결과 판정은 주관성을 배제하기 위하여 환자의 임상결과를 알지 못하는 2인의 병리의사에 의해 시행되었다. 염색 범위와 염색 강도에 대한 분류는 종양세포의 밀도가 높은 부분을 4개 이상의 고배율 시야(x400)에서 종양세포를 검경하여 염색범위와 염색강도를 분류하였다. 각 면역조직화학적 검사의 양성 기준은 다음과 같다. RKIP는 세포질에 염색되는 경우를 양성으로 판정하고, 전체 종양세포 중 양성을 보이는 종양세포의 면역염색 범위를 네 등급(0: 0%, 1: 1-25%, 2: 25-50%, 3: 50%이상)으로, 종양세포 내의 염색의 강도를 네 등급(0: 음성, 1: 약양성, 2: 양성, 3: 강양성)으로 나누어 평가하고 염색 범위와 염색 강도의 점수를 더하여 0-2점은 음성, 3-4점은 1+, 5-6점은 2+로 판정하였다.

CK19는 세포질에 강하게 염색되는 경우를 양성으로 판정하고, 전체 종양세포 중 양성을 보이는 종양세포의 염색 범위에 따라 음성(<50%), 양성(≥50%)으로 판정하였다.

HBME1은 종양세포의 세포막에 염색되는 경우를 양성으로 판정하고, 전체 종양세포 중 양성을 보이는 종양세포의 염색 범위에 따라 음성(<5%), 양성(≥5%)으로 판정하였다.

NDRG1 단백에 대한 면역조직화학적 염색 결과는 종양의 세포막에 염색되는

경우를 양성으로 판정하였으며, 종양세포에 염색된 정도는 염색의 범위와 염색의 강도를 음성(<50, weak), 양성(≥50%, strong)으로 분석하였다.

p53은 세포의 핵에 염색되는 경우를 양성으로 판정하고, 전체 종양세포 중 양성을 보이는 염색의 범위에 따라 음성(<10%), 양성(≥10%)으로 판정하였다.

3. 통계학적 분석

갑상선 유두암종에서 RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 및 p53 단백의 발현과 여러 임상병리학적 인자들과 발현의 차이를 SPSS 17.0/PC package를 이용하여 통계처리 하였다. 임상양상 사이의 상관관계는 Pearson Chi-Square test로 분석하였다. 대상군 간의 다양한 변수 비교에는 빈도와 백분율을 교차분석 후 x^2-test, Fisher's exact test로 검증하였다. 통계적 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 이루어졌다.

Ⅲ. 결 과

1. 임상 및 조직학적 소견

갑상선 유두암종을 대상으로 연구하였으며, 임상병리학적 인자로는 성별, 연령, 갑상선외 침윤, 종양의 크기, 종양의 다발성, 림프절 전이, T 병기등급 등으로 구분하였다.

2. RKIP 면역조직화학적 발현에 따른 임상병리학적 의의

갑상선 유두암종 환자 164례 중 RKIP 단백은 2례(1.2%)에서 음성을 보였으며, 양성(Fig. 1) 판정을 받은 증례를 분류하면 1점이 15명(9.1%), 2점이 147명(89.6%)이었다. RKIP 단백의 발현 정도와 여러 임상병리학적 인자들과의 상관성을 분석하였을 때, T 병기등급과 관련이 있는 것으로 나타났다. RKIP 단백은 여러 임상병리학적인자들 중 병기등급과 통계학적으로 유의한 상관성을 보였다(p=0.001)(Table 1).

3. CK19 면역조직화학적 발현과 임상병리학적 의의

갑상선 유두암종에서 면역조직화학적 염색 결과 CK19 단백 발현은 종양의 세포질에 염색되는 경우를 양성(Fig. 2)으로 판정하였다. CK19의 발현은 음성에서 4례(3.3%), 양성에서 161례(96.7%)로 양성에서 높았지만, CK19 단백 발현과 여러 임상병리학적 인자들(나이, 성별, 갑상선외 침윤, 종양의 크기, 다발성 종양, T 병기등급)과의 상관성은 나타나지 않았다(Table 2).

4. HBME1 면역조직화학적 발현에 따른 임상병리학적 의의

HBME1단백 발현과 임상병리학적 인자 중 종양의 다발성에서 음성 40례(24.5%), 양성(Fig. 3) 123례(75.5%)로 양성에서 높았으나, 통계학적 상관성은 없었다. 림프절 전이가 없는 군에서 음성 19례(22.4%), 양성 66례(77.6%)였으며, 림프절 전이가 있는 군에서 음성 21례(27.2%), 양성 56례(72.8%)로 양성에서 높았지만, 통계학적인 유의성은 보이지 않았다. HBME1 단백 발현과 여러 임상병리학적 인자(성별, 연령, 종양 크기, 갑상선외 침윤, T 병기등급)들과도 통계적인 상관성은 없었다. 여러 인자들과의 상관성은 Table 3에 나타나 있다.

5. NDRG1 면역조직화학적 발현에 따른 임상병리학적 의의

갑상선 유두암종으로 판명된 환자에서 NDRG1단백 발현은 음성에서 66례(40%), 양성(Fig. 4)에서 99례(60%)로 양성에서 발현율이 높았고, NDRG1 발현은 임상병리학적 인자 양성군에서 45세 이하가 58례(47.2%), 45세 이상이 65례(52.8%)였고, 림프절 전이가 없는 군에서 음성 38례(58.5%), 양성 47례(48.5%), 림프절 전이가 있는 군에서 음성 27례(41.5%), 양성 50례(51.5%)로 나타났다. 여러 임상병리학적 인자(성별, 연령, 림프절 전이, 종양의 크기, 갑상선외 침윤, T 병기등급)와 NDRG1 단백 발현간 양의 상관관계를 보였으나 통계학적 의미는 없었다(Table 4).

6. p53 면역조직화학적 발현에 따른 임상병리학적 의의

p53 단백은 종양세포의 핵에 염색되는 경우를 양성으로 구분하였다. p53 단백 발현의 면역조직화학염색 결과를 분석해 보았을 때 여러 임상병리학적 인자들 중 종양의 다발성 (tumor multicentricity)에서 상관성이 나타났으며, 음성에서 24례(51.1%), 양성 80례(69.6%)로 p53 단백의 발현은 양성(Fig. 5)에서 관련이 있었다(p=0.026)(Table 5). p53 단백은 임상병리학적인자 중 림프절 전이가 없는 군에서 57례(49.6%), 림프절 전이가 있는 군에서 58례(50.4%)로 림프절 전이가 있는 군에서 높았지만 통계학적 유의성은 없었다. p53 단백 발현과 임상병리학적 인자들과의 상관성에 대한 분석은 Table 5에 나타나 있다.

7. 각 단백 발현 간 상관성

갑상선 유두암종에서 면역조직화학 염색 후 표지자들의 발현 간 차이를 알아보기 위하여 각각의 경우를 비교해보았다. RKIP 단백과 HBME1 단백 발현에서 RKIP 단백과 HBME1 단백 발현 간 음성 40례(24.5%), 양성 123례(75.5%)로 나타나 통계학적으로 상관성(p=0.043)이 있는 것으로 나타났다(Table 6).

RKIP 단백과 p53 단백 간 발현에서 음성이 16례(9.9%), 양성이 146례(90.1%)로 통계학적으로 상관성이 있었다(p=0.002)(Table 7).

NDRG1 발현과 CK19 발현 사이는 음성 4례(2.4%), 양성 161례(97.6%)로 통계학적인 상관성이 있었다(p=0.017)(Table 8). 그러나 CK19와 HBME1, NDRG1과 RKIP, CK19와 p53 단백 사이 통계학적인 의미는 없었다(Table 9-11).

Ⅳ. 고 찰

갑상선암은 조직병리학적 소견에 따라 유두암종(papillary carcinoma), 소포암종(follicular carcinoma), 수질암종(medullary carcinoma), 역형성암종(anaplastic carcinoma) 등으로 구분된다.[18] 갑상선 유두암종 중 갑상선 미세유두암종이 증가하고 있기는 하지만, 갑상선 유두암종과 갑상선 미세유두암종의 유전자 발현 양상의 차이가 없었다는 연구[19]가 있다. 갑상선 유두암종에서 면역염색을 이용한 임상병리학적 인자와의 연구는 많지 않다.[20] RKIP는 Raf-1에 결합하여 MAPK/MEK의 Raf-1에 의존적 활성을 방해함으로써, ERK의 활성을 방해한다.[21-23] ERK 경로를 통한 비정상적인 신호 전달은 세포의 비사멸, 성장인자와 무관한 세포증식, 성장억제 신호에 대한 세포 무반응은 종양억제 유전자의 비활성화 등을 일으켜 암을 유발하며 세포운동성을 조절하고 신생혈관 생성, 세포외 기질의 재구성을 일으켜 침습성을 높이고 전이를 유발한다.[24,25] Chang 등[26]은 위암 세포에서 RT-PCR 방법을 이용하여 RKIP의 발현 및 돌연변이에 대한 분석을 하였다. 그들이 RKIP 단백 발현을 평가하고자 시행한 western blotting 결과, 낮은 mRNA 발현을 보였던 세포주에서 낮은 단백 발현을 보였는데 이로써 저하된 mRNA의 발현이 RKIP단백 발현에 반영되며 전사 단계에서 단백 발현을 유추할 수 있다고 하였다. RKIP는 위암에서 ERK경로의 조절에 중요한 역할을 하며, 종양세포에서 낮은 RKIP 발현은 위암의 발병 및 진행 과정에 기여하는 것으로 보고하였다. Kim 등[27]은 간외담관(Extrahepatic Bile duct, EBD)암에서 RKIP 발현과 임상병리학적 인자들과의 상관성은 정상 EBD에서보다 EBD암에서 더 낮게 발현되었고, RKIP 양성 EBD암 환자들과 비교해 RKIP 음성 EBD암 환자들에서 림프 침범에 대해 2.4배 더 위험한 것으로 보고하였으며, 낮은 RKIP 발현은 림프절 침범과 결절 전이 간의 유의한 상관성을 나타내었다. Kim 등[5]은 전이성의 악성 갑상선 암에서 RKIP 면역반응은 전혀 나타나지 않았고, 결절 전이성 갑상선 유두암종과 갑상선 수질암종의 경우 종양세포의 세포질에 강한 RKIP의 발현을 보였다고 하였다. 그들은 악성 갑상선암에서 RKIP 발현의 부재와 분화가 된 갑상선 암에서의 강한 RKIP 발현 간 상반된 패턴은 RKIP 발현의 상실이 분화된 갑상선 암에서 악성 갑상선 암으로의 변환 관련성을 제기하며, 악성 갑상선암에서 RKIP 발현의 감소는 다른 갑상선 아형에서의 발

현 결과 유의한 상관성을 보였다. Eun[6]등은 갑상선 유두암종에서의 RKIP 발현의 감소는 임상병리학적 인자 중 림프절 전이와 관련이 있는 것으로 나타났으며 유의성이 있었다.

본 연구에서 면역염색 결과 RKIP 발현 증가는 양성군에서 의미있게 나타났으며, 임상병리학적 인자 중 종양의 진행과 관련이 깊은 T 병기등급과 통계학적인 상관관계가 있었다.

CK19는 가장 작은 분자량을 가지는 중간 크기의 미세섬유(filament) 케라틴으로 종양의 상피세포에서 발견된다.[28-30] CK19는 상피세포의 표지자이며, 갑상선 유두암종의 면역염색 표지자 중 하나로 보고되었고,[31] Sahoo 등[32]은 CK19의 면역반응성이 갑상선 유두암종에 명확하지 않으나, 면역조직화학적 염색의 정도와 강도가 여포선종(follicular adenoma)에서 보다 갑상선 유두암종에서 현저히 크다고 보고하였다. CK19는 또한 정상 갑상선 조직이나 양성 병변을 가진 갑상선 조직에서는 발현되지 않으며, 갑상선 유두암종에서는 종양세포의 세포질 100%에서 발현됨이 보고되었다.[33,34] Kang 등[35]의 연구에서 CK19는 림프 조직이나 혈액 세포에서는 발견되지 않는 상피 세포의 표지자로, 유방암 환자의 말초 혈액에서의 미세전이 세포 검출을 위해 혈액에서 RNA를 추출하여 RT-PCR을 이용한 연구 결과, 이 세포들에서 CK19는 음성대조군 100%(10/10), 양성 유방종양 환자 78.6%(11/14), 유방암 환자 66.0%(31/47) 모두에서 발현은 양성이었다. 그들의 연구에서 CK19의 비정상적인 과발현은 높은 위양성이 원인으로 생각된다고 하였으며, 임상병리학적 인자와 통계학적 유의성은 찾을 수 없었다고 하였다. Kim[36]은 양성 결절성 환자군에서 보다 갑상선 유두암종 환자군에서 HBME1과 CK19 면역화학 염색 점수가 높게 관찰되어 면역염색 조합 발현 결과가 갑상선 유두암종의 새로운 종양 표지자로 이용될 가능성을 제시하였으나 갑상선 유두암종에서 CK19단백 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성은 없는 걸로 보고하였으며, 악성과 양성, 그리고 병터들과의 감별 진단에서 CK19 유의성은 높았다. 유방암 환자를 대상으로 한 RT-PCR 방법과 면역조직화학염색 방법을 이용한 연구에서 갑상선 양성 결절성과 갑상선 유두암종에서 CK19의 발현과 임상병리학적 인자사이 유의성은 없었다. 본 연구에서의 갑상선 유두암종에서 CK19 발현과 임상병리학적 인자들과의 상관성은 통계학적인 의미는 없었다. 비록 CK19가 다른 암종과 유두암종, 그리고 악성과 양성에서의 구분을 위해서는 유용한 표지자로 알려져 있지만, 각각의 연구에서 상이한 결과는 갑상선 유두암종 단일 대상과 임상병리학적 인자 간 추가적인 연구가 필요하다.

HBME1은 악성 중피 종양 세포에서 추출된 단세포군 항체로 중피세포의 미세융모 표면 단백질과 반응하는 것으로 알려져 있다.[37] HBME1은 갑상선 결절의 진단에 있어 양성과 악성을 구분할 수 있는 면역조직화학 염색 표지자 중 하나로[38] Dematos 등[10]은 수술 후 확진된 갑상선 종양조직에 HBME1을 이용하여 면역조직화학 검사를 시행한 결과, 갑상선 유두암종에 특이적으로 과발현되었으며 갑상선 유두암종과 다른 병터들과의 감별에 유용하다고 하였다. Choi 등[37]은 갑상선 결절성 증식증에서는 HBME1이 양성 반응을 보이는 예가 없었으며, 갑상선 유두암종의 96.7%에서 HBME1 발현이 관찰되어 진단적인 가치가 있다고 하였으며, 양성 병터와의 감별에 유용함을 보고하였다. Kim[36]의 갑상선 유두암종에서 면역조직화학적 염색 방법을 이용한 임상병리학적 인자에서 HBME1 발현간 유의성은 없었다. 앞선 연구에서 HBME1은 갑상선 유두암종과 병터의 감별에서 높은 유용성을 보였고 HBME1은 갑상선 유두암종의 양성군에서 발현율 증가를 보였으나, 임상병리학적 인자와의 관련성은 보이지 않았으며, 단일 갑상선 유두암종과 임상병리학적 인자와의 상관성은 찾아보기 어려웠다. 본 연구의 갑상선 유두암종에서 HBME1의 면역염색 결과 HBME1의 발현율이 양성군(123례)에서 음성군(40례)에서 보다 높았지만 임상병리학적 인자들과 관련성은 없었다.

인간 직장암 샘플에서 Wang 등[38]은 림프절 전이가 없는 경우와 비교했을 때 림프절로의 전이를 가진 초기암에서 NDRG1의 발현은 증가되며, 증가된 NDRG1의 발현은 림프절 전이와 관련되었으며, NDRG1은 대장암의 진행과 림프절 전이 촉진 관련 유전자일 수 있다고 보고하였다. Shin등[39]은 자궁경부암에서 높은 NDRG1의 발현이 높은 혈관형성 활동과 밀접하게 연관되어 있음을 발견했다. 그들은 연구에서, 종양에서의 NDRG1과 혈관 내피성장인자 사이에서 양의 상관관계를 발견했다. Maruyama 등[40]의 췌장암 연구에서 NDRG1의 감소된 발현이 종양 유도 혈관 형성과 관련되어 있다는 것을 발견했다. Chenge 등[41]의 간세포 암 연구에서 간을 이식한 143명의 간세포암환자에서 면역염색 결과 NDRG1 발현과 임상병리학적 인자간 분석에서 NDRG1의 과발현이 종양침습과 전이의 원인임을 보고하였다. NDRG1의 발현 수준이 간세포 암 재발과 생존을 위해 매우 효과적인 예후 표지자일 수 있다고 하였다. Chuifeng Fan 등[42]은 비소세포성 폐암에서 NDRG1의 면역조직화학 염색결과에서 NDRG1은 비소세포성 폐암의 임상병리학적 인자 중 T 병기(T2~4)에서의 높아진 발현 간 상관성은 유의한 것으로 나타났다($p < 0.05$). 그 외 림프절 전이를 포함한 임상병리학적 인자들과 NDRG1의 관련성은 발견하지 못했다고 하

였다. Mao 등[43]의 침윤성 유방암 연구에서 NDRG1의 발현은 정상 유방조직의 5/35례(14.3%)와 비침윤성 유방 병변의 29/35례(34.1%)에서 감지되었지만, 침윤성 유방암에서는 70/95례(73.7%)에서 발현되어 NDRG1의 발현은 종양 단계와 상관성($p<0.01$)을 보였다고 하였다. 이는 침윤성 유방암의 발암과 진행에 관여한다는 것을 암시한다. 그렇지만 그들의 연구에서 NDRG1과 임상병리학적 인자들 나이, 폐경 여부, 종양의 크기, 림프절 전이와는 관련이 없었다. 본 연구에서의 갑상선 유두암종에서 NDRG1의 면역염색 결과 NDRG1은 음성군 (66 례), 양성군 (99 례)에서 발현이 증가하였지만, 임상병리학적 인자들과 통계학적인 의미는 없었다.

p53 종양억제 유전자가 생산하는 p53 단백은 세포주기 조절, 손상된 DNA의 복구, 세포자연사 등 다양한 조절 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다.[44] p53 유전자에서 변이나 결손 등 이상이 생기면, 손상된 p53 DNA의 증폭이 일어나거나 p53 단백질의 종양 발생 억제 기능이 소실되어 악성화로 진행된다고 생각된다. 갑상선 유두암종에서는 암 발생 과정 중 후기에 발생하는 현상으로 생각되며 분화암보다는 저분화암과 미분화암 그리고 역형성암에서 빈도가 더 높게 발현되어 유의하다고 하였다.[45,46] Kim 등[13]은 p53은 과발현이 되었을 때 더 많은 갑상선 유두암종의 주위 조직으로의 침윤을 보여 암의 진행과 관련이 있음을 시사하였다. Morita 등[14]은 갑상선 유두암종의 초기암에서 p53 발현이 종양의 크기와 전이성 림프절에서 통계학적으로 상관성이 있었다고 하였다. 그들은 갑상선 유두암종에서 p53의 과발현은 림프절 재발을 위한 환자의 임상적 평가에 유용할 수 있을 것이라고 하였다. Pilotti 등[47]은 분화가 나쁜 종양의 주위 조직으로의 침윤성 부위에서 p53이 발현되어 종양의 진행 상태와 관계가 있다고 하였다. 본 연구에서 p53 단백은 종양의 다발성에서 발현되었다($p=0.026$). 갑상선 유두암종의 갑상선 조직외 침윤이나 림프절 전이, 그리고 종양의 크기 등 임상병리학적 인자들과의 상관성은 보이지 않았지만, 종양의 다발성에서 의미가 있었다. 이러한 면역조직화학적 결과는 종양의 진행과 예후 예측을 가능하게 한다고 생각한다.

V.결 론

증가 추세에 있는 갑상선 유두암종에서의 예후 예측 가능한 인자를 알아보기 위해 RKIP, CK19, HBME1, NDRG1 및 p53의 표지자들에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였다. 면역염색 결과 RKIP 단백은 임상병리학적 인자 중 T 병기의 등급과 관련되었다. 즉 RKIP단백은 종양의 병기 단계가 높을수록 발현율은 증가하였으며, 병기 등급과의 상관성은 종양의 진행과 관련이 깊다. p53 단백은 종양이 다발성을 보인 경우 발현율이 증가하여 종양의 다발성과 상관성을 보였다.

그러므로 RKIP와 p53 단백은 종양 진행의 예후 예측 인자로서의 가치를 지닌다. 그 외 CK19, HBME-1, NDRG1 단백 발현과 임상병리학적 인자와의 상관성은 통계학적으로 의미가 없었다. 각 단백 상호 간의 연관성을 살펴보면 RKIP와 HBME-1이, RKIP와 p53이, NDRG1과 CK19가 발현에 있어 서로 상관성을 보였다. RKIP와 HBME-1, RKIP와 p53 그리고 NDRG1과 CK19 단백의 발현은 서로 상관성을 보였으나, 이들 각각이 임상병리학적 인자들과의 의미 있는 결과를 나타내지 않았으므로 추가적인 연구가 필요하다고 생각한다.

참고 문헌

1. Ministry for Health, Welfare and Family Affairs. Annual report of cancer incidence (2009), cancer prevalence (2009) and survival (1999-2009) in Korea. 2011; http:// www.cancer.go.kr.

2. Kim BS, Kang KH, Lim YA, Kim LS. Clinical significance of p53, Ki-67, galectin-3 expressions in papillary thyroid carcinoma. J Korean Surg Soc 2009;77:29-36.

3. Ain KB. Papillary thyroid carcinoma. Etiology, assessment and therapy. Endocrinol Metab Clin North Am 1995;24:711-60.

4. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. Am J Med 1994;97:418-28.

5. Kim HS, Kim GY, Lim SJ, Kim YW. Raf-1 kinase inhibitory protein expression in thyroid carcinomas. Endocrine Pathol 2010;21:253-7.

6. Eun YG. Loss of Raf-1 kinase inhibitor protein expression is associated with lymph node metastasis in papillary thyroid cancer. Department of medicine, graduate school, Kyung Hee University, Seoul. 2010; Februry.

7. Sridhar SS, Hedley D, Siu LL. Raf kinase and target for anticancer therapeutics. Mol Cancer Ther 2005;4:677-85.

8. Moll R, Frank WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982;31:11-24.

9. Cho HC, Lee JH, Cho HD, Oh MH, Jung EA, Kim EH. Usefulness of galectin-3, cytokeratin 19, P-cadherin and BAX immunohistochemistry in differential diagnosis of papillary thyroid carcinoma. J of Soonchunhyang Medical Science. 2009;14:217-28.

10. El Demellawy D, Nasr A, Alowami S. Application of CD56, p63 and CK19 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. Diagn Pathol 2008;6:3-5.

11. Sun TT, Shih CH, Green H. Keratin cytoskeletons in epithelial cells of internal organs. Proc Natl Acad Sci USA 1979;76:2813-7.

12. Mataraci EA, Özguven BY, Kabukcuoglu F. Expression of cytokeratin 19, HBME-1 and galectin-3 in neoplastic and nonneoplastic thyroid lesions. Pol J Pathol 2012;63:58-64

13. de Matos PS, Ferreia AP, de Oliveira Facuri F, Assumpcao LV, Metze K, Ward LS. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19, and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. Histopathol 2005;47:391-401.

14. Gerhard R, Nonogaki S, Fregnani JH, Soares FA, Nagai MA. NDRG1 protein overexpression in malignant thyroid neoplasm. Clinical Science 2010;65:757-62

15. Jung TS, Kim KS, Oh YL, Jung JH, Lee EY, Jung HS, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW, Chung JH. p53, p21 and bcl-2 protein expressions and the clinical significance in papillary thyroid carcinoma. Kor Endocrine Soc 2007;22:98-104.

16. Kim BS, Kang KH, Lim YA, Kim LS. Clinical significance of p53, Ki-67, galectin-3 expressions in papillary thyroid carcinoma. J Korean Surg Soc 2009;77:29-36.

17. Morita N, Ikeda Y, Takami H. Clinical significance of p53 protein expression in papillary thyroid carcinoma. World Surg 2008;32:2617-22.

18. Kim JS, Na BJ, Lee MS, Kim CW, Jeong GR. Relationship between the expression of VEGF, HIF-1α, E-cadherin, p53 and stage in papillary thyroid carcinoma. J Korean Academia industrial cooperation society 2010;11:1133-8.

19. Kim HY. Comparative analysis of gene expression profiles of papillary thyroid microcarcinoma and papillary thyroid carcinoma. Department of internal medicine, Graduate School, Seoul National University. 2010, February.

20. Nakamura N, Erickson LA, Jin L, Kajita S, Zhang H, Qian X, Rumilla K, Lloyd RV. Immunohistochemical separation of follicular variant of papillary thyroid carcinoma from follicular adenoma. Endocr Pathol 2006;17:213-23

21. Chatterjee D, Bai Y, Wang Z, Beach S, Mott S, Roy R, Braastad C, Sun Y, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB, Darnowski J, Pantazis P, Wyche J, Fu Z, Kitagwa Y, Keller ET, Sedivy JM, Yeung KC. RKIP sensitizes prostate and breast cancer cells to drug-induced apoptosis. J Biol Chem 2004;279:17515-23.

22. Hagan S, Al-Mulla F, Mallon E, Oien K, Ferrier R, Gusterson B, Gaecia JJ, Kolch W. Reduction of Raf-1 kinase inhibitor protein expression correlates with brest cancer metastasis. Clin Cancer Res 2005;11:7392-7.

23. Keller ET, Fu Z, Brennan M. The biology of a prostate cencer metastasis suppressor protein: Raf kinase inhibitor protein. J Cell Biochem 2005;94:273-8.

24. Schuierer MM, Bataille F, Weiss TS, Hellerbrand C, Bosserhoff AK. Raf kinase inhibitor protein is down-regulated in hepatocellular carcinoma. Oncol Rep 2006;16:451-6.

25. Eisenmann KM, VanBrocklin MW, Staffend NA, Kitchen SM, Koo HM. Mitogen-activated protein kinase pathway-dependent tumor-specific survival signaling in melanoma cells through in activation of the proapoptotic protein bad. Cancer Res 2003;63:8330-7.

26. Chang YS, Lee KY, Lee SH, Koh SH, Hong SW, Chi SG. Expression and mutation analysis of RKIP (Raf-1 kinase inhibitor protein) in human gastric cancer. J Korean Surg Soc 2007;73:121-9..

27. Kim HS, Kim GY, Lim SJ, Kim YW. Raf-1 Kinase inhibitory protein expression in thyroid carcinomas. Endocrine Pathol 2010;21:253-7

28. Fuchs E, Green H. Regulation of terminal differentiation of cultured human keratinocyte by vitamin A. Cell 1981;25:617-25.

29. Casey MB, Lohse CM, Lloyd RV. Distinction between papillary thyroid hyperplasia and papillary thyroid carcinoma by immunohichmical staining for cytokeratin 19, galectin-3, and HBME-1. Endocr Pathol 2003;14:55-60.

30. Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. Histopathol 2002;41:236-43.

31. Kim JH, Lee SS. Immunohistochemical expression of galectin-3, cytokeratln 19 and HBME-1 in papillary microcarcinoma of the thyroid gland. J Korean of Head & Neck Oncol 2007;23:133-7.

32. Sahoo S, Hoda SA, Rosai J, DeLellis RA. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: a note of caution. Am J Clin Pathol 2001;116:696-702.

33. Kang HJ, Hong SH, Yoon HS, Ahn SH. Detection of micrometastasis in peripheral blood of breast cancer patients using RT-PCR assay: comparison of MUC1, CK19 and hMMg. J Korean Breast Cancer Soc 2002;5:298-304.

34. Kim SY. High expression of Claudin-1, HBME-1, p16 and CK19 in papillary thyroid carcinoma. Departemnt of internal medicine, Graduate school, Keimyung university, 2012.

35. Sheibani K, Esteban JM, Bailey A, Battifora H, Weiss LM. Immunopathologic and molecular studies as an aid to the diagnosis of malignant mesothelioma. Hum Pathol 1992;23:107-16.

36. Prasad ML, Pellegata NS, Huang Y, Nagaraja HN, de la Chapelle A, Kloos RT. Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME-1, and cytokeratin-19 immunohistochemistry is for the differential diagnosis of thyroid tumors. Mod Pathol 2005;18:48-77.

37. Choi JW, Kim BG, Cha SJ, Lee TJ, Park SJ, Park SI. Expression of galectin-3 and HBME-1 in nodular lesions of the thyroid. J Korean Surg Soc 2006;71:183-8.

38. Wang Z, Wang F, Wang WQ, Gao Q, Wei WL, Wang GY. Correlation of N-myc downstream-related gene 1 overexpression with progressive growth of colorectal neoplasm. world J Gastroenterol 2004;10:550-4.

39. Nishino S, Ushijima K, Tsuda N Takemoto S Kawano K, Yamaquchi T, Nishida N, Kakuma T, Tsuda H, Kasamatsu T, Sasajima Y, Kage M, Kuwano M, Kamura T. Cap43/ NDRG1/Drg-1 is a molecular target of angiogenesis and a prognostic indicator in cervical adenocarcinoma. Cancer letters 2008;264:36-43.

40. Maruyama Y, Ono M, Kawahara A, Yokoma T, Basaki Y, Kage M, Aoyagi S, Kinoshita H, Kuwano M. Tumor growth suppression in pancreatic cancer by a putative metastasis suppressor gene Cap43/NDRG1/Drg-1 through modulation of angiogenesis. Cancer Res 2006;66:6233-42.

41. Cheng J, Xie HY, Xu X, Wu J, Wei X, Su R, Zhang W, Lv Z, Zheng S, Zhou L. NDRG1 as a biomarker for metastasis, recurrence and of poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Cancer letters 2011;310:35-43.

42. Fan C, Yu J, Liu Y, Xu H, Wang E. Increased NDRG1 expression is associated with advanced T stages and poor vascularization in non-small cell lung cancer. Pathol Oncol Res 2012;18:549-56.

43. Mao XY, Fan CF, Wei J, Liu C, Zheng HC, Yao F, Jin F. Increased N-myc downstream-regulated gene 1 expression is associated with breast atypia-to-carcinoma progression. Tumour bBol 2011;32:1271-6.

44. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. Nature 1991;351:453-6.

45. Dobose T, Lukienczuk T, Sasiadek M, Kuczynska A, Jankowska E, Blin N. Microsatellite instabillity in thyroid papillary carcinoma and multinodular

hyperplasia. Oncology 2000;58:305-10.

46. Goto A, Sakamoto A, Machinami R. An immunohistochemical analysis of cyclin D1, p53 and p21wafl/eip1 protein in tumors originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. Pathol Res Pract 2001;197:217-22.

47. Pilotti S, Collini P, Del Bo R, Cattoretti G, Piertti MA, Rillke F. A novel panel of antibodies that segregates immunocytochemically poorly differentiated carcinoma from undifferentiated carcinoma of the thyroid gland. Am J Surg Pathol 1994;18:1054-64.

Table 1. Correlation between RKIP expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=164)	RKIP (%) negative (n=2)	1+ (n=15)	2+ (n=147)	p-value
Sex	female	135	2(100)	12(80)	121(82.3)	0.785
	male	29	0	3(20)	26(17.7)	
Age	<45	72	0	5(33.3)	67(45.6)	0.299
	≥45	92	2(100)	10(66.7)	80(54.4)	
Extrathyroid extention	absent	124	1(50)	10(66.7)	113(76.9)	0.475
	present	40	1(50)	5(33.3)	34(23.10	
Multicentricity	absent	105	0	9(60)	96(65.3)	0.152
	present	59	2(100)	6(40)	51(34.7)	
Tumor size	Ⅰ	104	2(100)	10(66.7)	92(62.6)	0.804
	Ⅱ	56	0	5(33.3)	51(34.7)	
	Ⅲ	4	0	0	4(2.7)	
Lymph node metastasis	absent	85	2(100)	6(40.0)	77(53.1)	0.250
	present	77	0	9(60.0)	68(46.9)	
T staging	Ⅰ	128	1(50.0)	14(93.3)	113(76.9)	0.001
	Ⅱ	2	0	1(6.7)	1(0.7)	
	Ⅲ	32	0	0	32(21.8)	
	Ⅳ	2	1(50.0)	0	1(0.7)	

n : number of case

Table 2. Correlation between CK19 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=165)	CK19 (%) negative (n=4)	CK19 (%) positive (n=161)	p-value
Sex	female	136	4(100)	132(80.0)	0.365
	male	29	0	29(17.6)	
Age	<45	50	3(75)	65(40.3)	0.164
	≥45	115	1(25)	96(59.6)	
Extrathyroid extention	absent	131	3(75)	128(79.5)	0.827
	present	34	1(25)	33(20.4)	
Multicentricity	absent	116	3(75)	113(70.1)	0.833
	present	49	1(25)	48(29.8)	
Tumor size	Ⅰ	112	2(50)	110(68.3)	0.711
	Ⅱ	51	2(50)	49(30.4)	
	Ⅲ	2	0	2(1.2)	
Lymph node metastasis	absent	85	2(50.0)	83(51.6)	0.960
	present	80	2(50.0)	78(48.4)	
T staging	Ⅰ	132	4(100)	128(79.5)	0.796
	Ⅱ	1	0	1(0.6)	
	Ⅲ	30	0	30(18.2)	
	Ⅳ	2	0	2(1.2)	

n : number of case

Table 3. Correlation between HBME1 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=163)	HBME1 (%) negative (n=40)	HBME1 (%) positive (n=123)	p-value
Sex	female	134	31(77.5)	103(83.7)	0.370
	male	29	9(22.5)	20(16.3)	
Age	<45	71	13(32.5)	58(47.2)	0.014
	≥45	92	27(67.5)	65(52.8)	
Extrathyroid extention	absent	123	29(72.5)	94(76.4)	0.616
	present	40	11(27.5)	29(23.6)	
Multicentricity	absent	104	25(62.5)	79(64.2)	0.843
	present	59	15(37.5)	44(35.8))	
Tumor size	Ⅰ	104	26(65)	78(63.4)	0.512
	Ⅱ	55	14(35)	41(33.3)	
	Ⅲ	4	0	4(3.3)	
Lymph node metastasis	absent	85	19(47.5)	66(54.1)	0.468
	present	77	21(52.5)	56(45.9)	
T staging	Ⅰ	127	32(80.0)	95(77.2)	0.682
	Ⅱ	2	0	2(1.6)	
	Ⅲ	32	7(17.5)	25(20.3)	
	Ⅳ	2	1(2.5)	10.8)	

n : number of case

Table 4. Correlation between NDRG1 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=165)	NDRG1 (%)		p-value
			negative (n=66)	positive (n=99)	
Sex	female	136	54(81.8)	82(82.8)	0.867
	male	29	12(18.2)	17(17.2)	
Age	<45	73	28(42.4)	45(45.5)	0.701
	≥45	92	38(57.6)	54(54.5)	
Extrathyroid extention	absent	125	48(72.7)	77(77.8)	0.458
	present	40	18(27.3)	22(22.2)	
Multicentricity	absent	106	42(63.6)	64(64.6)	0.894
	present	59	24(36.4)	35(35.4)	
Tumor size	Ⅰ	105	43(65.2)	62(62.6)	0.285
	Ⅱ	56	20(30.3)	36(36.4)	
	Ⅲ	4	3(4.5)	1(1)	
Lymph node metastasis	absent	85	38(58,5)	47(48.5)	0.211
	present	77	27(41.5)	50(51.5)	
T staging	Ⅰ	129	55(83.3)	74(74.7)	0.422
	Ⅱ	2	1(1.5)	1(1.0)	
	Ⅲ	32	10(15.2)	22(22.2)	
	Ⅳ	2	0	2(2.0)	

n : number of case

Table 5. Correlation between p53 expression and clinicopathologic factors in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=162)	p53 (%) negative (n=47)	p53 (%) positive (n=115)	p-value
Sex	female	133	34(72.3)	99(86.1)	0.038
	male	29	13(27.7)	16(13.9)	
Age	<45	70	20(42.6)	50(43.5)	0.914
	≥45	92	27(57.4)	65(56.5)	
Extrathyroid extention	absent	122	34(72.3)	88(76.5)	0.575
	present	40	13(27.7)	27(23.5)	
Multicentricity	absent	104	24(51.1)	80(69.6)	0.026
	present	58	23(48.9)	35(30.4)	
Tumor size	Ⅰ	103	30(63.8)	73(63.5)	0.421
	Ⅱ	55	17(36.2)	38(33)	
	Ⅲ	4	0	4(3.5)	
Lymph node metastasis	absent	85	28(59.6)	57(49.6)	0.247
	present	77	19(40.4)	58(50.4)	
T staging	Ⅰ	126	34(72.3)	92(80.0)	0.130
	Ⅱ	2	1(2.1)	1(0.9)	
	Ⅲ	32	10(21.3)	22(19.1)	
	Ⅳ	2	2(4.3)	0	

n : number of case

Table 6. Correlation between RKIP and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas

		Total	RKIP (%)			p value
			negative (n=2)	1+ (n=15)	2+ (n=146)	
HBME1	negative	40	2(5.0)	4(10.0)	34(85.0)	0.043
	positive	123	0	11(8.9)	112(91.1)	

n : number of case

Table 7. Correlation between RKIP and p53 expression in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=162)	RKIP (%)		p value
			negative (n=16)	positive (n=146)	
p53	negative	47	10(21.3)	37(78.7)	0.002
	positive	115	6(5.2)	109(94.8)	

n : number of case

Table 8. Correlation between NDRG1 and CK19 expression in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=165)	CK19 (%) negative (n=4)	CK19 (%) positive (n=161)	p value
NDRG1	negative	69	4(5.8)	65(94.2)	0.017
	positive	96	0	96(100)	

n : number of case

Table 9. Correlation between CK19 and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=165)	HBME1 (%) negative (n=49)	HBME1 (%) positive (n=116)	p-value
CK19	negative	4	1(25.0)	3(75.0)	0.805
	positive	161	48(29.8)	113(70.2)	

n : number of case

Table 10. Correlation between NDRG1 and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=163)	HBME1 (%)		p value
			negative (n=40)	positive (n=123)	
NDRG1	negative	65	17(26.2)	48(73.8)	0.697
	positive	98	23(23.5)	75(76.5)	

n : number of case

Table 11. Correlation between p53 and HBME1 expression in thyroid papillary carcinomas

		Total (n=162)	HBME1 (%)		p value
			negative (n=40)	positive (n=122)	
p53	negative	154	40(26.0)	114(74.0)	0.097
	positive	8	0	8(100)	

n : number of case

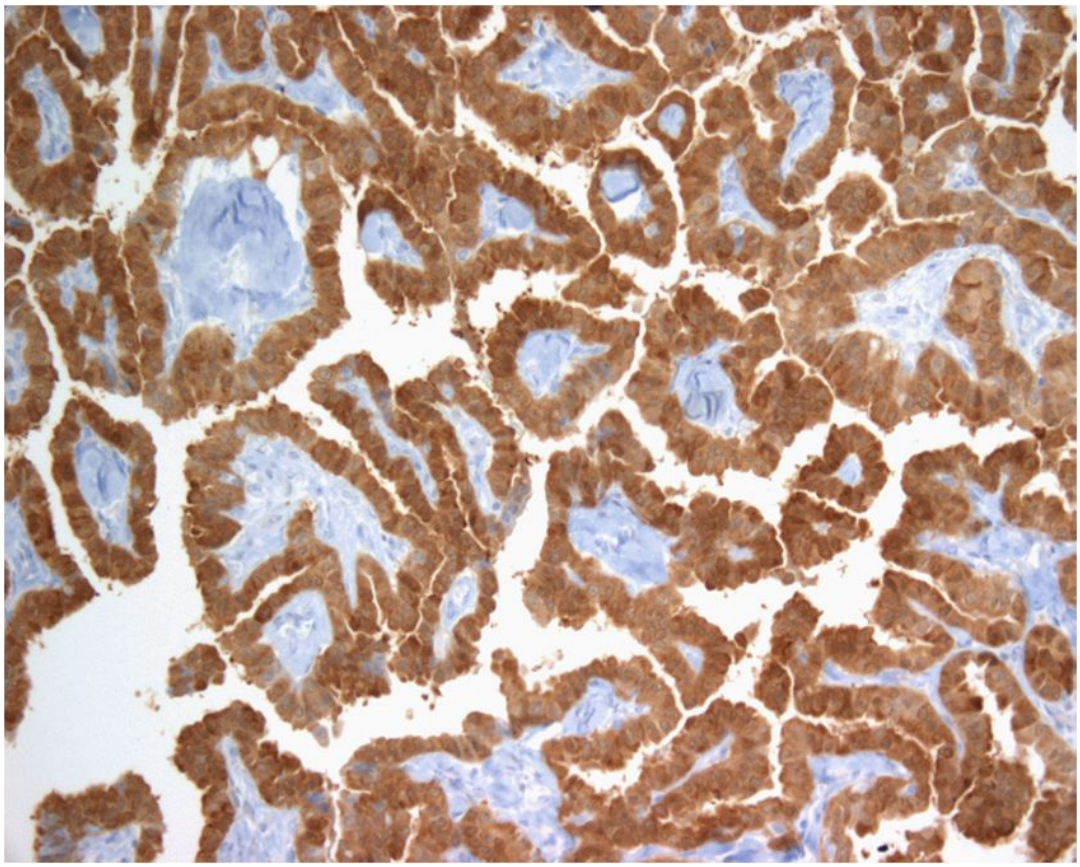

Fig. 1. Immunohistochemical result for RKIP shows strong cytoplasmic expression in thyroid papillary carcinoma.

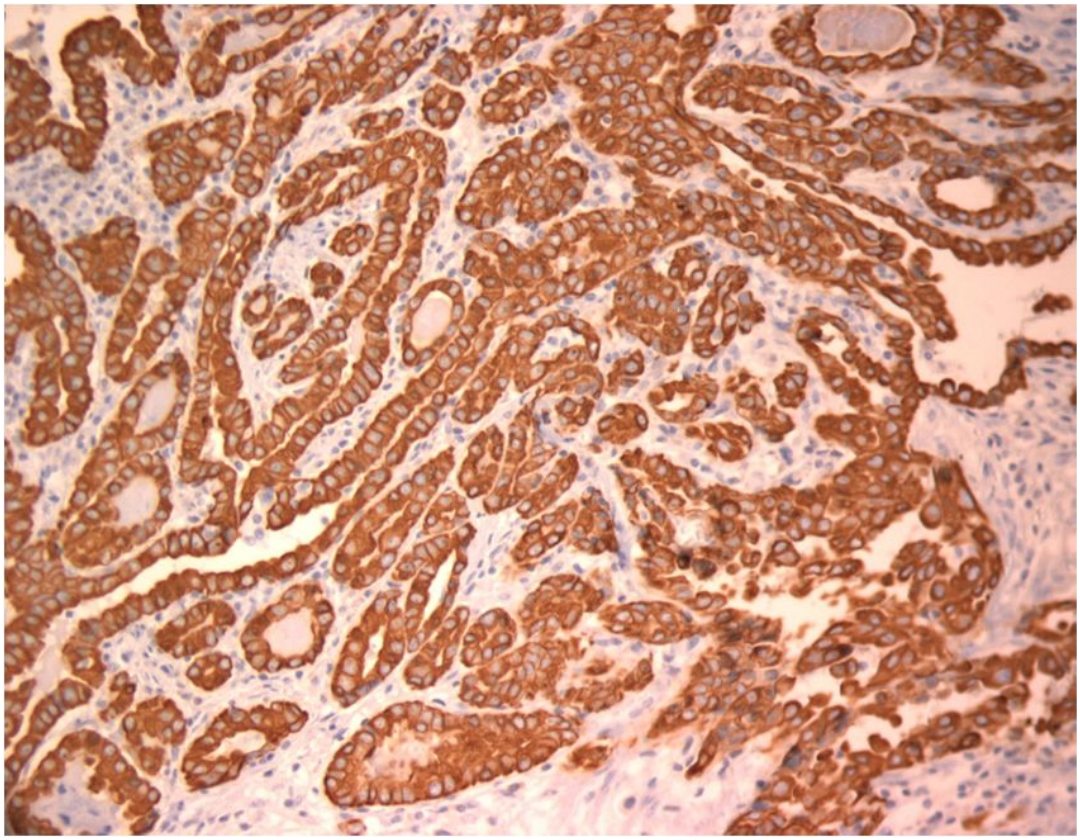

Fig. 2. Immunohistochemical result for CK19 shows strong cytoplasmic expression in thyroid papillary carcinoma.

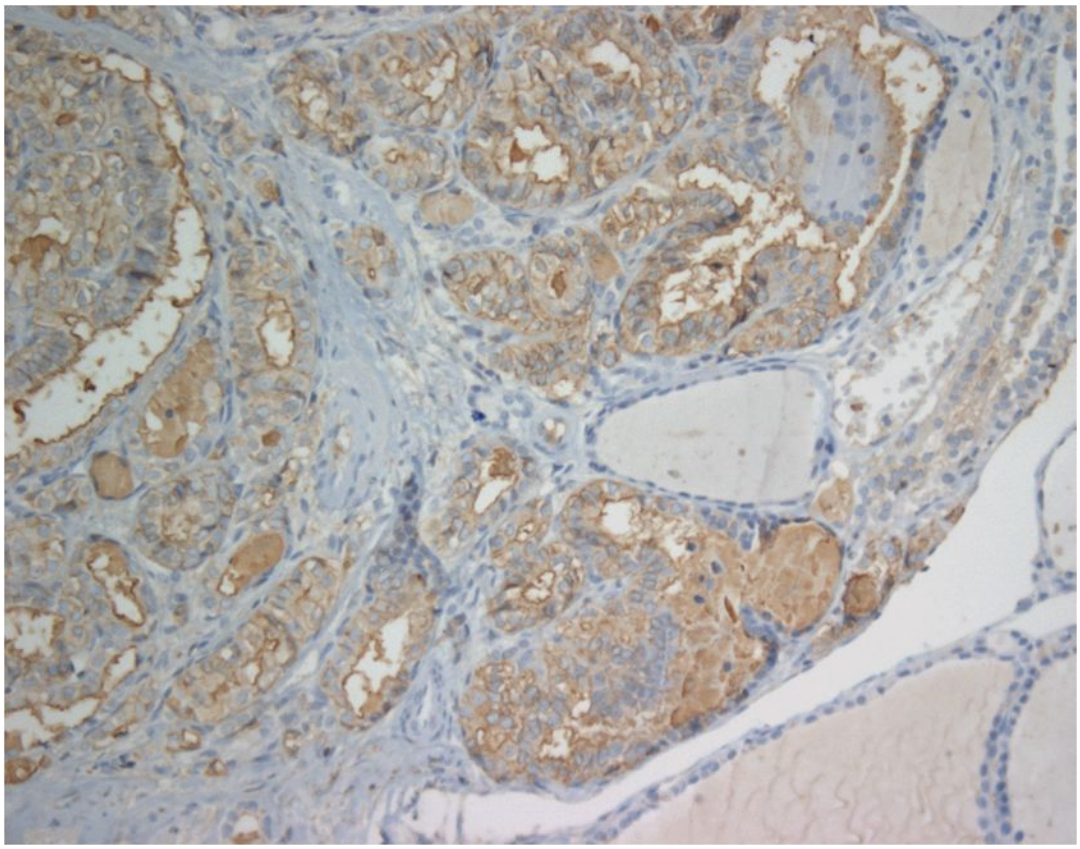

Fig. 3. Immunohistochemical result for HBME-1 shows strong membranous expression in thyroid papillary carcinoma.

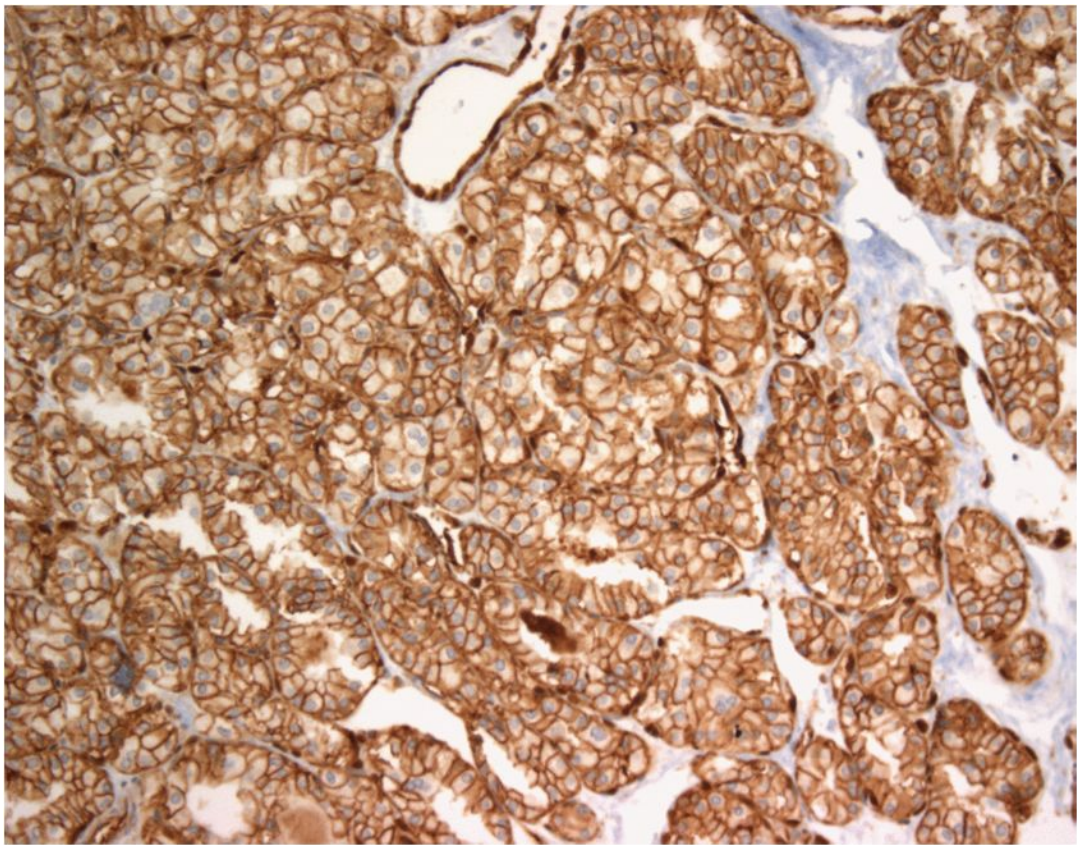

Fig. 4. Immunohistochemical result for NDRG1 shows strong membranous expression in thyroid papillary carcinoma.

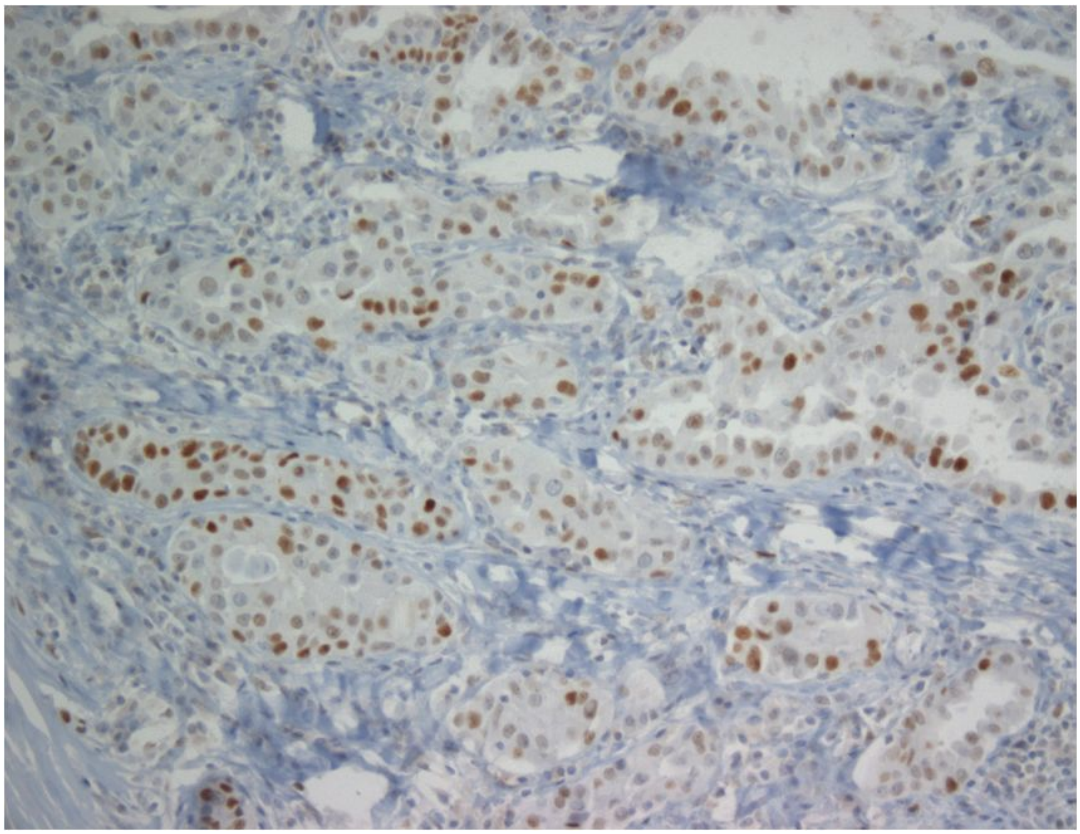

Fig. 5. Immunohistochemical result for p53 shows nuclear expression in thyroid papillary carcinoma.