

## 갑상선 역형성암에서 비교유전자보합법을 이용한 염색체 분석

왈레스기념 침례병원 내과<sup>1</sup>, 부산대학교 의과대학 내과학교실<sup>2</sup>, 병리학교실<sup>3</sup>, 울산대학교 의과대학 서울아산병원 병리학교실<sup>4</sup>

김미경<sup>1,2</sup> · 이창훈<sup>3</sup> · 송진미<sup>3</sup> · 공경엽<sup>4</sup> · 김용기<sup>2</sup>

### Chromosomal Analysis of Anaplastic Thyroid Carcinomas by Comparative Genomic Hybridization

Mi Kyoung Kim<sup>1,2</sup>, Chang Hun Lee<sup>3</sup>, Jin Mi Song<sup>3</sup>, Kyung Yub Gong<sup>4</sup>, Yong Ki Kim<sup>2</sup>

*Department of Internal Medicine, Wallace Memorial Baptist Hospital<sup>1</sup>*

*Department of Internal Medicine, School of Medicine, Pusan National university, Busan, Korea<sup>2</sup>*

*Department of Pathology, School of Medicine, Pusan National university, Busan, Korea<sup>3</sup>*

*Department of Pathology University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, Seoul, Korea<sup>4</sup>*

### ABSTRACT

**Background:** Compared with common well-differentiated thyroid carcinomas, the genetic alterations underlying the development and progression of anaplastic thyroid carcinomas (ATC) are still uncharacterized. Comparative genomic hybridization (CGH) is a cytogenetic technique that can identify gains and losses in the DNA sequence copy number in tumors.

**Methods:** The authors studied the changes in the DNA copy number due to CGH in paraffin-embedded tissue blocks of 17 ATC cases, and tried to ascertain whether the genomic changes correlate with the clinicopathological parameters including patients' age, sex, primary tumor size, lymphovascular invasion, extrathyroid extension, regional node metastasis and immunohistochemical expression of cyclin D1.

**Results:** Fourteen of the 17 samples (82.4%) showed chromosomal changes, with a mean number of gains or losses per carcinoma of 3.6 (range 2~6; 30 gains and 21 losses). The most frequently detected imbalance was the gain of chromosome 1q, which was seen in 35.7% of cases, particularly commonly in ATC associated with a papillary thyroid carcinoma. Other commonly occurring gains were present in 11q13 and 19 (28.6%, respectively). Genomic amplification was detected in all four cases showing the 11q13 gain. Genomic losses were commonly noted in 3q, 6q, 18q and (21.4%, respectively). When numerical CGH alterations were compared to the clinicopathological parameters, there were no significant correlations ( $P > 0.05$ ). Cyclin D1 expression was noted in sixteen of the 17 cases (94.1%), but the extent of cyclin D1 expression was not correlated with the numerical CGH alterations ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** Taken together, the aberrations of 1q, 3q, 6q, 11q13 and 18q are relatively common in ATC, and may play an important role in its development. These findings should lead to the characterization of tumor suppressor genes and oncogenes that are potentially involved in the carcinogenesis of ATC. The amplification of 11q13 is characteristically found, but cyclin D1 in this region may be innocent of the aggressiveness of these carcinomas (J Kor Soc Endocrinol 20:362~374, 2005).

---

**Key Words:** Anaplastic Thyroid Carcinoma, Comparative Genomic Hybridization, Cyclin D1

---

접수일자: 2005년 4월 28일

통과일자: 2005년 7월 8일

책임저자: 이창훈, 부산대학교 의과대학 병리학교실

## 서 론

갑상선 여포 세포 기원의 악성 종양은 분화정도에 따라서 유두암 (papillary thyroid carcinoma, PTC), 여포암 (follicular thyroid carcinoma, FTC)을 포함하는 고분화암과 미분화암 혹은 역형성암 (anaplastic thyroid carcinoma, ATC)으로 나눌 수 있다. 이들 중 ATC는 갑상선 암의 2% 미만을 차지하는 드문 종양이지만, 악성도가 아주 높아서 발견 당시 이미 광범위한 전이가 있는 경우가 많으며, 5년 생존율이 약 10%에 불과하다[1].

형태학적 및 면역학적 자료들을 바탕으로 할 때 ATC는 갑상선에 이미 존재하고 있던 PTC와 FTC에서 발생하는 경우가 대부분이지만[2], 일부에서는 선행 병변 없이 여포 세포에서 직접 기원하는 경우도 있다고 알려져 있다[3]. 즉 ATC의 발생과 관련된 유전적 현상에 대해서는 아직 불확실하다고 할 수 있다. 물론 p53 유전자나  $\beta$ -catenin 유전자의 돌연변이가 관여할 것이라는 연구 보고들[4,5]도 있지만, 생체 내 혹은 시험관 내 모형에서 실시된 실험에서는 이들 유전자가 역형성 변환을 유발하지 못하는 것에 미루어 다른 유전자들의 관련성에 대한 연구가 필요하다고 주장하는 연구도 있다[2]. 이러한 측면에서 볼 때 ATC에 대한 세포 유전적 연구는 종양의 발생 기전 연구에 있어서 중요한 단서를 제공할 수 있을 것으로 보인다.

인체의 충실성 종양 (solid tumor)에서 유전적 불안정 (genomic instability)은 최소 두 가지 기전이 관계한다고 알려져 있다. 첫째, 염색체 수준에서 염색체의 전부 혹은 일부가 획득 (gain)되거나 손실 (loss)되는 경우, 둘째, 핵산 (nucleotide) 수준에서 염기의 치환, 결손, 혹은 삽입이 발생하는 경우이다. 충실성 종양에서 이러한 서로 다른 기전들을 확인하고, 또한 그 기전과 임상 양상의 관련성에 대한 지속적 연구는 종양에 있어서 분자적 분류의 새로운 영역으로 자리를 잡아가고 있다[6]. 갑상선암의 경우에도 종양의 발생 및 진행 과정과 관련하여 이형접합 손실 (loss of heterozygosity, LOH)이나 부수체 불안정 (microsatellite instability, MSI) 등 유전적 불안정에 대한 연구가 이미 시도되었는데, 현재까지 대부분의 연구 결과는 갑상선의 고분화암과 ATC에서 관찰되는 유전적 불안정은 주로 염색체 불안정인 것으로 알려지고 있다[7~9].

암세포의 클론성 팽창 과정에서 일어나는 암유전자의 획득이나 종양억제유전자의 손실은 염색체 결손, 홀염색체 (monosomies), 뭇염색체 (polysomies), 염색체 중복, 유전자 증폭과 같은 염색체 이상 (chromosomal aberration)에 의해 야기될 수 있다[10]. 염색체의 획득과 손실을 확인하기 위한 방법으로는 핵형분석 (karyotyping), 형광제자리조합법 (fluorescence in situ hybridization, FISH), 비교유전자조합법 (comparative genomic hybridization, CGH) 등이 알려져

있다. 이 중 핵형분석은 염색체의 변화를 포괄적으로 알 수 있으며, 소수의 종양 세포에서 나타나는 변화도 알 수 있는 장점이 있으나, 세포배양을 거쳐야 하며 중기 핵 (metaphase nuclei)만을 평가할 수 있는 단점이 있다. FISH와 CGH는 중기 핵 외에 사이기 핵 (interphase nuclei)에서 발생한 염색체 이상도 검출할 수 있는 방법이다. 그렇지만, FISH의 경우 염색체 이상이 발생한 것으로 알려진 염색체 영역 (regions)에 대한 적당한 DNA 소식자 (probe)가 반드시 필요할 뿐 아니라, 한번에 검사할 수 있는 사이기 핵의 염색체 영역은 일부분에 국한된다는 단점이 있다. 이에 반해 CGH는 임상 검체 혹은 세포 주에서 추출된 종양 세포 DNA를 소식자로 하여 사이기 핵의 염색체 전 영역에 걸쳐 신속하고 손쉽게 염색체 불균형을 선별할 수 있는 것으로 알려져 있다[11,12]. 그리고 CGH 분석을 위한 소식자의 제조에 필요한 충분한 양의 DNA를 얻을 수 없는 경우 미량의 DNA를 degenerate oligonucleotide primed-polymerase chain reaction (DOP-PCR)을 이용하여 증폭한 뒤 CGH에 이용하는 기술도 보고되고 있다[13]. 이러한 측면에서 CGH는 종양 세포의 전체 염색체를 대상으로 종양의 발생이나 진행과 관련된 유전자 영역을 확인하기 위한 유용한 방법이라고 할 수 있다.

갑상선의 고분화암 중 FTC의 경우 3번 염색체, PTC의 경우 10번 염색체의 변화가 종양발생 과정에서 중요한 단계인 것으로 보고되고 있지만[14], ATC의 경우 세포유전적 변화가 거의 알려져 있지 않으며 CGH 연구의 결과도 매우 다양하다. 즉, Hemmer 등[15]은 13예의 ATC 조직 검체에서 가장 흔한 염색체 불균형으로 7p22-pter, 8q22-qter 및 9q34-qter에서의 염색체 획득을, Wilkens 등[16]은 9예의 조직 검체와 2예의 세포 주에서 염색체 8의 변화 (8p 혹은 8q의 획득이나 손실)와 5p 획득을, Wreesmann 등[17]은 15예의 조직 검체에서 3p13-14와 11q13의 획득과 5q11-31의 손실을, Rodrigues 등[18]은 7예의 조직검체에서 3q와 20q의 획득과 7p와 Xp의 손실이 역형성 변환에 중요한 역할을 할 것이라고 추정하였다.

Cyclin D1은 염색체 11q13에 위치하는 bcl-1 유전자 산물로서 세포 주기의 G1/S 이진 과정에서 중요한 역할을 하는 단백질이다. bcl-1 유전자 혹은 11q13 염색체 자리 (locus)의 증폭이나 전위는 cyclin D1의 과발현을 초래할 수 있는데, cyclin D1의 과발현은 유방암, 두경부암 및 방광암의 진행과 관련이 있다고 알려져 있다[19~21]. 갑상선의 가장 흔한 암인 유두암에서도 cyclin D1은 흔히 과발현되는데, 이러한 소견은 악성 갑상선 종양의 발생 및 진행 과정에서 cyclin D1의 중요한 역할이 기대된다[22].

저자들은 아직 국내에서 갑상선암, 특히 ATC에 대한 세포유전학적 연구가 거의 보고되고 있지 않은 점에 착안하여 ATC 환자의 조직 검체에서 CGH로 발견되는 염색체 이상

의 양상을 검사한 후, 염색체 이상과 종양의 임상병리학적 인자 및 cyclin D1 발현의 관련성을 알아보기 위하여 본 연구를 수행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

1987년 1월부터 2003년 12월까지 17년간 부산대학교병원과 서울아산병원에서 갑상선 종괴로 내원하여 갑상선 절제술 혹은 갑상선 생검 후 병리조직학적으로 ATC로 진단된 환자 19명에서 얻어진 조직을 대상으로 하였다. 이들 조직들은 포르말린에 고정된 파라핀 블록이었다. 각 증례의 대표적인 파라핀 블록에서 연속절편으로 얻어진 2장의 헤마톡실린-에오진 (hematoxylin-eosin, H-E) 염색 슬라이드를 두 명의 병리의사가 ATC에 대한 Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) fascicle의 조직학적 기준[23]에 따라 독립적으로 판독한 뒤 진단이 서로 일치된 경우를 실험 재료로 이용하였다.

### 2. 방 법

#### 1) 정상 중기 염색체 표본 제작

헤파린이 처리된 정상인의 말초혈액 2~3 mL를 RPMI 배지 (10% fetal bovine serum, 0.2% penicillin-streptomycin 및 2% phytohemagglutinin-M이 첨가됨) 10 mL에 넣어 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에서 72시간 동안 배양하였다. 배양 종료 45분전에 중기상 염색체를 얻기 위하여 colcemid (0.02 µg/mL; GIBCO BRL, USA)를 처리하였다. 배양된 세포를 1,000 rpm으로 원심분리한 후 상층액을 버리고 37°C 항온기에서 0.075 M KCl 용액으로 1시간 처리하였다. Carnoy 고정액 (acetic acid:methanol = 1:3)으로 3회 반복 고정한 후 특수 처리된 슬라이드 위에 세포 부유액을 한 두 방울 떨어뜨려 중기 염색체 표본 슬라이드를 만들었다. 슬라이드를 실온에서 공기 건조시킨 후 CGH에 이용할 때까지 실온에서 보관하였다.

#### 2) 종양조직과 정상인의 림프구에서 DNA의 분리

##### (1) 종양조직에서 DNA의 분리

H-E 염색된 유리 슬라이드를 참고로 하여 각 증례의 파라핀 조직블록으로부터 종양조직을 살균된 수술용 칼 (scalpel)을 사용하여 각각 약 200 mg 정도를 채취하였다. 종양 조직의 채취 시 피사부위나 염증이 심한 부분은 제외하고 암세포가 잘 분포된 조직을 선택하였다. 채취된 조직을 xylene에 3분간 2회, 100%, 95%, 70% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 거쳐 탈파라핀시킨 후 증류수에 2분간 방치시켰다. 조직을 분쇄기 (homogenizer)로 잘게 분쇄한 후 2,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액은 버리고 남은 침전물을

phosphated buffered saline (PBS)으로 2회 세척하였다. 세척된 종양세포 침전물을 Eppendorf tube에 옮긴 후 Tris-EDTA 완충액 [100 mM NaCl, 10 mM Tris/HCl (pH 8.0), 25 mM ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) (pH 8.0), 0.5% sodium dodecyl sulfate (SDS)] 20 µL와 proteinase K (20 mg/mL) 30~50 µL를 가하여 잘 섞은 후 55°C에서 48시간 반응시켰다. 반응 후 100°C에서 5분간 처리하여 proteinase K의 작용을 불활성화시킨 뒤 phenol/chloroform과 ethanol 침전법에 의해 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 TE 완충액에 녹인 후 분광광도계 (spectrophotometer)에서 정량하였다.

##### (2) 정상인의 말초혈액내 림프구에서 DNA의 분리

Sambrook 등[24]의 방법에 준하여 EDTA 처리된 정상인의 말초혈액 10 mL에서 lympho-prep 용액 (Sigma Inc., USA)을 이용하여 림프구를 분리하였다. 분리한 림프구에 TE 완충액 동일양과 proteinase K (20 mg/mL) 30~50 µL를 가하여 잘 섞은 후 55°C에서 8시간 반응시켰다. 이 후의 과정은 종양 조직에서의 DNA 분리법과 동일하게 시행하였다.

#### 3) Degenerate oligonucleotide primed-polymerase chain reactin (DOP-PCR)

종양의 파라핀 조직 블록에서 분리된 genomic DNA 1 µL (약 3~10 ng)를 포함한 25 µL 반응액 [2 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris/HCl (pH 8.4), 200 M dNTP, 10 M DOP primer (5'-CCG ACT CGA GVV NNN NAAT GTG G-3'; N=A, C, G와 T가 동일비율로 구성), 5 unit Taq polymerase (Boehringer)]을 첨가하여 PCR을 시행하였다. 94°C에서 1분, 25°C에서 1분, 3분에 걸쳐 25°C에서 74°C로 온도를 증가시키는 cycle을 4회 시행한 후 94°C에서 1분, 56°C에서 1분, 72°C에서 2분간 30 cycles을 시행하였다. 반응이 끝난 후 1% 한천 겔의 전기영동을 통하여 DNA 단편의 크기를 확인하였다.

#### 4) 비교유전자 보합법 (comparative genomic hybridization, CGH)

##### (1) Nick translation에 의한 종양 및 정상 DNA의 표지

CGH에 이용할 소식자는 CGH nick translation kit (BectonDekinson, USA)를 사용하여 종양 DNA는 fluorescein isothiocyanate (FITC)-14-dUTP로, 정상 DNA는 rhodamin-11-dUTP로 직접 표지 하였다. 그 과정을 요약하면, 얼음에 꽂아놓은 미세 시험관에 표지할 1 µg DNA, 0.1 mM dTTP, 0.1 mM dNTPs, 10X nick translation 완충액, 0.2 mM FITC-14-dUTP 혹은 rhodamin-11-dUTP, nuclease free water, nick translation 효소를 넣어 총 50 µL의 반응 용액을 만든 후, 이 용액을 15°C에서 1시간 내지 1시간 30

분, 70°C에서 10분간 반응시킨 후 보합반응 전까지 -20°C에서 보관하였다. Nick translation된 소식자의 크기는 1% 한천 겔에 전기영동 하여 확인한 뒤, nick translation 효소와 nick translation 반응시간을 조절하여 소식자의 크기가 600 bp에서 2 kb의 범위에 든 것만을 보합반응에 이용하였다.

#### (2) 표지된 소식자의 혼합과 변성

FITC-14-dUTP로 표지된 종양 DNA와 rhodamin-11-dUTP로 표지된 정상 DNA를 20 µg의 human Cot-1 DNA와 혼합한 다음, DNA를 침전시키기 위하여 1/10배의 3 M sodium acetate와 2배의 에탄올을 가한 후 -70°C에서 30분간 유지시켰다. 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 제거한 후 침전물을 70% 에탄올로 세척한 다음, DNA를 37°C에서 건조시켰다. 완전히 건조된 DNA에 master 용액(0.1% dextran sulfate, 2X SSC, 50% formamide) 10 µL를 첨가하여 잘 섞어주었다. 이 소식자 용액을 75°C에서 5분간 변성시켜 바로 보합반응에 이용하였다.

#### (3) 정상 증기상 염색체와 표지된 소식자의 보합반응

준비된 증기 염색체 표본 슬라이드를 65°C, 70% SDS용액에서 약 3분간 변성시킨 후, 70%, 85% 및 100% 에탄올의 순으로 탈수시키고 공기 중에서 잘 건조시켰다. 증기 염색체와 준비된 소식자 혼합액을 반응시킨 후 커버글라스를 덮은 후 rubber cement로 커버글라스 주변을 잘 밀봉하여 습기가 유지되는 암상자에 넣어 37°C에서 72시간동안 보합반응을 시행하였다.

#### (4) 세척 및 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) 염색

보합반응이 끝난 슬라이드는 커버글라스를 제거하고 43°C로 유지된 세척용액-I (50% formamide, 2X SSC)에서 각각 10분씩 3회, 세척용액-II (2X SSC)에서 10분간 1회 세척한 후 0.1 M sodium phosphate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 완충액으로 마지막 수세 후 공기건조 시켰다. 건조된 슬라이드에는 0.2 µg/mL DAPI 용액 10 µL를 떨어뜨리고 커버글라스를 덮은 뒤, 암소에서 하룻밤 동안 대조염색을 시킨 다음 검경 전까지 4°C에 보관하였다.

#### (5) CGH 영상의 포착 및 분석

Cooled charge-coupled device (CCD) 카메라가 장착된 형광현미경 (Olympus, Tokyo, Japan)하에서 슬라이드 하나당 겹치지 않은 최소 10개의 증기 염색체를 포착하였고, 포착된 영상들의 정량적 분석은 ISIS analysis software (MetaSystem GmbH, Altlussheim, Germany)를 사용하였다. 포착된 증기상 염색체들에서 적색(정상 말초혈액내 림프구의 DNA)에 대한 녹색(ATC 종양 세포의 DNA)의 비율을 평균하여 구한 다음 획득이나 손실이 관찰되지 않은 염색체의 비율을 1로 하였을 때 비율치(ratio value)가 1.17이상인 경우는 획득, 2.0이상인 경우는 증폭(amplification), 그리고 0.85 이하인 경우는 손실로 판정하였다.

#### 5) 면역조직화학 염색

각 증례의 파라핀 블록에서 얻어진 조직 절편을 xylene에서 탈파라핀하고 100%, 95%, 70% 알코올에서 차례대로 함수과정을 거친 후 흐르는 물에서 10분간 수세시켰다. 면역조직화학 염색시 항원노출을 향상시키기 위해 전자렌지(Samsung RE-400B, 700W)에서 5분간 끓인 10 mM/L citrate buffer (pH 6.0)가 담긴 용기에 조직절편을 넣은 후, 전자렌지를 이용하여 마이크로파 조사를 5분간 두 차례 더 시켰다. 실온에서 냉각시킨 후 흐르는 물에서 10분간 충분히 수세시키고, 내인성 과산화수소의 억제제를 위하여 0.3% 과산화수소수에 20분간 처리한 후 Tris buffered saline (TBS) (pH 7.6)으로 세척하였다. 일차 항체로서 토끼 단클론성 항체 (SP4, 1:100 희석; Lab Vision, Fremont, CA, USA)를 사용하였다. 일차 항체와 조직 절편을 4°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 이 후의 면역조직화학 염색과정은 Histostain Plus kit, horseradish peroxidase (Zymed Laboratories Inc., South San Francisco, CA, USA)를 사용하였고, 그 과정은 일반적인 면역조직화학 염색과정과 동일하였다. 면역염색 후 발색은 3-amino-9-ethyl-carbazole을, 대조염색은 Mayer 헤마톡실린을 사용하였다. Universal Mount (Dako, Carpinteria, CA, USA)로 1차 봉입하고, xylene으로 희석시킨 (50:50) malinol로 2차 봉입한 뒤 광학현미경 (Olympus BX, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

음성 대조군은 염색 때 일차 항체 대신 정상 면양 혈청을 적용한 것을 제외하면, 전 과정에서 실험 예들과 동일하게 하였다. 양성 대조군으로는 cyclin D1 양성인 갑상선 PTC 조직을 이용하였다.

염색결과와 판독시 세포의 핵에서 뚜렷한 과립상의 적갈색 염색 반응이 보일 때 양성 반응으로 판정하였다. 조직절편내 종양 세포들에서 양성 반응의 출현 범위가 25% 미만인 경우를 1+, 25~50%인 경우를 2+ 그리고 51% 이상인 경우를 3+로 판정하였다.22

#### 6) 통계 분석

CGH 후 확인된 염색체 이상 소견과 임상병리학적 인자 및 cyclin D1 면역염색의 결과 간의 유의성을 검토하기 위해  $\chi^2$  검증, Fisher의 정확확률 검증 그리고 Mann-Whitney 검증을 실시하였다. P 값은 0.05 미만인 경우에 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

### 결 과

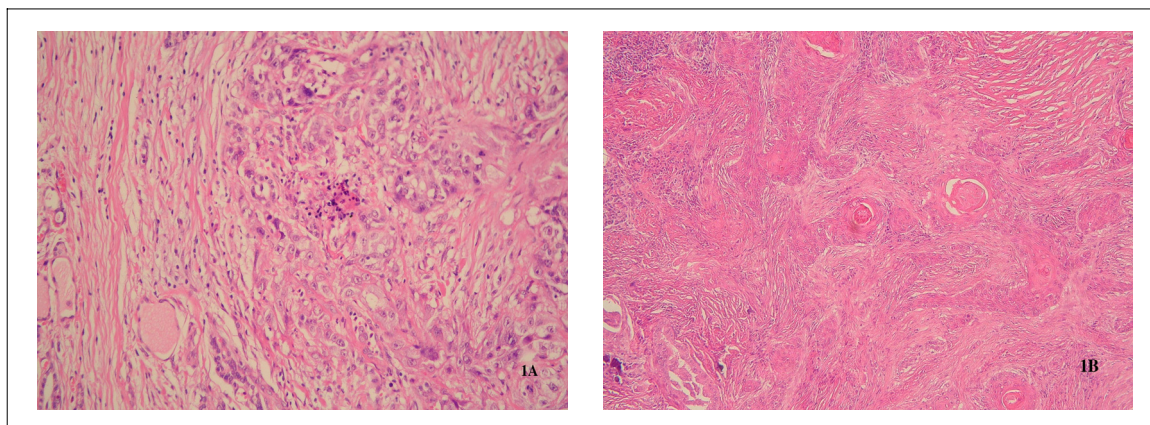
#### 1. 갑상선 역형성암 19예의 임상병리학적 소견

Table 1은 ATC로 진단된 19예의 임상 병력지와 병리 보고서의 검토 후 얻어진 임상병리학적 소견을 요약한 것이다. ATC 1예(case no. 12)는 생검 조직에서, 나머지 18예는 갑상선절제술 조직에서 진단된 것이었다. 성별로는 여자가 15

**Table 1.** Clinicopathologic Findings in 19 Anaplastic Thyroid Carcinomas

Case no.	Age (yr.)	Sex	Size (cm)	Association with WTC	ETE	LVI	LNM
1	54	F	8.0	PTC	Yes	Yes	Unk
2	65	F	6.0	No	Yes	Yes	Unk
3	78	M	6.0	No	Yes	Yes	No
4	45	M	4.0	No	Yes	Yes	Yes
5	73	M	4.0	PTC	Yes	Yes	Yes
6	61	F	4.0	PTC	Yes	No	No
7	73	F	3.5	No	Yes	Yes	No
8	71	F	5.5	No	Yes	Yes	Unk
9	81	F	4.5	PTC	Yes	Yes	Yes
10	58	F	5.5	No	Yes	Yes	Unk
11	77	F	5.4	No	Yes	No	Unk
12	73	F	6.5	No	Yes	No	Yes
13	79	M	7.5	No	Yes	Yes	No
14	48	F	5.5	No	Yes	Yes	Yes
15	74	F	4.0	No	Yes	Yes	Yes
16	68	F	4.0	PTC	Yes	Yes	Yes
17	67	F	3.5	No	Yes	Yes	Yes
18	54	F	3.3	No	No	No	No
19	24	F	4.5	No	Yes	No	No

F, female; M, male; WTC, well differentiated thyroid carcinoma; PTC, papillary thyroid carcinoma; ETE, extrathyroid extension; LVI, lymphovascular invasion; LNM, regional lymph node metastasis; Unk, unknown.



**Fig. 1.** Light microscopic findings of anaplastic thyroid carcinoma. (A) Infiltrative sheets composed of spindle and epidermoid anaplastic tumor cells are noted. A few residual thyroid follicles are present on the left lower ( $\times 200$ ). (B) Anaplastic carcinoma, being reminiscent of squamous cell carcinoma, is associated with papillary thyroid carcinoma on the left lower ( $\times 100$ )

예, 남자가 4예였고, 진단시 평균 연령은 64.4세(범위 24~81세)였다. 종양의 평균 크기는 5.0 cm(범위 3.3~8.0 cm)였고, 1예(case no. 18)를 제외한 18예(94.7%)에서 갑상선 주변 조직으로 침범을 보였다. 림프혈관 침윤은 19예 중 14예(73.7%)에서, 영역 림프절 전이는 확인이 곤란했던 5예

를 제외한 14예 중 8예(57.1%)에서 관찰되었다. 형태학적으로 모든 예는 광범위한 조직괴사, 빈번한 세포분열상, 뚜렷한 핵의 다형성과 함께 형태학적 및 면역조직화학적으로 어느 정도 상피성 분화의 소견을 보이지만, 갑상선 여포 세포로의 직접적인 분화 경향은 보이지 않았다(Fig. 1A). 4예

(case no. 4, 6, 8, 13)에서는 종양 세포의 대부분이 편평세포양 세포로 이루어져 편평세포암을 연상케 하였지만, 나머지 15예의 경우 부위에 따라 편평세포양, 방추상 혹은 거대 세포들이 다양한 비율로 섞여 출현하는 소견을 보였다. 19예 중 5예(26.3%)는 ATC와 관련하여 PTC 부위가 관찰되었지만 (Fig. 1B), 나머지 종양들에서는 고분화암의 동반이

확인되지 않았다.

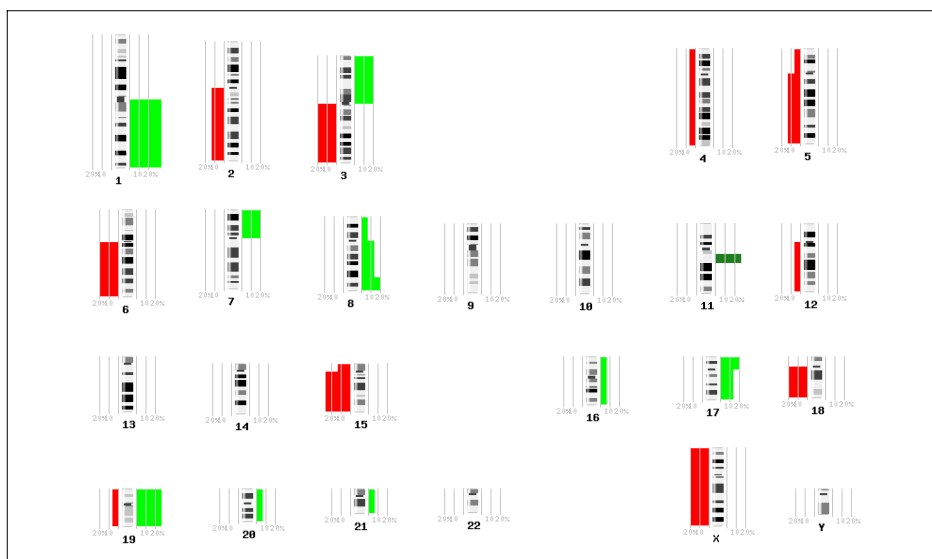
## 2. 갑상선 역형성암 17예의 비교유전자보합법 소견

본 연구에 이용된 ATC 19예 중 파라핀 조직블록의 보존 상태가 불량했던 2예(case no. 18, 19)를 제외한 17예에서 CGH 결과를 얻을 수 있었는데, 이들 중 14예(82.4%)는 다

**Table 2.** Results of Comparative Genomic Hybridization Study in 17 Anaplastic Thyroid Carcinomas

Case no.	No. of chromosomal abnormalities	Chromosomal regions	
		Gains	Losses
1	4	1q, 17	X, 15
2	2	8q, 16	
3	3	3p, 20	5q
4	3	8, 17p	15q
5	6	1q, 7p, 11q13 *, 21	X, 6q
6	0		
7	4	7p, 19	5, 15q
8	0		
9	3	1q, 19	3q
10	4	8q24-qter, 19	2q, 3q
11	4	3p, 7p	4, 6q
12	3	1q, 11q13 *, 12qter	
13	4	11q13 *, 17	15, 18q
14	2		6q, 18q
15	4	3p	2q, 3q, 18q
16	0		
17	4	1q, 11q13 *, 19	X

\* in bold-regions : high amplifications were observed.



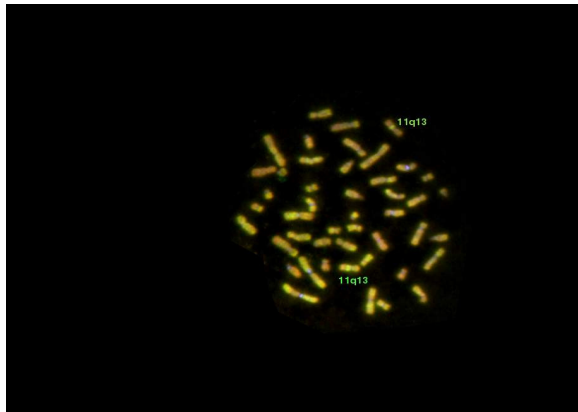
**Fig. 2.** Summary of genetic imbalances detected by CGH in 14 cases of anaplastic thyroid carcinoma. The gains in green bricks are shown on the right side of chromosomes, and the losses in red bricks shown on the left. The length of each brick represents a gained or lost region in a single tumor

**Table 3.** Relationship between cyclin D1 expression and clinicopathologic

Parameters		Cyclin D1 expression <sup>®</sup>		P value
		2~3+		
Age	< 65	1	3	0.118
	≥ 65	9	3	
Sex	Female	8	4	0.604
	Male	2	2	
Tumor size	< 5cm	6	2	0.302
	≥ 5cm	4	4	
LVI	Negative	2	1	1.000
	Positive	8	5	
LNM	Negative	5	1	0.307
	Positive	5	5	

※ : 1+, cyclin D1 positivity in less than 25 % of tumor area; 2~3+, cyclin D1 positivity in more than 25% of tumor area.

LVI, lymphovascular invasion; LNM, regional lymph node metastasis.



**Fig. 3.** Representative CGH image of anaplastic thyroid carcinoma case 12. Fluorescence ratio image shows tumor DNA and normal DNA hybridized onto normal metaphase chromosome. Green regions represent gains and red regions display losses. Uninvolved regions appear yellow

양한 부위에서 염색체 이상을 보였고 3예 (17.6%)는 정상 소견이었다 (Fig. 2, Table 2). 정상 유형의 CGH 소견을 보인 3예 모두는 조직학적으로 편평세포양 종양 세포가 종양의 대부분을 차지하고 있는 증례들이었다.

염색체 이상을 보인 14예에서 염색체의 획득은 30개, 손실은 21개로서 획득이 더 많았으며, 종양 당 평균 3.6개의 염색체 변화를 보였다. 염색체의 획득은 1q가 5예 (35.7%)로 가장 많았고, 11q13과 19이 각각 4예 (28.6%)로서 흔한 소견이었다 (Fig. 3). 그 밖에 3p와 7p가 각각 3예 (21.4%), 17이 2예 그리고 8q24-qter, 8q, 8, 12qter, 16, 17p, 20, 21이 각각 1예 (7.1%)의 순이었다. 11q13 획득을 보인 4예 (case no. 5, 12, 13, 17) 모두는 해당 염색체 영역에서 증폭 소견을 보였다. Fig. 4는 1q와 11q13에서 모두 획득을 보였

던 증례 12의 염색체 표의문자 (ideogram)와 CGH 형광 비율치를 보인 도식도이다.

염색체의 손실은 3q, 6q, 18q, X가 각각 3예 (21.4%), 2q, 15q, 15가 각각 2예 (14.3%) 그리고 4, 5q, 5가 각각 1예 (7.1%)로 나타났다.

### 3. 임상병리학적 소견과 비교유전자보합법 소견과의 관련성

환자의 연령이 65세 이상인 12예는 10예 (83.3%)에서, 65세 미만인 5예는 4예 (80%)에서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). 염색체 이상을 보인 65세 이상의 10예에서 획득은 1q, 11q13에서 각각 4예, 3p, 7p, 19에서 각각 3예, 8q, 12qter, 16, 17, 20, 21에서 각각 1예였으며, 손실은 3q, 6q, 18q, X에서 각각 2예, 2q, 4, 5q, 5, 15q, 15에서 각각 1예였다. 65세 미만인 5예에서 획득은 1q, 8q24-qter, 8, 17p, 17, 19에서 각각 1예였고, 손실은 2q, 3q, 6q, 15q, 15, 18q, X에서 각각 1예였다.

여자인 13예는 10예 (76.9%)에서, 남자인 4예는 전 예 (100%)에서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). 염색체 이상을 보인 여자 10예에서 획득은 1q, 19에서 각각 4예, 3p, 7p, 11q13에서 각각 2예, 8q24-qter, 8q, 12qter, 16, 17에서 각각 1예였고, 손실은 3q에서 3예, 2q, 6q, 18q, X에서 각각 2예, 4, 5, 15q, 15에서 각각 1예였다. 남자에서 획득은 11q13에서 2예, 1q, 3p, 7p, 8, 17p, 17, 20, 21에서 각각 1예였고, 손실은 5q, 6q, 15q, 15, 18q, X에서 각각 1예였다.

종양의 크기가 5 cm 이상인 9예는 8예 (88.9%)에서, 5 cm 미만인 8예는 6예 (75%)에서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). 염색체 이상을 보인 5 cm 이상인 8예에서 획득은 1q, 3p, 11q13, 17에서 각각 2예, 7p, 8q24-qter, 12qter, 16, 19, 20에서 각각 1예였고, 손실은 6q, 15, 18q에서 각각 2



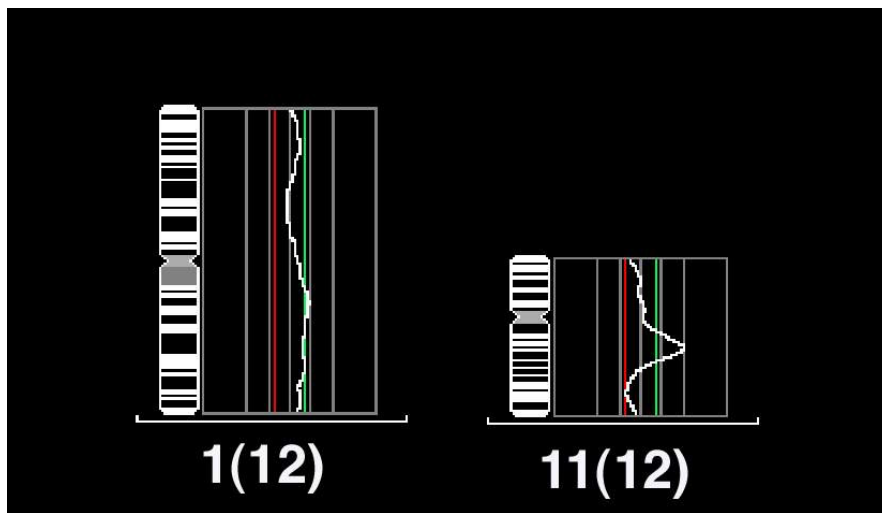
예, 2q, 3q, 4, 5q, X에서 각각 1예였다. 5 cm 미만에서 획득은 1q, 19에서 각각 3예, 7p, 11q13에서 각각 2예, 3p, 8, 17p, 21에서 각각 1예였고, 손실은 3q, 15q, X에서 각각 2예, 2q, 5, 6q, 18q에서 각각 1예였다.

PTC가 동반된 ATC 5예 중 3예(60%)에서, 동반되지 않은 ATC 12예 중 11예(91.7%)에서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). 염색체 이상과 함께 PTC가 동반된 3예에서 획득은 1q에서 3예, 7p, 11q13, 17, 19, 21에서 각각 1예였고, 손실은 X에서 2예, 3q, 6q, 15에서 각각 1예였다. 염색체 이상을 보이거나 PTC가 동반되지 않은 11예에서 획득은 3p, 11q13, 19에서 각각 3예, 1q, 7p에서 각각 2예, 8q24-qter, 8q, 8, 16, 17p, 17, 12qter, 20에서 각각 1예였고, 손실은 18q에서 3예, 2q, 3q, 6q, 15q에서 각각 2예, 4, 5q, 5, 15,

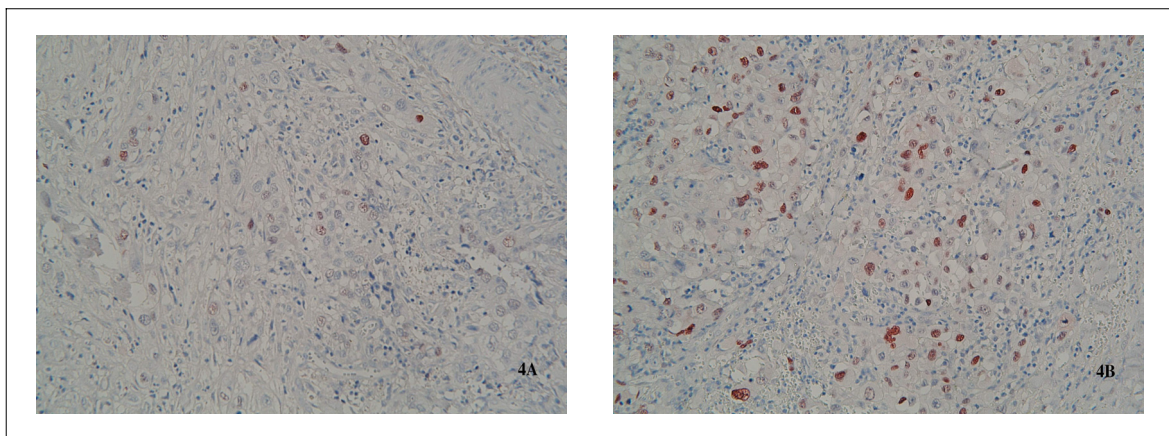
X에서 각각 1예였다.

림프혈관 침범이 관찰된 14예 중 12예(85.7%)에서, 관찰되지 않은 3예 중 2예(66.7%)에서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). 염색체 이상을 보인 림프혈관 침범 12예에서 획득은 1q, 19에서 각각 4예, 11q13에서 3예, 3p, 7p, 17에서 각각 2예, 8q24-qter, 8q, 8, 17q, 16, 20, 21에서 각각 1예였고, 손실은 3q, 18q에서 각각 3예, 2q, 6q, 15q, 15에서 각각 2예, 5q, 5에서 각각 1예였다. 염색체 이상을 보이면서 림프혈관 침범을 보이지 않은 2예에서 획득은 1q, 3p, 7p, 11q13, 12qter에서 각각 1예였고, 손실은 4, 6q에서 각각 1예였다.

림프절 전이 유무가 확인된 12예 중 전이를 보인 8예는 7예(87.5%)에서, 전이를 보이지 않은 4예는 3예(75.0%)에



**Fig. 4.** Partial fluorescence ratio profile of chromosomes (CHRs) 1 and 11 from anaplastic thyroid carcinoma case 12. CGH profiles display the gains of DNA copy number at 1q and 11q13 regions. The 11q13 region shows amplification



**Fig. 5.** Immunohistochemical staining for cyclin D1.

(A) The nuclei of anaplastic thyroid carcinoma focally show cyclin D1 positivity in about less than 25% of tumor area ( $\times 200$ ). (B) The nuclei of anaplastic carcinoma show diffuse cyclin D1 positive reaction in about more than 50% of tumor area ( $\times 200$ )



서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). 염색체 이상을 보이면서 림프절 전이를 보인 7예에서 획득은 1q에서 4예, 11q13에서 3예, 19에서 2예, 3p, 7p, 8, 12qter, 17p, 21에서 각각 1예였고, 손실은 3q, 6q, 18q, X에서 각각 2예, 2q, 15q에서 각각 1예였다. 염색체 이상을 보이면서 림프절 전이를 보이지 않은 3예에서 획득은 3p, 7p, 11q13, 17, 19, 20에서 각각 1예였고, 손실은 5q, 5, 15q, 15, 18q에서 각각 1예였다.

#### 4. Cyclin D1의 면역조직화학적 발현과 비교유전자보합법 소견 및 임상 병리학적 인자들간의 관련성

CGH 결과가 얻어진 ATC 17예에서 실시한 면역조직화학적 염색에서 cyclin D1은 16예 (94.1%)에서 양성을 보였다 (Fig. 5). ATC 주변 정상 갑상샘 여포 조직이나 염증세포들은 cyclin D1에 음성이었다. Cyclin D1 양성 예들의 분포는 3+가 3예 (18.8%), 2+가 3예 (18.8%) 그리고 1+가 10예 (62.5%)였다. 2+이상인 6예 중 5예 (83.3%)에서, 1+인 10예 중 8예 (80.0%)에서 염색체 이상을 보였다 ( $P > 0.05$ ). Cyclin D1이 2+이상이면서 염색체 이상을 보인 5예 중 획득은 11q13에서 2예, 1q, 8q24-qter, 8, 12qter, 17p, 17, 19에서 각각 1예였고, 손실은 18q에서 2예, 2q, 3q, 6q, 15, 15q에서 각각 1예였다. Cyclin D1이 1+이면서 염색체 이상을 보인 8예 중 획득은 1q, 3p, 7p, 19에서 각각 3예, 11q13에서 2예, 8q, 16, 20, 21에서 각각 1예였고, 손실은 3q, 6q, X에서 각각 2예, 2q, 4, 5q, 5, 15q, 18q에서 각각 1예였다.

2+이상인 군과 1+인 군간에 환자의 연령, 성별, 종양의 크기, 림프혈관 침윤, 영역림프절 전이는 유의한 차이를 보이지 않았다 ( $P > 0.05$ ; Table 3).

## 고 찰

갑상선 역형성암은 갑상선 내에 전적으로 국소화되거나 완전히 제거될 수 있는 경우를 제외하면 인체에서 발생할 수 있는 암 중 가장 악성도와 치사율이 높은 암 중의 하나로 알려져 있다. ATC 증례들은 흔히 결절성 갑상선종이나 고분화암과 같은 갑상선 질환의 오랜 병력이 있는 환자들에서 발견되지만, 이의 발생과 진행 과정에 대해서는 아직 정확히 알려져 있지 않다[17].

악성 종실성 종양은 발암 과정의 초기 단계에서부터 종양 특이성 염색체 변화를 특징적으로 보일 수 있는데, 이러한 변화는 연속적 과정이며 종양으로 하여금 유전적 다양성을 가지게 한다[25]. 따라서 암세포의 유전 정보 구축에서 가장 중요한 단계는 염색체 이상을 조사하는 과정인데, 이를 위한 세포유전학적 방법으로는 핵형분석, FISH, CGH 등이 있다. 핵형분석은 염색체의 변화를 포괄적으로 알 수

있는 전통적인 방법으로서 소수의 종양세포에서만 나타나 는 변화도 알 수 있는 장점이 있으나, 까다로운 세포 배양을 거쳐야 하며 배양 시 시험관 내 배양 조건에 따라 발생할 수 있는 복잡한 핵형 변화로 인해 상이한 결과가 초래될 수 있는 단점이 있다[26]. 이에 반해 FISH 분석법을 기초로 한 CGH는 까다로운 세포 배양을 거치지 않고도 조직내 종양 세포의 중기 핵과 사이기 핵을 대상으로 전체적인 염색체 이상을 신속하게 선별할 수 있으며, 특히 파라핀 조직 블록에서 추출된 DNA를 가지고도 손쉽게 수행할 수 있는 장점으로 인해 최근 세포유전학적 연구 방법으로 활발히 이용되고 있다[27].

일반적으로 ATC의 신선 조직은 얻기가 매우 힘들다. 이는 ATC가 대개 진행된 상태에서 발견되어 절제가 곤란한 경우가 많으며, 또한 환자의 대부분이 적극적인 항암제 및 방사선 치료를 받더라도 진단 후 수개월 내 사망하는 경우가 많기 때문이다. 따라서 저자는 ATC로 진단된 17예의 파라핀 조직 블록을 사용하여 CGH 검사를 수행하였고, 14예 (82.4%)에서 염색체 이상을 확인하였다. 관찰된 염색체 이상들 중 흔한 변화로는 획득이 1q가 5예, 11q13 및 15가 각각 4예였고, 손실은 3q, 6q, 18q 및 X가 각각 3예였다. 이러한 결과는 ATC의 불량한 생물학적 행동과 관련된 유전자들이 이들 염색체 영역에 존재할 가능성을 제시한다.

한편 다른 연구자들이 ATC를 대상으로 한 CGH 결과는 다양한 소견을 보이고 있었다. Miura 등[28]은 10예의 ATC 동결 조직에서 24개의 염색체 이상을 발견했는데, 이들 중 22개가 획득, 2개가 손실이라고 하였으며, 염색체 이상은 1q21-qter ( $n=3$ , 30%)의 획득이 가장 흔했고 다음으로 10p 및 X의 획득 (각각  $n=2$ , 20%)의 순이라고 하였다. Rodrigues 등[18]은 7예의 ATC 동결 조직에서 염색체 이상은 획득이 더 흔했고, 이들 중 20q의 획득과 Xp의 손실 (각각  $n=6$ , 86%)이 가장 흔했고, 3q와 5p의 획득 (각각  $n=5$ , 71%)의 순으로 보고하였다. Komoike 등[29]은 8예의 ATC 세포 주를 대상으로 한 CGH 연구에서 16p와 18q의 손실, 20q의 획득이 빈번하게 발견되는데, 이들 중 16p 손실 ( $n=5$ , 62.5%)은 고분화암종의 세포 주들과 달리 ATC 세포 주에서만 볼 수 있었다고 하였다. Wreesmann 등[17]은 또한 15예의 ATC 파라핀 조직 블록에서 3p11-14, 11p, 11q13의 획득과 5q11-31의 손실은 ATC에 고유한 염색체 이상이라고 하였다. 많은 연구자들은 ATC에서 염색체의 획득이 손실보다 더 흔하다고 보고하고 있는데, 이것은 저자의 연구 성적과도 일치하는 것이다. 그렇지만, 연구자에 따른 염색체 이상의 호발 부위가 다양성을 보인 것은 첫째, 대부분이 제한된 수의 ATC 증례를 대상으로 하였던 점, 둘째, 역형성으로 현저한 종양간 유전적 이질성 (interneoplastic genetic heterogeneity)의 발생, 셋째, 암의 발생과 진행은 유전적 변화의 순서보다 특별한 유전적 변이의 누적과 더 많은 관계

가 있다는 설[30] 등을 고려할 수 있을 것 같다.

본 연구에서 3예는 정상 유형의 CGH 소견을 보였다. 이러한 소견은 CGH 자체가 가진 검사적 한계점에 기인한 것일 수 있다. 즉, CGH로 발견이 어려운 염색체 변화인 균형성 염색체 이상(balanced chromosomal aberration)이나 방추심절 역전(paracentric inversion)의 발생, CGH의 해상능 제한 등을 일차적으로 고려해 볼 수 있을 것이다. 그 외에도 파라핀 블록으로부터 CGH 검사를 위한 종양 조직 채취 과정에서 종양에 포함된 정상 상피 혹은 간질 세포의 DNA가 일부 포함되어 있을 가능성을 완전히 배제할 수 없다. 이런 경우 특히 아주 작은 DNA 복제 수 변화를 가진 예들은 보합반응에 사용되는 암세포 DNA들 사이에 정상 세포 DNA가 섞여짐으로 인해 염색체 변화가 검출되지 않을 수도 있다.

본 연구에서 가장 높은 빈도를 보인 1q 획득은 Miura 등 28의 보고와 유사하다. 일반적으로 1q 획득은 방사선 노출과 관련된 PTC에서 흔한데[31], 본 연구의 경우에서도 1q 획득을 보인 ATC 5예 중 3예는 PTC와 동반된 경우들이었지만, 각 예에서 과거 방사선 노출에 관한 병력은 확인할 수 없었다. 1q 영역에는 PTC의 약 15%에서 활성화되는 신경성장인자 수용기들 중 하나인 NTRK1 유전자가 위치하고 있다. 비갑상선 종양으로 1q 획득은 중피종, 큰 B 세포 림프종 그리고 방광암에서 흔한 것으로 알려져 있다.[32-34] 11q13 염색체 영역에서 획득을 보인 4예는 뚜렷한 증폭을 보였다. 11q13 영역에 위치한 대표적인 종양유전자로는 Wnt 신호전달 경로의 중간산물인 Wnt 11과 세포주기 단백질인 cyclin D1을 들 수 있으며, 이들의 과발현은 갑상선 암의 불량한 예후와 관련이 있다고 한다[5,22]. 그러나 본 연구에서 cyclin D1의 발현에 따른 염색체 이상의 수적 혹은 종류의 차이, 그리고 cyclin D1의 발현과 환자의 성별, 연령, 종양의 크기, 림프혈관 침윤 및 영역림프절 전이 간에는 유의한 상관관계를 확인할 수가 없었다. 이러한 소견은 ATC의 발생 및 진행 과정에서 일어나는 염색체 변화와 유전적 변이가 상당히 복잡 다양하기 때문에 cyclin D1 단일 단백질의 과발현 양상으로는 설명하기가 힘든 부분일 가능성이 높다고 생각된다. 또 한편 본 연구에 사용된 증례의 수가 적어서 임상병리학적 의의를 검토하기에는 무리가 있다는 점도 배제하기 힘들 것이다. Mark 등[35]은 ATC의 일부가 이중 미소 염색체(double minute chromosome)와 같은 유전자 증폭을 보이는 복잡한 핵형을 가질 수 있다고 하였는데, 본 연구에서 확인된 11q13 증폭의 경우도 이러한 소견을 반영하는 소견일 수 있지만 확인할 수는 없었다.

3q 영역에 위치하면서 세포의 탈분화 및 증식을 초래할 수 있는 대표적인 유전자들로는 SST, PI3K, 혹은 bcl-6 등이 있다[18]. 이들 유전자는 DNA 복제 수 증가와 관련하여 발암과정에 기여하는 것으로 알려져 있는데, 본 연구의 경우 오히려 3q 손실을 보여 이들 종양유전자의 역할은 기대

하기 어려웠다. 아마도 이 염색체 영역에서 아직 알려지지 않은 어떤 종양억제유전자의 역할이 의심되지만, 본 연구에서 이를 확인하기는 어려웠다. 염색체 X의 손실에 대해서는 Rodrigues 등[18]이 Xp 손실과 ATC간에 통계학적 연관성을 가진다는 보고를 한 바 있지만, 이를 제외하고는 ATC에 관한 이전의 CGH 연구에서 염색체 X의 손실은 매우 드문 현상이다. Rodrigues 등[18]은 ATC에서 Xp 손실로 인해 해당 영역의 유전자들이 저발현되면 다른 유전자들의 발현에 영향을 주어서 역형성의 진행을 촉진할 수 있을 것으로 추정하였다. 아무튼 ATC에서 X염색체 손실의 소견에 대해서는 좀더 연구를 해야 할 과제로 생각된다.

염색체 이상이 반드시 유전자들의 변이와 일치하는 것은 아닌데, 이것은 CGH로 확인될 수 있을 정도의 충분히 큰 DNA 연쇄에서 변이가 발생하지 않을 수 있기 때문이다. 대표적인 종양억제유전자인 p53 유전자의 경우 일반적으로 ATC에서 흔히 과발현되는 것으로 알려져 있지만[4], 본 연구에서 p53 유전자가 위치하는 17p의 손실이나 획득이 발견되지 않은 것은 이러한 현상과 관련이 있을 것으로 보인다.

정상 상피가 상피내암을 거쳐 침윤성 암으로 발전하는 과정에서는 연속적인 유전적 변화가 축적될 것으로 추정된다. 이러한 견해는 DNA 복제 이상의 평균 수치가 임상병기의 진행에 비례하여 증가하는 많은 종양들에서 증명되고 있다[36,37]. 그러나 본 연구의 경우 종양의 크기, 림프혈관 침윤, 영역림프절 전이와 같은 종양의 악성도와 관련된 인자들과 염색체 이상의 수는 상관 관계를 보여주지 않았다. 이는 본 연구에서 확인할 수는 없었지만, 갑상선 암의 빠른 증식, 전이 그리고 역형성 변화와 관련해서는 종양세포 DNA 복제 수의 이상보다는 특정 유전자들의 복합적 변이가 더 큰 영향을 줄지도 모른다고 생각되었다. 갑상선 선종을 대상으로한 CGH 연구에서 다량의 유전물질 획득이 양성 갑상선 종양에서도 나타날 수 있다는 보고[38]는 이러한 추정과 부합되는 것일 수 있다.

일반적으로 CGH는 염색체 이상에 대해 전 유전자를 대상으로 할 수 있는 장점이 있지만, 최소 5~10 Mb 이상의 염색체 획득이나 손실이 발생할 경우에만 검출이 가능한 민감도의 한계가 있다[11]. 이에 반해 MSI 연구는 특이한 부수체 유전자 자리(loci)에 전적으로 초점이 맞춰지는 장점이 있으므로, CGH와 MSI를 동일 종양의 검체에서 병용하여 수행할 수 있다면 ATC의 발생 및 진행과 관련된 종양특이성 유전적 불안정을 좀더 정확히 이해할 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

연구배경: 갑상선 역형성암(anaplastic thyroid carcino-

ma, ATC)은 인체에 발생하는 가장 치명적인 암 중의 하나이지만, ATC의 발생 및 진행과 관련된 유전적 변이에 대해서는 아직 불확실하다. 이에 저자들은 ATC 환자의 조직 검체에서 CGH로 발견되는 염색체 이상의 양상을 검사한 후, 염색체 이상과 종양의 임상병리학적 인자 및 cyclin D1 발현의 관련성을 알아보고자 하였다.

**대상 및 방법:** ATC 17예의 파라핀 조직블록을 이용하여 비교유전자조합법 (comparative genomic hybridization, CGH)을 실시하였다. 유전자 변화가 관찰될 경우 이러한 소견과 임상병리학적 인자들 (환자 연령, 성별, 종양의 크기, 림프관 침윤, 원격림프절 전이) 및 cyclin D1의 면역조직화학적 발현과의 상관관계를 또한 조사하였다.

**결과:** ATC 17예 중 14예 (82.4%)에서 염색체 불균형을 보였고, 종양 당 획득 혹은 손실은 평균 3.6개 (범위 2~6; 획득 30, 손실 21)였다. 3예는 정상 CGH 유형을 보였다. 가장 흔히 검출된 불균형은 5예 (35.7%)에서 발견된 염색체 1q의 획득이었고, 이들 중 3예는 유두암과 동반된 것들이었다. 그 외 흔한 염색체 획득은 11q13과 19 (각각 28.6%)에서 검출되었다. 11q13 획득을 보인 4예는 모두 증폭을 보였다. 염색체 손실은 3q, 6q, 18q 및 X (각각 21.4%)에서 흔히 관찰되었다. 검출된 염색체 변이의 수는 임상병리학적 인자들과 상관관계를 보이지 않았다 ( $P > 0.05$ ). Cyclin D1은 17예 중 16예 (94.1%)에서 양성 소견을 보였지만, 양성 발현의 범위는 염색체 변이의 수와 관련이 없었다 ( $P > 0.05$ ). Cyclin D1의 발현은 임상병리학적 인자들과도 상관관계를 보이지 않았다 ( $P > 0.05$ ).

**결론:** 이상의 소견을 종합하면 염색체 1q, 3q, 6q, 11q13 및 18q의 획득 혹은 손실은 ATC에서 비교적 흔한 소견으로 보였다. 따라서 이들 염색체들에 위치하는 종양억제유전자나 종양유전자에 대한 향후의 탐색은 ATC의 발암과정을 이해하는데 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 판단되었다. 본 연구에서 11q13의 증폭이 특징적이었지만, 이 부위에 위치하는 cyclin D1의 과발현 자체가 ATC의 임상적인 나쁜 예후와 밀접한 영향을 가지는 않을 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. Tan RK, Finley RK 3rd, Driscoll D, Bakamjian V, Hicks WL Jr, Shedd DP: Anaplastic carcinoma of the thyroid: a 24-year experience. *Head Neck* 17:41-48, 1995
2. Wynford-Thomas D: Origin and progression of thyroid epithelial tumours: cellular and molecular mechanisms. *Horm Res* 47:145-157, 1997
3. Venkatesh YS, Ordenez NG, Schultz PN, Hickey RC, Goepfert Samaan NA: Anaplastic carcinoma of the

- thyroid. A clinicopathologic study of 121 cases. *Cancer* 66:321-330, 1990.
4. 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 differentiated thyroid carcinoma. *Int J Oncol* 21:1151-1154, 2002
5. Garcia-Rostan G, Tallini G, Herrero A, D'Aquila TG, Carcangiu ML, Rimm D: Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. *Cancer Res* 59:1811-1815, 1999
6. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B: Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396:643-649, 1998
7. Pierotti MA, Bongarzone I, Borello MG, Greco A, Pilotti S, Sozzi G: Cytogenetics and molecular genetics of carcinomas arising from thyroid epithelial follicular cells. *Genes Chromosomes Cancer* 16:1-14, 1996
8. Bauer AJ, Cavalli LR, Rone JD, Francis GL, Burch HB, Tuttle RM, Ringel MD, Stratakis CA, Haddad BR: Evaluation of adult papillary thyroid carcinomas by comparative genomic hybridization and microsatellite instability analysis. *Cancer Genet Cytogenet* 135:182-186, 2002
9. Stoler DL, Datta RV, Charles MA, Block AW, Brenner BM, Sieczka EM, Hicks WL Jr, Loree TR, Anderson G: Genomic instability measurement in the diagnosis of thyroid neoplasms. *Head Neck* 24:290-295, 2002
10. Ried T, Heselmeyer-Haddad K, Blegen H, Schrock E, Auer G: Genomic changes defining the genesis, progression, and malignancy potential in solid human tumors: a phenotype/genotype correlation. *Genes Chromosomes Cancer* 25:195-204, 1999
11. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D: Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 258:818-821, 1992
12. Wilkens L, Tchinda J, Burkhardt D, Nolte M, Werner M, Georgii A: Analysis of hematologic diseases using conventional karyotyping, fluorescence in situ hybridization (FISH), and comparative genomic hybridization (CGH). *Hum Pathol* 29: 833-839, 1998
13. Kuukasjarvi T, Tanner M, Pennanen S, Karhu R, Visakorpi T, Isola J: Optimizing DOP-PCR for unive-

- rsal amplification of small DNA samples in comparative genomic hybridization. Genes Chromosomes Cancer. 18:94-101, 1997*
14. Fagin JA. Genetic basis of endocrine disease 3: *Molecular defects in thyroid gland neoplasia. J Clin Endocrinol Metab 75:1398-1400, 1992*
15. Hemmer S, Wasenius VM, Knuutila S, Franssila K, Joensuu H: *DNA copy number changes in thyroid carcinoma. Am J Pathol 154:1539-1547, 1999*
16. Wilkens L, Benten D, Tchinda J, Brabant G, Potter E, Dralle H, von Wasielewski R: *Aberrations of chromosomes 5 and 8 as recurrent cytogenetic events in anaplastic carcinoma of the thyroid as detected by fluorescence in situ hybridisation and comparative genomic hybridisation. Virchows Arch 436:312-318, 2000*
17. Wreesmann VB, Ghossein RA, Patel SG, Harris CP, Schnaser EA, Shaha AR, Tuttle RM, Shah JP, Rao PH, Singh B: *Genome-wide appraisal of thyroid cancer progression. Am J Pathol 161:1549-1556, 2002*
18. Rodrigues RF, Roque L, Rosa-Santos J, Cid O, Soares J: *Chromosomal imbalances associated with anaplastic transformation of follicular thyroid carcinomas. Br J Cancer 90:492-496, 2004*
19. Zhu XL, Hartwick W, Rohan T, Kandel R: *Cyclin D1 gene amplification and protein expression in benign breast disease and breast carcinoma. Mod Pathol 11:1082-1088, 1998*
20. Smith BD, Haffty BG, Sasaki CT: *Molecular markers in head and neck squamous cell carcinoma: their biological function and prognostic significance. Ann Otol Rhinol Laryngol 110:221-228, 2001*
21. Tut VM, Braithwaite KL, Angus B, Neal DE, Lunec J, Mellon JK: *Cyclin D1 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: correlation with p53, waf1, pRb and Ki67. Br J Cancer 84:270-275, 2001*
22. Wang S, Lloyd RV, Hutzler MJ, Safran MS, Patwardhan NA, Khan A: *The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1, in the progression of thyroid cancer. Mod Pathol 13:882-887, 2000*
23. Rosai J, Carcangiu ML, DeLellis RA: *Tumors of the thyroid gland. Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1992*
24. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular cloning. A laboratory manual. 2nd ed., New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989*
25. Hanahan D, Weinberg RA: *The hallmarks of cancer. Cell 100:57-70, 2000*
26. Jenkins RB, Hay ID, Herath JF, Schultz CG, Spurbeck JL, Grant CS, Goellner JR, Dewald GW: *Frequent occurrence of cytogenetic abnormalities in sporadic nonmedullary thyroid carcinoma. Cancer 66:1213-1220, 1990*
27. Isola JJ, de Vries S, Chu LW, Ghazvini S, Waldman FM: *Analysis of changes in DNA sequence copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor samples. Am J Pathol 145:1301-1308, 1994*
28. Miura D, Wada N, Chin K, Magrane GG, Wong M, Duh QY, Clark OH: *Anaplastic thyroid cancer: cytogenetic patterns by comparative genomic hybridization. Thyroid 13:283-290, 2003*
29. Komoike Y, Tamaki Y, Sakita I, Tomita N, Ohue M, Sekimoto M, Miyazaki M, Kadota M, Masuda N, Ooka M, Ohnishi T, Nakano Y, Kozaki T, Kobayashi T, Matsuura N, Ikeda T, Horii A, Monden M: *Comparative genomic hybridization defines frequent loss on 16p in human anaplastic thyroid carcinoma. Int J Oncol 14:1157-1162, 1999*
30. Fearon ER, Vogelstein B: *A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 61:759-767, 1990*
31. Zitzelsberger H, Lehmann L, Hieber L, Weier HU, Janish C, Fung J, Negele T, Spelsberg F, Lengfelder E, Demidchik EP, Salassidis K, Kellerer AM, Werner M, Bauchinger M: *Cytogenetic changes in radiation-induced tumors of the thyroid. Cancer Res 59:135-140, 1999*
32. Björkqvist AM, Tammilehto L, Anttila S, Mattson K, Knuutila S: *Recurrent DNA copy number changes in 1q, 4q, 6q, 9p, 13q, 14q and 22q detected by comparative genomic hybridization in malignant mesothelioma. Br J Cancer 75:523-527, 1997*
33. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Citro G, Sauter G, DeVries S, Kerschmann R, Carroll P, Waldman F: *Identification of gains and losses of DNA sequences in primary bladder cancer by comparative genomic hybridization. Genes Chromosomes Cancer 12: 213-219, 1995*
34. Monni O, Joensuu H, Franssila K, Knuutila S: *DNA copy number changes in diffuse large B-cell lymphoma-comparative genomic hybridization study. Blood 87:5269-5278, 1996*

35. Mark J, Ekedahl C, Dahlenfors R, Westermarck B: *Cytogenetical observations in five human anaplastic thyroid carcinomas. Hereditas 107:163-174, 1987*
36. Kjellman M, Kallioniemi OP, Karhu R, Hoog A, Farnebo LO, Auer G, Larsson C, Backdahl M: *Genetic aberrations in adrenocortical tumors detected using comparative genomic hybridization correlate with tumor size and malignancy. Cancer Res 56: 4219-4223, 1996*
37. Ried T, Heselmeyer-Haddad K, Blegen H, Schrock E, Auer G: *Genomic changes defining the genesis, progression, and malignancy potential in solid human tumors: a phenotype/genotype correlation. Genes Chromosomes Cancer 25:195-204, 1999*
38. Hemmer S, Wasenius VM, Knuutila S, Joensuu H, Franssila K: *Comparison of benign and malignant follicular thyroid tumours by comparative genomic hybridization. Br J Cancer 78:1012-1017, 1998*