대한내분비외과학회지 : 제 10 권 제 1 호
Vol. 10, No. 1, March 2010

□ 종 설 □

여포세포 유래 갑상선암의 유전자 이상

서울대학교 의과대학 외과학교실, 암연구소

이규언 · 지현근 · 윤여규

Genetic Alterations in Follicular Cell-derived Thyroid Carcinomas

Kyu Eun Lee, M.D., **Hyun-Keun Chi** and **Yeo-Kyu Youn,** M.D.

The molecular approaches to human diseases are receiving greater attention following the completion of the Human Genome Project. Molecular biology techniques are being widely applied to the field of tumor biology, and thyroid carcinomas are not an exception; several genetic alterations have been suggested to play roles in thyroid carcinogenesis and its progression. Malignant tumors arising from thyroid follicular cells can be classified into papillary carcinoma, follicular carcinoma, poorly differentiated carcinoma and anaplastic carcinoma. BRAF mutation, RET/PTC rearrangement and RAS mutation are the suggested molecular causes of papillary thyroid carcinoma (PTC). RAS mutation, PAX8-PPAR γ rearrangement, PTEN mutation or methylation, and PIK3CA mutation are known to induce follicular thyroid carcinoma (FTC). Poorly differentiated thyroid carcinoma (PDTC) and anaplastic thyroid carcinoma (ATC) are related to adding p53 or β-catenin gene alterations to those of papillary or follicular carcinomas. The more aggressive genetic alterations are added stepwise as thyroid tumors advance from differentiated PTC or FTC to less differentiated PDTC and finally to ATC. Studying the molecular mechanisms underlying thyroid carcinogenesis may help overcome the limitations of the current diagnostic methods and this may provide more accurate diagnostic and prognostic tools. Furthermore, research at the molecular level is essential for personalized therapies and creating targeted therapies for thyroid carcinomas. **(Korean J Endocrine Surg 2010;10:1-11)**

책임저자 : 윤여규, 서울시 종로구 연건동 28번지
㉾ 110-744, 서울대학교 의과대학 외과학교실, 서울대학교 의과대학 암연구소
Tel: 02-2072-3447, Fax: 02-766-3975
E-mail: ykyoun@plaza.snu.ac.kr
게재승인일 : 2010년 3월 3일
이 논문 또는 저서는 2009년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2009-0075666).

Key Words: Genetic alteration, Mutation, Carcinogenesis, Oncogene, Thyroid cancer
중심 단어: 유전자 이상, 돌연변이, 발암, 종양유전자, 갑상선암

Department of Surgery, Cancer Research Institute, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

서 론

종양유전자(oncogene)에 의해 종양이 발생한다는 사실의 발견을 시작으로 질병에 대한 분자 수준에서의 접근이 시도되어 왔다. 특히 인간유전체프로젝트(Human Genome Project)를 통해 인간의 유전체에 담겨 있는 유전정보를 해석하는 일이 가능해진 이후, 질병에 대한 분자생물학적 접근법이 각광을 받고 있다. 악성종양은 대부분의 선진국에서 사망의 주된 원인을 차지하며, 따라서 분자생물학적 연구가 가장 활발한 분야가 종양학이다. 종양의 유발원인은 다양하지만, 유전정보를 담고 있는 유전자의 이상이 그 원인 가운데 하나로 지목되고 있다. 갑상선암의 발병기전 및 진행기전에 대해서도 다양한 유전자 이상(genetic alterations)이 거론되고 있는 상황이다. 분자생물학적 접근법은 표면적 현상의 관찰에 의존하는 기존 방식의 한계를 개선하여 보다 정확한 진단 및 예후예측을 가능하게 할 수 있다. 또한 분자 수준에서의 선택적 억제제 등을 적용하여 보다 종양특이적인 치료가 가능하며, 특히 환자맞춤형치료(personalized therapy) 및 표적치료(targeted therapy)의 적용을 위해 분자발병 기전에 대한 연구는 필수적이다.

갑상선은 여포(follicle) 구조를 형성하는 여포세포와 여포 주변부의 부여포세포(paraparafollicular C cell)로 구성된다. 대부분의 갑상선암은 여포세포에서 유래하는데, 분화도에 따라 유두암(papillary thyroid carcinoma), 여포암(follicular thyroid carcinoma), 저분화암(poorly differentiated thyroid carcinoma), 역형성암(anaplastic thyroid carcinoma)으로 구분할 수 있다.(*1*) 이외에 부여포세포에서 유래하는 수질암(medullary thyroid carcinoma)과 갑상선으로 침윤한 림프구의 과다증식으로 인해 갑상선 림프종(thyroid lymphoma) 등이 발

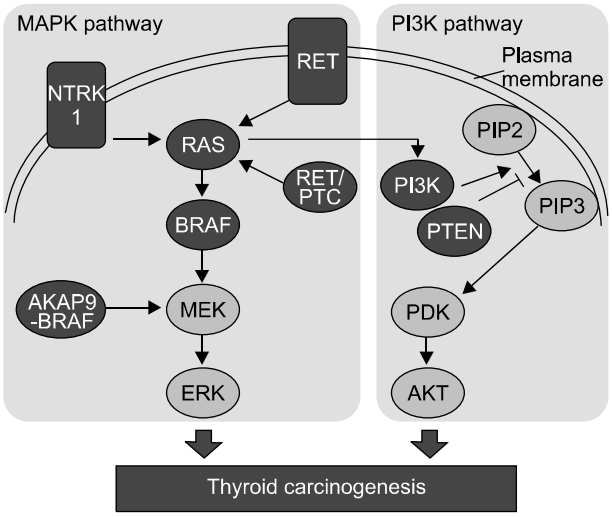

Fig. 1. Thyroid carcinoma-related signal pathways. Proto-oncogenes and oncogenes are shaded in the diagram. Rectangular figures represent membrane proteins, and round figures cytoplasmic proteins.

생하기도 한다.

갑상선암은 RAS-RAF-MEK-ERK로 이어지는 MAPK (mitogen-activated protein kinase) 신호전달체계 상의 유전자 이상이 발견되는 경우가 많다. 종종 RET이 과발현되거나 재조합이 일어난 경우도 RAS 이하 MAPK/ERK 신호전달체계가 활성화된다. 최근 들어 PI3K (Phosphoinositide 3-kinase) 신호전달체계의 이상도 갑상선암의 발생에 관여함이 알려져 있다. 본문에서는 MAPK 신호전달체계 상의 유전자를 중심으로 갑상선 유두암, 여포암, 저분화암, 역형성암 등 여포세포에서 유래한 악성종양의 유전자 이상에 대해 주로 언급하기로 한다(Fig. 1).

본 론

1) 갑상선 분화암에서 발생하는 유전자 이상

갑상선 유두암(papillary thyroid cancer)을 유발하는 유전자 이상은 BRAF 돌연변이, RET/PTC 재조합, RAS 돌연변이 등이 알려져 있다. 이들은 각각이 암을 유발하는 별도의 분자 생물학적 기전(distinct molecular pathway)인 것으로 생각되고 있으며, 상호배제성(mutual exclusivity)이 존재한다.(*2*) 갑상선 유두암은 발암 유전자의 체세포 점 돌연변이로 발생하는 것(BRAF, RAS 등)과 방사선 노출에 이은 염색체 재조합으로 발생하는 것(RET/PTC, NTRK1, AKAP9-BRAF 등)의 두 종류로 나눌 수 있다.(*3*)

갑상선 여포암(follicular thyroid cancer)을 유발하는 유전자 이상은 RAS 돌연변이, PAX8-PPAR γ 재조합, PTEN 돌연변이 및 메틸화, PIK3CA 돌연변이 등이 알려져 있다. 유두암과 마찬가지로 이들 유전자 이상 간에는 상호배제성(mutual exclusivity)이 있다. 여포암(60～75%)(*4-8*)은 유두암(40～50%)(*9-11*)에 비해 결실(deletion), 역위(inversion), 전위(translocation), 중복 (duplication) 등 염색체 이상의 비율이 높다.

(1) BRAF 돌연변이: BRAF는 아미노산 가운데 세린 및 트레오닌을 선택적으로 인산화시키는 효소이다. RAF family 유전자는 1983년 마우스에서 섬유육종(fibrosarcoma)를 일으키는 retrovirus에서 처음 발견되어 RAF (rapidly accelerated fibrosarcoma)라는 이름을 얻었다. 이후 마우스 유전체(genome)에서도 동일한 염기서열(cellular homologue)이 발견되었으며 A, B, C형의 아형(isoform)이 존재한다고 알려져 있다.(*17*) CRAF는 또한 RAF-1으로도 불리는데, 모든 세포에 존재한다.(*18*) BRAF는 주로 혈액세포, 신경세포, 고환 세포에서 많이 발현하며 다양한 종류의 종양에서 돌연변이 형태로 존재함이 발견되어 주목을 받게 되었다.(*19*) ARAF와 CRAF는 RAS와 SRC에 의해서 인산화(활성화)되어 MAPK 신호전달체계를 활성화하는 반면에 BRAF는 SRC 없이도 동일하게 작용할 수 있다. 뿐만 아니라 BRAF는 ARAF나 CRAF에 비하여 MEK에 강하게 결합하며 신호를 전달한다.(*20*)

BRAF 돌연변이는 Sanger Institute의 종양유전체프로젝트(Cancer Genome Project)를 통하여 발견되었다. 이 프로젝트는 인간유전체프로젝트를 통해 밝혀진 DNA 서열을 이용하여 대규모 스크리닝을 수행, 종양에서 특이적으로 일어나는 서열변화를 확인하는 방식으로 진행되었다.(*21*) 대부분의 돌연변이는 BRAF 유전자의 1,799번째 핵산에 발생하는데, 이 경우 BRAF 단백질은 600번째의 발린(valine, V)이 글루타민산(glutamate, E)로 치환된 비정상 단백질이 되며 이를 V600E로 표기한다. 초기에는 잘못된 핵산 서열(NM_004333)을 바탕으로 1,796번째 핵산(V599E)에 돌연변이가 있는 것으로 알려졌으나 이후 정확한 핵산 서열(NT_007914)이 밝혀지면서 1,799번째 핵산의 돌연변이(V600E)로 정정되었다.(*22*)

비정상 BRAF 단백질은 항상 인산화되어 하위 신호전달체계를 활성화시킨다.(*23*) 비정상 BRAF 단백질이 항상 인산화되는 기작은 2004년 Wan 등의 연구를 통해 밝혀졌다. 활성화되지 않는 BRAF 단백질은 인산화 도메인에 ATP 결합 도메인이 항상 붙어있는 상태로 유지되는데 BRAF V600E 돌연변이가 발생하면 이 결합이 흐트러져 항상 인산화되도록 작용한다.(*24*)

BRAF의 점 돌연변이는 흑색종(melanoma)과 갑상선암(thyroid cancer)에서 높은 빈도로 발견되며 이 외에도 대장암, 난소암 등에서도 보고된 바 있다.(*21*) 갑상선 암은 여러 타입으로 세분화 할 수 있는데 BRAF 돌연변이는 특히 유두암 및 유두암 유래 역형성암에서만 발견된다는 특징이 있다.(*25*) 갑상선 유두암의 약 45%에서 발견되는데 지역에 따라 편차를 보인다.(*26*) 한국에서는 다른 국가에 비해 높

아 유두암의 63～83%에서 발견된다.(*27,28*) 갑상선 유두암 가운데 예후가 나쁜 키큰세포변이형(tall cell variant) 유두암에서 높은 비율로 발견되며,(*25*) 유두암 유래 역형성암에서도 높은 빈도로 발견되지만 여포암에서 유래한 역형성암에서는 발견되지 않는다.(*29*) 갑상선암의 악성도를 예측하는 예후인자는 갑상선 외 침윤(extrathhyroidal extension), 암 병기(tumor stage), 림프절 전이(lymph node metastasis)가 대표적인데 BRAF 돌연변이는 이들 인자와 상관관계가 있음이 밝혀져 있다.(*30*) 특히 종양 단계가 1기나 2기인 초기의 암에서도 BRAF 돌연변이가 존재하면 재발률이 높아진다는 보고가 있으며,(*30,31*) BRAF 돌연변이가 존재하는 갑상선암은 요오드 수송에 관여하는 NIS (sodium-iodine symporter)의 발현이 감소되어 방사능 요오드 치료가 어려운 경우가 많음이 알려져 있다.(*32*)

BRAF 돌연변이는 RAS 돌연변이나 RET/PTC 염색체 재조합과 마찬가지로 종양 발생(tumor initiation)에 관여한다고 생각된다. 전암성 색소세포성 모반(premalignant melanocytic nevi) (85%)과 갑상선 미세유두암(17～52%)에서 높은 빈도로 발견되는 사실을 그 증거로 들 수 있다.(*33-35*) 세포주 실험에서 밝혀진 바에 따르면 BRAF 돌연변이는 DNA 합성을 촉진시키지만 동시에 세포사멸(apoptosis)를 유발하여 세포성장을 촉진하는 효과는 거의 없다. 따라서 실질적으로는 BRAF 돌연변이로 인해 생기는 유전적 불안정성(genetic instability) 또는 후성학적변화(epigenetic change)를 통해서 예후에 영향을 주는 것으로 생각된다.(*36*) BRAF 돌연변이는 TSH (thyroid stimulating hormone) 수용체의 발현을 감소시킨다는 점에서는 RET/PTC와 유사하지만, RET/PTC와는 다르게 cAMP 발현을 억제하거나 cAMP 활성을 감소시키지 못한다. 그리고 BRAF V600E를 마우스에 주입하면 사람의 유두암과 유사한 종양이 발생한다고 알려져 있다.(*23*)

BRAF V600E 돌연변이 발생에 미치는 환경적 요인에 대한 역학조사 결과는 추가연구의 필요성을 시사해준다. 자외선 노출은 흑색종의 유발인자인데, 자외선 노출의 정도와 BRAF V600E 돌연변이의 발생률은 상관관계가 없는 것으로 알려져 있다.(*37*) 반면 이탈리아에서는 화산지형 지역의 갑상선 유두암 환자가 타 지역에 비하여 BRAF V600E 돌연변이의 빈도가 높다는 결과를 보고하여 아직 알려지지 않은 유발인자의 존재 가능성에 대해 언급하였다.(*38*) 최근 요오드 섭취가 BRAF V600E 돌연변이의 발생을 유발하는 인자일 가능성도 제시되었다.(*39*)

(2) RET/PTC 재조합: RET는 원래 신경세포 표면에 존재하는 수용체결합 티로신 인산화효소(receptor tyrosine kinase)이다. 현재까지 neurotropic factor, neurturin, persephin, artemin 등 4종의 ligand가 존재한다고 알려져 있다.(*40*) 림프종 환자의 DNA를 세포주에 삽입(transfection)하는 실험을 통해 처음 발견되었다. 세포주를 암화시킨 유전자는 재조합이 일어난 상태로 존재하고 있음이 밝혀졌고, 자연스럽게 RET (rearranged during transfection)이라는 이름을 얻었다.(*41*) 원래 갑상선 여포세포(follicular cell)에서는 발현하지 않고 부여포세포를 포함한 신경내분비(neuroendocrine) 세포에서만 발현한다.(*23*) RET 유전자의 재조합은 주로 갑상선 유두암(papillary thyroid cancer, PTC)의 발생에 관여하기 때문에 재조합이 일어난 RET를 RET/PTC라고 부른

Table 1. Genetic rearrangements found in papillary thyroid carcinomas

Gene name	Oncogene name	Fusion gene name	Original function of the fusion gene	Fusion gene location
RET	RET/PTC1	H4	Unknown	10q21
	RET/PTC2	PRKAR1A	cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit RIalpha	17q23-24
	RET/PTC3	ELE1	Androgen receptor coactivator	10q11.2
	RET/PTC4	ELE1	Androgen receptor coactivator	10q11.2
	RET/PTC5	RFG5	Golgi autoantigen	14q
	RET/PTC6	HTIF1	Thought to associate with chromatin and heterochromatin-associated factors	7q32-34
	RET/PTC7	RFG7	Thought to be a transcriptional corepressor	1p13
	RET/PTC8	KTN1	Microtubule-associated protein	14q22.1
	RET/PTC8?	RFG8	Unknown	18q21-22
NTRK1	TRK	TPM3	Tropomyosin family of actin-binding proteins	1q21.2
	TRK/T1	TPR	Forms intranuclear filaments attached to the inner surface of nuclear pore complexes	1q25
	TRK/T2	TPR	Forms intranuclear filaments attached to the inner surface of nuclear pore complexes	1q25
	TRK/T3	TFG	TRK-fused gene	3q12.2
	TRK/T4	TPR	Forms intranuclear filaments attached to the inner surface of nuclear pore complexes	1q25
BRAF	AKAP9-BRAF	AKAP9	PKA binding anchor protein	7q21

다.(*42*) RET/PTC는 RET 유전자의 3' 부분이 다른 유전자의 5' 부분과 결합하는 형태로 일어나며 결합하는 유전자에 따라 현재 11종류의 RET/PTC가 알려져 있다(Table 1). 방사선 노출로 인해 발생하는 갑상선 유두암의 80%는 RET/PTC 1형(RET/PTC1) 또는 3형(RET/PTC3)이며 일반적으로 RET/PTC라고 하면 이들을 지칭한다.(*43,44*)

정상적인 RET 수용체는 자극이 왔을 때 두 개의 수용체가 모여 이형체(dimer)를 이루고 이와 동시에 서로의 티로신 인산화효소(tyrosine kinase) 부위를 자가 인산화(autophosphorylation) 시킨 후 하위의 단백질로 신호를 전달하여 MAPK 및 PI3K 신호전달체계를 자극한다.(*36,45,46*) 재조합이 일어나서 RET/PTC 형태가 되면 항상 이형체 상태로 세포질에 위치하며, 따라서 티로신 인산화효소 부위가 항상 인산화되어 하위 신호전달체계를 활성화하게 된다.(*47*)

방사선에 노출된 경우 발생빈도가 높아지는데 체르노빌 사건으로 방사능에 노출된 아이들에게 유두암이 발병한 경우 80%가 RET/PTC로 인한 유두암이었다.(*48,49*) 하지만 유두암 외에도 여포선종,(*50*) 갑상선종,(*50*) 하시모토 갑상선염,(*51-53*) 그리고 방사선 노출과 관련없는 유두암(*54*) 등에서도 발견된다. 방사선 노출 경력이 없는 유두암에서 RET/PTC가 발견되는 경우는 대부분이 소아 환자이다.(*42,55*) 갑상선 미세유두암(papillary microcarcinoma)에서도 높은 빈도로 발견되지만 저분화암이나 역형성암에서는 발견되지 않는다.(*2*) RET/PTC가 존재하는 유두암의 경우 림프절 전이 확률이 증가하지만 예후는 오히려 좋은 편이다.(*56*) RET/PTC는 갑상선 유두암의 3～77% 정도에서 발견된다고 알려져 있는데 검사방법 및 연구기관이 속한 지역에 따라 편차가 크다. 또한 갑상선암 자체가 다양한(heterogeneous) 세포의 모임이어서 검사부위에 따라서 편차가 나타나는 것으로 생각되고 있다.(*57*) 물론 알려지지 않은 방사선 노출이 있었거나 방사선 노출 외의 다른 유두암 유발인자가 존재할 가능성도 배제할 수 없다. 한국인을 대상으로 조사한 결과 갑상선 유두암 환자의 약 10%에서 RET/PTC1 또는 RET/PTC3가 발견되었다.(*58,59*)

체외에서 배양한 갑상선 세포에 RET/PTC1 또는 RET/PTC3 유전자를 넣어주면 세포를 암화시키지만 그 효과가 미미하다. RET/PTC가 주입된 세포는 또한 TSH 신호전달체계에 변화를 발생하긴 하지만 TSH 없이 성장하지 못하며, 유전자 불안정성(genetic instability)도 유발되지 않는다.(*2*) 하지만 갑상선 특이적 유전자의 발현이 감소하고 MAPK 신호전달체계가 활성화된다고 보고되었다.(*60*) RET/PTC를 발현시킨 형질전환 마우스는 성장 과정에서 갑상선 유두암이 발생하지만 종양의 성장속도가 느리고 전이를 하지 않는다.(*44*) 방사선 노출로 인해 발병하는 갑상선 유두암에서는 NTRK1 재조합, AKAP9-BRAF 재조합 등이 발견되는 경우도 있다.

(3) RAS 돌연변이: RAS 유전자는 랫트(rat)에게 육종을 일으키는 바이러스에서 처음 분리되었기에 RAS (rat sarcoma)라는 이름으로 불린다.(*61,62*) H-RAS, K-RAS, N-RAS의 세 종류가 있는데 갑상선암에서는 세 가지 모두 발견된다.(*2*) 다양한 종류의 성장인자 수용체에서, 특히 수용체결합 티로신 인산화효소로부터 신호를 전달받아 세포 내로 연결하는 역할을 한다. RAS 단백질은 비활성화 상태일 때는 GDP (guanosine diphosphaste)와 결합하고 있다가 활성화 신호를 받으면 GTP (guanosine triphosphate)와 결합하면서 활성화되어 MAPK 및 PI3K 신호전달체계로 신호를 전달한다. RAS에 돌연변이가 생기면 GTP를 GDP로 되돌리는 GTPase 부위가 제 역할을 못하게 되거나(61번 코돈의 점 돌연변이) GTP와의 결합력이 강화되어(12번 또는 13번 코돈의 점 돌연변이) 항상 활성화 상태가 된다.(*23*)

RAS 돌연변이는 다양한 종류의 암에 존재하며 전체 악성 종양의 약 30% 정도에서 발견된다.(*2*) 유두암(7～15%) 및 여포암(11～45%), 저분화암(24～55%), 역형성암(52～55%)으로 갈수록 RAS 돌연변이의 빈도가 증가한다.(*63,64*) 유두암에서는 대부분 여포성(follicular variant) 유두암에서 RAS 돌연변이가 확인된다.(*23*) 미세유두암에서도 발견되어 갑상선암 발생의 초기단계에 관여하는 것으로 여겨지고 있다.(*65,66*) 예후가 나쁜 암에서 더 높은 빈도로 발견된다.(*63*) RAS 돌연변이는 PAX8-PPARγ와 같이 존재하는 경우가 없어 상호간에 상호배제성이 있는 것으로 생각된다.(*3*)

RAS 돌연변이가 존재하는 갑상선암은 유두암의 특징적인 핵형(nuclear feature)이 없고, 피막이 형성되어 있는 경우가 흔하며, 림프절 전이의 확률이 낮다. 반면 원격 전이(distant metastasis)의 확률이 높고, 암세포의 분화도가 낮아 갑상선 특이적 단백질의 발현이 적다. 또한 좋지 않은 예후와 연관되는 것으로 알려져 있다. 특히 세포주 실험에서 염색체 불안정성(chromosomal instability)를 촉진시키는 것으로 밝혀졌는데, 역형성암에서 RAS 돌연변이가 높은 빈도로 발견되는 것은 이에 기인하는 것으로 생각된다.(*23*) 양성인 여포선종(follicular adenoma)에서 비율은 약간 낮지만(30%) RAS 돌연변이가 발견되기에 양성 선종(adenoma)과 악성 종양(carcinoma)를 구분짓는 분자마커로 사용하기에는 한계가 있다.(*23*) 갑상선에서 N-RAS가 과발현하도록 조작한 마우스에서는 주로 여포암이 발생하였으며 시간이 경과하면서 저분화암으로 진행하였다.(*67*)

(4) PAX8-PPARγ 재조합: PAX8 (paired box gene 8)은 갑상선 세포의 성장에 중요한 역할을 하는 전사인자(transcription factor)이며 갑상선 이외의 세포에서는 발현하지 않는다.(*23*) PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma)는 세포성장 및 세포사멸을 조절하여 종양억제 단백질(tumor suppressor) 역할을 하는 핵 내 호르몬 수용체(nuclear hormone receptor)이다.(*68*) 염색체 재조합에 의해 이들 두 유전자가 결합된 형태로 발현하는 것을 PAX8-

PPAR γ 라고 부르며 이 경우 PPAR γ 기능이 억제된다. 이는 만들어진 단백질이 정상 단백질의 기능을 방해하는 (dominant negative) 역할을 하기 때문으로 생각된다.(*69*) PPAR γ 의 기능억제 또는 발현감소가 정상세포를 암세포로 변화시키는 정확한 기작은 아직 밝혀지지 않았다.(*3*)

PAX8-PPAR γ 는 여포선종의 4～33%, 여포암의 36～45%, 여포성 유두암의 37.5%에서 발견된다.(*69-72*) 반면 여포암의 변종인 허틀세포암(Hurthle cell carcinoma)에서는 거의 발견되지 않는다.(*23*) PAX8-PPAR γ 재조합으로 인해 발병하는 갑상선암은 환자의 나이가 어리고, 종양의 크기가 작고, 혈관침윤의 빈도가 높다는 특징이 있다.(*2*)

세포주 실험과 동물실험 및 사람을 대상으로 하는 임상실험을 통해 PPAR γ 가 종양억제 단백질의 역할을 하는 것이 증명되었다.(*73-75*) PAX8-PPAR γ 가 존재하는 여포암과 존재하지 않는 여포암을 비교한 결과 유전자 발현 양상에 큰 차이를 보였으며, 이는 PAX8-PPAR γ 가 다양한 신호전달체계에 관여하기 때문인 것으로 생각된다.(*76*) 그리고 PAX8-PPAR γ 가 존재하지 않는 여포암에서도 PPAR γ 의 발현이 감소한 경우가 많아, 이를 조절하는 다른 유전적인 변화가 있을 것으로 추측된다.(*70*)

(5) PI3K 신호전달체계 상의 유전자 이상: 갑상선암 특히 여포암은 PI3K 신호전달체계가 활성화된 경우가 많다. EGF, IGF-I 등 성장인자의 신호를 받으면 세포표면의 수용체(특히 수용체결합 티로신 인산화효소)가 이들을 감지하고 PI3K가 세포막 내부의 PIP3로 신호를 전달, AKT를 활성화시켜 다양한 유전자의 발현을 조절한다.(*77*) PI3K 신호전달체계는 세포 성장에 중요한 역할을 하며 갑상선암을 포함하여 흑색종, 대장암, 자궁내막암 등 다양한 종류의 종양에서 PI3K 신호전달체계의 이상이 발견된다.(*78-81*) PI3K 신호전달체계에 이상이 생기는 것은 크게 PTEN의 기능이 감소된 경우, PIK3CA의 기능이 강화된 경우, 그리고 AKT의 기능이 강화된 경우로 나눌 수 있다.(*2,82*)

PTEN은 PI3K가 PIP3를 활성화시키는 것을 억제하여 PI3K 신호전달체계를 조절하는 종양억제 단백질(tumor suppressor)이다. PTEN이 제 기능을 못하는 원인은 PTEN 유전자의 삭제(deletion), PTEN 돌연변이, PTEN 유전자 메틸화 등이 있다.(*2*) PI3K는 효소부위(p110 catalytic subunit)와 조절부위(p85 regulatory subunit)으로 이루어지며 효소부위는 A형 또는 B형이 있다. PIK3CA는 A형의 효소부위를 만드는 유전자이다.(*83*) PIK3CA의 유전자 수 증가(copy number gain) 또는 활성화 돌연변이가 일어나면 PI3K의 기능이 강화되어 PI3K 신호전달체계가 활성화된다.(*83*) AKT는 PI3K 신호전달체계에서 세포사멸을 억제하는 역할을 하는 단백질이며 종양에서 과발현되는 경우가 많다. 갑상선암에서는 확인되지 않았지만, AKT 자체에도 돌연변이가 존재한다고 알려져 있다.(*82,84*)

PTEN에 선천적인 돌연변이가 있어 정상기능을 못하게 되는 경우 PI3K 신호전달체계가 활성화되어 Cowden 증후군이 발생한다. 이들에게 갑상선 여포암의 발생확률이 높다는 사실에서 PI3K 신호전달체계가 여포암 발생에 중요한 역할을 함을 알 수 있다.(*85*) 유전적 돌연변이 외에 체세포 돌연변이도 여포암의 발생확률을 높인다고 보고되었으며, 돌연변이 등의 이유로 PTEN이 제 기능을 못하고 있는 경우가 비유전성 여포암의 20～30%에 달함이 알려져 있다.(*86,87*) 여포선종의 경우 또한 PTEN의 불활성화가 보고되었다.(*88*) 역형성암의 50% 이상에서 PTEN이 정상적으로 작용하지 못한다는 사실에서 갑상선암이 진행할수록 PI3K 신호전달체계가 중요하게 작용함을 알 수 있다.(*77,89*) 물론 PIK3CA의 돌연변이 또는 과발현이 원인이 되는 여포암도 많다.(*90,91*) PTEN 발현을 없앤 형질전환 마우스에서 갑상선종 및 여포선종만 발생하고 여포암이 발생하지 않는다는 사실에서 PIK3CA 또한 중요한 역할을 한다고 유추할 수 있다.(*92*) PI3KCA 돌연변이는 PTEN 유전자 이상과 비슷한 빈도를 보이는데 여포암의 8～29%, 역형성암의 23%에서 발견된다.(*93*)

2) 갑상선 저분화암 및 역형성암에서 발생하는 유전자 이상

저분화암(poorly differentiated thyroid cancer) 및 역형성암(anaplastic thyroid carcinoma)은 유두암 및 여포암이 진행하여 발생한다고 알려져 있다. 분화암(유두암 및 여포암)에서 저분화암, 역형성암으로 진행하면서 분화암의 특징이 점차적으로 사라지고 역형성암의 특징인 세포분열(mitosis), 세포괴사(necrosis), 핵의 다형성(nuclear pleomorphism)이 많이 발견된다는 사실에서 이를 확인할 수 있다. 또한 역형성암 병변에 유두암 또는 여포암의 일부가 동반된다는 사실과 유두암 또는 여포암이 재발을 거듭할수록 역형성암의 특징을 보이는 점도 이를 지지한다.(*3*) 역형성암은 유두암(40～50%), 여포암(60～75%) 보다 높은 빈도(85～100%)의 염색체 이상을 보인다.(*9,12-15*) 역형성암은 p53, β-catenin 등의

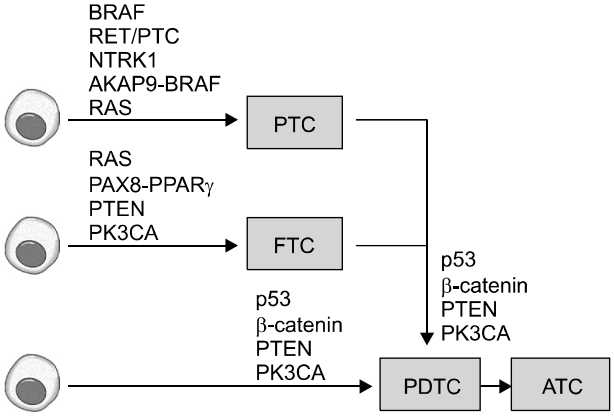

Fig. 2. Thyroid carcinoma progression model.

유전자 이상과 관계 있음이 알려져 있다.(*3*) BRAF, RAS, PIK3CA, PTEN 등의 유전자 이상은 역형성암에서도 발견되지만 RET/PTC 재조합, PAX8-PPARγ 재조합은 발견되지 않는다(Fig. 2).(*16*)

(1) p53: p53은 DNA의 손상을 방지하고 세포주기를 조절하여 세포의 암화 방지 역할을 하는 중요한 종양억제 단백질(tumor suppressor)이다.(*94*) 세포에 이상이 감지되면 p53이 작동하여 세포 성장을 정지시킨 후 손상된 DNA를 복구하게 되며 복구가 어려운 경우 세포사멸(apoptosis)를 유도한다.(*95*) P53에 돌연변이가 일어나면 DNA에 결합하지 못하여 DNA 손상 복구의 역할을 할 수 없게 된다.(*3*) MDM2는 p53가 과발현되지 않도록 조절하는 역할을 하는데, MDM2가 어떠한 원인에 의해 과발현되면 세포 내 p53의 양을 감소시켜 유사한 효과를 내기도 한다.(*96*) 또는 MDM2가 과발현되지 않도록 조절하는 $p14^{ARF}$ 단백질의 발현양이 감소하여 결과적으로 p53이 제 기능을 하지 못하는 경우도 있다.(*97,98*)

p53 돌연변이는 인체 종양의 50% 정도에 관여한다.(*99*) 유두암 및 여포암에서는 거의 발견되지 않고 저분화암(50%) 및 역형성암(80%)에서 높은 비율로 p53 돌연변이가 발견된다.(*100*) 이 때 발견되는 돌연변이는 대부분 72번 코돈의 돌연변이이다.(*101*) MDM2는 유두암 및 여포암에서 저분화암, 역형성암으로 진행할수록 발현이 오히려 감소하는데 이는 돌연변이 상태의 p53이 정상 상태일 때와는 달리 MDM2의 발현을 촉진시키지 못하기 때문(lack of feedback loop)으로 생각된다.(*102*) 실제 MDM2는 종양의 종류에 따라 악성도에 비례하기도 하고 반비례하기도 하여 종양의 분자마커로 사용하기가 힘들다.(*103*)

갑상선 세포에 돌연변이 p53을 넣어준 실험에서 p53 돌연변이 만으로는 한천(soft agar)에 군집(colony)를 형성하지 못함이 밝혀졌으며 누드 마우스 주입 시에도 종양을 발생시키지 못하였다. 따라서 p53 돌연변이는 다른 발암유전자가 이미 존재하는 상황에서만 세포성장 촉진 및 역분화(dedifferentiation)에 관련된 역할을 하리라 생각된다.(*3*) 앞에서 언급하였지만 RET/PTC 형질전환 마우스에서는 전이하지 못하는 유두암이 발생하는데, p53이 없는 마우스와 교잡시키면 저분화 및 역형성암이 발생한다. 이를 통해 p53의 기능상실은 갑상선암 진행과정 후기에 역할을 하리라 생각할 수 있다.(*104*)

(2) β-catenin: β-catenin은 Wnt 신호전달체계에 관여하는 단백질이다.(*105*) 정상 상태의 세포에서는 세포질에 위치하며 APC-axin 복합체에 의해 분해되기 때문에 소량 존재한다.(*106*) 하지만 APC-axin 복합체에 이상이 있거나 β-catenin 자체에 이상이 발생하는 경우 분해되지 않고 고농도로 존재하게 된다. 핵으로 이동하여 핵 내부에 고농도로 존재하는 경우도 있다. 유두암 및 여포암(0%), 저분화암(21~25%), 역형성암(48~66%)으로 갈수록 세포핵에 존재하는 β-catenin의 비율이 높아짐이 보고되었다.(*107,108*) 또한 β-catenin 돌연변이는 유두암이나 여포암에서는 발견되지 않고 저분화암(32%)이나 역형성암(61%)으로 갈수록 발생 확률이 높아진다고 알려져 있다.(*107,108*) 역형성암에서 Axin과 APC 유전자의 돌연변이는 82% (Axin)와 9% (APC)에서 발견되었다.(*109*)

3) 제노믹스와 프로테오믹스를 이용한 갑상선암 연구

제노믹스(genomics)는 유전자의, 프로테오믹스(proteomics)는 단백질의 총체적인 발현양상을 연구하는 학문이다. 마이크로어레이(microarray) 기술의 개발로 DNA에서 전사되는 mRNA의 발현양상을 확인할 수 있게 되면서 신체적 이상에 동반되는 유전자의 발현양상을 파악하는 것이 가능해졌는데, 특히 악성종양의 진단 및 예후예측에 이를 이용하고자 하는 움직임이 활발하다. 하지만 생체 내에서 유전자의 유전정보는 단백질로 번역된 후에야 고유의 특성을 나타내므로 mRNA의 발현양상을 기반으로 한 해석은 실제 체내에서 일어나는 현상과 차이를 보인다는 단점이 있다.

프로테오믹스는 이를 보완하여 단백질 자체의 발현양상을 확인하는 연구방식이다. 개개의 유전자는 alternative splicing, 번역 후 변형(post-translational modification) 등을 통해 더욱 다양한 종류의 단백질을 만들어내기 때문에 프로테오믹스는 제노믹스에 비해 총체적 관점의 연구라 할 수 있다. 프로테오믹스에 관련된 기술의 발전과 함께 학자들의 관심도 제노믹스에서 프로테오믹스로 옮겨가고 있는 추세이다.

마이크로어레이(microarray)를 이용한 연구에서는 여러 유전자의 조합(classifier)을 이용하여 암종을 구분하려는 시도가 많이 이루어진다. 갑상선암의 경우를 살펴보면, Mazzanti 등은 양성 종양(hyperplastic nodule)과 유두암에서 6종의 유전자(C21orf4, Hs.24183, Hs.296031, KIT, LSM7, SYNGR2)의 발현양상 차이를 발견하였고,(*110*) Weber 등은 CCND2, PCSK2, PLAB를 classifier로 이용하여 여포선종과 여포암을 구분하였다.(*111*) Foukakis 등은 TERT, TFF3, PPARG, CITED1, EGR2를 이용하여 예후가 나쁜 여포암을 구분하였다.(*112*) 다른 종양, 특히 유방암 및 폐암에서는 수십 개의 유전자 조합을 이용하여 대규모 환자군을 대상으로 한 연구가 진행된 바 있으며 기존의 예후 예측인자와 명확한 상관관계를 보였지만,(*113,114*) 갑상선암에서는 아직 그와 같은 대규모 연구가 진행된 바 없다.

포로테오믹스(proteomics) 연구도 갑상선암을 비롯한 많은 악성종양의 연구에 사용되고 있다. 특히 유방암 등 일부 암에서는 단백질의 발현양상을 실제 진단, 예후예측, 항암제 반응성 등을 예측하는데 사용하고자 하는 이행성연구(translational reaserch)를 활발하게 진행하고 있다. 갑상선암에서의 연구는 이에 비해 단순비교단계에 머무르고 있는데, Brown 등은 유두암에서 양성종양에 비해 Cathepsin B,

CK19, Gal-3, S100A4, Prx2, HSP70 등의 단백질 발현이 증가함을 보고하였고,(*115*) Netea-Maier 등은 PDIA3, HSP90, Calreticulin, TPO 등의 단백질이 여포암에서 여포선종에 비해 감소함을 보고하였다.(*116*) 기존의 연구가 주로 종양조직에 초점을 맞춘 것이었다면, 인간의 혈액, 침, 소변 등의 체액(body fluid)를 대상으로 진행되는 연구가 앞으로는 더욱 많아질 것으로 여겨진다. 이를 통해 궁극적으로는 프로테오믹스를 이용한 진단법의 개발과 같은 실제 임상에 적용할 수 있는 기술의 발전이 기대된다.

결 론

갑상선암의 발생 및 진행에는 다양한 종류의 유전자 이상이 관여한다. 갑상선암은 분화암(유두암, 여포암)과 저분화암, 그리고 역형성암으로 진행하면서 더욱 악성도가 높은 유전자 이상에 노출되는 것으로 여겨지며, 따라서 종양의 진행과정을 연구하기에 좋은 모델이 된다. 또한 유전자의 재조합으로 인해 갑상선암이 발생하는 경우도 많아 원인에 대한 추가 연구도 필요하다. 유전자 또는 단백질의 발현양상을 갑상선암의 진단 및 예후예측에 이용하고자 하는 연구 또한 활발하다. 갑상선암에서 발생하는 유전자의 이상에 대해 연구하는 것은 궁극적으로 갑상선암의 진단 및 치료를 위한 기반이 된다는 사실에 그 의의가 있다.

REFERENCES

1) Burman KD, Ringel MD, Wartofsky L. Unusual types of thyroid neoplasms. Endocrinol Metab Clin North Am 1996;25:49-68.
2) Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. New insights in thyroid follicular cell biology and its impact in thyroid cancer therapy. Endocr Relat Cancer 2007;14:957-77.
3) Wreesmann V, Singh B. Clinical impact of molecular analysis on thyroid cancer management. Surgical Oncology Clinics of North America 2008;17:1-35.
4) El-Shabrawi Y, Mangge H, Hermann J. Anti-tumour necrosis factor alpha treatment in chronic recurrent inflammation of the anterior segment of the eye in patients resistant to standard immunomodulatory treatment. Ann Rheum Dis 2003;62: 1243-4.
5) Roque L, Rodrigues R, Pinto A, Moura-Nunes V, Soares J. Chromosome imbalances in thyroid follicular neoplasms: a comparison between follicular adenomas and carcinomas. Genes Chromosomes Cancer 2003;36:292-302.
6) Kitamura Y, Shimizu K, Ito K, Tanaka S, Emi M. Allelotyping of follicular thyroid carcinoma: frequent allelic losses in chromosome arms 7q, 11p, and 22q. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:4268-72.
7) Castro P, Eknaes M, Teixeira MR, Danielsen HE, Soares P, Lothe RA, et al. Adenomas and follicular carcinomas of the thyroid display two major patterns of chromosomal changes. J Pathol 2005;206:305-11.
8) Wreesmann VB, Ghossein RA, Hezel M, Banerjee D, Shaha AR, Tuttle RM, et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: genome-wide appraisal of a controversial entity. Genes Chromosomes Cancer 2004;40:355-64.
9) Roque L, Nunes VM, Ribeiro C, Martins C, Soares J. Karyotypic characterization of papillary thyroid carcinomas. Cancer 2001;92:2529-38.
10) Singh B, Lim D, Cigudosa JC, Ghossein R, Shaha AR, Poluri A, et al. Screening for genetic aberrations in papillary thyroid cancer by using comparative genomic hybridization. Surgery 2000;128:888-93;discussion 93-4.
11) Kjellman P, Lagercrantz S, Hoog A, Wallin G, Larsson C, Zedenius J. Gain of 1q and loss of 9q21.3-q32 are associated with a less favorable prognosis in papillary thyroid carcinoma. Genes Chromosomes Cancer 2001;32:43-9.
12) Roque L, Soares J, Castedo S. Cytogenetic and fluorescence in situ hybridization studies in a case of anaplastic thyroid carcinoma. Cancer Genet Cytogenet 1998;103:7-10.
13) Mark J, Ekedahl C, Dahlenfors R, Westermark B. Cytogenetical observations in five human anaplastic thyroid carcinomas. Hereditas 1987;107:163-74.
14) Jenkins RB, Hay ID, Herath JF, Schultz CG, Spurbeck JL, Grant CS, et al. Frequent occurrence of cytogenetic abnormalities in sporadic nonmedullary thyroid carcinoma. Cancer 1990;66:1213-20.
15) Rodrigues RF, Roque L, Krug T, Leite V. Poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinomas: chromosomal and oligo-array profile of five new cell lines. Br J Cancer 2007;96:1237-45.
16) Smallridge RC, Marlow LA, Copland JA. Anaplastic thyroid cancer: molecular pathogenesis and emerging therapies. Endocr Relat Cancer 2009;16:17-44.
17) Rapp UR, Goldsborough MD, Mark GE, Bonner TI, Groffen J, Reynolds FH Jr, et al. Structure and biological activity of v-raf, a unique oncogene transduced by a retrovirus. Proc Natl Acad Sci U S A 1983;80:4218-22.
18) Nucera C, Goldfarb M, Hodin R, Parangi S. Role of B-Raf (V600E) in differentiated thyroid cancer and preclinical validation of compounds against B-Raf (V600E). Biochim Biophys Acta 2009;1795:152-61.
19) Leicht DT, Balan V, Kaplun A, Singh-Gupta V, Kaplun L, Dobson M, et al. Raf kinases: function, regulation and role in human cancer. Biochim Biophys Acta 2007;1773:1196-212.
20) Emuss V, Garnett M, Mason C, Marais R. Mutations of C-RAF are rare in human cancer because C-RAF has a low basal kinase activity compared with B-RAF. Cancer Res 2005;65:9719-26.
21) Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature

2002;417:949-54.
22) Kumar R, Angelini S, Czene K, Sauroja I, Hahka-Kemppinen M, Pyrhonen S, et al. BRAF mutations in metastatic melanoma: a possible association with clinical outcome. Clin Cancer Res 2003;9:3362-8.
23) Nikiforova MN, Stringer JR, Blough R, Medvedovic M, Fagin JA, Nikiforov YE. Proximity of chromosomal loci that participate in radiation-induced rearrangements in human cells. Science 2000;290:138-41.
24) Wan PT, Garnett MJ, Roe SM. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. Cell 2004;116:855-67.
25) Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:5399-404.
26) Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. Endocr Relat Cancer 2005;12:245-62.
27) Chung KW, Yang SK, Lee GK, Kim EY, Kwon S, Lee SH, et al. Detection of BRAFV600E mutation on fine needle aspiration specimens of thyroid nodule refines cyto-pathology diagnosis, especially in BRAF600E mutation-prevalent area. Clin Endocrinol (Oxf) 2006;65:660-6.
28) Jo YS, Li S, Song JH, Kwon KH, Lee JC, Rha SY, et al. Influence of the BRAF V600E mutation on expression of vascular endothelial growth factor in papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:3667-70.
29) Xing M, Vasko V, Tallini G, Larin A, Wu G, Udelsman R, et al. BRAF T1796A transversion mutation in various thyroid neoplasms. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:1365-8.
30) Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:6373-9.
31) Kim TY, Kim WB, Rhee YS, Song JY, Kim JM, Gong G, et al. The BRAF mutation is useful for prediction of clinical recurrence in low-risk patients with conventional papillary thyroid carcinoma. Clin Endocrinol (Oxf) 2006;65:364-8.
32) Riesco-Eizaguirre G, Gutierrez-Martinez P, Garcia-Cabezas MA, Nistal M, Santisteban P. The oncogene BRAF V600E is associated with a high risk of recurrence and less differentiated papillary thyroid carcinoma due to the impairment of Na+/I- targeting to the membrane. Endocr Relat Cancer 2006;13: 257-69.
33) Fecher LA, Cummings SD, Keefe MJ, Alani RM. Toward a molecular classification of melanoma. J Clin Oncol 2007;25: 1606-20.
34) Ugolini C, Giannini R, Lupi C, Salvatore G, Miccoli P, Proietti A, et al. Presence of BRAF V600E in very early stages of papillary thyroid carcinoma. Thyroid 2007;17:381-8.
35) Kim TY, Kim WB, Song JY, Rhee YS, Gong G, Cho YM, et al. The BRAF mutation is not associated with poor prognostic factors in Korean patients with conventional papillary thyroid microcarcinoma. Clin Endocrinol (Oxf) 2005;63:588-93.
36) Mitsutake N, Miyagishi M, Mitsutake S, Akeno N, Mesa C Jr, Knauf JA, et al. BRAF mediates RET/PTC-induced mitogen-activated protein kinase activation in thyroid cells: functional support for requirement of the RET/PTC-RAS-BRAF pathway in papillary thyroid carcinogenesis. Endocrinology 2006;147:1014-9.
37) Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. N Engl J Med 2005;353:2135-47.
38) Frasca F, Nucera C, Pellegriti G, Gangemi P, Attard M, Stella M, et al. BRAF (V600E) mutation and the biology of papillary thyroid cancer. Endocr Relat Cancer 2008;15:191-205.
39) Guan H, Ji M, Bao R, Yu H, Wang Y, Hou P, et al. Association of high iodine intake with the T1799A BRAF mutation in papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:1612-7.
40) Suarez HG. Molecular basis of epithelial thyroid tumorigenesis. C R Acad Sci III 2000;323:519-28.
41) Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. Cell 1985;42: 581-8.
42) Fusco A, Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Pilotti S, Pierotti MA, et al. A new oncogene in human thyroid papillary carcinomas and their lymph-nodal metastases. Nature 1987; 328:170-2.
43) Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Melillo RM, Donghi R, Bongarzone I, et al. PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. Cell 1990;60:557-63.
44) Santoro M, Dathan NA, Berlingieri MT, Bongarzone I, Paulin C, Grieco M, et al. Molecular characterization of RET/PTC3; a novel rearranged version of the RETproto-oncogene in a human thyroid papillary carcinoma. Oncogene 1994;9:509-16.
45) Miyagi E, Braga-Basaria M, Hardy E, Vasko V, Burman KD, Jhiang S, et al. Chronic expression of RET/PTC 3 enhances basal and insulin-stimulated PI3 kinase/AKT signaling and increases IRS-2 expression in FRTL-5 thyroid cells. Mol Carcinog 2004;41:98-107.
46) Ouyang B, Knauf JA, Smith EP, Zhang L, Ramsey T, Yusuff N, et al. Inhibitors of Raf kinase activity block growth of thyroid cancer cells with RET/PTC or BRAF mutations in vitro and in vivo. Clin Cancer Res 2006;12:1785-93.
47) Nikiforov YE. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors. Endocr Pathol 2002;13:3-16.
48) Nikiforov YE. Radiation-induced thyroid cancer: what we have learned from chernobyl. Endocr Pathol 2006;17:307-17.
49) Thomas GA, Bunnell H, Cook HA, Williams ED, Nerovnya A, Cherstvoy ED, et al. High prevalence of RET/PTC

rearrangements in Ukrainian and Belarussian post-Chernobyl thyroid papillary carcinomas: a strong correlation between RET/PTC3 and the solid-follicular variant. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:4232-8.
50) Ishizaka Y, Kobayashi S, Ushijima T, Hirohashi S, Sugimura T, Nagao M. Detection of retTPC/PTC transcripts in thyroid adenomas and adenomatous goiter by an RT-PCR method. Oncogene 1991;6:1667-72.
51) Nikiforova MN, Caudill CM, Biddinger P, Nikiforov YE. Prevalence of RET/PTC rearrangements in Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinomas. Int J Surg Pathol 2002;10:15-22.
52) Wirtschafter A, Schmidt R, Rosen D, Kundu N, Santoro M, Fusco A, et al. Expression of the RET/PTC fusion gene as a marker for papillary carcinoma in Hashimoto's thyroiditis. Laryngoscope 1997;107:95-100.
53) Sheils OM, O'Eary JJ, Uhlmann V, Lattich K, Sweeney EC. Ret/PTC-1 Activation in hashimoto thyroiditis. Int J Surg Pathol 2000;8:185-9.
54) Elisei R, Romei C, Vorontsova T, Cosci B, Veremeychik V, Kuchinskaya E, et al. RET/PTC rearrangements in thyroid nodules: studies in irradiated and not irradiated, malignant and benign thyroid lesions in children and adults. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:3211-6.
55) Fenton CL, Lukes Y, Nicholson D, Dinauer CA, Francis GL, Tuttle RM. The ret/PTC mutations are common in sporadic papillary thyroid carcinoma of children and young adults. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:1170-5.
56) Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. Am J Surg Pathol 2006;30:216-22.
57) Zhu Z, Ciampi R, Nikiforova MN, Gandhi M, Nikiforov YE. Prevalence of RET/PTC rearrangements in thyroid papillary carcinomas: effects of the detection methods and genetic heterogeneity. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:3603-10.
58) Chung KW, Chang MC, Noh DY, Oh SK, Choe KJ, Youn YK. RET oncogene expression of papillary thyroid carcinoma in Korea. Surg Today 2004;34:485-92.
59) Chung JH, Hahm JR, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW, et al. Detection of RET/PTC oncogene rearrangements in Korean papillary thyroid carcinomas. Thyroid 1999;9:1237-43.
60) Knauf JA, Kuroda H, Basu S, Fagin JA. RET/PTC-induced dedifferentiation of thyroid cells is mediated through Y1062 signaling through SHC-RAS-MAP kinase. Oncogene 2003;22:4406-12.
61) Harvey JJ. An unidentified virus which causes the rapid production of tumours in mice. Nature 1964;204:1104-5.
62) Kirsten WH, Mayer LA. Morphologic responses to a murine erythroblastosis virus. J Natl Cancer Inst 1967;39:311-35.
63) Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, et al. ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. J Clin Oncol 2003;21:3226-35.
64) Nikiforov YE. Genetic alterations involved in the transition from well-differentiated to poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinomas. Endocr Pathol 2004;15:319-27.
65) Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, Farr CJ, Hughes D, Padua RA, et al. Activated ras oncogenes in human thyroid cancers. Cancer Res 1988;48:4459-63.
66) Namba H, Rubin SA, Fagin JA. Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis. Mol Endocrinol 1990;4:1474-9.
67) Vitagliano D, Portella G, Troncone G, Francione A, Rossi C, Bruno A, et al. Thyroid targeting of the N-ras(Gln61Lys) oncogene in transgenic mice results in follicular tumors that progress to poorly differentiated carcinomas. Oncogene 2006;25:5467-74.
68) Hihi AK, Michalik L, Wahli W. PPARs: transcriptional effectors of fatty acids and their derivatives. Cell Mol Life Sci 2002;59:790-8.
69) Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, Chen CJ, Mueller E, Spiegelman BM, et al. PAX8-PPARgamma1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma [corrected]. Science 2000;289: 1357-60.
70) Marques AR, Espadinha C, Frias MJ, Roque L, Catarino AL, Sobrinho LG, et al. Underexpression of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma in PAX8/PPARgamma-negative thyroid tumours. Br J Cancer 2004;91:732-8.
71) French CA, Alexander EK, Cibas ES, Nose V, Laguette J, Faquin W, et al. Genetic and biological subgroups of low-stage follicular thyroid cancer. Am J Pathol 2003;162: 1053-60.
72) Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW 2nd, Tallini G, et al. RAS point mutations and PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:2318-26.
73) Kim KY, Ahn JH, Cheon HG. Apoptotic action of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation in human non small-cell lung cancer is mediated via proline oxidase-induced reactive oxygen species formation. Mol Pharmacol 2007;72: 674-85.
74) Govindarajan R, Ratnasinghe L, Simmons DL, Siegel ER, Midathada MV, Kim L, et al. Thiazolidinediones and the risk of lung, prostate, and colon cancer in patients with diabetes. J Clin Oncol 2007;25:1476-81.
75) Martelli ML, Iuliano R, Le Pera I, Sama I, Monaco C, Cammarota S, et al. Inhibitory effects of peroxisome poliferator-activated receptor gamma on thyroid carcinoma cell growth. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:4728-35.
76) Giordano TJ, Au AY, Kuick R, Thomas DG, Rhodes DR, Wilhelm KG Jr, et al. Delineation, functional validation, and

bioinformatic evaluation of gene expression in thyroid follicular carcinomas with the PAX8-PPARG translocation. Clin Cancer Res 2006;12:1983-93.
77) Garcia-Rostan G, Costa AM, Pereira-Castro I, Salvatore G, Hernandez R, Hermsem MJ, et al. Mutation of the PIK3CA gene in anaplastic thyroid cancer. Cancer Res 2005;65: 10199-207.
78) Singh B, Reddy PG, Goberdhan A, Walsh C, Dao S, Ngai I, et al. p53 regulates cell survival by inhibiting PIK3CA in squamous cell carcinomas. Genes Dev 2002;16:984-93.
79) Robertson GP. Functional and therapeutic significance of Akt deregulation in malignant melanoma. Cancer Metastasis Rev 2005;24:273-85.
80) Kada F, Saji M, Ringel MD. Akt: a potential target for thyroid cancer therapy. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2004;4:181-5.
81) Ollikainen M, Gylling A, Puputti M, Nupponen NN, Abdel-Rahman WM, Butzow R, et al. Patterns of PIK3CA alterations in familial colorectal and endometrial carcinoma. Int J Cancer 2007;121:915-20.
82) Davies MA, Stemke-Hale K, Tellez C, Calderone TL, Deng W, Prieto VG, et al. A novel AKT3 mutation in melanoma tumours and cell lines. Br J Cancer 2008;99:1265-8.
83) Liu Z, Hou P, Ji M, Guan H, Studeman K, Jensen K, et al. Highly prevalent genetic alterations in receptor tyrosine kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/akt and mitogen-activated protein kinase pathways in anaplastic and follicular thyroid cancers. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:3106-16.
84) Carpten JD, Faber AL, Horn C, Donoho GP, Briggs SL, Robbins CM, et al. A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer. Nature 2007;448:439-44.
85) 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.
86) Alvarez-Nunez F, Bussaglia E, Mauricio D, Ybarra J, Vilar M, Lerma E, et al. PTEN promoter methylation in sporadic thyroid carcinomas. Thyroid 2006;16:17-23.
87) Hou P, Liu D, Shan Y, Hu S, Studeman K, Condouris S, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer. Clin Cancer Res 2007;13:1161-70.
88) Halachmi N, Halachmi S, Evron E, Cairns P, Okami K, Saji M, et al. Somatic mutations of the PTEN tumor suppressor gene in sporadic follicular thyroid tumors. Genes Chromosomes Cancer 1998;23:239-43.
89) Wu G, Mambo E, Guo Z, Hu S, Huang X, Gollin SM, et al. Uncommon mutation, but common amplifications, of the PIK3CA gene in thyroid tumors. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:4688-93.
90) Ringel MD, Hayre N, Saito J, Saunier B, Schuppert F, Burch H, et al. Overexpression and overactivation of Akt in thyroid carcinoma. Cancer Res 2001;61:6105-11.
91) Vasko V, Saji M, Hardy E, Kruhlak M, Larin A, Savchenko V, et al. Akt activation and localisation correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer. J Med Genet 2004;41:161-70.
92) Yeager N, Klein-Szanto A, Kimura S, Di Cristofano A. Pten loss in the mouse thyroid causes goiter and follicular adenomas: insights into thyroid function and Cowden disease pathogenesis. Cancer Res 2007;67:959-66.
93) Wang Y, Hou P, Yu H, Wang W, Ji M, Zhao S, et al. High prevalence and mutual exclusivity of genetic alterations in the phosphatidylinositol-3-kinase/akt pathway in thyroid tumors. J Clin Endocrinol Metab 2007;92:2387-90.
94) Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. Science 1991;253:49-53.
95) Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. Cell 1992;70:523-6.
96) Freedman DA, Wu L, Levine AJ. Functions of the MDM2 oncoprotein. Cell Mol Life Sci 1999;55:96-107.
97) Jin S, Levine AJ. The p53 functional circuit. J Cell Sci 2001;114:4139-40.
98) Tao W, Levine AJ. P19(ARF) stabilizes p53 by blocking nucleo-cytoplasmic shuttling of Mdm2. Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96:6937-41.
99) Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. Nat Med 2004;10:789-99.
100) Donghi R, Longoni A, Pilotti S, Michieli P, Della Porta G, Pierotti MA. Gene p53 mutations are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. J Clin Invest 1993;91:1753-60.
101) Boltze C, Roessner A, Landt O, Szibor R, Peters B, Schneider-Stock R. Homozygous proline at codon 72 of p53 as a potential risk factor favoring the development of undifferentiated thyroid carcinoma. Int J Oncol 2002;21: 1151-4.
102) Saltman B, Singh B, Hedvat CV, Wreesmann VB, Ghossein R. Patterns of expression of cell cycle/apoptosis genes along the spectrum of thyroid carcinoma progression. Surgery 2006;140:899-905; discussion 05-6.
103) Onel K, Cordon-Cardo C. MDM2 and prognosis. Mol Cancer Res 2004;2:1-8.
104) La Perle KM, Jhiang SM, Capen CC. Loss of p53 promotes anaplasia and local invasion in ret/PTC1-induced thyroid carcinomas. Am J Pathol 2000;157:671-7.
105) Mulholland DJ, Dedhar S, Coetzee GA, Nelson CC. Interaction of nuclear receptors with the Wnt/beta-catenin/Tcf signaling axis: Wnt you like to know? Endocr Rev 2005;26:898-915.
106) Van Aken E, De Wever O, Correia da Rocha AS, Mareel M. Defective E-cadherin/catenin complexes in human cancer. Virchows Arch 2001;439:725-51.
107) Garcia-Rostan G, Camp RL, Herrero A, Carcangiu ML,

Rimm DL, Tallini G. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. Am J Pathol 2001;158: 987-96.

108) Garcia-Rostan G, Tallini G, Herrero A, D'Aquila TG, Carcangiu ML, Rimm DL. Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. Cancer Res 1999;59:1811-5.

109) Kurihara T, Ikeda S, Ishizaki Y, Fujimori M, Tokumoto N, Hirata Y, et al. Immunohistochemical and sequencing analyses of the Wnt signaling components in Japanese anaplastic thyroid cancers. Thyroid 2004;14:1020-9.

110) Mazzanti C, Zeiger MA, Costouros NG, Umbricht C, Westra WH, Smith D, et al. Using gene expression profiling to differentiate benign versus malignant thyroid tumors. Cancer Res 2004;64:2898-903.

111) Weber F, Shen L, Aldred MA, Morrison CD, Frilling A, Saji M, et al. Genetic classification of benign and malignant thyroid follicular neoplasia based on a three-gene combination. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:2512-21.

112) Foukakis T, Gusnanto A, Au AY, Hoog A, Lui WO, Larsson C, et al. A PCR-based expression signature of malignancy in follicular thyroid tumors. Endocr Relat Cancer 2007;14: 381-91.

113) Fan C, Oh DS, Wessels L, Weigelt B, Nuyten DS, Nobel AB, et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. N Engl J Med 2006;355:560-9.

114) Wang Y, Klijn JG, Zhang Y, Sieuwerts AM, Look MP, Yang F, et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. Lancet 2005; 365:671-9.

115) Brown LM, Helmke SM, Hunsucker SW, Netea-Maier RT, Chiang SA, Heinz DE, et al. Quantitative and qualitative differences in protein expression between papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue. Mol Carcinog 2006;45: 613-26.

116) Netea-Maier RT, Hunsucker SW, Hoevenaars BM, Helmke SM, Slootweg PJ, Hermus AR, et al. Discovery and validation of protein abundance differences between follicular thyroid neoplasms. Cancer Res 2008;68:1572-80.