

갑상선 종양에서 c-Met 발현의 임상적 의의

한림대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실,* 병리학교실**
노영수* · 황준식* · 김진환* · 임영한* · 김승태* · 조성진**

= Abstract =

Clinical Significance of the Expression of c-Met in Thyroid Tumor

Young Soo Rho, M.D.,* Joon Sik Hwang, M.D.,* Jin Hwan Kim, M.D.,*
Young Han Lim, M.D.,* Seung Tae Kim, M.D.,* Seong Jin Cho, M.D.**

Department of Otorhinolaryngology-Head & Neck Surgery,* Pathology,** College of Medicine,
Hallym University, Seoul, Korea

Objectives : The hepatocyte growth factor (HGF)/c-Met pathway may play various roles in the carcinogenesis of various organs. Although HGF/c-Met signalling pathway has been shown to demonstrate various cellular responses including mitogenic, proliferative, morphogenic and angiogenic activities, the study on their expression related to clinicopathological parameters in thyroid tumor is relatively rare. So we want to find out the clinical significance of the c-Met in thyroid tumor.

Materials and Methods : We assess the mRNA and protein expression of the c-Met genes by means of RT-PCR method and the immunohistochemical stain in 100 cases of thyroid tumors (50 papillary carcinomas, 10 follicular carcinomas, 20 follicular adenomas, 20 nodular hyperplasia).

Results : By RT-PCR, c-Met mRNA was detected in 43 (86%) in papillary carcinoma, 4 (40%) in follicular carcinoma, 4 (20%) in follicular adenoma and 2 (10%) in nodular hyperplasia cases. By immunohistochemistry, c-Met protein expression was detected in 44 (88%), 2 (20%), 3 (15%) and 1 (5%). Expression of the c-Met mRNA and protein expression was significantly highly recognized in papillary carcinoma. The c-Met protein overexpression was significantly correlated with the grade of the differentiation.

Conclusion : These results suggest that c-Met expression may be associated with thyroid papillary cancer progression. The differential expression of c-Met protein and mRNA suggests that these molecules may be a reliable diagnostic marker in thyroid papillary cancer.

KEY WORDS : Thyroid tumor · c-Met.

서론

최근 들어 진단 영상진단의학의 발전으로 갑상선암의 조기진단이 가능해져 전체 악성종양에서 갑상선암이 차지하는 빈도가 급격히 증가하고 있다. 다행스럽게도 갑상선암은 일반적인 다른 장기의 악성 종양에 비해 예후가 좋은 것으로

알려져 있으나 간혹 미분화암으로 진행되어 매우 나쁜 예후를 보이는 경우도 있다. 이에 따라 갑상선암을 진단하고 예후를 예견할 수 있는 인자를 밝히려는 시도가 꾸준히 진행되어 왔으며, 그 결과 여러 가지의 혈청학적, 분자생물학적 종양표지인자들이 갑상선암을 진단하고 예후를 예견하는 데 도움이 된다고 보고하였다¹⁻³⁾.

이중 c-Met 발암유전자 산물인 c-Met 단백질은 암세포의 이동에 관여하는 운동인자들 중 하나인 hepatocyte growth factor(HGF)에 의해 활성화되어 주로 상피 조직에서 발현되고 세포내 신호전달 체계에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이 같은 기전은 HGF/c-Met pathway를 형성

교신저자 : 노영수, 134-701 서울 강동구 길동 445
한림대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실
전화 : (02) 2224-2279 · 전송 : (02) 482-2279
E-mail : ys20805@chol.com

하여 다양한 세포들의 성장, 운동, 분화, 이동, 형태에 영향을 주어⁴⁾ 갑상선, 간, 폐, 위장, 난소, 전립선, 신장 및 뇌 등 다양한 장기에서의 종양 발생에 있어 단백 과발현에 관여하는 것으로 알려져 있다⁵⁾⁶⁾. 그러나 아직까지는 연구자들마다 발현율과 임상적 의의 등에서 차이를 보이고 있는 실정이다.

이에 본 연구에서는 갑상선 종양에서 c-Met 단백질의 발현과 mRNA의 발현을 검사하여 양성과 악성의 감별진단의 방법으로 c-Met의 검출이 이용될 수 있는 가를 알아보고, 아울러 c-Met의 발현 결과와 현재까지 알려진 분화성 갑상선 유두암종의 임상예후인자를 비교하여 분화성 갑상선 유두암종에서 c-Met의 임상적 의의를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대 상

한림대학교 강동성심병원에서 1997년부터 2001년까지 갑상선 종양으로 진단 받고 외과적 절제술을 시행 받은 예 중 비교적 표본의 보관상태가 양호한 100예를 연구대상으로 하였다. 100예 중 선종성 증식(nodular hyperplasia)이 20예, 여포선종(follicular adenoma)이 20예, 여포암종(follicular carcinoma)이 10예, 유두암종(papillary carcinoma)이 50예였다. 대조군으로는 정상 갑상선 조직 20예를 이용하였다.

2. 병리조직학적 검사

모든 검체는 10% 중성 포르말린에 고정된 후 통상의 병리진단을 위한 처리과정을 거친 파라핀 포매 조직을 이용하였고 각 증례에서 암종과 비암종 부위가 포함된 파라핀 블록을 선택하여 헤마톡실린과 에오진(Hematoxylin and Eosin, H & E) 염색을 시행하였다. 각 증례의 갑상선 종양 조직을 2명의 병리 전문의가 광학 현미경으로 검경하고 재판독하였다.

3. c-Met mRNA 검출을 위한 역전사 증합효소 연쇄 반응

1) Total RNA 추출

갑상선 종양 조직과 정상 조직을 수술 직후 채취하여 액체 질소에 담근 후 영하 80°C에서 동결하였다가 TRIZOL 방식으로 RNA를 추출하였다. 냉동된 조직을 PBS용액으로 수세하여 0.5cm³ 크기로 절단한 갑상선 조직편 50~100mg을 액체 질소에서 Polytron homogenizer (Brinkmann, Westbury, NY, USA)로 분쇄한 후 TRIZOL reagent (GIBCO BRL, Grand Island, NY) 1ml를 넣고 혼합하여 상온에서 5분간 방치하였다. 0.2ml의 chloroform을 넣은 후 15초 간 세게 흔들고 10분간 상온에 두었다가 4°C에서

12,000g로 15분간 원심분리하고, 수용성 상층액을 피펫으로 새 시험관에 조심스럽게 옮기고 0.5ml의 isopropanol을 넣고 vortexing하여 상온에 10분간 보관했다가 12,000g로 원심분리하여 RNA를 침전시켰다. 상층액을 버리고 75% ethanol 1ml를 넣고 섞은 후 원심분리하여 RNA pellet을 세정하고, 상층액을 다시 제거한 후 상온에서 RNA pellet을 건조시킨 후 diethyl pyrocarbonate로 처리된 증류수에 녹여서, 분광 광도계(150~20, Hitachi Co., Tokyo, Japan)로 260nm의 분광광도에서 농도를 측정하고 영하 80°C에 보관하였다.

2) RT-PCR

정제된 total RNA를 poly-dT primer와 annealing 시킨 후 AMV reverse transcriptase(USB)를 사용하여 first strand cDNA를 만들었다. 이 cDNA를 가지고 각각의 해당 시발체(primer)를 사용하여 PCR을 시행하였으며, 시발체는 GIBCO사(USA)에서 주문 제작하였다(Table 1). 모든 PCR 반응은 thermal cycler(Perkin Elmer Cetus 9700, USA)를 사용하고 제작 회사에서 제안한 방법으로 수행하였다. PCR 용액은 1~3 μl template(cDNA 용액)에 1 μl의 primer-5', primer-3' (2mM), 1 μl의 dNTP 혼합액(2mM), 1 μl의 10X buffer(20mM MgCl₂, Takara), 1 μl의 Taq polymerase(Takara, 5U/μl)를 넣어 증류수를 가하여 20 μl로 만들었다. PCR의 조건은 변성 전단계(pre-denaturation)는 94°C에서 5분, 변성 반응은 94°C에서 1분, 결합반응은 57°C에서 1분, 연장반응은 72°C에서 1분으로 전체 30주기를 시행하였다. β-actin의 경우도 결합반응은 59°C에서 1분으로 하여 시작하였다. c-Met mRNA 발현을 비교하기 위하여 각 조직에서 분리한 RNA를 가지고 RT-PCR을 시행하였고, 이때 β-actin에 대한 실험을 먼저 시행하여 그 결과에 따라 cDNA template의 양을 조정하여 다시 PCR을 시행하여 β-actin의 PCR 산물의 양이 일정하게 된 것을 확인하였다. 그 이후의 PCR은 조정된 양의 cDNA template를 사용하여 c-Met에 대한 각각의 primer로 PCR을 수행하였다. 각각의 PCR 산물의 양을 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 예상된 크기의 분자에 해당하는 띠(band)에서 분석하고 확인하였다.

4. 면역조직화학적 연구

포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 5 μm 두께

Table 1. DNA sequences of the primers used in this study

c-Met	Sense	5'-ACAGTGGCATGCAACATCGCT-3'
	Anti-sense	5'-GCTCGGTAGTCTACAGATTC-5'
β-actin	Sense	5'-AGGCCAACCGCGAGAAGATGACC-3'
	Anti-sense	5'-GAAGTCCAGGGCGACGTAGCAC-3'

로 연속 세 개의 절편을 만들어 xylene으로 탈파라핀하고, 각 절편을 c-Met 단백질에 대하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 단백질의 항원성을 유지하기 위해 극초단파(microwave oven method)를 이용하여 끓는 phosphate buffered saline에 처리 후, 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위해 과산화수소를 도포하고 희석된 정상 염소 혈청(Zymed, USA)을 도포하여 비특이적 결합을 억제하였다. 그 후 1:100으로 희석된 1차 항체인 c-Met에 대한 다클론성 항체(rabbit polyclonal antibody, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA)를 상온에서 2시간 반응시키고, 2차 항체인 biotinylated link antibody(LSAB kit, DAKO, USA)와 20분간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. Streptavidin(Zymed, USA)과 peroxidase가 결합된 용액에 30분간 반응시키고, 이후 발색반응은 3,3-diaminobenzidine tetrachloride(DAB)(sigma)로 발색시킨 다음 Meyer's hematoxylin으로 대조염색 후 흐르는 물에 세척하여 실온에 건조시킨 후 봉입하였다.

5. 결과판정과 통계처리

C-Met mRNA의 발현을 평가하기 위해서 정상 림프절 조직을 대조군으로 강도 1로 정하였다. 정상 갑상선 조직 20예에서 c-Met mRNA 발현 강도를 조사한 결과 평균 0.80 ± 0.36 이었다. 갑상선 종양의 mRNA 발현을 평가하기 위해 정상 갑상선 조직 발현 평균치에 표준 편차의 2배치를 합한 값을 양성 기준치로 정하였다. C-Met 단백질의 면역조직화학적 염색 반응의 판정은 염색된 세포의 밀도가 높은 부분을 광학현미경으로 400배 시야에서 10개를 관찰하였으며, 세포질과 핵막에서 진한 갈색으로 강한 정도로 염색되는 세포를 양성세포로 판정하였다. 양성세포가 전체 종양세포에 대해 20% 이상의 경우 양성으로 구분하였고 그 미만은 음성으로 구분하였다. 통계처리는 윈도우형 SPSS(ver. 8.0) 통계 프로그램을 사용하여 Pearson의 Chi-square 검정과 Fisher의 정확확률 검정으로 분석하였다. 유의수준은 p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 임상 및 병리학적 소견

병리조직학적으로 판독이 이루어진 총 100예의 갑상선 종양 중례 중 양성 갑상선 종양은 선종성 증식 20예와 여포선종 20예로 전체 40예(40%)이었으며, 악성 갑상선 종양은 여포암종 10예와 유두암종 50예로 전체 60예(60%)이었다(Table 2). 악성 갑상선 종양 중 유두암종 50예를 여러 임상예후인자 별로 나누어 보았을 때 45세 이상이 34예,

Table 2. Expression of c-Met mRNA and protein

Tumor	Case	c-Met RT	c-Met IHC
Nodular hyperplasia	20	2(10%)	1(5%)
Follicular adenoma	20	4(20%)	3(15%)
Follicular carcinoma	10	4(40%)	2(20%)
Papillary carcinoma	50	43(86%)	44(88%)

RT : mRNA expression by RT-PCR, IHC : protein overexpression by immunohistochemistry

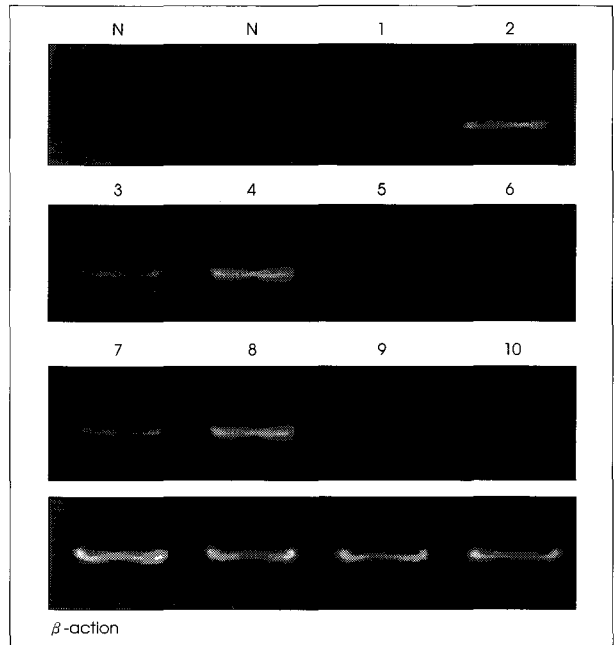


Fig. 1. c-Met mRNA expression by RT-PCR. N : normal, 1, 2 : nodular hyperplasia, 3-6 : follicular cancer, 7-10 : papillary cancer.

45세 미만이 16예였으며, 조직학적 분화도상 고분화도가 35예, 저분화도가 15예이었다. 림프절 전이는 23예(46%)에서 있었고, 림프 색전은 15예(30%)에서 관찰되었다. 종양의 크기가 2.0cm 이상인 경우는 18예(36%)이었으며, 갑상선 외부로 종양의 침윤은 18예(36%)에서 관찰되었다.

2. 역전사 증합효소 연쇄반응에 의한 c-Met mRNA의 발현

1) c-Met mRNA의 발현 양상(Fig. 1)

c-Met mRNA는 정상 조직에서는 거의 검출되지 않았으며 검출된 예에서도 발현 강도는 매우 미약하였다. 갑상선 종양에서 c-Met mRNA의 발현은 선종성 증식에서 2예(10%), 여포선종에서 4예(20%), 여포암종에서 4예(40%), 유두암종에서 43예(86%)에서 검출되어 유두암종에서의 c-Met mRNA 발현이 다른 종양에 비해 특이적으로 높게 나타났다($p=0.021$).

2) 유두암종에서 c-Met mRNA의 발현과 임상예후인자의 관계(Table 3)

유두암종에서 c-Met mRNA의 발현을 임상예후인자와

Table 3. Correlation between expression of galectin-3 and c-Met mRNA & protein according to the clinicopathological factor in papillary carcinomas

Clinicopathologic parameters	case	Met RT	Met IHC
Age			
<45	(n=34)	29(85.3%)	30(88.2%)
>45	(n=16)	14(87.5%)	14(87.5%)
Tumor size			
<2.0cm	(n=32)	26(81.3%)	29(90.6%)
>2.0cm	(n=18)	17(94.4%)	16(88.9%)
Tumor Grade			
well	(n=35)	31(88.6%)	34(97.1%)
poor	(n=15)	12(80%)	10(66.7%)
Lymphatic emboli			
(+)	(n=15)	14(93.3%)	13(86.7%)
(-)	(n=35)	29(82.9%)	31(88.6%)
Extrathyroid invasion			
(+)	(n=18)	16(88.9%)	15(83.3%)
(-)	(n=32)	27(84.4%)	29(90.6%)
LN metastasis			
(+)	(n=23)	21(91.3%)	21(91.3%)
(-)	(n=27)	22(81.5%)	23(85.2%)

RT : mRNA expression by RT-PCR, IHC : protein overexpression by immunohistochemistry

비교하였을 때 45세 이상인 경우 29예(85.3%)에서 c-Met mRNA이 발현되었고 45세 미만의 경우 14예(87.5%)에서 발현되었다. 종양의 크기에 따른 c-Met mRNA의 발현은 2.0cm 이상인 경우 17예(94.4%)에서 검출되었고 2.0cm 미만인 경우 26예(81.3%)에서 발현되었다. 종양의 분화도에 따른 c-Met mRNA의 발현은 고분화성 암종에서 31예(88.6%), 저분화성 암종에서 12예(80%)이었다. 종양 내에 형성된 림프 색전의 유무에 따른 c-Met mRNA의 발현은 색전이 있는 경우가 14예(93.3%), 색전이 없는 경우가 29예(82.9%)이었다. 또한 갑상선의 침범에 따른 c-Met mRNA의 발현은 침범이 있는 경우가 16예(88.9%), 침범이 없는 경우가 27예(84.4%)이었으며, 림프절 전이 여부에 따른 c-Met mRNA의 발현은 전이성인 경우가 21예(91.3%), 비전이성인 경우가 22예(81.5%)이었다. 결과를 종합하면 유두상암에서 기존에 임상예후인자로 알려진 환자의 나이, 종양의 크기, 종양의 분화도, 림프 색전의 유무, 갑상선의 침범의 유무, 림프절 전이의 유무와 c-Met mRNA의 발현 사이에는 통계적 유의성이 없는 것으로 나타났다(p>0.05).

3. 면역조직화학 검사법에 의한 c-Met 단백질 발현

1) c-Met 단백질 발현 양상

c-Met 단백질 발현은 선종성 증식 1예(5%), 여포선종 3

예(15%), 여포암종 2예(20%), 유두암종 44예(88%)에서 검출되었다. 유두암종에서의 c-Met 단백질 발현이 다른 종양에 비해 특이적으로 높게 나타났다(p=0.01).

2) 유두암종에서 c-Met 단백질 발현과 임상예후인자와의 관계 (Table 3)

유두암종에서 c-Met mRNA의 발현을 임상예후인자와 비교하였을 때 45세 이상인 경우 30예(88.2%)에서 c-Met 단백질이 발현되었고, 45세 미만의 경우 14예(87.5%)에서 발현되었다. 종양의 크기에 따른 c-Met 단백질 발현은 2.0cm 이상인 경우 16예(88.9%), 2.0cm 미만인 경우 29예(90.6%)에서 발현되었으며, 종양의 분화도에 따른 c-Met 단백질 발현은 고분화성 암종에서 34예(97.1%), 저분화성 암종에서는 10예(66.7%)이었다. 종양 내에 형성된 림프 색전의 유무에 따른 c-Met 단백질 발현은 색전이 있는 경우 13예(86.7%), 색전이 없는 경우 31예(88.6%)이었으며, 갑상선의 침범에 따른 c-Met 단백질 발현은 침범이 있는 경우 15예(83.3%), 침범이 없는 경우 29예(90.6%)이었다. 림프절 전이 여부에 따른 c-Met 단백질 발현은 전이성인 경우 21예(91.3%), 전이가 없는 경우 23예(85.2%)이었다. 결과를 종합하면 c-Met 단백질의 발현 또한 c-Met mRNA와 마찬가지로 유두상암의 임상예후인자인 환자의 나이, 종양의 크기, 종양의 분화도, 림프 색전의 유무, 갑상선의 침범의 유무, 림프절 전이의 유무 사이에 통계적 유의성이 없는 것으로 나타났다(p>0.05).

4. 유두암종에서 c-Met mRNA와 단백질 발현의 관계

c-Met mRNA 발현과 단백질 발현이 모두 검출된 증례는 40예이었고, 모두 음성인 경우 1예이었으며, c-Met mRNA만 발현된 경우 3예, c-Met 단백질 발현만 된 경우가 6예로서 양자의 발현 간에는 유의한 상관관계가 있었다(p=0.022).

고 찰

초음파를 비롯한 여러 영상진단 장비들의 도움으로 갑상선 종양의 진단율이 급격하게 증가되고 있으며 이에 따라 전체 종양에서 갑상선 종양이 차지하는 비율 또한 매년 증가하고 있다. 현재 일단 진단된 갑상선 종양의 양성 혹은 악성 여부와 악성 중 유두암종 및 여포암종의 감별 진단에는 초음파 검사 및 컴퓨터 단층 촬영과 같은 영상 진단 검사법 이외에 세침흡인세포검사가 중요하게 이용되고 있으나, 여포형 종양과 여포형 분화를 보이는 유두암종간의 감별이나 유두상 모양을 취하는 선종성 증식 등은 정확하게 진단하기가 더욱 어려운 실정이다. 이에 많은 갑상선 종양 관련 표지자들이 연구되어 왔으며 이러한 표지자들을 갑상선 종양의 감별진단에 이용하려는 시도가 꾸준히 있어 왔

다. 뿐만 아니라 다양한 임상 예후를 가지는 갑상선 종양의 예후인자로서의 가치 있는 표지자의 발굴에 많은 노력이 이루어지고 있다.

이러한 노력의 일환으로 본 연구에서는 발암유전자로 알려진 c-Met의 갑상선 종양에서의 발현 양상을 알아보고자 하였다. c-Met 발암유전자는 tyrosine kinase 활성을 갖는 190kDa의 transmembrane heterodimer라는 수용체 단백질로 확실한 작용기전은 아직 완전히 규명되지는 않았지만, 간세포 외에 다양한 장기에서 발현되며, HGF에 의해 활성화되어 주로 상피 조직에서 세포내 신호전달 체계에 관여할 것으로 추정되고 있다⁷⁾. HGF에 대한 특이 수용체로서 Met 단백질의 기본 분자 구조는 두개의 이황화물로 연결된 세포막에 걸쳐 있는 고리 형태와 세포막 바깥으로 50kDa의 α -subunit와 세포막에 걸친 β -subunit가 있는 구조로 알려져 있다. 밝혀진 작용기전은 HGF가 이 수용체에 결합하여 수용체가 인산화되어 활성화되고 동시에 다른 tyrosine kinase들의 활성을 조절하여 다양한 세포들의 성장, 운동, 분화, 이동, 형태에 영향을 미치게 되는 것으로 보고 되었다. 이 수용체는 많은 다양한 정상 세포 및 종양세포에서 발견되고 있으나 일반적으로 많은 악성종양에서 이들의 발현이 증가한다고 알려져 있어⁷⁾ HGF/Met 신호전달 체계는 다양한 장기의 악성 종양들에서 주요 병인으로 제기되고 있다. 갑상선암에서 c-Met에 대한 연구는 아직까지 활발하게 이루어지지 않았지만 재발이나 전이가 일어난 경우에 그 발현이 증가하는 것으로 보고 되어진 바 있다⁸⁾⁹⁾.

그러나 지금까지의 연구들은 대부분 c-Met 단백질의 발현 위주로 이루어졌으며 결과 또한 보고자들마다 다소 상이하게 나타났다⁹⁾¹⁰⁾. 이에 따라 본 연구에서는 RT-PCR을 통한 mRNA 발현을 c-Met 단백질 발현과 함께 살펴보고 또한 갑상선 종양을 선종성 증식, 여포선종, 여포암종, 및 유두암종으로 분류하여 각각에서의 발현양상의 차이를 알아 보았다. 한편 c-Met 단백질 발현과 갑상선 종양의 임상적 예후와의 관계를 알아보기 위하여 분화성 유두암종에서 기존에 알려진 임상적 예후인자들과 c-Met 발현과의 관계를 살펴보았다. 연구 결과, c-Met 단백질과 mRNA의 발현 모두 갑상선 유두암종에서 특이적으로 높게 나타났다. 이는 c-Met의 발현이 갑상선 유두암종의 감별진단에 환자의 나이, 암종의 크기, 종양의 분화도, 림프 색전 유무, 갑상선외 침범, 림프절 전이 여부 등의 기존의 갑상선암의 임상 인자와의 비교에서는 통계적 의의가 없는 것으로 나타났다. 이는 유두암종 전체에서의 c-Met mRNA와 c-Met 단백질의 발현율이 너무 높아 각 임상인자군 간에 차이가 없게 나타난 것으로 생각된다. 이에 따라 c-Met가 갑상선 유두암종의

진단적 의미 이외에 예후 판정의 기준으로 사용될 수 있기 위해서는 단순히 발현의 유무만이 아니라 발현 정도를 구분할 수 있는 정량적인 검사법이 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

결 론

C-Met mRNA과 단백질 발현은 갑상선 유두암종에서 다른 종양에 비해 특이적으로 높게 나타나 갑상선 유두암종의 특이적인 표지 인자로서 가치가 있을 것으로 생각된다. 그러나 c-Met 발현이 갑상선 유두암종의 형성에 관여하게 되는 명확한 기전을 알아내기 위해서는 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 c-Met의 발현과 기존의 갑상선암의 예후적 임상 인자와는 상관관계가 없는 것으로 나타나 앞으로 c-Met의 갑상선암에서의 예후적 의미를 규명하기 위해서는 c-Met 검출의 정량적인 연구가 요구된다.

중심 단어 : 갑상선 종양 · c-Met.

References

- 1) Saji M, Westra WH, Chen H, et al: *Telomerase activity in the differential diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. Surgery.* 1997;122:1137-1140
- 2) Fluge O, Haugen DR, Lillehaug JR, Varhaug JE: *Difference in patterns of Met expression in papillary thyroid carcinomas and nonneoplastic thyroid tissue. World J Surg.* 2001;25:623-631
- 3) Maeta H, Ohgi S, Terada T: *Protein expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinase 1 and 2 in papillary thyroid carcinomas. Virchows Arch.* 2001; 438 (2):121-128
- 4) Maulik G, Shrikhande A, Kijima T, Ma PC, Morrison PT, Salgia R: *Role of the hepatocyte growth factor receptor, c-Met, in oncogenesis and potential for therapeutic inhibition. Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13:41-59
- 5) Boix L, Rosa JL, Ventura F, et al: *c-met mRNA overexpression in human hepatocellular carcinoma. Hepatology.* 1994;1:88-91
- 6) Rygaard K, Nakamura T, Spang-Thomsen M: *Expression of the proto-oncogenes c-met and c-kit and their ligands, hepatocyte growth factor/scatter factor and stem cell factor, in SCLC cell lines and xenografts. Br J Cancer.* 1993;67 (1):37-46
- 7) Rosen EM, Meromasky L, Setter E: *Purified scatter factor stimulates epithelial and endothelial cell migration. Proc Soc Exp Biol Med.* 1990;195:34-43
- 8) Ruco LP, Stoppacciaro A, Ballarini F, Prat M: *Met protein and hepatocyte growth factor (HGF) in papillary carcinoma of the thyroid: evidence for a pathogenetic role in tumorigenesis. J Pathol.* 2001;194 (1):4-8

- 9) Ramirez R, Hsu D, Patel A: *Over-expression of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) and the HGF/SF receptor (cMET) are associated with a high risk of metastasis and recurrence for children and young adults with papillary thyroid carcinoma. Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;53 (5):635-644
- 10) Lppolito A, Vella V, La Rossa GL: *Immunostaining for Met/HGF receptor may be useful to identify malignancies in thyroid lesions classified suspicious at fine-needle aspiration biopsy. Thyroid.* 2001;11 (8):783-787