

갑상샘 유두암종에서 S100A4 및 COX2 발현과 침윤성과의 관련성

가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실, 외과학교실¹, 제주대학교 의과대학 병리학교실²

이경지 · 이연수 · 이교영 · 박우찬¹ · 김영실²

Correlation between S100A4 and COX2 Overexpression and Invasiveness of Papillary Thyroid Carcinoma

Kyungji Lee, Youn Soo Lee, Kyo-Young Lee, Woo-Chan Park¹, Young Sil Kim²

Department of Hospital Pathology, Department of Surgery¹, College of Medicine, The Catholic University of Korea; and Department of Pathology², University of Jeju

ABSTRACT

Purpose: Tumor cell invasion is characteristic of malignant neoplasms. S100A4, a member of a family of small calcium binding proteins, and COX2, seem to have a role in promoting progression and invasion of many human cancers. The clinical stage of a papillary thyroid carcinoma (PTC) depends on age, tumor size, and extrathyroidal extension. Extrathyroidal extension is correlated with the invasiveness of a tumor. However, there are no reliable prediction markers for invasiveness. We evaluated S100A4 and COX2 expression in PTCs to determine if expression correlates with invasiveness, and if expression of S100A4 and COX2 are useful as prediction markers.

Methods: The expression of S100A4 and COX2 were evaluated using immunohistochemical analysis in 35 PTC specimens.

Results: More intense staining in cells that invaded the front portion rather than the central portion of a PTC was indicative of increased expression of S100A4 and COX2. Therefore, cases were analyzed for extent of staining in tumor cells that invaded the front portion of a PTC. High expression group (higher expression than average expression rate) of S100A4 and COX2 were significantly correlated with extrathyroidal extension ($P = 0.0094$ and $P = 0.0433$, respectively). However, no other clinicopathological factors including age, lymph node involvement, and multiplicity were related to expression of S100A4 and COX2, as determined in this study.

Conclusion: Extrathyroidal extension of a PTC had an unfavorable effect on prognosis. S100A4 and COX2 expression were associated with extrathyroidal extension. These findings suggest that expression of S100A4 and COX2 could be prognostic markers for PTC. (J Korean Endocr Soc 23:186~192, 2008)

Key Words: cyclooxygenase2, papillary thyroid carcinoma, S100A4

서 론

갑상선 암종은 2002년 한국 중앙 암 등록 자료에 의하면 한국인에서 발생하는 모든 암종 중 4.9%를 차지하며 10년 생존율은 제1병기 98.3%, 제2병기 84.3%, 제3병기 70%, 제4병기 39.1%이다. 갑상선 암종 중 대부분은 유두암이고 10년 생존율이 다른 암종에 비하여 좋다. 소수의 환자에서

접수일자: 2007년 7월 31일

통과일자: 2008년 3월 17일

책임저자: 이연수, 가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실

*본 논문은 제주대학원 임상연구비에 의해 이루어진 것입니다.

재발이나 전이가 발생하는 등 좋지 않은 예후를 보일 수 있다. 현재까지 가장 많이 사용되는 갑상선 유두암의 예후 인자로는 TNM 분류가 있으며 그 외에 나이, 암종의 크기, 암종의 갑상선의 조직 침윤, 림프절 전이, 원격 전이 등이 예후에 안 좋은 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다[1].

S100A4는 세포의 성장, 이동, 세포 주기, 전사, 분화 등의 세포 내 과정을 조절하는 S100 칼슘 결합 단백질 중 하나이다[2]. 시험관 내 연구를 통해 S100A4를 핵산전달감염(transfection)시킨 암종 세포 중에서 전이가 증가한다는 보고가 처음 있었으며[3], 그 뒤로 암종의 성장과 침윤에도 관여한다는 사실들이 알려지면서 유방[4], 대장[5], 전립선[6], 식도[7], 담낭[8], 방광[9], 췌장[10] 및 위[11]에서 발생한 암종에서 S100A4와 나쁜 예후의 관련성이 보고되었다[3].

S100A4와 더불어 COX2도 발암(carcinogenesis)과정 중 일부가 침윤성에 관여하는 것으로 알려져 있다. COX2는 cyclooxygenase의 아이소형(isoform) 중 하나로 arachidonic acid로부터 prostaglandin을 형성한다. 암세포의 침윤성 증가, 신생 혈관 생성자극, 세포자멸사 억제, 세포 증식 자극 등으로 발암 과정을 촉진시킨다[12].

갑상선 유두암에서 갑상선의 조직으로의 침윤이 흉골 갑상근 또는 갑상선외 연부조직으로 관찰되면 크기에 상관없이 높은 T 병기(T3)를 가지게 되며, 이는 지금까지 예후 관련 인자로 가장 잘 알려진 TNM분류에 따라 재발이나 생존율이 좋지 않을 것으로 간주할 수 있다. 따라서 갑상선 유두암의 예후에 관련된 것으로 알려진 침윤성을 살펴볼 수 있는 S100A4와 COX2의 발현정도를 관찰하여 이들의 예후 표지자로서의 유용성을 알아보려고 하였다.

방 법

1. 연구 재료

2005년 9월부터 2006년 1월까지 가톨릭의대 성모병원에 서 갑상선 유두암으로 갑상선전절제술을 시행 받은 35명의 조직 슬라이드를 재검토하고 대상 환자의 의무기록조사를 통해 나이, 성별 등의 임상 양상과 갑상선의 조직 침윤 등을 포함하는 American Joint Committee on Cancer의 기준에[13] 따라 TNM기를 조사하였다.

2. 연구 방법

1) 형태학적 검사

갑상선 조직의 광학현미경적 소견(헤마톡실린-에오신 염색)을 암종의 크기, 갑상선 외 조직으로의 침윤, 림프절 전이 유무, 암종의 다발성 유무 등의 항목에 중점을 두어 재검토 하였다.

2) 면역조직화학염색

암종 부위에서 제작된 paraffin block에서 5 μ m 두께의 절편을 얻어 probe on plus slide에 부착하여 다음과 같이 면역조직화학염색을 시행하였다. 해당 검체의 림프절 전이 부위에서는 면역조직화학염색을 시행하지 않았다. 조직절편을 부착한 슬라이드를 60℃ 오븐에 1시간 넣은 후 자일렌으로 실온에서 5분간 3회 반복 처리하여 파라핀을 제거하였다. 그런 다음 100% 알코올로 5분씩 3회 처리한 다음, 10% citrate buffer에 담귀 120℃ 고압기에서 20분간 방치하고 다시 실온에서 20분간 방치하였다. 조직 내의 내인성 과산화 효소를 제거하기 위하여 3% 과산화수소 용액에 실온에서 10분간 반응시켰다. 이어 세척 완충액으로 10분간 중화시켰다. 일차 항체는 S100A4 (1:4000, DAKO, Glostrup, Denmark), COX2 (1:1600, Cayman chemical company, Ann Arbor, Mich)를 사용하여 조직 위에 떨어뜨린 후 실온에서 1시간 30분간 반응시켰다. 세척 완충액으로 3분씩 3회 수세한 후 Biotinylated secondary antibody와 streptavidin-HRP conjugate (DAKO LSAB Kit, K0675)를 각 10분간 처리하여 수세하고 DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride solution)으로 5분간 발색하고 증류수로 세척 후 Meyer's hematoxylin으로 대조 염색을 하였다.

3) 결과 판독 기준

면역조직화학염색 결과의 판독은 암종의 침윤부위 중 최전방 부위에서 핵 또는 세포질에 붉은 갈색으로 발현되는 경우를 양성으로 하였다. 이 때 핵 또는 세포질에 비교적 균일하게 염색된 것만을 판독하였고 발현율은 이 부위에서 암종 세포 중 염색된 세포의 수를 백분율로 표시하였다. 각 단백의 평균 발현율을 확인 후 이 발현율을 중심으로 높은 발현군과 낮은 발현군으로 분류하였다.

4) 통계 분석

성별, 연령, T기, 갑상선의 조직으로의 침윤, 림프절 전이, 다발성 유무에 따른 각 단백질의 발현율 차이를 SAS 8.01을 사용하여 chi-square test와 fisher's exact test를 사용하여 분석하였고 유의수준을 $P < 0.05$ 로 하였다.

결 과

1. 임상-병리조직학적 소견

총 35명의 연령 분포는 29세에서 69세로 평균 연령은 45세였다. 이 중 여자는 24명, 남자는 11명이었다. American Joint Committee on Cancer의 기준에[13] 따라 T기별로 나누면 pT1 10명, pT2 2명, pT3 23명이었고 pT4a나 pT4b군은 없었다. 갑상샘외 조직 침윤은 24명(68.6%)에서 림프절 전이는 8명(N1a and N1b; 22%)에서, 암종의 다발성은 9명

Table 1. Summary of clinical data and pathological features

No	Sex	Age	Size	ET ext [†]	LN meta [‡]	Multi [§]	pT stage	% reactive COX2 cells II	% reactive S100A4 cells II
1	F	42	1.5	Y	N	N	pT3	35	30
2	F	66	1.0	N	N	N	pT1	10	1
3	F	46	0.8	Y	N	N	pT3	30	8
4	F	44	0.5	Y	N	N	pT3	15	40
5	F	29	1.0	Y	Y	N	pT3	10	40
6	F	46	0.6	Y	Y	Y	pT3	14	20
7	F	59	0.7	N	N	N	pT1	11	20
8	F	52	0.8	Y	N	Y	pT3	8	20
9	F	62	1.2	N	N	N	pT1	15	15
10	F	71	1.7	Y	N	N	pT3	25	40
11	M	44	0.8	Y	N	N	pT3	24	30
12	M	46	1.2	N	N	Y	pT1	5	18
13	M	29	1.5	N	N	N	pT1	12	3
14	F	35	2.0	N	N	N	pT2	2	8
15	F	39	3.0	Y	N	N	pT3	20	35
16	F	32	1.5	Y	N	N	pT3	20	15
17	F	60	0.8	Y	N	Y	pT3	30	12
18	F	40	1.5	Y	N	N	pT3	20	30
19	F	35	0.5	N	Y	Y	pT1	16	50
20	F	47	1.1	Y	N	N	pT3	21	25
21	F	48	1.3	Y	N	N	pT1	5	4
22	F	54	0.7	Y	N	Y	pT3	25	17
23	M	38	1.5	N	N	N	pT1	20	12
24	M	31	2.0	Y	Y	N	pT3	30	18
25	F	39	1.0	Y	Y	N	pT3	14	40
26	M	42	1.5	Y	N	Y	pT3	21	35
27	F	39	1.0	N	N	N	pT1	15	14
28	F	37	0.5	N	N	N	pT1	1	1
29	F	36	3.0	Y	Y	N	pT3	16	8
30	F	54	0.4	Y	N	N	pT3	17	21
31	M	32	2.0	N	Y	N	pT2	10	15
32	M	49	0.6	Y	Y	Y	pT3	19	10
33	M	42	0.3	Y	N	N	pT3	15	25
34	M	61	3.0	Y	N	Y	pT3	22	49
35	M	50	1.0	Y	N	N	pT3	30	4

* unit; cm. † ET ext; extrathyroidal extension by AJCC criteria. ‡ LN meta; lymph node metastasis. § multi; multiplicity. || The proportion of positive cells was calculated based on evaluation 100 malignant cells around invading fronts.

(25%)에서 관찰되었다. 갑상선 유두암의 병리학적 아형은 모두 전형적인 형태였다. Table 1에 각 증례의 임상 및 병리조직학적 특성을 요약하였다.

2. 면역조직화학염색 결과와 임상-병리조직학적 인자들과 상관관계

S100A4와 COX2단백은 암종의 침윤 부위 최전방에서

핵 또는 세포질에 염색이 진하게 되고(Fig. 1), 암종의 중심 부에서는 염색이 되지 않거나 흐리게 염색이 되었다. S100A4와 COX2의 발현율은 암종의 침윤 부위에서 평균 21%와 17%이었다. S100A4와 COX2 발현율이 갑상선 유두암의 임상-병리조직학적 특성과의 관련성 여부는 Table 2와 Table 3에 각각 요약하였다. 이 중 갑상선의 조직 침윤의 유무와 각 단백질의 발현율을 비교해본 결과 S100A4는 높은

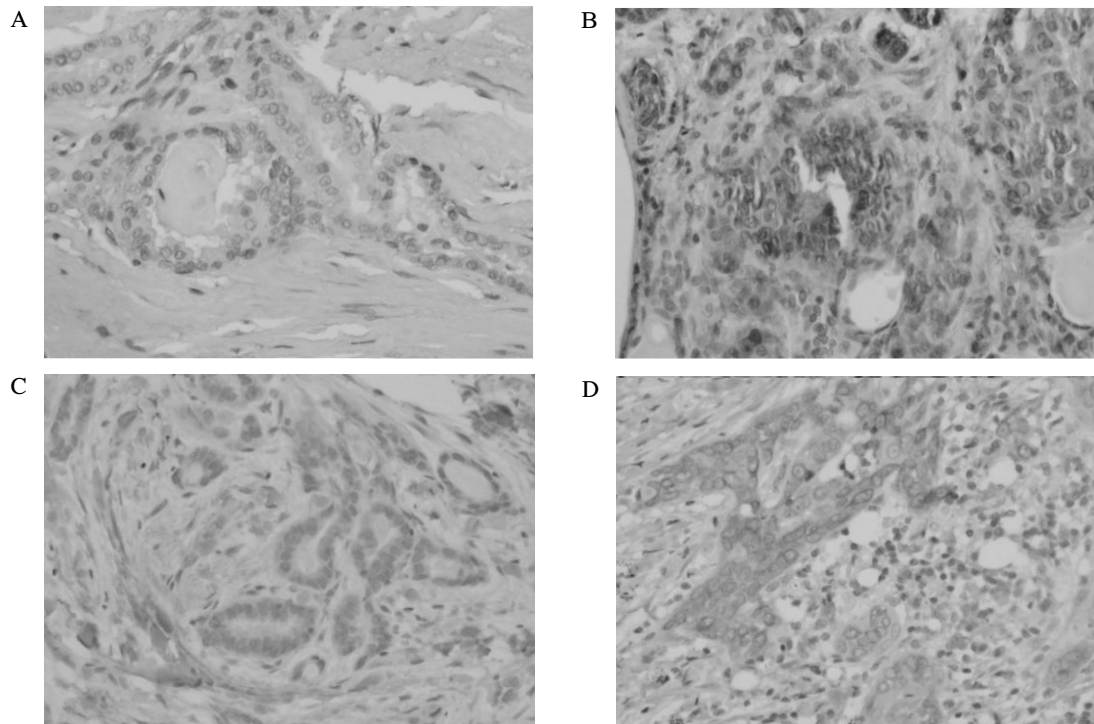


Fig. 1. S100A4 and COX2 immunostaining in papillary thyroid carcinoma. It is noted few positive cells in well defined mass (a, S100A4, X200) (c, COX2, X200). There are many strong cytoplasmic or nuclear positive cells in invading fronts (b, S100A4, X200) (d, COX2, X200).

Table 2. Relationship between S100A4 expression and the clinicopathological parameters

	High expression group	Low expression group	Total
Tumor size			
≤ 1.0 cm	7	11	18
> 1 cm. 4 cm ≥	7	10	17
> 4.0 cm	0	0	0
Lymph node metastasis			
Absent	10	17	27
Present	3	5	8
Multiplicity			
Absent	11	15	26
Present	3	6	9
pT stage			
1	1	9	10
2	0	2	2
3	13	10	23
Extrathyroidal extension			
Absent	1	10	11
Present	13	11	24

발현군에서 갑상선의 조직 침윤이 있는 경우가 13명이었고 침윤이 없는 경우는 1명이었으며 COX2는 높은 발현군에서 갑상선의 조직 침윤이 있는 경우가 16명 이었으며 침윤이 없는 경우는 역시 1명으로서 S100A4와 COX2 단백질이 모두

높은 발현군에서 갑상선의 조직 침윤이 통계적으로 유의하게 많았다(각각 $P = 0.0094$ 과 $P = 0.0433$). S100A4와 COX2 단백질 모두 높은 발현군인 경우는 9명으로 이들 모두 갑상선의 조직침윤이 있었으며 S100A4, COX2 중 하나만

Table 3. Relationship between COX2 expression and the clinicopathological parameters

	High expression group	Low expression group	Total
Tumor size			
≤ 1.0 cm	7	11	18
> 1 cm. 4 cm ≥	10	7	17
> 4.0 cm	0	0	0
Lymph node metastasis			
Absent	15	12	27
Present	2	6	8
Multiplicity			
Absent	12	14	26
Present	5	4	9
pT stage			
1	1	9	10
2	0	2	2
3	16	7	23
Extrathyroidal extension			
Absent	1	10	11
Present	16	8	24

높게 발현된 경우는 13명으로 이 중 11명이 침윤이 관찰되었다. 하지만 S100A4, COX2 모두 높게 발현되지 않은 나머지 13명의 경우는 이 중 4명만이 침윤이 관찰되었으나 통계적으로 유의하지 않았다. 또한 S100A4와 COX2의 발현을 간의 연관성도 확인되지 않았다. 그 외 암종의 크기, 림프절 전이, 다발성 유무, T기는 S100A4와 COX2의 발현을과는 통계적 유의성이 없었다.

고 찰

갑상선암은 다른 암종에 비해 예후가 좋은 것으로 알려져 있다. 하지만 추적 검사를 통해 관찰해 보면 공격적인 성향의 암종을 보이는 환자도 많다[1]. 그래서 가장 잘 알려진 TNM 분류법을 포함하여, 재발을 유발하거나 생존을 감소에 영향을 끼치는 보조적인 예후 지표들이 필요하다.

Anderson 등[14]은 1,012명의 갑상선암 중 갑상선의 조직으로의 침윤이 있는 79명(8%)에서 치료의 실패, 재발 및 원격 전이 증가, 높은 사망률이 유의하게 나타남을 보고 하였다. 또한 Hermanek[15]이나 DeGroot 등[16]은 갑상선의 조직 침윤이 있을 때 재발과 사망률이 증가한다고 하였다. 따라서 갑상선의 조직 침윤이 있을 때 암종의 크기와 관계없이 갑상선의 연부 조직 등 최소한의 갑상선 외 조직 침윤이 있을 때는 T3, 갑상선 피막 이상의 피하연부조직, 후두, 기관지, 식도, 되돌이 후두 신경에 종양 침범이 있을 때는 T4a의 높은 T병기를 갖게 되며, 갑상선 외 조직 침윤을 나타내는 지표가 암종의 예후 인자로 중요한 것으로 생각된다.

S100A4는 칼슘 결합 단백질로, 핵산전달감염시킨 세포주

에서 여러 가지 세포골격단섬유(cytoskeletal filament)와 반응하여 세포의 이동성과 비례하여 증가하며, 이러한 세포의 이동성 증가는 암종의 침윤과 전이를 촉진시키게 된다[2]. S100A4의 발현을 면역조직화학염색을 이용하여 관찰할 수 있는데 암세포 외에 림프구, 가지 세포 (dendritic cell), 포식 세포, 평활근세포 등 다양한 세포에 염색이 되므로 내부 대조군으로 이들 세포를 이용한다[17].

갑상선 유두암에서 S100A4의 발현은 임상-병리조직학적 특성과 관련이 없이 모든 예에서 양성을 보이나[3], 염색이 되는 부분이 주로 암종의 중심부 보다는 침윤 부위 최전방에 발현되고 원발 병소보다는 전이된 곳에서 더 진하게 염색이 된다는 보고가 있으며[17], 대장암의 침윤부위 최전방에서 S100A4[18]나 S100A6[19]의 발현 강도가 높게 관찰된다는 보고가 있는데 이 최전방 부위에서는 암세포들의 연결성이 떨어져 단독 세포로 존재하고 있으며 이 세포들에서 발현율이 높게 관찰되었다. Kohya 등[20]은 세포 연결 인자 중의 하나인 E-cadherin이 S100A4관련 유전자인 *mts1* 유전자를 억제하여 최전방 침윤부위에 연결이 떨어진 세포에서는 E-cadherin의 발현이 감소되고 따라서 *mts1* 유전자 억제가 소실되어 관련 단백질인 S100A4의 발현이 증가한다고 보고하였다. 또한 Zou 등[21]은 갑상선암 세포주를 이용한 microarray 분석에서 암종이 진행된 경우와 림프절 전이가 있는 표본인 경우 S100A4 발현이 증가하여 갑상선암의 진행과 전이와 관련이 있을 것이라고 하였다. 본 연구에서도 35예 모두에서 S100A4의 발현이 있었으나 침윤 부위에서 그 수가 유의하게 증가되어 관찰되었다. 그러나 본 연구와 달리 Ito 등[13]은 역형성 암종으로 전환된 경우 S100A4의

발현정도가 유의하게 감소되어 S100A4는 오히려 암종의 초기 진행 단계에 관련하는 것으로 추측하였다[3]. S100A4의 발현이 많은 암종에서 전이와 관련이 있다는 현재까지의 연구 결과와 달리 본 연구에서는 S100A4의 발현이 림프절 전이와 상관관계가 없었는데 이는 갑상선 유두암의 전이에는 또 다른 추가 요인이 관여할 것으로 생각된다.

COX2는 갑상선에 생기는 암종 중 다른 표현형 보다는 유두암에서 발현 정도가 유의하게 높다[22]. 그러나 정상 갑상선 조직이나 갑상선염과 같은 염증의 경우도 발현이 될 수 있고, 정상 조직과 갑상선 유두암에서 COX2 발현 정도의 차이가 통계적으로 유의하지 않다는 보고나[23], 유두암의 30.8%에서는 COX2 발현이 되지 않는 점만[24] 예후 지표로서 논의의 여지가 있다. 하지만 정상이나 양성 또는 악성 암종에서보다 분화가 좋은 갑상선 유두암에서 발현이 증가하는 것은 COX2가 양성에서 악성으로 진행하는데 관련 있는 것으로 간주된다[12]. 또한 나이가 많을수록, 암종의 크기가 클수록, 위성 암종일수록 (satellite tumor) 발현이 감소하는 것도 이를 뒷받침한다[22]. 따라서 COX2의 발현이 증가하는 것이 분화가 좋은 암종의 진행을 관찰하는 지표가 될 수 있다.

또한 COX2는 발암과정 중 주변 조직으로 침윤을 촉진시킨다. Singh 등[25]은 COX2를 핵산 전달 감염시킨 MDA-231 세포(breast cancer cell)에서 proinflammatory plasminogen activator (proUPA)가 비례하여 상승하면서 세포의 이동성이 증가한다고 하였다. ProUPA는 세포외 기질을 분해시키고 세포골격의 변화와 관련된 UPA receptor/integrin 결합체와 결합하여 세포의 이동성을 증가시켜 침윤에 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 S100A4와 동일하게 암종의 중심부 보다는 침윤부에서 발현 정도가 높았고 이는 조직의 침윤에 COX2가 관여하는 것을 보여주며 통계적으로도 유의한 관련이 있었다.

의 중심부 보다는 침윤부에서 발현 정도가 높았고 이는 조직의 침윤에 COX2가 관여하는 것을 보여주며 통계적으로도 유의한 관련이 있었다.

그러므로 본 연구에서 S100A4와 COX2 발현 정도와 갑상선외 조직 침윤과의 연관성이 있음이 확인되었으므로 예후에 중요한 조직 침윤성을 살필 수 있는 예측 인자로서의 가능성을 가지고 있다고 생각할 수 있다.

요 약

목적: 종양세포의 침윤은 악성 종양의 특징으로서 S100A4와 COX2는 많은 종양에서 종양의 진행과 침윤에 관련되어 있는 것으로 알려져 있다. 갑상선 유두암의 임상 병기는 연령, 종양의 크기, 갑상선의 조직 침윤에 따라 분류되는데 이 중 갑상선외 조직 침윤이 종양의 침습성과 관련이 있다. 하지만 아직 이에 대한 확실한 예측 표지자는 알려져 있지 않다. 이에 S100A4와 COX2가 갑상선 유두암의 진행과 침윤에 관련이 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법: 저자들은 35명의 갑상선 유두암 검체에서 면역조직화학염색을 시행하여 S100A4와 COX2의 발현을 평가하고 암종의 크기, 림프절 전이, 다발성, 갑상선외 조직 침윤 등을 포함한 다른 임상-병리조직학적 특성과 관련성이 있는지 조사하였다.

결과: S100A4와 COX2 발현율은 암종의 중심부 보다는 침윤 부위 최전방에서 더 높게 관찰되었다. S100A4와 COX2 발현율이 높은 군과 갑상선외 조직 침윤이 각각 통계적으로 유의하게 관련성이 있었다(각각 $P = 0.0094$, $P = 0.0433$). 하지만 암종의 크기, 림프절 전이, 다발성 등을 포함한 다른 임상-병리조직학적 특성과는 관련성이 없었다.

결론: 갑상선 유두암의 나쁜 예후와 관련이 있는 갑상선외 조직 침윤이 S100A4와 COX2 발현율과 관련이 있으므로 S100A4와 COX2 발현율은 갑상선 유두암의 예측 표지자로 이용될 수 있는 가능성이 있다.

참 고 문 헌

1. Siironen P, Louhimo J, Nordling S, Ristimäki A, Maenpää H, Haapiainen R, Caj H: Prognostic factors in papillary thyroid cancer: an evaluation of 601 consecutive patients. *Tumor Biol* 26:57-64, 2005
2. Barraclough R: Calcium-binding protein S100A4 in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1448:190-199, 1998
3. Ito Y, Yoshida H, Tomoda C, Urano T, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Kakudo K, Kuma K, Miyauchi A: S100A4 expression is an early event of papillary carcinoma of the thyroid. *Oncology* 67:397-402, 2004
4. Rudland PS, Platt-Higgins A, Renshaw C, West CR, Winstanley JH, Robertson L, Barraclough R: Prognostic significance of the metastasis-inducing protein S100A4(p9K) in human breast cancer. *Cancer Res* 60:1595-1603, 2000
5. Takenaga K, Nakanishi H, Wada K, Suzuki M, Matsuzaki O, Matsuura A, Endo H: Increased expression of S100A4, a metastasis-associated gene, in human colorectal adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 3:2309-2316, 1997
6. Gupta S, Hussain T, MacLennan GT, Fu P, Patel J, Mukhtar H: Differential expression of S100A2 and S100A4 during progression of human prostate adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 21:106-112, 2003
7. Ninomiya I, Ohta T, Fushida S, Endo Y, Hashimoto T, Yagi M, Fujimura T, Nishimura G, Tani T,

- Shimizu K, Yonemura Y, Heizmann CW, Schfer BW, Sasaki T, Miwa K: Increased expression of S100A4 and its prognostic significance in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 18:715-720, 2001
8. Nakamura T, Ajiki T, Murao S, Kamigaki T, Maeda S, Ku Y, Kuroda Y: Prognostic significance of S100A4 expression in gallbladder cancer. *Int J Oncol* 20:937-941, 2002
9. Davies BR, O'Donnell M, Durkan GC, Rudland PS, Barraclough R, Neal DE, Mellon JK: Expression of S100A4 protein is associated with metastasis and reduced survival in human bladder cancer. *J Pathol* 196:292-299, 2002
10. Rosty C, Ueki T, Argani P, Jansen M, Yeo CJ, Cameron JL, Hruban RH, Goggins M: Overexpression of S100A4 in pancreatic ductal adenocarcinoma is associated with poor differentiation and DNA hypomethylation. *Am J Pathol* 160:45-50, 2002
11. Cho YG, Nam SW, Kim TY, Kim YS, Kim CJ, Park JY, Lee JH, Kim HS, Lee JW, Park CH, Song YH, Lee SH, Yoo NJ, Lee JY, Park WS: Overexpression of S100A4 is closely related to the aggressiveness of gastric cancer. *APMIS* 111:539-545, 2003
12. Lee HM, Baek SK, Kwon SY, Jung KY, Chae SW, Hwang SJ, Woo JS, Lee JY: Cyclooxygenase 1 and 2 expressions in the human thyroid gland. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 263:199-204, 2006
13. Greene, Frederick L: *AJCC cancer staging manual*, sixth edition. p67-72, Berlin: Springer-Verlag, 2006
14. Andersen PE, Kinsella J, Loree TR, Shaha AR, Shah JP: Differentiated carcinoma of the thyroid with extrathyroidal extension. *Am J Surg* 170:467-470, 1995
15. Hermanek P, Sobin LH: *TNM classification of malignant tumours*. Pp77-87, Berlin: Springer-Verlag, 1992
16. DeGroot LJ, Kaplan EL, McCormick M, Straus FH: Natural history, treatment, and course of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 71:414-424, 1990
17. Zou M, Al-Baradie RS, Al-Hindi H, Farid NR, Shi Y: S100A4(Mts I) gene overexpression is associated with invasion and metastasis of papillary thyroid carcinoma. *British Journal of Cancer* 93:1277-1284, 2005
18. Takenaga K, Nakanishi H, Wada K, Suzuki M, Matsuzaki O, Matsuura A, Endo H: Increased expression of S100A4, a metastasis-associated gene, in human colorectal adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 3:2309-2316, 1997
19. Komatsu K, Kobune-Fujiwara Y, Andoh A, Ishiguro S, Hunai H, Suzuki N, Kameyama M, Murata K, Miyoshi J, Akedo H, Tatsuta M, Nakamura H: Increased expression of S100A6 at the invading fronts of the primary lesion and liver metastasis in patients with colorectal adenocarcinoma. *Br J Cancer* 83(6): 769-774, 2000
20. Kohya N, Kitajima Y, Jiao W, Miyazaki K: Effects of E-cadherin transfection on gene expression of a gallbladder carcinoma cell line: repression of MTS1/S100A4 gene expression. *Int J Cancer* 104(1):44-53, 2003
21. Zou M, Famulski KS, Parhar RS, Baitei E, Al-Mohanna FA, Farid NR, Shi Y: Microarray analysis of metastasis-associated gene expression profiling in a murine model of thyroid carcinoma pulmonary metastasis: identification of S100A4 (Mts1) gene overexpression as a poor prognostic marker for thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 89:6146-6154, 2004
22. Lo CY, Lam KY, Leung PP, Luk JM: High prevalence of cyclooxygenase 2 expression in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 152:545-550, 2005
23. Kajita S, Ruebel KH, Casey MB, Nakamura N, Lloyd RV: Role of COX-2, thromboxane A2 synthase, and prostaglandin I2 synthase in papillary thyroid carcinoma growth. *Mod Pathol* 18:221-227, 2005
24. Garca-Gonzalez M, Abdulkader I, Boquete AV, Neo XM, Forteza J, Cameselle-Teijeiro J: Cyclooxygenase-2 in normal, hyperplastic and neoplastic follicular cells of the human thyroid gland. *Virchows Arch* 447: 12-17, 2005
25. Singh B, Berry JA, Shoher A, Ramakrishnan V, Lucci A: COX-2 overexpression increases motility and invasion of breast cancer cells. *Int J Oncol* 26:1393-1399, 2005