

갑상샘 종양에서 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현의 의의

이주호 · 전호중 · 이미자

조선대학교 의과대학 병리학교실

Significance of p53, cyclin D1 and c-myc Expressions in Thyroid Tumors

Zhuhu Li, Ho Jong Jeon and Mi Ja Lee

Department of Pathology, College of Medicine, Chosun University, Gwangju, Korea

접 수 : 2003년 11월 27일

게재승인 : 2004년 1월 29일

책임저자 : 이 미 자

우 501-759 광주광역시 동구 서석동 375

조선대학교 의과대학 병리학교실

전화: 062-230-6345

Fax: 062-234-4584

E-mail: mjblee@mail.chosun.ac.kr

*이 논문은 2002년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

Background : The G1/S phase proteins of the cell cycle play critical roles in tumorigenesis and tumor progression. Our aim was to investigate the significance of p53, cyclin D1 and c-myc expressions in thyroid tumors. **Methods :** The expressions of these proteins were examined in 217 cases of thyroid tumors and tissues using immunohistochemistry. The results were correlated with lymph node metastasis. **Results :** p53 expression was seen in 75.5, 47.5, 66.7, and 50% of papillary carcinomas (PC), follicular carcinomas (FC), undifferentiated carcinomas (UC) and follicular adenomas (FA), respectively. There was a significant difference between these expressions in these tumors and the results in nodular hyperplasia (NH) and normal tissues. Cyclin D1 expression was noted in 80.0, 68.4, 66.7, 61.1 and 79.5% of PC, FC, UC, FA and NH, respectively. c-myc expression was seen in 80.0, 94.2, 66.7, 66.7 and 52.3% of PC, FC, UC, FA and NH, respectively. There was a significant association between the expressions in these tumors and the results in normal tissues. The expressions of p53, cyclin D1 and c-myc were not correlated with lymph node metastasis. **Conclusions :** These findings suggest the expressions of p53, cyclin D1 and c-myc may act in the early stage, and participates in tumorigenesis and promoting cell growth.

p53 유전자는 손상된 DNA의 수복과 세포성장조절의 전사인자로서, 세포주기 중 G1 조절점(checkpoint)에 작용하는 종양억제유전자이다.¹⁻³ p53은 전사인자로 작용하여 세포주기 의존성 카이네이즈(cell cycle dependent kinase, CDK) 억제 단백질인 p21의 발현을 증가시킨다.^{4,5} 여기에서 p21은 G1 단계에서 Rb 단백을 인산화시켜 세포주기를 진행하는 cyclin D/CDK 복합체 형성을 억제함으로써 세포주기 진행을 막는 기능을 한다.^{6,7} 그러나 p53이 점 돌연변이, 염색체 소실 등에 의한 변이로 이러한 기능을 소실하게 되면, DNA 손상이 있더라도 G1 단계에서 저지할 수가 없어 무분별하게 세포주기가 진행되고 이에 따라 세포의 증식이 계속되어 종양 형성에 영향을 끼칠 수 있다.

Cyclin D1 유전자는 세포주기 중 G1/S기의 이행에 관여하는데, cyclin D1이 CDK4 또는 CDK6와 복합체를 이루어 활성화되면 Rb 단백을 인산화시켜 세포를 S기로 이행하게 한다.⁸ 그러므로 cyclin D1이 유전자 증폭이나 과발현이 될 경우 세포증식을 촉진하는 것으로 알려져 있다.⁹ 또 c-myc와 같은 다른 oncogene과 함께 악성화에 작용하기도 한다.¹⁰

c-myc은 핵내 종양단백으로서 유전자는 8q24에 위치하며 DNA 복제 촉진, G1 세포주기 조절 및 세포분화를 조절하는 기능을 가지고 있다.¹¹ c-myc은 세포분열에 관여하는 유전자들을 복사하는 인자인데, p53 및 세포분열에 관여하는 cyclins (A, E, D), CDK 1, 2 등을 복사한다. c-myc은 이런 복사작용을 통하여 cyclins, CDK을 활성화시킴으로써 G1/S기 이행을 촉진하며 S기 및 G2기에도 작용하여 세포의 성장을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.¹¹ p53은 c-myc에 의해 유도되는 세포증식을 억제하는 역할을 하는데, 만일 세포에서 c-myc이 과발현되면 p53의 조절 기능이 약화되어 G1기에서 S기로 이행하게 된다.¹¹

갑상샘 종양의 연구에서 세포주기, 특히 G1-S기 이행의 촉진에 관여하는 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현에 관한 연구는 많지 않은 실정이다. 이에 저자들은 갑상샘 종양에서 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현이 갖는 의의를 알아보고자 이들 단백질 발현과 조직학적 유형 간의 상관성 및 림프절 전이 여부와의 상관성을 연구하였다.

재료와 방법

재료

1990년부터 2001년까지 병원에서 갑상샘 절제술을 받은 환자의 파라핀 포매 조직 가운데 보관이 잘 되어 있는 217예를 대상으로 하였다. 이 가운데 유두암중(PC) 80예, 소포암중(FC) 19예, 소포샘중(FA) 18예, 미분화암중(UC) 6예, 결절갑상샘중대(NH) 44예, 정상 갑상샘 조직 50예였다. 환자의 평균 나이는 45.5세였다. 유두암중 환자 80예 가운데 27예에서 림프절전이 있었다.

면역조직화학염색

선택한 환자의 파라핀 포매 조직을 4 μ m 두께로 박절하여 X-tra 슬라이드(Surgipath, Richmond, USA)에 부착하고 xylene에 탈파라핀하였다. 그 다음 알코올로 함수과정을 거친 뒤 증류수로 세척하였다. 항원성 회복을 위해 citrate 완충용액(10 mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담근 뒤 전자오븐을 이용하여 98°C에서 10분 동안 끓였다. 실온에서 20분간 식힌 다음 tris 완충용액에 세척하고 내인성 과산화효소의 활성을 억제시키기 위해 3% 과산화수소를 사용하여 10분 동안 처리하였다. Tris 완충용액에 세척하고 차단항체를 실온에서 10분 동안 반응시켰다. 사용한 일차항체 중 p53 단백질(DO-7, NeoMarkers, Fremont, CA, 1:50)과 c-myc 단백질(9E10.3, NeoMarkers, 1:50)은 각각 4°C에서 밤새 반응시켰고, cyclin D1 단백질(R-124, Santa Cruz, San Diego, CA, 1:50)은 실온에서 1시간 반응시켰다. Tris 완충용액에 세척하고 비오틴이 결합된 이차항체를 실온에서 15분 동안 반응시킨 뒤 tris 완충용액으로 수세하고, peroxidase가 결합된 streptavidin 용액을 10분 동안 반응시켰다. Tris 완충용액으로 세척하고 발색제는 AEC (3-acetyl-9-ethyl carbazol)를 사용하였으며 hematoxylin으로 대조염색하였다. 양성 대조군으로는 p53 발현은 이미 확인된 위암 조직을, cyclin D1과 c-myc 발현은 유방암 조직으로 하였다. 음성 대조는 일차항체 대신 tris 완충용액을 사용하였다.

Table 1. p53 expression in thyroid tumors and tissues

	No. of cases	p53				positive cases (%)
		0	1+	2+	3+	
PC	80	18	26	7	29	62 (77.5%)
FC	19	10	2	1	6	9 (47.4%)
UC	6	2	0	0	4	4 (66.7%)
FA	18	9	4	3	2	9 (50.0%)
NH	44	37	4	3	0	7 (15.9%)
Normal	50	48	2	0	0	2 (4.0%)

FA, follicular adenoma; FC, follicular carcinoma; NH, nodular hyperplasia; PC, papillary carcinoma; UC, undifferentiated carcinoma.

결과 판정

염색결과에 대한 판정은 일차항체 모두 핵에 염색이 된 것을 양성으로 판정하였으며, 염색의 강도와 빈도를 점수화하였다. 염색강도는 양성대조군의 양성반응강도를 참고하여, 핵에 반응이 없는 경우를 "0", 약한 경우를 "1", 중등도인 경우 "2", 강한 경우를 "3"으로 하였다. 염색빈도는 세포의 10% 이내에서 양성반응을 보이는 경우를 "1", 10-50%인 경우 "2", 50% 이상인 경우는 "3", 양성반응이 전혀 관찰되지 않거나 산재되어 양성반응을 보일 때를 "0"으로 구분하였다. 강도점수와 빈도점수를 합하여 "0-1"은 음성, "2-3"은 1+, "4"는 2+, "5-6"은 3+로 판정하였다.

통계학적 분석

통계학적 분석은 Chi-Square test를 이용하였고 통계 검증은 p값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

결 과

p53 발현 (Table 1)

NH에서 7예(15.9%), 정상 갑상샘 조직에서 2예(4%)가 양성으로 발현된 데 비해 PC, FC, UC, FA에서 각각 62예(77.5%), 9예(47.4%), 4예(66.7%, Fig. 1), 9예(50.0%)가 양성으로 발현되어 모든 종양에서 유의하게 높은 발현율을 보였다($p < 0.001/p < 0.05$). 한편 PC에서의 양성률이 FA에서의 양성률에 비하여 유의하게 높았지만($p < 0.05$), 다른 암종 간에는 차이가 없었다.

Cyclin D1 발현 (Table 2)

PC에서 64예(80%, Fig. 2), FC에서 13예(68.4%), UC에서 4예(66.7%), FA에서 11예(61.1%), NH에서 35예(79.5%, Fig. 3)가 양성으로 발현되어, 정상조직에서 10예(20.0%)가 양성으로

Table 2. Cyclin D1 expression in thyroid tumors and tissues

	No. of cases	cyclin D1				positive cases (%)
		0	1+	2+	3+	
PC	80	16	20	17	27	64 (80.0%)
FC	19	6	2	1	10	13 (68.4%)
UC	6	2	3	0	1	4 (66.7%)
FA	18	7	0	1	10	11 (61.1%)
NH	44	9	7	11	17	35 (79.5%)
Normal	50	40	8	2	0	10 (20.0%)

FA, follicular adenoma; FC, follicular carcinoma; NH, nodular hyperplasia; PC, papillary carcinoma; UC, undifferentiated carcinoma.

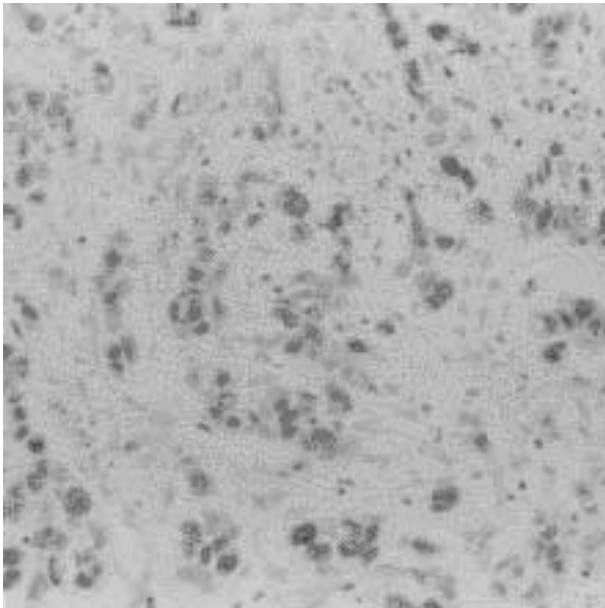


Fig. 1. Immunohistochemical staining for p53 shows positive reaction in the nuclei of undifferentiated carcinoma of thyroid.

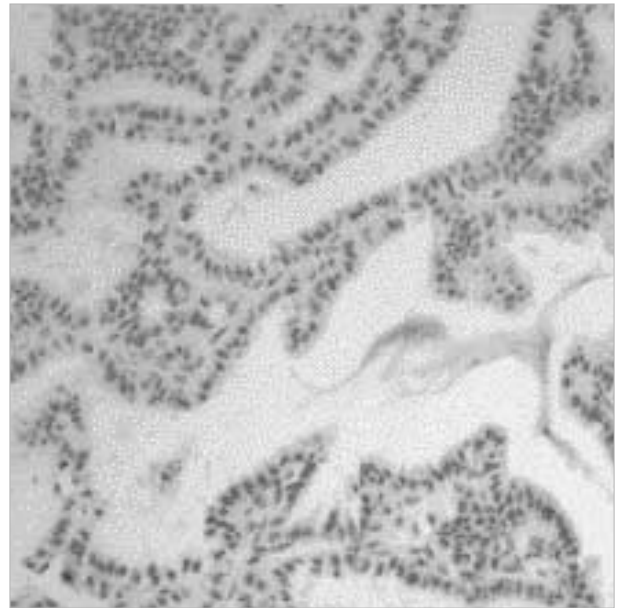


Fig. 2. Immunohistochemical staining for cyclin D1 shows positive reaction in the nuclei of papillary carcinoma of thyroid.

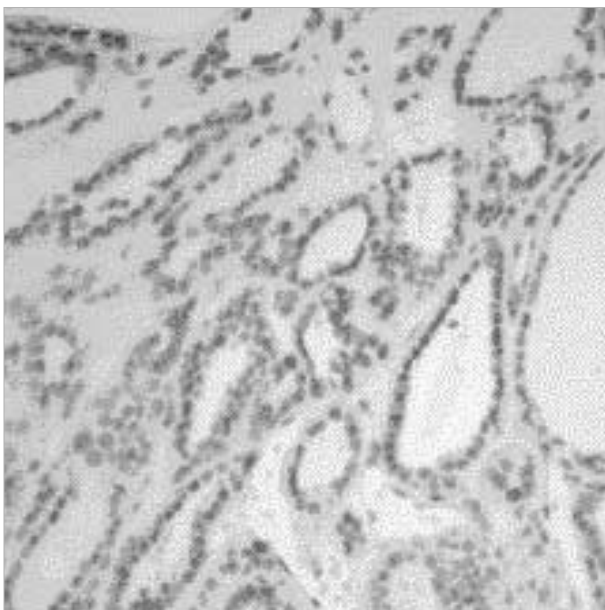


Fig. 3. Immunohistochemical staining for cyclin D1 shows positive reaction in the nuclei of nodular hyperplasia of thyroid.

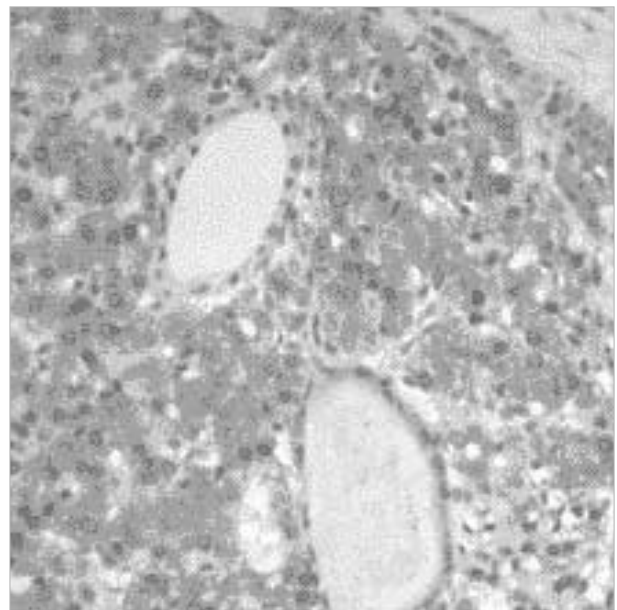


Fig. 4. Immunohistochemical staining for c-myc shows positive reaction in the nuclei and cytoplasm of follicular carcinoma of thyroid.

발현된 데 비해 모든 병변에서 유의하게 높은 발현율을 보였다 ($p < 0.001/p < 0.05$). 그러나 각 암종 간에 또는 암종에서의 양성률과 NH와 FA의 양성률을 비교할 때는 차이가 없었다($p > 0.05$).

c-myc 발현 (Table 3)

c-myc 발현은 PC에서 64예(80.0%), FC에서 18예(94.2%,

Fig. 4), UC에서 4예(66.7%), FA에서 12예(66.7%), NH에서 23예(52.3%)가 양성으로 발현되어, 정상 갑상샘 조직에서 8예(16.0%)가 양성으로 발현된 데 비해 모든 병변에서 유의하게 높은 발현율을 보였다($p < 0.001$). PC와 FC에서의 양성률은 NH의 양성률에 비해 유의하게 높았다($p < 0.01$). 또 FC에서의 양성률과 FA에서의 양성률을 비교했을 때에도 유의성을 보였다($p < 0.05$). 그러나 각 암종 간에는 유의성이 없었다($p > 0.05$).

Table 3. c-myc expression in thyroid tumors and tissue

	No. of cases	c-myc				positive cases (%)
		0	1+	2+	3+	
PC	80	16	12	14	38	64 (80.0%)
FC	19	1	2	4	12	18 (94.2%)
UC	6	2	0	1	3	4 (66.7%)
FA	18	7	0	2	9	11 (61.1%)
NH	44	21	12	6	5	23 (52.3%)
Normal	50	42	7	1	0	8 (16.0%)

FA, follicular adenoma; FC, follicular carcinoma; NH, nodular hyperplasia; PC, papillary carcinoma; UC, undifferentiated carcinoma.

p53, cyclin D1 및 c-myc 발현의 일치성(Table 4)

PC, FC, UC, FC, FA에서 각각 52예, 9예, 4예, 8예가 공동 양성으로 발현되었고, 7예, 1예, 2예, 6예가 각각 공동 음성으로 발현되어 NH와 정상 갑상샘 조직에서의 결과보다 일치성이 매우 높았다(p<0.05).

림프절 전이 여부와 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현과의 상관성(Table 5)

유두암종에서 림프절 전이 여부와 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현과의 상관성을 살펴보면 림프절 전이가 있는 예가 없는 예에 비해 이들 단백질 발현이 높았다. 그러나 통계학적인 유의성은 없었다(p>0.05).

고찰

p53은 종양억제유전자로 17p13에 위치하며 세포주기와 분화에 작용하여 인체의 여러 종양발생에 관여한다.¹⁻³ 정상 세포에서 DNA 손상을 받게 되면 p53이 작동하여 G1기에서 세포주기가 멈추고 손상된 DNA가 복구되면 S기로 이행한다. 만약 DNA의 손상이 복구되지 못하면 고사가 일어나 비정상적인 세포가 더 이상 증식하는 것을 방지한다. 그러나 돌연변이형 p53은 이러한 정상기능을 상실하여 종양형성을 촉진시키는 역할을 하게 되고, 세포 내에 축적되어 세포의 변형을 초래한다. 또한 암세포에서 높게 발현된다. Hsu 등¹²은 간암에서 p53의 발현은 종양의 성장, 침윤과 밀접한 관계가 있다고 하였다. 위암에서 p53은 후기에 주로 높게 발현되고 림프절 전이, 장막침윤, 생존율과 관계가 있다고 하였다.^{13,14} Goto 등¹⁵은 갑상샘 종양에서 p53이 저분화암과 미분화암에서 높게 발현되어 고분화암과 FA에 비해 모두 통계학적으로 유의한 차이를 보였다고 하였다.

본 연구에서는 PC, FC, UC, FA에서 p53 발현이 각각 77.5%, 47.5%, 66.7%, 50%로 나타나 갑상샘의 NH와 정상 조직에 비하여 유의한 차이를 보였다. 또한 PC에서 발현이 FA에 비하여

Table 4. Comparison of concordance between p53, cyclin D1 and c-myc expression in thyroid tumors and tissues

	No. of cases	p53, cyclin D1, c-myc	
		co-negativity	co-positivity
PC	80	7	52
FC	19	1	9
UC	6	2	4
FA	18	6	8
NH	44	9	5
Normal	50	32	0

FA, follicular adenoma; FC, follicular carcinoma; NH, nodular hyperplasia; PC, papillary carcinoma; UC, undifferentiated carcinoma.

Table 5. Correlation between p53, cyclin D1 and c-myc expressions with the lymph node metastasis in papillary carcinoma

	No. of cases	p53		cyclin D1		c-myc	
		-	+ (%)	-	+ (%)	-	+ (%)
LN (-)	27	5	22 (81.5%)	4	23 (85.2%)	5	22 (81.5%)
LN (+)	53	15	38 (71.7%)	12	41 (77.4%)	11	42 (79.2%)

유의한 차이를 보였지만 다른 암종들 간에는 유의성이 없었다. p53 발현과 림프절 전이와의 상관성을 보면, PC에서 전이가 있는 예(81.5%)가 없는 예(71.7%)보다 양성률이 높았지만 통계학적인 유의성은 없었다. 이 결과를 통하여 p53 단백질이 종양의 초기에 작용하여 종양의 발생에 관여하고 종양의 발전과 연관성이 있지만, 유두상 암종에서 림프절 전이와는 연관성이 없다는 사실을 알 수 있었다. 또한 종양의 진전, 분화 정도와도 연관성이 없고, FA의 발생에도 참여한다는 것을 알 수 있었다. 이것은 갑상샘 종양에서 p53 발현은 PC나 FC와 같은 분화가 좋은 암종에서는 아주 낮게 발현되고 UC에서는 높게 발현되어 이들 사이에 유의한 차이가 있다는 보고들¹⁵⁻¹⁷과는 다른 결과였다.

Cyclin D1 유전자는 11q13에 위치하고 세포의 성장 과정 중 G1-S기 이행에 관여하며 세포분열을 촉진시키는 것으로 알려져 있어, cyclin D1이 악성종양에 미치는 영향에 관하여 많은 연구가 진행되어 왔다. Wang 등¹⁸은 cyclin D1이 갑상샘 종양의 발전과 예후에서 중요한 역할을 한다고 하였고 Goto 등¹⁶은 고분화암에서 32.0% (39/122)가 양성으로, 저분화암에서 36.8% (7/19)가 양성으로 발현되어 FA의 3.0% (1/33) 발현에 비해 유의한 차이를 보였다고 하였다.

본 연구에서는 PC, FC, UC, FA, NH에서 각각 80%, 68.4%, 66.7%, 61.1%, 79.5%가 양성으로 발현되어, 정상 갑상샘 조직 20%의 양성률에 비하여 유의한 차이를 보였다. 그러나 각 암종들과 NH에서의 양성률을 비교하여 보면 유의성이 없었고 각 암종들 사이에서도 유의성이 없었다. 림프절 전이와의 상관성을 보면 림프절 전이가 있는 예의 양성률이 높았지만 통계학적으로 유의성이 없었다. 이 결과는 cyclin D1이 갑상샘 종양 형성 초기에 주로 작용하고 종양의 진전과 분화 정도, 악성도, 유두상 암종에

서 림프절 전이 등과는 연관성이 없다는 것을 시사하였다. 또한 NH에서 세포의 성장과 분화과정에 cyclin D1이 관여한다는 것을 알 수 있었다. 이 결과에서 갑상샘 암의 진단, 양성과 악성종양의 구별, 예후평가 등에 cyclin D1 발현이 의미가 없다는 것을 알 수 있어, Wang 등¹⁸과 Goto 등¹⁵의 결과와 차이를 보였다.

c-myc 단백질은 DNA에 결합한 후 다른 유전자들의 전사를 조절하여 세포 증식과 분화에 관여한다. c-myc은 여러 종류의 암에서 이상발현이 관찰되는데 그 원인으로는 유전자 증폭이 가장 흔하다. 유전자 증폭에 의한 c-myc 과발현은 유방암, 대장암, 위암, 자궁경부암, 폐암 등에서 보고되어 있고, 갑상샘 암에서도 c-myc 과발현이 보고되고 있다.¹⁹ 본 연구에서 c-myc 발현은 PC, FC, UC, FA, NH에서 모두 높게 발현되어 정상 갑상샘 조직에 비해 유의성을 보였다. PC와 FC에서 c-myc의 발현은 NH에 비해서도 유의하게 높았다. 또한 FC에서 c-myc의 발현은 FA에 비해서도 유의성을 보였다. 그러나 각 암종들 사이에서는 유의한 차이가 없었다. 또한 유두상 암종의 림프절 전이여부에도 유의한 관계가 없었다. 이 결과는 c-myc이 갑상샘의 PC와 FC의 형성 초기에 중요한 작용을 한다는 것을 설명한다. 그러나 암종의 분화 정도, 유두상 암종의 림프절 전이와는 연관성이 없다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서 cyclin D1과 c-myc 양성발현이 일부 세포질에서 관찰되었고, 또 분화가 낮은 암의 경우 세포질에서 발현이 더욱 증가하였다. 이것은 cyclin D1이나 c-myc이 정상세포에서 암으로 진행함에 따라 핵에서 세포질로 그 위치를 이동할 수 있는 가능성을 제시한 것이다.²⁰ 이로 미루어 볼 때에 세포내의 염색 부위에 대해서는 추후 더 자세한 검토가 필요한 것으로 생각되었다.

p53, cyclin D1 및 c-myc은 모두 세포성장과 분화에 관여하는 유전자로 서로 밀접한 연관성이 있으며, 특히 G1-S기 이행을 촉진하는 데 관여한다. 본 연구에서 p53, cyclin D1 및 c-myc의 공동 양성률이 갑상샘 종양에서 매우 높은 비율을 보였다. 이 결과는 p53, cyclin D1 및 c-myc이 공동으로 세포의 성장과 분화를 촉진하여 종양의 발생에 작용한다는 점을 시사한 것이다.

결론적으로 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현은 모두 갑상샘 종양의 형성 초기에 작용하여 종양의 발생에 관여하며, 특히 p53은 PC에서, c-myc은 PC와 FC에서 중요한 작용을 하고 있음을 알 수 있었다. Cyclin D1과 c-myc 발현은 또한 NH의 발생에도 관여할 것으로 생각한다. 또한 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현은 갑상샘 종양의 발생이 서로 연관성이 있고 공동으로 세포주기에 작용하여 종양의 성장을 촉진함을 알 수 있었다. 그러나 p53, cyclin D1 및 c-myc 발현은 갑상샘 암종의 진단, 분화 정도, 및 유두상 암종에서 림프절 전이와는 상관성이 없다는 것을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Kastan MB, Zhan Q, el-Deiry WS, *et al.* A mammalian cell cycle check-

point pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. *Cell* 1992; 71: 587-97.

2. Fields S, Jang SK. Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein. *Science* 1990; 249: 1046-9.

3. Raycroft L, Wu HY, Lozano G. Transcriptional activation by wild-type but not transforming mutants of the p53 anti-oncogene. *Science* 1990; 249: 1049-51.

4. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 1994; 54: 4855-78.

5. Hussain SP, Harris CC. Molecular epidemiology of human cancer: Contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Cancer Res* 1998; 58: 4023-37.

6. Diery WS. p21/p53, cellular growth control and genomic integrity. *Curr Top Microbiol Immunol* 1998; 227: 121-37.

7. Gartel AL, Serfas MS, Tyner AL. p21-negative regulator of the cell cycle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996; 213: 138-49.

8. Kang YK, Kim WH, Jang JJ. Expression of G1-S Modulators (p53, p16, p27, cyclin D1, Rb) and Smad4/Dpc4 in Intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hum Pathol* 2002; 33: 877-83.

9. Gillet C, Fantl V, Smith R, *et al.* Amplification and overexpression of cyclin D1 in breast cancer detected by immunohistochemical staining. *Cancer Res* 1994; 54: 1812-7.

10. Bodrug SE, Warner BJ, Bath ML, Lindeman GJ, Harris AW, Adams JM. Cyclin D1 transgene impedes lymphocyte maturation and collaborates in lymphomagenesis with the myc gene. *EMBO J* 1994; 13: 2124-30.

11. Spencer CA, Groudine M. Control of c-myc regulation in normal and neoplastic cells. *Adv Cancer Res* 1991; 56: 1-48.

12. Hsu HC, Tseng HJ, Lai PL, Lee PH, Peng SY. Expression of p53 gene in 184 unifocal hepatocellular carcinomas (HCC): association with tumor growth and invasiveness. *Cancer Res* 1993; 53: 4691-4.

13. Joypaul BV, Newman EL, Hopwood D, *et al.* Expression of p53 protein in normal, dysplastic, and malignant gastric mucosa: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1993; 70: 279-83.

14. Yonemura Y, Fushida S, Tsugawa K, *et al.* Correlation of p53 expression and proliferative activity in gastric cancer. *Anal Cell Pathol* 1993; 5: 277-88.

15. Goto A, Sakamoto A, Machinami R. An immunohistochemical analysis of cyclin D1, p53, and p21waf1/cip1 proteins in tumors originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. *Pathol Res Pract* 2001; 197: 217-22.

16. Ito T, Seyama T, Mizuno T, *et al.* Unique association of p53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer Res* 1992; 52: 1369-71.

17. 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.
18. 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* 2000; 13: 882-7.
19. Cerutti J, Trapasso F, Battaglia C, *et al.* Block of c-myc expression by antisense oligonucleotides inhibits proliferation of human thyroid carcinoma cell lines. *Clin Cancer Res.* 1996; 2: 119-26.
20. Royds JA, Sharrard RM, Wagner B, Polacz SV. Cellular localisation of c-myc product in human colorectal epithelial neoplasia. *J Pathol* 1992; 166: 225-33.