

기관고유연구사업 결과보고서

(과제번호 : 0710230-1)

연구과제명 (국문) : 갑상선미세유두암의 마이크로어레이 분석 :
예후 예측을 위한 분자유전학적 분류

연구과제명 (영문) : Microarray analysis of papillary thyroid
microcarcinoma (PTMC):molecular classification for the prediction
of prognosis

과제책임자 : 김 선 욱

국 립 암 셴 터

(뒷면)

(측면)

<p data-bbox="279 1173 1093 1272">1. 이 보고서는 국립암센터 기관고유연구 사업 결과보고서입니다.</p> <p data-bbox="279 1352 1093 1509">2. 이 보고서 내용을 인용할 때에는 반드시 국립암센터 연구사업 결과임을 밝혀야 합니다.</p> <p data-bbox="539 1576 836 1621">(14 pont, 고딕체)</p>	<p data-bbox="1203 479 1264 613">↑ 5cm ↓</p> <p data-bbox="1203 712 1238 846">과 제 명</p> <p data-bbox="1203 1473 1238 1711">국 립 암 센 터</p> <p data-bbox="1203 1778 1264 1912">↑ 3cm ↓</p>
---	---

↑
6cm
↓

제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “갑상선미세유두암의 마이크로어레이 분석 :
예후 예측을 위한 분자유전학적 분류” 과제의 결과보고서로 제출합니다.

2008. 1. 26

국립암센터

과제책임자 : 김 선 욱

연 구 원 : 이 건 국

” : 김 석 원

” : 양 선 경

제1세부과제명(과제책임자) : 해당없음

제2세부과제명(과제책임자) : 해당없음

·
·
·

참여기업명 : 해당없음

목 차

< 요약 문 >	-----	1
1. 연구사업의 최종목표	-----	4
2. 연구사업의 내용 및 결과	-----	5
3. 연구결과 고찰 및 결론	-----	10
4. 연구성과 및 목표달성도	-----	11
5. 연구결과의 활용계획	-----	12
6. 참고문헌	-----	13
7. 첨부서류	----	해당없음

< 요약 문 >

연구분야(코드)	실용화 (B-3)	과제번호	0710230-1	
과제명	갑상선미세유두암의 마이크로어레이 분석 : 예후 예측을 위한 분자유전학적 분류			
연구기간/연구비(천원)	합계	2007년 1월 1일 ~ 2007년 12월 31일		45,000
	1차년도	2007년 1월 1일 ~ 2007년 12월 31일		45,000
과제책임자	성명	김선욱	주민등록번호	
	전화번호	031-920-1607	전자우편	swkim@ncc.re.kr
색인단어	국문	갑상선유두암, 마이크로어레이, 유전자발현, 림프절		
	영문	papillary thyroid carcinoma, microarray, gene expression, lymph node		

◆ 연구목표

<최종목표>

마이크로어레이 분석을 통하여 최근 급격한 발생의 증가를 보이는 갑상선미세유두암에서 occult한 경과를 보여서 수술적 필요가 없는 군과 공격적인 경과를 보이기 때문에 갑상선절제술을 필요로 하는 군을 분류하는 법을 확립하여 불필요한 갑상선절제술을 줄임으로서 우리나라에서 의료경제적인 부담을 줄이고 환자들에게도 갑상선절제술을 피할 수 있도록 하여 삶의 질향상에 도움이 되도록 함

<당해연도목표>

- 대상환자군의 임상데이터와 병리 검체의 확보
- formalin fixed paraffin embedded(FFPE) 검체에서 microarray 분석에 사용할 수 있는 RNA 추출법의 확립
- microarray 분석법 확립

◆ 연구내용 및 방법

배경 : 갑상선 유두암은 현재 매우 빠른 속도로 증가하고 있으며 예후가 매우 다양하여 추가적인 방사성동위원소 요오드 치료 등의 적극적인 치료를 필요로 하는 군을 선별하여 치료하는 것이 환자의 삶의 질 뿐만 아니라 국가경제적으로 중요함.

개요 : 갑상선유두암 조직과 정상 갑상선조직에서 발현되는 유전자의 차이를 알아보고 재발의 가장 중요한 예후인자로 알려진 림프절의 전이 여부에 따라서 유전자의 발현이 차이가 있는 지를 알아보하고자 함

검체 및 방법 : 총 19례의 갑상선유두암 신선동결 조직과 7례의 정상갑상선조직을 이용하였고 19례중 10례는 림프절 전이가 없는 갑상선유두암이며 9례는 뚜렷한 림프절 전이를 보이는 군이었음. 23920개의 probe를 지닌 Illumina 사의 HumanRef-8 Expression Beadchip을 이용하여 microarray 실험을 진행하였으며 스캔 후 제공되는 프로그램을 이용 통계적 분석을 진행하여 유전자 발현의 차이를 알아보고 Hierarchical clustering을 시행함

결과 : 갑상선유두암에서 유의한 발현차이를 보이는 유전자는 총 476개 였고 210개의 유전자가 발현이 증가되었으며 266개이 유전자의 발현이 떨어져 있었다. 이를 이용하여 hierarchial clustering을 하였을 때 정상 갑상선조직과 잘 구별이 되었다. 가장 차이가 크게 발현이 증가되어 있던 유전자는 TM7SF4유전자였고 가장 발현이 떨어져 있던 유전자는 CCL21였다. 림프절 전이에 따른 차이를 알아보고자 분석을 진행하였을 때 뚜렷한 림프절 전이를 보이는 군과 림프절 전이를 보이지 않는 군에서 통계적으로 의미 있는 발현의 차이를 보이는 유전자가 없어 두 군간을 유전자 발현 차이에 따라 clustering 할 수 없었다.

결론 : 상기의 microarray 실험을 통하여 갑상선유두암에서 의미있게 발현차이를 보이는 476개의 유전자를 찾아내었으며 이를 통하여 향후 갑상선유두암의 pathogenesis 및 targeted therapy를 연구할 수 있는 자료를 확보할 수 있었다. 하지만 갑상선유두암의 중요한 재발 예후 인자인 림프절 전이에 따른 유전자 발현의 차이는 발견할 수 없었다.

◆ 연구성과

- 정량적 성과 : 논문발표 IF 점(SCI급 4편)
현재 예정임. Clinical endocrinology 에 제출 예정 (IF 3.358)
- 정성적 성과

◆ 참여연구원 (최종연도 참여인 원)	성 명	김선욱, 이건국, 김석원, 양선경
	주민등록번호	

※ 요약문의 총분량은 2page 이내로 제한함

Project Summary

Title of Project	Microarray analysis of papillary thyroid microcarcinoma (PTMC): molecular classification for the prediction of prognosis
Key Words	papillary thyroid carcinoma, microarray, gene expression, lymph node
Project Leader	Sun Wook Kim
Associated Company	None

Purpose : the purpose of this research was to identify genes that are differently expressed in papillary thyroid cancer according to the status of lymph node metastasis, which is an important prognostic marker of recurrence.

Method : Gene expression analysis using microarray platform was performed on 19 papillary thyroid carcinomas and 7 pathologically normal thyroid samples. Microarrays containing 23920 probes were used for hybridization with total RNA from normal and papillary thyroid carcinomas. Scanned array images were recorded and data analysis was performed.

Results : We identified 476 genes that differentiate histologically papillary thyroid carcinomas from normal thyroid tissue. Of these 210 genes were up-regulated and 266 genes were down-regulated in papillary thyroid carcinoma. TM7SF4 was the most up-regulated and CCL21 was the most down-regulated gene. There was no significantly differently expressed gene in papillary thyroid carcinomas according to the status of lymph node metastasis.

Conclusion : Our study shows the following : 1) differences in gene expression between papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue can be identified. 2) We could not find statistically significant differences in gene expression according to status of LN metastasis in papillary thyroid carcinoma

1. 연구사업의 최종목표

(1) 최종목표 :

마이크로어레이 분석을 통하여 최근 급격한 발생의 증가를 보이는 갑상선미세유두암에서 전통적 잠재암과 적극적 수술 치료가 필요한 군을 분류하는 법을 확립하여 불필요한 갑상선절제술을 줄임으로서 우리나라에서 의료경제적인 부담을 줄이고 환자들에게도 삶의 질향상에 도움이 되도록 함

<당해연도목표>

- 대상환자군의 임상데이터와 병리 검체의 확보
- FFPE 검체에서 microarray 분석에 사용할 수 있는 RNA 추출법의 확립
- microarray 분석법 확립

(2) 연차별 목표 및 내용

(단위 : 천원)

구분	목표	내용 및 범위	연구비
1차년도 (2007)	대상 확정과 microarray 실험법 확립	대상검체의 확정, RNA 추출법확립, microarray 분석법 확립	45,000
2차년도 (2008)	microarray data 분석과 실용화방안 마련	microarray 분석을 실시하고 이에 따른 발현 차이 유전자를 찾아내어 이를 임상에 활용할 수 있는 방안 마련	50,000

2. 연구사업의 내용 및 결과

1) Tissue Samples

1차 년도의 목표에서 기술된 FFPE 검체에서 cDNA microarray 분석에 사용할 수 있는 RNA 추출법의 확립과 이를 이용한 microarray 분석법의 확립을 위하여 formalin fixed paraffin embedded tissue에서 RNA를 추출하고 illumina사의 DASL assay 법을 이용하여 분석을 진행하였으나 RNA 획득이 안정적이지 못하였다. 따라서 유두암의 gene expression profile을 보기 위하여 신선동결 조직을 획득하였다. 19례의 갑상선유두암 조직과 7례의 정상갑상선 조직을 사용하였다. 조직들은 수술 중 병리과에서 급속 동결되어 실험 전까지 -80℃에서 보존되었다. 검체는 90% 이상 neoplastic cell로 이루어졌음이 확인되었다. 환자 검체의 채취는 환자의 수술 전 고지 및 동의와 IRB를 통과 지침에 따라 이루어졌다. 총 19례의 갑상선유두암 환자 중 림프절 전이가 있는 경우가 9례였으며 림프절 전이가 없는 경우가 10례 였다. 7례의 정상 갑상선 조직을 얻어서 비교를 진행하였으며 이 중 5례는 중앙조직과 짝을 이루는 정상 조직을 사용하였다. (Table 1.)

2) RNA 추출

Quiagen 사의 RNeasy Mini kit를 이용하여 제작사의 recommendation에 따라서 검체 조직으로부터 RNA를 추출하였다. RNA의 quality check을 위하여 개개의 샘플에 대하여 Bioanalyzer (Agilent)를 이용하여 RNA의 quality를 검사하여 microarray 실험에 적절한 지를 판단하였다.

3) Microarray analysis

Whole genome expression을 알아보기 위하여 Illumina's Sentrix HumanRef-8 Expression BeadChip을 사용하였다. 이 키트는 National Center for Biotechnology Information (NCBI) Reference Sequence (RefSeq) database, Release 17에 따른 16283 RefSeq gene를 포함하여 23920 개의 probe로 이루어져 있다. Illumina Amplification Kit (Ambion, Inc., San Diego, CA)을 이용하여 Biotynylated cRNA 를 만들었고, RNeasy kit (Qiagen, Valencia, CA)를 이용해 정제하였다. Sentrix HumanRef-8 Expression BeadChip (Illumina, Inc., San Diego, CA)에 hybridization 시킨후 매뉴얼에 따라 세척을 하였다. 스캔은 confocal laser scanner 로 시행하였다. Illumina BeadArray Reader scanner를 이용하여 Scan을 하였고 BeadStudio software를 이용하여 분석하였다. 전체 검체 중 50% 이상에서(26개 검체 중 13개 이상) 샘플에서 detection p-value가 <0.05인 15196 probe에 대하여 분석을 진행하였으며 선별된 probes에 대해서, 마이크로어레이 실험에서 발생하는 시스템적 변동(실험 단위에서 발생하는 오차)을 줄이기 위해서, Quantile Normalization 방법으로 보정했다. 각 그룹내외 각 샘플에 대한 비교로 fold-change 및 adjusted FDR p-value를 산출하여 1) fold-change>2 이고 2)p<0.05인 유전자를 유의한 의미를 가지는 것으로 판단하였다. 유의한 의미를 가지는 유전자에 대해서 panther Classification system (<http://www.pantherdb.org>)을 이용하여, cell proliferation, cell death 등 유전자가 관여하는 생리적, 분자생물학적 기능별로 분류했다. 통계적 분석은 Arrayassist (Stratagene, La Jolla, CA), R (Ver. 2.6) 로 하였다.

Table 1. Patients and specimens characteristics * 종양과 match과 되는 정상대조군이 존재하는 조직

Sample	Diagnosis	Gender	Age	Size (Cm)	LN status	
1R(T)1=MX1	PTC			0.4	0/34	
2R(T)2=MX2*	PTC			0.5	0/14	
3R(T)4=MX3	PTC			0.7	0/13	
4R(T)13=MX4	PTC			1.0	0/6	
5R(T)14=MX5	PTC					
6R(T)16=MX6*	PTC			1.1	0/17	follicular var
7R(T)19=MX7	PTC			1.5	0/8	
8R(T)21=MX8	PTC			1.8	0/9	
9R(T)26=MX9	PTC			2.9	0/34	
10R(T)27=MX10	PTC			3	0/6	
11R(T)3=MO1	PTC			0.6	9/12	
12R(T)6=MO2	PTC			0.8	2/13	3.5cm 측경부
13R(T)9=MO3	PTC			0.9	6/6	
14R(T)11=MO4*	PTC			1.0	3/8	
15R(T)17=MO5	PTC			1.5	9/22	국소침범+측경부
16R(T)18=MO6*	PTC			1.5	3/9	
19R(T)28=MO9	PTC			1.7	6/9	
17R(T)23=MO7	PTC			2.0	12/26	측경부
18R(T)25=MO8*	PTC			2.7	12/20	측경부
19R(N)2	Normal					
20R(N)7	Normal					
21R(N)8	Normal					
22R(N)11	Normal					
23R(N)14	Normal					
24R(N)16	Normal					
25R(N)18	Normal					
26R(N)28	Normal					

결과 1) 갑상선유두암에서 gene expression 양상

갑상선유두암에서 유의한 2배를 초과한 발현차이를 보이는 유전자는 총 476개였다. 이 중 210개의 유전자가 갑상선유두암에서 발현이 증가되었으며 266개는 유전자의 발현이 떨어져 있었다. 가장 차이가 크게 발현이 증가되어 있던 유전자는 TM7SF4 유전자로 transmembrane 7 superfamily member 4 의 mRNA 였고 가장 발현이 떨어져 있던 유전자는 CCL21로서 chemokine (C-C motif) ligand 21 (CCL21)의 mRNA 였다. 476개의 유전자를 PANTHER(protein analysis through evolutionary relationships) 분류법에 따라서 어떤 biological process (Fig. 1.)에 해당하는지와 어떤 molecular function (Fig.2)에 해당하는지를 표시하였다.

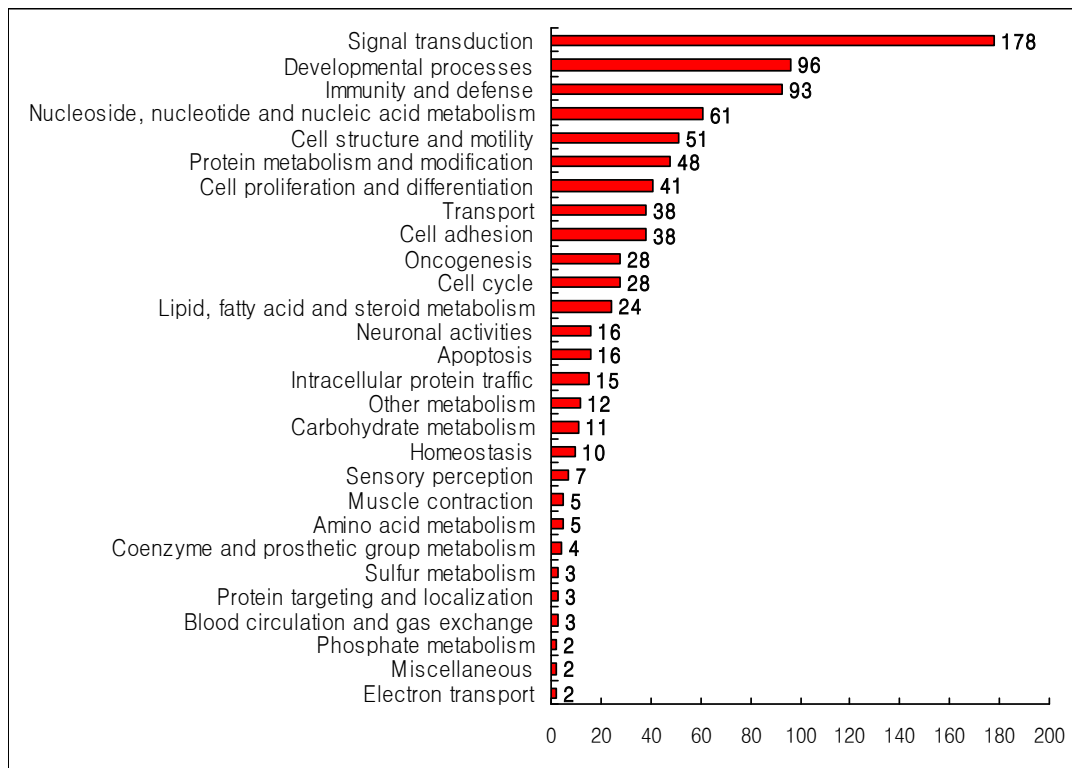


Fig 1. Biologic functions of differentially expressed genes between papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue

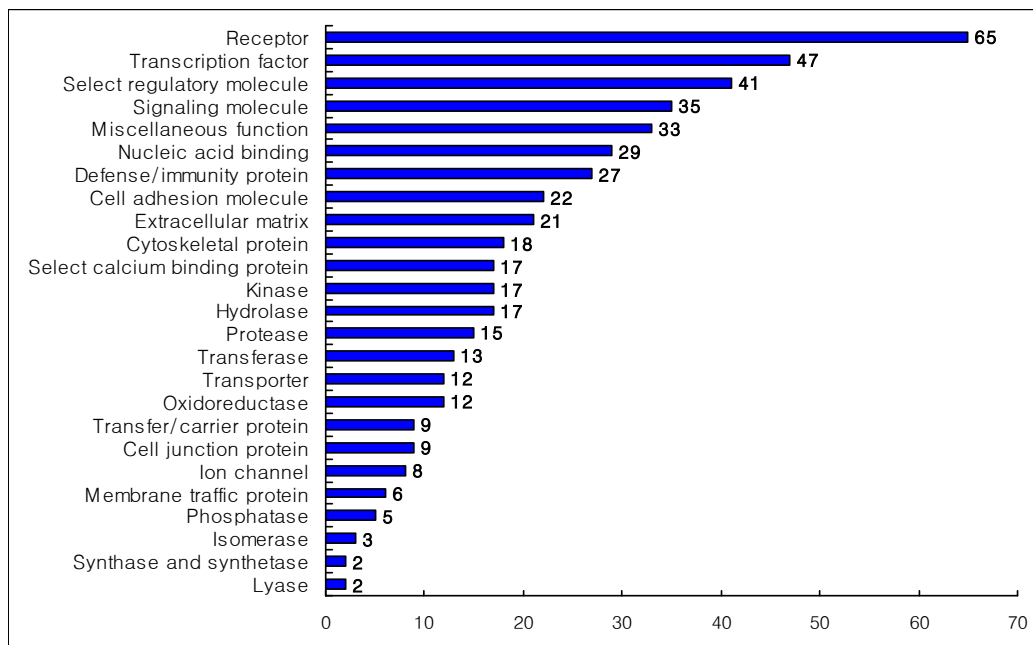


Fig 2. Molecular functions of differentially expressed genes between papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue

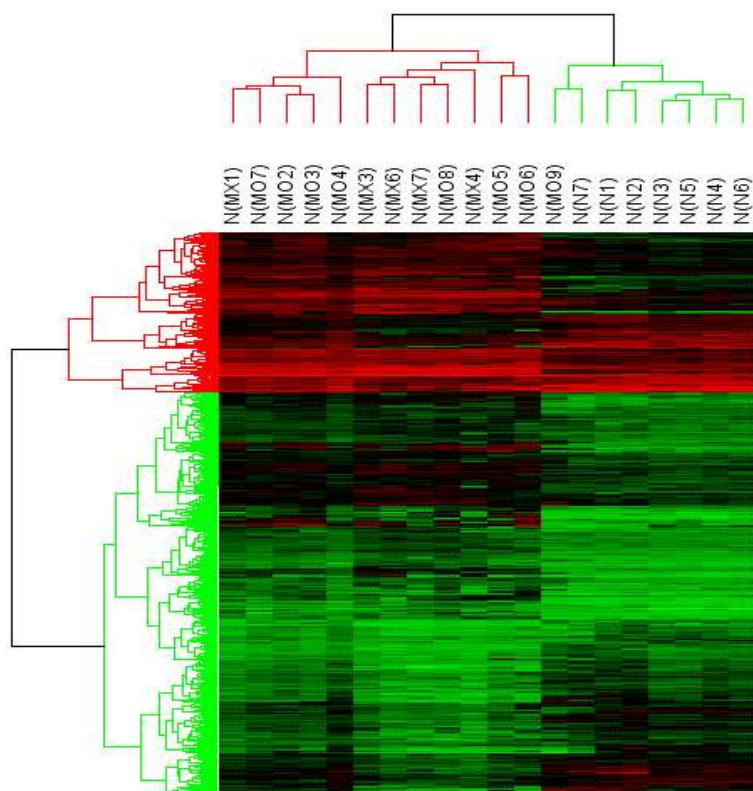


Fig 3. Hierarchical clustering based on differentially expressed genes that segregate papillary thyroid carcinoma from normal thyroid tissue

결과 2) 갑상선유두암에서 림프절 전이에 따른 유전자 발현의 차이

갑상선유두암의 림프절 전이에 따른 유전자 발현의 차이를 알아보려고 뚜렷한 림프절 전이를 보이는 군과 림프절 전이를 보이지 않는 군에서 발현의 차이를 보이는 유전자를 찾고자 하였으나 기준에 맞는 유의한 수준의 발현차이를 보이는 유전자가 없어 두 군간의 차이를 유전자 발현에 따라 clustering 할 수 없었다. (Fig 4.)

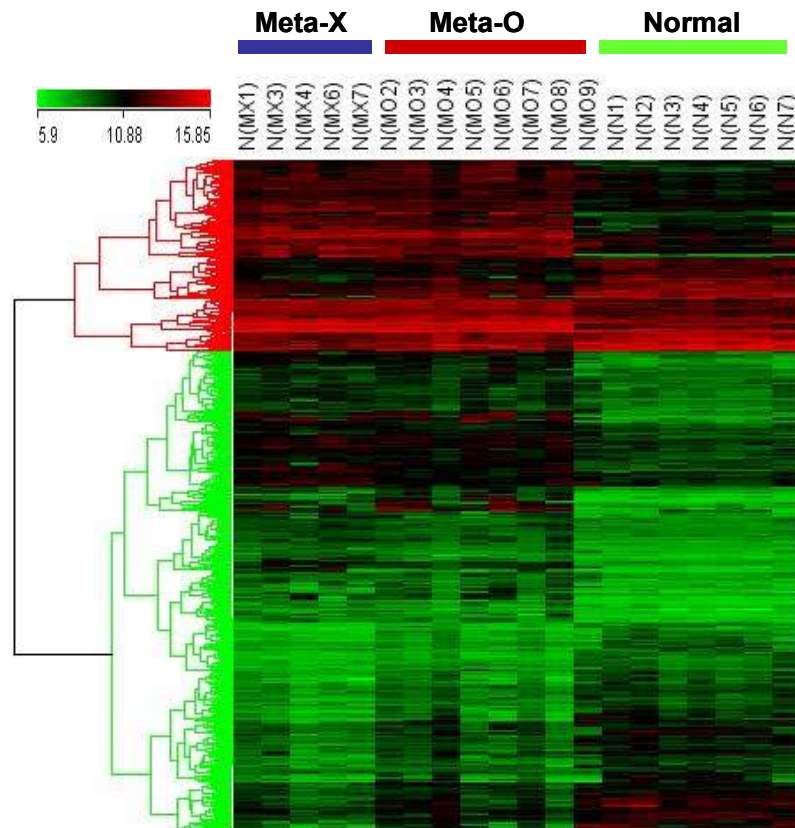


Fig 4. Hierarchical clustering based on differentially expressed genes showed no difference between papillary thyroid carcinoma according to LN metastasis status but clearly differentiate both from normal thyroid tissue

3. 연구결과 고찰 및 결론

갑상선유두암의 조직과 정상 갑상선조직을 비교시 476개의 유전자에서 통계적인 fold change와 t-test의 p-value의 조건을 만족하는 유전자의 발현차이를 발견할 수 있었다. 이러한 유전자를 이용한 hierarchial clustering을 실시한 경우 갑상선유두암과 정상조직은 확연한 구분이 됨을 보았다. 향후 이러한 발현 차이 유전자 들 중 일부 의미를 가지는 유전자에 대한 정량적 RT-PCR을 진행하여 확인하는 작업이 필요하며 또한 가능한 항체가 있는 경우 면역조직화학염색을 통한 확인도 가능할 것으로 생각된다.

최근에 갑상선유두암의 급격한 발생 증가에 따라 모든 환자에 대하여 수술에 추가하여 방사성동위원소 요오드 치료를 시행하는 것은 환자 삶의 질 및 국가경제적인 문제가 되고 있다. 따라서 재발 및 사망의 위험이 낮은 군을 가려내어 치료 방침을 결정하는 방법을 마련하는 것은 중요한 연구분야이다. Ito 등은 같은 갑상선미세유두암이라다 림프절 전이가 뚜렷한 군에서 면역조직화학검사에 공격적인 양상을 보인다는 보고를 하였다. 따라서 재발의 가장 중요한 원인 인자 중 하나인 림프절 전이여부에 따른 유전자 발현 차이를 비교하여 보았다. 하지만 림프절 전이에 따른 유전자 발현의 차이를 발견할 수가 없어 갑상선유두암에서 많이 동반되는 림프절 전이가 원래 주변에 많이 분포되어 있는 림프절과 동반된 by chance 현상인지 아니면 갑상선유두암 자체의 유전자 발현 차이 이외에 tumor-environment의 차이에 따른 이차적인 현상인지에 대한 추가 연구가 필요하다.

14. 연구성과 및 목표달성도

(1) 연구성과

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

현재 자료를 정리하여 제 1저자로 국외 SCI저널에 발표를 준비하고 있음

과제와 관련하여 acknowledgement를 작성하여 과제 관련성은 상으로 평가될 것임

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

최종목표	연차별목표		달성내용	달성도(%)	
				연차	최종
	1차년도	적절한 대상 검체군의 확정	갑상선유두암환자에서 동결검체를 획득	1	90
		FFPE 검체에서 microarray 실험에 적절한 RNA 추출	FFPE 검체에서 RNA 추출법에 대하여 여러 시도하였으나 안정적이지 못함		
		gene expression 차이를 보기 위한 microarray 연구 수행 (1)	FFPE 검체 대신 동결검체에서 유두암 의 유전자 발현을 보고자하는 실험을 예정대로 진행함		
	2차년도	gene expression 차이를 보기 위한 microarray 연구 수행 (2)	FFPE 검체 대신 동결검체에서 유두암 의 유전자 발현을 보고자하는 실험을 예정대로 진행하고 조기에 종결함	2	1 년 실 험 으 로 조 기 종 결 함
		bioinformatics를 이용한 cluster analysis	클러스터 분석을 시행함		
		의미있는 발현차이를 보이는 유전자에 대한 qRT-PCR 확인	분석에 따른 후속실험을 진행예정 임		
	유전자 발현 차이를 이용하여 갑상선유두암에서 예후 예측하는 방법을 확립	현재 데이터 작업을 진행중임			

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
유두암 검체에서 microarray 분석법을 통하여 의미있는 유전자의 발현 차이 발견	476개의 up 또는 down regulation 되는 유전자를 발견하였고 이를 이용 적절하게 정상과 갑상선유두암의 구분을 실시할 수 있게됨
유전자와 예후와의 관계 평가	갑상선유두암의 림프절 전이에 따른 발현의 차이를 발견할 수 없어 현재로서는 유전자 발현을 이용한 실험이 예후인자로서의 가치는 떨어질 것으로 생각됨

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

구 분	건 수	비 고
학술지 논문 게재	2	Clinical Endocrinology(IF :3.358) Journal of Korean Medical Science (IF : 0.75)
산업재산권 등록		해당없음
기 타		

(2) 연구성과의 활용계획

1) 갑상선유두암에서 발현이 증가 또는 감소된 유전자의 발견

이 결과를 이용하여 향후 일부 유전자 세트를 이용하여 갑상선유두암의 세침흡인검체를 이용한 갑상선결절의 진단에 이용할 수 있고 또한 molecular pathogenesis 및 targeted therapy의 연구를 위한 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 그 전에 먼저 다른 검체에서 상기 유전자 중 의미를 지닌 세트를 이용한 정량적 RT-PCR을 이용하여 확인을 하는 실험이 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

2) 갑상선유두암에서 림프절 전이에 따른 유전자 발현차이가 없음

이러한 결과는 림프절 전이가 단지 갑상선유두암에서 매우 높은 비율로 나타나는 것에 따른 by chance 현상인지 아니면 갑상선유두암 자체의 유전자 발현 차이 이외에 tumor-environment의 차이에 따른 이차적인 현상인지에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

6. 참고문헌

- 1) Takano T et al. Gene expression profiles in thyroid carcinomas. *Br J Cancer* 2000; 83: 1495-1502
- 2) Huang Y et al. Gene expression in papillary thyroid carcinoma reveals highly consistent profiles *PNAS* 2001; 98:15044-15049
- 3) Chen K et al. Identifying differentially expressed genes associated with metastasis of follicular thyroid cancer by cDNA expression array. *Thyroid* 2001; 11:41-46
- 3) Eszlinger M et al. Complementary DNA expression array analysis suggests a lower expression of signal transduction proteins and receptors in cold and hot thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4834-4842
- 4) Wasenius V et al. Hepatocyte growth factor receptor, matrix metalloproteinase-11, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and fibronectin are up-regulated in papillary thyroid carcinoma: a cDNA and tissue microarray study. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 68-75
- 5) Barden BC et al. Classification of follicular thyroid tumors by molecular signature: results of gene profiling. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1792-1800
- 6) Mazzanti C et al. Using gene expression profiling to differentiate benign versus malignant thyroid tumors. *Cancer Res* 2004; 64: 2898-2903
- 7) Zou M et al. 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* 2004; 89: 6146-6154
- 8) Micheala A et al. Papillary and follicular thyroid carcinomas show distinctly different microarray expression profiles and can be distinguished by a minimum of five genes. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3531-3539
- 9) Finley JD et al. Discrimination of benign and malignant thyroid nodules by molecular profiling. *Ann Surg* 2004; 240: 425-437
- 10) Hawthorn L et al. TIMP1 and SERPIN-A overexpression and TFF3 and CRABP1 underexpression as biomarkers for papillary thyroid carcinoma. *Head Neck* 2004;26: 1069-1083
- 11) Finley JD et al. Molecular profiling distinguishes papillary thyroid carcinoma from benign thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3214-3223
- 12) Yano Y et al. Gene expression profiling identifies platelet-derived growth factor as a diagnostic molecular marker for papillary thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2035-2043

- 13) Chevillard S et al. Gene expression profiling of differentiated thyroid neoplasms: diagnostic and clinical implications. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6586-6597
- 14) Arnaldi L et al. Gene expression profiles reveal that DCN, DIO1, and DIO2 are underexpressed in benign and malignant thyroid tumors. *Thyroid* 2005; 15: 210-221
- 15) Weber F et al. Genetic classification of benign and malignant thyroid follicular neoplasia based on a three-gene combination. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90: 2512-2521
- 16) Giordano JT et al. Molecular classification of papillary thyroid carcinoma: distinct BRAF, RAS and RET/PTC mutation-specific gene expression profiles discovered by DNA microarray analysis. *Oncogene* 2005;124: 6646-6656
- 17) Quackenbush J et al. Microarray analysis and tumor classification. *N Eng J Med* 2006; 354: 2463-2472
- 18) Kebebew E et al. Diagnostic and extent of disease multigene assay for malignant thyroid neoplasm. *Cancer* 2006; 106: 2592-2597
- 19) Griffith LO et al. Meta-analysis and Meta-review of thyroid cancer gene expression profiling studies identifies important diagnostic biomarkers. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5043-5051

7. 첨부서류 : 해당없음